



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA

TESIS

**Papel de los Antagonistas de los Receptores V1a y V2 de
Arginina Vasopresina en la Regulación de la Presión
Arterial a Largo Plazo.**

PRESENTA

Héctor Alejandro Martínez Reséndiz

Para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS AREA DE TOXICOLOGÍA

TUTOR

Dr. Andrés Quintanar Stephano

ASESORES

Dr. José Luis Quintanar Stephano

M. en CM. José Adrián Jiménez Serrano

AGUASCALIENTES, AGS. A 02 DE DICIEMBRE DE 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como Tutor designado del estudiante **HÉCTOR ALEJANDRO MARTÍNEZ RESÉNDIZ** con ID 71033 quien realizó la tesis titulada: **PAPEL DE LOS ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE V1A Y V2 DE ARGININA VASOPRESINA EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL A LARGO PLAZO**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

“Se Lumen Proferre”

Aguascalientes, Ags., a 05 de Diciembre de 2016.

Dr. Andrés Quintanar Stephano
Tutor de tesis

M. en CM. José Adrián Jiménez Serrano
Asesor de tesis

Dr. José Luis Quintanar Stephano
Asesor de tesis

c.c.p.- Héctor Alejandro Martínez Reséndiz - Interesado
c.c.p.- Dr. Juan Jáuregui Rincón - Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Dr. Martín Gerardo Rodríguez - Consejero Académico
c.c.p.- Dr. Eugenio Pérez Molphe Bach - Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

**HÉCTOR ALEJANDRO MARTÍNEZ RESÉNDIZ
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN AREA DE TOXICOLOGÍA
P R E S E N T E.**

Estimado alumno:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: **"PAPEL DE LOS ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE V1A Y V2 DE ARGININA VASOPRESINA EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL A LARGO PLAZO"**, hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

ATENTAMENTE

Aguascalientes, Ags., a 08 de diciembre de 2016

"Se lumen proferre"

EL DECANO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor y asesores por encaminarme y ayudarme a dar forma a este proyecto.

Al personal de laboratorio de Neuro Inmuno-endocrinología por apoyarme en la realización de los procedimientos del proyecto.



DEDICATORIAS

A mis padres por apoyarme en cada etapa del camino, a mi hermano por animarme a seguir superándome cada día.

A mi abuelo, mi inspiración y la razón por la que elegí la medicina como profesión.

Look after me, Take care of me and Protect me.



ÍNDICE GENERAL

INDICE DE TABLAS

.....PAG. 1

INDICE DE FIGURAS

.....PAG. 1

INDICE DE GRÁFICAS

.....PAG. 2

ACRÓNIMOS

.....PAG. 3,4

RESUMEN

.....PAG. 5,7

ABSTRACT

.....PAG. 8,10

INTRODUCCIÓN

.....PAG. 11,12

CONTENIDO

.....PAG. 13-45

HIPERTENSIÓN ARTERIAL SISTÉMICA

.....PAG. 13-23

- INTRODUCCIÓN
.....PAG. 13-15
- INCIDENCIA MUNDIAL DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL
.....PAG. 15-17
- INCIDENCIA DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN MÉXICO
.....PAG.18-19
- MECANISMOS DE REGULACIÓN DE PRESIÓN ARTERIAL
.....PAG. 19-22
 1. REGULACIÓN RÁPIDA: SISTEMA NERVIOSO
.....PAG. 19,20
 2. REGULACIÓN INTERMEDIA/LARGO PLAZO
.....PAG. 20,21
 3. SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA
.....PAG. 21,22

- TRATAMIENTO DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL
.....PAG. 22,23

HIPÓFISIS

-PAG. 23-26
- INTRODUCCIÓN
.....PAG. 23,24
- EMBRIOLOGÍA
.....PAG.24,25
- FUNCIONES ADENOHIPÓFISARIAS
.....PAG. 25
- FUNCIONES NEUROHIPÓFISARIAS
.....PAG. 25
- OXITOCINA
.....PAG. 26

ARGININA VASOPRESINA

-PAG.26-32
- REGULACIÓN DE ARGININA VASOPRESINA
.....PAG. 27-29
- RECEPTORES DE ARGININA VASOPRESINA
.....PAG. 29-31
- ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE AVP TPO V2
.....PAG. 31
- ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE AVP TIPO V1 (V1a V1b)
.....PAG.32

ANTAGONISTAS PEPTÍDICOS DE LOS RECEPTORES DE AVP

.....PAG. 33

ANTAGONISTAS NO PEPTÍDICOS DE LOS RECEPTORES DE AVP

.....PAG.33

ANTAGONISTAS NO PEPTÍDICOS DE LOS RECEPTORES DE AVP HECHOS EN MÉXICO

.....PAG. 34

PAPEL DE LA ARGININA VASOPRESINA EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

.....PAG.34-35

TOXICIDAD

.....PAG. 35-41

ANÁLISIS DOSIS EFECTO TÓXICO

.....PAG.35

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE LOS FÁRMACOS

-PAG. 36,37
- EL HÍGADO Y SUS MECANISMOS GENERALES DE TOXICIDAD
.....PAG. 37-39
- EL RIÑÓN Y SUS MECANISMOS GENERALES DE TOXICIDAD
.....PAG. 39,40
- BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL Y HEPÁTICO
.....PAG. 40,41

LOS VAPTANES Y SUS MECANISMOS DE TOXICIDAD

.....PAG. 41

CONIVAPTAN

.....PAG. 42

OPC 21268

.....PAG. 43

COMPUESTO C9

.....PAG. 43,44

HIPERTENSIÓN ARTERIAL EXPERIMENTAL: RIÑÓN DE PAGE

.....PAG. 44,45

JUSTIFICACIÓN

.....PAG. 46

HIPÓTESIS

.....PAG. 47

OBJETIVO GENERAL

.....PAG. 48

OBJETIVOS ESPECIFICOS

.....PAG. 48

MATERIALES Y MÉTODOS

-PAG. 49-57
- TÉCNICA PARA LA INDUCCIÓN DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL “RIÑÓN DE PAGE”
.....PAG. 50-52
- MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL DIRECTA
.....PAG. 52-54

- VALORACIÓN DE MARCADORES DE RESPUESTA TÓXICA
.....PAG. 54-57
 - 1. ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST/TGO)
.....PAG. 54,55
 - 2. ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT/TGP)
.....PAG. 55
 - 3. CREATININA SÉRICA
.....PAG. 56
 - 4. UREA SÉRICA
.....PAG. 56
 - 5. GLUCOSA SÉRICA
.....PAG. 57
 - 6. INGESTA DIARIA DE AGUA
.....PAG. 57

- ANÁLISIS ESTADÍSTICO
.....PAG. 58

- RESULTADOS
.....PAG. 59-70

- DISCUSIÓN
.....PAG. 71-75

- CONCLUSIONES
.....PAG. 76

- GLOSARIO
.....PAG.77-81

- BIBLIOGRAFÍA
.....PAG.82-86

INDICE DE TABLAS

1. CLASIFICIACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL EN ADULTOS JNC8.
PAG. 14

2. TABLA DE OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA HIPERTENSIÓN.
PAG. 23

3. LOCALIZACIÓN DE LOS RECEPTORES DE AVP Y MECANISMO DE ACCIÓN.
PAG. 31

INDICE DE FIGURAS

1. PREVALENCIA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL POR EDADES EN ADULTOS MAYORES DE 25 AÑOS.
PAG. 16

2. PREVALENCIA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL A NIVEL MUNDIAL
PAG. 17

3. PREVALENCIA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN MÉXICO
PAG. 18

4. ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA HIPÓFISIS
PAG. 24

5. ANATOMÍA DE LA HIPÓFISIS DE RATA
PAG. 27

6. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE LA AVP
PAG. 28

7. MECANISMOS DE ACTIVACIÓN DE RECEPTORES V2.
PAG. 31

8. MECANISMOS DE ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES V1 DE AVP
PAG. 32

9. ANATOMÍA DEL LÓBULILLO HEPÁTICO
PAG. 39

10. ANATOMÍA DE LA NEFRONA
PAG. 40

11. CONIVAPTAN
PAG. 42

12. OPC21268
PAG. 43

13. COMPUESTO C9
PAG. 54

14. TÉCNICA QUIRÚRGICA PARA INDUCIR HIPERTENSIÓN DE PAGE
PAG. 51

15. TÉCNICA PARA MEDIR LA PRESIÓN ARTERIAL DIRECTA
PAG. 54

INDICE DE GRÁFICAS

1. PRESIÓN ARTERIAL MEDIA EN RATAS NORMOTENSAS	PAG. 59
2. PRESIÓN ARTERIAL MEDIA EN RATAS HIPERTENSAS	PAG. 60
3. CONSUMO DIARIO DE AGUA DE RATAS NORMOTENSAS	PAG. 61
4. CONSUMO DIARIO DE AGUA DE RATAS HIPERTENSAS	PAG. 62
5. CREATININA SÉRICA EN RATAS NORMOTENSAS	PAG. 63
6. CREATININA SÉRICA EN RATAS HIPERTENSAS	PAG. 64
7. UREA SÉRICA EN RATAS NORMOTENSAS	PAG. 65
8. UREA SÉRICA EN RATAS HIPERTENSAS	PAG. 65
9. AST EN RATAS NORMOTENSAS	PAG. 67
10. AST EN RATAS HIPERTENSAS	PAG. 67
11. ALT EN RATAS NORMOTENSAS	PAG. 68
12. ALT EN RATAS HIPERTENSAS	PAG. 68
13. GLUCEMIA EN RATAS NORMOTENSAS	PAG. 69
14. GLUCEMIA EN RATAS HIPERTENSAS	PAG. 70

ACRÓNIMOS

ACTH: Adrenocorticotropina.

ALT: Alanina Aminotransferasa.

AQP2: Acuaporinas 2.

AST: Aspartato Aminotransferasa.

AVP: Arginina Vasopresina.

BID: Dos veces al día

MBAP:

CAR: Receptor Constitutivo de Androstano.

CPK: Creatininfosfoquinasa.

CRH: Hormona liberadora de corticotropina.

CYP: 450 / CYP3A4: citocromo p450 / citocromo p3a4.

DAG: Diacil glicerol.

DMSO: Dimetilsulfóxido.

ECA: Enzima Convertidora de Angiotensina.

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.

FDA: Food and Drug Administration.

FSH: Hormona Folículo Estimulante.

GC: Gasto cardiaco.

GH: hormona de crecimiento.

HAS: Hipertensión ArterialSistémica.

ICC: Insuficiencia Cardiaca Congestiva.

IP3: InositolTrifosfato.

IM: Intramuscular.

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social.

IND: Nuevo fármaco de investigación.

ISSTE: Instituto de Servicios de Salud de los Trabajadores del Estado.

JNC 7/8: Seventh / Eighth Joint National Committee.

LH: Hormona Luteinizante.

LNI: Lobectomía neuro-intermediahipofisiaria.

MBAP: Presión arterial media.

mmHg: Milímetros de Mercurio.

MRP: Proteínas asociadas a resistencia a drogas.

α -MSH: Hormona estimulante de los melanocitos alfa.

β -MSH: Hormona estimulante de los melanocitos beta.

NADH: Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido.

OT: Oxitocina.

PA / TA: Presión arterial / Tensión arterial.

PKA: Proteínfosfoquinasa A.

PRL: Prolactina.

PXR: Receptor Pregnano X.

RSV: Resistencias vasculares.

SIADH: Síndrome de secreción inadecuada de Hormona antidiurética.

SNA: Sistema Nervioso Autónomo.

SNC: Sistema Nervioso Central.

TAM: Tensión Arterial Media.

TSH: Tirotropina.

USD: Dólares Estadounidenses (moneda de USA).

UV-VIS: Espectro de luz Uv. Visible.

WHO: Organización Mundial de la Salud.

RESUMEN

El conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos que dan lugar a la hipertensión arterial sistémica (HAS) han permitido desarrollar diferentes alternativas farmacológicas, sin embargo el conocimiento creciente de nuevos mecanismos de control de la presión arterial mediados por la arginina vasopresina (AVP), sugieren nuevas posibilidades para el control farmacológico de la HAS.

La arginina vasopresina (AVP) es una hormona neurohipofisiaria, reconocida principalmente por su efecto vasopresor (en situaciones de pérdida aguda de volúmenes líquidos corporales) y su efecto antidiurético. Sin embargo evidencia reciente sugiere que la AVP también participa en la regulación de la presión arterial a largo plazo y en la HAS. Aunque se han postulado diversos mecanismos a través de los cuales la AVP puede participar, éstos no han sido bien establecidos. En trabajos previos, en nuestro laboratorio, en ratas normales e hipertensas demostramos, que la lobectomía neurointermedia hipofisaria (LNI) induce una disminución permanente de los niveles circulantes de AVP (20% respecto a los controles), y un estado de hipotensión arterial permanente (75% de los animales operados). Además, en ratas con hipertensión arterial espontánea, la LNI normaliza de manera permanente la presión arterial. Se sabe que el músculo liso vascular posee receptores de AVP tipo V1a y pensamos que parte del mecanismo por el cual la AVP participa en la regulación de la presión arterial se basa en el mantenimiento del tono vascular basal. Si esto es cierto, la deficiencia de AVP, inducida por la LNI sería la responsable de la disminución del tono de las células musculares lisas vasculares, y en consecuencia de la presión arterial. Consideramos que el bloqueo de los receptores V1a y V2 de AVP inducirá una disminución de la presión arterial en ratas normotensas e hipertensas. A la fecha se han sintetizado varios antagonistas no-peptídicos (*vaptanes*) con actividad bloqueadora específica de los receptores de AVP: V1a, V1b y V2. así, pensamos que su uso inducirá una disminución de la presión arterial a largo plazo tanto en las ratas normotensas como en hipertensas.

Objetivos: 1) Estandarizar el modelo de hipertensión arterial (hipertensión renal de Page), 2) Investigar el efecto de dos antagonistas con propiedades mixtas sobre los receptores V1a-V2 de AVP; Conivaptán y compuesto C9, y del

compuesto OPC21268, bloqueador específico de los receptores V1a de AVP sobre la presión arterial a largo plazo en ratas normotensas e hipertensas, 3) Comparar indirectamente los efectos acuareáticos de los diferentes compuestos a través de la medición diaria del consumo de agua y 4) Determinar si a las dosis utilizadas, estos compuestos tienen efecto hepatotóxico y nefrotóxico.

Material y Métodos.

Se estandarizó el modelo quirúrgico de hipertensión renal experimental de Page.

Se utilizaron ratas macho jóvenes de la cepa Wistar divididas en los siguientes grupos: Experimento 1 (animales normotensos): 1) Grupo control (vehículo DMSO), 2) Conivaptan (2mg/kg/2/día), 3) C9 (20mg/kg/2/día), 4) OPC21268 (2mg/kg/2/día), todos administrados/vía IM/15 días. En el experimento 2 (animales hipertensos). Se repitieron los grupos experimentales, con la diferencia que 3 semanas antes de los tratamientos farmacológicos los animales fueron operados para inducir hipertensión de Page.

Al término de los tratamientos (15 días), se midió la presión arterial media (TAM), directamente (arteria carótida) con un sistema de registro y un programa de cómputo (BIOPAC MP-150-AcqKnowledge 4.1). Los datos se expresaron como la presión arterial media \pm DE. Al finalizar los animales fueron sangrados y los sueros colectados para las determinaciones séricas de los biomarcadores (AST, ALT, Cr, Urea y Glucosa).

Estadística. Los resultados fueron analizados y graficados con el software estadístico GraphPad Prism 5. Diferencias de $p < 0.05$ fueron consideradas como estadísticamente significativas.

Resultados y conclusiones:

- 1) Se estandarizó el modelo de hipertensión arterial de Page. Con una presión arterial media (PAM) de los animales hipertensos de 160 ± 5 mmHg vs 110 ± 7 mmHg de los animales normotensos ($p < 0.001$).
- 2) El tratamiento con Conivaptán, indujo en ambos grupos, una disminución del 20% de la TAM, sin embargo, en los animales normotensos la disminución de la presión arterial no fue estadísticamente significativa con respecto a su respectivo

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

grupocontrol, mientras que en los animales hipertensos tratados con Conivaptán la disminución de la presión fue significativamente más baja ($p < 0.001$) respecto al grupo control hipertenso.

- 3) El tratamiento con los compuestos OPC21268y C9 al grupo normotensos, no indujo cambios significativos en la PAM, mientras que en los animales hipertensos tratados con OPC21268, la PAM disminuyó un 25% respecto al control hipertenso ($p < 0.001$).El compuesto C9 no indujo cambios en la presión PAM del grupo hipertenso.
- 4) El consumo de agua en los animales normotensos e hipertensos tratados con Conivaptány C9, se incrementó significativamente ($p < 0.001$) en ambos grupos, lo que indica de manera indirecta, que tanto el Conivaptán como el C9 poseen un poderoso efecto acuareético. Por otro lado, la administración del OPC21268 a los grupos normotensos e hipertensos no indujo ningún cambio en la ingesta de agua, indicando indirectamente que este compuesto no posee efecto acuareético.
- 5) La evaluación de los marcadores de daño hepático y renal, sugieren que solo el OPC21268 podría tener un efecto hepatotóxicosignificativo.

ABSTRACT

The knowledge of the physio pathological mechanisms that cause systemic arterial hypertension (SAH) has enabled the development of alternative treatments; however, the ever-growing knowledge of AVP mediated control mechanisms, suggest new possibilities regarding the pharmacological control for SAH.

Arginine vasopressin (AVP), is a hormone secreted in the neurohypophysis, mostly known for its vasopressor effects (in acute body fluids loss), and its antidiuretic effects. Nevertheless, recent evidences suggest that AVP also has a role on BP long-term regulation and in SAH. Although there has been diverse mechanisms postulated that explain this relationship these have not been fully established. In previous studies, at our laboratory, in normotensive and hypertensive rats, we demonstrated that the neuro intermediate lobectomy induces a permanent drop of circulating levels of AVP (20% less vs control group) and a permanent state of hypotension(75% of LNI animals). In addition, SHR rats, LNI permanently normalizes BP measures. We already know that the vascular smooth muscle has V1a AVP receptors thus; we think that the mechanism, which the AVP participates on blood pressure regulation, is by maintaining the vascular base tone. If this were true, the loss of AVP induced by NIL would be responsible for the drop of the vascular muscle tone and the BP. We consider that blocking V1a and V2 AVP receptors will induce a drop of BP in normotensive and hypertensive rats. Up to date, there have been synthesized a number of non-peptide AVP antagonists called the (*vaptans*), which have specific blocking capabilities for the V1a, V1b and V2 AVP receptors so we think that using these we can induce a long-term BP drop in our animals.

Objectives: 1) to standardize a secondary hypertension model (Page's Kidney). 2) To investigate the effects of the mixed V1a and V2 blocking vaptans: Conivaptan a C9 compound and the effects of the specific V1a blocking vaptan OPC 21268 on the long-term BP on normotensive and hypertensive rats. 3) To compare indirectly the acuaretic effects of the vaptans through the daily water intake measure. 4) To determine the nephrotoxic and the hepatotoxic effects of the vaptans at the used doses.

Materials and Methods: We standardized the surgical model of a secondary hypertension, Page's kidney.

We used young, male rats, of the Wistar strain divided on these groups: Experiment 1 (normotensive rats): 1) control group (excipient, DMSO), 2) Conivaptan (2mg/kg/2/day), 3) C9 (20mg/kg/2/day), 4) OPC21268 (2mg/kg/2/day), all of which were administered/IM for 15 days. Experiment 2 (hypertensive rats): We used the exact same groups as in the normotensive rats with the difference that 3 weeks prior to the administration of the vaptans the rats were surgically intervened with Page's Kidney secondary hypertension model.

At the end of the treatments (15 days), we measured the mean blood arterial pressure MBAP directly (Carotid artery) with the registry system (BIOPAC MP-150-AcqKnowledge 4.1). Data was expressed using Mean \pm SD. At the end, we sacrificed animals and collected their serum for the biomarkers measurements (AST, ALT, Cr Urea and Glucose).

Statistics: the results were analyzed and the graphics made using the statistic software GraphPad Prism 5; $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results and conclusions:

- 1) We standardize the Page's Kidney hypertension model. We observed a MBAP on the hypertensive rats of 160 ± 5 mmHg vs 110 ± 7 mmHg observed on normotensive rats ($p < 0.001$).
- 2) The treatment of Conivaptan, induced in both groups a 20% drop on the MBAP; however, on the normotensive rats group, this drop was not statistically significant on comparison to their control, meanwhile on the hypertensive rats group the MBAP was significantly lower than their control ($p < 0.001$).
- 3) The treatment with OPC21268 and the C9 compound did not induce a drop on the MBAP on the normotensive rats, meanwhile on the hypertensive rats treated with OPC21268 we observed a MBAP drop of the 25% on comparison to their control group ($p < 0.001$).
- 4) The daily water intake on both groups (normotensive and hypertensive) treated with Conivaptan and C9 compound, increased significantly ($p < 0.001$) in both groups,

which indicates indirectly that the Conivaptan and the C9 compound have a significant acuarético effect. On the other hand the application of OPC21268 produced no changes on the daily water intake on either group.

- 5) The evaluation of the nephrotoxic and hepatotoxic biomarkers suggests that only OPC21268 might have some hepatotoxic effects



INTRODUCCION

La Arginina Vasopresina (AVP), también conocida como Hormona Antidiurética (ADH) es una hormona neurohipofisaria sintetizada en el hipotálamo y transportada por vía axonal a las terminaciones nerviosas en la neurohipófisis. Las acciones fisiológicas más conocidas de la AVP son:

- Regular el equilibrio hidroelectrolítico de los compartimentos extracelulares del organismo, a través de su acción antidiurética a nivel de los túbulos colectores del riñón.
- Efecto vasopresor

La vida media de la AVP en la sangre circulante es de 15-30 minutos en los humanos mientras que en la rata es de 5-15 minutos.

Hasta el momento se han identificado 3 tipos de receptores de AVP: V1a, V1b, V2, todos pertenecen a la familia de los receptores acoplados a proteínas G (Rhodopsin-like class A G-protein coupled receptors) (Decaux & Soupart, 2008). La activación de cada receptor desencadena vías de señalización intracelular específica del tipo celular sobre el que actúa. En este trabajo, los receptores de interés son los V1a y V2 vasculares.

La Hipertensión arterial es actualmente la enfermedad crónico-degenerativa más común en el mundo. A nivel mundial, cada año mueren aproximadamente 17 millones de personas por enfermedades cardiovasculares, de las que 9.4 millones se deben a la hipertensión arterial sistémica (HAS) (WHO, 2013) y sus complicaciones, principalmente secundarias a cardiopatía isquémica (45%) y accidentes cerebrovasculares (51%).

Desde el año 2008 se calculó que aproximadamente del 30% al 40% de la población mundial mayor de 25 años padece HAS; es decir 1 de cada 4 personas.

En México las cifras son similares, en las que además, la prevalencia se incrementa al doble en personas con edades de más de 50 años (Jauregui, 2009). Actualmente se han desarrollado diversas alternativas farmacológicas para el control de la hipertensión arterial, lo que aunado a la comorbilidad asociada a esta afección crónico-degenerativa, imponen un costo enorme a las diversas instituciones de salud en los diferentes países. Por lo anterior,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

resulta de la mayor importancia profundizar en el estudio de los diversos mecanismos fisiopatológicos responsables de la hipertensión arterial e incrementar el arsenal terapéutico para mantener y mejorar la calidad de vida de los pacientes con HAS.

El planteamiento de nuevas alternativas terapéuticas debe estar basado en el mayor conocimiento de los diversos mecanismos de regulación de la presión arterial. En este sentido, surge la AVP como un factor que pudiera estar participando de manera determinante en el desarrollo de la HAS.

A partir de los años 90 se inició el estudio del papel de los vaptanes (fármacos sintéticos de naturaleza no-proteica con propiedades bloqueadoras de los receptores V1a y V2 de AVP) en pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva crónica avanzada y pacientes con cirrosis hepática avanzada, los cuales se caracterizan por un incremento de la secreción de AVP secundaria a la retención de solutos, lo que crea un círculo vicioso que lleva rápidamente al choque y muerte de los pacientes (Okada, Suzuki, & Kanno, 1995). En un intento de contrarrestar la retención de líquido por el exceso de AVP, la administración de los antagonistas de los receptores V2 de AVP a nivel de los túbulos colectores del riñón, induce un efecto acuareético, es decir excreción de agua y no de solutos, lo que repercute en una disminución de los volúmenes líquidos extracelulares y restablecimiento del equilibrio hidro-osmótico, sin embargo, ya que la LNI induce disminución permanente de la presión arterial por déficit de AVP, es posible que la administración de antagonistas de los receptores V1a de AVP induzca una hipotensión semejante a la observada en los animales LNI. Este proyecto, tiene como objetivo general de probar esta hipótesis. Además se evaluaron los posibles efectos tóxicos del Conivaptán, compuesto C9 y el OPC-21268 sobre el hígado y riñón de los vaptanes

HIPERTENSIÓN ARTERIAL SISTEMICA

INTRODUCCIÓN

La función circulatoria del organismo, consiste en atender las necesidades en cuanto al transporte de nutrientes, productos de desecho, hormonas para mantener un medio interno que facilite la supervivencia y funcionalidad óptima de las células (Guyton&Hall 2011). La presión arterial, es definida como el producto de la fuerza con la que la sangre viaja en los vasos sanguíneos (presión a las paredes de los vasos sanguíneos), en otras palabras, la fuerza ejercida por la sangre contra una unidad de superficie de la pared del vaso (Guyton&Hall, 2011)

La presión arterial se expresa en milímetros de mercurio (mmHg). Se pueden reconocer dos valores: la presión sistólica producida cuando el corazón se encuentra en contracción llega hasta los 120mmHg, y la presión diastólica, producida cuando el musculo cardiaco se relaja entre latidos es de 80mmHg. La hipertensión arterial es una afección en la cual la presión arterial en los vasos sanguíneos se mantiene continuamente alta; cifras sistólicas iguales o superiores a 140mmHg y cifras diastólicas iguales o superiores a 90mmHg (WHO, 2013).

Fisiológicamente la presión arterial mide la fuerza ejercida por la sangre contra una unidad de superficie de la pared de los vasos sanguíneos, por ejemplo, si se dice que la pared de un vaso sanguíneo es de 50mmHg, quiere decir, que la fuerza ejercida por la sangre es suficiente para subir una columna de mercurio contra la gravedad hasta una altura de 50mm. Es por eso que se tiene establecida la siguiente fórmula, la cual representa lo establecido previamente (ley de Ohm):

$$PA= GC*RSV$$

PA: Presión arterial

GC: Gasto cardiaco (cantidad de sangre bombeada por el corazón minuto)

RSV: Resistencias vasculares

El GC representa la cantidad de sangre bombeada por el corazón cada minuto, mientras que la resistencia vascular está determinada por el diámetro de los vasos que se opone al flujo sanguíneo así, la relación del gasto cardiaco es inversamente proporcional a la resistencia vascular periférica: $GC = RVP/PA$. Cuando estas relaciones se alteran, dan lugar a cambios patológicos reconocidos como hipertensión arterial.

El JNC8 ha hecho una clasificación de la hipertensión arterial en base a los niveles de presión.

Clasificación PA	PAS* mmHg	PAD* mmHg	Estilos de Vida	Inicio Terapia	
				Sin indicación clara	Con indicación clara (ver Tabla 8)
Normal	<120	y < 80	Estimular	No indicado tratamiento farmacológico	Tratamiento Indicado***
Prehipertensión	120- 139	ó 80- 89	Sí	Tiazidas en la mayoría. Considerar IECAs, ARA II, BBs, BCC ó combinaciones	Fármacos según las indicaciones presentes****. Otros antihipertensivos (diuréticos, IECAs, ARA II, BBs, BCC)
HTA: Estadío 1	140- 159	ó 90- 99	Sí	Combinación dos fármacos en la mayoría** (usualmente tiazídicos, IECAs, o ARA II, BBs ó BCC)	según sea necesario
HTA: Estadío 2	>160	ó >100	Sí		

* Tratamiento determinado por la elevación de la PA

** La terapia combinada inicial debe usarse con precaución cuando exista riesgo de hipotensión ortostática

***Tratamiento en enfermedad renal crónica o diabetes con objetivo PA <130/80 mmHg

Tabla 1: Tomada del “Report of theEighthJointNationalCommittee (JNC8)” Clasificación de la presión arterial en adultos. Se identifican las presiones arteriales con las cuales se puede establecer diagnóstico de HAS, dependiendo de los valores que presenten los pacientes con este padecimiento. Encontrando datos para presión sistólica y presión diastólica, para pacientes normotensos (normales) o que presentes hipertensión. (JNC8., 2014)

La elevación de la presión arterial, aunque sea moderada, acorta la esperanza de vida. Cuando la presión arterial está muy elevada, con una presión arterial media un 50% o más por encima de lo normal, la persona presenta un problema de salud que pone en riesgo inminente su vida, a no ser que se trate correctamente (Guyton& Hall, 2011).

Debido a que en la actualidad la hipertensión arterial está determinada por un conjunto de factores, los cuales condicionan diversas alteraciones, se establecen factores de

riesgo, los cuales actúan como agravantes de la condición clínica de las personas. Un factor de riesgo se entiende como un elemento o característica biológica, que determina la posibilidad de desarrollar hipertensión arterial que puede llevar al paciente a infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca y muerte súbita.

El término “factor de riesgo” fue empleado por primera vez en 1961 (Jauregui, 2009) cuando se inició el estudio epidemiológico en la población de Framingham. Los factores de riesgo se clasifican en: a) factores mayores y b) factores menores.

En los factores mayores o de alto riesgo se encuentran: el tabaquismo, diabetes mellitus y las dislipidemias. Los factores menores son los que, estando presentes, denotan mayor riesgo, aunque resultan menos importantes que los mayores; estos incluyen obesidad, inactividad física, historia familiar de cardiopatía isquémica y raza. Existe una nueva clase de factores de riesgo que han estado cobrando importancia ya que se relacionan directamente con el estilo de vida de las personas, estos factores son conocidos como “factores psicosociales”, y se pueden asociar con un aumento de los riesgos de padecer la enfermedad; sin embargo, hay evidencia definitiva como agentes causales porque su potencial aparición es menor en comparación con los otros factores.

INCIDENCIA MUNDIAL DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL (HAS)

La HAS es una enfermedad cardiovascular de las más comunes a nivel mundial, debido que posee una incidencia muy elevada en la población adulta. Las enfermedades cardiovasculares, presentan una prevalencia creciente atribuible al aumento de la población, su envejecimiento, (esperanza de vida) y a los factores de riesgo relacionados a la población, como la dieta, uso excesivo de sustancias nocivas (alcohol, tabaco, etc.), inactividad física, sobrepeso y exposición prolongada a situaciones estresantes (Kearny, et al., 2004); sin embargo, se puede apreciar, que las enfermedades asociadas al sistema cardiovascular, afectan de manera desproporcionada a las poblaciones de países de ingresos medio/bajos, en los cuales los sistemas de salud son ineficientes (WHO, 2013). En el mundo, las enfermedades cardiovasculares son responsables de aproximadamente 17 millones de muertes por año, es decir, que casi un tercio del total de muertes a nivel mundial (WHO, 2013). Las consecuencias de la hipertensión, son complejas y se

encuentran directamente relacionadas a los factores de riesgo, pudiendo condicionar complicaciones tales como enfermedades cerebrovasculares y cardiopatía isquémica, entre otras.

La Organización Mundial de la Salud, publicó en 2008 (WHO, 2013) que en ese año se había diagnosticado al 40% de los adultos mayores de 25 años con hipertensión, siendo un aproximado de 1000 millones de personas con esta enfermedad. En general la prevalencia de la hipertensión es menor en los países de ingresos económicos elevados en comparación con otros países con ingresos más bajos (Figura 1).

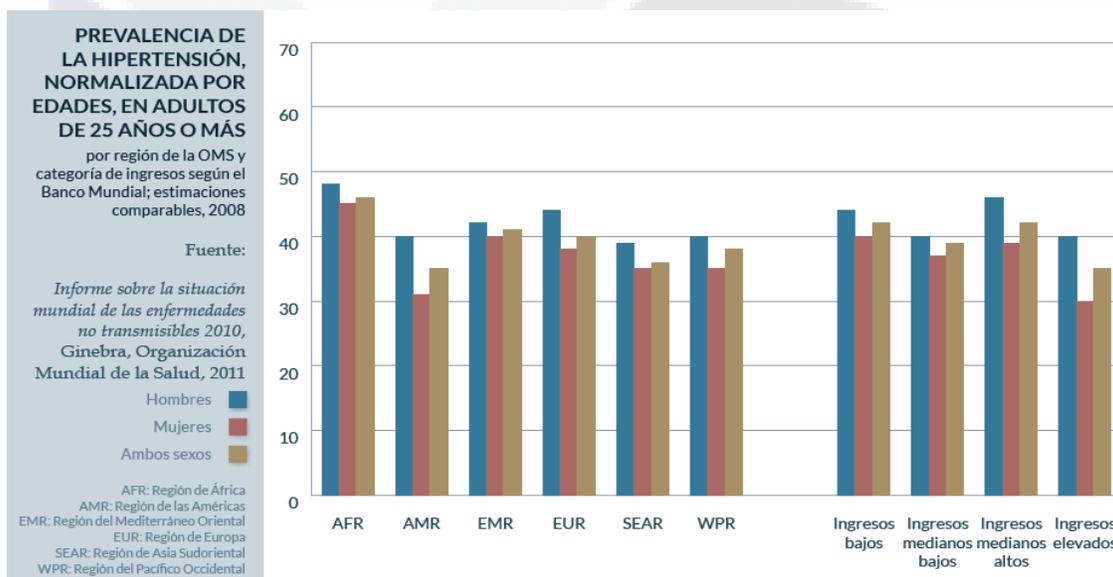


Figura 1: Tomada del informe “Información General sobre la Hipertensión en el Mundo” de la Organización Mundial de la Salud, 2013; Ginebra, Suiza. En la cual se observa la prevalencia de la hipertensión en adultos de 25 años o más a nivel mundial, divididos por regiones y por ingresos económicos.

En la actualidad, la detección y el tratamiento preventivo, además de la prontitud al tratamiento efectivo de la hipertensión han contribuido a una disminución de morbilidad (JNC8, 2014), tanto en países de ingresos económicos elevados, como en los de ingresos bajos. Se han establecido modificaciones a las políticas de salud pública, y modelos de detección temprana de factores de riesgo, mediante la aplicación de la medicina preventiva, sin embargo, la muerte prematura, la discapacidad, los gastos personales médicos y de las instituciones repercuten directamente en las familias y en las finanzas nacionales, con lo cual se acrecientan los problemas económicos presentes en los países con ingresos medio/bajos. De modo que la presencia de complicaciones aumenta

considerablemente, presentándose en mayor proporción, cardiopatías isquémicas, accidentes cerebrovasculares e insuficiencia renal (WHO, 2013).

Durante el periodo comprendido entre 2011-2025 la pérdida pecuniaria acumulada de producción asociada con las enfermedades crónico-degenerativas en los países de ingresos medio/ bajos será de 7.28 billones de USD, así mismo se estima que las enfermedades cardiovasculares, entre ellas la hipertensión, son motivo de casi la mitad del costo total. Principalmente condicionado por la presencia de complicaciones asociadas a la HAS, igualmente, es causante de 9.4 millones de muertes a nivel mundial (WHO, 2013) (JNC8, 2014).

Aunque la HAS es una entidad patológica de diagnóstico fácil, se encuentra establecido que al menos el 33% de los pacientes no ha sido diagnosticado (Jauregui, 2009) (Figura 2).



Figura 2: Tomada del informe del “Día mundial de la Hipertensión WorldHealthOrganization” 2013. En la cual se representa la proporción de pacientes a nivel mundial con hipertensión, aquellos con tratamiento y aquellos en control de la hipertensión con su tratamiento.

INCIDENCIA DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN MÉXICO

En México, el 95% de los pacientes con HAS presentan factores asociados como sobrepeso u obesidad (70% de la población), síndrome metabólico, resistencia a la insulina o diabetes (1 de cada 10 mexicanos), tabaquismo (25% de la población), alcoholismo (consumo per cápita en México, de 32 litros de etanol por año) (Stevens G, 2008); situaciones que incrementan el riesgo global total del paciente. A pesar de la cantidad de factores asociados, la mayoría de estos pacientes no tienen una etiología conocida y caen bajo el rubro de “causa primaria” (Jauregui, 2009). Aunado a esto se encuentran los cambios al estilo de vida en las últimas décadas, afectando todos los estratos sociales y a todas las generaciones, en donde no existe la cultura del ejercicio cotidiano.

De los 106 millones de mexicanos, aproximadamente 15 millones en edad adulta, padecen HAS (30%); pudiendo llegar al 50% en personas mayores de 50 años (Jauregui, 2009); (ENSANUT, 2012).



Figura 3: Tomada de la “Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012” México D.F., 2012. En la cual se observa la prevalencia de la hipertensión en México además de la diferencia de prevalencia por estados. Además se observa que del total de pacientes reconocidos como hipertensos únicamente el 5% de ello se encuentra con un control adecuado de su padecimiento, presentando cifras normales de TA.

Geográficamente en el norte del país la prevalencia de la HAS es del 36.4% en comparación al 28.5% del sur; además, la prevalencia es mayor en las áreas urbanas que en las rurales 31.9% y 29.9% respectivamente (Figura 3). En las personas con un nivel

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

socioeconómico alto se presenta en 31.1%, mientras que en los de nivel socioeconómico bajo la prevalencia es del 29.7%(ENSANUT, 2012). La prevalencia de la hipertensión en México es de las más elevadas a nivel mundial, debido a que el diagnóstico oportuno no ha ido a la par con el aumento de la incidencia(Barquera, et al., 2010).

En México de aquellos adultos con HAS únicamente 73.6% de ellos reciben tratamiento médico (farmacológico), y más de la mitad presentan un mal control de su padecimiento.(Stevens G, 2008).

Las complicaciones de la hipertensión están directamente relacionadas con el aumento de la presión y tiempo de evolución; es por eso que la detección temprana y el tratamiento oportuno otorgan importantes beneficios para aquellos que la padecen. (Barquera, et al., 2010).

MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA PRESION ARTERIAL

El organismo cuenta con diferentes mecanismos para el mantenimiento de la presión arterial normal para asegurar las condiciones constantes del medio interno. Cuando se amenaza la homeostasis vascular, se activan diversos mecanismos de control que actuando simultáneamente, restablecen la presión arterial a niveles normales. Estos mecanismos se clasifican en mecanismos de regulación rápida (mediada por sistema nervioso) y mecanismos de regulación lenta y a largo plazo (mediada por mecanismos renales, hormonales y locales) (JNC7, 2004).

MECANISMO DE REGULACIÓN RÁPIDA DE LA PRESIÓN ARTERIAL: SISTEMA NERVIOSO

El sistema nervioso autónomo es un mecanismo de control de la presión arterial a corto plazo. El sistema nervioso autónomo simpático activa funciones vasoconstrictoras y cronotrópicas positivas e inhibición de las señales vagales parasimpáticas hacia el corazón. A continuación se resumen los 3 mecanismos para incrementar la presión arterial en respuesta a la activación del sistema nervioso simpático (JNC7, 2004):

1. La mayoría de las arteriolas se contraen, aumentando la resistencia vascular periférica total.

2. Contracción venosa importante, con un aumento en el retorno venoso hacia el corazón (aumentando la precarga).
3. Estimulación directamente al miocardio aumentando la fuerza de contracción.

Una característica especialmente importante de este sistema es su rapidez de respuesta (5-10 segundos), mientras que la inhibición brusca de la estimulación simpática induce una caída de la presión arterial a la mitad de los niveles de presión normal en un tiempo de 10-40 segundos (Guyton & Hall, 2011). Los mecanismos reflejos para esta rápida regulación nerviosa de la presión arterial es el denominado reflejo “barorreceptor” (mecanorreceptores), los cuales se encuentran situados en el seno carotídeo y en el arco aórtico. El aumento de la presión arterial estimula los barorreceptores, que manda señales nerviosas al SNC, específicamente a los núcleos bulbares cardiorreguladores, dando lugar a señales eferentes vagales con actividad parasimpático al nódulo senoauricular del corazón induciendo descenso de la frecuencia cardíaca, gasto cardíaco y presión arterial. Por otro el aumento de la actividad de los presorreceptores, induce la inhibición de los centros bulbares simpáticos, causando vasodilatación periférica (resistencia periférica) y de la presión arterial (Guyton & Hall, 2011). Así, este sistema es el encargado de mantener los niveles normales de presión arterial segundo a segundo.

MECANISMOS DE REGULACIÓN INTERMEDIA Y A LARGO PLAZO DE LA PRESIÓN ARTERIAL

Estos mecanismos de control de la presión arterial están relacionados con la homeostasis de los volúmenes líquidos extracelulares del organismo, entre estos, sobresalen los hormonales y renales (Guyton & Hall, 2011).

Un mecanismo de regulación de la presión arterial a mediano plazo, es el llamado “sistema de líquidos renal-corporal”, el cual se activa de manera lenta pero con un gran impacto sobre la presión arterial a mediano y a largo plazo. En este mecanismo el riñón juega un papel principal al ajustar el volumen de líquido excretado a través del mecanismo de *diuresis de presión*, el cual en respuesta a un aumento en el volumen sanguíneo (sin cambios en la capacitancia vascular), da lugar a un incremento de la presión arterial, haciendo que los riñones excreten el exceso de volumen líquido y disminución de la presión

arterial. Además el aumento de presión no solo incrementa el volumen líquido excretado, sino que simultáneamente se incrementa la tasa de eliminación de sodio en proporción al volumen urinario que se excreta.

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA

En este potente mecanismo de regulación de la presión arterial a largo plazo participa la renina, una enzima renal liberada a la sangre por las células cromafines del sistema yuxtaglomerular de las nefronas en respuesta a la hipotensión arterial. Sin embargo, pequeñas cantidades de renina permanecen en el riñón en donde participan en la regulación local del flujo sanguíneo y en otras funciones intrarrenales. La renina circulante interactúa con una globulina llamada angiotensinogeno el cual bajo la acción catalítica de la renina se convierte en angiotensina I, con propiedades vasoconstrictoras discretas. En seguida, en presencia de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA), producida principalmente por el endotelio vascular pulmonar la angiotensina I se transforma en angiotensina II, la cual es uno de los factores vasoconstrictores más poderosos. La producción de Angiotensina II también ha sido identificada en el sistema renal tubular y vasos peri-renales. La vida media de la Angiotensina II es de 1-2 minutos aproximadamente y es inactivada rápidamente por angiotensinasas de origen tisular. Dos efectos importantes sobre la presión arterial ocurren en respuesta a la angiotensina II:

1. Vasoconstricción rápida generalizada incrementando la resistencia vascular periférica y en menor medida el sistema venoso, esto último, favorece el retorno venoso.
2. Disminución de la excreción de sodio y de agua por los riñones, lo que aumenta el volumen líquido extracelular. En este sentido, el incremento del volumen circulante tiene a mediano plazo un impacto mayor sobre la presión arterial que el efecto vasoconstrictor.

La angiotensina II actúa directamente en los riñones provocando retención de sodio y de agua simultáneamente.

Finalmente, la angiotensina II es uno de los factores más importantes en la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal. Las funciones de la aldosterona sobre la

absorción de sodio y agua y la secreción de potasio a nivel de los túbulos colectores renales, juega un papel fundamental en el equilibrio electrolítico y secundariamente sobre el volumen líquido corporal.

TRATAMIENTO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

El tratamiento de la HAS incluye aspectos no-farmacológicas y farmacológicas, los cuales se complementan y están encaminados a prevenir eventos cardiovasculares (JNC8, 2014). En el tratamiento no-farmacológico destacan los cambios en el estilo de vida, principalmente incorporación de ejercicio físico bajo supervisión y ajustes en la dieta: dieta balanceada, reducción del consumo diario de sodio a 1500 mg/día (Bell, Twiggs, & Olin, 2015), disminución del consumo de alcohol (AHA, 2012). Por otro lado la JNC8, ha establecido que junto con la terapia no-farmacológica, la terapia farmacológica debe iniciarse si pacientes menores de 60 años presentan presiones sistólicas y diastólicas persistentemente elevadas (>140 mmHg y >90 mmHg respectivamente). En pacientes mayores de 60 años, el tratamiento farmacológico antihipertensivo deberá iniciarse si las presiones sistólicas y diastólicas se encuentran por arriba de 150 mmHg, y 90 mmHg respectivamente (Bell, Twiggs, & Olin, 2015).

El tratamiento farmacológico se convierte en el tratamiento de elección cuando las medidas no-farmacológicas no han tenido un efecto significativo en el control de la HAS (Derrick, 2012). Actualmente se cuenta con un arsenal farmacológico variado en el que se distinguen varias familias de medicamentos, en las que destacan las drogas diuréticas, bloqueadoras de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), beta bloqueadores, bloqueadores de los canales de calcio, vasodilatadores y drogas que actúan a nivel del SNC. El tratamiento debe ser individualizado, en donde deben incluirse factores étnicos, (Bell, Twiggs, & Olin, 2015) (JNC8, 2014). La tabla 2, tomada de “Eighth Report of the Joint National Committee” on the treatment of hypertension in adults JNC8 Hypertension Guideline Algorithm, muestra las diferentes familias de fármacos aprobados para el tratamiento de la HAS, nombres farmacológicos y comentarios importantes.

Tipo de Combinación	Combinación a Dosis Fija, mg+
IECAs y BCs	Amlodipino/Benazepril Hidroclorida (2.5/10, 5/10, 5/20, 10/20) Enalapril maleato/Felodipino (5/5) Trandolapril/Verapamil (2/180, 1/240, 2/240, 4/240)
IECAs y Diuréticos	Benazepril/Hidroclorotiazida (5/6.25, 10/12.5, 20/12.5, 20/25) Captopril/Hidroclorotiazida (25/15, 25/25, 50/15, 50/25) Enalapril maleato/Hidroclorotiazida (5/12.5, 10/25) Lisinopril/Hidroclorotiazida (10/12.5, 20/12.5, 20/25) Moexipril HCl/Hidroclorotiazida (7.5/12.5, 15/25) Quinapril HCl/Hidroclorotiazida (10/12.5, 20/12.5, 20/25)
ARA II y Diuréticos	Candesartan cilexetilo/Hidroclorotiazida (16/12.5, 32/12.5) Eprosartan mesilato/Hidroclorotiazida (600/12.5, 600/25) Irbesartan/Hidroclorotiazida (150/12.5, 300/12.5) Losartan Potasio/Hidroclorotiazida (50/12.5, 100/25) Telmisartan/Hidroclorotiazida (40/12.5, 80/12.5) Valsartan/Hidroclorotiazida (80/12.5, 160/12.5)
BBs y Diuréticos	Atenolol/Clortalidona (50/25, 100/25) Bisoprolol Fumarato/Hidroclorotiazida (2.5/6.25, 5/6.25, 10/6.25) Propranolol LR/Hidroclorotiazida (40/25, 80/25) Metoprolol Tartrato/Hidroclorotiazida (50/25, 100/25) Nadolol/Bendroflutiazida (40/5, 80/5) Timolol Maleato/Hidroclorotiazida (10/25)
Fármacos de acción central y Diuréticos	Metildopa/Hidroclorotiazida (250/15, 250/25, 500/30, 500/50) Reserpina/clorotiazida (0.125/250, 0.25/500) Reserpina/Hidroclorotiazida (0.125/25, 0.125/50)
Diurético y Diurético	Amiloride HCl/Hidroclorotiazida (5/50) Espironolactona/Hidroclorotiazida (25/25, 50/50) Triamterene/Hidroclorotiazida (37.5/25, 50/25, 75/50)

* No se han proporcionado los nombres comerciales en Inglés
+ Algunas combinaciones están disponibles en dosis fijas múltiples. Cada dosis se presenta en mg.

Tabla 2: Clasificación de los medicamentos antihipertensivos por clase, nombre y comentarios importantes sobre su uso.

