



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA**



**“Estudio del efecto de la biotina sobre la presión de perfusión
renal en la hipertensión”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A

JUAN EDUARDO MONTERO HERNÁNDEZ

Asesores de tesis:

Doctor en Ciencias en Farmacología Daniel Godínez Hernández

Doctor en Ciencias Biomédicas Asdrúbal Aguilera Méndez

Morelia, Michoacán, Diciembre de 2014

DEDICO Y AGRADEZCO ESTA TESIS...

Primeramente a Dios por prestarme vida y por ser la fuerza y el ejemplo de las acciones en mi vida. El cual me ama como soy y el cual amo por encima de todas las personas y cosas, él nunca me abandona y siempre está y estará en todos los momentos a mi lado, a lo largo de esta vida y más allá.

A mis padres, Gloria Hernández y Juan Montero por todo el apoyo moral que siempre me han dado y por formarme íntegramente como ser humano, enseñándome valores, orientándome con sus experiencias y sobre todo por amarme, a los cuales también amo con la misma intensidad y más, agradezco bastante por siempre permitirme tomar mis propias decisiones y dejarme ser yo, basándome en lo que ya he mencionado.

A mi hermano, Christian Montero, por ser mi compañero, mi amigo y sobre todo MI HERMANO en la extensión de la palabra y que siempre me ha acompañado y sido cómplice en los buenos y malos momentos. Al cual amo mucho muchísimo.

A mi novia, Claudia Flores, por ser mi compañera en la etapa de mi vida más importante, hasta ahora, además de ser amiga y amante, que con su amor y apoyo me ha motivado a seguir avanzando en mis metas como lo es mi formación profesional y personal. A la cual amo muchísimo y espero seguir escribiendo una y mil historias con ella a lo largo de la vida.

A mis amigos, Omar Murguía, Hugo Fernández, Edgar López, Memo Arvizu, Dann Ruíz, Elda Hernández, Paco Naranjo, Gerardo Murillo, Angel Del Río, Cesar Vega, Adriana Urue, Eduardo Bañales, Héctor Saucedo, Nidia Peñalosa, Carlos Hernández, Héctor Tavira, Álvaro Solorio; al D.C. Guillermo Salas, al D.C. Egberto Bedolla, al M.C. Gabino Estévez y al Ing. David Bautista; y a todos a los que de alguna manera me estiman, apoyan y que hemos compartido grandes e inolvidables experiencias, que me han permitido conocerles y que les he permitido conocerme, a los cuales agradezco todo esto porque he aprendido muchísimo de ellos. En específico agradezco a:

A mi mejor amiga del mundo mundial Laura Pérez Tovar que desde primer año de la carrera fue una de mis compañeras, cómplices de aventuras inigualables y de cuya persona aprendí bastante, siempre me apoyo y aunque nos distanciamos debido a las circunstancias siempre ocupará un lugar en mi mente y corazón. Y a la cual quiero y admiro bastante, considerándola como una hermana.

A mi mejores amigos personales: Maribel García Segura y Luis Ever Vega Cabrera de quienes aprendí bastante en aspectos de mi vida personal, a los cuales les tengo un gran cariño y afecto, siempre me da gusto saber de ellos y a los cuales admiro por su forma original de pensar y que son congruentes en su forma de conducirse. A ambos los amo bastante como mis amigos que son, queriendo señalar que me gustaría poseer muchas de sus virtudes: son como un ejemplo a seguir.

Y no sin menos importante a mi hermano del alma Mario Obeth Espejel Bedolla con quien compartí de todos mis amigos los dos mejores años de la etapa de la Universidad y en la cual aprendí, maduré y tuve otra visión de la vida, aunque iniciamos como compañeros del H. Consejo Universitario, todas las aventuras, decisiones, análisis, desvelos, fiestas, tonterías que compartimos juntos fueron lo mejor de mi vida, volvería a repetir cada momento, claro, hubo momentos difíciles pero siempre aprendí lo mejor de él y ha dejado huella imborrable en mí. Lo amo, admiro y estimo como mi hermano del alma.

A mis compañeros y amigos tesisistas que estuvieron conmigo en el Laboratorio de Farmacología, Zayra Toledo, Chucho Manzanares, Xóchitl Ruíz, que siempre me apoyaron, compartiendo risas, entusiasmo, desanimo pero que siempre estuvimos juntos aprendiendo uno del otro y que aportaron algo en mi tesis y mi vida. Los estimo y siempre extrañaré a donde quiera que vaya. Sin darme cuenta se convirtieron como parte de mi familia ya que son con los que pasaba mayor parte de mi tiempo últimamente.

A mis directores de tesis, el D.C. Daniel Godínez y el D.C. Asdrúbal Aguilera quienes han compartido sus conocimientos conmigo, permitiéndome formarme,

aprender y culminar mi preparación como Químico Farmacobiólogo, por todo su apoyo y enseñanzas, siempre estarán presentes en mi vida. A los cuales admiro y estimo mucho por su gran trabajo en la ciencia.

A mis revisores y sinodales, a la Q.F.B. Armida Sánchez Gallegos, a la M. en F.B. Blanca Nateras, al Q.F.B. Armando Ordaz, al D.C. Zurisaddai Hernández y al M.C. Héctor Urquiza por su valioso apoyo y que con sus observaciones me permitieron concluir este gran proyecto y meta en mi vida.

En específico a la M. en F. Blanca Nateras, por ser gran amiga y persona, quien siempre me apoyó durante la realización de la fase experimental, así como con sus observaciones en la tesis. La admiro, la estimo y la quiero mucho.

A mis profesores de la Facultad de Químico Farmacobiología que me dieron la oportunidad de formarme, de los cuales aprendí demasiado, en especial a la Q.F.B. Armida Sánchez a quien quiero, admiro y estimo demasiado porque fue participe de mi gusto en el área de Farmacología y siempre me apoyó, al Q.F.B. Armando Ordaz por su gran y valioso apoyo incondicional siempre que se lo he solicitado, a la Maestra Rebeca Tinoco que me permitió conocerle como maestra y compañera de trabajo en la Facultad, a la Dra. Esther García por orientarme a la investigación, al Ing. Ricardo Martínez Molina porque siempre dio palabras de aliento y de superación como su alumno y en miras del desarrollo académico, profesional y personal pero sobre todo por su gran amistad y al cual admiro muchísimo, al Dr. Carlos Cervantes por quien siempre busqué a las moléculas en la investigación y en general a todos los que considero buenos profesores ya que de alguna manera han dejado huella en mí.

A los laboratorios de farmacología y bioquímica de la nutrición del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas y sobre todo a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo que me ha otorgado mucho conocimiento, considero que me formé conforme a su misión humanista. Sintiéndome orgulloso de egresar de esta majestuosa Universidad, siempre pondré en alto su nombre, como NICOLAITA.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	I
ÍNDICE DE TABLAS	I
ABREVIATURAS.....	II
RESUMEN	IV
ABSTRACT.....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. La biotina.....	1
1.2. Función clásica de la biotina en animales.....	1
1.3. Funciones de la biotina a concentraciones farmacológicas.....	3
1.4. Biotinilación de histonas.....	4
1.5. Vía de señalización de la guanilato ciclasa soluble/ proteína cinasa G (GC/PKG).....	4
1.6. Función en la regulación de la expresión de genes.....	5
1.7. Efecto sobre el metabolismo de carbohidratos.....	5
1.8. Efecto en el metabolismo de los lípidos.....	6
2. PRESIÓN ARTERIAL.....	6
2.1. MODULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL SANGUÍNEA.....	7
2.1.1. REGULACIÓN NERVIOSA: CONTROL RÁPIDO DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	7
2.1.1.1. Barorreceptores.....	8
2.1.1.2. Quimiorreceptores carotídeos y aórticos.....	9
2.1.1.3. Receptores de baja presión.....	9
2.1.2. SISTEMA DE REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL A LARGO PLAZO.....	9
2.1.2.1. Sistema de líquidos renal corporal.....	10
2.1.2.2. Sistema renina angiotensina.....	10
2.1.2.3. Componentes del sistema renina angiotensina.....	10
2.1.3. CONTROL HUMORAL.....	11
2.1.3.1. RECEPTORES ADRENÉRGICOS.....	12
2.1.3.2. SUSTANCIAS VASOCONSTRICTORAS.....	13
2.1.3.2.1. Noradrenalina y adrenalina.....	13
2.1.3.2.2. Angiotensina II.....	13
2.1.3.2.3. Vasopresina.....	13

2.1.3.3.	SUSTANCIAS VASODILATADORAS	14
2.1.3.3.1.	Óxido nítrico.....	14
2.1.3.3.2.	Prostaglandinas.....	15
2.1.3.3.3.	Bradicinina.....	15
2.1.3.3.4.	Histamina	16
2.2.	MECANISMOS RENALES	17
3.	HIPERTENSIÓN.....	24
3.1.	Definición	24
3.2.	Clasificación.....	24
3.2.1.	Según la presión sanguínea.....	25
3.2.2.	Según la etiología	25
3.2.2.1.	Hipertensión primaria o esencial	25
3.2.2.2.	Hipertensión secundaria	25
3.3.	ALTERACIONES RENALES.....	26
3.3.1.	Hipertensión y nefropatía	27
3.3.2.	Papel del riñón en la hipertensión arterial esencial.....	27
4.	MODELOS ANIMALES DE ESTUDIO.....	29
4.1.	Hipertensión genética	29
4.1.1.	Ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	29
4.1.2.	Ratas Dahl sensible a la sal.....	29
4.1.3.	Modelos de hipertensión transgénicos.....	29
4.1.4.	Ratas hipertensas al límite.	30
4.2.	Hipertensión renal.....	30
4.2.1.	Hipertensión renovascular.	30
4.2.2.	Hipertensión renopriva	30
4.3.	Hipertensión endocrina.....	31
4.3.1.	Sal y mineralocorticoides.	31
4.3.2.	Hipertensión inducida por el entorno y psicosocial.....	31
4.4.	Hipertensión neurógena.	32
4.5.	Hipertensión por la inhibición crónica de la sintasa de óxido nítrico.	32
4.6.	Hipertensión inducida por Ang II.....	33
4.7.	Hipertensión inducida dietéticamente.	33

5.	ANTECEDENTES.....	34
5.1.	Uso de vitaminas como fármacos	34
5.2.	Efecto antihipertensivo de la biotina	35
6.	JUSTIFICACIÓN.....	36
7.	HIPÓTESIS.....	37
8.	OBJETIVO GENERAL.....	37
9.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
10.	METODOLOGÍA.....	38
10.1.	Modelo experimental.....	38
10.2.	Protocolo experimental.....	39
10.3.	Riñón aislado y perfundido	40
10.4.	Efecto <i>in vitro</i> del captopril sobre la respuesta a fenilefrina de riñón aislado de rata.	41
10.5.	Análisis estadístico	41
11.	RESULTADOS	41
11.1.	Registro del consumo de agua y alimento de los animales	41
11.2.	Efecto de la biotina <i>ex vivo</i> sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón derecho de ratas control y tratadas con L-NAME	42
11.3.	Efecto de la biotina <i>in vivo</i> sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón derecho de ratas tratadas con L-NAME	45
11.4.	Efecto de la biotina y el captopril <i>ex vivo</i> sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón derecho de ratas normotensas.	46
12.	DISCUSIÓN.....	48
13.	CONCLUSIONES	52
14.	REFERENCIAS.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la biotina.....	1
Figura 2. Reacciones catalizadas por las carboxilasas.....	3
Figura 3. Estructuras anatómicas del riñón.....	18
Figura 4. Circulación renal.....	19
Figura 5. Estructura anatómica de una nefrona yuxtglomerular	20
Figura 6. Aparato yuxtglomerular.....	23
Figura 7. Efecto de la biotina <i>ex vivo</i> sobre la respuesta a la fenilefrina sobre la presión de perfusión en riñón derecho de ratas normotensas.....	43
Figura 8. Comparación del efecto de la biotina a diferentes concentraciones <i>ex vivo</i> sobre la respuesta a la fenilefrina sobre la presión de perfusión en riñón derecho de ratas tratadas con L-NAME.....	44
Figura 9. Efecto de la biotina <i>in vivo</i> sobre la respuesta a la fenilefrina sobre la presión de perfusión en riñón derecho de ratas tratadas con L-NAME.....	45
Figura 10. Efecto de la biotina y el captopril <i>ex vivo</i> sobre la respuesta a la fenilefrina sobre la presión de perfusión en riñón derecho de ratas normotensas.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la presión sanguínea.....	25
Tabla 2. Consumo de agua y alimento.....	42

ABREVIATURAS

ACC: Acetil coenzima A carboxilasa.

ADc: Adenilato ciclasa.

AMP: Adenosina monofosfato.

AMPc: Adenosina monofosfato cíclico.

Ang I: Angiotensina I.

Ang II: Angiotensina II.

AT: Receptor de angiotensina II.

AT₁: Receptor tipo 1 de angiotensina II.

AT₂: Receptor tipo 2 de angiotensina II.

BHR: Ratas hipertensas al límite.

DAG: Diacilglicerol.

DOCA: 11-desoxicorticosterona.

ECA: Enzima convertidora de angiotensina.

eNOS ó NOS III: Sintasa de óxido nítrico endotelial.

FG: Filtrado glomerular.

GCs: Guanilato ciclasa soluble.

GMPc: Guanosil monofosfato cíclico.

HCS: Holocarboxilasa sintetasa.

HTA: Hipertensión arterial.

iNOS ó NOS II: Sintasa de óxido nítrico inducible.

i.p.: Intraperitoneal.

IP₃: Inositol trifosfato.

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

MCC: Metilcrotonil-CoA carboxilasa

NA: Noradrenalina.

nNOS NOS I: Sintasa de óxido nítrico neuronal.

NO: Óxido nítrico.

NOS: Sintasa de óxido nítrico.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PA: Presión arterial.

PC: Piruvato carboxilasa.

PCC: Propionil coenzima A carboxilasa.

PKC: Proteína cinasa C.

PKG: Proteína cinasa G.

SAD: Denervación de barorreceptores sinoaortic.

SHR: Ratas espontáneamente hipertensas.

