

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE FARMACOLOGÍA

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTO ETANÓLICO DE *Durvillaea antarctica*, SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS CON HIPERTENSIÓN INDUCIDA CON L-NAME.

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

ANDREA ALEJANDRA ROJAS VILLALOBOS

VALDIVIA – CHILE

2008

PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Marcos Moreira E.

PROFESOR CO-PATROCINANTE

Dr. Frederick Ahumada M.

PROFESORES CALIFICADORES

Dr. Elías Caballero V.

Dr. Javier Ojeda O.

FECHA APROBACIÓN: 29 de abril 2008

ÍNDICE

| Capítulo | Página |
|----------------------------|--------|
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 2. SUMMARY..... | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 12 |
| 5. RESULTADOS..... | 16 |
| 6. DISCUSIÓN..... | 20 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA..... | 25 |
| 8. ANEXOS..... | 29 |
| 9. AGRADECIMIENTOS..... | 31 |

1. RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto antihipertensivo del extracto etanólico de *Durvillaea antarctica*, administrado en ratas con hipertensión inducida con L-NAME.

Se utilizaron 22 hembras de la cepa Sprague Dawley, con peso inicial promedio de 218 g, y de 244 g. al término del estudio. Fueron distribuidas al azar en dos series según el tratamiento que recibieron: serie 1 (control) y serie 2 (experimental).

El trabajo experimental tuvo una duración de 17 días y se dividió en tres periodos:

Periodo 1: Inducción de hipertensión (días 1 a 7), en el cual se administró diariamente a ambas series L-NAME en dosis de 25 mg/kg (administración que se mantuvo hasta el día 17). La presión arterial sistólica (PAS) se midió los días 1, 3, 5 y 7, considerándose hipertensas las ratas que presentaron valores iguales o mayores a 150 mm Hg.

Periodo 2: Valoración del efecto antihipertensivo (días 8 a 14), a la serie 1 se les administró etanol al 7,7%, de peso vivo y la serie 2 extracto de *Durvillaea antarctica* en dosis de 40 mg/kg. La PAS se midió los días 8, 10, 12 y 14 previo al tratamiento.

Periodo 3: Valoración de la mantención del efecto antihipertensivo (días 15 a 17), se suspendió la entrega del extracto en la serie 2, manteniéndose la administración de L-NAME en ambas series, midiéndose la presión diariamente.

Todas las soluciones se administraron diariamente vía oral a través de una sonda bucoesofágica, en volumen de 0,5 ml/100g de peso vivo. La PAS fue medida en la base de la cola, utilizando un equipo de ultrasonido Doppler (Parks Medical Electronic Inc. Modelo 811-B).

El análisis de los datos mostró que el primer día no hubo diferencias significativas entre las dos series en estudio. El día 7 ambas series presentaron un aumento significativo de la presión arterial sistólica, logrando así individuos hipertensos. Durante el segundo periodo se pudo observar diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las series 1 y 2 a partir del día 12 siendo más baja la presión sistólica en la serie 2. El tercer periodo se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en la presión arterial sistólica a partir del día 15 entre ambas series.

Se concluye que el extracto etanólico de *Durvillaea antarctica*, en dosis de 40 mg/kg, disminuye significativamente la presión arterial sistólica a partir del día 12 del experimento, manteniendo el efecto antihipertensivo por dos días luego de finalizado el tratamiento.

Palabras claves: *Durvillaea antarctica*, hipertensión, L-NAME, Doppler, ratas.

2. SUMMARY

VALUATION OF THE ANTIHYPERTENSIVE EFFECT OF ETANOLIC EXTRACT OF *Durvillaea antarctica* ON RATS WITH L-NAME INDUCED HYPERTENSION.

Presently work was evaluated the antihypertensive effect of the etanolic extract of *Durvillaea antarctica*, administered in rats with hypertension induced with L-NAME.

Twentytwo females of the stump Sprague Dawley were used, with peso initial average of 218 g, and of 244 g. at the end of the study. They were distributed at random in two series according to the treatment that received: series 1 (control) and series 2 (experimental).

The experimental work had a duration of 17 days and divided in three periods:

Period 1: Induction of hypertension (days 1 to 7), in which it was administered daily to both L-NAME series in dose of 25 mg/ kg (administration that stayed 17 until the day). The systolic blood pressure (SBP) was measured the days 1, 3, 5 7, considering hypertensas the rats that presented same or old values to 150 mm/Hg;

Period 2: Valuation of the antihypertensive effect (days 8 to 14), to the series 1 administered etanol to the 7,7%, of live peso and the series 2 extract of *Durvillaea antarctica* in dose of 40 mg/ kg. The SBP was measured the days 8, 10, 12 14 previous to the treatment.

Period 3: Valuation of the keepingof the antihypertensive effect (days 15 to 17), in which the delivery of the extract in the series 2 was suspended, I didn't get hold of the administration of L-NAME in both series, measuring the pressure daily.