HIPÓFISIS

INTRODUCCIÓN

La hipófisis o pituitaria es una glándula endocrina, localizada en la base del cerebro (silla turca) y conectada por el tallo hipofisario a la eminencia media del hipotálamo y forma la unidad funcional hipotálamo-hipófisis. En la rata, la hipófisis está formada por tres lóbulos, cada uno de los cuales secreta hormonas específicas: el lóbulo anterior o adenohipófisis sintetiza y secreta hormonas de crecimiento (GH), prolactina (PRL), Adrenocorticotropina (ACTH), hormona folículo estimulante (FSH), hormona Luteinizante (LH) y Tirotropina (TSH). El lóbulo intermedio sintetiza y secreta dos formas de la hormona estimulante de los melanocitos: α MSH y β MSH. El lóbulo posterior o neurohipófisis secreta las hormonas Oxitocina (OT) y arginina vasopresina (AVP); esta última también llamada hormona antidiurética (ADH)(Guyton& Hall, 2011) (Figura 4).

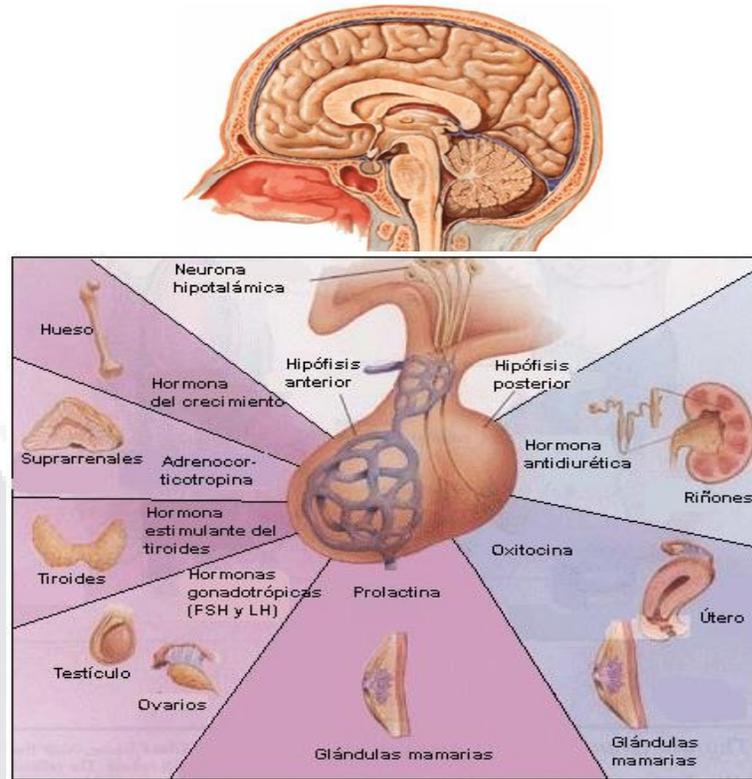


Figura 4: Tomada del libro “HumanPhysiology12th Edition Stuart Ira Fox McGraw-Hill” Anatomía y fisiología de la glándula hipófisis; se observan las principales hormonas secretadas por los lóbulos anterior y posterior de la hipófisis además de los tejidos blanco de las hormonas.

EMBRIOLOGIA

En el humano, el desarrollo de la hipófisis se origina del ectodermo a partir de la 4^a semana de gestación. Las porciones de la hipófisis poseen un origen embriológico diferente: el lóbulo anterior (adenohipófisis) se desarrolla a partir del ectodermo del techo de la faringe (cavidad bucal) que forma una invaginación llamada bolsa de Rathke. Por otro lado, el lóbulo posterior (neurohipófisis) deriva de una evaginación del suelo del diencefalo. Ambas porciones se unen para formar la hipófisis típica del adulto.

El doble origen embrionario explica la diferencia funcional de ambos lóbulos hipofisarios. En el humano, en la tercera semana, la bolsa de Rathke crece dorsalmente hacia el infundíbulo. Al final del segundo mes, pierde contacto con la cavidad bucal y se une íntimamente con el infundíbulo nervioso. La porción aboral de la bolsa de Rathke da lugar al lóbulo anterior o adenohipófisis. La evaginación diencefálica da lugar a la

formación del lóbulo posterior hipofisario o neurohipófisis, que está formada por 3 partes: la eminencia media, el tallo infundibular y la *pars nervosa*. El extremo distal del infundíbulo experimenta proliferación de las células de glía, básicamente de microglía y astrocitos, que constituye las células de sostén de las terminales nerviosas del tracto hipotálamo-neurohipofisario.

FUNCIONES ADENOHIPOFISIARIAS

La adenohipófisis sintetiza y secreta las siguientes hormonas: de crecimiento (GH), prolactina (PRL), adrenocorticotropina (ACTH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y las gonadotropinas hipofisarias, hormona estimulante de los folículos (FSH) y la hormona Luteinizante (LH).

FUNCIONES NEUROHIPOFISIARIAS

La neurohipófisis secreta las hormonas Oxitocina (OT) y Arginina-Vasopresina (AVP, ADH). Los somas de las neuronas que sintetizan a estas hormonas se encuentran en los núcleos supraópticos y paraventriculares del hipotálamo. Desde aquí los axones pasan a la neurohipófisis a través del tracto hipotálamo-neurohipofisario para ser liberadas por exocitosis a la circulación general.

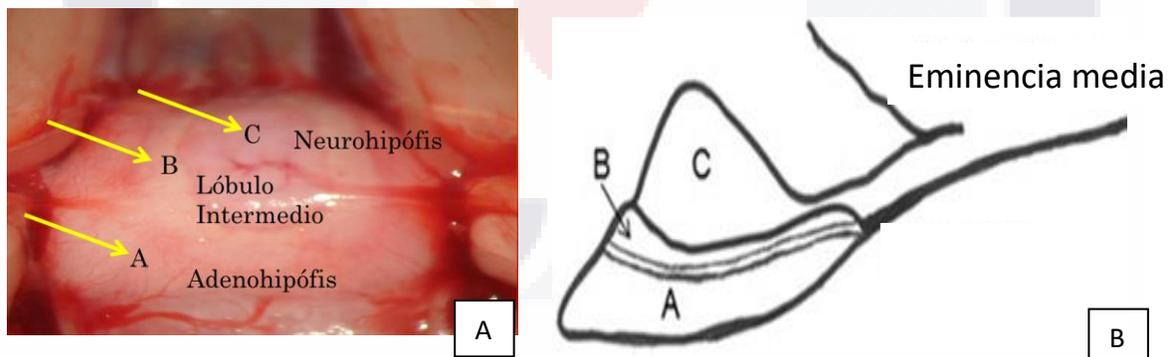


Figura 5: A. Fotografía tomada en el Lab.de Neuroinmuno-Endocrinología mostrando la disposición anatómica de la glándula hipófisis de la rata. B. Esquema de la anatomía de la hipófisis en rata. Tomada del manual de procedimientos del Laboratorio de Neuroinmuno-Endocrinología.

OXITOCINA

La OT estimula a las células mioepiteliales que rodean a los alvéolos mamarios provocando su contracción y la evacuación de la leche. Otra importante función de la OT, es la estimulación de la contracción del músculo liso uterino durante el parto, lo cual favorece la expulsión del producto. Otras funciones reconocidas de la OT se relacionan con la contracción del músculo liso del útero durante la menstruación y durante el las trompas uterinas(Manning, et al., 2012).

ARGININA VASOPRESINA

La arginina vasopresina (AVP) es una molécula polipeptídica de 9 aminoácidos: Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-GlyNH₂; la cual es sintetizada por las neuronas de los núcleos hipotalámicos, supraóptico y paraventricular(JNC8, 2014). Al igual que la Oxitocina es transportada por vía axonómica, hasta las terminaciones nerviosas de la neurohipófisis. La secreción de AVP está bajo el control de múltiples mecanismos de regulación neuroendocrinos(Scott, Bishop, & Brown, 2009)(Decaux & Soupart, 2008).

Aunque las acciones antidiuréticas y vasopresoras de la AVP son las mejor conocidas, otras funciones no-antidiuréticas y no-vasopresoras, se han venido reconociendo y su importancia en la regulación de otros fenómenos fisiológicos ha venido cobrando relevancia, entre los que se encuentran: 1) Glucogenólisis hepática (Hiroyama, et al., 2007), 2) Coagulación sanguínea a través de estimular la secreción del factor de Von Willebrand por las células del endotelio vascular y de las plaquetas, 3) Sistema inmune, en donde participa en la regulación de las respuestas inmunes innatas y adquiridas(Quintanar, et al., 2012) 4) Participación como neurotransmisor en el control de diversas funciones del SNC como: memoria, aprendizaje, comportamiento social y algunos estados emocionales como agresión, ansiedad y miedo(Decaux & Soupart, 2008); (Zink Caroline F., 2010), 5)Control junto con la hormona liberadora de corticotropina (CRH) de la secreción de corticotropina por los corticotropos hipofisarios.(Quintanar, et al., 2012)El control de la secreción de corticotropina por la CRH forma parte del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, sistema fundamental para la supervivencia de los individuos en situación de estrés(Goodman&Gilman, 1998).

REGULACIÓN DE ARGININA VASOPRESINA

Los mecanismos mejor conocidos del control de la secreción de la AVP están relacionados con sus efectos fisiológicos mejor conocidos; el efecto antidiurético que a través de sus efectos renales regula la osmolaridad de los líquidos extracelulares, y el efecto vasoconstrictor, incrementando la presión arterial, en respuesta a la pérdida aguda de volumen líquido extracelular.

Control de la secreción de AVP por estímulos osmóticos. Este sistema se activa cuando la osmolaridad de los líquidos circulantes se incrementa por arriba de 300 mosm/L, lo que estimula a las células osmorreceptoras de la región hipotalámica anterior (lámina terminal). El incremento de la osmolaridad induce la salida de agua de las células osmorreceptoras, provocando deformación de la membrana plasmática, su despolarización y eventualmente la formación de potenciales de acción. Estos potenciales viajan hasta los núcleos supraópticos y paraventriculares, en donde estimulan a las células magnocelulares provocando la secreción de AVP a la circulación general (Guyton & Hall, 2011).

A nivel de los túbulos colectores del riñón, la AVP interactúa con los receptores V₂ de AVP (acoplados a proteínas G), activando la cascada de señalización intracelular mediada por el sistema del AMP cíclico, que a su vez estimula al sistema de acuaporinas 2 (canales acuosos), dando lugar a la reabsorción de agua (Perucca, et al., 2008). Al aumentar la reabsorción de agua, los líquidos corporales se diluyen, disminuyendo a la normalidad la osmolaridad plasmática (Green, et al., 2005); (Finley, Konstam, & Udelson, 2008); (Guyton & Hall, 2011).

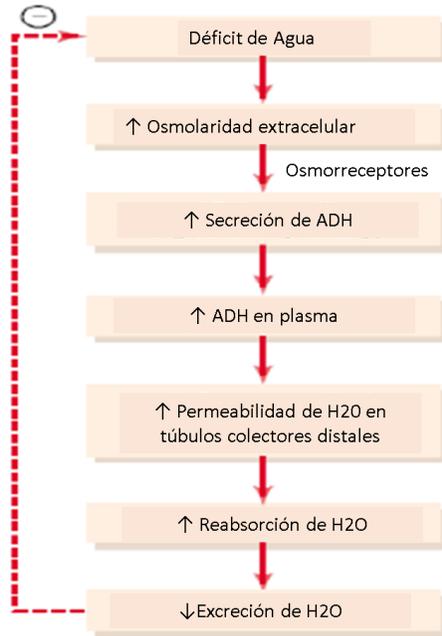


Figura 6: Tomada de “Textbook of Medical Physiology Guyton&Hall 2011”. Modificada. Esquema del mecanismo de retroalimentación para la regulación de la secreción de la hormona antidiurética (ADH o AVP) a través del sistema de osmorreceptores.

Control de la secreción de AVP por cambios en los volúmenes líquidos extracelulares. En situaciones de pérdida aguda de volumen sanguíneo, vómito y/o diarrea abundantes, la secreción de AVP aumenta. Existe una relación inversa entre la tasa de secreción de AVP y la frecuencia de potenciales de acción de las vías nerviosas aferentes de los presorreceptores de baja y alta presión del sistema vascular. Los receptores de baja presión se localizan en las grandes venas, aurículas derecha e izquierda y vasos pulmonares, mientras que los receptores de alta presión en los senos carotídeos y arco aórtico. Los receptores de baja presión detectan el grado de distensión de las paredes vasculares, de tal manera que una reducción moderada del volumen sanguíneo disminuye la actividad de los receptores provocando un incremento de la secreción de AVP. Así pues, los receptores de baja presión son los principales mediadores de los efectos del volumen sobre la secreción de AVP. La vía neural para este reflejo, inicia en los presorreceptores, desde donde los impulsos nerviosos pasan a través de los nervios vagos hasta el núcleo del haz solitario (NTS). Desde aquí, una vía inhibitoria se proyecta a la porción ventrolateral caudal del bulbo raquídeo (CVLM), que se conecta a través de una vía excitadora directa a

los núcleos hipotalámicos supraópticos y paraventriculares estimulando la secreción de AVP. La angiotensina II refuerza la respuesta a la hipovolemia y la hipotensión a través de los órganos circunventriculares que conectan con los núcleos hipotalámicos, estimulando la secreción de vasopresina. La hipovolemia y la hipotensión generadas por una hemorragia aguda, vómito y diarrea intensos, inducen la secreción de grandes cantidades de AVP (Ganong, 2016).

En la rata, las concentraciones circulantes de AVP para el mantenimiento del equilibrio hidro-osmótico fluctúa entre 1 y 12 pg/ml, mientras que para ejercer un efecto vasopresor los valores se encuentran por arriba de 12 y hasta 80 pg/ml.

RECEPTORES DE ARGININA VASOPRESINA

La AVP interactúa con los receptores selectivos de vasopresina tipo V1a presentes en el músculo liso vascular arteriolar condicionando una vasoconstricción, de aquí la presencia del efecto vasopresor de la hormona (Perucca, et al., 2008). Se ha observado que esta respuesta de AVP sobre los receptores V1a, es rápidamente contrarrestada por el sistema nervioso autónomo siempre y cuando se encuentre intacto y los reflejos cardiovasculares los cuales condicionan la activación del nervio vago produciendo bradicardia. Se ha observado en estudios en perros que cuando se encuentra alterado el sistema nervioso autónomo y se aplica una infusión aguda de AVP la TAM de los animales se eleva significativamente (Mavani et al., 2015) El resultado global de los efectos de la AVP es la vasoconstricción arteriolar y el incremento de la presión arterial secundario al aumento de las resistencias vasculares generalizado en el organismo (Guyton & Hall, 2011).

Receptores específicos para la AVP se localizan en la membrana celular de sus tejidos u órgano blanco. Se han identificado al menos 3 subtipos: V1a, V1b y V2 (Kohishi, et al., 2007). Los receptores de AVP pertenecen a la familia de receptores del tipo receptores acoplados a proteínas G de clase A del tipo de Rodopsina (Dcaux & Soupart, 2008) (“Rhodopsin-like class A G-protein coupled receptors”). Receptores transmembranales acoplados a proteínas G (GPCR), y se han definido en base a su distribución en los tejidos y a su respuesta a diversos fármacos (Green, et al., 2005). Los receptores V1a se encuentran

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ampliamente distribuidos en el organismo(Green, et al., 2005)(Ganong, 2005), pudiéndose encontrar en el músculo liso vascular, miocardio, hígado, riñón, corteza adrenal, diversas partes del SNC, testículos, ovarios, timo (Villabona, 2010) y otras células del sistema inmune(Quintanar, et al., 2012). Los receptores V1b se han identificado en la hipófisis anterior y median la liberación de corticotropina (ACTH) (Villabona, 2010), en el hipocampo, corteza frontal, amígdala central e hipotálamo(Green, et al., 2005). Por su parte, los receptores V2 se han encontrado en el endotelio vascular, plaquetas y en las células del túbulo colector del riñón (Villabona, 2010).

Los receptores V2 están acoplados al mecanismo de señalización que media la producción de AMP cíclico como segundo mensajero, mientras que los receptores V1a y V1b están acoplados al sistema de hidrólisis del fosfatidilinositol movilizándolo el Ca^{++} intracelular(Green, et al., 2005)(Verbalis, 2002).

Se ha observado que se requieren menores concentraciones de AVP para estimular a los receptores V2 (efecto antidiurético), que el requerido para la estimulación de los V1a (vasopresor)(Decaux & Soupart, 2008). La tabla 3 muestra la localización de los diferentes tipos de receptores de AVP, efectos fisiológicos que median en cada tejido, nombres alternativos y algunas de sus aplicaciones clínicas(Manning & Sawyer, 1991).

Cuadro I. Características de los receptores para vasopresina			
Receptores	Tejidos	Efectos	Señales Intracelulares
-V1	Músculo liso vascular Renal, vejiga, Adipocitos, plaquetas Bazo, testículos	Vasoconstricción	Vía del fosoinositol (activación de la fosfolipasa C) ↑Ca++ Intracelular
-V2	Conducto colector Renal Endotelio	↑permeabilidad al agua Vasodilatación	↑AMPc Mediado por NO
-V3	Hipófisis	Neurotransmisor Liberación ACTH	↑AMPc
-OTR	Utero Glándula mamaria Endotelio	Vasoconstricción Vasodilatación	Fosfolipasa C Mediado por NO

Tabla 3: Tomada de “Uso de vasopresina en estado de Choque” en la cual se observan la localización de los receptores de AVP además de un resumen de las funciones de los vaptanes. (Carrillo-Esper, 2004)

ACTIVACIÓN DE RECEPTORES V2 DE AVP

A nivel renal, la unión de la AVP a los receptores V2, estimula a la proteína Gs acoplada a la adenilato-ciclasa, induciendo la producción de cAMP, que a su vez activa a la proteína quinasa A (PKA). Esta vía incrementa la movilización e inserción de las vesículas contenedoras de acuaporinas tipo 2 (AQP2) a la membrana apical de las células del túbulo colector, incrementando la absorción de agua desde la luz tubular al espacio intersticial (Guyton & Hall, 2011).

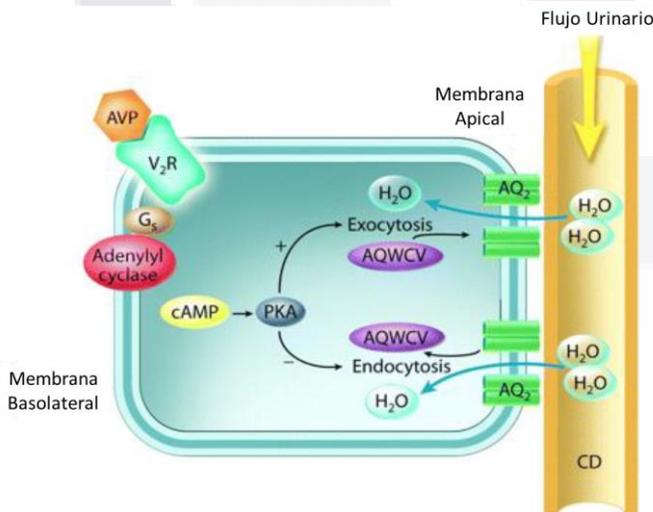


Figura7: Tomada de “Arginine Vasopressin Antagonists for the Treatment of Heart Failure and Hyponatremia” en la cual se muestra la activación de los receptores de Arginina Vasopresina V2 (Finley, Konstam, & Udelson, 2008)

ACTIVACIÓN DE RECEPTORES V1a y V1b DE AVP

La unión de la AVP al receptor V1a, estimula al sistema G acoplado a la fosfolipasa C de membrana (PLCB), dando lugar a la formación de inositol-trifosfato (IP3) y diacilglicerol. El IP3, estimula la liberación de calcio intracelular (icCa²⁺). Mientras que el diacilglicerol activa una cascada de fosforilación, mediada por la proteína quinasa C (PKC). Las células del músculo liso vascular poseen receptores el tipo V1a y su activación induce vasoconstricción, mientras que las células coricotropas de la hipófisis poseen receptores V1b y median la secreción de ACTH. La ACTH forma parte del llamado eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, sistema fundamental para la vida en las reacciones de adaptación al estrés (Decaux & Soupart, 2008); agregación plaquetaria, (Finley, Konstam, & Udelson, 2008) glucogenólisis (Goodman&Gilman, 1998).

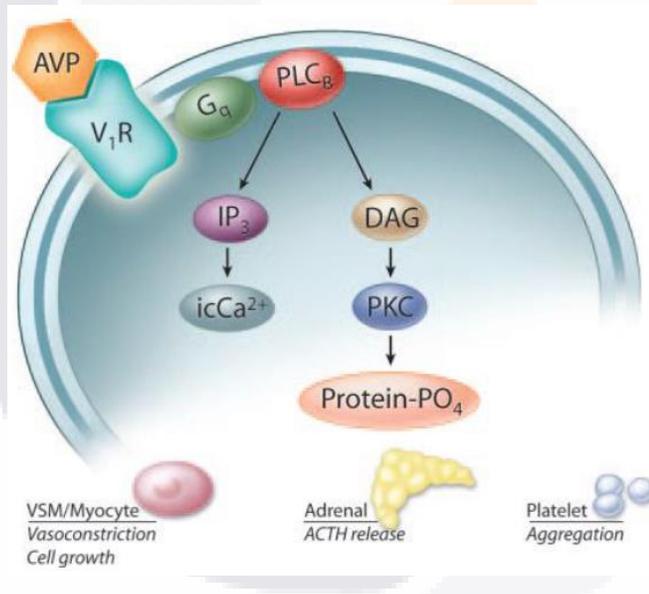


Figura8: Tomada de “Arginine Vasopressin Antagonists for the Treatment of Heart Failure and Hyponatremia” en la que se muestra la activación de los receptores de Arginina Vasopresina V1 (Finley, Konstam, & Udelson, 2008)

ANTAGONISTAS PEPTÍDICOS DE LOS RECEPTORES DE AVP

Poco después de la síntesis de la vasopresina en el laboratorio de Du Vigneaud (1954), se empezaron a crear moléculas peptídicas análogas derivadas de la AVP con efectos antagonistas de los receptores V1 y V2 de AVP (Tahara et al., 1997).

Muchos bloqueadores de los receptores de AVP se han desarrollado desde entonces y como sus estructuras moleculares derivaron de la molécula de AVP en la cual se modifica la estructura molecular cambiando o suprimiendo algunos radicales de la molécula (Manning, et al., 2012). A este tipo de moléculas se les llama antagonistas de AVP de naturaleza peptídica. Sin embargo, el uso prolongado de este tipo de antagonistas presenta diversos problemas. El más importante es que a largo plazo, su efecto inicial es bloqueador de los efectos de AVP, a la larga, actúan como agonistas de AVP (Tahara et al., 1997). Esto ha dado lugar a la búsqueda de compuestos de naturaleza no-peptídica que posean solo el efecto antagonista deseado (Yamamura, et al., 1992).

ANTAGONISTAS NO-PEPTIDICOS DE LOS RECEPTORES DE AVP

Actualmente se han sintetizado varios compuestos de naturaleza no-peptídica con actividad antagonista de los receptores de AVP llamados “*vaptanes*”. Estos compuestos fueron ideados inicialmente para bloquear específicamente a los receptores V2 de AVP del riñón y así, el efecto antidiurético de la hormona, induciendo así, una diuresis acuosa, fenómeno conocido acuaresis (Sequera, Albalade, & Alcázar, 2009). El uso potencial de estos compuestos se centró en enfermedades relacionadas con la producción excesiva de AVP; como el síndrome de secreción excesiva de ADH, cirrosis hepática y la insuficiencia cardíaca congestiva crónica, trastornos caracterizados por una excesiva producción de AVP y la consecuente retención de volúmenes líquidos y disminución de la osmolaridad (Gassanov, et al., 2011). A la fecha, se han sintetizado diversos antagonistas con efectos bloqueadores específicos para cada uno de los receptores de AVP (Ganong 2016)

ANTAGONISTAS NOPEPTÍDICOS DE LOS RECEPTORES DE AVP HECHOS EN MÉXICO

Ante la imposibilidad de contar con esta clase de compuestos (vaptanes), se decidió producirlos en México, por lo que trabajando en colaboración con el grupo del Dr. José Correa Basurto del Departamento de Bioquímica de la escuela de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, la estudiante de doctorado Martha Citlalli Contreras Romo, logró el diseño “*in silico*” y la síntesis química de varios de ellos. De estos, dos corresponden a derivados del ácido antranílico y el otro es un derivado benzazepínico N-sustituido(1-[(4-methylphenyl) sulfonyl]-5-oxo-2, 3, 4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepine-4-carbonitrile) llamado C9. El estudio de la actividad biológica de estos compuestos, mostró que el compuesto C9 posee propiedades que lo identifican como un poderoso vaptan, es decir, posee efectos bloqueadores de los receptores V1a (vasculares) y V2 (renales) de AVP (Contreras Colunga et al., 2013; 2014) (Quintanar-Stephano, et al., 2012).