SHRSP: Ratas espontáneamente hipertensas propensas a infarto

SMVT: Transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio.

SSA: Secretaría de Salud.

WKY: Ratas normotensas Wistar-Kyoto

RESUMEN

La hipertensión arterial contribuye al desarrollo de cardiopatías, accidentes cerebrovasculares e insuficiencia renal. En México la hipertensión arterial afecta a 31.5% de los adultos y el hecho de que reciban tratamiento farmacológico no garantiza tener un control de la hipertensión. Por ello es necesario modificar otros factores de riesgo asociados con esta patología (obesidad, tabaquismo, vida sedentaria, ingesta elevada de sodio, etcétera) y mejorar los tratamientos farmacológicos.

Actualmente existen diferentes fármacos antihipertensivos que actúan sobre los diferentes sistemas involucrados en el control de la presión arterial. La biotina es una vitamina que participa como cofactor de las carboxilasas y se ha reportado que a concentraciones farmacológicas modifica la expresión génica y que además 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 y que sugiere que el mecanismo de la acción hipotensora de la biotina puede estar mediado por la activación de la guanilato ciclasa soluble de manera independiente a la formación de óxido nítrico. Existe contradicción con otro estudio donde se propone que la generación de óxido nítrico en células linfoides humanas depende de biotina. El presente trabajo aporta un avance en el conocimiento del mecanismo de acción del efecto hipotensor de la biotina, para lo cual se realizaron dos estudios, *ex vivo* e *in vivo*. Para los estudios *ex vivo* e *in vivo*, las ratas se dividieron en dos grupos experimentales para cada uno: control y L-NAME (deficiente de óxido nítrico), L-NAME y L-NAME biotina, respectivamente. El riñón derecho se extrajo y se realizaron curvas concentración-respuesta graduales a fenilefrina con administración de biotina. En conclusión, los resultados sugieren que la biotina no ejerce un efecto antihipertensivo a nivel renal.

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

ABSTRACT

Hypertension contributes to the development of heart disease, stroke and kidney failure. In Mexico, hypertension affects 31.5% of adults and the fact that they receive drug treatment does not guarantee to have control of hypertension. It is necessary to modify other risk factors associated with this disease (obesity, harmful habits such as smoking, a sedentary lifestyle, high sodium intake, and so on) and improve the pharmacological treatments.

Currently there are different antihypertensive drugs acting on different systems involved in the control of blood pressure. Biotin is a vitamin cofactor involved as carboxylases and it is reported to a therapeutic drug changes gene expression and takes part in several biological processes. It has been reported that biotin has an antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats, being the only animal study. It suggests that the mechanism of the hypotensive action of biotin may be by the activation of guanylate cyclase independently to the formation of nitric oxide. There is another study that suggests the generation of nitric oxide in human lymphoid cells depends of biotin. This work provides an advance in the understanding of the mechanism of action of the antihypertensive effect of biotin for which two studies, *ex vivo* and *in vivo* were performed. For *ex vivo* and *in vivo*, rats were divided into two experimental groups for each one: control and L-NAME (deficient of nitric oxide), L-NAME and L-NAME biotin respectively. The right kidney was removed and gradual concentration-response curves to phenylephrine administration of biotin were performed. In conclusion, the results suggest that biotin does not have an antihypertensive effect at kidney.

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

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La biotina

La biotina (vitamina B7 o H) es una vitamina hidrosoluble esencial para la vida de todos los organismos, la pueden sintetizar las plantas, la mayoría de las bacterias y algunos hongos. Fue descubierta por Boas y caracterizada por Kogl y Tonnis (1932) como un factor indispensable para el crecimiento de levaduras ⁽³²⁾. Químicamente es un compuesto heterocíclico, con un anillo de imidazolidona enlazado a un anillo de tetrahidrotiofeno y unido con una cadena lateral de ácido valérico (figura 1). En todos los organismos, sirve como cofactor de enzimas implicadas en la transferencia de CO₂ durante las reacciones de carboxilación, descarboxilación y transcarboxilación ⁽¹⁾.

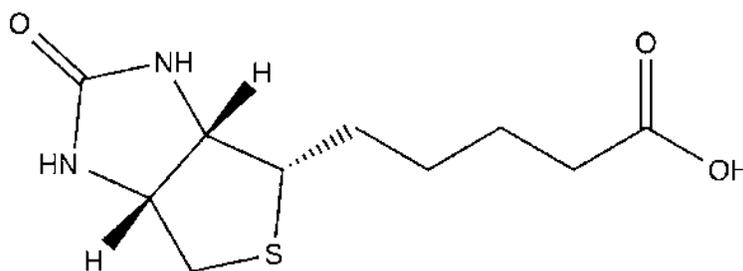


Figura 1. Estructura química de la biotina. Es un compuesto heterocíclico, con un anillo de imidazolidona, unido a un anillo de tetrahidrotiofeno y con un ácido valérico unido lateralmente ⁽¹⁾.

1.2. Función clásica de la biotina en animales

La función clásica de la biotina tanto en animales como en plantas, es la de participar como grupo prostético de las carboxilasas: acetil-CoA carboxilasa (ACC 1 y 2), piruvato carboxilasa (PC), propionil-CoA carboxilasa (PCC) y metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC) (figura 2). Las carboxilasas son sintetizadas como

apocarboxilasas y participan en diversos procesos metabólicos como la gluconeogénesis, la lipogénesis, la oxidación lipídica y el catabolismo de aminoácidos ⁽⁵⁴⁾.

Los animales no pueden sintetizar biotina, por lo que es necesario consumirla en la dieta diaria. La biotina se encuentra en los alimentos principalmente 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. La biotina que se encuentra unida a péptidos debe ser hidrolizada para su absorción, rompiendo el enlace semipeptídico por la acción de la biotinidasa pancreática. La biotina libre se absorbe por los enterocitos de la porción distal del duodeno y proximal del yeyuno y posteriormente pasa al torrente sanguíneo. Entra a las células mediante un transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) que reconoce principalmente la porción del ácido valérico de la biotina ^(1, 68).

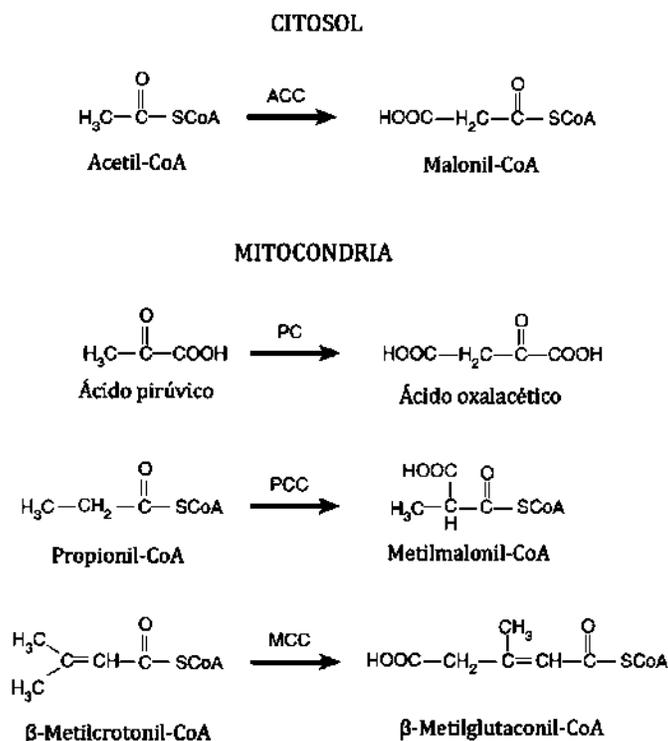


Figura 2. Reacciones catalizadas por las carboxilasas. ACC, acetil carboxilasa; PC, Piruvato carboxilasa; PCC, Propionil-CoA carboxilasa; MCC, Metilcrotonil-CoA carboxilasa ⁽¹⁾.

1.3. Funciones de la biotina a concentraciones farmacológicas

La biotina, a concentraciones farmacológicas, modifica funciones biológicas como la proliferación celular, el desarrollo embrionario, funciones inmunológicas y el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Esto a través de un efecto sobre la expresión genética ^(68, 78).

El efecto en la expresión de genes no se debe sólo a la biotina, sino también a sus metabolitos y algunos derivados sintéticos y no parece estar mediado por el incremento en la actividad de las carboxilasas ⁽¹⁾.

En cultivos celulares utilizados por Rodríguez y Zemleni (2009) así como por Vilches *et al.* (2010), los efectos biológicos de la biotina se han observado a

concentraciones farmacológicas desde 0.01 $\mu\text{mol/L}$ a 1 $\mu\text{mol/L}$ y en modelos animales (ratón y rata) desde 2 mg/kg de peso hasta 14 mg/kg de peso y en personas desde 5 mg hasta 15 mg/diarios ⁽¹⁾.

Hasta el momento, se han propuesto dos mecanismos para explicar el efecto de la biotina sobre la expresión génica derivados de estudios realizados en cultivos primarios de hepatocitos de rata por Vesely (1982), líneas celulares por Peters *et al.* (2002), y en células humanas por Stanley *et al.* (2001) ^(47, 58, 67). El primero es a través de la vía de señalización de la guanilato ciclasa soluble/proteína cinasa G (GCs/PKG). Y el segundo es la biotinilación de histonas. Estos mecanismos no son necesariamente excluyentes, por lo que podrían coexistir ⁽¹⁾.

1.4. Biotinilación de histonas

Existen estudios en diversos tipos celulares que demuestran que la biotina se une a proteínas de histonas de manera específica y se sugiere que podría modificar la expresión génica a este nivel molecular ⁽²⁸⁾. Entre las funciones relacionadas con la biotinilación de histonas están un decremento de linfocitos polimorfonucleares durante la proliferación celular, cambios durante el ciclo celular de células de sangre periférica humana, control epigenético y prevención en daños al ADN ^(1, 36, 58, 75, 76, 77).

1.5. Vía de señalización de la guanilato ciclasa soluble/ proteína cinasa G (GC/PKG)

Existen estudios realizados por Vesely (1982) que demostraron que la adición de biotina en diversas líneas celulares incrementaba la actividad de la guanilato ciclasa soluble (GCs). A su vez, Spence y Koudelka encontraron un

aumento en las concentraciones intracelulares de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) en cultivos de hepatocitos ⁽⁵⁶⁾. El grupo de Stockert y Ren (1997) encontró que la activación de la cinasa PKG conduce a un aumento en la fosforilación y activación de la subunidad α -COP31 (proteína coatomérica de 140 kDa asociada a un complejo de traducción en la región trans de la membrana del Golgi) y del receptor de la insulina. Rodríguez y colaboradores encontraron un aumento en el GMPc y en la actividad de la cinasa PKG en células linfoides humanas ⁽⁶⁰⁾.

A partir de entonces se identificó como denominador común del efecto de la biotina, el incremento en la actividad de la GCs, la elevación de las concentraciones de GMPc y la participación de la cinasa PKG ⁽¹⁾.

1.6. Función en la regulación de la expresión de genes

Además de los antecedentes de Zemleni (2005) y Vilches y Fernández (2005) que evidencian que la biotina a concentraciones farmacológicas regula la expresión génica, se tienen estudios con microarreglos realizados por Wiedmann (2004) en personas adultas sanas, donde 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 mononucleadas 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) ^(44, 51, 55).

1.7. Efecto sobre el metabolismo de carbohidratos

En estudios clínicos se encontró que pacientes con diabetes tipo 1 tratados con biotina durante una semana y sin recibir insulina exógena, disminuyeron sus concentraciones de glucosa en ayuno ⁽¹³⁾. 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 ⁽¹⁾.

1.8. Efecto en el metabolismo de los lípidos

La biotina interviene como cofactor de las carboxilasas ACC 1 y 2, enzimas cruciales en la síntesis y oxidación de ácidos grasos respectivamente, existe una relación directa entre esta vitamina y el metabolismo de lípidos ^(15, 61). La administración de biotina (5 mg/día) durante 4 semanas en pacientes con aterosclerosis e hipercolesterolemia, produjo un decremento en las concentraciones de colesterol total ⁽¹⁹⁾. Por otra parte, en el estudio realizado por Marshall y colaboradores, se encontró que la biotina disminuye la hiperlipemia en voluntarios sanos ⁽³⁹⁾.

En ratas con predisposición a desarrollar diabetes y resistencia a insulina, el tratamiento con biotina disminuyó las concentraciones de lípidos séricos. Báez y colaboradores encontraron que el tratamiento con 5 mg de biotina, tres veces al día, disminuyó las concentraciones de triglicéridos plasmáticos en pacientes diabéticos y normoglucémicos ⁽²⁾.

2. PRESIÓN ARTERIAL

La presión arterial (PA) es la fuerza ejercida por la sangre contra los vasos arteriales. Se considera que la PA es controlada por dos factores que son el gasto cardíaco y por la resistencia periférica total.

La presión arterial tiene dos componentes: la presión arterial sistólica y la arterial diastólica. La presión arterial sistólica es la fuerza ejercida por la sangre

sobre la pared arterial cuando el corazón se encuentra contraído, en tanto que la presión arterial diastólica es la fuerza ejercida por la sangre sobre la pared arterial cuando el corazón se encuentra relajado. En cuanto a su clasificación y criterios diagnósticos se utilizan las siguientes definiciones con sus rangos respectivos de valores ⁽⁵⁷⁾.

- I. Presión arterial óptima: < 120/80 mm Hg
- II. Presión arterial normal: 120-129/80-84 mm Hg
- III. Presión arterial normal alta: 130-139/85-89 mm Hg

2.1. MODULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL SANGUÍNEA

Son múltiples los mecanismos conocidos que intervienen en el control de la presión arterial sanguínea que mantienen una estrecha interrelación garantizando la homeostasis del organismo ⁽²⁷⁾. Entre estos tenemos los siguientes:

2.1.1. REGULACIÓN NERVIOSA: CONTROL RÁPIDO DE LA PRESIÓN ARTERIAL.

El sistema nervioso controla la circulación casi totalmente a través del sistema nervioso autónomo, siendo el sistema nervioso simpático la parte más importante de regulación de éste, aunque sin olvidar que también el sistema nervioso parasimpático contribuye a dicho control, por su regulación en la función cardíaca ⁽²⁷⁾.