Data analisis showed no significant differences ($p>0,05$) between all groups at the first day of experiment. After seven days of L-NAME treatment, serie 1 and serie 2 showed a significant systolic blood preasure increase. At this time significant differences between serie 1 and serie 2 were observed, starting on day 12. During the third period significant differences between serie 1 and serie 2 from day 15 to 17. An increase in the systolic blood pressure was noticed on day 16 to 17, become the individuals hypertensive again.

It can concluded that oral administration of *Durvillaea antarctica* etanolic extract decrease significantly systolic blood pressure during days 9 to 17 of the experiment in rats with L-NAME induced hypertension and keeps its antihypertensive effect for two days after finishing treatment.

Key words: *Durvillaea antarctica*, hypertension, L-NAME, Doppler, rats.

3. INTRODUCCIÓN

Presión sanguínea es la fuerza ejercida por la sangre contra cualquier unidad de área de la pared del vaso (Guyton, 2001). La regulación de la presión sistémica comprende relaciones complejas entre los sistemas cardiovascular, endocrino, renal y adrenérgico central y periférico (Ettinger, 2002).

En humanos la presión arterial en la arteria braquial de los adultos jóvenes sentados en reposo es cercana a 120/70 mm/Hg. La presión arterial es el producto del gasto cardíaco y la resistencia periférica, y se modifica por situaciones que afectan a uno o ambos factores (Ganong, 2006).

Hipertensión arterial (HTA) es la elevación sostenida de la presión arterial sistémica (Ganong, 2006). Según el Ministerio de Salud (1995) los valores de HTA en adultos con edad igual o superior a 18 años, pueden clasificarse en diferentes estadios según la gravedad (Tabla 1):

Tabla 1. Clasificación de la hipertensión arterial. Según Ministerio de Salud Chile.

| ESTADIO | PRESION SISTOLICA | PRESION DIASTOLICA |
|---------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 ó Ligera | 140-159 mmHg | 90-99 mmHg |
| 2 ó Moderada | 160-179 mmHg | 100-109 mmHg |
| 3 ó Grave | 180-209 mmHg | 110-119 mmHg |
| 4 ó Muy grave | Igual o superior a 210 mmHg | Igual o superior a 120 mmHg |

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud 16,7 millones de personas mueren cada año en el mundo por enfermedades cardiovasculares. Esta cifra equivale a la tercera parte de las muertes a escala mundial (OMS, 1996),

La prevalencia estimada de la HTA en América Latina y el Caribe es de 8 a 30%. Debido a que se utilizan diversos criterios para el diagnóstico de HTA y a que los procedimientos para el muestreo de datos no suelen ser uniformes, la información obtenida varía considerablemente desde el nivel nacional al regional o local. Del análisis de la información obtenida llama la atención el desconocimiento de las personas encuestadas en relación a HTA y los porcentajes tan bajos de personas hipertensas en tratamiento o control (Hassell, 2005).

En Medicina Veterinaria los avances en el estudio de la HTA están restringidos a los países más desarrollados y a algunos centros de referencia en nuestro país. A pesar de esto, hay antecedentes que indican que el problema no es menor en nuestras especies domésticas (Torres, 2002).

Diversos factores, incluyendo edad y raza, influyen en las medición de la presión sistólica, diastólica y media en los perros sanos. Sin embargo, no hay claridad con respecto a que nivel la presión arterial se considera anormalmente elevada. (Nelson y Couto, 2000). Además la HTA, que se acompaña con incremento de la morbimortalidad, todavía debe ser bien definida en caninos y felinos (Ettinger, 2002).

Algunos autores como Wingfiel (1999) señalan que la HTA en medicina veterinaria se define como una presión arterial sistémica que se repite en condiciones de reposo; con valores mayores a 200/110 mmHg (sistólica/diastólica) para el perro y 190/140 mmHg (sistólica/diastólica) para el gato. Ettinger (2002) coincide y destaca que la presión sistémica en perros y gatos despiertos no entrenados normalmente no supera los 180/100 mmHg (sistólica/diastólica); además menciona que la HTA moderada a intensa ($\geq 200/110$ mmHg) es de importancia clínica, ocasiona patologías y debería ser tratada. Sin embargo, en el perro, la mayoría de los autores reconocen como HTA, cifras superiores a los 160 mm de Hg en presión sistólica y/o 95 mm de Hg. en presión diastólica. (Tabla 2)

Tabla 2. Valores de presión arterial e hipertensión arterial (sistólica y diastólica) en perros y gatos según diversos autores.

| | PERRO | | GATO | |
|--------------------------------|-----------|------------|-----------|------------|
| | Sistólica | Diastólica | Sistólica | Diastólica |
| PRESION ARTERIAL (mmHg) | | | | |
| Según Ettinger (2002) | 180 | 100 | | |
| Según Nelson y Couto (2000) | 150 | 86 | 104 | 73 |
| Según Wingfiel (1999) | 100 - 160 | 80 - 120 | 120 - 150 | 70 - 130 |
| Según Newman (1997) | 147 | 83 | 160 | 100 |
| HIPERTENSION (mmHg) | | | | |
| