

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE FARMACOLOGÍA

**EFECTO DE ALCALOIDES TIPO TROPANO PRESENTES EN *Schizanthus grahamii*
SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA, EN RATAS NORMOTENSAS E
HIPERTENSAS RENOVASCULARES.**

Memoria de Título presentada como parte
de los requisitos para optar al **TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO.**

MARISOL ANDREA ZAMORA SERRA

VALDIVIA – CHILE

2003

PROFESOR PATROCINANTE Dr. Marcos Moreira E.

PROFESOR COPATROCINANTE Dr. Frédérick Ahumada M.

PROFESOR COLABORADOR Dr. Orlando Muñoz M.

PROFESORES CALIFICADORES Dr. Rafael Burgos A.

Dr. Ricardo Enriquez S.

FECHA DE APROBACIÓN: 22 de Diciembre 2003

ÍNDICE.

	Pág.
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	35
ANEXOS.....	43
AGRADECIMIENTOS.....	53

**“EFECTO DE ALCALOIDES TIPO TROPANO PRESENTES EN *Schizanthus grahamii*
SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA, EN RATAS NORMOTENSAS E
HIPERTENSAS RENOVASCULARES”**

1. RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de alcaloides tipo tropano extraídos de *Schizanthus grahamii* sobre la presión arterial sistólica (PAS), en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

Se utilizaron 20 ratas machos cepa Sprague-Dawley, distribuidas al azar en 2 series de 10 ratas cada una: Serie 1: normotensas y serie 2: hipertensas.

El trabajo experimental se dividió en 3 periodos. **Período 1: inducción de hipertensión a través del método de Goldblatt 2 riñones 1 pinza y de verificación del establecimiento de la hipertensión:** se consideraron ratas hipertensas aquellas que presentaron PAS igual o mayor a 150 mmHg a la octava semana post-cirugía. **Período 2: valoración del efecto del extracto sobre la presión arterial:** a ambas series se administró durante 6 días extracto de *Schizanthus grahamii* en dosis de 10 mg/kg vía ip y en volumen de 0,5 ml/kg de peso, midiéndose la PAS los días 2, 4 y 6 del período. Además se evaluó el efecto del extracto sobre el reflejo pupilar. **Período 3: post-tratamiento:** se evaluó el posible efecto acumulativo del extracto sobre la PAS; se suspendió la administración del extracto y la PAS se tomó diariamente. La medición de la PAS se realizó mediante un procedimiento no invasivo en la cola de la rata, usando un esfigmomanómetro, un manguito inflable y un equipo de ultrasonido modelo Doppler.

Al analizar los resultados obtenidos se observó que la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii* produce un alza estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en la PAS en las ratas normotensas e hipertensas. No se modifica el reflejo pupilar en ambas series.

Durante el período post-tratamiento se obtuvo un alza significativa de la PAS en la serie normotensa, la que disminuye el último día de este período. No se registraron variaciones significativas de la PAS en la serie hipertensa.

Se concluye que los alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii* utilizados en este trabajo, producen modificación significativa de la PAS, en la dosis administrada, en las ratas normotensas y en las ratas hipertensas en relación al PT, día control.

Palabras claves: *Schizanthus grahamii*, hipertensión, Goldblatt, Doppler, ratas.

“EFFECT TROPANE TYPE ALKALOIDS FROM *Schizanthus grahamii* ON THE SYSTOLIC ARTERIAL PRESSURE IN NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RENOVASCULAR RATS”.

2. SUMMARY

In the present study, the effect of tropane type alkaloids from *Schizanthus grahamii* on systolic arterial pressure (SAP) in normotensive and hypertensive renovascular rats was evaluated.

20 Sprague –Dawley male rats , distributed at random and divided in 2 series of 10 rats each were used. Serie 1 normotensive rats and serie 2, hypertensive rats.

The experiential study was divided in 3 periods: **Period 1: induction of arterial hypertension through method of Goldblatt 2 kidneys, 1 clamp and period of establishment of arterial hypertension:** hypertensive rats considered themselves those that presented/displayed 150 SAP equal or superior to mmHg to the eighth later week to surgery. **Period 2: assessment of the extract effect on the SAP:** I administer during 6 days extract of *Schizanthus grahamii* in doses of 10 mg/kg body weight by ip, in volume of 0,5 ml/100 g body weight on both series being moderate the pressure days 2, 4 and 6 of the period. It was also evaluated, the effect of the extract on the pupilar reflex. **Period 3:post-treatment:** in that the possible cumulative effect of the extract on the SAP was assessed daily; the administration of the extract was suspended. The measurement of SAP was carried out with a non invasive procedure, in the tail of the rat by using a manometer cuff inflatable and Doppler ultrasonic equipment.

The results showed that the administration of alkaloids tropane type of *Schizanthus grahamii* increased significantly ($P \leq 0,05$) the SAP in the normotensive and hypertensive rats. No trace of any loss of the pupilar reflex on both series. During the period post treatment obtained a significant rise of the SAP in the normotensive serie, the one that diminishes I complete day of this period. Significant variations of the SAP in the hypertensive serie were not registered.

One concludes that the alkaloids tropane type purified and gone away of used *Schizanthus grahamii* in this work, they produce significant modification of the SAP, in the administered dose, in normotensive rats and in hypertensive rats in relation to PT.

Key words: *Schizanthus grahamii*, hypertension, Goldblatt, Doppler, rats.

3. INTRODUCCIÓN

La presión sanguínea es aquella que ejerce la sangre sobre las paredes de los vasos sanguíneos cuando es impulsada por el corazón, resultando como producto del gasto cardíaco y la resistencia vascular periférica (Ganong, 1998). Se mide casi siempre en milímetros de mercurio (mm Hg) y se utiliza como instrumento de medición el manómetro de mercurio.

Durante el sístole del ventrículo izquierdo, la sangre es impulsada hacia la arteria aorta dando lugar a un aumento de la presión sanguínea que recibe el nombre de presión arterial sistólica (PAS), tras ello, se inicia una disminución de la presión, alcanzando mínimo durante el diástole ventricular, la presión arterial diastólica (PAD). La elasticidad de la aorta le permite acomodar el gran volumen sistólico y atenuar el cambio de presión, de modo que el paso de PAS a PAD sea progresivo (Planas y Coca, 1998).

La presión arterial es un parámetro biológico con marcada variabilidad y extremadas dificultades para establecer los límites normales (Alcasena y col., 1998). En un humano adulto joven, la presión en la aorta, arterias braquiales y otras grandes arterias aumenta durante cada ciclo cardíaco hasta alcanzar valores máximos (presión sistólica) cercanos a 120 mmHg y bajar a un valor mínimo (presión diastólica) cercano a 70 mm Hg (Ganong, 1998).

Según Guyton y Hall (1997), la presión arterial es regulada por un sistema complejo de múltiples factores integrado por tres tipos de mecanismos:

- 1) Mecanismos de control de acción rápida; actúan en segundos o minutos, mediante reflejos nerviosos u otras respuestas nerviosas, entre estos tenemos el mecanismo de retroalimentación de los barorreceptores el mecanismo de la isquemia de sistema nervioso central y el mecanismo quimiorreceptor.
- 2) Mecanismo de control a mediano plazo; se activan entre 30 minutos y varias hora, durando su efecto varios días si es necesario, estos corresponden al mecanismo vasoconstrictor renina-angiotensina, relajación-estrés de la vasculatura y entrada y salida de líquido de la circulación a través de los capilares con el fin de adecuar el volumen sanguíneo a las necesidades.
- 3) Control por mecanismos de largo plazo, dado principalmente por la función de los riñones.

La hipertensión arterial se caracteriza por una elevación sostenida de la presión en las arterias sistémicas, teniendo presente que la presión arterial es influenciada por muchos factores como la edad, sexo, tipo corporal, raza, temperatura del organismo y estado emocional (Braunwald y col., 1987). Algunos factores que contribuyen al desarrollo de hipertensión, según estudios epidemiológicos son el estrés, factores hereditarios, ambientales y alimentarios (Ministerio de Salud, 1995).

Desde de un punto de vista clínico la hipertensión arterial se ha clasificado considerando si ésta se debe a un factor o a una enfermedad conocida (hipertensión secundaria) o si no se puede identificar ninguna causa clínica específica de hipertensión (hipertensión esencial o primaria). Aproximadamente un 90 % de los pacientes hipertensos padecen de hipertensión esencial; solo un 10% de los pacientes presentan hipertensión de etiología conocida o secundaria (Frohlich, 1997).

La dificultad en el estudio del proceso de la hipertensión comienza con el hecho de que la etiología es heterogénea, la fisiopatología de la hipertensión esencial es también heterogénea y varía según los niveles de renina, dependencia de sodio, etc.

Según Dipette (1999) con la finalidad de estudiar la hipertensión esencial se han desarrollado una gama de modelos experimentales de hipertensión:

- Modelo animal genéticamente hipertenso: ratas hipertensas espontáneamente (SHR), sensibles y resistentes a la sal, ratas Dahl sensibles y resistentes a la sal, ratas normotensas e hipertensas Milan, ratas hipertensas y normotensas Lyon. Estos modelos se aproximan a la patogénesis de la hipertensión esencial humana.
- Estenosis de la arteria renal: hipertensión Goldblatt 1 riñón 1 pinza y 2 riñones 1 pinza, ambos son homólogos a la hipertensión humana.
- Modelo de hipertensión adrenal: el más común es el modelo mineralocorticoide-sal o desoxicorticoesterona-sal inducido, que se parece a la situación clínica de exceso de aldosterona.
- Hipertensión del parénquima renal: modelo reducción de masa renal-sal-inducido, hipertensión perinefrótica, administración crónica de angiotensina II. Clínicamente es la más común de las causas secundarias de hipertensión.
- Modelo de hipertensión neural: stroke-prone SHR son usadas para la investigación de la fisiopatología de la enfermedad cerebro vascular. Cirugía de manipulación de áreas específicas del cerebro (región paraventricular: AV3V).
- Otros modelos de hipertensión experimental: investigaciones recientes giran en torno a las bases moleculares de la hipertensión, tecnología transgénica, metodología congénita y manipulación del óxido nítrico con N-nitro-L-arginina-metil ester (L-name).

La observación por Goldblatt de que la constricción de la arteria renal aumenta la presión arterial en animales de experimentación fue rápidamente seguida por la demostración de que lo mismo acontece en humanos. Esta hipertensión es responsable de menos del 5% de los casos de hipertensión clínica (McPhee y col., 2000).

El método Goldblatt dos riñones una pinza fue publicado por Goldblatt y col. (1934) quienes generaron hipertensión arterial en perros mediante el clampéo de una arteria renal y desde entonces, este modelo es estándar para el estudio experimental de la hipertensión arterial y sus complicaciones. Esta condición se denomina hipertensión renovascular y se define como la elevación de la presión causada por una enfermedad oclusiva de la arteria renal que es potencialmente curable por cirugía o angioplastia transluminal.

Las evidencias experimentales muestran que debe existir una disminución del 70 a 80% del área de sección del vaso para que exista una alteración significativa del flujo capaz de inducir una isquemia renal que genere la estimulación del sistema renina angiotensina (Cooke y Frohlich, 1993).

En sus estudios originales Goldblatt demostró que la ligadura de una arteria renal traía como consecuencia solamente una elevación transitoria de la presión arterial sanguínea, mientras que la ligadura de ambas arterias renales provocaba una hipertensión sostenida. Investigaciones posteriores trataron de identificar los mecanismos responsables de la hipertensión renovascular. Estos estudios han empleado diferentes especies, pero siempre basándose en los modelos ideados por Goldblatt (Guyton y Hall, 1997).

En el modelo con dos riñones una ligadura, se liga una arteria renal y el riñón contralateral permanece intacto. Este modelo se asemeja estrechamente a la mayoría de los casos de hipertensión renovascular humana. La hipertensión causada por estenosis de la arteria renal obedece al siguiente mecanismo: el riñón con la arteria estenosada retiene sal y agua debido a la menor presión de su arteria renal. También el riñón normal retiene agua y sal debido a la renina producida por el riñón isquémico. Esta renina actúa produciendo a partir del sustrato angiotensinogeno, angiotensina I la cual es activada y transformada por la enzima convertidora presente en el endotelio de los vasos pulmonares en angiotensina II, que es la encargada del aumento de la presión arterial a través de dos mecanismos: el primero es la vasoconstricción y el segundo es actuando sobre los riñones para disminuir la excreción de sal y agua. Por lo tanto, aunque por razones diferentes, ambos riñones se vuelven retenedores de sal y agua, en consecuencia, se desarrolla hipertensión (Guyton y Hall, 1997).

Para medir la presión arterial se pueden usar métodos directos e indirectos; directos como un manómetro de mercurio o con un transductor de formación calibrado y un oscilógrafo e indirectos como la palpación en que se determina la presión sistólica a través de un manguito inflable alrededor del brazo, el que se infla y se deja que la presión caiga, la presión se determina una vez que el pulso de la arteria radial se hace palpable por primera vez. Otro método indirecto de obtener presiones es a través de un equipo de ultrasonido Doppler, que se basan en el efecto Doppler que es el fenómeno por el cual la frecuencia de una onda recibida después de la reflexión por un objeto en movimiento se cambia por aquella que tenía al salir de su fuente (Ganong, 1998).