PAPEL DE LA AVP EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La arginina vasopresina (AVP) juega un papel importante en la respuesta homeostática del organismo en la restauración de la presión arterial y los volúmenes líquidos corporales durante la hemorragia aguda o pérdida aguda de volúmenes líquidos corporales. Sin embargo, aunque sugerido por varios investigadores, el papel de la AVP en la regulación de la presión arterial a largo plazo no ha sido completamente dilucidado (Laycock, 2010).

Un hallazgo serendipitoso ocurrió cuando en un trabajo previo realizado en nuestro laboratorio, se midió la presión arterial en ratas con lobectomía neurointermediahipofisaria (LNI), encontrándose que en el 70% de los animales experimentaron disminución significativa y permanente de la presión arterial media secundaria a la deficiencia de AVP (105 mmHg de los animales controles vs 70 mmHg de los LNI). Ya que la LNI induce solo diabetes insípida transitoria (2-4 semanas post LNI) a pesar de los permanentemente bajos niveles circulantes de AVP, se puede pensar que el uso de antagonistas de los receptores V1a y V1a-V2 de AVP en animales normales y/o con hipertensión arterial espontánea o

experimental podrían responder con una disminución de la presión arterial a largo plazo (Quintanar-Stephano, et al., 2012). Estudios de otros autores, con ratones transgénicos desprovistos de receptores V1ademostraron una disminución permanente de la presión arterial (Koshimizu T., 2012), aunque no tan importante como la observada en nuestros animales LNI. Además de lo anterior, el modelo de animales LNI hipotensos, abre una nueva avenida de estudio para profundizar en los mecanismos homeostáticos cardiovasculares y renales que median el restablecimiento a la normalidad de la ingesta de agua, flujo urinario y las concentraciones séricas de sodio y potasio en la hipotensión arterial permanente (Quintanar, et al., 2012).

TOXICIDAD

La toxicología estudia las acciones y los efectos adversos de las sustancias químicas sobre los organismos vivos; sin embargo la sola presencia de una sustancia potencialmente tóxica en el organismo no es indicativo absoluto de toxicidad, es necesario evaluar las características de dicha sustancia como la cantidad administrada, naturaleza de la sustancia, la vía de administración, interacciones con otras sustancias dentro del organismo y los efectos que dichas interacciones en el organismo. Por lo tanto, para que exista un efecto nocivo de las sustancias químicas sobre el organismo, debe haber una interacción entre las moléculas externas con algún componente del organismo, dando como resultado el efecto tóxico o dañino. Un postulado básico de la toxicología es suponer que hay una relación causal entre la concentración del compuesto y los efectos que este puede ocasionar en el organismo (Yang, et al., 2014).

ANÁLISIS DOSIS-EFECTO TÓXICO

Desde un punto de vista toxicológico es posible clasificar la toxicidad producida por una sustancia basados en la cantidad ingerida, así como al tiempo de exposición de la misma y asu vez los sitios del organismo en los cuales produce algún efecto. En base a lo anterior podemos clasificar las diferentes acciones tóxicas de un compuesto como agudas, subagudas y crónicas, esto de acuerdo con la rapidez con la que se manifiesten los síntomas y con la duración del contacto con el compuesto.

Las sustancias que ingresan al organismo, independientemente de la vía por la cual lo hagan, deben tener alguna interacción con un componente del organismo y que esta interacción presente un efecto el cual sea nocivo sobre las funciones del organismo, estas acciones pueden ser localizadas a un tejido, órgano específico y tejidos circundantes, o bien ser generalizada o sistémica, en la cual las sustancias ejercen su acción tóxica sobre uno o varios sistemas del organismo, sin importar la vía de ingreso. A su vez, las acciones tóxicas pueden ser selectivas o no selectivas dependiendo de la naturaleza del compuesto.

Las acciones selectivas de un compuesto son aquellas que puede manifestarse como un efecto nocivo sobre un órgano, o alguna función determinada; mientras que las acciones no selectivas pueden alterar las funciones de diferentes tipos celulares, tejidos u órganos de un mismo organismo.

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE LOS FÁRMACOS

Los efectos adversos de los medicamentos son los efectos nocivos o indeseables de un fármaco a las dosis utilizadas normalmente para prevención, diagnóstico o tratamiento de una enfermedad. (Jaramillo y col, 2006).

Antes de utilizarse a nivel clínico, los compuestos deben evaluarse para identificar los efectos nocivos que producen sobre las estructuras y funciones de los diversos sistemas de órganos. Los estudios de toxicidad tiene como objetivo, establecer los efectos dañinos en el hombre, decidir si el nuevo fármaco es razonablemente seguro para su uso en la clínica. Aunque ningún producto químico puede certificarse como totalmente seguro; todas las sustancias son tóxicas en la que sólo la dosis determina la toxicidad. Es posible estimar el riesgo o el peligro potencial que un agente químico puede ocasionar sobre la salud humana cuando los individuos son expuestos a exposiciones agudas o crónicas. Para este propósito, primero se utilizan animales de experimentación a los que se les administran dosis únicas (toxicidad aguda) o repetidas (subaguda, subcrónica y crónica) del fármaco en estudio y por la misma vía de administración que se piensa emplear en humanos (oral, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, etc.). Los estudios de toxicidad deben hacerse para con una dosis única del fármaco para cada vía de administración, al menos para los estudios

de toxicidad aguda, subaguda, subcrónica (15 días a 4 semanas). Las agencias regulatorias exigen que se establezca la menor dosis en la que aparecen efectos adversos relacionadas con la administración del fármaco y una dosis tóxica que ocasione efectos graves, sin producir más que una reducida mortalidad de los animales, debe haber un número de animales supervivientes lo suficientemente amplio como para que los exámenes histológicos y bioquímicos revelen diferencias significativas durante el estudio, como tampoco debe haber alteraciones sanguíneas, bioquímicas o histológicas de interés y menos aún, muertes. Se recomienda que se utilicen las especies animales cuyo metabolismo sea más parecido al ser humano. En general los estudios de toxicidad aguda se llevan a cabo en roedores (rata y ratón), la toxicidad subaguda, subcrónica, y crónica en rata y perro (Mendoza, 2008).

De acuerdo con la FDA (Food and Drug Administration. USA), una sustancia con posible actividad farmacológica, tiene que pasar diferentes etapas (fases) antes de poderse aplicar en humanos. Entre estas se encuentra la etapa de tolerancia toxicológica y seguridad farmacológica. Dentro de estos apartados las evaluaciones de efectos adversos en diferentes puntos del organismo son indispensables para garantizar que la sustancia no causará daños a los humanos durante su uso clínico. (Pugsley MK y col, 2008).

EL HÍGADO Y SUS MECANISMOS GENERALES DE TOXICIDAD.

El hígado es el órgano central responsable de la captación selectiva, metabolismo y excreción de fármacos, xenobióticos y toxinas ambientales. Debido a la localización anatómica que posee el hígado y la vascularización tan importante que posee los fármacos y básicamente todas las sustancias que ingresan al tubo digestivo pasan en primera instancia al hígado, es por eso que es de gran importancia la capacidad metabólica del hígado además de la actividad biotransformadora del mismo (Zelena, et al., 2007). En la actualidad se estima que el hígado realiza más de 500 reacciones metabólicas diferentes. Esta función esencial predispone al hígado a la toxicidad y es la primera razón del fracaso en el desarrollo de un agente farmacológico. (Kaplowitz, 2005)

Los hepatocitos, al igual que otras células del organismo, expresan una familia de proteínas transportadoras denominadas “proteínas asociadas con la resistencia a drogas

(MRP) también llamadas proteínas transportadoras de aniones orgánicos; además de las glicoproteínas P (P-GP). Las MRP transportan xenobióticos conjugados con glutatión, ácido glucurónico, o un radical sulfato, con el fin de aumentar su solubilidad y promover su excreción activa del fármaco (reacciones de fase II).

La captación celular y la unión a proteínas citosólicas son seguidas por las fases I y II de la biotransformación en la que se forman metabolitos con mayor hidro-solubilidad.

Las reacciones de fase I involucran la oxidación, hidroxilación y otras reacciones mediante el citocromo P450 (CYP) en particular por la isoforma CYP3A4. La actividad del citocromo p450 varía entre individuos y su transcripción es regulada por los receptores nucleares sensibles a xenobióticos tales como el receptor pregnano X (PXR) y el receptor constitutivo androstano (CAR).

Las fases de reacción II involucran reacciones de esterificación que forman conjugados con sulfato, ácido glucurónico, aminoácidos o moléculas de glutatión. Generalmente, esto da como resultado un incremento de la solubilidad en el agua y una disminución de la actividad farmacológica, facilitando así, la desintoxicación de los compuestos. Sin embargo, durante este proceso, puede ocurrir la producción de tóxicos intermediarios debido a la formación de formas reactivas de estos metabolitos, mejor conocidos, como radicales libres. Estos radicales, subsecuentemente, conducen a daños hepáticos. Muchos de los efectos no deseados de los fármacos, son causados por sus efectos hepatotóxicos.

La manera en que estos radicales libres dañan, es debido a que son compuestos altamente electrofílicos, los cuales, promueven una gran variedad de reacciones; tales como, depleción de glutatión reducido, enlaces covalentes con proteínas, lípidos y ácidos nucleicos; inducción de peroxidación lipídica. Todo esto trae como consecuencia efectos directos sobre organelos celulares. También, pueden tener efectos sobre las funciones celulares, a través de la activación e inhibición de proteínas quinasas, factores de transcripción y expresión de genes. Ante este estrés celular, si los mecanismos de reparación y/o adaptación se ven rebasados, puede causar la muerte celular. Estos efectos, generalmente empiezan a ver en la zona 3 o centrolobulillar del acino hepático, debido a la

presencia del citocromo P450, el cual es el principal biotransformador de los xenobióticos.(Juárez, 2006)

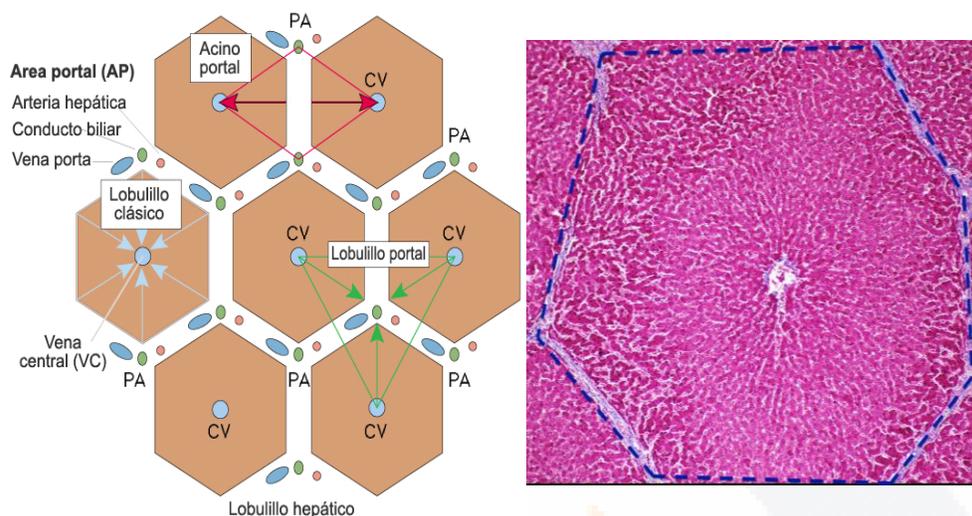


Figura 9: Características anatómicas del acino hepático. Se observa la zona denominada como zona 3 del acino o zona central al área más proximal a la vena central hepática.(Ganong F. , 2005).

EL RIÑÓN Y SUS MECANISMOS GENERALES DE TOXICIDAD.

El riñón es un órgano de vital importancia en el organismo que participa en el mantenimiento de la homeostasis, mediante seis funciones principales: regula el contenido de agua y electrolitos corporales, excreta productos de desecho derivados del metabolismo celular, participa en la regulación de la presión arterial, elimina sustancias extrañas al organismo (xenobióticos), reabsorbe sustancias útiles para las células como la glucosa y los aminoácidos, participa en la regulación del equilibrio ácido-base de los líquidos corporales.

Algunos xenobióticos pueden actuar en sitios específicos de la nefrona y afectar de manera selectiva la estructura o función de las células renales. Los daños pueden darse en los glomérulos, túbulos proximales, asa de Henle, túbulos distales y colectores. Los túbulos proximales es el sitio de daño más frecuente por los xenobióticos, debido a la acumulación selectiva de sustancias químicas en este segmento de la nefrona. La secreción y transporte de cationes, aniones orgánicos y sustancias conjugadas con glutatión permite su acumulación en las células de los túbulos proximales. Además, la bioactivación de sustancias por el citocromo P-450 se realiza principalmente en este segmento de la nefrona.

Aunque, el daño inducido por xenobióticos en las estructuras más lejanas de los túbulos es menos frecuente, existen fármacos como la anfotericina B y el metoxifluorano, que a nivel de los túbulos colectores, producen poliuria resistente a la acción de la AVP.(Juárez, 2006)

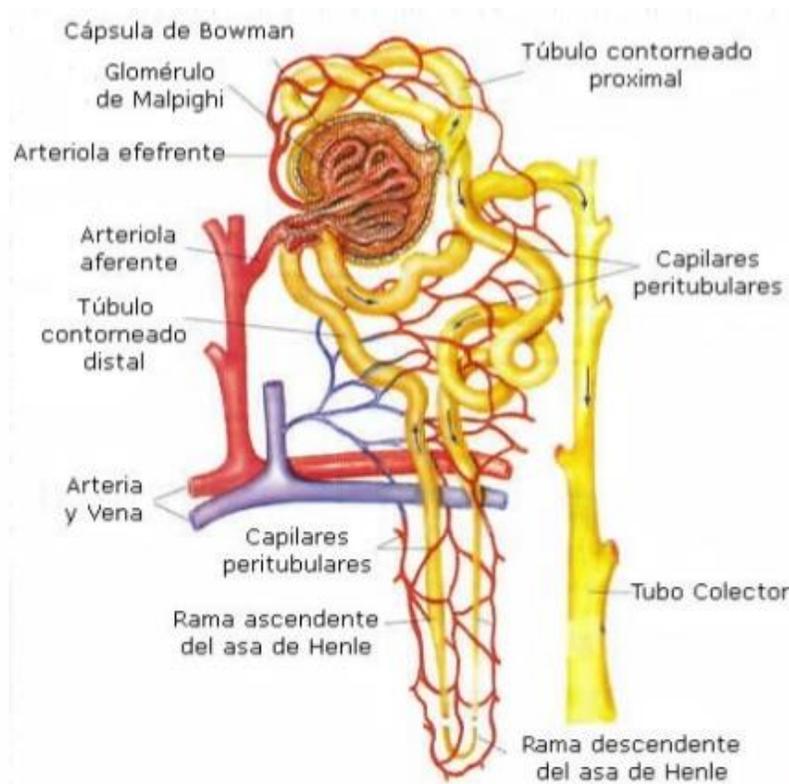


Figura 10: Tomada de Pearson Education Nephron Anatomy 2004 En donde se observa la disposición anatómica de una nefrona (Pearson, Nephrology, 2004)

BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL Y HEPÁTICO

El término “biomarcador” se refiere a una amplia categoría de signos médicos; en 1998 “The National Institutes of Health Biomarkers” definió un biomarcador como: una característica la cual puede ser objetivamente medida y evaluada como indicador de un proceso biológico normal, patológico o como una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica (Kaplowitz, 2005).

El desarrollo de los biomarcadores depende del entendimiento de la base patológica para la enfermedad bajo estudio, el cual puede ser a cualquier nivel: genética molecular, bioquímico o anatómico. Así por ejemplo, la actividad enzimática en sangre de la

transaminasa glutámico pirúvica (TGP) es un biomarcador que evalúa un daño hepático(Martín & Zurita, 2008).

Sin embargo los biomarcadores tradicionales a nivel renal como la proteinuria, glucosuria, poliuria y depuración de creatinina, entre otros, siguen siendo ampliamente utilizados en las evaluaciones toxicológicas y de seguridad farmacológica en el desarrollo de un nuevo fármaco.

Los biomarcadores más utilizados para identificar daño hepático, siguen siendo los niveles sanguíneos de las enzimas hepáticas, Alanina Aminotransferasa (AST); Aspartato Aminotransferasa (AST) y la fosfatasa alcalina (FA); entre otros (Xi Yang, Hepatic Toxicity Biomarkers, 2014). Así mismo los biomarcadores de más usados para evaluación de daño renal continúan siendo la evaluación de proteinuria, glucosuria, así como la presencia de azoados en sangre Urea y Creatinina(Blank, et al., 2009).

LOS VAPTANES Y SUS MECANISMOS DE TOXICIDAD

La información de los efectos toxicológicos de los vaptanes es escasa. En la actualidad solo se cuenta con reportes de efectos secundarios al uso de algunos de ellos, en su mayoría relacionados con el sitio o la vía de administración o inherentes a los efectos de los compuestos. Los siguientes, son algunos de los efectos secundarios a la administración de los vaptanes:

- Deshidratación (boca seca, labios partidos, sed).Antagonistas de los receptores V2
- Intestinales: Nauseas, vómito, diarrea, estreñimiento, meteorismo.
- Hiperglicemia (antagonistas de los receptores V1a)
- Hipotensión
- Desbalances hidroelectrolíticos: hiponatremia (antagonistas de los receptores V2)
- Alteraciones hepáticas/metabólicas: citocromo p450 (CYP3A4).

Se ha reportado que la mayoría de los vaptanes son metabolizados en el hígado por el citocromo p450 en la isoforma CYP3A4) (Gassanov, et al., 2011), (Tahara et al., 1997). El uso concomitante de otras sustancias que utilicen la misma vía metabólica, puede dar lugar a efectos secundarios diferentes. La eliminación de los vaptanes, es básicamente a través

de las heces (83%) y el resto por el riñón(Robertson, 2011). No se cuenta con información sobre otras rutas de eliminación, como vía saliva o leche materna(Kaplowitz, 2005).

CONIVAPTAN

Es un compuesto derivado de la benzacepina, con la propiedad de bloquear específicamente a los receptores V1a y V2 de AVP. En la actualidad se encuentra aprobado para uso humano por la FDA para tratar la hiponatremia causada por el síndrome de secreción inapropiada de la hormona antidiurética (SIADH) y la insuficiencia cardiaca congestiva crónica (ICC) (Udelson, 2001)(Gross & Quittnat, 2006).

Debido a los efectos inmediatos y a mediano plazo del Conivaptán, y a que su administración es por vía endovenosa, esta debe ser realizada solo en un hospital de tercer nivel(Annane, Decaux, & Smith, 2009).

La estructura química del Conivaptán(4'-[(2-methyl-1,4,5,6-tetrahydroimidazol[4,5-d][1]benzazepin-6-yl)-carbonyl]-2-phenylbenzanilide monohydrochloride) (Tahara et al., 1997)(Yamamura, et al., 1998)

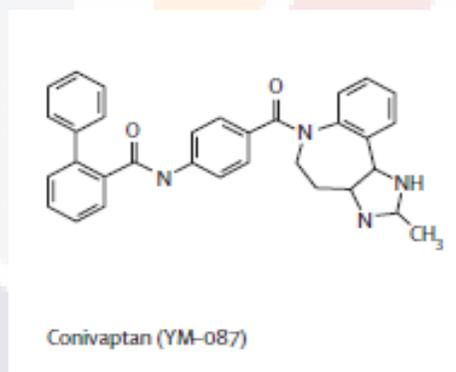


Figura 11: Estructura molecular del Conivaptan, tomada de “Non Peptide Arginine-Vasopressin antagonists: the vaptans”(Decaux & Soupart, 2008)

OPC-21268

El OPC-21268 fue uno de los primeros compuestos no-peptídicos con propiedades antagonistas específicas para bloquear los receptores V1a de AVP(Thibonnier, et al., 2000). Este compuesto ha sido estudiado previamente en modelos animales de hipertensión arterial inducida por AVP. Los resultados muestran que, administrado por vía oral, este compuesto induce una disminución moderada de la presión arterial y puede potencialmente ser utilizado para el tratamiento de la hipertensión arterial (Imaizumi, et al., 1991).

La estructura química del OPC21268: (141-[4-(3-acetylaminopropoxy)benzoyl]4-piperidyl}-3,4-dihidro-2(1H)-quinolinone) (figura 12).

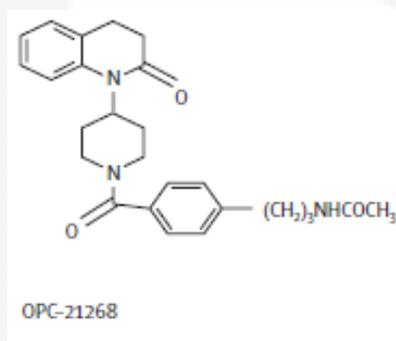


Figura 12: Estructura molecular del OPC 21268, tomada de “Non Peptide Arginine-Vasopressin antagonists: the vaptans”(Decaux & Soupart, 2008)

COMPUESTO C9

Debido al interés de nuestro laboratorio en los vaptanes y ante la dificultad para disponer de ellos, se decidió desarrollarlos y producirlos en México. Esto se logró gracias a la colaboración con el Dr. José Correa Basurto, del Laboratorio de Modelado Molecular y Bioinformática, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, de la Escuela Superior de Medicina, del Instituto Politécnico Nacional, quien a través de la estudiante de doctorado Citlalli Contreras Romo (UAA), logró diseñar (a partir de la benzacepina), desarrollar y sintetizar químicamente el compuesto C9. Se ha demostrado que este compuesto posee propiedades bloqueadoras de los receptores V1a-V2 de AVP (Contreras-Romo et al., 2014).

La estructura química del compuesto C9 es 1-[(4-metil fenil) sulfonil]-5-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-1-benzazepina-1-carbonitrilo. Figura 13.

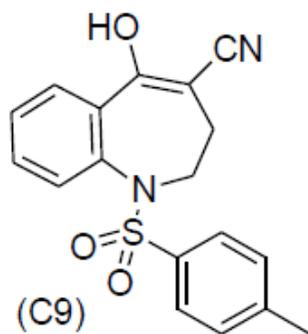


Figura 13: Estructura molecular del compuesto C9, tomada de Evaluación toxicológica subaguda del 9 sobre el hígado y la coagulación sanguínea 2012 (Camacho, 2012)

HIPERTENSIÓN ARTERIAL EXPERIMENTAL “RIÑÓN DE PAGE”.

En 1939 Irvine H. Page describió un modelo de hipertensión arterial en el perro en el cual uno de los riñones se envuelven en papel celofán, induciendo con ello un cuadro de perinefritis por compresión del parénquima renal e hipertensión arterial. En 1955 este mismo autor describió el primer caso clínico de hipertensión renal de Page en un jugador de fútbol americano con traumatismo abdominal y hematoma subcapsular con desarrollo de hipertensión mediada por renina y subsecuente normotensión con la nefrectomía del riñón traumatizado (Smyth, et al., 2012). Estudios posteriores han confirmado la etiología de este cuadro con mediciones de renina circulante observando aumento de la renina lateralizado al riñón afectado (Page, 1939).

Actualmente se cree que la hipertensión renal de Page ocurre secundariamente a la presencia de isquemia microvascular mediada por la compresión externa y la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Smyth, et al., 2012).