Una de las funciones más importantes del control nervioso sobre la circulación es el provocar incrementos rápidos en la presión arterial. Para esto ocurren tres cambios importantes en forma simultánea que conllevan al aumento de la presión arterial (PA):

1. Las arteriolas se contraen, lo que conlleva al incremento de la presión arterial debido al aumento de la resistencia periférica total.
2. 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 en las cámaras de este órgano, induciendo un latido más potente y bombeo de mayores cantidades de sangre con el subsecuente aumento de presión arterial.
3. El sistema nervioso autónomo estimula directamente al corazón lo que potencia la bomba cardiaca.

Una de las características más importantes del control nervioso de la presión arterial es la rapidez de respuesta, que comienza en segundos y aumenta en 5-10 segundos el doble de la presión arterial con respecto a lo normal, por lo contrario, la inhibición brusca del control nervioso disminuye a la mitad del valor normal los valores de la presión arterial en 10-40 s ⁽²⁷⁾.

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:

2.1.1.1. Barorreceptores

Los cambios en la presión arterial sanguínea generan un reflejo que se inicia en los receptores de estiramiento o barorreceptores situados en puntos específicos en las paredes de grandes arterias sistémicas de gran tamaño. El aumento de la presión arterial estira los barorreceptores y hace que transmitan señales al sistema nervioso central. Posteriormente, las señales de retroalimentación llegan a través del sistema nervioso autónomo hacia la circulación para reducir la presión arterial hasta valores normales ⁽²⁷⁾.

Los barorreceptores se estimulan en los cambios de presión de entre 60-180 mm Hg. El aumento de la PA inhibe el centro vasoconstrictor del bulbo y excita el centro parasimpático vagal. Obteniendo dos efectos globales: la vasodilatación periférica, la disminución de la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción con la consiguiente disminución de la PA y disminución del gasto cardíaco ⁽²⁷⁾.

2.1.1.2. Quimiorreceptores carotídeos y aórticos.

Los quimiorreceptores funcionan de manera muy similar a los barorreceptores y son los que la respuesta nerviosa utiliza para controlar la presión arterial. Los quimiorreceptores están formados por células quimiosensibles a la ausencia de oxígeno, aumento de dióxido de carbono (CO₂) y al exceso de iones de hidrógeno ⁽²⁷⁾.

2.1.1.3. Receptores de baja presión

Funcionan de manera similar a los barorreceptores, son capaces de minimizar los cambios de presión arterial en respuesta a los cambios de volumen de sangre ⁽²⁷⁾.

2.1.2. SISTEMA DE REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL A LARGO PLAZO.

El sistema de regulación de PA a largo plazo está relacionado con la homeostasis del volumen del cuerpo en el organismo, determinado por el balance ingesta-eliminación de líquidos. La ingesta-eliminación de líquidos deben estar equilibrados con exactitud para ello se cuenta con mecanismos nerviosos,

hormonales y por los sistemas locales renales que regulan la excreción de sodio y agua ⁽²⁷⁾.

2.1.2.1. Sistema de líquidos renal corporal

El sistema de líquidos renal corporal para el control de la PA actúa de la siguiente manera, cuando el organismo tiene mucho líquido extracelular aumenta el volumen de sangre y la PA. El aumento de la PA hace que los riñones excreten el exceso de líquido extracelular, con lo que se normaliza los valores de la presión arterial ⁽²⁷⁾.

2.1.2.2. Sistema renina angiotensina

La renina, es una enzima proteica liberada por los riñones cuando la PA desciende demasiado. A su vez, la renina eleva los valores de la PA de varias formas con lo que ayuda a compensar el descenso de ésta. Una de estas formas es segmentado, el deca péptido angiotensina I de la porción amino terminal del angiotensinógeno (sustrato de la renina). Enseguida, la enzima convertidora de angiotensina (ECA) elimina el dipéptido carboxilo terminal de la angiotensina I para producir el octapéptido angiotensina II, que es una sustancia vasoconstrictora muy potente ⁽²⁵⁾.

2.1.2.3. Componentes del sistema renina angiotensina.

El volumen de liberación de renina es el principal determinante en la tasa de producción de angiotensina II. La renina se sintetiza, almacena y secreta hacia la circulación renal por las células yuxtaglomerulares y se excreta por exocitosis. La renina es una proteasa de aspartilo. Su sustrato natural es el angiotensinógeno, una globulina α_2 circulante que es secretada por los hepatocitos. El

angiotensinógeno es una glucoproteína globular abundante. Por su parte, la enzima convertidora de angiotensina (ECA, cinasa II, carboxipeptidasa de dipeptidilo) es una ectoenzima y una glucoproteína. Las angiotensinasas se refieren a diversas peptidasas que participan en la desintegración e inactivación de péptidos angiotensina; ninguna es específica ⁽²⁵⁾.

Los receptores de Ang II son receptores heptahelicoides específicos acoplados a proteína G ⁽¹⁷⁾ y es a través de éstos que la Ang II ejerce sus efectos. Los dos subtipos de receptores de angiotensina ⁽⁷²⁾ se designan en la actualidad AT₁ y AT₂ ⁽⁷⁾. Casi todos los efectos biológicos conocidos de la angiotensina II son mediados por el receptor AT₁ ⁽²⁵⁾.

El sistema renina angiotensina contribuye al control de la presión sanguínea, controlando en volumen de fluido extracelular y mediante la síntesis de Ang II. La Ang II aumenta la contractilidad miocárdica, estimula la liberación de aldosterona y catecolaminas de la médula adrenal y de las terminaciones nerviosas simpáticas, incrementando la actividad del sistema nervioso simpático e incrementando la reabsorción de agua en los intestinos y el riñón (Fig. 4) ⁽¹⁴⁾.

2.1.3. CONTROL HUMORAL

El control humoral puede incrementar y disminuir la presión sanguínea, mediante sustancias vasoconstrictoras, vasodilatadoras y de la regulación del volumen sanguíneo ⁽²⁵⁾.

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 relajantes (óxido nítrico, prostaciclina, adenosina y péptido natriurético C) y factores de contracción (tromboxano A₂, endotelina-1, angiotensina II y el anión superóxido). 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 ⁽⁶⁵⁾.

2.1.3.1. RECEPTORES ADRENÉRGICOS

Los receptores adrenérgicos son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G y se dividen en tres tipos: α_1 , α_2 y β con base en su farmacología, estructura y mecanismos de señalización ^(8, 35).

Los receptores adrenérgicos α_1 actúan por estimulación de una fosfolipasa C, vía proteína G_q , generando inositol trisfosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). Estos segundos mensajeros producen movilización intracelular de Ca^{2+} (por activación de canales dependientes e independientes de voltaje) y activación de proteína cinasa C (PKC), respectivamente; además, activan la fosfolipasa A2 y D, liberan ácido araquidónico y forman AMP_c ⁽⁶⁶⁾.

El principal mecanismo efector de los receptores α_2 es una disminución de los niveles intracelulares del AMP_c que resulta de un acoplamiento negativo con la adenilato ciclasa, vía proteína G_i ⁽⁶⁶⁾. Periféricamente producen contracción del músculo liso vascular, inhibición de la lipólisis e hiperpolarización de los ganglios simpáticos ⁽⁶⁶⁾.

Todos los receptores β estimulan la adenilato ciclasa, vía proteína G_s , incrementando los niveles de AMP_c , lo que a su vez puede activar a la cinasa dependiente de AMP_c ⁽⁶³⁾. Existen tres subtipos de receptores β : β_1 , β_2 y β_3 . Los receptores β_1 predominan en corazón y en 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 respectivamente. Los receptores β_3 están involucrados en la regulación de cambios en el metabolismo energético y termogénesis inducidos por noradrenalina ⁽⁶⁶⁾.

2.1.3.2. SUSTANCIAS VASOCONSTRICTORAS

2.1.3.2.1. Noradrenalina y adrenalina

La noradrenalina es un neurotransmisor 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 ⁽²⁵⁾.

2.1.3.2.2. Angiotensina II

Es una hormona fundamental en la regulación de la PA, componente del sistema renina angiotensina. Como se describió anteriormente 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 ⁽²⁵⁾.

2.1.3.2.3. Vasopresina

También conocida como hormona antidiurética, es un vasoconstrictor más potente en comparación que la angiotensina II, por lo que se convierte en una de las sustancias vasoconstrictoras más potentes del organismo. Una de sus funciones muy importante es el provocar el aumento de la reabsorción de agua de los túbulos renales hacía la sangre, es decir, ayuda a controlar el volumen de líquido corporal ⁽²⁵⁾.

2.1.3.3. SUSTANCIAS VASODILATADORAS

2.1.3.3.1. Óxido nítrico

El NO es 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 N^G-hidroxi-L-arginina y posteriormente la N^G-oxo-L-arginina de mayor estado de oxidación. De esta reacción se libera óxido nítrico y citrulina, por un reacomodo intramolecular ⁽⁴¹⁾.

El NO es producido según sea necesario, no se almacena como otros mensajeros y es altamente reactivo. Las concentraciones *in vivo* de NO son bajas, de nanomolares a micromolares. A concentraciones bajas nanomolares, la activación de la guanilato ciclasa soluble (GCs), principal receptor de NO, resultan en la elevación de GMP cíclico intracelular (cGMP). En la ausencia de NO, la GCs muestra muy baja actividad basal ⁽³⁸⁾.

Existen cambios conformacionales de la proteína tras la unión de NO al grupo hemo que provocan la activación de la sGC y la consecuente elevación de las concentraciones intracelulares de GMPc 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)⁽³⁸⁾.

2.1.3.3.2. Prostaglandinas

Las prostaglandinas PGE₂ y PGI₂ provocan vasodilatación, en el riñón aumentan el flujo sanguíneo renal y el filtrado glomerular 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 ⁽²⁷⁾.

2.1.3.3.3. 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 ⁽²⁵⁾.

La bradicinina es un nonapéptido y a diferencia de este, la calidina posee un residuo de lisina adicional en la terminación amino. Ambos son sintetizados en el hígado y circulan en el plasma. Los precursores en cuestión son los llamados cininógenos. Varias de las proteasas de serina generan cininas, aunque cabe mencionar, que a las proteasas altamente específicas que liberan bradicinina y calidina a partir de los cininógenos reciben el nombre de calicreínas ⁽²⁵⁾.

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 un constitutivo de casi todos los tejidos normales. Los receptores B2 median la mayoría de los efectos de la bradicinina y calidina en ausencia de la inflamación ⁽²⁵⁾.

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 ⁽²⁵⁾.

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 ⁽²⁵⁾.

2.1.3.3.4. Histamina

La histamina es un mediador químico preformado en las células cebadas, cuya liberación depende de la interacción del antígeno con los anticuerpos Ig E 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 ⁽²⁴⁾.

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 ⁽²⁴⁾.

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 ⁽²⁴⁾.

2.2. MECANISMOS RENALES

Los riñones son los principales medios de eliminación de los productos de desecho del metabolismo y son indispensables para el mantenimiento de la homeostasis, la excreción de agua y electrolitos, los cuales deben ser correspondientes a su ingreso (deben ajustar su excreción a su ingestión) ⁽²⁷⁾.

Además, los riñones desempeñan otras funciones igual de importantes una de ellas, que es de nuestro interés, es que poseen una función dominante en la regulación a largo plazo de la presión arterial, al excretar grandes cantidades de sodio y agua. Sin embargo, los riñones también contribuyen a la regulación a corto plazo de la PA mediante la secreción de factores vasoactivos, como la renina que da formación a la angiotensina II, cuya función ya fue explicada anteriormente ⁽²⁷⁾.

En cuanto a su ubicación, los riñones se disponen en la pared posterior del abdomen, fuera de la cavidad peritoneal. La cara media de cada riñón contiene una región con una muesca llamada hilio, por la que pasan la arteria y vena renales, los vasos linfáticos, la inervación y el uréter, que transportan la orina final desde el riñón hasta la vejiga. Si se cortan los riñones de arriba abajo, las dos regiones principales que pueden verse son la corteza externa y la región interna denominada médula (figura 3) ⁽²⁷⁾.

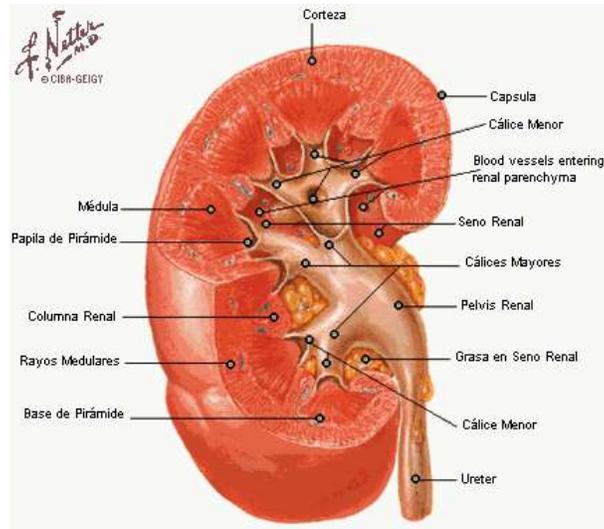


Figura 3. Estructuras anatómicas del riñón. Corteza externa y región interna (médula) del riñón (27).

El riego sanguíneo de los riñones es normalmente del 22% del gasto cardíaco, o 1,100 ml/min. La arteria renal entra en el riñón a través del hilio y después se ramifica progresivamente hasta formar las arterias: interlobulares, arciformes, interlobulillares (arterias radiales) y las aferentes, que acaban en los capilares glomerulares. Los extremos distales de cada glomérulo se unen hasta formar la arteriola eferente (figura 4) (27).