El efecto Doppler fue descrito por primera vez en el siglo XIX por el físico Austriaco Cristian Doppler y es el cambio en la frecuencia recibida desde un receptor fijo, en relación a una emisora en movimiento. La mayor parte de las aplicaciones médicas del efecto Doppler en

ultrasonidos utilizan transductores estacionarios para transmitir y recibir las ondas ultrasónicas. Las ondas viajan desde una fuente a un receptor por reflexión; si hay movimiento del reflector hacia el transductor, la frecuencia recibida aumentará por el efecto Doppler y viceversa (Taylor y col., 1999).

El uso del ultrasonido Doppler es una herramienta para la evaluación hemodinámica. La interpretación del examen Doppler permite obtener valores volumétricos y de presiones (mm Hg), dependiendo del equipo que se use (Taylor y col., 1999).

En condiciones experimentales la presión arterial se determina por métodos directos o indirectos. En el caso de las ratas, las mediciones indirectas se realizan en la cola del animal utilizando un equipo especializado, como un micrófono de ultrasonido o un transductor de presión, unido a un manguito y a un sistema de registro (Baker y col., 1979; Gómez, 1988). En las mediciones por métodos directos, el animal es anestesiado y su presión se registra por la canulación de una arteria periférica, como la carótida o la femoral (Baker y col., 1979; Burgos, 1990; Soto, 1998).

Alcaloides tipo tropano:

Las plantas que contienen alcaloides de tipo tropano presentan compuestos del tipo atropina y derivados y por tanto de efecto bloqueador colinérgico; de ahí que las investigaciones farmacológicas estén dirigidas al tratamiento de intoxicaciones por organofosforados, en la farmacoterapia de afecciones oculares por su efecto midriático, como inhibidores de la secreción de HCl, estados broncoconstrictivos de predominio vagal, reductoras de la espasticidad del músculo liso intestinal, en la disminución riesgosa de la frecuencia cardíaca, mareos, vómitos y últimamente para minimizar los síntomas de la enfermedad de Parkinson. Una característica de estas moléculas es que la selectividad de sus efectos es variable, presentando a menudo reacciones adversas (Muñoz, 1992).

Acetilcolina (ACh), es un neurotransmisor endógeno de las sinapsis y las uniones neuroefectoras colinérgicas, en el sistema nervioso central y periférico. Las acciones de acetilcolina son mediadas por receptores colinérgicos nicotínicos y muscarínicos. En el sistema cardiovascular ACh tiene cuatro principales efectos: vasodilatación, disminución de la frecuencia cardíaca, reducción de la velocidad de conducción en los tejidos especializados de los nodos sinoauricular (SA) y auriculoventricular (AV), y ligera disminución de la fuerza de contracción cardíaca (Flórez, 1997). Los antagonistas de los receptores muscarínicos impiden los efectos de ACh al bloquear competitivamente su fijación a los receptores colinérgicos muscarínicos a nivel de los sitios neuroefectores en músculo liso, músculo cardíaco y células glandulares, lo mismo que en ganglios periféricos y sistema nervioso central (Hardman y col., 2001).

Los receptores muscarínicos pertenecen a la familia de las proteínas receptoras cuya función es mediada por la interacción con la proteína G. Se han identificado mediante clonación molecular 5 subtipos de receptores muscarínicos (M₁-M₅). Estas variantes tienen localización anatómica y especificidad química definida. Hay receptores M₁ en los ganglios

de diversas células secretoras, los M_2 predominan en el miocardio y parecen encontrarse también en el músculo liso; los M_3 y M_4 se encuentran en las glándulas secretoras y endotelio vascular. Los cinco subtipos se hallan en el sistema nervioso central. Diversos tejidos pueden contener varios subtipos de receptores muscarínicos y la complejidad de la neurotransmisión muscarínica se incrementa por la presencia de ganglios parasimpáticos dentro de los tejidos (Hardman y col., 2001).

En general los receptores muscarínicos M_3 median la relajación endotelio dependiente, mientras que la contracción puede ser mediada por diversos subtipos. Tanto la relajación como la contracción vascular puede ser mediada también por mecanismos endotelio independientes dependiendo de la ubicación anatómica del vaso. Se ha observado que los receptores muscarínicos M_3 median la relajación de la arteria coronaria equina, la vasculatura renal de los roedores, la aorta de los conejos, las mesentéricas de las ratas, la arteria uterina de los porcinos, las arterias cerebrales felinas, las arterias coronarias de los simios y algunas arterias bronquiales aisladas. Los receptores muscarínicos M_3 también median la relajación de arterias pulmonares aisladas en humano y la vasodilatación en el antebrazo de pacientes voluntarios sanos o con hipertensión esencial. En los vasos aislados de pulmón de rata, receptores muscarínicos M_1 y M_2 median respectivamente la vasodilatación directa e indirecta (Eglen y col., 1996).

Los receptores muscarínicos colinérgicos del tipo M_3 se encuentran, además de las células del endotelio, en las células del músculo liso de la mayoría de las arterias y arteriolas. La activación de estos receptores en las células del músculo liso provoca su contracción y además vasoconstricción. Sin embargo este efecto vasoconstrictor es normalmente anulado por el efecto vasodilatador de activar los receptores M_3 en las células del endotelio vascular siendo este último efecto más fuerte que la estimulación de los receptores M_3 en el músculo liso (Cunningham, 1999).

En cuanto al sistema cardiovascular, las aurículas están abundantemente inervadas por fibras nerviosas parasimpáticas (vagales) y en consecuencia, el nodo sinoauricular es sensible al bloqueo de los receptores muscarínicos. El efecto producido en el corazón inervado latiendo espontáneamente con dosis terapéuticas, moderadas o elevadas de atropina es un bloqueo vagal y de una taquicardia relativa. Sin embargo, dosis inferiores provocan estimulación parasimpática y pueden dar como resultado bradicardia inicial antes de que se manifiesten los efectos del bloqueo vagal periférico. No obstante, este efecto se atribuye a la estimulación central del núcleo vagal; otras evidencias sugieren que quizá se debe al bloqueo de receptores muscarínicos presinápticos sobre las fibras vagales posganglionares, que normalmente limitan la liberación de acetilcolina en el nodo sinusal. Los vasos sanguíneos reciben poca o ninguna innervación directa del sistema nervioso parasimpático. Sin embargo, los nervios colinérgicos simpáticos ocasionan vasodilatación en el lecho vascular del músculo esquelético; esta vasodilatación puede bloquearse con atropina. Además, casi todos los vasos contienen receptores muscarínicos inervados que median la vasodilatación. Estos receptores, ubicados en las células del endotelio, provocan la liberación del factor relajante derivado del endotelio (EDRF) en respuesta a los agonistas muscarínicos de acción directa que se encuentran en la circulación y son bloqueados fácilmente por antimuscarínicos. En dosis tóxicas y en algunos individuos en dosis normales, los antimuscarínicos provocan

vasodilatación cutánea, en particular en la parte superior del cuerpo. Su mecanismo es desconocido (Katzung, 1999).

Cuando la frecuencia cardíaca se eleva se reduce el tiempo de llenado diastólico, por tanto disminuye el volumen latido, de manera que el gasto cardíaco no aumenta en proporción con la frecuencia cardíaca. Este problema se encontró cuando las primeras versiones de los marcapasos producían frecuencias ventriculares elevadas, limitando el llenado diastólico y por ello el gasto cardíaco cae por debajo de lo normal y la presión sanguínea pudo reducirse a niveles tan bajos que el paciente se siente débil o se desmaya (Cunningham, 1999).

La eficacia de los fármacos antimuscarínicos varía según el tejido que se estudie y la fuente del agonista. Los tejidos más sensibles a la atropina son las glándulas salivales, bronquiales y sudoríparas. La secreción de ácido por las células parietales gástricas es menos sensible. El corazón y los efectores autonómicos del músculo liso tienen respuesta intermedia (Katzung, 1999).

Se han demostrado numerosos efectos biológicos para los alcaloides con esqueleto tipo tropano (Lounasmaa y Tamminen, 1993), sin embargo, ello no ha sido posible demostrar para las plantas chilenas, ni tampoco para las novedosas estructuras que ellas biosintetizan (Muñoz, 1992).

En Chile existen algunas plantas que tienen alcaloides tipo atropina, como el “Chamico” (*Datura stramonium* y *Datura feroa*), cuya ingestión produce intoxicación atropínica (Araya y Cubillos, 1992).

Las plantas de la Familia *Solanaceae* producen una variedad de alcaloides, algunos de innegable importancia terapéutica. Precisamente en esta familia de plantas fue donde primero se encontraron los alcaloides tropano y es la que ha recibido mayor atención, particularmente los géneros *Datura*, *Atropa*, *Scopolia*, de donde se extraen comercialmente los principales alcaloides de tropano de interés medicinal, atropina y escopolamina, inhibidores de los efectos muscarínicos de la acetilcolina, que bloquean sobre todo los órganos que reciben inervación parasimpática. Los efectos se manifiestan a nivel cardíaco, vascular, visceral (tracto digestivo y urinario), en las secreciones (digestivas, pancreáticas, sudorales y salivales), a nivel bronquial y ocular (Brachet y col., 1997).

La mayoría de las drogas con propiedades anticolinérgicas (antimuscarínicas) provienen de la familia *Solanaceae* y comparten una estructura básica común, el anillo tropanico. El género *Schizanthus* presenta una variada gama de bases de tropano, lo que permite suponer que alguna de estas estructuras tendrían actividad anticolinérgica o bien precursores que den origen a estructuras con actividad biológica relacionada. Algunos alcaloides naturales y semisintéticos aislados de solanáceas son de actual uso clínico: atropina, pseudoatropina, escopolamina, hioscina, hiosciamina, metil bromuro de anisotropina (Valpin®) y otros (Gringauz, 1997).

Las plantas del género *Schizanthus*, pertenecientes a la familia *Solanaceae*, concentran una variada gama de bases de tipo esqueleto tropano (Muñoz, 1992). Este género incluye a doce especies originarias de Chile, con la excepción de *Schizanthus grahamii* cuya área de dispersión alcanza también a Argentina. Es conocido más bien por sus características ornamentales que por sus propiedades químicas o su potencial aplicabilidad medicinal. Durante mucho tiempo la botánica clásica lo clasificó como un género monotípico de Chile, representante de la Familia *Scrophulariaceae* (Hunziker, 1979). Esta aseveración se mantuvo largo tiempo como un hecho establecido en los textos botánicos, ya que *Schizanthus* posee flores zigomorfas, característica no común de la familia *Solanaceae*, avalado por otra serie de características morfológicas, serológicas, inflorescencias, etc. (Grau, 1992). Sin embargo las evidencias de tipo químico (San Martín y col., 1980, Gambaro y col., 1983) descartaron tal posibilidad al demostrar que el género *Schizanthus* concentra una gran variedad de alcaloides del tipo tropano, situación absolutamente ausente en la Familia *Scrophulariaceae*.

No se conocen antecedentes etnobotánicos en relación a las posibles propiedades medicinales de algunas de las especies de *Schizanthus*. Algunas de las especies del género *Schizanthus* suelen ser conocidas por una serie de sinonimias comunes: “orquídea del hombre pobre”, “flor de pajarito”, “pajarito”, etc.



FIG.1: Flor de *Schizanthus grahamii*¹



FIG.2: *Schizanthus grahamii*²

Informes no confirmados señalan que algunas especies de este género son empleadas en la cordillera andina de Chile central por arrieros y montañistas, quienes le atribuyen propiedades estimulantes, sin embargo, ello no ha sido demostrado (Fig. 1 y 2).

¹ Figura 1: disponible en : http://www.thompson-morgan.com/seeds/us/product_7429_1.html

² Figura 2: disponible en : http://www.thompson-morgan.com/seeds/us/product_7429_1.html

Desde el punto de vista estructural, los alcaloides del tropano están divididos en dos grupos:

1. Aislados de la familia *Eritroxilacea*. Principalmente del género *Erythroxylon*, únicas especies que concentran cocaína. Un grupo importante de estas bases difieren de los alcaloides del tropano por la presencia de un carbono más, que se inserta en el C2 del anillo tropanico como carboxilo libre o carboxilato y cuya función alcohólica en C3 se orienta al anillo tropano; casi todos son ésteres de ecgonina con configuración 3β (Brachet y col., 1997).
2. Aislados de la familia *Solanaceae*. Se incluyen en esta categoría a las especies del género *Atropa*, *Datura*, *Duboisia*, *Mandrágora*, *Escopolia* y otros. Los compuestos se caracterizan por la presencia de la molécula del sistema básico azabicyclo [3.2.1]-octano o notropano. Su N-metil derivado de llama tropano y los miembros oxigenados más simples son el tropanol y su derivado oxidado tropanona. En atropina y escopolamina el ácido esterificante es el ácido trópico, compuesto solo encontrado en esta familia de plantas. La presencia de alcaloides de tropano también se ha descrito en otras familias de plantas: *Proteaceae*, *Cruciferae*, *Convulvolaceae*, *Euphorbiaceae* y *Rhizophoraceae*, aunque en estas familias la naturaleza estructural de muchos de estos alcaloides de tropano es significativamente diferente de las dos familias primeramente mencionadas (Griffin y Lin, 1999).

Los estudios químicos del género *Schizanthus* en Chile comenzaron con las investigaciones de Castillo y colaboradores a partir de los años 80 (Gambaro y col., 1983). Se pudo inferir que el género acumula un amplio espectro de alcaloides derivados del tropano con estructuras únicas (De la Fuente y col., 1988), con formación de mono y diésteres derivados principalmente de los ácidos angélico, tíglico, senecioico, itacónico y/o mesacónico; así como la síntesis de derivados de higrina e higrolina (Gambaro y col., 1983).