Una revisión reciente de los casos de riñón de Page publicados en la literatura médica (Fernández-Pello, 2013), mostró que el 33% de los casos estudiados, fueron varones, con una edad media de 38 años y una tensión arterial media de 177/95 mm Hg. Actualmente la causa más frecuente de la hipertensión renal de Page es secundaria a la biopsia de los trasplantes renales con empeoramiento de la función renal, o aquellos con

traumatismo renales por accidente de tráfico o la existencia de masas renales de diversa etiología.

Fernández-Pello (2013) divide las causas del Riñón de Page en:

Secundarias a sangrado renal:

- Traumatismos externos (accidentes de automóvil, deportes de contacto, etc.).
- Intervenciones sobre el riñón (biopsias renales, litotricia extracorpórea, cirugía renal, etc.)
- Sangrado espontáneo (pancreatitis, anticoagulantes orales, tumores, etc.).

No relacionadas con sangrado renal:

- Linfocitos.
- Quistes renales
- Urinomas o masas retroperitoneales.

Se ha descrito que la isquemia producida por el hematoma renal causa nefritis intersticial y activación de las células yuxtaglomerulares. Como consecuencia de ello aumentan los niveles de renina intrarrenal induciendo el incremento de la presión arterial (Fernández-Pello, et al., 2013). Así, este autor considera que la fisiopatología de la hipertensión en el riñón de Page es producida por tanto por la compresión extrínseca causada por la bolsa de celofán, como a la nefritis intersticial secundaria a disminución de la perfusión renal y daño tubular, en el que el incremento de la renina intrarrenal y el estrés oxidativo serían los responsables del incremento de la presión arterial en este modelo. (Vanegas, et al., 2005).

JUSTIFICACIÓN

El conocimiento de los diferentes mecanismos que participan en el control de la presión arterial; nerviosos (barorreceptores, estrés) hormonales (sistema renina-angiotensina II-aldosterona, AVP [en condiciones de pérdida aguda de volúmenes líquidos] y péptido natriurético auricular) y renales, así como el desarrollo de fármacos que modifican, en algún punto de la cascada de reacciones, de los diferentes mecanismos de control de la presión arterial, ha sido clave para el éxito de algunos tratamientos de la hipertensión arterial esencial. Avances recientes de nuestro laboratorio sobre el papel de la AVP en el control del tono del músculo liso vascular basal y el efecto bloqueador de los receptores V1a y V2 de AVP de los vaptanes, sugieren que estos compuestos podrían ser utilizados en el control de la hipertensión arterial esencial. Por esta razón consideramos que es necesario realizar experimentos encaminados a determinar si el uso de los vaptanes son una alternativa viable para el tratamiento de la hipertensión arterial.

Los productos de este proyecto tendrán un impacto académico importante, ya que nos permitirán profundizar en el conocimiento de los mecanismos a través de los cuales la AVP participa en el control de la presión arterial a largo plazo en animales normotensos e hipertensos, así como establecer el uso potencial de los vaptanes para el control de la hipertensión arterial a largo plazo. Si los resultados son positivos podríamos esperar que los vaptanes podrían ser usados en la clínica, el proyecto también tendría un impacto social y económico importante, pues se estaría en condiciones de registrar una patente del uso de los vaptanes en el tratamiento de la hipertensión arterial.

HIPÓTESIS

Se sabe que la AVP juega un papel permanente en el control del tono basal del músculo liso vascular a través de su acción sobre los receptores V1a del músculo liso vascular. Si esto es cierto, entonces el uso de antagonistas como los bloqueadores de los receptores V1a-V2 de AVP (Conivaptán y compuesto C9) y el bloqueador de los receptores V1a de AVP (OPC-21268), disminuirán la presión arterial tanto en ratas intactas(normotensas)como en ratas con hipertensión arterial experimental.

Hipótesis nula: el uso de antagonistas V1a y V2 de AVP no afectarán la presión arterial en animales sanos e hipertensos.

Hipótesis alterna: el uso de antagonistas V1a y V2 de AVP disminuirán la presión arterial en animales sanos e hipertensos.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar los efectos de bloquear los receptores V1a-V2 de AVP con los antagonistas Conivaptán y compuesto C9 y el bloqueo de los receptores V1a de AVP con el antagonista OPC-21268, sobre la presión arterial en animales normotensos y con hipertensión experimental (riñón de Page).

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Estandarizar en la rata la técnica de hipertensión arterial experimental (riñón de Page).
2. Estudiar los efectos del compuesto Conivaptán sobre la presión arterial a largo plazo en ratas normotensas y con hipertensión de Page.
3. Estudiar los efectos del Compuesto C9 sobre la presión arterial a largo plazo en ratas normotensas y con hipertensión de Page.
4. Estudiar los efectos del compuesto OPC-21268 sobre la presión arterial a largo plazo en ratas normotensas y con hipertensión de Page.
5. Estudiar el efecto acuárético de cada compuesto a través de la cuantificación de la ingesta diaria de agua.
6. Evaluar los efectos hepatotóxicos y nefrotóxicos de los compuestos por medio de la medición de biomarcadores de funcionamiento hepático y renal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Neuroinmuno-Endocrinología. Edificio 202. Planta baja. Ciudad Universitaria. UAA

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar de 250-300 gr de peso. Antes de los procedimientos experimentales, los animales se habituaron a las condiciones del Bioterio: Ciclos de luz-oscuridad de 12X12 horas, con encendido a las 7 AM. Temperatura del cuarto de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$. Alimentación con Purina Chow para roedor y agua *ad libitum*. Para el cuidado y manejo de los animales se siguió la Normatividad del manejo humanitario de animales de laboratorio de la UAA.

Antes de realizar los experimentos en animales hipertensos se procedió a la estandarización del modelo experimental de hipertensión arterial renal de Page (1939) modificado por nosotros (véase abajo).

Grupos de 8 ratas cada uno se dividieron en dos Experimentos:

Experimento 1. Consistió en estudiar el efecto de los vaptanes sobre la presión arterial en animales normotensos para lo cual se utilizaron los siguientes grupos experimentales:

1. Control tratado con $50\mu\text{l}$ de vehículo DMSO100% (DMSO)
2. Conivaptan (2mg/kg de peso corporal en $50\mu\text{l}$ de DMSO).
3. C9 (10 mg/kg de peso corporal en $50\mu\text{l}$ de DMSO).
4. OPC-21268 (2mg/kg de peso corporal en $50\mu\text{l}$ de DMSO).

Los compuestos se administraron por vía intramuscular cada 12 horas/15 días.

Experimento 2. Consistió en estudiar el efecto de los vaptanes sobre la presión arterial en animales con hipertensión arterial experimental, para lo cual se repitieron los mismos grupos con sus respectivos tratamientos.

En el caso de los animales hipertensos, los tratamientos iniciaron a las 3 semanas de la cirugía renal (hipertensión renal de Page).

TÉCNICA QUIRÚRGICA DE HIPERTENSIÓN SECUNDARIA “RIÑÓN DE PAGE”

El modelo descrito por Page (1939) para inducir hipertensión arterial renal, consiste en la envoltura de uno de los riñones con papel celofán. Los animales desarrollan hipertensión arterial máxima y permanente a partir de las 2 semanas de la cirugía. Debido a que en nuestras manos los animales desarrollaron gran cantidad de adherencias peritoneales y acompañadas de atrofia renal en un 33% de los animales. Por lo anterior, decidimos probar con laminillas de celofán insertadas por debajo de la cápsula renal. Una vez estandarizado el procedimiento encontramos que la colocación de 2 a tres laminillas de celofán en cada cara del riñón, son suficientes para que los animales desarrollen hipertensión arterial permanente (PAM directa: Control, 105 ± 9 mmHg *versus* Hipertensos 159.4 ± 4.7)

Preparación de las laminillas de papel celofán: Previo a la intervención quirúrgica se preparó el instrumental a utilizar en la cirugía, incluidas las laminillas de papel celofán. Se cortaron laminillas de papel celofán de 3-4 mm de ancho por 8-9mm de largo, se redondearon los bordes y se lavaron con alcohol etílico 70% y 2 baños de solución fisiológica 0.9%, al finalizar se colocaron en una caja de petri estéril, con solución fisiológica, a temperatura ambiente o en refrigeración a 4°C.

Anestesia. Se pesó al animal y se anestesió con pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso/IP).

Preparación de la bolsa subcapsular del riñón: Una vez anestesiado el animal, se rasuró ampliamente la piel del dorso, desde T9 a L5. Se colocó en decúbito ventral sobre la mesa de cirugía, amarrando las extremidades a los extremos anterior y posterior, de tal manera que el animal quede alineado e inmóvil en el centro de la mesa. Se limpió la piel del dorso con un antiséptico local. Se colocó la mesa con la cola del animal hacia la derecha; y tomando como referencia las últimas dos costillas flotantes se realizó una incisión longitudinal sobre la línea medio-vertebral de aproximadamente 2 cm, con el bisturí. Posteriormente se realizó disección roma hasta cortar el tejido conectivo y la aponeurosis que recubre a los tendones (color blanco aperlado) de los músculos de la masa común, se abrió la herida horizontalmente para dejarlos al descubierto. Para exteriorizar el

riñón derecho; con la punta de las tijeras, se perforó perpendicularmente la pared abdominal inmediatamente por debajo de las costillas flotantes y por fuera del borde derecho de los tendones de los músculos de la masa común. Habiendo penetrado la pared abdominal, se agrandó la herida hasta 1 cm de longitud. Por palpación del abdomen, se identificó el riñón y se exteriorizó haciendo pasar primero uno de los polos.

Una vez exteriorizado el riñón, se colocó al animal bajo el microscopio estereoscópico (6 aumentos), para facilitar las maniobras quirúrgicas, se identificó la curvatura mayor y los polos anterior y posterior, así como la cápsula renal. Con la punta de una aguja del #25, se realizaron dos incisiones en la cápsula renal longitudinalmente de 3-5 mm aproximadamente, de manera paralela a la curvatura mayor del riñón. Con el disector curvo para trasplante de punta fina, se abrió un espacio entre la cápsula renal y el riñón introduciéndolo en el espacio subcapsular en dirección del hilio renal, para ampliar la bolsa en donde quedarán alojadas las laminillas de celofán. Se repitió la maniobra en el lado opuesto del riñón.

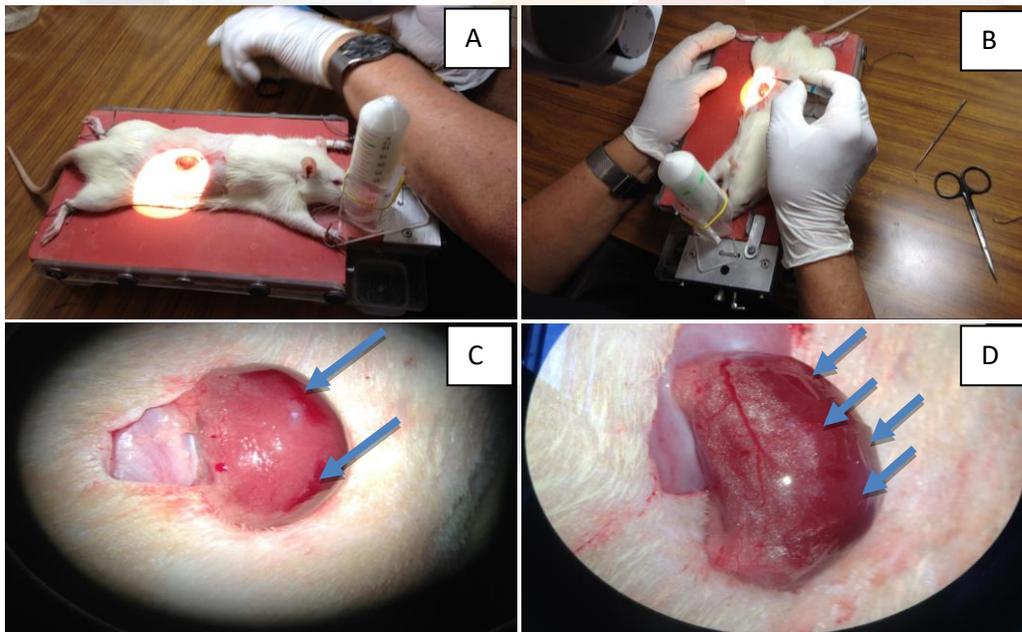


Figura 14: Fotografías secuenciales para la inserción de las laminillas de celofán en el espacio subcapsular. (A) Riñón exteriorizado. (B) Apertura de la cápsula renal sobre la curvatura mayor del riñón. (C) Acercamiento para observar las incisiones en la cápsula renal en los polos superior e inferior del riñón (flechas azules). (D) Laminillas de celofán colocadas profundamente en el espacio subcapsular del riñón (flechas azules).

Una vez hecha la bolsa subcapsular, se insertaron entre la cápsula renal y la superficie del riñón de 4-6 laminillas de celofán (dependiendo del tamaño del riñón), tratando de evitar rupturas de la cápsula por las laminillas. La figura 14 muestra las diferentes etapas de la inserción de las laminillas por debajo de la cápsula renal. Una vez colocadas las laminillas, se regresó el riñón a la cavidad abdominal deslizando primero el polo renal que salió al último. Se aseguró que las laminillas no se hubieran salido de su lugar. No es necesario suturar la herida de la pared muscular abdominal y se procedió a cerrar la piel con hilo de seda 3-0. Como medida profiláctica contra la infección, se aplicó Penicilina Procaínica de 800 000 UI (6000 UI/IM/3 días) y como analgésico, metamizol sódico (0.2 mg/kg de peso cada 24 horas/IM por 3 días). Los animales desarrollan hipertensión arterial permanente a partir de las 3 semanas de la cirugía.

MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL DIRECTA

Antes de canular la arteria se purga el catéter con solución salina heparinizada al 1% y se cierra con un candado.

Las ratas se anestesian con Pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso/IP), se rasuran de la cara anterior del cuello, se fijan por las patas a la mesa de operaciones en decúbito dorsal y la cabeza con la horquilla para incisivos superiores. Se hace una incisión en la línea media de la piel del cuello de 3 cm hasta el manubrio del esternón. Se corta por el centro la aponeurosis, se separan las glándulas salivales submandibulares y se exponen los músculos pretraqueales, los cuales se separan longitudinalmente con 4 ganchillos de manera amplia para exponer la tráquea en el centro y la arteria carótida primitiva del lado izquierdo (que late). Bajo el microscopio estereoscópico, localice la arteria, y con disectores de vidrio separe la arteria del nervio vago en una longitud de 1.5 cm aproximadamente y proceda a pasar tres ligaduras por debajo de la arteria; la ligadura más distal se anuda para ocluir el flujo sanguíneo. Con una pinza hemostática jale los cabos del hilo y con tracción moderada sobre la arteria fíjelos a la piel del extremo anterior de la herida. Con la ligadura proximal, se hace un medio nudo y sin apretarlo, se desplaza a la parte más proximal de la arteria. Con una pinza hemostática, se jalen los cabos del hilo hacia el extremo proximal de la herida y se fijan a la piel de la herida de tal manera que se interrumpa el flujo sanguíneo por tracción del hilo. Con la ligadura central, se hace un

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

medio nudo y sin apretar se desplaza hacia la parte proximal de la arteria. Con unas tijeras finas se hace un orificio en la parte distal del vaso y se introduce la punta del disector de vidrio para dilatar las paredes de la arteria. Ayudándose con el disector de vidrio, se introduce la punta del catéter en dirección del corazón hasta antes del nudo proximal, desplace la ligadura central hacia arriba y apriete el medio nudo moderadamente (esto evitará que la presión de la sangre expulse el catéter cuando suelte la ligadura proximal). Suelte la ligadura proximal y proceda a empujar el catéter hacia el corazón en una longitud de unos 3 cm. Apriete el hilo de en medio y complete el nudo. Desplace hacia el centro la ligadura proximal y apriete y complete el nudo. Estas dos ligaduras evitarán que el catéter sea expulsado por la presión arterial durante la medición de la presión arterial. Para evitar jalar accidentalmente el catéter, asegúrelo con un punto de sutura a la piel. Corte el exceso de los hilos y suture la piel de la herida. Para el registro de la presión arterial, el extremo distal del catéter se conecta a un sistema de registro de la marca BIOPACSystems Inc. conformado por los siguientes módulos: Transductor TSD104A, Amplificador DA100C, Módulo de Interface Universal (UIM100C), Módulo MP150 y una computadora PC portátil con el software AcqKnowledge 4.1. Los datos se expresan como la presión arterial media \pm SD (TAM) en mmHg. Una vez estabilizado el registro de la presión arterial, se hicieron tres lecturas de la PAM con intervalos de 10 minutos cada y el resultado se expresa como el promedio de las de las tres mediciones.

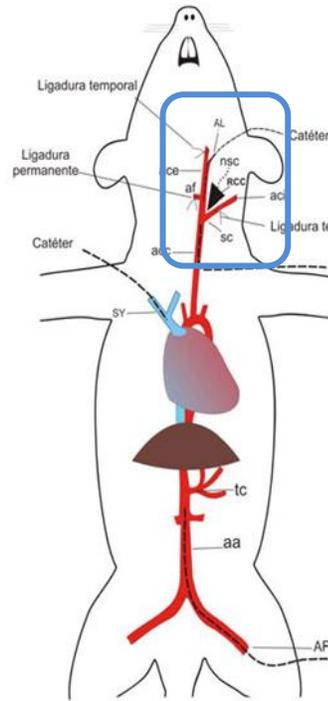


Figura 15: Esquema de la canulación aórtica para medición de TA directa en ratas, tomado del manual Técnicas quirúrgicas experimentales del Laboratorio de Neuroinmuno-Endocrinología UAA.

VALORACION DE LOS BIOMARCADORES DE RESPUESTA TÓXICA

Al finalizar la toma de las presiones arteriales los animales fueron exanguinados por la arteria aorta abdominal. Una vez coagulada la sangre, los tubos se centrifugaron a 1500 rpm, los sueros separados y divididos en alícuotas de 500 μ l. Inmediatamente se procedió a la medición de los biomarcadores de daño hepático y renal:

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST/ TGO)

La enzima AST fue determinada usando el kit comercial de la marca BioSystems® (COD. 11531 España) el cual está basado en cinética enzimática y espectrofotometría UV-Vis. La AST cataliza la transferencia del grupo amino del aspartato al 2-oxoglutarato, formando oxalacetato y glutamato, La concentración catalítica se determina, empleándola reacción acoplada de la malato deshidrogenasa (MDH), a partir de la velocidad de desaparición del NADH (valoración de lesión tisular).

Se usaron los reactivos del kit: Reactivo A: Tris 121mmol/L, L-aspartato 362mmol/L, malato deshidrogenasa > 460 U/L, lactato deshidrogenasa > 660 U/L, hidróxido sódico 255mmol/L, pH 7.8; Reactivo B: NADH 1.9mmol/L, 2-oxoglutarato 75mmol/L, hidróxido sódico 148mmol/L sodio-azida 9.5 g/L. Ambos reactivos se mezclan en las concentraciones establecidas por el kit y se llevan a la temperatura de reacción establecida. Se prepara el espectrofotómetro a la longitud de onda para lecturas de 340nm; se pipetea en un tubo eppendorf previamente etiquetado 1 ml de la mezcla de los dos reactivos + 100µl de la muestra y se pasa a la microcubeta, se coloca en el espectrofotómetro y se toman las lecturas de la absorbancia inicial a los 60 segundos de la colocación de la muestra y cada minuto durante 3 minutos. (Repetir el procedimiento para cada muestra). Se realiza la determinación de la concentración enzimática y se expresa en unidades internacionales por litro (U/L).

ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT/TGP)

La enzima ALT fue determinada usando el kit comercial de la marca BioSystems®(COD. 11533España) el cual está basado en cinética enzimática y espectrofotometría UV-Vis. La ALT cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al 2-oxoglutarato, formando piruvato y glutamato. La concentración catalítica se determina, empleando 1 reacción acoplada de la lactato deshidrogenasa (LDH), a partir de la velocidad de desaparición de NADH.(valoración de daño al parénquima hepático)

Se usaron los reactivos del kit: Reactivo A: Tris 150mmol/L, L-alanina 750mmol/L, lactato deshidrogenasa > 1350 U/L, pH 7.3. Reactivo B: NADH 1.9mmol/L, 2-oxoglutarato 75mmol/L, hidróxido sódico 148mmol/L, sodio azida 9.5g/L. Ambos reactivos se mezclan en las concentraciones establecidas por el kit y se llevan a la temperatura de reacción establecida. Se prepara el espectrofotómetro a la longitud de onda para lecturas de 340nm; se pipetea en un tubo eppendorf previamente etiquetado 1 ml de la mezcla de los dos reactivos + 100µl de la muestra y se pasa a la microcubeta, se coloca en el espectrofotómetro y se toman las lecturas de la absorbancia inicial a los 60 segundos de la colocación de la muestra y cada minuto durante 3 minutos. (Repetir el procedimiento para cada muestra). Se realiza la determinación de la concentración enzimática y se expresa en unidades internacionales por litro (U/L).

CREATININA SERICA (CrS)

La creatinina sérica fue determinada usando el kit comercial de la marca Spinreact® (COD. 1001111 España) el cual está basado en cinética y espectrofotometría UV-Vis colorimétrico; de acuerdo a la reacción descrita por Jaffé de la creatinina con el picrato de sodio (valoración de funcionamiento renal, filtrado glomerular).

Se usaron los reactivos del kit: Reactivo 1: reactivo pícrico el cual contiene ácido pícrico 17.5mmol/L; Reactivo 2: reactivo alcalinizante el cual contiene hidróxido de sodio 0.29 mol/L. Se mezclan ambos reactivos en volúmenes iguales para formar el reactivo de trabajo y se llevan a la temperatura de reacción establecida. Se prepara el espectrofotómetro a la longitud de onda para lecturas de 492nm; se pipetea en un tubo eppendorf previamente etiquetado 1 ml del reactivo de trabajo + 100µl de la muestra y se pasa a la microcubeta, se coloca en el espectrofotómetro previamente calibrado y se toman las lecturas a los 30 y 90 segundos de la colocación de la muestra. (Repetir el procedimiento para cada muestra).Se realiza la determinación de la concentración y se expresa en mg/dl.

UREA SERICA

La urea sérica fue determinada usando el kit comercial de la marca BioSystems® (COD. 11516 España) el cual está basado en cinética enzimática y espectrofotometría UV-Vis; degradación de la urea de la muestra por presencia de ureasa y se cuantifica el NADH formado (valoración de la capacidad de filtrado renal).

Se usaron los reactivos del kit: Reactivo A: Tris 100mmol/L, 2-oxoglutarato 5.6mmol/L, ureasa >140 U/L, glutamato deshidrogenasa > 140U/L, etilenglicol 220g/L, sodio azida 0.95g/L, pH 8.0. Reactivo B: NADH 1.5mmol/L, sodio azida 9.5g/L. Se mezclan ambos reactivos en volúmenes establecidos para formar el reactivo de trabajo y se llevan a la temperatura de reacción establecida. Se prepara el espectrofotómetro a la longitud de onda para lecturas de 340nm; se pipetea en un tubo eppendorf previamente etiquetado 1.5 ml del reactivo de trabajo + 10µl de la muestra y se pasa a la microcubeta, se coloca en el espectrofotómetro previamente calibrado y se toman las lecturas a los 30 y 90 segundos de la colocación de la muestra. (Repetir el procedimiento para cada muestra).Se realiza la determinación de la concentración y se expresa en mmol/L.

GLUCOSA

La glucosa fue determinada usando el kit comercial de Spinreact® (COD. 1001190 España), el cual está basado en cinética y espectrofotometría UV-Vis; degradación de la glucosa por presencia de glucosa oxidasa; la cual cataliza la oxidación de la glucosa a ácido glucurónico. El peróxido de hidrógeno producido se detecta mediante un aceptos cromogénico de oxígeno, fenol-ampirona en presencia de peroxidasa. La intensidad de color formado es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Reactivo 1: Buffer Tris 92mmol/L, Fenol 0.3mmol/L, pH 7.4. Reactivo 2: Enzimas Glucosa oxidasa 15000U/L, Peroxidasa 1000U/L, 4-Aminofenazona 2.6mmol/L. Para la preparación del reactivo de trabajo se disuelve el contenido de un frasco de R2 en un frasco de R1. Se tapa y se mezcla lentamente hasta disolver el contenido. En tubos de ensayo se coloca 1 ml del reactivo de trabajo y se lleva a la temperatura de reacción establecida, se calibra el espectrofotómetro a la longitud de onda para lecturas de 505nm, al tubo de ensayo con el reactivo de trabajo a temperatura de reacción se coloca 10µl de la muestra y se incuban durante 10 minutos. Una vez terminado el periodo de incubación se toman las lecturas de las muestras. (Repetir el procedimiento para cada muestra). Se realiza la determinación de la concentración y se expresa en mg/dl.