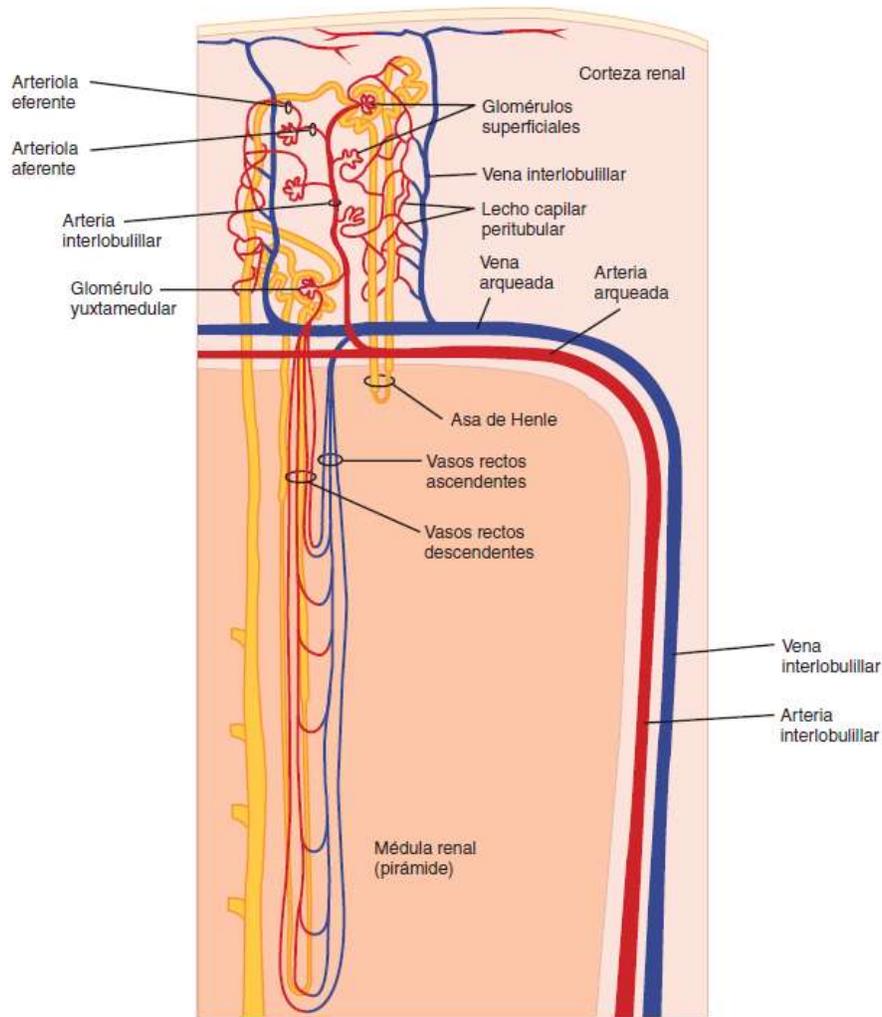


Figura 4. Circulación renal. Las arterias interlobulillares se dividen en arqueadas, que emiten arterias interlobulillares en la corteza. Las arterias interlobulillares originan una arteriola aferente para cada glomérulo. La arteriola eferente de cada glomérulo se ramifica en capilares que abastecen de sangre a los túbulos renales. La sangre venosa entra en las venas interlobulillares, la cual, a su vez, fluye por medio de las venas arqueadas hasta las venas interlobulillares ⁽²²⁾.

Los capilares peritubulares se vacían en los vasos del sistema venoso, que discurren paralelos a los vasos arteriolares y forman progresivamente las venas: interlobulillar, arciforme, interlobular y la renal ⁽²⁷⁾.

Una estructura importante es la nefrona (figura 5) ya que es la unidad funcional del riñón, contiene un penacho de capilares glomerulares llamado

glomérulo, por el que se filtran grandes cantidades de la sangre y un túbulo largo en el que el líquido filtrado se convierte en orina en su camino a la pelvis del riñón.

Dentro de las estructuras de las nefronas se lleva a cabo la formación de orina que necesita de tres procesos que son el filtrado glomerular (FG), la reabsorción tubular y la secreción tubular ⁽²⁷⁾.

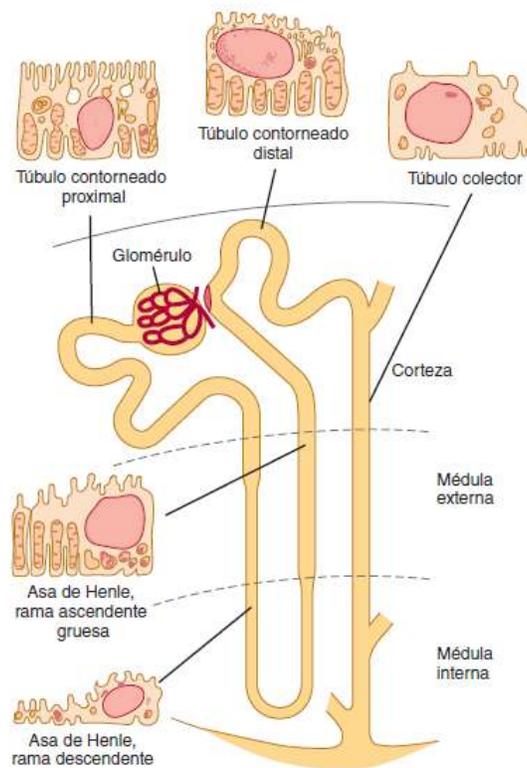


Figura 5. Estructura anatómica de una nefrona yuxtaglomerular. Anatomía de la nefrona: unidad básica y estructural del riñón, se muestran también las principales características histológicas de las células que constituyen cada porción del túbulo ⁽²²⁾.

En cuanto al flujo sanguíneo renal, está determinado por el gradiente de presión a través de los vasos renales (la diferencia entre las presiones hidrostáticas en la arteria renal y en la vena renal), dividido por la resistencia vascular renal total, dicho de otra forma:

$$\text{Flujo sanguíneo renal} = \frac{(\text{Presión arterial renal} - \text{Presión en vena renal})}{\text{Resistencia vascular renal total}}$$

La presión arterial renal es aproximadamente igual a la presión arterial sistémica y la presión en la vena renal es de media de 3-4 mm Hg en la mayoría de las condiciones. La mayor parte de la resistencia vascular renal reside en tres segmentos principales: las arterias interlobulillares, las arterias aferentes y las arteriolas eferentes. La resistencia de estos vasos está controlada por el sistema nervioso simpático, varias hormonas y mecanismos de control locales internos ⁽²⁷⁾.

Los cambios en la presión arterial sistémica ejercen cierta influencia sobre el flujo sanguíneo renal, los riñones tienen mecanismos efectores para mantener el flujo sanguíneo renal y el filtrado glomerular relativamente constantes entre los 80 y 170 mm Hg de presión arterial, un proceso llamado autorregulación ⁽²⁷⁾.

Los determinantes del filtrado glomerular que son más variables y que están sujetos al control fisiológico son la presión hidrostática glomerular y la presión coloidosmótica capilar glomerular. Estas variables a su vez están influenciadas por el sistema nervioso simpático, las hormonas y los autacoides (sustancias vasoactivas que liberan los riñones y actúan a nivel local) ⁽²⁷⁾.

Casi todos los vasos sanguíneos de los riñones, incluidas las arteriolas aferentes y eferentes, están inervados por fibras nerviosas simpáticas. La fuerte activación de los nervios simpáticos puede contraer las arteriolas renales y reducir el flujo sanguíneo renal y el FG. Los nervios simpáticos renales parecen más importantes para reducir el FG durante trastornos agudos y graves que duran de varios minutos a unas horas, como por ejemplo los provocados por reacciones inmunológicas, la isquemia encefálica o una hemorragia grave ⁽²⁷⁾.

Hay hormonas y autacoides que pueden influir en el FG y en el flujo sanguíneo renal, entre estos tenemos ⁽²⁷⁾:

- La noradrenalina, la adrenalina y la endotelina. La noradrenalina y la adrenalina constriñen las arteriolas aferentes y eferentes, reduciendo el FG y el flujo sanguíneo renal. Las concentraciones de estas hormonas son proporcionales a la actividad del sistema nervioso simpático. La endotelina es un péptido vasoconstrictor que es liberado por células endoteliales vasculares lesionadas de los riñones y de otros tejidos, cuando se secciona un vaso sanguíneo también se lesiona al endotelio, en consecuencia se liberará este péptido contribuyendo a la hemostasia minimizando la pérdida de sangre.
- La angiotensina II. Es un vasoconstrictor renal poderoso que se considera también como una hormona circulante y como un autacoide local porque se forma en los riñones y en la circulación sistémica. La angiotensina II contrae en específico las arteriolas eferentes y concentraciones elevadas de ella eleva por consecuencia la presión hidrostática glomerular así mismo reducen el flujo sanguíneo renal. Es importante señalar que el aumento en la formación de angiotensina II se debe a una reducción de la presión arterial o una pérdida de volumen, que tienden a reducir el FG.
- El óxido nítrico reduce la resistencia vascular renal, la producción de éste es importante para mantener la vasodilatación de los riñones. Esto permite a los riñones excretar cantidades normales de sodio y agua. La administración de fármacos que inhiban la formación normal de óxido nítrico incrementará la resistencia vascular renal y reducirá el FG y la excreción urinaria de sodio y en consecuencia se elevará la presión arterial.
- Las prostaglandinas PGE₂ y PGI₂ así como la bradicidina son capaces de amortiguar los efectos vasoconstrictores generados por los nervios simpáticos o de la Ang II, en especial sus efectos constrictores sobre las arteriolas aferentes. Al oponerse a la vasoconstricción de las arteriolas aferentes, las prostaglandinas pueden ayudar a impedir reducciones del FG y del flujo sanguíneo renal.

Otro mecanismo importante es la participación de la retroalimentación tubuloglomerular en la autorregulación del FG, para llevarla a cabo se necesita acoplar la concentración de sodio en la mácula densa al control de la resistencia arteriolar renal. Esta retroalimentación ayuda a asegurar una llegada relativamente constante de cloruro de sodio al túbulo distal, ayudando a evitar fluctuaciones falsas en la excreción renal. Este mecanismo tiene dos componentes que actúan en conjunto sobre el control del FG: dos mecanismos de retroalimentación, uno arteriolar aferente y otro arteriolar eferente, dependiendo de las disposiciones anatómicas del complejo yuxtaglomerular ⁽²⁷⁾.

El aparato yuxtaglomerular (figura 6) consta de las células de mácula densa en la porción inicial del túbulo distal y las células yuxtaglomerulares en las paredes de las arteriolas aferentes y eferentes. La mácula densa es un grupo de células epiteliales en los túbulos distales que entra en estrecho contacto con las arteriolas aferentes y eferentes ⁽²⁷⁾.

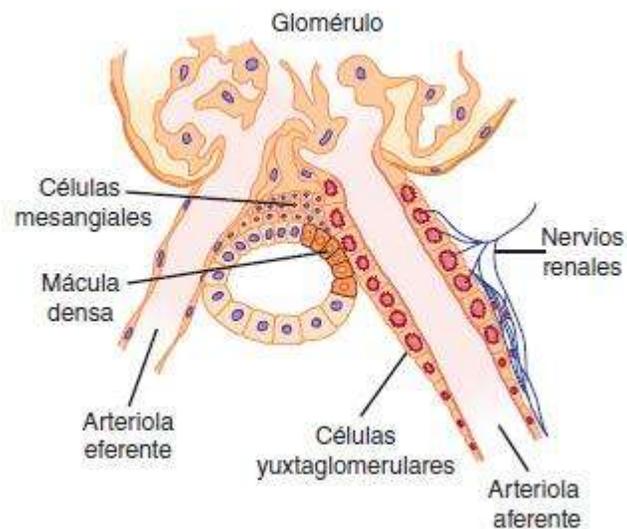


Figura 6. Aparato Yuxtaglomerular. Esquema del glomérulo que muestra el aparato yuxtaglomerular ⁽²²⁾.

Las células de la mácula densa perciben cambios en el volumen que llega al túbulo distal. Los estudios experimentales sugieren que la reducción del FG disminuye la velocidad de flujo que llega al asa de Henle, lo que aumenta la reabsorción de iones sodio y cloro en la rama ascendente del asa de Henle, hecho que disminuye la concentración de sodio en las células de la mácula densa. Esta reducción de la concentración de cloruro de sodio inicia una señal que parte de la mácula densa provocando dos efectos: la reducción de la resistencia al flujo sanguíneo en las arteriolas aferente y eferente, lo que eleva la presión hidrostática glomerular y ayuda a normalizar el FG y el aumento de la liberación de renina en las células yuxtaglomerulares de las arteriolas aferente y eferente, que son los principales reservorios de renina. La renina liberada de estas células actúa aumentando la formación de angiotensina I, que se convierte en angiotensina II. Finalmente, la angiotensina II contrae las arteriolas eferentes, con lo que aumenta la presión hidrostática glomerular y normaliza el FG ⁽²⁷⁾.

3. HIPERTENSIÓN

3.1. Definición

Es 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 ⁽⁵⁷⁾.

3.2. Clasificación

La hipertensión la podemos clasificar según los niveles de presión sanguínea o su etiología ⁽⁵⁷⁾.

3.2.1. Según la presión sanguínea.

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

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

Tabla 1. Clasificación de la presión sanguínea. Clasificación de la presión sanguínea según los niveles de presión ⁽⁵⁷⁾.

3.2.2. Según la etiología

3.2.2.1. Hipertensión primaria o esencial

Es el aumento de la presión arterial sanguínea presentada en la mayoría de los casos, no hay una causa orgánica identificable ⁽⁵⁷⁾.

3.2.2.2. Hipertensión secundaria

Aumento de la presión arterial sanguínea en donde se identifica alguna causa orgánica ⁽⁵⁷⁾:

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 pre-eclampsia y eclampsia.

3.3. ALTERACIONES RENALES

Las nefropatías se encuentran entre las causas más importantes de muerte e incapacidad en muchos países de todo el mundo. Las nefropatías graves pueden dividirse en dos categorías principales:

1. Insuficiencia renal aguda: en la que el riñón deja de trabajar bruscamente o por completo pero puede haber una recuperación total en sus funciones.
2. Insuficiencia renal crónica: en la que existe una pérdida progresiva de la función de las nefronas y en lo consecuente en la función global del riñón.

Dentro de estas dos categorías existen muchas nefropatías específicas que pueden afectar a los vasos renales, los glomérulos, los túbulos, el intersticio renal y partes de la vía urinaria fuera del riñón, el intersticio renal y partes de la vía urinaria fuera del riñón, incluyendo los uréteres y la vejiga.