Algunos alcaloides aislados del género *Schizanthus* podrían tener cierta afinidad inhibitoria con los receptores colinérgicos muscarínicos por su similitud con la estructura 8-azabicyclo[3.2.1]-octano, esqueleto químico básico de la atropina. Las estructuras que tienen un amonio cuaternario, como el sulfato de ésta, incrementan su captación por receptores colinérgicos nicotínicos y pueden bloquearlos a concentraciones similares a las que producen bloqueo muscarínico (Hartmann y col. 1996; Katzung, 1999). Esto incentiva a investigar la química y farmacología de los alcaloides presentes en *Schizanthus* como una eventual fuente de novedosas estructuras con potencial acción selectiva.

Las actuales investigaciones del género *Schizanthus*, en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile, pretenden determinar y analizar sus aspectos químico-hemisintético, farmacológicos (entre ellos su acción sobre el sistema digestivo, cardiovascular y nervioso) y toxicológico. Para este fin se han seleccionado tres representantes del género: *S. grahamii*, *S. hookerii* y *S. tricolor*, la elección se fundamenta en su relativa abundancia natural

y una mayor variedad de bases de alcaloides, particularmente de las dos primeras, en relación a otras especies del género.

Trabajos en *Schizanthus grahamii* han permitido el aislamiento de una serie de bases diméricas de tropano: Schizanthina C 35, D 37 y E 38, además del monoéster 3 α -senecioiloxitropano 36 (San Martín y col., 1987). Otros alcaloides con esqueleto tipo tropano presentes en esta especie son: Higrina; Higrina A; Higrina B; Tropinona; Tropina; Pseudotropina; 3 α -acetoxitropano; 3 α , 7 β -dihidroxitropano; 5-(2-oxopropil)-higrina; 5-(2-hidroxi)-higrina; Cuscohigrina; 3 α senecioiloxi-7 β -hidroxitropano y Schizanthina F, G, H e I (Muñoz, 1992).

La determinación de efectos cardiovasculares es de especial importancia, en el caso de los alcaloides provenientes de *Schizanthus*, ya que poseerían un efecto bloqueador colinérgico y por lo tanto, al disminuir la acción vagal cardíaca, podrían condicionar un predominio simpático con efecto cronótropo e inótropo positivo, lo que aumenta el débito cardíaco y conlleva a un incremento de la presión arterial. Estos estudios se realizan mediante polígrafos tradicionales o computarizados en ratas normotensas anestesiadas, lo que permite obtener en forma aguda e invasiva registros de presión arterial y electrocardiogramas (Ahumada y col., 1991). También es necesario determinar el efecto de los alcaloides administrados en forma periódica, lo que obliga a realizar estudios con metodologías de registro no invasivo de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca en animales conscientes (Pedraza-Chaverri y col., 1998).

En relación a los antecedentes previos se plantea como hipótesis de trabajo que los alcaloides tipo tropano presentes en el extracto de *Schizanthus grahamii* producen un alza de la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

Fue objetivo de este trabajo demostrar que los alcaloides con esqueleto tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii* producen alza de la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL:

4.1.1 Material Biológico:

Se utilizaron 31 ratas blancas, machos cepa Sprague Dawley (Anexo N°1), procedentes del bioterio de animales de experimentación del instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile, con un peso de $118 \pm 2,46$ g para la etapa de inducción de hipertensión arterial y $434,5 \pm 9,44$ g en la etapa de valoración del efecto antihipertensivo; el peso de las ratas de la serie normotensas fue de $312,7 \pm 6,51$ g.

4.1.2 Material Farmacológico:

- Alcaloides 3α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano, tropanol y 3α , 7 β -dihidroxitropano, purificados y extraídos de la fracción polar de *Schizanthus grahamii*.³
- Etanol 7 %.*
- 5-etil-5 (metilbutil) barbitúrico sódico (Pentobarbital o Nembutal) al 0,4% y 0,8%.*
- Sulfato de atropina al 1°/°°*.

4.1.3 Materiales para la inducción de hipertensión:

- Material quirúrgico.
- Clamp de plata (con diámetro interno de 0,2 mm).
- Material de sutura.

4.1.4 Materiales para medición de presión arterial (Anexo N° 2)

- Equipo de ultrasonido Doppler⁴
- Esfigmomanómetro.
- Gel de ultrasonido.
- Lámpara.
- Cubículo de inmovilización.
- Superficie temperada.

4.1.5 Materiales para evaluación de reflejo pupilar:

- Linterna oftálmica

³ Proporcionados por el Dr. Orlando Muñoz, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

* Laboratorio Sigma.

⁴ Parks Medical Electronic B-811.

4.2 MÉTODOS:

4.2.1 Condiciones experimentales

Las ratas se mantuvieron en el bioterio del instituto de Farmacología en jaulas colectivas con agua y comida, en un ambiente controlado con temperaturas entre 18 a 22 °C y con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas.

Previo a la manipulación experimental de ratas hipertensas renovasculares, obtenidas a través de la técnica Goldblatt 2 riñones 1 pinza, fueron seleccionadas 10 ratas al azar.

El pesaje de las ratas se realizó, cada vez que se administró el extracto, en una balanza digital (Soehnle) con un rango de discriminación de $\pm 0,1$ g. El peso se expresó en gramos.

La medición de la presión arterial sistólica (PAS), se realizó mediante un procedimiento no invasivo, en la cola de la rata, utilizando un esfigmomanómetro, un manguito inflable y un equipo de ultrasonido Doppler; este monitorea el flujo sanguíneo acústicamente haciendo el papel de un estetoscopio, a través de un transductor que lleva un pequeño cristal piezoeléctrico (Cárcamo (2000), Pantanalli (2001), Yutronic (2001) y Barría (2003)).

Antes de la medición de la PAS, la rata se puso sobre una superficie temperada y con la cola bajo una fuente de calor y comprimida por unos 5 minutos para así lograr una adecuada vasodilatación por temperatura e hipoxia.

Una vez finalizado el experimento se procedió a la eutanasia de las ratas con una sobredosis de anestesia (Pentobarbital 80 mg/ kg de peso ip).

4.2.2 Períodos experimentales:

4.2.2.1 Período de inducción de hipertensión arterial mediante el método de Goldblatt 2 riñones 1 pinza (PI) y período de verificación de establecimiento de hipertensión arterial (PV).

La técnica Goldblatt 2 riñones 1 pinza, lleva el nombre de quien fue el primero en estudiar los aspectos cuantitativos de la hipertensión causada por estenosis de la arteria renal (Guyton y Hall, 1997). Esta técnica induce una elevación sostenida de la presión arterial sistólica en ratas y ha sido utilizada en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile por Gómez (1988), Sánchez (1988), Améstica (2000), Gallardo (2001) y Barría (2003).

Previo a la intervención quirúrgica para implementar el modelo Goldblatt 2 riñones 1 pinza se seleccionaron 15 ratas de 100-120 g, las cuales fueron sometidas a un ayuno de 24 horas. Transcurrido este período, las ratas se pesaron y se anestesiaron con pentobarbital, en concentración de 4,0 mg/ml y en dosis de 40 mg/kg, vía ip.

El modelo Goldblatt 2 riñones 1 pinza se aplicó realizando una incisión dorsal para medial, entre las vértebras T 10 y L 3, para abordar el riñón izquierdo. Se denudó la arteria renal y se puso un clamp de plata, lo más cercano posible al nacimiento aórtico de la arteria. El riñón contralateral (derecho) no se manipuló (Anexo N° 3).

Posterior a la intervención de las ratas se dejaron en el bioterio con acceso libre al alimento y agua, evitando en lo posible perturbaciones, para permitir el establecimiento de la hipertensión.

Durante el período de verificación de establecimiento de hipertensión se realizaron semanalmente mediciones de presión arterial sistólica. Entre 7 a 8 semanas posterior a la cirugía se determinó si las ratas desarrollaron o no hipertensión arterial, considerándose hipertensas las ratas que presentaron presiones iguales o superiores a 150 mmHg, después de tres mediciones sucesivas.

Antes de comenzar la administración del extracto tanto a ratas normotensas como hipertensas, se tomó la presión y este valor se registró como presión arterial pre-tratamiento (PT) o día control.

4.2.2.2 Período de valoración del efecto sobre presión arterial sistólica (PAS) del extracto de *Schizanthus grahamii* (PVE) en ratas normotensas e hipertensas renovasculares (1 a 6 días).

Se constituyeron 2 series de 10 animales cada una; las ratas fueron asignadas a azar en cada una de las serie en estudio:

Serie 1: Ratas normotensas tratadas con extracto de *Schizanthus grahamii*.

Serie 2: Ratas hipertensas renovasculares tratadas con extracto de *Schizanthus grahamii*.

En este período se les administró diariamente el extracto de *Schizanthus grahamii*, a las ratas normotensas (serie 1) e hipertensas renovasculares (serie 2) en dosis de 10 mg/kg y en volumen de 0,5 ml/100 g de peso, vía ip.

No se incluye una serie control etanol, ya que en estudios realizados por Olhaberry (1992) y Figueroa (1993), utilizando distintas concentraciones de alcohol etílico (mayores a 7%) no obtuvieron diferencias significativas sobre la presión arterial.

La PAS se midió día por medio (días 2, 4 y 6), utilizando el método anteriormente descrito. La medición de la presión arterial se realizó 15 minutos previo y 15 minutos posterior a la administración del extracto.

4.2.2.3 Período post-tratamiento.

En este período se evaluó diariamente, durante 3 días, la duración del efecto del extracto de *Schizanthus grahamii* sobre la PAS en ratas normotensas e hipertensas renovasculares luego de la suspensión del tratamiento.

4.2.3 Evaluación del efecto de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii* y atropina sobre el reflejo pupilar.

Se observó la función pupilar en respuesta a un estímulo luminoso, la respuesta se evaluó como: PRESENTE o AUSENTE.

Se realizó un pre experimental utilizando 6 ratas normotensas a las que se procedió a tomar la PAS y seguidamente, se le administró sulfato de Atropina al 1‰ en dosis de 1 mg/kg por vía ip. Posterior a la aplicación bajo condiciones ambientales de oscuridad, se evaluó cada 5 minutos la respuesta pupilar ante un estímulo luminoso, a través de una linterna oftálmica, hasta la pérdida del reflejo pupilar, momento en el cual se registró nuevamente la PAS.

Se obtuvo un tiempo promedio de pérdida de reflejo pupilar de 15 minutos, este tiempo se utilizó como referencia para la toma de la PAS luego de aplicado el extracto de *Schizanthus grahamii*, en el período de valoración del efecto del extracto, período en el cual también se evaluó la respuesta pupilar tras la aplicación del extracto en ambas series.

4.3 Procedimiento estadístico:

Los resultados obtenidos en este trabajo experimental se expresaron como medias aritméticas y su error típico, efectuándose además pruebas inferenciales intraserie, paramétricas y no paramétricas. Se trabajó con un nivel de significación de 0,05; considerándose como significativo un $p \leq 0,05$.

La metodología estadística aplicada en el análisis de los datos fue la siguiente:

- a) Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, la que se usó con el fin de comprobar la normalidad de los datos (Zar, 1999).
- b) Prueba de homocedasticidad de Barlett, usada para comprobar que las varianzas entre las series sean homogéneas (Zar, 1999).
- c) Análisis de varianza paramétrico (Andeva) de una vía, cuyo objetivo es comparar los promedios de tres o más grupos de datos (Spiegel, 1991).
- d) Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, usada en los casos en que el Andeva paramétrico resultó significativo (Zar, 1999).

- e) Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis, el que se usó en los casos en que no se cumplen los requisitos de normalidad y homocedasticidad (Rosner, 2000).
- f) Pruebas de comparaciones múltiples no paramétricas de Dunn, la que se aplicó en los casos en que la prueba de Kruskal-Wallis, resultó significativa (Rosner 2000).
- g) Prueba t de Student de datos no pareados, la que se usó para evaluar si dos grupos difieren o no en forma significativa (Spiegel, 1991).
- h) Corrección de Welch, aplicada en aquellos casos en que la prueba de t de Student de datos no pareados no cumplía con los requisitos de homocedasticidad de las varianzas.

El análisis de los resultados se realizó usando el programa computacional estadístico Graph Pad Prism (versión 3.0).

5. RESULTADOS

A continuación se detalla el análisis estadístico de los valores de presión arterial sistólica (PAS), obtenidos a través de mediciones realizadas con ultrasonido Doppler y esfigmomanómetro, tras la administración ip de extracto de *Schizanthus grahamii*, a ratas normotensas (serie 1) y ratas hipertensas renovasculares (serie 2).

Se presenta el resultado de la medición de presión arterial sistólica promedio precirugía (PC), de $116,1 \pm 1,97$ mmHg, (valor que no se incluye en el análisis estadístico), con el fin de evidenciar el aumento de la PAS desde la implementación quirúrgica de la técnica de Goldblatt 2 riñones una pinza.

5.1. Presión arterial sistólica (PAS).

5.1.1. Promedio de presión arterial sistólica (PAS) durante el período de inducción de hipertensión renovascular (PI) y de verificación de establecimiento de hipertensión (PV). Análisis intraserie:

En la tercera semana las ratas se hicieron hipertensas obteniéndose valores de PAS de $154,8 \pm 1,92$ mm Hg. (Gráfico N°1, Anexo N° 4).

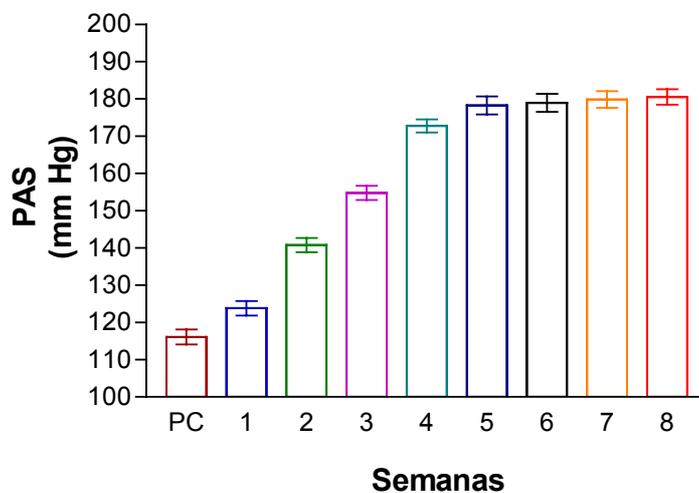


Gráfico N°1: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg en ratas, precirugía (PC) y durante el período de inducción de hipertensión (PI).

5.1.2. Promedio de presión arterial sistólica (PAS) en el período de valoración del efecto de *Schizanthus grahamii* sobre la PAS (PVE).

5.1.2.1 PASP, 15 minutos previo a la administración del extracto. Análisis intraseries:

Ratas normotensas:

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre el PT y los días 4 y 6 del PVE, así como también entre el día 2 comparado con los días 4 y 6 del PVE (Gráfico N°2, Anexo N° 5).

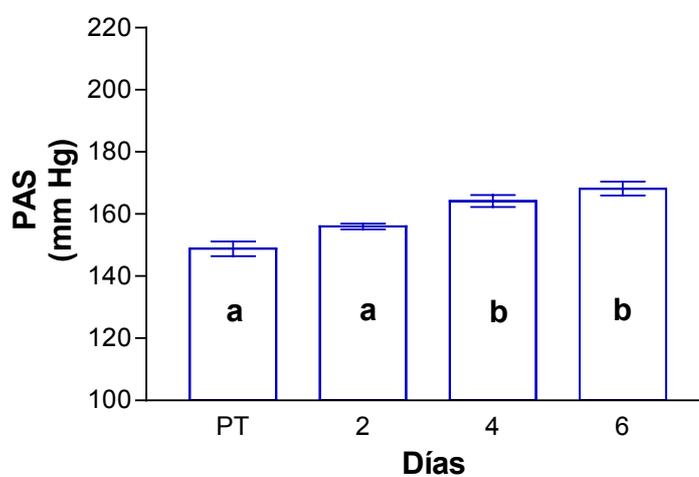


Gráfico N°2: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg, en ratas normotensas en el PT y 15 minutos previo a la administración del extracto en los días de evaluación del PVE. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0,05$).

Ratas hipertensas:

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre el PT y los días 2, 4 y 6 del PVE, previa administración del extracto (Gráfico N°3, Anexo N° 6).

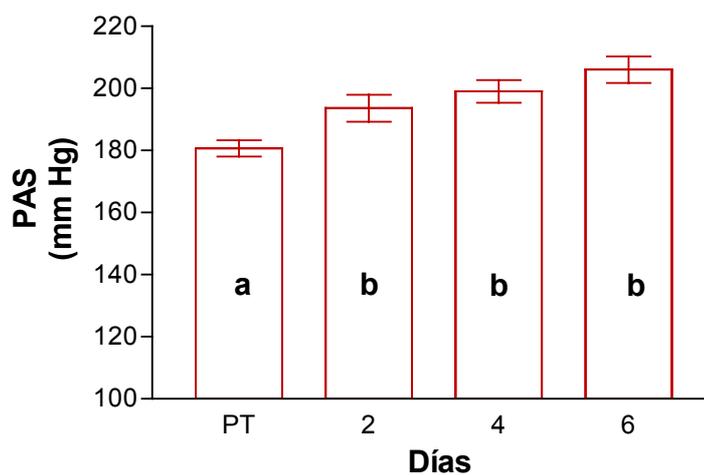


Gráfico N°3: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg, en ratas hipertensas renovasculares en el PT y los días 2, 4 y 6 del PVE, 15 minutos previo a la administración del extracto. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0,05$).

5.1.2.2. PASP, 15 minutos posterior a la administración de extracto. Análisis intraserie: Ratas normotensas

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$), entre el PT y los días 2, 4 y 6 del PVE, así como también entre con los días 2 y 4 con el día 6 (Gráfico N°4, Anexo N° 7).

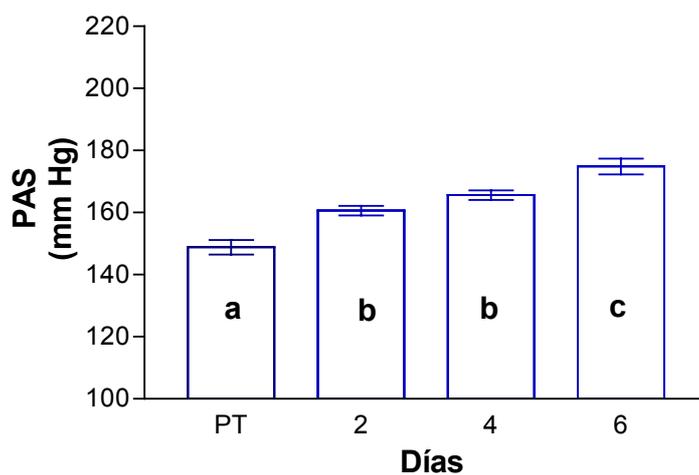


Gráfico N°4: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg, en ratas normotensas en el PT y los días 2, 4 y 6 del PVE, 15 minutos posterior a la administración del extracto. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0,05$).

Ratas hipertensas:

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$), entre el PT y los días 2, 4 y 6 del PVE, posterior a la administración del extracto (Gráfico N°5, Anexo N° 8).

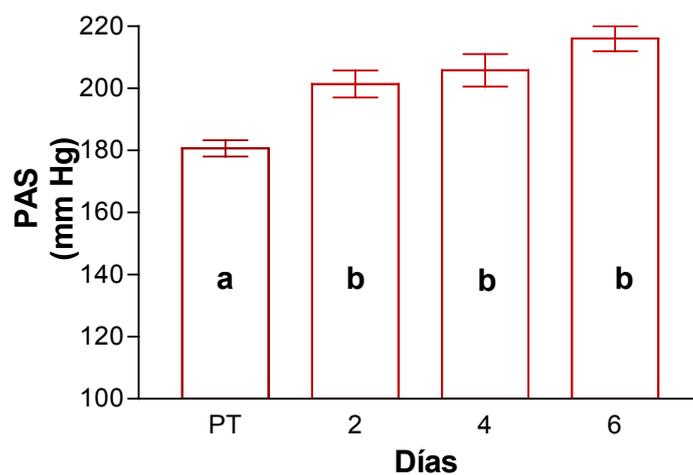


Gráfico N°5: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg, en ratas hipertensas renovasculares, en el PT y los días 2, 4 y 6 del PVE, 15 minutos posterior a la administración del extracto. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0,05$).

5.1.3 Promedio de presión arterial sistólica (PAS) en el día 6 del período de valoración del efecto del extracto sobre la PAS (PVE) 15 minutos previo y posterior a la administración del extracto y durante el período pos-tratamiento (días 7, 8 y 9). Análisis intraserie:

Ratas normotensas:

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre el día 6 del PVE y los días 7 y 8 del período post-tratamiento (PPT), así como también entre los días 7 y 8 con el día 9 del PPT, 15 minutos previo a la administración del extracto (Gráfico N°6, Anexo N° 9).

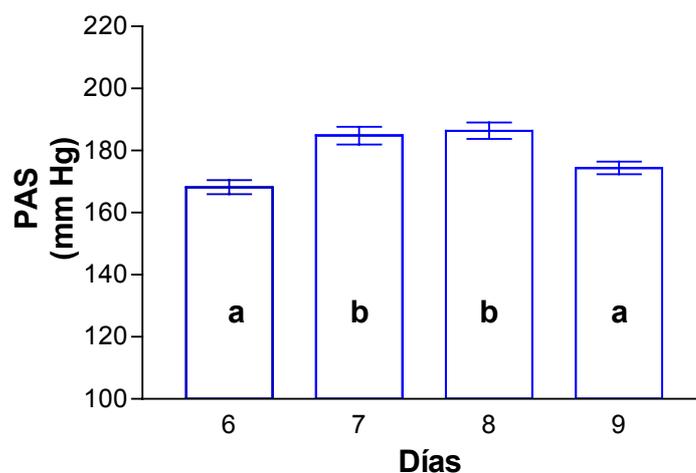


Gráfico N°6: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg, en el día 6 del PVE y los días 7, 8 y 9 del PPT, en ratas normotensas, 15 minutos previo a la administración de extracto. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0,05$).

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre el día 6 del PVE y los días 7 y 8 del período post-tratamiento (PPT), así como también entre los días 7 y 8 con el día 9 del PPT, 15 minutos posterior a la administración del extracto. (Gráfico N°7, Anexo N°11).

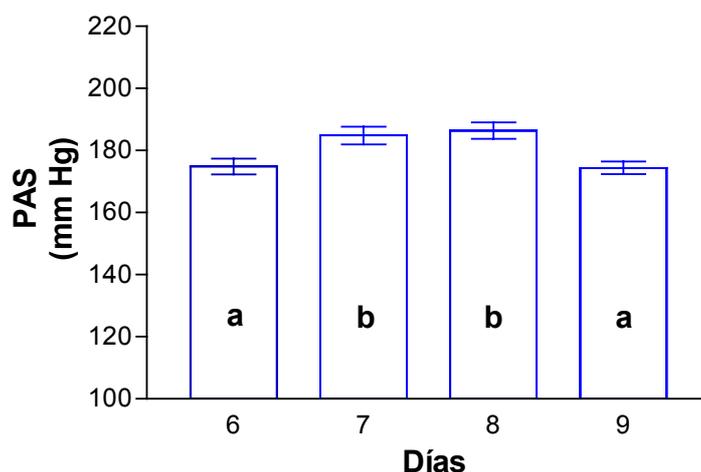


Gráfico N° 7: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E.), expresada en mm Hg, en ratas normotensas en el PPT (días 7, 8 y 9) y en el día 6 del PVE, 15 minutos posterior a la administración del extracto. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0,05$).

Ratas hipertensas:

No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre mediciones de presión arterial sistólica promedio (PASP) en los días 6 del PVE y los días 7, 8 y 9 del PPT, 15 minutos previo y posterior a la administración del extracto (Gráficos N°9 y N°10, Anexos N° 10 y N°12).

5.1.4. Promedio de presión arterial sistólica (PAS) durante el periodo de valoración del efecto del extracto sobre la PAS (PVE) y durante el periodo post tratamiento (PPT) 15 minutos previo y posterior a la administración del extracto.

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$), en el día 2 del PVE, en las mediciones realizadas previo y posterior a la administración del extracto (Gráfico N°8, Anexo N°16).

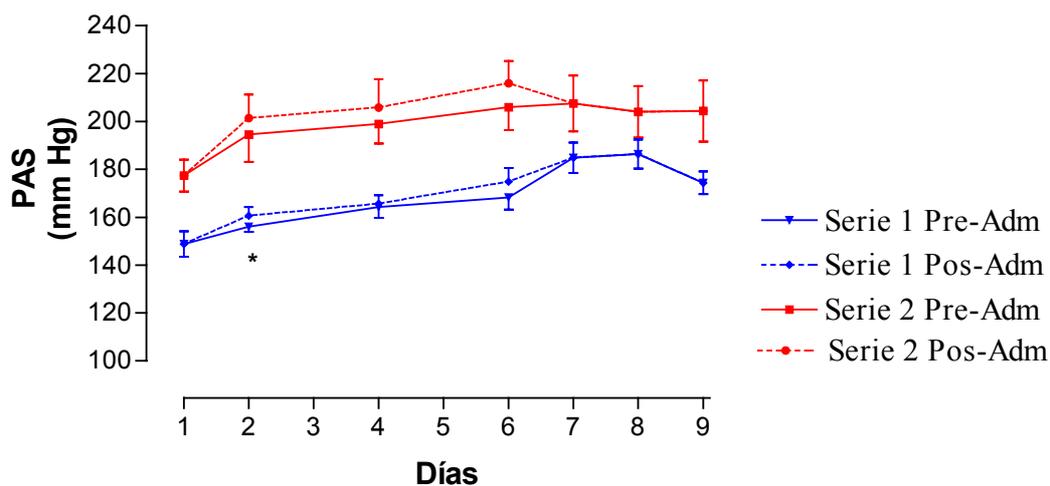


Gráfico N°8: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg en la serie 1 (normotensa) y en la serie 2 (hipertensa), durante el periodo de valoración del efecto del extracto (días 1 al 6) y durante el periodo post tratamiento (días 7, 8 y 9), 15 minutos previo y posterior a la aplicación del extracto. Asterisco indica diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$)

5.2 Evaluación del efecto de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii* sobre el reflejo pupilar.

La respuesta pupilar al estímulo luminoso se evaluó como PRESENTE en ambas series durante las observaciones realizadas cada 5 minutos, posterior a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii*.

Tabla N° 1: Respuesta de reflejo pupilar, ante un estímulo luminoso, tras la aplicación ip de atropina y extracto de *Schizanthus grahamii*

N°	ATROPINA	<i>SCHIZANTHUS grahamii</i>	
		Normotensas	Hipertensas
1	Ausente	Presente	Presente
2	Ausente	Presente	Presente
3	Ausente	Presente	Presente
4	Ausente	Presente	Presente
5	Ausente	Presente	Presente
6	Ausente	Presente	Presente
7	-----	Presente	Presente
8	-----	Presente	Presente
9	-----	Presente	Presente
10	-----	Presente	Presente

6. DISCUSIÓN

6.1. Presión arterial sistólica:

La presión arterial es una constante fisiológica que es influenciada por múltiples factores; como una manera de evitar el efecto del sexo sobre esta constante, se usaron ratas macho en este trabajo ya que estos presentan una presión arterial mas estable que las hembras.

Según diversos autores, los valores normales de presión arterial sistólica (PAS) en ratas, son muy variables. Al respecto, Frank (1976) señala valores de PAS de $134 \pm 4,0$ mm Hg. Baker y col (1979) menciona valores de 116 mmHg.

En estudios realizados en ratas normotensas anestesiadas, en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral, utilizando medición invasiva de la PAS, se obtuvieron valores de $121,7 \pm 2,9$ mmHg (Olhaberry, 1992), $157,2 \pm 7,2$ mm Hg (Figuroa, 1993), $149,9 \pm 1,8$ mm Hg (Pino, 1996), $148,0 \pm 2,1$ mm Hg (Álvarez, 1996), $142,4 \pm 1,59$ mm Hg (Mieres, 1998), $140,0 \pm 6,18$ mm Hg (Palma, 2000).

En el presente trabajo, el valor de PAS obtenido para la serie control a través del método de ultrasonido Doppler en ratas normotensas concientes fue de $148,8 \pm 2,37$ mm Hg, valor un poco mayor al obtenidos en otros trabajos realizados en el Instituto de Farmacología en que se utilizó el mismo método de medición de la presión arterial obteniéndose valores de PAS de $127,2 \pm 0,53$ mm Hg (Cárcamo, 2000), $135,0 \pm 1,62$ mmHg (Pantanalli, 2001) y de $134,6 \pm 4,28$ mm Hg (Yutronic, 2001). La diferencia podría explicarse debido a que las ratas controles de este trabajo tenían un peso de $312,7 \pm 6,51$ g el cual es significativamente mayor que el peso de los controles de los trabajos antes citados; y se ha demostrado que el peso y la edad tienden a aumentar la presión en las ratas (Barría 2003).

Las Ratas previo a la aplicación del método Goldblatt 2 riñones una pinza tenían un peso de $118 \pm 2,46$ g y presentaron una PAS de $116,4 \pm 1,75$ mm Hg. PAS que se encuentra dentro de los valores citados por autores en que se ha utilizado ratas de similar peso para aplicar el método Goldblatt; al respecto se citan valores de PAS de $124,0 \pm 1,03$ mm Hg (Gallardo, 2001) y de $118,4 \pm 0,77$ mm Hg (Barría, 2003).

6.1.1 Período de inducción de hipertensión arterial mediante el modelo de Goldblatt, dos riñones una pinza (PI) y período de verificación de establecimiento de la hipertensión arterial (PV).

El modelo Goldblatt, dos riñones una pinza generó ratas hipertensas renovasculares desde la 3^a semana posterior a la cirugía (PAS de $154,8 \pm 1,92$ mm Hg) alcanzando a la 8^a semana valores de PAS de $180,7 \pm 2,12$ mm Hg. Estos valores son similares a los obtenidos por Barría (2003) que utilizando el mismo método de inducción y de medición de la PAS obtuvo valores de $158,5 \pm 5,56$ mm Hg en la 4^a y de $181,3 \pm 6,72$ a la 8^a semana.

Otros autores que han utilizado este modelo de inducción de hipertensión arterial en ratas, como Leenen y De Jong (1971) describen valores de PAS de 190 a 200 mm Hg, en la 2^a a 3^a semana, manteniéndose por nueve meses. Vio y col (1980) obtuvieron valores de PAS de $178,3 \pm 4,9$ mm Hg a $195 \pm 6,2$ mm Hg, entre la 5^a a 15^a semana posterior a la cirugía. Goecke y col. (1998) obtuvieron valores de presión arterial media de $175 \pm 6,3$ mm Hg luego de tres a cuatro semanas post-cirugía, utilizando un clamp de 0,22 mm.

En trabajos realizados en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral, Gómez (1988) en la 7^a semana después de implantado el clamp de 0,2 mm de diámetro, obtuvo valores de PAS entre $178,5 \pm 4,41$ mm Hg utilizando métodos no invasivos (transductor microfónico de pulso conectado a un polígrafo) y $186 \pm 6,94$ mm Hg con métodos invasivos (cánula en arteria carótida conectada a un polígrafo). Sánchez (1988) menciona valores de PAS entre $203,8 \pm 2,17$ y $209,0 \pm 3,31$ mm Hg en la 9^a semana post-cirugía, utilizando un clamp de plata de 0,2 mm de diámetro.

Améstica (2000) utilizando un clamp con un diámetro interno de 0,3 mm, obtuvo PAS entre $159,4 \pm 3,17$ y $164,2 \pm 5,57$ mm Hg a la 6^a semana post-cirugía. Gallardo (2001) utilizando un clamp de diámetro similar, obtuvo valores de PAS de $151,0 \pm 1,32$ mm Hg para la 7^a semana y de $156,6 \pm 1,40$ mm Hg en la 8^a semana.

La diferencia de los valores de presión arterial obtenidos en los trabajos anteriormente mencionados en los que se utilizó clamps de distinto diámetro se explicaría según Guyton y Hall (1997), a que el valor de presión alcanzado por el método de Goldblatt dos riñones una pinza esta determinado por el grado de constricción de la arteria renal. Al respecto DiPette (1999) y Al-Qattan y col., (2001) indican que a medida que se disminuye el diámetro de los clamp de plata, aumenta el grado de constricción de la arteria renal y se obtienen valores más altos de PAS y en un tiempo menor. Además Dipette (1999) menciona que dependiendo del grado de constricción de la arteria renal se pueden alcanzar valores de presión sistólica sobre los 200 mm Hg. Es importante mencionar que el peso de las ratas también influye en el grado de constricción arterial; a mayor peso, mayor diámetro de la arteria renal y por tanto, una constricción más intensa y rápida, generándose hipertensión en un plazo más breve.

En este estudio se aplicó el método de Goldblatt a un número mayor del necesario para el experimento, se usaron 15 ratas de las cuales 2 murieron durante el período de inducción de hipertensión, alcanzando 13 hipertensión al final del período. Esto en consideración a que según Gómez (1988) y Sánchez (1988), el método Goldblatt dos riñones una pinza presenta marcada variabilidad para inducir hipertensión arterial y alto riesgo de mortalidad post-operatorio.

Estudios recientes en que se ha aplicado el método Goldblatt, han obtenido resultados con baja mortalidad y alto porcentaje de ratas hipertensas. Es así como Améstica (2000) aplicó esta técnica a un total de 26 ratas en las cuales no se registró mortalidad, alcanzando todas hipertensión; Gallardo (2001) realizó cirugía a 26 ratas de las cuales 1 murió y 21 alcanzaron hipertensión entre la 7^a y 8^a semana posterior a la cirugía y Barria (2003) aplicó este método a 27 ratas, de las cuales mueren 3, alcanzando 24 hipertensión al final del período.

La mortalidad registrada, así como la efectividad de este método para inducir hipertensión, puede estar sujeta a factores individuales de la rata, experiencia del cirujano, condiciones en que se realiza la cirugía, condiciones post-operatorias y por factores ambientales.

6.1.2 Período de valoración del efecto sobre la PAS del extracto de *Schizanthus grahamii*, en ratas normotensas e hipertensas renovasculares (PVE).

Los alcaloides de *Schizanthus grahamii* evaluados fueron obtenidos de las partes aéreas de la planta y corresponden a 3 α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano; tropanol y 3 α , 7 β -dihidroxitropano.

Actualmente, en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile, se están realizando estudios con extractos vegetales de *Schizanthus*, evaluando su efecto sobre presión arterial; Herrera (2003) evaluó el extracto de *Schizanthus grahamii* en dosis de 100 mg/kg vía bucoesofágica en ratas normotensas e hipertensas L-NAME; Ziehlmann* (2003) evaluó extracto de *Schizanthus tricolor* en dosis de 20 mg/kg intraperitoneal en ratas normotensas e hipertensas (Goldblatt, dos riñones una pinza) y Cabello* (2003) evaluó extracto de *Schizanthus tricolor* utilizando el mismo método de inducción de hipertensión y vía de administración que Herrera (2003) en dosis de 10 mg/kg.

No se encontraron otras referencias bibliográficas de *Schizanthus grahamii* o de alcaloides tipo tropano de esta planta relacionados con efectos sobre el sistema cardiovascular y la presión arterial.

En trabajos realizados por Castillo (2002), Mancilla (2002) y Ponce (2002) en que se usaron alcaloides de *Schizanthus* en conjunto con atropina, un fármaco de efecto anticolinérgico y carbacol, de efecto colinérgico indirecto, se demostró la afinidad de los alcaloides de *Schizanthus* por los receptores colinérgicos muscarínicos y en algunos alcaloides de este género, la capacidad de disminuir el tono muscular en íleon de rata debido a sus posibles propiedades anticolinérgicas. En relación a los antecedentes antes mencionados y debido a la similitud que tendría atropina con respecto a los alcaloides extraídos de plantas del género *Schizanthus* en cuanto a su estructura química y efectos anticolinérgicos, se comparará la acción de éstos con atropina.

Con respecto al efecto sobre la PAS, del etanol utilizado como diluyente del extracto Hardman y col., (2001) menciona que la presión arterial, el gasto cardíaco y la fuerza de contracción del miocardio no se modifican significativamente con una cantidad moderada de alcohol.

* Comunicación personal. Srtas. Daniela Cabello y Claudia Ziehlmann . Universidad Austral de Chile. Instituto de Farmacología. Valdivia. Chile

Ratas normotensas:

La administración diaria del extracto de *Schizanthus grahamii* produce un alza significativa de la PAS, en las mediciones previo y posterior a la aplicación del extracto, generándose hipertensión, resultados que difieren a los obtenidos por Herrera (2003) que administrando extracto de *Schizanthus grahamii* en dosis de 100 mg/kg vía bucoesofágica, no obtuvo diferencias estadísticamente significativas sobre la PAS en ratas normotensas; esta diferencia podría explicarse por la vía de administración del extracto y al menor peso de las ratas utilizadas en su trabajo.

Ziehlmann* (2003) utilizando *Schizanthus tricolor* en dosis de 20 mg/kg intraperitoneal en ratas normotensas manifestó que hubo diferencias significativas (momento previo y 15 min. posterior a la administración del extracto), registrándose un alza constante de la presión arterial, hasta alcanzar hipertensión; situación similar a la observada en este trabajo, en el que se utilizó el mismo método de inducción de hipertensión y la misma vía de administración del extracto.

Cabello* (2003) administrando extracto de *Schizanthus tricolor* vía bucoesofágica en dosis de 10 mg/kg en ratas normotensas, obtuvo un alza significativa de la PAS manteniéndose los valores dentro del rango normal. La misma tendencia a el alza de presión arterial se registra en este trabajo, utilizando un extracto y vía de administración diferente.

El aumento de la presión arterial generado por la administración de los alcaloides provenientes de *Schizanthus grahamii* se debería a que estos poseerían un efecto bloqueador colinérgico y por lo tanto, al disminuir la acción vagal cardíaca, podrían condicionar un predominio simpático con efecto cronótropo e inótropo positivo, lo que aumenta el gasto cardíaco y conlleva a un incremento de la presión arterial (Pedraza-Chaverri y col., 1998).

Existe una cantidad moderada de descarga tónica en los nervios simpáticos cardíacos en reposo, pero hay una cantidad considerable de descarga vagal tónica (tono vagal) en los seres humanos y animales. Cuando los vagos son seccionados en animales de experimentación, la frecuencia cardíaca aumenta y después de la administración de fármacos parasimpaticolíticos como atropina, en los seres humanos la frecuencia cardíaca aumenta de su valor normal de reposo de 70 a entre 150 y 180 latidos por minuto, debido a que el tono simpático no tiene oposición (Ganong, 1998).

Atropina es un éster orgánico formado por la combinación de un ácido aromático, el ácido trópico y una base orgánica compleja, la tropina o tropanol. Atropina y compuestos relacionados son antagonistas competitivos de las acciones de la Ach y otros agonistas muscarínicos; compiten con dichos agonistas por un sitio de fijación sobre el receptor muscarínico (Hardman y col., 2001).

* Comunicación personal. Srtas. Daniela Cabello y Claudia Ziehlmann . Universidad Austral de Chile. Instituto de Farmacología. Valdivia. Chile

El efecto principal de la atropina en el corazón consiste en acelerar la frecuencia cardíaca y favorecer la conducción auriculo ventricular, acciones que pueden ser útiles para combatir bradicardia o bloqueo cardíaco asociado a un tono vagal elevado. A dosis elevadas de atropina, se produce bloqueo vagal de los receptores M_2 cardíacos, lo que aumenta la automaticidad del nodo SA y la velocidad de conducción en el nodo AV, en relación directa al tono vagal basal del individuo; aumenta por lo tanto la frecuencia cardíaca y se acorta el espacio PR del electrocardiograma (Flórez, 1997).

Atropina elimina la influencia vagal sobre el corazón, facilitando la conducción AV. Este fármaco además acorta el período refractario funcional del nodo AV y puede aumentar la frecuencia ventricular en pacientes con fibrilación auricular (Katzung, 1999).

A nivel de circulación, dosis clínicas de atropina contrarrestan por completo la vasodilatación periférica y la disminución aguda de la presión arterial que producen los colinésteres (Flórez, 1997).

Vasques y col., (1999) utilizaron atropina en ratas conscientes normotensas, en una dosis 2 mg/kg iv, logrando inhibir significativamente los efectos hipotensores y bradycárdicos del extracto de *W. viscosissima*, debido a las propiedades de éste como agonista muscarínico.

Thorburn y col., (1975) realizaron un trabajo en humanos, en que se evaluó la respuesta de pacientes con hipotensión sistémica (presión arterial sistólica menor a 100 mm Hg) a la administración de atropina en dosis que variaron de 0,5 a 1,0 mg totales, resultando en un aumento significativo desde 77 ± 17 mmHg a 115 ± 12 mmHg.

Weiss y col., (2001) concluyeron que los antimuscarínicos comprometen la estabilidad de la presión arterial por una disminución de la sensibilidad barorrefleja.

Ratas hipertensas:

Se ha demostrado la presencia del sistema renina angiotensina en la patogénesis de la hipertensión renovascular secundaria a la oclusión de una arteria renal. Sin embargo en la formación crónica de hipertensión renovascular, los niveles de actividad de angiotensina II se encuentran dentro de los valores normales o levemente elevados (Vio y col., 1980).

La angiotensina II y el óxido nítrico presentan acciones opuestas en prácticamente todos los órganos (Cachofeiro y col., 1999). La enzima convertidora de angiotensina es regulada por el óxido nítrico, modificando la producción de angiotensina II, y esta a su vez, estimula a la oxidasa vascular de NADPH para producir el anión superóxido, el que cataboliza al óxido nítrico alterando la función vasomotora (Nakame y col., 2000; Adam y Rajj, 2000).

La administración diaria del extracto de *Schizanthus grahamii* durante el PVE, tanto en mediciones realizadas previo y posterior a la administración del extracto produce una tendencia a aumentar la PAS, variación que es no significativa. En cambio si se observa un alza significativa de la PAS en relación al PT, lo que podría explicarse por el posible efecto

bloqueador colinérgico de los alcaloides contenidos en el extracto, tanto a nivel cardíaco como de vasos.

Ziehlmann* (2003) utilizando *Schizanthus tricolor*, en dosis de 20 mg/kg i.p. e induciendo hipertensión con el mismo método empleado en este trabajo, no obtuvo diferencias significativas en la PAS durante el PVE y al igual que en este trabajo se observó una tendencia al alza de presión arterial.

Cabello* (2003), usando extracto de *Schizanthus tricolor* en dosis de 10mg/kg vía oral obtuvo una baja significativa de la presión arterial sistólica; esto podría explicarse debido a que el extracto, la vía de administración y el método utilizado para inducir hipertensión es diferente. La administración de L-NAME genera hipertensión de tipo aguda y reversible dependiendo del tiempo y de la dosis utilizada produciendo un daño vascular mínimo comparado con el producido con el método Goldblatt, dos riñones una pinza, en consecuencia, el endotelio aún tiene la capacidad de inducir la relajación vascular (Perticone y col., 2001).

La regulación de la presión arterial en pacientes con hipertensión arterial sostenida, difiere de lo normal, en que los barorreflejos y los sistemas de control de la presión y volumen sanguíneo renal, muestran una menor sensibilidad ante estímulos, lo que en este caso puede ser un factor a considerar ya que el método utilizado en este trabajo, induce hipertensión de tipo crónica (Benowitz, 1998).

Según Kaplan, (1999) en caso de hipertensión sostenida disminuye la sensibilidad de los barorreceptores produciendo que los reflejos de regulación de la presión arterial sufran un rápido reajuste secundario a cambios estructurales y funcionales, de modo que ante un aumento dado de la presión arterial, provocan una menor reducción de la frecuencia cardíaca, lo que asociado al posible efecto anticolinérgico del extracto aplicado podría aumentar la frecuencia cardíaca, aumentando el gasto cardíaco y la presión arterial.

Otra explicación para el aumento de la presión arterial generada por el extracto en ratas hipertensas podría deberse a un predominio de la actividad simpática al bloquearse la vía parasimpática debido a que según Christofi y col., (1991) postulan que la menor inhibición del centro vasomotor resultante del reajuste de los barorreceptores arteriales puede ser responsable de una mayor descarga simpática y por ende la perpetuación de la hipertensión.

La hipertensión arterial produce una autorregulación estructural que tiene importantes implicaciones en el mantenimiento de la hipertensión, generando un crecimiento del músculo liso vascular que va a determinar una disminución de la luz del vaso, es decir, una reducción del radio y por lo tanto, un incremento de las resistencias periféricas totales. (Tresguerres y col., 2000). El aumento de la resistencia vascular periférica y el predominio de la actividad

* Comunicación personal. Srta. Daniela Cabello y Claudia Ziehlmann. Universidad Austral de Chile. Instituto de Farmacología. Valdivia. Chile

simpática en individuos hipertensos podría permitir que al bloquear la vía parasimpática con la administración del extracto de *Schizanthus* se genere un alza de la presión arterial.

6.1.3 Período post-tratamiento (PPT).

La medición diaria de la PAS por tres días posterior a la suspensión de la administración del extracto de *Schizanthus grahamii* presentó en la serie normotensas un alza significativa de la PAS en el día 7 y 8 del período post-tratamiento tanto previo como posterior a la administración del extracto, para luego descender el día 9 del mismo período.

Una situación similar se observó en el trabajo realizado por Ziehlmann* (2003), donde se registro un alza de la PAS, en la serie normotensa durante este período. Esto podría deberse a un posible efecto residual de los alcaloides presentes en el extracto, que tras un bloqueo colinérgico, llevarían a un predominio adrenérgico, con un efecto inótropo y cronótropo positivo.

En la serie hipertensa, no se presentaron variaciones significativas en la PAS, pero si se observa una tendencia a la baja de presión desde 207,5 mmHg el día 7 a 204 ,4 mmHg el día 9 del período. En los trabajos realizados por Herrera (2003), Ziehlmann* (2003) y Cabello* (2003), al igual que lo observado en este trabajo, no se obtuvieron diferencias significativas de la PAS, en la serie hipertensa.

6.2 Evaluación del efecto de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii* sobre el reflejo pupilar.

En este trabajo, utilizando 10mg/ kg del extracto de *Schizanthus grahamii* ip la respuesta de reflejo pupilar se evaluó como PRESENTE; Herrera (2003) utilizando una dosis de 100 mg/kg po del mismo extracto, obtuvo la misma respuesta. Esto podría deberse a que los alcaloides tipo tropano presentes en el extracto, no tienen receptores a nivel pupilar, por lo que no se genera pérdida del reflejo.

Los antagonistas de los receptores muscarínicos bloquean las reacciones del músculo liso del esfínter del iris y músculo liso ciliar del cristalino, por lo tanto, dilatan la pupila (midriasis) y paralizan la acomodación (ciclopejia). La visión de hace borrosa, aparece fotofobia y disminuye la respuesta pupilar refleja a la luz y la convergencia. Estas modificaciones de los músculos intrínsecos del ojo pueden provocar una dificultad en drenaje del humor acuoso del ojo con hipertensión ocular (Hardman y col.,2001; Flórez, 1997).

Los resultados obtenidos en este trabajo, permitirán ampliar los conocimientos farmacológicos de los alcaloides presentes en el género *Schizanthus*, e incentivar futuros estudios en plantas de este género, con proyecciones de uso de estas sustancias en farmacoterapia en medicina humana y veterinaria.

* Comunicación personal. Srtas. Daniela Cabello y Claudia Ziehlmann . Universidad Austral de Chile. Instituto de Farmacología. Valdivia. Chile

En este estudio se evaluó el posible efecto residual de los alcaloides presentes en *Schizanthus grahamii*, durante 3 días; sería interesante, para futuros estudios, extender este período de evaluación, con el fin de apreciar con mayor claridad el comportamiento de estos alcaloides, una vez suspendido en tratamiento. También sería interesante evaluar conjuntamente con presión arterial, otras variables, como frecuencia cardíaca, con el fin de apoyar los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos y discutidos en este trabajo, en el que se administró alcaloides tipo tropano del extracto de *Schizanthus grahamii* (3 α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano, tropanol y 3 α , 7 β -dihidroxitropano) en dosis de 10 mg/ kg, vía ip a ratas normotensas e hipertensas renovasculares, se concluye que:

- Producen un alza significativa de la presión arterial sistólica en ratas normotensas.
- Producen un alza significativa de la presión arterial sistólica en ratas hipertensas Goldblatt dos riñones una pinza en relación al PT.
- Presentan un posible efecto residual, en las ratas normotensas.
- No producen pérdida del reflejo pupilar en ambas series.

Según los resultados obtenidos y presentados en este trabajo, se acepta de la hipótesis plantada que los alcaloides presentes en el extracto de *Schizanthus grahamii*, producen aumento de la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, A., L. RAIJ. 2000. Nitric Oxide Angiotensin II axis in renal and cardiovascular Injury. *J. nephrol.* 13: 211 – 220.
- AHUMADA, F., F. ASPEE, G. WIKMAN, J. L. HANCKE. 1991. *Withania somnifera* extract. Its effect on arterial blood pressure in anaesthetised dogs. *Phytother. Res.* 5: 111-114.
- ALCASENA M. S., J. MARTINEZ, J. ROMERO. 1998. Hipertensión Arterial Sistémica. Vol. 21, suplemento 1. Anales del sistema sanitario de Navarra. España.
- AL-QATTAN, K. K., M. A. ALNAQEEB, M. ALI. 1999. The antihypertensive effect of Garlic (*Allium sativum*) in the rat two-kidney-one-clip Goldblatt model. *J. Ethnopharmacol.* 66: 217-222.
- ÁLVAREZ, H. 1996. Efecto del extracto de *Durvillaea antártica* sobre la presión arterial, frecuencia cardíaca y respiratoria en ratas. Tesis , M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- AMÉSTICA, L. 2000. Valoración del efecto sobre la presión arterial y frecuencia cardíaca y respiratoria del extracto acuoso liofilizado de *Stachytarpheta cayennensis*, administrado por vía intraperitoneal, en ratas anestesiadas, normotensas e hipertensas renovasculares. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ARAYA, O., V. CUBILLOS. 1992. Toxicología Veterinaria: plantas tóxicas y micotoxicosis en Chile. Curso Postgrado. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- BAKER, H. J., J.R. LINDSEY, S.H. WEISBROTH. 1979. The Laboratory Rat. Vol. I, 2ª ed., Academic Press, Inc. New York. United States of America.
- BARRIA, C. D. 2003. Efecto antihipertensivo del extracto de raíz de *Muehlenbeckia hastulata* (Volqui negro o Quilo), en ratas hipertensas renovasculares. Memoria de título, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- BENOWITZ, N. L. 1998. Cardiovascular –Renal Drugs: Antihypertensive Agents. En KATZUNG, B. 1998. Basic and Clinical Pharmacology. 6ª ed. Appleton & Lange. Stanford.

- BOTEY, N.H., L. REVERT. 1992. Hipertensión arterial. En FARRERAS, P., C. ROZMAN. Medicina Interna. 13^a ed., Doyma. Barcelona. España.
- BRACHET, A., O. MUÑOZ, M. GUPTA, J. L. VEUTHEY, PH. CHRISTEN. 1997. Alkaloids of *Erithroxylum lucidum* Stem-Bark. *Phytochemistry* .46: 1439-1442.
- BRAUNWALD, K., J. ISSELBACHER, R. PETERSDORF, D. WILSON, J. MARTÍN, A. S. FAUCI. 1987. En Harrison: Principios de Medicina Interna. 11^a ed. Mc Graw-Hill Interamericana .Ciudad de México. México.
- BURGOS, R . A. 1990. Efecto del extracto de *Ocimum sanctum* sobre la presión arterial de perros normotensos anestesiados con pentobarbital sódico. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias ,Valdivia, Chile.
- CÁRCAMO, N. 2000. Efecto de los extractos etanólico y acuoso de *Allium ampeloprasum* (ajo chilote) sobre la presión arterial, administrados por vía oral en ratas hipertensas inducidas por L-NAME. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- CASINO, P., M CRESCENCE, R. CANNON, A. QUYYUMI.1995. Impared Endothelium-Dependent Vascular Relaxation in Patients whith Hipercholesterolemia Extends Beyond the Muscarinic Receptor. *The Am. J. of Cardiol.* 75: 40-45.
- CASTILLO, C. 2002. Evaluación del efecto inhibitorio del tono muscular de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus hookeri* sobre ileon de rata. Tesis, M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- CHRISTOFI, F. L., J. M. PALMER, J. WOOD. 1991. Neuropharmacology of the muscarinic antagonist telenzepine in myenteric ganglia of the pig small intestine. *J. Pharmacol.* 195: 333-341
- COOKE, J., E. FROHLICH. 1993. Hipertensión y Enfermedades Vasculares. Masson- Salvat Medicina. Barcelona. España.
- CUNNINGHAM, J. G. 1999. Fisiología Veterinaria. El corazón como una bomba. Control neural y hormonal de la presión y el volumen sanguíneo. 2^a ed., McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- DE LA FUENTE, G., M. REINA, O. MUÑOZ, A. SAN MARTÍN, P. J. GIRAULT, 1988. Tropane alkaloids from *Schizanthus pinnatus*. *Heterocycles* .27: 1887-1897.