MEDICIÓN DE INGESTA DIARIA DE AGUA

La ingesta de agua se evaluó diariamente de la siguiente manera: se colocaron 2 botellas de 500ml en cada una de las jaulas a las 7 AM y se midió el volumen de agua ingerida a las 7 PM. Se volvieron a llenar los frascos y se determinó el volumen ingerido a las 7AM del día siguiente. Una vez cuantificado el volumen de agua ingerida en 24 horas por los animales de cada jaula, se procedió a cuantificar el volumen ingerido por rata/día. Los animales de cada jaula se pesaron cada 8 días. Para cada grupo, se calculó el volumen de agua ingerido cada 24 horas/por cada rata/100 g de peso corporal

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos se expresan como la media \pm DE. Pruebas de análisis de varianza de una vía para mediciones repetidas se utilizaron para examinar diferencias significativas entre los grupos, seguida de una prueba post-hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Valores de $p < 0.05$ fueron considerados diferencias significativas. El análisis estadístico y las gráficas se realizaron con el programa GraphPadPrism 5.



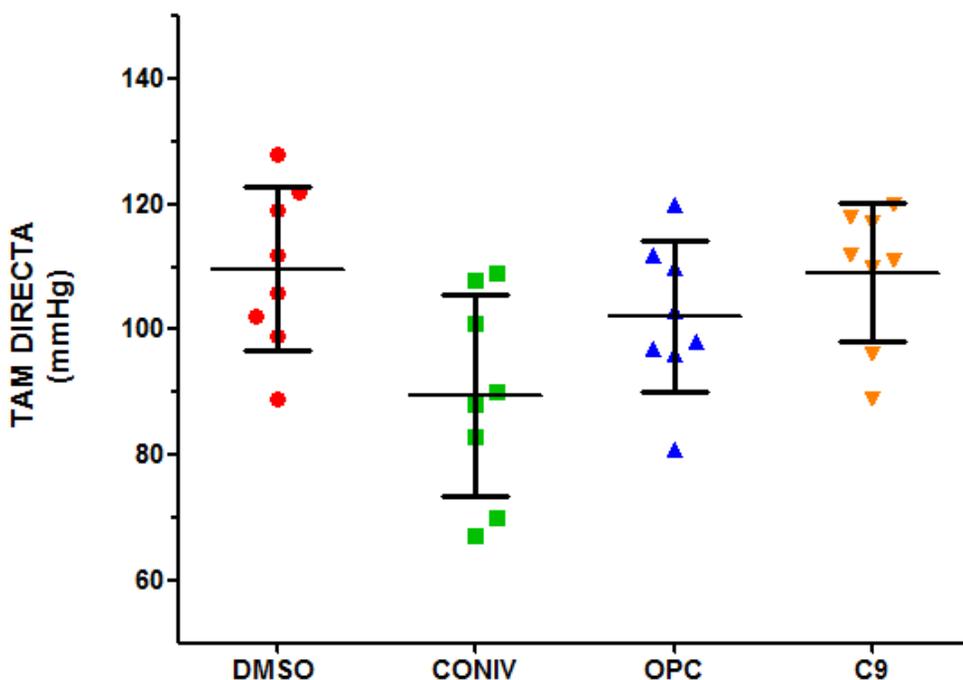
RESULTADOS

RESULTADOS DE LA MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL DIRECTA

EXPERIMENTO 1

Al finalizar los tratamientos respectivos, los animales fueron anestesiados con Pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso/IP), y se procedió a medir la presión arterial a través de un catéter intracarotideo (véase Material y Métodos) Los resultados se expresan como la presión arterial media (TAM) \pm DE.

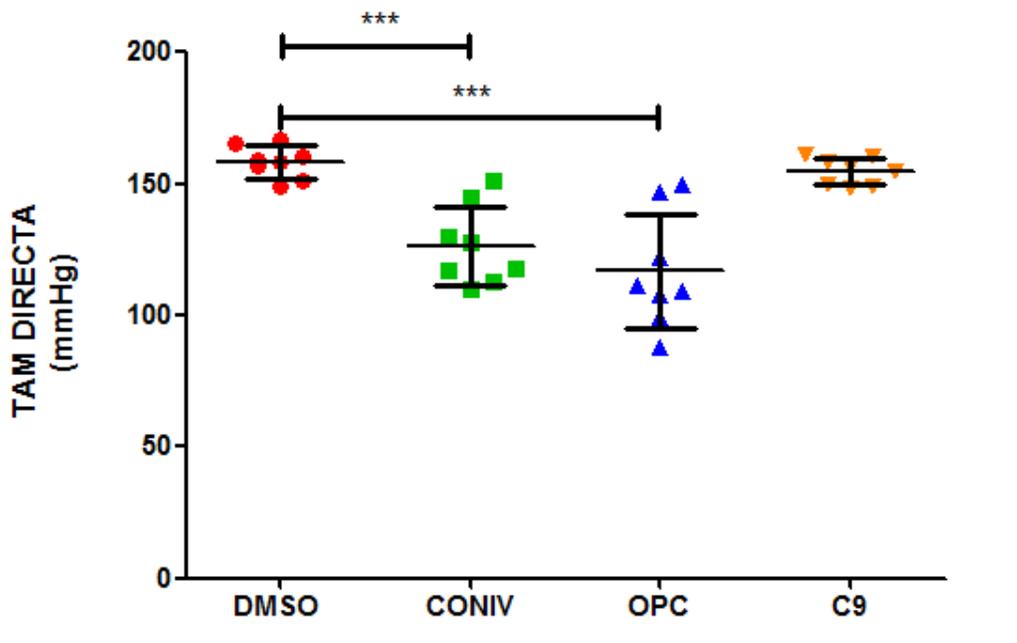
La figura 1 muestra los efectos de la administración del vehículo (DMSO), \pm y los diferentes vaptanes; Conivaptán, C9 y OPC-21268 por 15 días sobre la TAM \pm DE. Observe en la figura que en comparación con el grupo DMSO, ninguno de losvaptanes indujo un cambio significativo en la PAM. Estos resultados sugieren fuertemente que los diferentes mecanismos de control de la presión arterial son suficientes para contrarrestar el efecto bloqueador (hipotensor) de los receptores V1a de AVP.



Gráfica 1: Efecto del DMSO (50 μ l IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr); sobre la presión arterial media directa (TAMD) en ratas

normotensas. Las mediciones se realizaron a los 15 días del tratamiento farmacológico por medio de un catéter intracarotideo conectado a un sistema de registro (BIOPAC MP150 BiopacSystems Inc.) y analizados con el software estadístico GraphPad Prism 5. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. $p < 0.05$.

En los grupos con hipertensión arterial experimental (riñón de Page), tratados con los diferentes vaptanes se observa que en comparación con el grupo control (DMSO), tanto el Conivaptán como el OPC-21268, indujeron una disminución de la TAM del 20 y 25 % con respecto al grupo DMSO ($p < 0.001$ DMSO versus Conivaptán y OPC-21268 respectivamente) (Gráfica 2). En la misma figura 2, se observa que en comparación con el grupo DMSO, el tratamiento con el compuesto C9, no indujo cambios significativos en la TAM

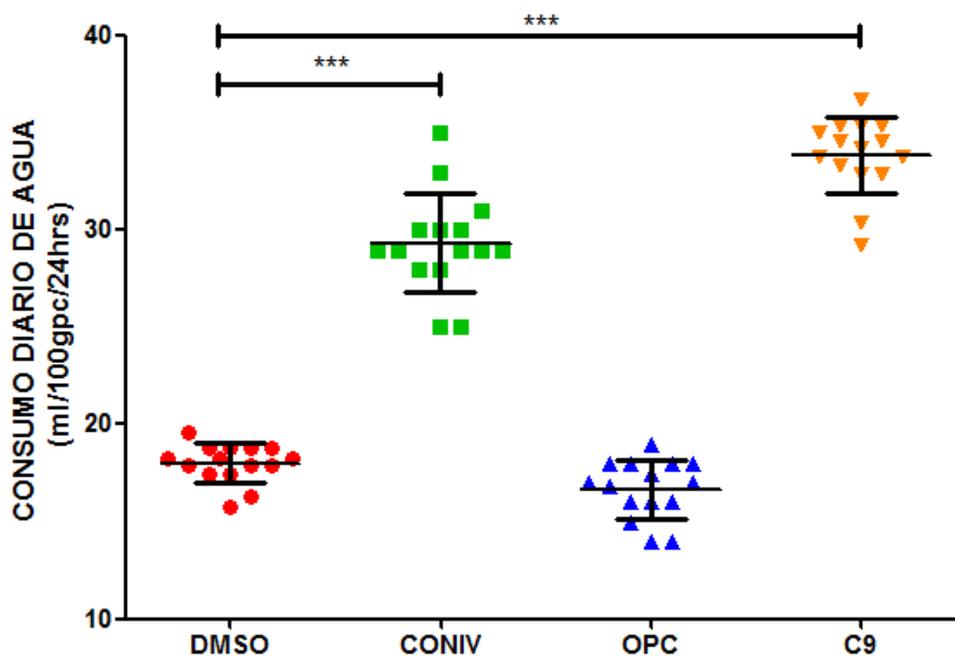


Gráfica 2: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr), y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr), sobre la presión arterial media directa (TAMD) en ratas **hipertensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días del tratamiento farmacológico utilizando por medio de un catéter intracarotideo conectado a un sistema de registro (BiopacSystems Inc.). NS = No significativo DMSO vs C9. *** $p < 0.001$.

INGESTA DIARIA DE AGUA EN RATAS NORMOTENSAS

Dado que el Conivaptán y el compuesto C9 son antagonistas bloqueadores de los receptores V1a-V2 de AVP y en el riñón se encuentran receptores de ambos tipos, se decidió evaluar el efecto acuárético de los vaptanes de manera indirecta, para esto se evaluó la ingesta diaria de agua.

Los resultados muestran que en comparación con el grupo control (DMSO), el Conivaptán y el C9 indujeron un incremento significativo de la ingesta de agua en un 60% y 88% respectivamente (Gráfica 3), mientras que la administración del OPC-21268, no indujo ningún cambio en la ingesta diaria de agua (Gráfica 3). Estos resultados sugieren indirectamente que tanto el Conivaptán como el C9 tienen un importante efecto acuárético, al bloquear los receptores V2 de los túbulos colectores del riñón, mientras que el efecto del antagonista de los receptores V1a (OPC-21268), no ejerce ningún efecto sobre la diuresis.

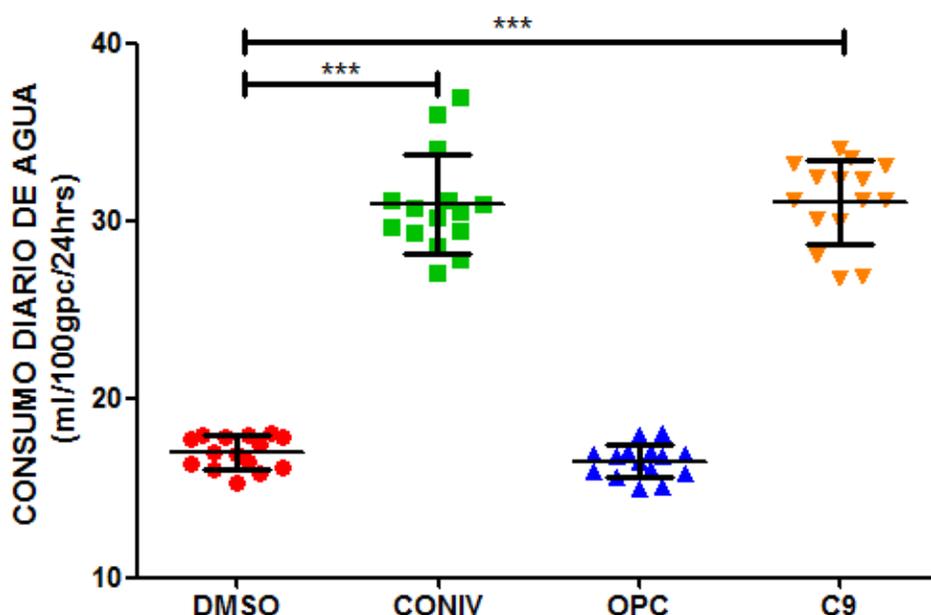


Gráfica 3: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr); sobre el consumo diario de agua en ratas **normotensas**. Las

valoraciones de ingesta de agua se realizaron 2 veces al día durante 15 días. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos CONIV y C9 vs DMSO. *** $p < 0.001$.

INGESTA DIARIA DE AGUA EN RATAS HIPERTENSAS

El efecto de los vaptanes sobre la ingesta diaria de agua en los animales hipertensos fue semejante al observado en los animales normotensos. En comparación con el grupo DMSO, el Conivaptán y el C9 indujeron un incremento significativo en la ingesta diaria de agua del 82% y 83% respectivamente (DMSO versus CONIV y C9 $p < 0.001$), mientras que el OPC-21268 no tuvo ningún efecto (NS, DMSO versus OPC-21268).



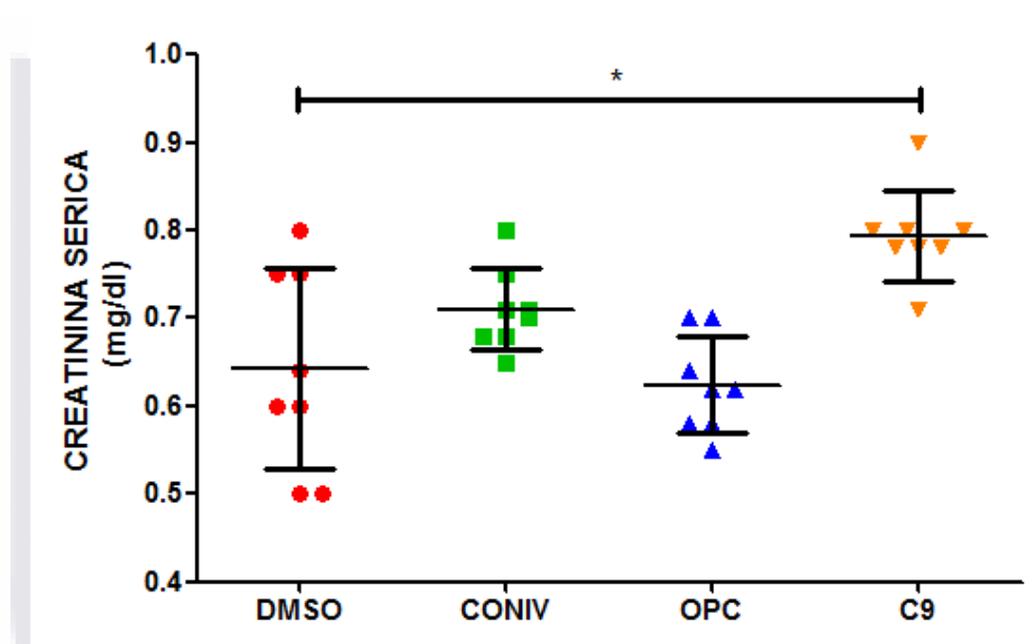
Gráfica 4: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr); sobre el consumo diario de agua en ratas hipertensas. Las valoraciones de ingesta de agua se realizaron 2 veces al día durante 15 días. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos CONIV y C9 vs DMSO. *** $p < 0.001$.

BIOMARCADORES DE DAÑO HEPÁTICO Y RENAL

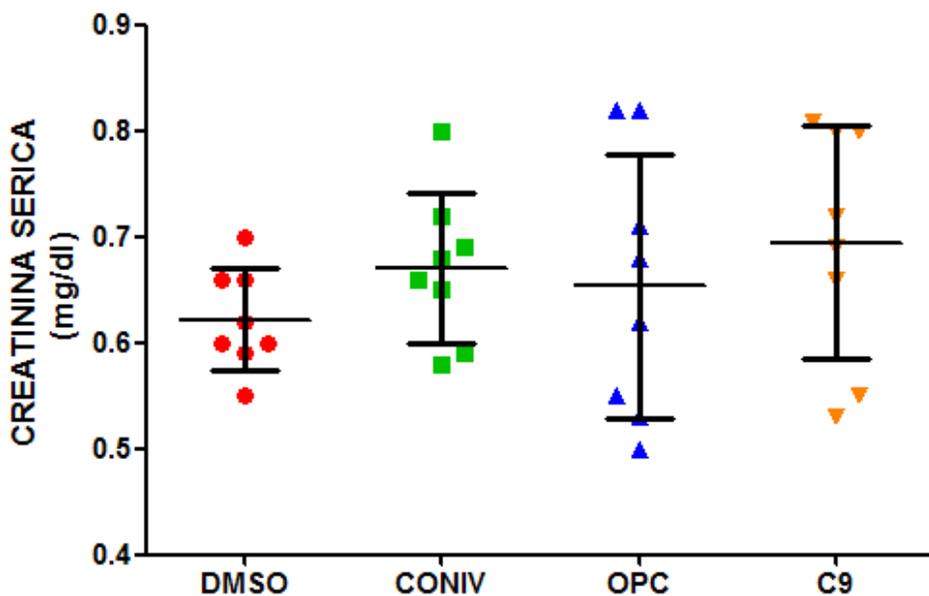
Creatinina. Incrementos en las concentraciones séricas de creatinina son indicativos de daño renal. La gráfica 5 muestra los efectos de la administración del DMSO (grupo control), conivaptán, C9 y OPC-21268 sobre las concentraciones séricas de creatinina. Observe en la gráfica que excepto en el grupo C9 la concentración de la creatinina se incrementó significativamente con respecto al grupo DMSO, mientras que los demás

tratamientos no indujeron cambios significativos en las concentraciones de creatinina. Cabe mencionar sin embargo, que el incremento de la creatinina en el grupo C9 queda dentro de los rangos establecidos como normales (FDA 2009).

La gráfica 6, muestra los niveles séricos de creatinina en los grupos de animales hipertensos. Observe que la comparación de los niveles de creatinina ente los diferentes grupos, no muestra diferencias significativas.

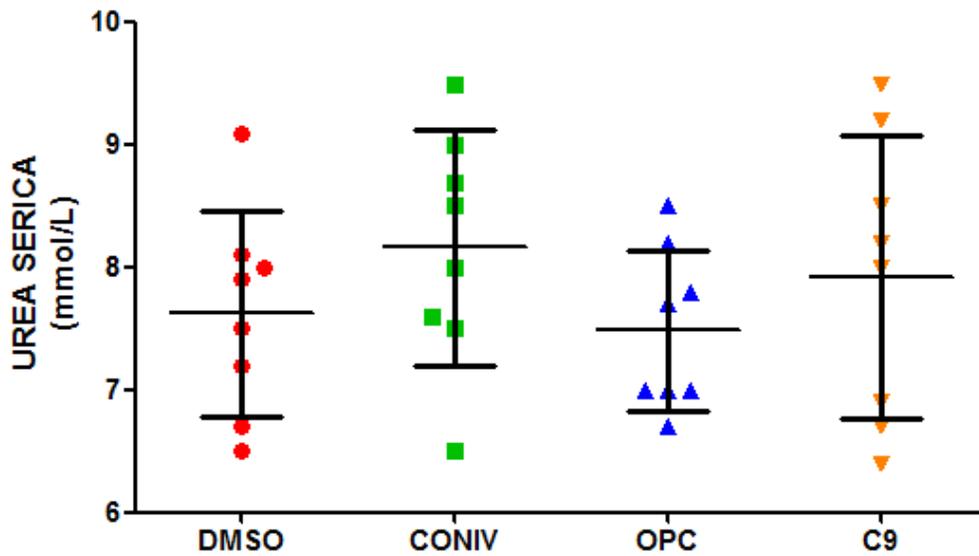


Gráfica 5: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la Creatinina sérica en ratas **normotensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. NS = No significativo DMSO vs CONIV, DMSO vs OPC. *p<0.05.

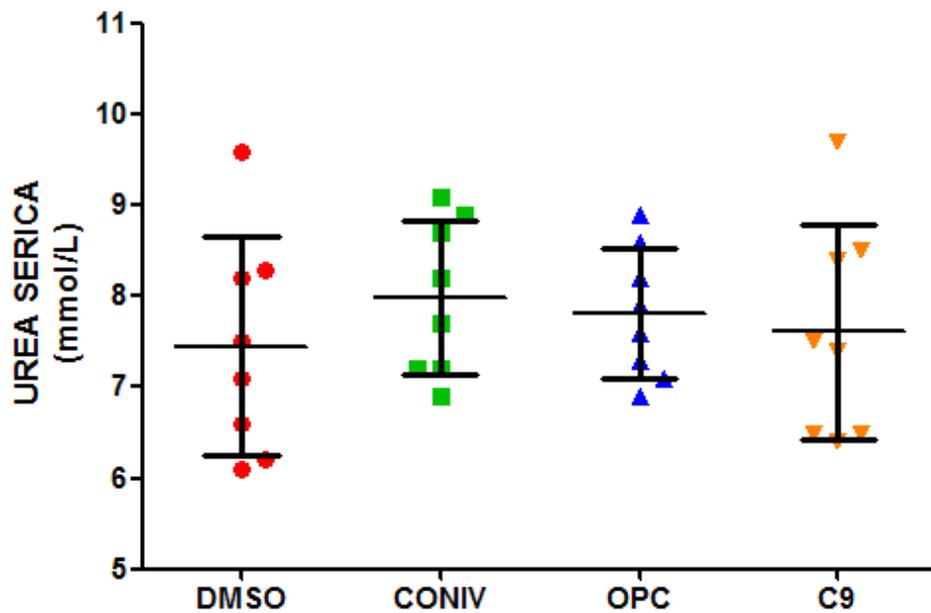


Gráfica 6: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la Creatinina sérica en ratas **hipertensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Urea. Al igual que la creatinina, incrementos en las concentraciones séricas de creatinina indican daño renal. La comparación de los efectos del conivaptán, OPC-21268 y C9 sobre los niveles séricos de urea en los grupos de animales normotensos (gráfica 7) e hipertensos (gráfica 8), no mostró diferencias significativas entre ambos experimentos, indicando, que los vaptanes no afectaron la capacidad de depuración renal de urea, lo que sugiere que estos compuestos no tienen efectos tóxicos sobre el riñón (Gráficas 7 y 8).



Gráfica 7: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la Urea sanguínea en ratas **normotensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.