Primeramente se abordarán las anomalías fisiológicas específicas que aparecen en algunos de los tipos más importantes de nefropatías ⁽²⁷⁾.

3.3.1. Hipertensión y nefropatía

La hipertensión puede exacerbar la lesión de los glomérulos y de los vasos sanguíneos de los riñones y es una causa importante de nefropatía terminal. En contraste, las anomalías de la función renal pueden provocar hipertensión. De este modo, la relación entre hipertensión y la nefropatía puede, en algunos casos, propagar un círculo vicioso: la lesión renal primaria aumenta la presión arterial, lo que a su vez lesiona más los riñones, aumenta más la presión arterial y así sucesivamente, hasta que produce la nefropatía terminal ⁽²⁷⁾.

3.3.2. Papel del riñón en la hipertensión arterial esencial

Un avance para entender el papel que tiene el riñón en el desarrollo de la hipertensión arterial esencial lo estableció Guyton y colaboradores (1972), quienes postularon un defecto patológico renal que impide la eliminación total del sodio ingerido ⁽²⁶⁾. Para lograrla debe incrementar la presión arterial con el fin de incrementar la presión de filtración en los glomérulos y de esta manera, aumentar la carga filtrada y la eliminación urinaria de sodio ⁽⁷⁴⁾. De este mecanismo existen pruebas consistentes, pero las causas del defecto patológico renal no han sido establecidas. Sin embargo, existen estudios que apuntan a que sean algunas causas y las más relevantes son las siguientes ⁽⁷⁴⁾:

1. Disminución del número de nefronas:

El mecanismo de hipertensión se basa en la hipótesis de la hiperfiltración publicada por Brenner y colaboradores en 1982, postulando cambios hemodinámicos glomerulares en respuesta a la pérdida de nefronas y establece el papel protagónico de la angiotensina II en ellos ⁽⁶⁾. Al disminuir el número de nefronas se produce un incremento de la filtración glomerular en cada una de las remanentes, para mantener la filtración glomerular global y la carga total filtrada de sodio. Este efecto se genera por el aumento local de angiotensina II, la que

determina vasoconstricción eferente, aumento de la presión intraglomerular e hipertensión. El aumento de la presión intraglomerular fomenta el tráfico de proteínas a través del glomérulo y del túbulo proximal, contribuyendo al desarrollo de esclerosis glomerular y fibrosis túbulointersticial ⁽⁷⁴⁾.

Además de los efectos hemodinámicos descritos, la angiotensina II modula el crecimiento celular renal y su aumento contribuye al desarrollo glomeruloesclerosis y fibrosis tubulointersticial. Además, estimula la producción de endotelina I y disminuye la síntesis de óxido nítrico potenciando su efecto vasoconstrictor. La hipertensión a la vez, determina esclerosis arteriolar aferente con isquemia tubular, inflamación intersticial y liberación de angiotensina II, aumentando el deterioro funcional y la fibrosis renal ⁽⁷⁴⁾.

2. Aumento de la reabsorción tubular de sodio:

La resistencia a la insulina, característica del síndrome metabólico, se asocia a un aumento de la reabsorción tubular de sodio, determinando una expansión de volumen extracelular que es compensada con hiperfiltración glomerular ⁽⁷⁴⁾.

3. Disfunción endotelial y daño renal renal:

Esta hipótesis postula el desarrollo de la hipertensión a consecuencia de lesiones endoteliales, seguidas de estrechamiento esclerótico de las arteriolas aferentes, isquemia tubular y fibrosis. La disfunción endotelial se debe a daños aislados o en combinación, como la hiperuricemia, envejecimiento, consumo de tabaco, hiperlipidemia, dieta pobre en potasio, abuso de analgésicos y aumento del tono simpático. Las lesiones estenosantes de las pequeñas arterias producen vasoconstricción renal, isquemia, aumento de angiotensina II, disminución de óxido nítrico y fibrosis intersticial, por lo cual se reduce la capacidad renal de excreción de sodio con expansión del volumen extracelular y cifras más altas de presión para eliminar el exceso de sodio y agua ⁽⁷⁴⁾.

4. MODELOS ANIMALES DE ESTUDIO

El uso de modelos animales adecuados para imitar la hipertensión humana pueden ofrecer información para comprender las causas y la progresión del estado de la enfermedad, así como la terapéutica potencial. Dentro de los modelos experimentales para el estudio de la hipertensión encontramos los siguientes ⁽⁷⁰⁾.

4.1. Hipertensión genética

4.1.1. Ratas espontáneamente hipertensas (SHR)

En este modelo las ratas desarrollan la hipertensión alrededor de las 4-6 semanas de edad sin intervención fisiológica, farmacológica o quirúrgica. La importancia de este modelo es la similitud de su fisiopatología con la hipertensión esencial en los seres humanos ⁽⁷⁰⁾.

4.1.2. Ratas Dahl sensible a la sal.

Estas ratas se convierten en hipertensas cuando se alimentan con una dieta normal de cloruro de sodio, lo que nos indica que es un modelo genético de hipertensión con la característica de la sensibilidad a la sal ⁽⁷⁰⁾.

4.1.3. Modelos de hipertensión transgénicos.

Los modelos de hipertensión transgénicos pueden ser generados por la sobreexpresión de un gen específico. Un representante de este tipo de hipertensión son las ratas TGR (mREN2) 27, ratas transgénica desarrolladas por Mullins y colaboradores que suprime la renina renal endógena ⁽⁷⁰⁾.

4.1.4. Ratas hipertensas al límite.

Las investigaciones que han utilizado las ratas hipertensas al límite (BHR), demuestran que los factores genéticos juegan un papel importante en la mediación del comportamiento y respuestas cardiovasculares a los factores de estrés ambiental. Las BHR son un modelo genético de hipertensión inducido por el medio ambiente, las ratas provienen de la primera cría filial de las cepas SHR y de las ratas normotensas Wistar-Kyoto (WKY). Las BHR poseen la información genética de ambos padres ⁽⁷⁰⁾.

4.2. Hipertensión renal.

4.2.1. Hipertensión renovascular.

Goldblatt y colaboradores indujeron una elevación de la PA por la constricción parcial de la arteria renal de perro. La técnica de Goldblatt consiste en la constricción de una o ambas arterias renales mediante el uso de una pequeña grapa de plata ajustable ⁽⁷⁰⁾.

Este modelo hipertensivo ha sido generalmente considerado ser dependiente del volumen de sodio-líquido y es un modelo ideal para estudiar el papel de la expansión de volumen en la desarrollo de la hipertensión; debido a la ausencia de un riñón normal, sin que ocurra un aumento compensatorio en sodio y de excreción de agua y por tanto, el volumen de líquido es retenido ⁽⁷⁰⁾.

4.2.2. Hipertensión renopriva

Reducción significativa de la masa de nefronas por nefrectomía subtotal en animales de experimentación o por diversas enfermedades en los seres humanos desencadena una serie de eventos que conducen a la glomeruloesclerosis, lesión

tubulointerstitial, proteinuria y la progresión enfermedad renal a la etapa terminal (70).

4.3. Hipertensión endocrina.

4.3.1. Sal y mineralocorticoides.

Los efectos renales de este modelo son similares al hiperaldosteronismo en los seres humanos. Garwitz y Jones demostraron que el acetato de 11-desoxicorticosterona (DOCA) y un alto contenido de sal en la dieta aumentan la presión arterial en un lapso de 3 semanas en conductos colectores corticales aislados perfundidos, pudiendo causar un aumento de 30 veces en la absorción de sodio. Por otra parte, hay una reducción en la actividad de la renina en plasma (23, 70).

4.3.2. Hipertensión inducida por el entorno y psicosocial.

Se ha reportado de la elevación de la presión arterial como consecuencia de la exposición repetida a situaciones de estrés lo cual puede conducir a un estado de hipertensión persistente. El estrés social crónico en el mundo moderno representa un factor de riesgo importante para el desarrollo de esta enfermedad cardiovascular (70).

En este tipo de modelo se han aplicado diferentes tipos de estrés, tales como estímulos emocionales, el estrés psicosocial, la inmovilización, la privación de alimentos y estímulos eléctricos, el ruido producido por el aire, luces intermitentes, el frío y la interacción de los miembros de un grupo social que compiten por la comida y el agua (70).

4.4. Hipertensión neurógena.

Los reportes sugieren que el sistema nervioso central participa en la génesis de la hipertensión. La hipertensión neurógena puede ser definida como un aumento permanente en PA, resultante de un cambio principalmente neuronal. La denervación de barorreceptores sinoaórticos (SAD) es el modelo de la hipertensión neurogénica más utilizado ⁽⁷⁰⁾.

4.5. Hipertensión por la inhibición crónica de la sintasa de óxido nítrico.

Baylis y colaboradores así como Ribeiro y colaboradores (1992) demostraron que la administración oral crónica de un inhibidor de la NO sintasa (L-NAME), promovía una hipertensión persistente asociada con lesión renal, caracterizada por glomeruloesclerosis, isquemia glomerular y la infiltración intersticial en el riñón ^(4, 49). Esta hipertensión está asociada con vasoconstricción periférica intensa con el consiguiente aumento de la resistencia vascular periférica ⁽⁷⁰⁾.

La inhibición crónica de las sintasas de óxido nítrico en ratas adultas produce disfunción endotelial, incremento de la respuesta vascular a los estímulos adrenérgicos y la inflamación perivascular ^(30, 31, 46, 64). Otros factores parecen estar involucrados en la hipertensión inducida por L-NAME como el sistema renina-angiotensina ⁽⁶²⁾, factores de constricción endotelial, la remodelación arterial y el sistema nervioso simpático (cuya actividad es modulada la disponibilidad de NO cerebral) ⁽⁴⁵⁾.

La producción deficiente de NO parece ser el principal factor responsable del desarrollo de la hipertensión inducida por L-NAME. Esta idea es respaldada por el hecho de que este tipo de hipertensión puede ser impedido por la administración de donadores de NO ⁽⁶⁵⁾.

La hipertensión por deficiencia de NO puede ser revertida mediante la eliminación de la causa de inicial (el cese de la administración de L-NAME) ⁽⁵⁾ o mediante la administración de diversos fármacos antihipertensivos. El tratamiento de las ratas con captopril, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), impidió el desarrollo de la hipertensión y la hipertrofia del ventrículo izquierdo en ratas tratadas con L-NAME, pero no afectó la inhibición de la sintasa de NO ^(5, 46). Esto sugiere que el sistema renina-angiotensina juega un papel considerable en el desarrollo de la hipertensión y la hipertrofia cardíaca ⁽⁶⁵⁾.

4.6. Hipertensión inducida por Ang II.

La Ang II como describimos anteriormente es un vasoconstrictor potente de la vasculatura periférica, así mismo induce el crecimiento de las células musculares lisas en los vasos sanguíneos y en el corazón. En una tasa de infusión la Ang II no origina inmediatamente un aumento de la PA sistémica sino que conduce a un lento desarrollo de la hipertensión en un período alrededor de 6 a 10 días ⁽⁷⁰⁾.

4.7. Hipertensión inducida dietéticamente.

Se sabe que la exposición a largo plazo a una dieta especial (alta en sal, grasa o azúcar) da lugar a la hipertensión en algunos animales o humanos. La reducción en la disponibilidad de NO en los animales alimentados con la dieta alta en grasas y azúcares se asoció con sensibilidad marcada a la sal, como lo demuestra un aumento significativo de la presión arterial con la dieta alta en sal ⁽⁷⁰⁾.

El alto consumo de fructosa en animales produce un modelo de síndrome metabólico con hipertensión, hiperlipidemia y resistencia a la insulina, lo que acelera en gran medida la progresión de la enfermedad renal crónica ⁽⁷⁰⁾.

5. ANTECEDENTES

5.1. Uso de vitaminas como fármacos

Las vitaminas son compuestos orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para el metabolismo y que las células no pueden fabricar (a excepción de muy pocas vitaminas) por lo que es necesario adquirirlas dentro de la alimentación ⁽²⁷⁾. Hay ciertas cantidades de requerimiento de las vitaminas para las personas que se deben ingerir diariamente, los cuales varían dependiendo de factores como la superficie corporal, la velocidad de crecimiento, la cantidad de ejercicio y el embarazo ⁽²⁷⁾.

El conocimiento de la función y los mecanismos moleculares de las vitaminas ha permitido el desarrollo de medicamentos que actualmente son usados en el tratamiento de diversas afecciones. Ejemplos de ellos son el extenso y profundo estudio de las acciones biológicas y mecanismos moleculares de las vitaminas liposolubles A y D ^(3, 11, 12, 29, 58, 73). Las investigaciones que permitieron revelar que la forma bioactiva de la vitamina D (1- α ,25-dihidroxicolecalciferol: 1-25[OH]₂D₃) posee efectos antiproliferativos, antidiferenciantes y antiangiogénicos, establecieron las bases para proponer su uso en el tratamiento en una amplia gama de tipos de cáncer ⁽¹¹⁾.

Por otra parte, derivados del ácido retinoico son actualmente usados en diversas afecciones como el cáncer, trastornos hematológicos y dermatológicos ^(29, 48). El papel del metabolismo de los retinoides sobre la secreción de insulina, la autoinmunidad pancreática, sensibilidad a la insulina y el metabolismo de los lípidos ⁽⁴⁸⁾, ha propiciado que compañías farmacéuticas y grupos de investigación estén desarrollando análogos de estos como estrategias terapéuticas para el tratamiento del síndrome metabólico y diabetes ^(37, 48). Otra vitamina, la niacina (vitamina hidrosoluble del complejo B), es usada desde 1955 en el tratamiento de

dislipidemias, existiendo en la actualidad amplios conocimientos sobre sus mecanismos de acción, lo que ha generado la producción de diversos fármacos que son comercializados por compañías farmacéuticas ^(10, 34).

5.2. Efecto antihipertensivo de la biotina

En el año 2008 Watanabe y colaboradores reportaron que concentraciones farmacológicas de biotina reducen la hipertensión en ratas de la cepa SHRSP (ratas espontáneamente hipertensas propensas a infarto). En este estudio la administración de biotina fue durante 8 semanas a una dosis de 1.2 mg por cada kilogramo de peso, observándose desde la segunda semana reducción de la presión arterial sistólica, así como reducción del engrosamiento de la arteria coronaria y la incidencia de ataque cardiaco. El efecto antihipertensivo de la biotina también fue observado de 6 a 10 horas después de la administración vía intraperitoneal de biotina utilizando dosis únicas de 0.5 y 5 mg.

También se observó que el pretratamiento con ODQ (inhibidor de la GCs) abolió el efecto hipotensor de la biotina, mientras que el pretratamiento con L-NAME (inhibidor de la óxido nítrico sintasa) no tuvo efecto sobre la actividad hipotensora de la biotina. Los resultados de este estudio sugieren que el mecanismo de la acción hipotensora de la biotina puede ser mediante la activación de la GCs, es decir, de manera independiente a la formación de óxido nítrico ⁽⁷¹⁾.

En contraste, en el estudio realizado por Rodríguez y colaboradores en el 2009, se percataron que la generación de NO en células linfoides humanas depende de biotina y que la generación de NO dependiente de esta vitamina está mediada por el aumento en la expresión de las óxido nítrico sintasas endotelial (eNOS) y neuronal (nNOS). Asimismo, encontraron que la generación de NO dependiente de la vitamina aumentó la actividad de la cinasa PKG dependiente de la generación de GMPc cuya abundancia también estaba incrementada. En

conclusión, el estudio de Rodríguez y colaboradores proponen que la biotina induce la síntesis de NO ⁽⁵⁰⁾.

6. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes o las enfermedades pulmonares crónicas han superado a las enfermedades infecciosas como principales causas de mortalidad en el mundo ⁽⁴³⁾.

Uno de los factores de riesgo clave de las enfermedades cardiovasculares es la hipertensión que afecta a mil millones de personas en el mundo y puede provocar infartos de miocardio y accidentes cerebrovasculares. Los investigadores calculan que la hipertensión es la causa por la que mueren anualmente nueve millones de personas ⁽⁴³⁾. La hipertensión contribuye al desarrollo de cardiopatías, accidentes cerebrovasculares e insuficiencia renal y a la mortalidad y discapacidad prematuras.

En 2008, en el mundo se habían diagnosticado de hipertensión aproximadamente el 40% de los adultos mayores de 25 años; el número de personas afectadas aumentó de 600 millones en 1980 a 1000 millones en 2008. La máxima prevalencia de hipertensión se registra en la Región de África, con un 46% de los adultos mayores de 25 años, mientras que la más baja se observa en la Región de las Américas, con un 35%. En general, la prevalencia de la hipertensión es menor en los países de ingresos elevados (35%) que en los países de otros grupos de ingresos, en los que es del 40% ⁽⁴³⁾. En México la HTA afecta a 31.5% de los adultos mexicanos y el recibir tratamiento farmacológico no garantiza tener un mayor control de la HTA ⁽⁹⁾. Las consecuencias adversas de la HTA para la salud son complejas, porque muchos afectados tienen además otros factores de riesgo que aumentan la probabilidad de infarto de miocardio, accidente

cerebrovascular e insuficiencia renal que son causas muy importantes de mortalidad en México ^(9, 43).

Por lo que los resultados de este trabajo de tesis, permitirán el avance en el conocimiento de los efectos y mecanismos moleculares de acción de la biotina de manera homóloga como lo es el estudio de otras vitaminas, para el uso en enfermedades. Ya que estableceremos si en un modelo de órgano aislado de rata, la biotina tiene un efecto antihipertensivo y en todo caso sí lo ejerce a través de un mecanismo dependiente de la generación de óxido nítrico o si lo hace de manera independiente como lo reportó Watanabe en el 2008 que es el único estudio del efecto antihipertensivo de la biotina en un modelo experimental animal.

Los resultados obtenidos aportarán conocimiento de ciencia básica que permitirá determinar su posible uso en la monoterapia o como coadyuvante junto con otros agentes antihipertensivos para disminuir la presión sanguínea, abriendo la posibilidad de desarrollo de nuevos medicamentos.

7. HIPÓTESIS

La biotina ejerce un efecto antihipertensivo en el riñón de la rata.

8. OBJETIVO GENERAL

Determinar los mecanismos mediante los cuales la biotina a concentraciones farmacológicas disminuye la presión de perfusión renal.

9. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón de rata.
2. Determinar el efecto de biotina, a diferentes concentraciones, sobre la respuesta a la fenilefrina en el riñón de rata hipertensa.
3. Determinar el efecto del tratamiento *in vivo* de la biotina sobre la respuesta a fenilefrina en riñón de rata hipertensa.
4. Determinar la participación de la angiotensina II sobre el mecanismo renal por el cual la biotina ejerce un efecto hipotensor.

10. METODOLOGÍA

10.1. Modelo experimental

Para determinar el efecto hipotensor de la biotina, se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (8 semanas de edad, 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 para el uso y cuidado de los animales de laboratorio de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación de México ⁽⁴²⁾.

10.2. Protocolo experimental

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

Para los estudios *in vivo*, las ratas se dividieron en 2 grupos experimentales: (3) Grupo L-NAME (deficiente de óxido nítrico, no tratado con biotina). (4) Grupo L-NAME biotina (deficiente de óxido nítrico, tratado con biotina). Ambos grupos fueron tratados durante 15 días con L-NAME a una dosis de 75 mg/kg y el cual se administró vía oral en el agua de beber, simultáneamente se inyectaron diariamente (vía i.p.) con biotina (2 mg/Kg de peso) y/o con vehículo (PBS). El grupo (3) solamente se administró vía i.p. el PBS (vehículo) y el grupo (4) con biotina disuelta en PBS durante los mismos 15 días que el L-NAME. Los tiempos de administración y concentraciones de biotina empleados en este trabajo produjeron, en estudios previos, efectos sobre el metabolismo y la expresión de genes y alcanzan concentraciones de biotina en sangre de órdenes de magnitud semejantes a las que estudiamos *in vitro* ^(40, 78).

Al final de los 15 días se extrajo quirúrgicamente el riñón. Los procedimientos experimentales se hicieron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para el uso y cuidado de animales de laboratorio ⁽⁴²⁾.

10.3. Riñón aislado y perfundido

Se indujo anestesia profunda a las ratas mediante la aplicación de pentobarbital sódico vía intraperitoneal (55 mg/Kg de peso). El tiempo de latencia del hipnótico fue entre 10 y 15 minutos para caer en sedación profunda. Una vez en hipnosis, se realizó una laparotomía, la arteria renal derecha se canuló, el riñón se disecó y fue colocado en un sistema de órgano aislado tipo Langendorff. El riñón se perfundió con solución de Krebs-Henseleit con la siguiente composición: 118 mM NaCl; 4.7mM KCl; 1.2mM KH_2PO_4 ; 1.2 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 2.5 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 20 mM NaHCO_3 ; 11.7 mM glucosa y 0.026 mM EDTA. La solución Krebs-Henseleit se mantuvo a un pH de 7.4, con burbujeo constante de una mezcla de gases de 95% de O_2 y 5% de CO_2 y se mantuvo a una temperatura de 37°C. El flujo se ajustó a 10 ml/min para obtener una presión basal de perfusión de 100 ± 20 mmHg. Se hicieron curvas concentración-respuesta graduales a fenilefrina (1×10^{-6} - 1×10^{-3} M) con administración en bolo de biotina en los riñones derechos de las ratas Wistar normotensas (control) e hipertensas. El incremento en la presión de perfusión se midió utilizando un transductor de presión Grass FT03 (Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, EE.UU.), adaptado a un sistema de adquisición de datos MP100 (Biopac Systems Inc., Santa Barbara, California, EE.UU). Los cambios en la presión de perfusión se interpretaron como un índice de cambio en la resistencia arterial renal.

Se obtuvieron curvas concentración-respuesta graduales a biotina y a fenilefrina, administrando diferentes concentraciones por inyección en bolo (volumen de 10 μL) a través de la cánula insertada en la arteria renal, para obtener las variaciones de la presión de perfusión renal. Cuando los experimentos se hicieron *ex vivo* e *in vivo* se utilizó fenilefrina como control positivo. Algunos experimentos *ex vivo* se hicieron en presencia de captopril (un inhibidor de la ECA) contenidos en la solución de Krebs-Henseleit durante la realización de la curva.

10.4. Efecto *in vitro* del captopril sobre la respuesta a fenilefrina de riñón aislado de rata.

Para analizar la participación de la angiotensina II sobre el efecto de la biotina en respuesta a la fenilefrina se realizaron curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina (1×10^{-6} - 1×10^{-3} M), en riñón de ratas normotensas utilizando un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), captopril, a una concentración de 10 μ M en la solución de perfusión de Krebs-Henseleit, la primera curva se tomó como la control. Enseguida se administró por inyección en bolo biotina (1×10^{-6} M). Se realizó nuevamente una curva concentración-respuesta a la fenilefrina.

10.5. Análisis estadístico

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

11. RESULTADOS

11.1. Registro del consumo de agua y alimento de los animales

Se midió el consumo de agua y alimento de los animales cada tercer día y durante los 15 días que duró el tratamiento con L-NAME (75 mg/Kg), para comprobar que la dosis del inhibidor L-NAME no tuviera efectos adversos en la condición de los animales. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado con el inhibidor y el grupo control en el consumo de agua y alimento (tabla 2).

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

Tabla 2.- Consumo de agua y alimento. Se midió el consumo de agua y alimento cada tercer día durante 15 días de tratamiento con L-NAME, no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

11.2. Efecto de la biotina *ex vivo* sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón derecho de ratas control y tratadas con L-NAME

Con la finalidad de determinar la participación del óxido nítrico en el efecto hipotensor de la biotina *ex vivo*, se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina (1×10^{-6} - 1×10^{-4} M) en riñón derecho de ratas normotensas (grupo control) y de ratas deficientes de óxido nítrico (tratadas con L-NAME). Se realizó una curva concentración-respuesta a fenilefrina midiendo los cambios de la presión de perfusión y fue utilizada como curva control, posteriormente se administró en bolo

la biotina (1×10^{-6} M) y enseguida se realizó una segunda curva dosis-respuesta a fenilefrina bajo los mismos parámetros.

Para determinar un efecto dependiente de la concentración también se probaron varias concentraciones de biotina en bolo (1×10^{-5} y 1×10^{-7} M, concentración mayor y menor respectivamente a la reportada a la cual la biotina ejerce sus efectos biológicos).

Se observó que en el riñón de las ratas control, la biotina disminuyó ligeramente la presión de perfusión en respuesta a la fenilefrina con respecto a su control, sin alcanzar una diferencia estadísticamente significativa (figura 7).

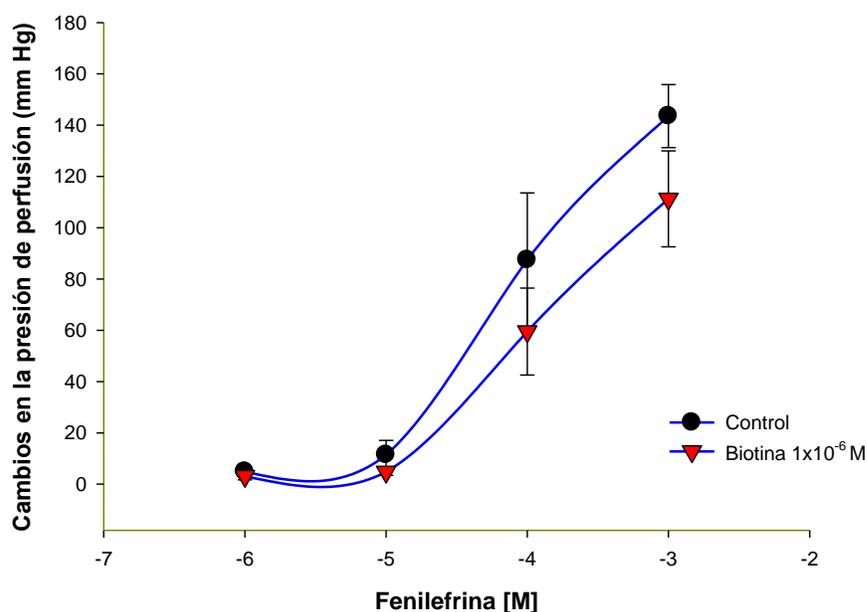


Figura 7. Efecto de la biotina *ex vivo* sobre la respuesta a la fenilefrina sobre la presión de perfusión en riñón derecho de ratas normotensas. Curva concentración-respuesta a fenilefrina sobre la respuesta en la presión de perfusión renal, la primera curva se realizó en ausencia de biotina y previo a realizar la segunda curva se administró biotina en bolo. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 4 riñones.

En cuanto al riñón de ratas deficientes de óxido nítrico se observó que el índice de cambio en la resistencia arterial renal no tuvo diferencias en comparación con el control y tampoco presentó una diferencia estadísticamente significativa (figura 8).

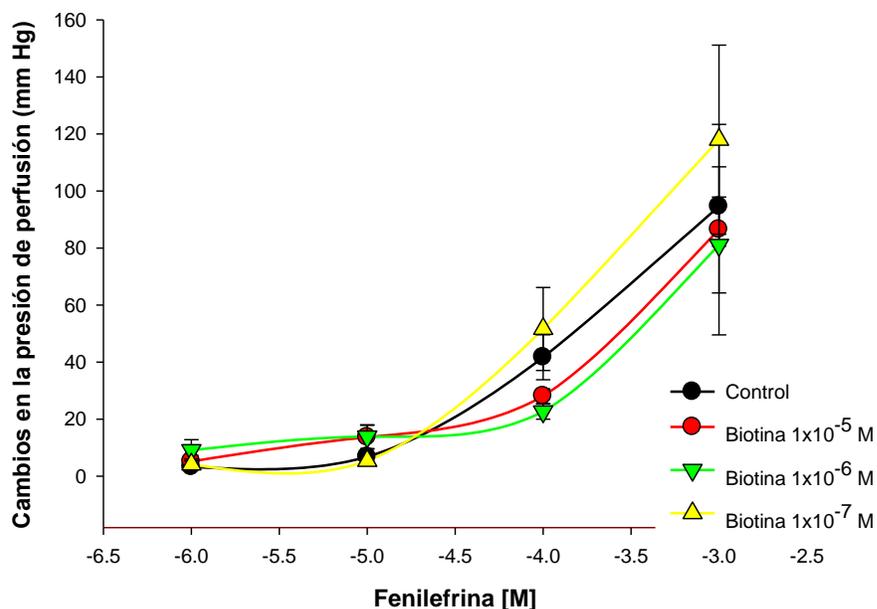


Figura 8. Comparación del efecto de la biotina a diferentes concentraciones *ex vivo* sobre la respuesta a la fenilefrina en la presión de perfusión en riñón derecho de ratas tratadas con L-NAME. Curva concentración-respuesta a fenilefrina sobre la respuesta en la presión de perfusión renal, la curva control se realizó en ausencia de biotina, para realizar las otras curvas se administró biotina en bolo a diferentes concentraciones. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar.