- DIPETTE, D. J. 1999. Experimental models of hipertensión. En IZZO, J., H. BLACK. Hypertension: the Essentials of high blood pressure . 2^a ed., From the Council on high Blood Pressure Research, American Heart Association .United States of America.
- EGLIN, R.M., S. HEGDE, N. WATSON. 1996. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. *Pharmacological reviews*. 48: 550-551.
- FARRERAS, P. 2000. Medicina Interna. 14^a ed. Harcourt. Madrid . España.
- FIGUEROA, C. 1993. Efecto del extracto de *Panax ginseng*, *Ginkgo biloba* y *Schizandra chilensis* solos y asociados sobre la presión arterial, frecuencia cardiaca y respiratoria en ratas. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- FLÓREZ, J. 1997. Farmacología Humana. Transmisión colinérgica. Fármacos agonistas colinérgicos. Fármacos antagonistas muscarínicos. 3^a ed., Masson. Barcelona. España.
- FORTE, P., N. B. NIGEL. 2001. Does an impaired flow mediated vasodilatation predict hypertension in offspring hypertensive parents. *Heart*. 85: 131-135.
- FRANK, D. W. 1976. Physiological data of laboratory animals. En: MELBY, C.E., N.H. ALTMAN. Handbook of Laboratory Animal science. Vol. 3 C.R.C. Press, Cleveland, Ohio.
- FROHLICH, E. D. 1997. Clasificaciones clínicas de las enfermedades hipertensivas. En: FUSTER, V., R. ROSS, E. J. TOPOL. Aterosclerosis y Enfermedad Arterial Coronaria. Springer, Barcelona. España.
- GALLARDO, S. 2001. Valoración del efecto sobre la presión arterial del extracto etanólico de *Allium ampeloprasum* (ajo chilote), administrado por vía oral en ratas hipertensas renovasculares. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- GAMBARO, V., C. LABBE., C. CASTILLO. 1983. Angeloyl, tigloyl and senecioly oxitropane alkaloids from *Schizanthus hookeri*. *Phytochemistry*. 22: 1838-1839.
- GANONG, W., 1998. Fisiología Médica. 16^a ed. El manual moderno, SA. Ciudad de México. México.
- GOECKE, A., J. KUSANOVIC, M. SERRANO, T. CHARLIN, A. ZUÑIGA, E. MARUSIC. 1998. Increased Na, K, Cl cotransporter and Na, K-ATPase activity of vascular tissue in two-kidney Goldblatt hypertension. *Biol. Res*. 31: 263-27.

- GOLDBLATT, H., J. LINCH, R. F. HANZAL, W. W. SUMMERVILLE. 1934. Studies on Experimental hipertensión. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J. Exp. Med.* 59: 347-379.
- GOMEZ, J. E. 1988. Efectos de la administración de propanolol y de un extracto acuoso de *Centaurium cachanlahuen* (Mol) Robinson en ratas hipertensas. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- GRAU, J. 1992. Particularidades de la flora chilena. En: Flora silvestre de Chile. Grau, J. & Zizka, G. Eds Palmengarten. Frankfurt. Alemania.
- GRIFFIN W. J., D. G. LIN. 1999. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry*. 53: 623-636.
- GRINGAUZ, A., 1997. Introduction to Medicinal Chemistry. Wiley-VCH Inc. New York. United States of America.
- GUYTON, A. C., J. E., HALL. 1997. Tratado de Fisiología Médica. 9º ed., McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- HARDMAN, J., L. LIMBIRD, A. GILMAN. 2001. Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. Neurotransmission. Muscarinic receptor agonist and antagonists. 10th edition, McGraw-Hill Interamericana. New York. United States of America.
- HARTMANN, R., A. SAN MARTÍN, O. MUÑOZ, E. BREITMAIER. 1996. Grahamine an unusual tropane alkaloid from *Schizanthus grahamii*. *Angewandte Chemie*. 29 : 385-386.
- HERRERA, M. O. 2003. Efecto de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii*, sobre la presión arterial, en ratas normotensas e hipertensas. Memoria de título, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- HUNZIKER, T. A. 1979. South American Solanaceae: a synoptic survey. In: The biology and taxonomy of the solanaceae. Hawkes, J.E., Lester, R.N. and Selding, A.D. Eds. Academic Press Inc. London. England.
- KAPLAN, N. M. 1999. Hipertensión Clínica. 3ª ed. Waverly Hispánica S.A. Barcelona. España.
- KATZUNG, B. G. 1999. Basic and Clinical Pharmacology. 7th ed. Apleton and Lange. Connecticut. United States of America.

- LEENEN, F. J., W. DE JONG. 1971. A solid silver clip for induction of predictable levels of renal hypertension in the rats. *J. Appl. Physiol.* 31: 142-144.
- LERMAN, L. O. 2001. Increased oxidative stress in experimental renovascular hypertension. University of California, San Diego, Ca. *Hipertensión.* 37 (part2): 541-546.
- LOUNASMAA, M. , T. TAMMINEN. 1993. The tropane alkaloids. In: The alkaloids Chemistry and Pharmacology. Cordell, G.A. Ed. Academic Press Inc. London. England.
- MANCILLA, C. A. 2002. Evaluación del efecto inhibitorio del tono muscular de alcaloides tipo tropano presentes en plantas del género *Schizanthus* sobre íleon de rata. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- McPHEE, S. J., V. R. LINGAPPA, W.F GANONG, J. D. LANGE. 2000. Fisiopatología Médica: una introducción a la medicina clínica. 2ª ed., El Manual Moderno, SA. De C.V. Ciudad de México. México.
- MASSARDO, F. 1995. Plantas Medicinales y Medio Ambiente en 2º congreso de plantas medicinales. Centro el canelo de Nos. San Bernardo, Chile.
- MEDINA, E. 1993. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares. En :Rojas Villegas, F. 1993. Enfermedades del corazón y de los vasos. 2ª ed. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago, Chile.
- MIERES, M. 1998. Valoración del efecto hipotensor de los extractos de hojas de *Tristerix (Phrygilanthus) tetrandus*, sobre ratas normotensas. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- MINISTERIO DE SALUD. 1995. Hipertensión Arterial, normas técnicas, Santiago. Chile
- MUÑOZ, O., 1992. *Solanaceae*. En Química de la flora de Chile. Muñoz, O., Editor. DTI. Universidad de Chile. Chile.
- NAKAME, I., F. J. MILLER, F. M. FARACI, K. TOYODA, D.D. HEISTAD .2000. Gene Transfer of Endothelial Nitric Oxide Synthase Reduces Angiotensin II-induced Endothelial Dysfunction . *Hypertension.* 35: 595.
- OLHABERRY, J. 1992. Efecto del extracto de *Phrygilanthus sp.* sobre la presión arterial de ratas: vías de acción. Tesis , M.V. ,Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

- PANTANALLI, M. 2001. Valoración del efecto antihipertensivo del extracto liofilizado de hojas de *Stachytarpheta cayennensis*, sobre ratas con hipertensión inducida con L-NAME. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- PALMA, G. 2000. Evaluación del efecto hipotensor de extractos fraccionados y de un extracto sin potasio de *Muehlenbeckia hastulata*, Quilo o Volqui negro, administrado por vía intraperitoneal, a ratas normotensas anestesiadas. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- PEDRAZA-CHAVERRI, J., E. TAPIA, O. MEDINA-CAMPOS, M. DE LOS ÁNGELES GRANDOS, M. FRANCO. 1998. Garlic prevents hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Life Sci.* 62: 71-77.
- PERTICONNE, F., R. CERAVOLO., A. PUJIA., G. VENTURA., S. IACOPINO., A. SCOZZAFAVA., A. FERRARO., M. CHELLO., P. MASTROROBERTO., P. VERDECCHIA., G. SCHILLACI. 2001. *Circulation.* 104: 191-200.
- PINO, M. 1996. El ajo azul o morado de Magallanes. *Tierra adentro* 10:10-12.
- PLANAS, J. M., A. COCA. 1998. Fisiopatología de la Presión Arterial. En A. ESTELLER; M. CORDERO. Fundamentos de Fisiopatología. McGraw Hill Interamericana. Madrid. España.
- PONCE, J. 2002. Evaluación del efecto inhibitorio de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus pinnatus* sobre el tono muscular de íleon de rata. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ROSNER, B. 2000. Fundamentals of BioStatistics. Multisample Inference. 5th ed., Duxbury. United States of America.
- SANCHEZ, E. 1998. Efecto de los extractos de *Crataegus oxyacantha*, *Olea europea* y *Phygilanthus sp.* en la presión arterial en ratas normales o con hipertensión inducida. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chile.
- SAN MARTÍN, A., J. ROVIROSA, V. GAMBARO, M. CASTILLO. 1980. Tropane alkaloids from *Schizanthus hookeri*. *Phytochemistry* 19: 1007-2009.

- SAN MARTÍN, A., C. LABBE, O. MUÑOZ, M. CASTILLO, M. REINA, G. DE LA FUENTE, A. G. GONZALEZ., 1987. New tropane alkaloids from *Schizanthus grahamii*. *Phytochemistry* .26 : 819-822.
- SHARAPIN, N., L. MACHADO, E. SOUZA, E. VALVERDE, E.M. ROCHA, J.M. LOPES. 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos fitoterapéuticos. 1^a ed., Convenio Andrés Bello. Santa Fe de Bogotá. Colombia.
- SIEGEL, S. 1996. Metodología de la Investigación. McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- SPIEGEL, M. 1991. Estadística. Análisis de varianza. 2^a ed. McGraw-Hill Interamericana S.A. Madrid. España.
- SVENTEK, P., A. TURGEON, E. SCHIFFRIN. 1997. Vascular endothelin-1 expression and effect on blood pressure of chronic ET_A endothelin receptor antagonism after nitric oxide synthasa inhibition with L-NAME in normal rats. *Circulation* 95: 240-244.
- SOTO J.A.1998. Valoración del efecto hipotensor de extractos de frutos y de flores de *Tristerix tetrandus* (*Phrygilanthus tetrandus*) sobre ratas normotensas. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- TADDEI, S., A. VIRDIS., P. MATTEI., L. GHIADONI., I. SUDANO., A. SALVETTI. 1996. Defective L-Arginine –Nitric Oxide Pathway in Offspring of Essential Hypertensive Patients. *Circulation*. 94: 1298-1303.
- TAYLOR, K., P. BURNS, P. WELLS. 1999. Doppler: Aplicaciones Clínicas de Ecografía Doppler. 2^a ed.. Marbán libros, S.L. Madrid. España.
- THORBURN, D., SCHEINMAN, M., J. ABBOTT. 1975. Use of atropine in patients with acute myocardial infarction and sinus bradycardia. *Circulation*. 52: 627-633
- TRESGUERRES, J.A.F., E. AGUILAR, M.V. CACHOFEIRO, D. CARDINALI, P.G. LOYZAGA, V.L. JULIÁ, J.A MARTINEZ, F. MORA, R. RODRÍGUEZ, M. ROMANO J. TAMARGO, P. ZARCO. 2000. Fisiología Médica. Regulación de la presión arterial. 2^aed.. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.
- VASQUES, C.A.R., S.F. CÔRTEZ, M.S. SILVA, I.A. DE MEDEIROS. 1999. Muscarinic agonist properties of the hydrobutanol extract from aerial parts of *Waltheria viscosissima* St. Hil. (*Sterculiaceae*) in rats. *Phytotherapy Research*. 13: 312-317.

- VIO , C., J. ROBLERO., H. CROXATTO. 1980. Kallikrein-kinin and Renin-Angiotensin System in Renovascular Hypertension in rats. *Proc.Soc. Exp.Biol.Med.* 163: 447-451.
- WEISS , M., WRAY, D.W., K.J FORMES, A.H. O-YUVATI, P.B. RAVEN, R. ZHANG, X. SHI. 2001. Vagal cardiac function and arterial blood pressure stability. *Am J Physiol. Heart Circ. Physiol.* 281: 1870-1880.
- YUTRONIC, V. 2001. Evaluación del efecto antihipertensivo de extractos sin K⁺, acuoso y n-butanólico, de raíz de *Muehlenbeckia hastulata* en ratas hipertensas L-NAME. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ZAR, H. 1999. Biostatistical analysis. Multisample Hypotheses. 4th ed., Plentice-Hall International Inc. New Jersey. United States of America.