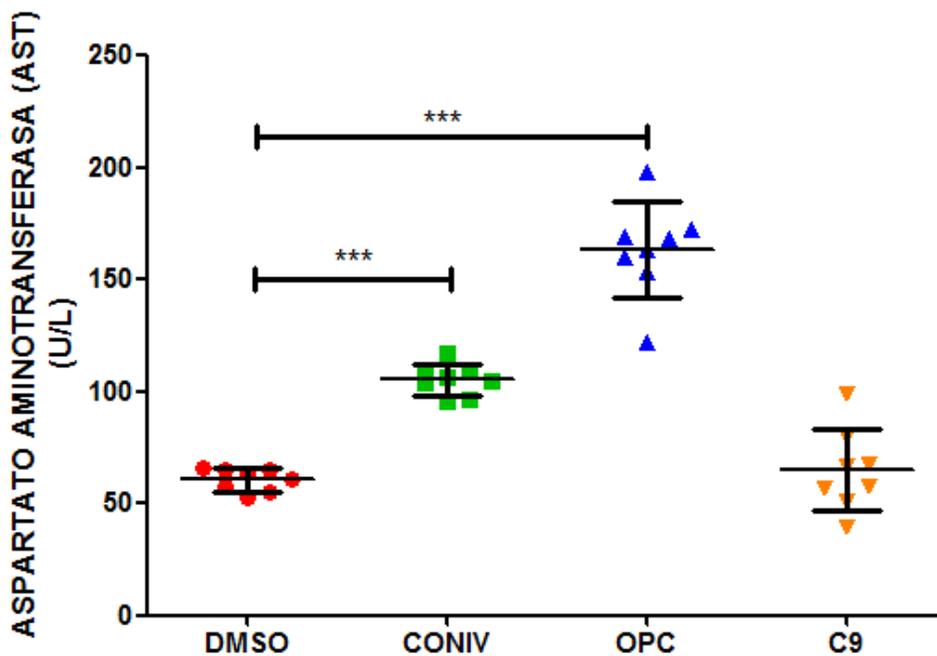
Gráfica 8: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la Urea sanguínea en ratas **hipertensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

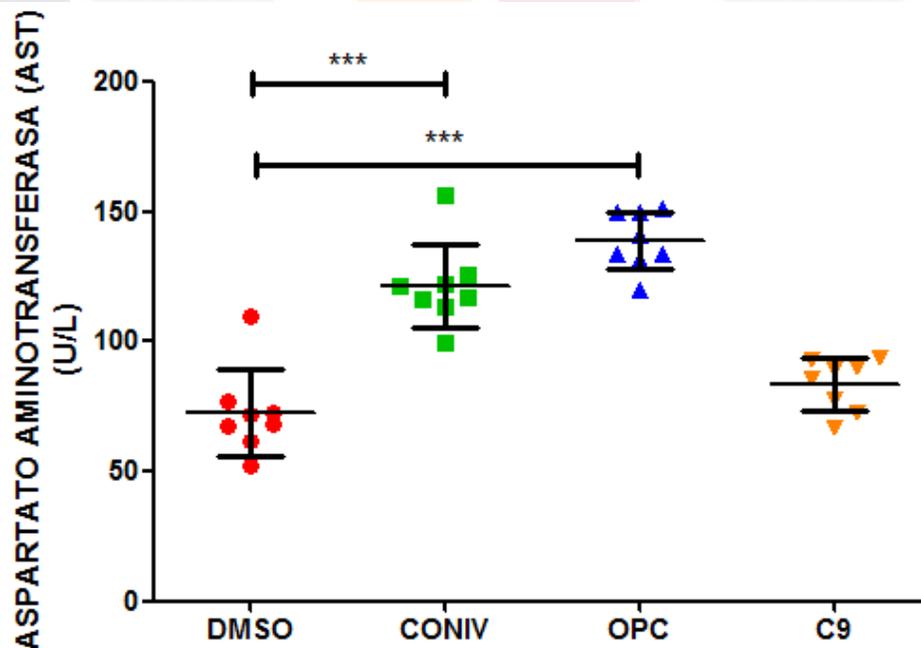
Las pruebas para determinar los posibles efectos hepatotóxicos del conivaptán, OPC-21268 y C9 se evaluaron a través de la actividad de las enzimas Aspartato Aminotransferasa (AST) y Alanina Aminotransferasa (ALT). Estas enzimas son específicas de lesión tisular y lesión de hepatocitos respectivamente y en conjunto, permiten determinar la presencia de lesión hepática.

Los resultados muestran, que la AST (gráficas 9) se incrementó significativamente en los grupos de animales normotensos e hipertensos tratados con conivaptán y OPC-21268 ($p < 0.001$, DMSO *vs* CONI y OPC para ambos experimentos). Sin embargo, es importante señalar que los niveles alcanzados por la actividad de esta enzima, en ambos experimentos (normotensos e hipertensos), no sobrepasaron los rangos de actividad enzimática reportados como normales.

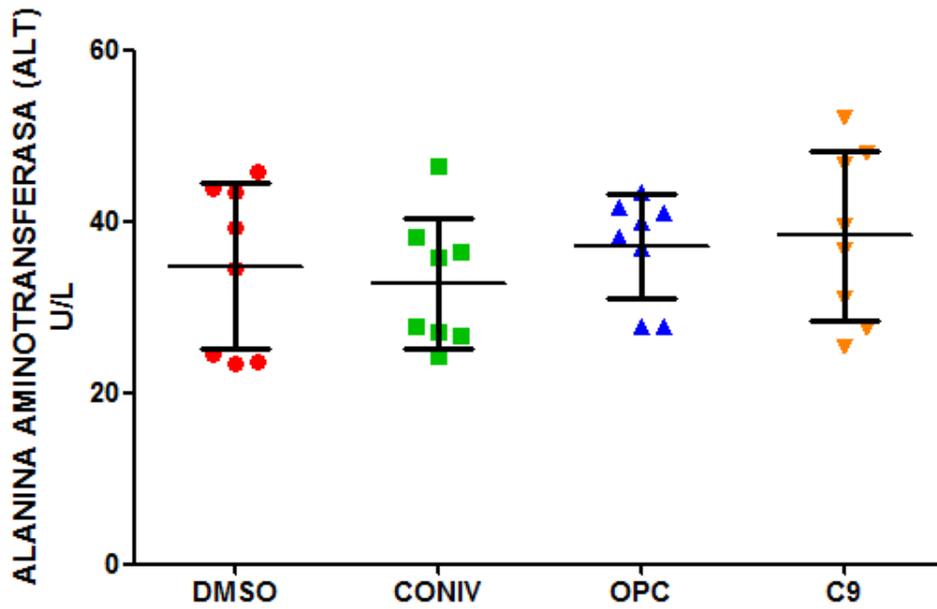
Por otro lado, la comparación de la actividad enzimática de la ALT entre los grupos de ambos experimentos (normotensos e hipertensos) (gráficas 11 y 12), mostró que, excepto el ligero, pero significativo incremento ocurrido en el grupo OPC-21268 de los animales hipertensos ($p < 0.05$, DMSO *vs* OPC) (gráfica 12), en los demás grupos no se observaron diferencias significativas (gráficas 11 y 12). Ya que la elevación de la AST indica presencia de daño en algún tejido corporal inducido por los tratamientos con conivaptán y OPC-21268 y que esta elevación quedó dentro de los parámetros reportados como normales (León-Goñi et al., 2011). Por otro lado, la ALT se incrementó significativamente solo en el grupo OPC de los animales hipertensos, sin embargo, al comprar este incremento con los niveles descritos en la literatura, muestra que se encuentra dentro de los rangos considerados como normales (León-Goñi et al., 2011).



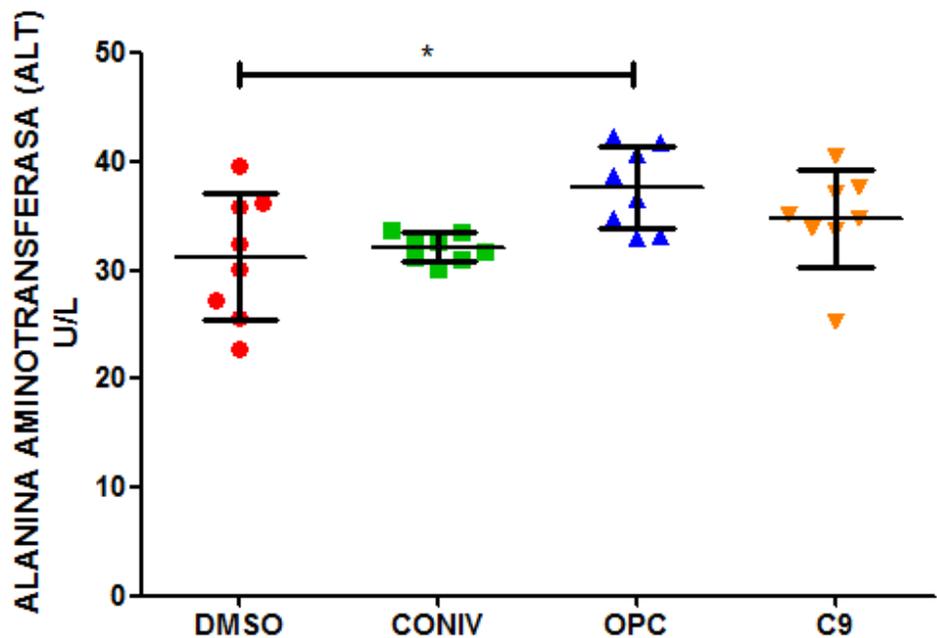
Gráfica 9: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la AST en ratas **normotensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. NS = No significativo DMSO vs C9. ***p<0.001.



Gráfica 10: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la AST en ratas **hipertensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. NS = No significativo DMSO vs C9. ***p<0.001.

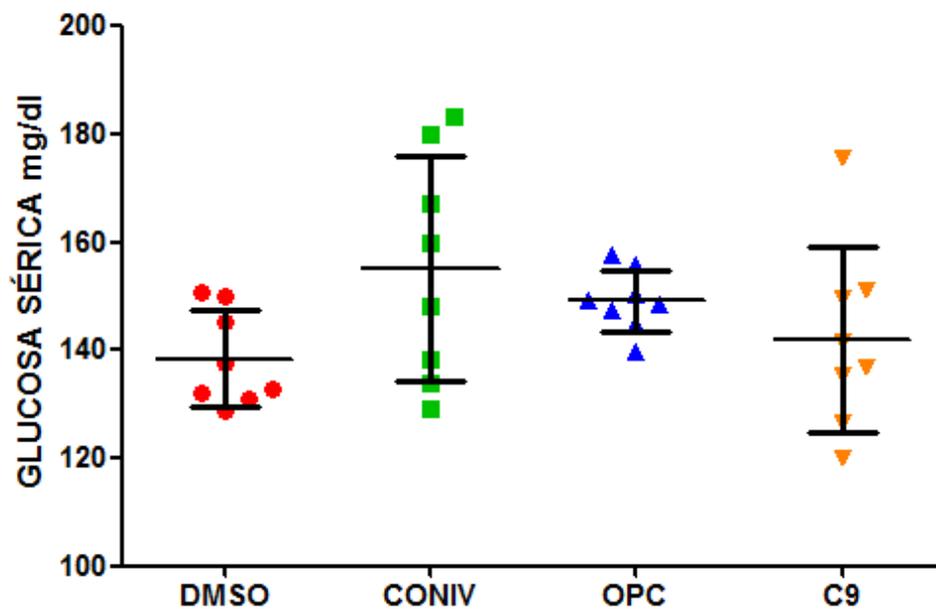


Gráfica 11: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la ALT en ratas **normotensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

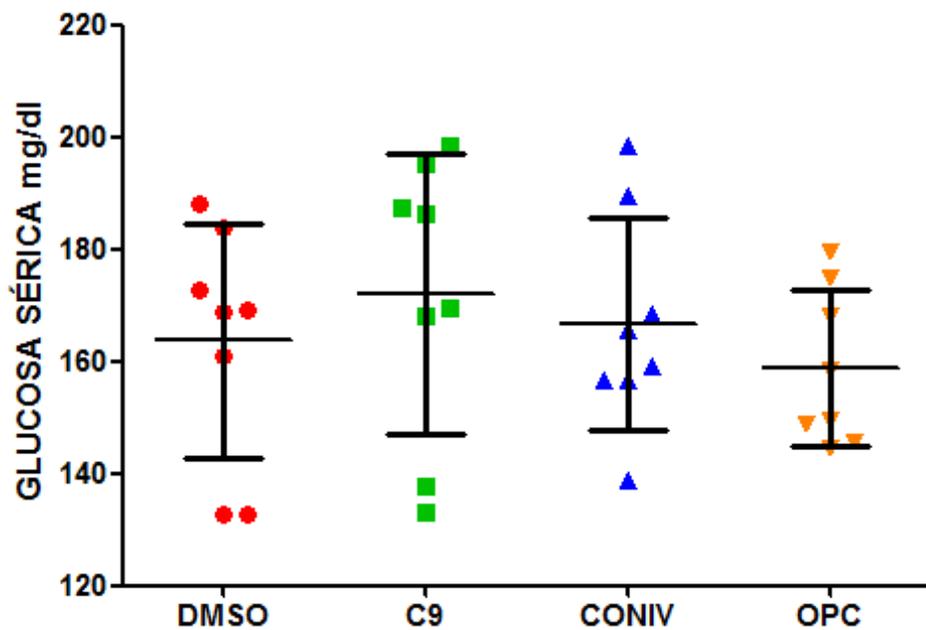


Gráfica 12: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la ALT en ratas **hipertensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. NS = No significativo DMSO vs CONIV, DMSO vs C9.*p<0.05.

Dado que un efecto conocido de la vasopresina sobre los hepatocitos es estimular la glucogenólisis y la glucemia, se decidió explorar el efecto de los diferentes vaptanes sobre los niveles séricos de glucosa. Los resultados de las glucemias en los grupos de ambos experimentos (normotensos e hipertensos), mostraron que en comparación con los valores normoglucémicos reportados en la literatura (100 mg/dl), la glucemia de los grupos de animales en ambos experimentos se incrementó significativamente (gráficas 13 y 14).



Gráfica 13: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la Glucosa sérica en ratas **normotensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. NS = No significativo *p<0.05.



Gráfica 14: Efecto del DMSO (50µl IM), Conivaptan (CONIV) (4mg/kg/24hr), OPC 21268 (OPC) (4mg/kg/24hr) y Compuesto C9 (20mg/kg/24hr) sobre la Glucosa sérica en ratas **hipertensas**. Las mediciones se realizaron a los 15 días de tratamiento. NS = No significativo *p<0.05.

DISCUSIÓN

La evaluación de los antagonistas no peptídicos de los receptores de la hormona Arginina Vasopresina consistió en dos premisas: la primera, el efecto de los vaptanes sobre la presión arterial y la segunda, la valoración de sus posibles efectos tóxicos a nivel hepático y renal.

El incremento significativo de los niveles de la presión arterial en los animales sometidos a los implantes de laminillas de celofán por debajo de la cápsula renal 50% por arriba del grupo control), indica que el modelo de hipertensión arterial de Page, modificado por nosotros es reproducible y confiable para estudiar el posible efecto hipotensor de los vaptanes estudiados en el proyecto.

Los resultados de este proyecto mostraron que el Conivaptán, el OPC-21268 y el compuesto C9, no afectaron la presión arterial en los animales normotensos, mientras que en los animales hipertensos, el Conivaptán y el OPC-21268, indujeron una disminución significativa de la TAM, a diferencia del C9 que no tuvo este efecto. Estos resultados apoyan la observación de Yamada et al. (1993) quienes estudiaron los efectos hipotensores del OPC-21268 en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) de más de 38 semanas de edad y en ratas espontáneamente hipertensas predispuestas a infarto (SHRSP) de 25 semanas de edad, el compuesto fue administrado por vía intravenosa. Cabe mencionar que en las SHRSP mostraron una disminución de la TA de 32.4 ± 7.9 mmHg en respuesta a una sola dosis de 3mg/kg de OPC-21268. Este resultado es semejante al observado en nuestros animales con hipertensión experimental tratados con 4 mg/Kg de peso/I.M. de OPC-21268) en los cuales la disminución de la presión fue de 41.5 ± 8.4 mmHg. Es un hecho conocido que cuando uno de los sistemas de control de la presión arterial falla, los demás sistemas de control responden de manera tal que, compensan la falla (Guyton-Hall, 2016). Es posible que en nuestros animales normotensos, el efecto hipotensor del conivaptán y el OPC-21268 no se haya manifestado por el efecto compensador de los demás sistemas de control de la presión arterial (nervioso, hormonal y renal). Estas posibilidades son apoyadas por los resultados observados en los grupos de animales hipertensos, en los cuales el conivaptán y el OPC-21268, indujeron una disminución significativa de la TAM (20 y 25% respectivamente con respecto del grupo hipertenso control (DMSO), mientras que el C9 no

tuvo este efecto (Goldsmith, 2010). Estos resultados sugieren que al incrementarse la presión arterial por efecto de la nefritis intersticial inducida por el celofán (Venegas et al., 2005) los mecanismos renales para el control de la presión arterial se han descompensado provocando la hipertensión de Page.

En estas condiciones el efecto hipotensor del conivaptán y el OPC-21260, al bloquear los receptores V1a de AVP del músculo liso vascular (Mavani, 2015), se sobreponen a los efectos compensatorios de los sistemas de regulación de la presión arterial. En el grupo hipertenso tratado con Conivaptán disminuyó la presión arterial (31.75 ± 6.4 mmHg con respecto al grupo control) y se incrementó la ingesta de agua; mientras que en el grupo OPC-21268 la disminución de la presión arterial no se acompañó de cambios en la diuresis, por lo tanto, podemos pensar que la disminución de la presión arterial de los animales tratados con conivaptán es debida al efecto bloqueador sobre los receptores V1a del músculo liso vascular y no a su efecto bloqueador de los receptores V2 del riñón.

La falta de efecto sobre la presión arterial y el gran efecto acuareético del compuesto C9 (antagonista de los receptores V1a-V2 de AVP (Contreras-Romo et al., 2013) sugiere que su efecto bloqueador sería más importante sobre los receptores V2 de AVP de los túbulos colectores del riñón, y tendría un menor o ningún efecto sobre los receptores V1a del músculo liso vascular. Dado que “*in vitro*” (anillos de aorta) el compuesto tuvo un efecto bloqueador de la contracción muscular estimulada por AVP (Contreras-Romo et al., 2013), es necesario hacer más estudios para determinar la afinidad de compuesto C9 sobre

En cuanto al consumo diario de agua observamos que, en ambos grupos de prueba, los compuestos Conivaptan y C9 presentaron los valores de mayor ingesta en comparación al grupo control, esto es debido al efecto acuareético de los compuestos por su acción en los receptores V2. El compuesto OPC21268, no presentó efecto acuareético, debido a que es un vaptan con efecto únicamente en los receptores V1a, por lo tanto, la ingesta de agua no se vio alterada en estos sujetos. Este hallazgo es importante debido a que, en pacientes con patologías como hipertensión arterial, o SIADH, el control de los volúmenes corporales es vital para un buen control de la enfermedad, es por eso el uso de diuréticos como terapia

antihipertensiva además del control electrolítico en terapia de control de sodio (Goldsmith 2010), (Hatton 2008).

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos establecer que el compuesto C9, pudiera ser utilizado como terapia acuaretica de acción central, para tratamiento concomitante de HAS; actualmente algunos de los vaptanes ya se utilizan con esta finalidad en algunas patologías como el SIADH (Knudsen 2008), Insuficiencia Cardíaca Congestiva, y cirrosis hepática, sin embargo, como monoterapia aún falta mucho por investigar y conocer del C9 (Camillo-Esper, 2004).

Conocer los posibles efectos tóxicos de los fármacos es de gran importancia para determinar su potencial uso en el tratamiento de las enfermedades. Dada la pretensión de utilizar los vaptanes como un tratamiento alternativo o complementario de la hipertensión arterial esencial, en este trabajo se hicieron algunas pruebas de funcionamiento renal y hepático.

Las pruebas de daño renal representadas por las concentraciones séricas de creatinina y urea, mostraron que excepto en el grupo normotenso tratado con el compuesto C9, la creatinina se incrementó significativamente con respecto al grupo control; en el resto de los grupos, los valores de creatinina como de urea, no mostraron cambios significativos. Cabe mencionar sin embargo, que aún los elevados niveles de creatinina encontrados en el grupo normotenso tratado con el compuesto C9, al compararlo con las concentraciones reportadas en la literatura los niveles de creatinina no fueron estadísticamente diferentes (León-Goñi et al., 2011) (Control, 0.46 a 0.88 mg/dl versus 0.8 mg/dl del grupo normotenso tratado con el compuesto C9. En conjunto, los resultados de las pruebas de funcionamiento renal, indican que el conivaptán, y el OPC-21268 no poseen efectos tóxicos a las dosis y tiempo de administración empleados, mientras que para el compuesto C9, es necesario realizar más estudios con otros marcadores de daño renal que permitan determinar el grado de daño potencial del compuesto C9. En un estudio realizado en 2005 se evaluó un vaptan de acción selectiva para receptores V2 en humanos, denominado EVEREST, en el cual se estudiaron los efectos de la función renal de los pacientes con el uso de este compuesto; demostrando que se mantiene el efecto acuaretico sin interferir en la función renal (Gheorghiade, 2005).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Junto con la valoración de los parámetros bioquímicos los resultados de la ingesta de agua y de la capacidad acuarética de los compuestos confirmaron que la función renal de los sujetos de prueba se encontraba adecuada durante todo el tratamiento. El efecto de la inhibición de la AVP con los vaptanes induce una diuresis acuosa, con un mantenimiento de los niveles de electrolitos séricos(Goldsmith, 2010)(De la Serna, 2007).

El incremento de la actividad enzimática de la AST en los grupos normotensos e hipertensos sugiere que tanto el conivaptán y el OPC-21268, podrían tener efecto tóxico sobre algún tejido corporal, incluyendo el hígado. Por otro lado, el hecho de que la enzima ALT solo se haya incrementado en el grupo hipertenso tratado con OPC-21268, sugiere que este compuesto pudiera tener un efecto hepatotóxico. Cabe señalar que aunque ambas enzimas se encontraron elevadas en los grupos conivaptán y OPC-21268 de ambos grupos experimentales (normotensos e hipertensos), y que la AST solo en el grupo conivaptán del grupo hipertensos, los niveles alcanzados por estas enzimas no sobrepasaron los niveles reportados como normales (León-Goñi, et al., 2011). Ya que el incremento de la AST sugiere la presencia de daño en un tejido corporal, y la actividad de esta enzima se incrementó en los grupos tratados con conivaptán, es necesario establecer el origen del este incremento. Esto es importante pues actualmente este compuesto ha sido aprobado para administrarse en pacientes humanos con insuficiencia cardiaca congestiva crónica, cirrosis hepática y síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética (Escobar, 2011). Por otro lado, el hecho de que el tratamiento con OPC-21268 a los animales hipertensos haya incrementado los niveles de la ALT, sugiere que también podría tener un efecto hepatotóxico. En conjunto, los resultados de estas enzimas sugieren que el conivaptán y el OPC-21268, podrían tener algún efecto hepatotóxico(Avila-Telles, 2007). Es por tanto necesario hacer pruebas de daño hepático más específicas para establecer el peligro potencial de la administración de estos compuestos.

Actualmente se conoce que este compuesto es metabolizado en su mayoría a nivel hepático, por medio de la isoenzima CYP3A, es por eso que, se debe tener especial precaución para la administración concomitante con algunos otros medicamentos o compuestos (Milles, 2014), (FDA VAPRISOL. En la aplicación clínica la elevación de estas enzimas determina cierto tipo de afecciones hepáticas, tales como infecciones, hepatitis, cirrosis, entre otras,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

determinando así que estas enzimas actúan como buenos marcadores para verificar si el funcionamiento del hígado se encuentra impedido por alguna de estas instancias clínicas (Escobar et al 2011).

Existen diversas comparativas en cuanto a la elevación mayor de una enzima con respecto a la otra, las cuales pudieran orientar a la presencia de alguna entidad clínica específica, es decir, la ALT es una enzima eminentemente hepática, de modo que si se encuentra elevada en mayor proporción que la AST pudiera ser indicativo de colestasis intrahepática, o hepatitis de etiología viral; en cambio cuando la AST es mayor en relación a la ALT, pudiéramos identificar una hepatitis de etiología alcohólica, cirrosis hepática, o colestasis extrahepática (Gómez, 2012).

Es sabido que en respuesta al estrés, uno de los parámetros que se modifica más rápidamente en la glucemia, y que este incremento es secundario a la activación del sistema nervioso simpático (secreción de adrenalina) y del eje hipotálamo hipófisis-adrenal (secreción de cortisol en humanos y corticosterona en la rata) (Lopátegui, 2001). En nuestro experimento, las determinaciones de la presión arterial directa implicaron la inyección del anestésico, la cirugía para la cateterización de la arteria carótida, el periodo de la medición de la presión arterial y finalmente la exanguinación por la arteria aorta. En conjunto, el tiempo para desarrollar todas estas maniobras fue de 45 minutos aproximadamente, por lo que el incremento de la glucemia observada, puede ser explicado, al menos parcialmente, por el periodo de estrés al que fueron sometidos todos los animales. La producción de la hormona ACTH es consecuencia directa de la respuesta al estrés. La ACTH actúa sobre la corteza suprarrenal para estimular la producción de cortisol, el cual condiciona un estado de hiperglucemia (Lopátegui 2001).