11.3. Efecto de la biotina *in vivo* sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón derecho de ratas tratadas con L-NAME

Con la finalidad de determinar la participación del óxido nítrico en el efecto hipotensor de la biotina *in vivo*, se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina (1×10^{-6} - 1×10^{-4} M) en el riñón derecho de ratas tratadas con L-NAME y biotina (grupo tratado) y de ratas tratadas con L-NAME y el vehículo de la biotina (PBS) (grupo control).

Se realizó una sola curva concentración-respuesta a fenilefrina midiendo los cambios de la presión de perfusión y fueron comparados con los cambios en la presión de perfusión del grupo control. Se observó que hubo tendencia a que la biotina aumentará la presión de perfusión respecto al grupo control sin haber diferencia estadísticamente significativa (figura 9).

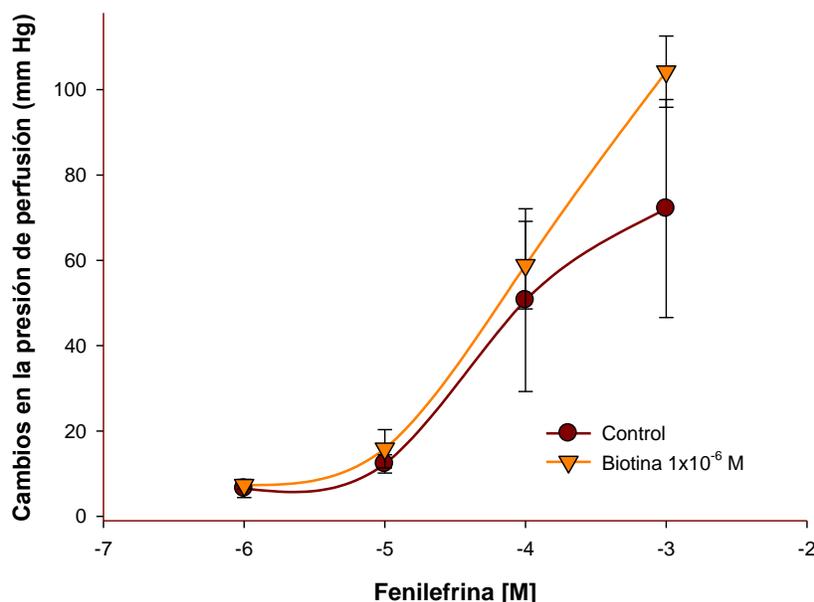


Figura 9. Efecto de la biotina *in vivo* sobre la respuesta a la fenilefrina en la presión de perfusión en riñón derecho de ratas tratadas con L-NAME. Curva concentración-respuesta a fenilefrina sobre la respuesta en la presión de perfusión renal, la curva control se realizó con

riñones provenientes de ratas tratadas con biotina (grupo tratado) y la otra curva con riñones provenientes de ratas tratadas con vehículo (PBS; grupo control). Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 10 y 6 riñones de los grupos tratado y control respectivamente.

11.4. Efecto de la biotina y el captopril *ex vivo* sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón derecho de ratas normotensas.

Con la finalidad de evaluar la participación de la angiotensina II en el efecto hipotensor de la biotina, se realizaron curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina (1×10^{-6} - 1×10^{-3} M), en riñón de ratas normotensas utilizando captopril, que es un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), a una concentración de 10 μ M en la solución de perfusión de Krebs-Henseleit. La primera curva a fenilefrina se tomó como la control. Enseguida se administró por inyección en bolo biotina (1×10^{-6} M) o captopril (10 μ M) y se realizó nuevamente una curva concentración-respuesta a la fenilefrina.

En la figura 10 se observa que no hubo diferencia en la presión de perfusión, cuando se utiliza el captopril, ni antes ni después de la administración de biotina y tampoco se encontró una diferencia estadísticamente significativa.

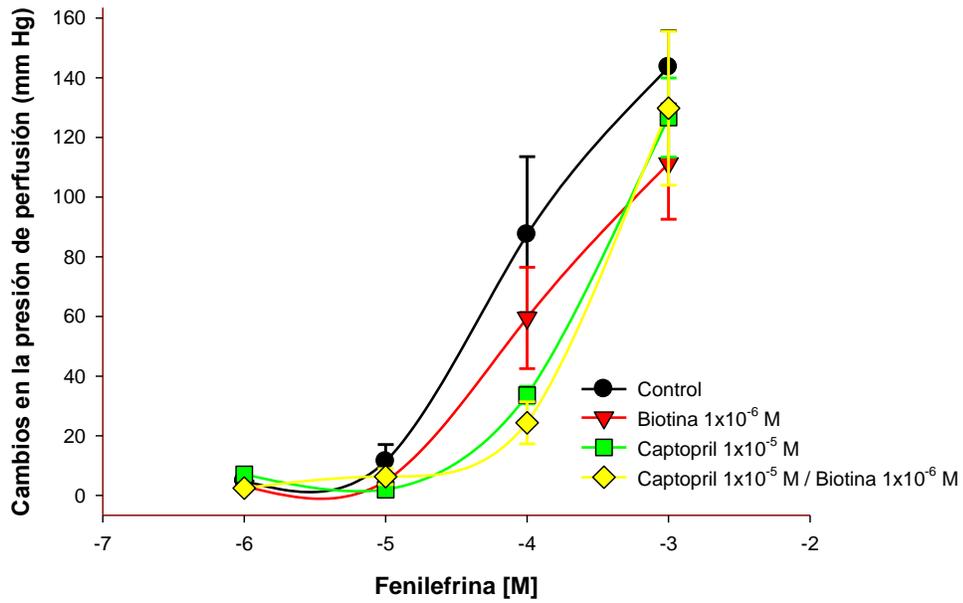


Figura 10. Efecto de la biotina y captopril sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón derecho de ratas normotensas. Curva concentración-respuesta a fenilefrina sobre la presión de perfusión en riñón de ratas normotensas. La curva control se realizó en presencia de captopril y en ausencia de biotina. La segunda curva se realizó en presencia de captopril y biotina. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de 3 riñones.

12. DISCUSIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial ⁽²⁰⁾. La hipertensión arterial es una de las enfermedades cardiovasculares más importantes en México ⁽⁵²⁾, por lo que se requiere estudiar los mecanismos de acción de posibles fármacos o micronutrientes que sirvan para su tratamiento. La biotina es una vitamina que podría ser utilizada con este fin, al igual que se ha hecho con otras vitaminas para el tratamiento de una diversidad de enfermedades ^(11, 29, 69).

En el modelo de hipertensión arterial en ratas Wistar por inhibición crónica de óxido nítrico con L-NAME, no observamos diferencias entre los grupos (ratas tratadas con L-NAME y ratas normotensas) con respecto al consumo de alimento y agua. Lo cual valida el uso del modelo animal para estudios posteriores, ya que no se observan cambios metabólicos visibles que pudieran influir en la presión arterial *per se*.

Al evaluar el efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón aislado de rata normotensa, observamos que se muestra una ligera tendencia a disminuir la presión de perfusión con respecto al control aunque estadísticamente no hay diferencia significativa. El resultado nos sugiere lo siguiente:

1. La biotina modifica la presión de perfusión, disminuyéndola ligeramente cuando el sistema de regulación de la PA en el riñón (sistema renina-angiotensina-aldosterona; mecanismos vasculares renales: óxido nítrico, prostaglandinas, histamina, bradicinina, catecolaminas) está normal. Este resultado sería contradictorio con lo reportado por Watanabe en el 2008, donde la administración de biotina a ratas Wistar Kyoto no modificó la presión arterial del animal ⁽⁷¹⁾. Pero considerando que sólo fue una tendencia y que realmente no hubo diferencia estadísticamente significativa

en la presión de perfusión renal, los resultados son acordes a dicho estudio reportado.

En este modelo de hipertensión con L-NAME, no observamos cambios en la presión de perfusión renal en respuesta a fenilefrina, con o sin la administración en bolo de diferentes concentraciones de biotina *ex vivo*. Comparando estos resultados con los de las ratas normotensas podemos considerar lo siguiente:

1. Se observa que la biotina a una concentración de 1×10^{-6} M disminuye la presión de perfusión renal en ratas normotensas aunque estadísticamente no hay diferencia significativa, en contraste cuando los riñones provienen de ratas deficientes de óxido nítrico (por inhibición crónica de las NOS por el L-NAME) donde se administró biotina a diferentes concentraciones (1×10^{-7} - 1×10^{-5} M) no existe tal tendencia, es decir, no se observa algún efecto hipotensor. Podríamos pensar que el efecto hipotensor aparente observado en las ratas normotensas pudiera ser dependiente de la formación de NO. Estos resultados pudiesen ser acordes a los reportados por Rodríguez y colaboradores en el 2009, quienes describieron que la biotina en condiciones farmacológicas, incrementan la producción de óxido nítrico en la línea celular Jukart ⁽⁵⁰⁾, aunque cabe mencionar que ellos estudiaron el efecto farmacológico de la biotina en una línea celular linfocítica que no guarda relación alguna con la regulación de la presión arterial. Sin embargo, como estadísticamente no hubo diferencias significativas en ambos grupos, este resultado nos sugiere que la biotina a diferentes concentraciones no ejerce un efecto hipotensor a nivel renal en las ratas normotensas ni en las deficientes de óxido nítrico y que este efecto es independiente de la concentración.

Utilizando el mismo modelo de hipertensión donde se administra biotina *in vivo* simultáneamente que el L-NAME observamos que la tendencia del efecto de la biotina es a incrementar la presión de perfusión renal con respecto al grupo control

(ratas tratadas únicamente con L-NAME) aunque no se encontró diferencia estadísticamente significativa. Este resultado nos indica lo siguiente:

1. Existe la tendencia de un efecto hipertensor de la biotina administrada *in vivo* en ratas deficientes de óxido nítrico en comparación con su control. Sin embargo, al no haber diferencia estadísticamente significativa, podemos considerar que la biotina parece no ejercer un efecto antihipertensivo. El resultado es contradictorio al descrito por Watanabe y colaboradores en 2008, donde observaron que la biotina tiene efecto en la disminución de la presión arterial en la cepa SHRSP ⁽⁷¹⁾.

Al evaluar la participación de la angiotensina II en el efecto de la biotina sobre la respuesta a la fenilefrina en riñón aislado de rata normotensa, observamos que cuando se utiliza el captopril, después de la administración en bolo de biotina no se generan cambios en la presión de perfusión renal con respecto al control. Sin embargo, al comparar el efecto del captopril más biotina en el riñón de rata normotensa sin la administración de captopril y biotina, observamos un desplazamiento de la curva a la derecha, lo cual evidencia un mecanismo dependiente de la angiotensina II que influye sobre la respuesta presora a la fenilefrina. Se conoce que el captopril es un inhibidor competitivo de la ECA ⁽²¹⁾ evitando de esta manera la formación de Ang II y con ello sus efectos. Casi todos los efectos biológicos conocidos de la Ang II son mediados por el receptor AT₁ ⁽²⁵⁾. El receptor AT₁ es un receptor de membrana acoplado a proteínas G y tras unirse con la Ang II, el receptor AT₁ se acopla a proteínas del subtipo G alfa, se desprende la subunidad alfa, que activa la fosfolipasa C, la cual induce incrementos de IP₃ y de DAG que causan un aumento del calcio intracelular, este último mediante la activación de la proteinkinasa C (PKC) ⁽³³⁾.

En células renales o hepáticas, el receptor AT₁ se acopla a proteínas del subtipo G alfa i, que actúa inhibiendo la adenilato ciclasa y reduciendo el AMPc ⁽¹⁸⁾. Por tanto, los resultados sugieren que el efecto sobre la presión de perfusión

renal se debe al efecto inhibitorio de la ECA por el captopril, es decir, debido a la falta de angiotensina II, no como un efecto hipotensor directo de la biotina ya que si tuviera algún efecto hipotensor a través de la ECA (inhibición de la síntesis de Ang II) y/o vía generación de NO (por la disminución aparente en la presión de perfusión después de administrar biotina en bolo en riñón de ratas normotensas) se observaría un efecto mayor sobre la presión de perfusión renal cuando se administra simultáneamente captopril y biotina.

Es importante mencionar que estudios recientes de nuestro laboratorio por Toledo-López (2014), en un modelo de hipertensión con L-NAME observó un decremento significativo en la contracción de aorta en respuesta a fenilefrina, con y sin endotelio después de la incubación con biotina y que no está relacionado con la producción de óxido nítrico. En relación a nuestros resultados, utilizamos el mismo modelo de hipertensión con L-NAME y nosotros no observamos un decremento en la presión de perfusión en riñón, resultados que parecieran ser contradictorios con los obtenidos por Toledo-López en aorta, pero es importante hacer notar que la aorta es un tejido y que estando *in vitro* su regulación únicamente depende sustancialmente de la función endotelial. El riñón es un órgano complejo con múltiples mecanismos de regulación local, incluyendo la función endotelial donde se sintetizan y liberan autacoides y hormonas, tales como la noradrenalina, la adrenalina, endotelina, NO, prostaglandinas como PGE₂, PGI₂, la bradicidina y entre otras, la importante y compleja participación del sistema renina-angiotensina-aldosterona ⁽²⁷⁾. Por lo que es mucho más difícil poder determinar con precisión a todos los participantes y que al momento de activar un mecanismo en consecuencia entrarán otros a compensar los cambios de la PA, entre ellos la liberación de sustancias vasoconstrictoras y/o vasodilatadoras muy potentes para conservar su homeostasia.