8. ANEXOS

ANEXO N°1:



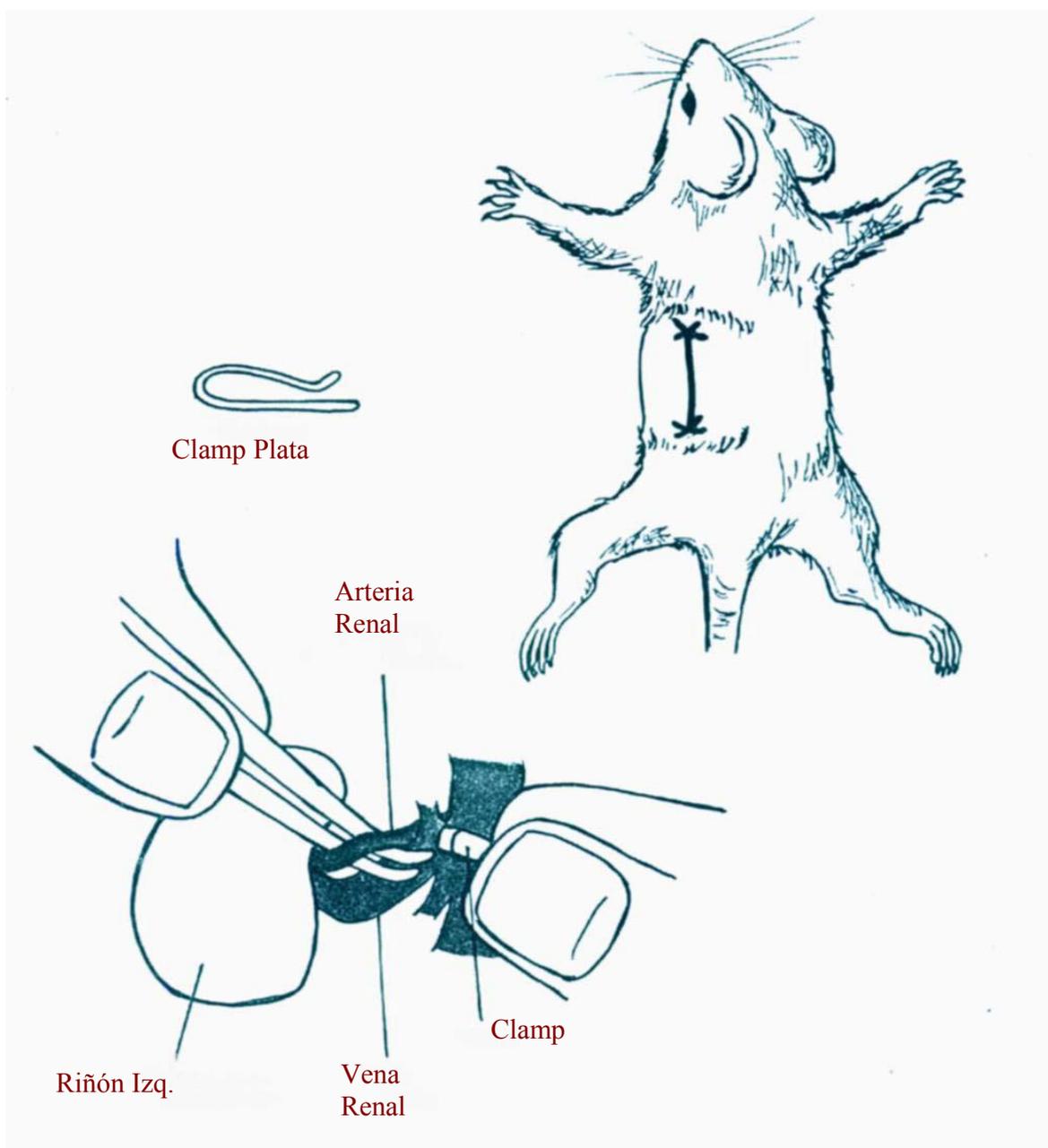
Figura N°3: Rata de la cepa Sprague Dawley.

ANEXO N°2



Figura N°4: Materiales para medición de la PAS. Equipo de ultrasonido Doppler, esfigmomanómetro, manguito inflable, gel de ultrasonido, cubículo de inmovilización.

ANEXO N° 3: Esquema de cirugía de implantación del modelo Goldblatt 2 riñones una pinza.



ANEXO N° 4:

Tabla N° 2: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), expresada en mm Hg, pre-cirugía (PC) y durante el período de inducción de hipertensión (semanas 1 a la 8).

SEMANAS	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
PC		1,779
1	115,7	1,966
2	123,9	1,910
3	140,8	1,920
4	154,8	1,722
5	172,8	2,405
6	178,3	2,503
7	179,5	2,216
8	180,3	2,126
	180,7	

ANEXO N° 5:

Tabla N° 3: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), expresada en mm Hg, en la serie 1 normotensa, PT y durante el período de valoración del efecto sobre presión arterial (días 2, 4 y 6) 15 minutos previo a la administración de extracto de *Schizanthus grahamii*.

DÍAS DE EVALUACIÓN	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
PT	148,8	2,370
2 (pre)	156,0	0,942
4 (pre)	164,2	1,965
6 (pre)	168,2	2,240

ANEXO N° 6:

Tabla N° 4: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), expresada en mm Hg, en la serie 2 hipertensa, PT y durante el período de valoración del efecto sobre presión arterial (días 2, 4 y 6) 15 minutos previo la administración de extracto de *Schizanthus grahamii*.

DÍAS DE EVALUACIÓN	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
PT	177,4	2,937
2 (pre)	194,6	5,042
4 (pre)	199,0	3,642
6 (pre)	206,0	4,258

ANEXO N° 7:

Tabla N° 5: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), expresada en mm Hg, en la serie 1 normotensa, PT y durante el período de valoración del efecto sobre presión arterial (días 2, 4 y 6) 15 minutos posterior a la administración de extracto de *Schizanthus grahamii*.

DÍAS DE EVALUACIÓN	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
PT	148,8	2,370
2 (post)	160,6	1,579
4 (post)	165,6	1,572
6 (post)	174,8	2,568

ANEXO N° 8:

Tabla N° 6: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), expresada en mm Hg, en la serie 2 hipertensa, PT y durante el período de valoración del efecto sobre presión arterial (días 2, 4 y 6) 15 minutos posterior a la administración de extracto de *Schizanthus grahamii*.

DÍAS DE EVALUACIÓN	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
PT	177,4	2,937
2 (post)	201,4	4,362
4 (post)	205,8	5,211
6 (post)	216,0	4,088

ANEXO N° 9:

Tabla N° 7: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E) expresada en mm Hg, en la serie 1 (normotensa), en el último día del período de valoración del efecto (día 6), y durante el período post tratamiento (días 7, 8 y 9), 15 minutos previa administración de extracto de *Schizanthus grahamii*.

DÍAS DE EVALUACIÓN	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
6 (pre)	168,2	2,240
7	184,8	2,816
8	186,4	2,697
9	174,4	2,083

ANEXO N° 10:

Tabla N° 8: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E) expresada en mm Hg, en la serie 2 (hipertensa), en el último día del período de valoración del efecto (día 6), y durante el período post tratamiento (días 7, 8 y 9), 15 minutos previa administración de extracto de *Schizanthus grahamii* (Gráfico N°9)

DÍAS DE EVALUACIÓN N	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
6 (pre)	206,0	4,258
7	207,5	5,162
8	204,0	4,770
9	204,4	5,640

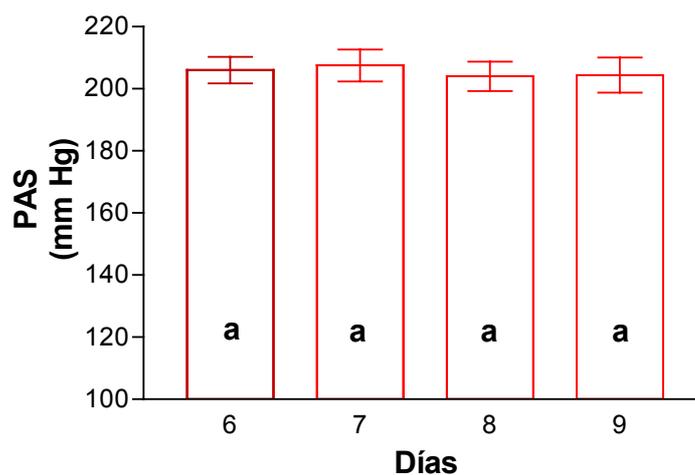


Gráfico N°9: Promedio de presión arterial sistólica (\pm E.E) en mm Hg, en el día 6 del PVE y los días 7, 8 y 9 del período post-tratamiento (PPT) en ratas hipertensas renovasculares, 15 minutos previa administración del extracto. Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

ANEXO N° 11:

Tabla N° 9: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E) expresada en mm Hg, en la serie 1 (normotensa), en el último día del período de valoración del efecto (día 6), y durante el período post tratamiento (días 7, 8 y 9), 15 minutos posterior a la administración de extracto de *Schizanthus grahamii*. (Gráfico N° 8)

DÍAS DE EVALUACIÓN	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
6 (post)	174,8	2,568
7	184,8	2,816
8	186,4	2,697
9	174,4	2,083

ANEXO N° 12:

Tabla N° 10: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E) expresada en mm Hg, en la serie 2 (hipertensa), en el último día del período de valoración del efecto (día 6), y durante el período post tratamiento (días 7, 8 y 9), 15 minutos posterior a la administración de extracto de *Schizanthus grahamii*. (Gráfico N°10)

DÍAS DE EVALUACIÓN	PASP (mm Hg)	\pm E.E.
6 (post)	216,0	4,088
7	207,5	5,162
8	204,0	4,770
9	204,4	5,640

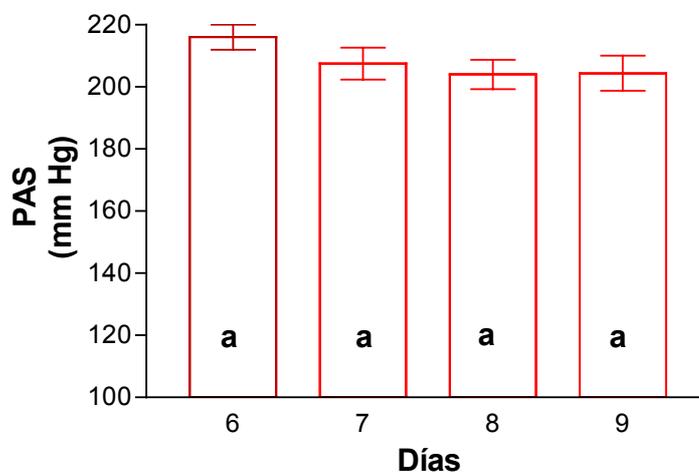


Gráfico N° 10: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E.), expresada en mm Hg, en ratas hipertensas en el PPT (días 7, 8 y 9) y en el día 6 del PVE, 15 minutos posterior a la administración del extracto. Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

ANEXO N° 13:

Tabla N° 11: Peso corporal promedio con su error estandar (\pm E.E), en ratas normotensas precirugía (PC), durante el periodo de verificación de hipertensión y en el día 1 (PT), en ratas de la serie 1(normotensas) y serie 2 (hipertensas).

ETAPA	PESOS PROMEDIO \pm E.E.	
	SERIE 1	SERIE 2
PC	-	118 \pm 2,46
PT	312,7 \pm 6,51	434,5 \pm 9,44

ANEXO N° 14:

Tabla N° 12: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), expresada en mm Hg, en los diferentes periodos; precirugía (PC), período de verificación de establecimiento de hipertensión arterial (PV), período de valoración del efecto del extracto (PVE) y período post-tratamiento(PPT) en ratas de la serie 1(normotensas) y serie 2(hipertensas).

ETAPA	DÍA	SERIE 1 (Normotensa) PASP \pm E.E.	SERIE 2 (Hipertensa) PASP \pm E.E.
PC	-	115,7 \pm E.E. 1,779	
PV	-	148,8 \pm E.E. 2,370	
PVE promedio	2	158,3 \pm 1,039	198,0 \pm 3,337
	4	164,9 \pm 1,235	202,4 \pm 3,191
	6	171,5 \pm 1,823	211,0 \pm 3,093
PPT	7	184,8 \pm E.E. 2,816	207,5 \pm E.E. 5,162
	8	186,4 \pm E.E. 2,697	204,0 \pm E.E. 4,770
	9	174,4 \pm E.E. 2,083	204,4 \pm E.E. 5,640

ANEXO 15

Tabla N° 13: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), expresada en mm Hg, en la serie 1 (normotensa) y serie 2 (hipertensa), durante el período de valoración del efecto del extracto sobre presión arterial (días 2, 4, 6), y durante el periodo post tratamiento (días 7, 8, 9), 15 minutos previo (pre) y 15 minutos posterior (post) a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii*

DÍAS	NORMOTENSAS PASP \pm E.E	HIPERTENSAS PASP \pm E.E
1	148,8 \pm 2,370	177,4 \pm 2,937
2 (pre) (post)	156,0 \pm 0,942	194,6 \pm 5,042
	160,6 \pm 1,579	201,4 \pm 4,362
4 (pre) (post)	164,2 \pm 1,965	199,0 \pm 3,642
	165,6 \pm 1,572	205,8 \pm 5,211
6 (pre) (post)	168,2 \pm 2,240	206,0 \pm 4,258
	174,8 \pm 2,568	216,0 \pm 4,088
7	184,8 \pm 2,816	207,5 \pm 5,162
8	186,4 \pm 2,697	204,0 \pm 4,770
9	174,4 \pm 2,083	204,4 \pm 5,640

AGRADECIMIENTOS

A mis padres , Maria y Juan Carlos, a mis hermanos por su gran apoyos y comprensión.

A mi profesor patrocinante, Dr. Marcos Moreira, por su disponibilidad, paciencia, por su apoyo y correcciones en la realización de esta memoria.

Al Dr. Orlando Muñoz, profesor colaborador , por proporcionar el material e información fundamental para la realización de este trabajo.

A los Dres. Fréderrick Ahumada y Luis Améstica por sus consejos , preocupación y cooperación durante el desarrollo de este trabajo.

Al Sr. Darío Salazar L., por su buena disposición y ayuda en el manejo de las ratas.

Al personal del instituto de Farmacología por la buena disposición y colaboración en esta memoria.

A mis amigos, por su preocupación y apoyo incondicional.