CONCLUSIONES

Este trabajo nos permitió aportar el siguiente conocimiento:

- 1) Se estandarizó un modelo modificado eficiente y reproducible para inducir hipertensión arterial de Page.
- 2) El conivaptán y el OPC-21268 reducen la presión arterial en animales hipertensos pero no en los normotensos.
- 3) El compuesto C9 no afecta la presión arterial.
- 4) El compuesto C9 posee efecto acuareético y es tan eficaz como el del conivaptán.
- 5) El OPC-21268, no posee efecto acuareético.
- 6) Es posible que el conivaptán y el OPC21268 posean efectos hepatotóxicos
- 7) El conivaptán, el OPC-21268 y el compuesto C9, no poseen efectos nefrotóxicos.

GLOSARIO

ACCIDENTE CEREBROVASCULAR: Se define como cualquier lesión de tipo vascular en el encéfalo pudiendo ser isquémica o hemorrágica, la cual provoca presencia de signos que generalmente implican un daño permanente con pérdida de las funciones de la persona que lo padece, pudiendo llegar a la muerte en casos severos.

AGONISTA: Se define como una sustancia que realiza acciones similares o que tiene actividad similar a alguna sustancia endógena generalmente.

ANTAGONISTA: Se define como una sustancia que posee actividad opuesta a aquellas presentadas por una sustancia.

ANTIDIURÉTICO: Se define como una sustancia que disminuye la actividad diurética del organismo, es decir disminuye la excreción de orina.

BARORRECEPTOR(ES): Se definen como terminación es nerviosas, las cuales son sensibles a cambios de presión, usualmente se encuentran en conglomerados en la arteria carótida interna y la arteria aorta, son responsables del control normal de la presión arterial.

BIODISPONIBILIDAD: Se define como la cantidad de una sustancia y la velocidad a la que el principio activo se absorbe en el organismo, a partir de una forma farmacéutica y que llega al sitio de acción.

BIOMARCADOR: Característica física la cual puede ser objetivamente medida y evaluada como indicador de un proceso biológico normal, patológico o como una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica.

BIOTRANSFORMACIÓN: Se refiere a la transformación metabólica que sufren la mayoría de las sustancias dentro del organismo, principalmente se encuentra mediada por diferentes complejos enzimáticos propios del organismo.

CARDIOPATÍA ISQUÉMICA: Se refiere a una condición clínica en la cual una parte del corazón no recibe suficiente oxígeno por una insuficiencia de flujo sanguíneo a esa área, debida principalmente a una oclusión de las arterias coronarias.

EFECTO ADVERSO: Son síntomas indeseables previstos que pueden presentar los pacientes ante la prescripción de un determinado tratamiento.

EFECTO SECUNDARIO: Es un efecto causado por un medicamento que inicialmente no se buscaba cuando se prescribió este tratamiento, puede no ser necesariamente perjudicial y generalmente son conocidos en las moléculas que han sido estudiadas y que están en el mercado desde hace tiempo.

EFECTO TÓXICO / RESPUESTA TÓXICA: Se refiere a cualquier desviación del funcionamiento normal del organismo que ha sido producida por la exposición a alguna sustancia.

ESENCIAL, HIPERTENSIÓN: Se define como el aumento de la presión arterial sin causa identificable del aumento; también es conocida como hipertensión primaria.

ETIOLOGÍA: Se refiere a la causa de una enfermedad, son los factores causales de que se presente la enfermedad, sin los cuales no existe patología.

FACTOR DE RIESGO: Es cualquier rasgo, característica o particularidad de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión.

FDA: Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés. Es la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados sanguíneos.

FLUJO SANGUÍNEO: Se refiere al paso de la sangre por los vasos sanguíneos, pudiendo ser arterias, venas o capilares.

GASTO CARDIACO: Se refiere al volumen sanguíneo bombeado por el corazón al organismo por minuto.

HIPERTENSIÓN ARTERIAL SISTÉMICA: Es el aumento sostenido de la presión arterial de un individuo, el cual no disminuye a los mecanismos de regulación propios del organismo, y que requiere tratamiento médico especializado para su tratamiento y control.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

LNI: Procedimiento de microcirugía experimental, el cual involucra la extirpación del lóbulo neuro-intermedio de la hipófisis a un sujeto de experimentación (investigación básica) con apertura de la cavidad craneal por medio de un abordaje anterior por el cuello.

MORBIMORTALIDAD: Concepto compuesto que proviene de la ciencia médica y que combina dos subconceptos la morbilidad y la mortalidad. La morbilidad es la presencia de un determinado tipo de enfermedad en una población. Y la mortalidad hace referencia a la proporción de muertes en una población por una causa determinada.

NÚCLEOS HIPOTALÁMICOS: Se refiere a un conglomerado de neuronas, dispuestas en el hipotálamo, las cuales realizan una función específica dependiendo de la disposición que ocupen en el hipotálamo.

ÓRGANO BLANCO: Se refiere al órgano o sitio de acción específico en donde una sustancia realizará su acción.

PADECIMIENTOS CRONICO-DEGENERATIVOS: Se refiere a un conjunto de condiciones clínicas de larga duración y lenta evolución que presenta un individuo, las cuales pueden condicionar una degradación progresiva del estado de salud de un individuo.

PERINEFRITIS: Se refiere a una inflamación circundante del riñón, condicionada por diversas causas que pueden tener una afectación en la función normal del riñón.

PRESIÓN ARTERIAL: Se refiere a la fuerza ejercida por el flujo de la sangre en una unidad de superficie de los vasos sanguíneos.

PRESIÓN DIASTÓLICA: Se define como el valor de la presión arterial cuando el corazón se encuentra en reposo, es decir, cuando está en fase de diástole. Es la presión que hace la sangre sobre las arterias entre dos latidos cardíacos.

PRESIÓN SISTÓLICA: Se define como la presión máxima alcanzada durante la sístole, depende de la volemia y la distensibilidad de la aorta y las grandes arterias.

RADICALES LIBRES: Se refiere a sustancias químicas con alto grado de reactividad, las cuales poseen la capacidad de introducir oxígeno a las células, propiciando procesos de degradación oxidativa, los cuales pudieran alterar el funcionamiento y viabilidad celular.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

RESISTENCIA VASCULAR: Se refiere a la capacidad de contractilidad de los vasos sanguíneos, y la oposición a la fuerza que la sangre ejerce contra las arterias.

SECUNDARIA, HIPERTENSIÓN: Se define como el aumento de la presión arterial sistémica por una causa identificable.

SEGURIDAD, FARMACOLÓGICA: Es la característica de un compuesto, usualmente un medicamento, de poder ser utilizado en algún sujeto, con una probabilidad muy pequeña de causar algún efecto tóxico.

SIADH: Síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética, Se refiere a un aumento de hormona Vasopresina presente en la circulación por una producción excesiva en el hipotálamo, lo cual induce disminución de los niveles séricos de sodio sanguíneo (hiponatremia), disminución de la osmolaridad plasmática, aumento de la concentración de orina.

TOLERANCIA: Se refiere a una desensibilización a una sustancia por parte del organismo, lo cual hace que se requiera una mayor dosis para alcanzar el mismo efecto observado con una dosis menor.

TOXICIDAD: Se refiere al grado de efectividad que posee una sustancia que, por su composición, se considera como tóxico.

AGUDA: Se refiere a los efectos de una o varias dosis administradas en 24hrs, pudiendo aparecer sus efectos en pocas horas o días.

SUBAGUDA: También conocida como toxicidad subcrónica. Se refiere a los efectos producidos por una exposición prolongada (semanas a 3 meses) a una sustancia, generalmente en dosis inferiores a las necesarias para causar una intoxicación aguda.

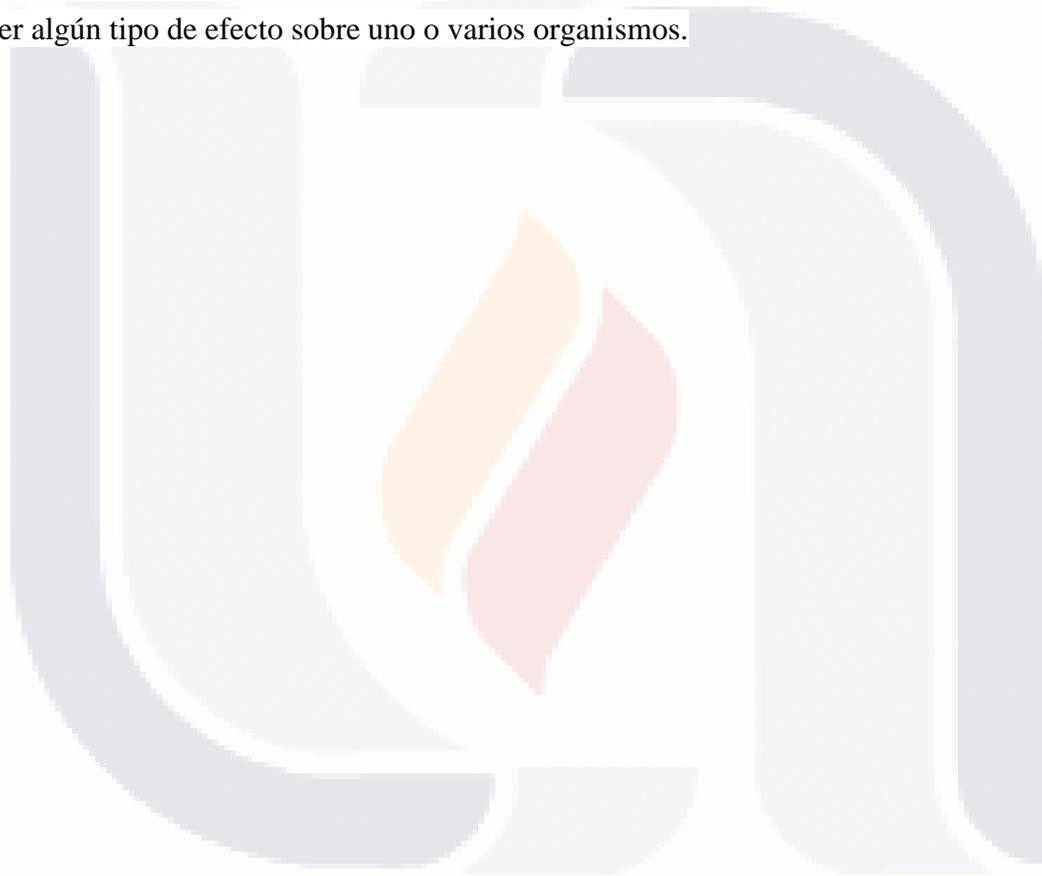
CRÓNICA: Implica la exposición a un tóxico durante al menos 3 meses, pudiendo llegar a varios años, en los cuales ordinariamente no se aprecian signos de enfermedad durante un periodo prolongado.

TÓXICO: Compuesto químico que presenta la capacidad de presentar efectos nocivos o lesiones en un organismo pudiendo conducir hasta la muerte.

VASOCONSTRICCIÓN: Se refiere a la disminución del calibre de un vaso sanguíneo secundaria a la contracción de la capa muscular.

VASODILATACIÓN: Se refiere a un aumento del calibre de un vaso sanguíneo por relajación de las fibras musculares de la capa muscular.

XENOBIÓTICO: Es cualquier compuesto químico que no forme parte de la composición normal de un organismo vivo. Pueden ser contaminantes (concentración en exceso) ambientales o compuestos químicos de uso cotidiano o industrial además de que pueden ejercer algún tipo de efecto sobre uno o varios organismos.



BIBLIOGRAFÍA

- Annane, D., Decaux, G., & Smith, N. (2009). Efficacy and Safety of Oral Conivaptan, a Vasopressin-Receptor Antagonist, Evaluated in a Randomized Controlled Trial in Patients With Euvolemic or Hypervolemic Hyponatremia. *American Journal of the Medical Sciences*, 337:28-36.
- Avila-Telles, F. (2007). Trastornos de Coagulación en Paciente Cirrótico. *Cirrosis Med.*, 153-156.
- Barquera, S., Campos, I., Hernandez, L., Barrera, T., Villalpando, S., Rodriguez, C., et al. (2010). *Hypertension in Mexican Adults: Results from the National Health and Nutrition Survey 2010*. México D.F.: Secretaría de Salud Pública México.
- Blank, M., DeFelice, A., Goodsaid, F., Harlow, P., Hausner, E., Jacobson, D., et al. (2009). *Review of Qualification Data for Biomarkers of Nephrotoxicity*. Food And Drug Administration.
- Camacho, R. (2012). Evaluación Toxicológica del C9 en Hígado y la Coagulación Sanguínea. *Toxicología Clínica*.
- Carrillo-Esper, R. (2004). Uso de Vasopresina en el Estado de Choque. *Gaceta Médica de México Vol.104 No.1*, 71-76.
- De la Serna, F. (2007). Diuréticos Inhibidores de la Vasopresina. *Insuficiencia Cardiaca*.
- Decaux, G., & Soupart, A. (2008). Non-Peptide Arginine-Vasopressin Antagonists: The Vaptans. *The Lancet New Drug Class*, 371: 1624–32.
- Derrick, J. (2012). *Controlling Hypertension in Adults*. American Heart Association Journals.
- ENSANUT. (2012). *Hipertensión Arterial en Adultos Mexicanos: Importancia de Mejorar el Diagnóstico Oportuno y el Control*. México D.F.: Secretaría de Salud México.
- Fernández-Pello, S., Mosquera, J., Fernández, I., Perez, J., Benito, P., Díaz, B., et al. (2013). Riñón de Page: Hematoma Subcapsular Renal E Hipertensión Arterial. Presentación De Un Nuevo Caso y Revisión De La Literatura. *UROLOGÍA*, 593-596.
- Finley, J., Konstam, A., & Udelson, J. (2008). Arginine Vasopressin Antagonist for the Treatment of Heart Failure and Hyponatremia. *Circulation*, 118:410-421.
- Ganong, F. (2005). *Review of Medical Physiology 22nd edition*. pp 499, 700-728: McGraw Hill.
- Gassanov, A., Nasser, N., Semmo, M., Nia, M., Fuhr, U., Fikret, E., et al. (2011). Arginine Vasopressin (AVP) and Treatment with Arginine Vasopressin Receptor Antagonists in Congestive Heart Failure, Liver Cirrhosis and Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion (SIADH). *European Journal of Clinical Pharmacology*, 432-1041.

- Gheorghiade, M., Orlandi, C., Burnett, J., Demets, D., Grinfeld, L., Maggioni, A., et al. (2005). Rationale and Design of the Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy of Vasopressin Antagonism in Heart Failure: Outcome Study with Tolvaptan (EVEREST).
- Goldsmith, S. (2010). Treatment options for Hyponatremia in Heart Failure. *Country Medical Center Magazine* .
- Goodman&Gilman. (1998). *Las Bases de la Farmacología Terapéutica*. México D.F.: Mc Graw Hill.
- Green, A., Griffante, C., Curcuruto, O., Haslam, C., Dickinson, B., Arban, R., et al. (2005). Selectivity of d[Cha4]AVP and SSR149415 at Human Vasopressin and Oxytocin Receptors: Evidence that SSR149415 is a Mixed Vasopressin V1b/Oxytocin Receptor Antagonist. *British Journal of Pharmacology*, 146, 744–751.
- Gross, F., & Quittnat, F. (2006). Vaptans and the Treatment of Water-Retaining Disorders. *Seminary of Nephrology*, 26:234-243.
- Guyton, A., & Hall, J. (2011). *Textbook of Medical Physiology 11 Ed. Unit 4*. España: ELSEVIER.
- Hiroyama, M., Aoyagi, T., Fujiwara, T., Oshikawa, S., Sanbe, A., Endo, F., et al. (2007). Hyperammonaemia in V1a Vasopressin Receptor Knockout Mice Caused by the Promoted Proteolysis and Reduced Intrahepatic Blood Volume. *Journal of Physiology*, 581.3 (2007) pp 1183–1192.
- Imaizumi, T., Harada, S., Hirooka, Y., Masaki, H., Momohara, M., Takeshita, A., et al. (1991). Effects of OPC-21268, an Orally Effective Vasopressin V1 Receptor Antagonist in Humans. *Cardiovascular American Heart Association Journals*.
- Jauregui, R. (2009). La Hipertensión Sistémica Conceptos Actuales. *Acta Médica Grupo Angeles*, 17-23.
- JNC7. (2004). Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Seventh Report of the Joint National Committee*.
- JNC8. (2014). Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults. *Eighth Report of the Joint National Committee*.
- JNC8. (2014). *Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults*. Eighth Joint National Committee.
- Juárez, F. J. (2006). *Toxicología Básica*. Aguascalientes Ags, México: Textos Universitarios UAA.
- Kaplowitz, N. (2005). Idiosyncratic Drug Hepatotoxicity. *Nat Rev Drug Discoveries*, 489-499.
- Kearny, P., Whelton, M., Reynolds, P., Whelton, H., Jinag, H., Hill, M., et al. (2004). Worldwide Prevalence of Hypertension. *Journal of Hypertension*, 22:11-19.

- Kohishi, W., Matzukawa, U., Fujimori, A., Arai, Y., Sasamata, M., Miyata, K., et al. (2007). A novel Vasopressin Dual V1a/V2 Receptor Antagonist, Conivaptan Hydrochloride, Improves Hyponatremia in Rats with Syndrome of Inappropriate Secretion of Antidiuretic Hormone (SIADH). *Biological and pharmaceutical Bulletin*, 30(1): 91-95.
- Koshimizu T., N. K. (2012). Physiological Systems. *Physiology Review*, 92:1813–1864.
- Laycock, J. (2010). Perspectives in Vasopressin. En J. F. Laycock, *Vasopressin and the Cardiovascular System* (págs. Pp 176-201). London UK: Imperial Collage Press.
- Manning, M., Misicka, A., Olma, A., Bankowski, K., Stoev, S., Chini, B., et al. (2012). Oxytocin and Vasopressin Agonists and Antagonists as Research Tools and Potential Therapeutics. *Journal of Neuroendocrinology*, 24: 609–628.
- Manning, T., & Sawyer, M. (1991). *Antagonists of Vasopressin and Oxytocin: Current Status and Future Perspectives*. In *Vasopressin*. Paris, France: John Libbey Eurotext.
- Martín, G., & Zurita, M. (2008). Transaminasas: Valoración y Significación Clínica. *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica*, 267-275.
- Okada, H., Suzuki, H., & Kanno, J. (1995). Effect of Nonpeptide Vasopressin Receptor Antagonists on Developing, and Established Doca-Salt Hypertension in Rats Clinical and Experimental Hypertension. Vol. 17, No. 3 , P 469-483.
- Page, I. (1939). The Production of Persistent Arterial Hypertension by Cellopahn Perinephritis. *Journal of the American Medical Association*, 2046-2048.
- Pearson, E. (2004). *Nephrology*. Ontario Canada: Pearson Education Inc.
- Perucca, J., Daniel, G., Pascale-Bardoux, P., Bouby, N., Bankir, L., Soiseux, M., et al. (2008). Sodium Excretion in Response to Vasopressin and Selective Vasopressin Receptor Antagonists. *Journal of American Social Nephrology*, 19(9): 1721–1731.
- Quintanar, A., Kalman, K., & Berczi, I. (2004). Effects of Neurointermediate Pituitaria Lobectomy on Humoral and Cell-Mediated Immune Responses in the Rat. *Neuroimmunomodulation*. págs. 11: 233-240.
- Quintanar, A., Organista, A., Chavira, R., Arenas, S., Ramirez, C., Kovacs, K., et al. (2012). Effects of Neurointermediate Pituitary Lobectomy And Desmopressin on Acute Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in Lewis Rats. 19(3):148-157.
- Quintanar-Stephano, A., Contreras, M., Romo, C., Rodríguez, A., Peralta, A., González-Ruiz, C., et al. (2012). The role of Neurohypophysis in the Long-Term Blood Pressure Regulation in Rats. *FASEB Meeting, San Diego, California. USA*.

- Robertson, G. (2011). Vaptans for the treatment of hyponatremia. *Nature Reviews Endocrinology*, 7, 151-161.
- Scott, V., Bishop, V., & Brown, C. (2009). Dehydration Induced Modulation of K-Opioid Inhibition of Vasopressin Neurone Activity. *The Journal of Physiology*, 587(23): 5679-5689.
- Sequera, P., Albalade, R., & Alcázar, R. (2009). ¿Son los Vaptanes Fármacos Eficaces y Seguros en el Tratamiento de la Hiponatremia? *Nefrología Suplemento Extraordinario*, 29(6):21-26.
- Smyth, A., Collins, S., Thorsteinsdottir, B., Enemark, T., Madsen, B., Guilherme, H., et al. (2012). Page Kidney: Etiology, Renal Function Outcomes and Risk for Future Hypertension. *The Journal of Clinical Hypertension*, 216-221.
- Stevens G, D. R. (2008). *Characterizing The Epidemiological Transition In México: National And Subnational Burden Of Diseases, Injuries And Risk Factors*. México D.F.: Plos Med.
- Tahara et al., A. (1997). Pharmacological Profile of YM087, A Novel POtent, Nonpeptide Vasopressin, V1a and V2 Receptor Antagonist, in Vitro and in Vivo. *Pharmacology and Experimental Therapeutic*.
- Thibonnier, M., Coles, P., Conarty, D., Plesnicher, C., Shoham, M., Milles, Y., et al. (2000). A Molecular Model of Agonist and Nonpeptide Antagonist Binding to the Human V1 Vascular Vasopressin Receptor1. *The Journal of Pharmacology an Experimental Therapeutics*.
- Udelson, J. e. (2001). "Acute hemodynamic effects of conivaptan, a dual V(1A) and V(2) vasopressin receptor antagonist, in patients with advanced heart failure. *Circulation*, 104:2417-23.
- Vanegas, V., Ferrebuz, A., Quiróz, Y., Rodríguez-Iturbide, B., Araiza, M., Calzada, I., et al. (2005). Hypertension in Page (cellophane-wrapped) kidney is due to interstitial nephritis. *Kidney International*, 1161-1170.
- Verbalis, J. (2002). Vasopressin V2 receptor antagonists. *Journal of Molecular Endocrinology*, 29, 1-9.
- Villabona, C. (2010). Antagonistas del receptor de vasopresina: los vaptanes. *Endocrinology & Nutrition*, 41-52 - vol.57 núm Supl.2.
- WHO. (2013). *Información General sobre la Hipertensión En el Mundo*. Ginebra Suiza: World Health Organization.
- Xi Yang, L. K. (2014). Hepatic Toxicity Biomarkers. *Biomarkers in Toxicology, Elsevier*, 241-254.
- Yamamura, Y., Nakamura, S., Hirano, T., Onogawa, T., Yamashita, T., Yamada, Y., et al. (1998). OPC-41061, a Highly Potent Human Vasopressin V2-Receptor Antagonist: Pharmacological

Profile and Aquaretic Effect by Single and Multiple Oral dosing in ratsv. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*,, 287, no. 3.p 860-867.

Yamamura, Y., Ogawa, H., Yamashita, H., Chihara, T., Miyamoto, H., Nakamura, S., et al. (1992). Characterization of a novel aquaretic agent, OPC-31260, as an orally effective, nonpeptide vasopressin V2 receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology*, 105 787–791.

Yang, X., Schnackenberg, L., Shi, Q., Salminen, W., Fillian, T., Leich, G., et al. (2014). Hepatic toxicity biomarkers. *Biomarkers in Toxicology, ELSEVIER*, capitulo 13 241-259.

Zelena D., Á. D. (2007). The role of vasopressin in chronic stress studied in a chronic mild stress model of depression,. *Toxical sciences*, 60(3–4):196–200.

Zelena, D., Domokos, A., Barna, I., Csabai, K., Bagdy, G., Makara, G., et al. (2007). The Role of Vasopressin in Chronic Stress Studied in a Chronic Mild Stress Model of Depression. *Toxical Sciences*, 60(3–4):196–200.

Zink Caroline F., J. L.-L. (2010). Vasopressin Modulates Medial Prefrontal Cortex-Amygdala Circuitry During Emotion Processing in Humans. *journal of Neuroscience*, 30(20): 7017–7022.