En todos los experimentos se utilizó a la fenilefrina al igual que en el modelo experimental de Toledo-López. La fenilefrina es un agonista no selectivo de receptores α -1 adrenérgicos. Estos receptores son miembros de la superfamilia de

receptores asociados a proteínas Gq que activan a la fosfolipasa C, lo cual provoca un aumento en el IP3 y el calcio, lo que conlleva a la contracción muscular ⁽⁵³⁾. De los receptores activados por fenilefrina, los receptores α -1A están relacionados con el influjo del calcio extracelular a través de los canales iónicos de calcio dependientes de voltaje, así como a la movilización de calcio intracelular de las vesículas sensibles a IP3 o a receptores de rianodina ⁽⁵³⁾. Por tanto, Toledo-López sugiere que el efecto hipotensor de la biotina observado en la respuesta a fenilefrina en aorta, pudiera estar relacionado con una disminución de calcio provocada por la biotina. Este efecto de la biotina pareciera ser similar al efecto observado cuando se utiliza captopril y biotina en el riñón de ratas normotensas ya que al inhibir la síntesis de Ang II, los efectos esperados por la activación de receptores AT₁ son que habrá un decremento de calcio por la no activación de segundos mensajes como el IP3.

Algunos de los resultados de Toledo-López son acordes a lo encontrado en nuestro trabajo, como la evidencia que descarta de la participación del óxido nítrico en el posible efecto hipotensor de la biotina a nivel renal. El cual no pudo ser observado en ninguna condición utilizada, posiblemente porque el sistema de regulación renal es mucho más complejo, que el de un tejido como lo es la aorta y que se explicó anteriormente.

13. CONCLUSIONES

1. La biotina no ejerce un efecto hipotensor en el riñón de rata *ex vivo*.
2. La biotina no tiene un efecto hipotensor en el riñón de rata *in vivo*.
3. La biotina no posee un efecto hipotensor vía inhibición de la síntesis de Ang II a nivel renal.
4. El captopril posee un efecto hipotensor a nivel renal.

14. REFERENCIAS

1. Aguilera-Méndez A., Serrato-Ochoa D., Nieto-Aguilar R. 2013. La biotina: una vitamina vieja con funciones nuevas. *Biológicas* 15(1): 24-30.
2. Báez SA, Zendejas RI, Revilla MC, Islas AS, Cárdenas A, Rojas OA, Vilches A, Fernández MC. 2004. Effects of biotin on pyruvate carboxylase, acetyl-CoA carboxylase, propionyl-CoA carboxylase, and markers for glucose and lipid homeostasis in type 2 diabetic patients and nondiabetic subjects. *Am J Clin Nutr.* 79 (2): 238-243.
3. Balmer J.E., Blomhoff R. 2002. Gene expression regulation by retinoic acid. *J Lipid Res.* 43: 1773-808.
4. Baylis C, Mitruka B and Deng A. 1992. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J. Clin. Invest.* 90: 278–281.
5. Bernátová I, Pecháňová O, Šimko F. 1999. Effect of captopril in L-NAME-induced hypertension on the rat myocardium, aorta, brain and kidney. *Exp Physiol* 84: 1095-1105.
6. Brenner B.M., Meyer T.W., Hostetter T.H. 1982. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation and intrinsic renal disease *N Engl J Med.* 307:652-59.
7. Bumpus FM., Catt KJ., Chiu AT., DeGasparo M., Goodfriend T., Husain A., Peach MJ., Taylor DG. Jr., Timmermans PB. 1991. Nomenclature for angiotensin receptors. A report of the Nomenclature Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Hypertension.* 17(5): 720-1.
8. Bylund D.B., Eikenberg D.C., Heible J.P., Langer S.Z. 1994. Lefkowitz RJ, Minneman KP, Molinoff PB, Ruffolo RR Trendelenburg U: International Union of Pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacological reviews.* 46: 121-136.

9. Campos I., Hernández L., Rojas R., Pedroza A., Medina C., Barquera S. 2013. Hipertensión arterial: prevalencia, diagnóstico oportuno, control y tendencias en adultos mexicanos. *Salud Pública Mex.* 55 supl 2: S144-S150.
10. 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. Discussion 85U-86U.
11. Cheung F.S., Lovicu F.J., Reichardt J.K. 2012. Current progress in using vitamin D and its analogs for cancer prevention and treatment. *Expert Rev Anticancer Ther.* 12: 811-37.
12. 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.
13. Coggeshall JC, Hegggers JP, Robson, MC, Baker H. 1985. Biotin Status and Plasma Glucose in Diabetics. *Ann N Y Acad Sci.* 447: 389-392.
14. Corvol P., Jeunemaitre X., Charru A., Kotelevtsev Y., Soubrier F. 1995. Role of the renin-angiotensin system in blood pressure regulation and in human hypertension: new insights from molecular genetics. *Hormone Res.* 50: 287-308.
15. Dakshinamurti K, Chauhan J. 1994. Biotin-binding proteins. In: *Vitamin receptors: vitamins as ligands in cell communication.* U.S.A. 200-249. Cambridge University Press.
16. Dakshinamurti K, Cheah-Tan C. 1968. Biotin-mediated synthesis of hepatic glucokinase in the rat. *Arch Biochem Biophys.* 127: 17-21.
17. De Gasparo M., Catt KJ., Inagami T., Wright JW., Unger T. 2000. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev.* 52(3): 415-72.
18. Douglas JG, Hopfer U. 1994. Novel aspects and signal transduction in the kidney. *Annu Rev Physiol.* 56: 649-69.
19. Dukusova OD, Krivoruchenko IV. 1972. The effect of biotin on the blood cholesterol levels of atherosclerotic patients in idiopathic hyperlipidemia. *Kardiologija.* 12: 113.

20. Favela E., Barbosa J., Medina G., Rolon M. 2008. Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y tratamiento de la hipertensión Arterial en el primer nivel de atención. México: secretaria de salud.
21. Fernández O., Gallego F. 1995. Utilidad terapéutica de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. *Farm Hosp.* 19 (1): 3-9.
22. Fran Ganong. Fisiología médica. 2010. 23° ed. China: Ed. Mc GrawHill Interamericana. Pp. 640,642, 673.
23. Garwitz ET and Jones AW. 1982. Aldosterone infusion into the rat and dose-dependent changes in blood pressure and arterial ionic transport. *Hypertension.* 4: 374–381.
24. Goodman&Gilman. 1996. Las bases farmacológicas de la TERAPÉUTICA. 9° ed. México: Ed. McGraw-Hill Interamericana. Pp. 621-641.
25. Goodman&Gilman. 2007. Las bases farmacológicas de la TERAPÉUTICA. 11° ed. Colombia: Ed. McGraw-Hill. Pp. 243-248, 643-647, 771-780, 789-798.
26. 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.
27. Guyton A.C., Hall J.E. 2007. Tratado de Fisiología Médica. 11° ed. México: Ed. Elsevier. Pp. 204-226, 307-326, 402-415.
28. Hassan YI, Zemleni J. 2006. Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin. *J Nutr.* 136 (7): 1763-1765.
29. Hinds T.S., West W.L., Knight E.M. 1997. Carotenoids and retinoids: a review of research, clinical, and public health applications. *J Clin Pharmacol.* 37: 551-8.
30. Holéciová A, Török J, Bernátová I, Pecháňová O. 1996. Restriction of nitric oxide rather than elevated blood pressure is responsible for alterations of vascular responses in nitric oxide-deficient hypertension. *Physiol Res* 45: 317-321.

31. Hsieh Nk, Wang Jy, Liu Jc, Wang Sd, Chen Hi. 2004. Nitric oxide inhibition accelerates hypertension and induces perivascular inflammation in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31: 212-218.
32. Kogl F, Tonnis B. 1932. Über das Biotin-Problem. Darstellung von kristallisiertem Biotin aus Eigelb. *Z. Physiol Chem.* 242: 43–73.
33. Lassegue B., Alexander RW., Clark M., Griendling KK. 1991. Angiotensin II-induced phosphatidylcholine hydrolysis and localization. *Biochem J.* 276:19.
34. 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.
35. Lefkowitz R.J., Caron M.G. 1988. Adrenergic receptors: models for the study of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *The journal of biological chemistry.* 263: 4993-4996.
36. Li Y, Hassan YI, Moriyama H, Zemleni J. 2013. Holocarboxylase synthetase interacts physically with euchromatic histone-lysine N-methyltransferase, linking histone biotinylation with methylation events. *J Nutr Biochem.* 8: 1446-52.
37. Liu Y.L., Sennitt M.V., Hislop D.C., Crombie D.L., Heyman R.A., Cawthorne M.A. 2000. Retinoid X receptor agonists have anti-obesity effects and improve insulin sensitivity in Zucker fa/fa rats. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 8: 997-1004.
38. Madhusoodanan K. S., Murad F. 2007. NO-cGMP Signaling and Regenerative Medicine Involving Stem Cells. *Neurochem Res* 32: 681–694.
39. 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.

40. Mock D.M., Mock N.I. 1997. Serum concentrations of bisnorbiotin and biotin sulfoxide increase during both acute and chronic biotin supplementation. *J Lab Clin Med.* 129(3): 384-8.
41. 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.
42. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
43. OMS. 2013. Información general sobre la hipertensión en el mundo. P.p. 1-40.
44. 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.
45. Patel Kp, Li Yf, Hirooka Y. 2001. Role of nitric oxide in central sympathetic outflow. *Exp Biol Med (Maywood)* 226: 814-824.
46. Pecháňová O, Bernátová I, Pelouch V, Babál P. 1999. L-NAME-induced protein remodeling and fibrosis in the rat heart. *Physiol Res* 48: 353-362.
47. Peters DM, Griffin JB, Stanley JS, Beck MM, Zemleni J. 2002. Exposure to UV light causes increased biotinylation of histones in Jurkat cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 283 (3): C878-C884.
48. Rhee E.J., Plutzky J. 2012. Retinoid metabolism and diabetes mellitus. *Diabetes Metab J.* 36: 167-80.
49. Ribeiro MO, Antunes E, De-Nucci G, Lovisolo SM and Zatz R. 1992. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. *Hypertension.* 20: 298–303.
50. Rodríguez M. R., Zemleni J. 2009. Nitric oxide signaling depends on biotin in Jurkat human lymphoma cells. *J Nutr.* 139 (3): 429-33.
51. Rodríguez 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.

52. Romero M., Shamah L., Franco N., Villalpando S, Cuevas N., Rivera D., Gutiérrez J. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición: diseño y cobertura. *Salud Pública Mex.* 2012:10-23.
53. 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.
54. Sarawut y Wallace, Sarawut J, Wallace JC. 2003. The biotin enzyme family: conserved structural motifs and domain rearrangements. *Curr Prot Pept Scien.* 4 (3): 217-229.
55. 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.
56. Spence JT, Koudelka AP. 1984. Effects of biotin upon the intracellular level of cGMP and the activity of glucokinase in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem.* 259 (10):6393-6.
57. SSA. 2009. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. NOM-030-SSA2-2009.
58. Stanley JS, Griffin JB, Zempleni J. 2001. Biotinylation of histones in human cells: effects of cell proliferation. *Eur J Biochem.* 268 (20): 5424-5429.
59. Stevens G, Dias R, Thomas K, Rivera J, Carvalho N, Barquera S. 2008. Characterizing the epidemiological transition in Mexico: National and subnational burden of diseases, injuries, and risk factors. *PLoS Med.* 5(6): e125.
60. Stockert RJ, Ren Q. 1997. Cytoplasmic protein ARNm interaction mediates GMPc-modulated translational control of the asialoglycoprotein receptor. *J Biol Chem.* 272 (4): 9161-5.
61. 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.

62. 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.
63. Taussing R., Gilman A. G. 1995. Mammalian membrane-bound adenylyl cyclase. *The journal biological chemistry*. 270: 1-4.
64. Török J, Gerová M. 1996. Vascular responses after long-term inhibition of nitric oxide synthesis in newborn dogs. *Physiol Res* 45: 323-328.
65. Török J. 2008. Participation of Nitric Oxide in Different Models of Experimental Hypertension. *Physiol. Res.* 57: 813-825.
66. 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.
67. Vesely D. 1982. Biotin enhances guanylate cyclase activity. *Science*. 216 (4552): 1329-1330.
68. Vilches FA, Fernández MC. 2005. Efecto de la biotina sobre la expresión genética y el metabolismo. *Rev. Invest. Clin.* 57: 716-724.
69. Vosper H. 2009. Niacin: a re-emerging pharmaceutical for the treatment of dyslipidaemia. *Br J Pharmacol.* 158 (2):429-441.
70. Waleska C Dornas., Marcelo E Silva. 2001. Animal models for the study of arterial hypertension. *J. Biosci* 36(4): 731–737.
71. Watanabe K., Kamiyama S. 2008. Antihypertensive effect of biotin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr.* 99 (4): 756-763.
72. Whitebread S1, Mele M, Kamber B, de Gasparo M. 1989. Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun.* 163(1): 284-91.
73. Wu-Wong J.R., Tian J., Goltzman D. 2004. Vitamin D analogs as therapeutic agents: a clinical study update. *Curr Opin Investig Drugs.* 5: 320-6.

74. Zehnder C. 2005. Riñón e hipertensión. *Revista. Med. Clin. Condes* 16 (2): 110-116.
75. Zemleni J, Ch Y, Chew Y, Hassan I, Wijeratne S. 2008. Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin: are biotin requirements being met. *Nutr Rev.* 66(Suppl 1): S46–S48.
76. Zemleni J, Helm RM, Mock DM. 2001. In vivo biotin supplementation at a pharmacologic dose decreases proliferation rates of human peripheral blood mononuclear cells and cytokine release. *J Nutr.* 131 (5): 1479-1484.
77. Zemleni J, Teixeira DC, Kuroishi T, Cordoniera EL, Baier S. 2012. Biotin requirements for DNA damage prevention. *Mutat Res.* 733(1-2): 58–60.
78. Zemleni J. 2005. Uptake, localization, and noncarboxylase roles of biotin. *Annu Rev Nutr.* 25: 175-196.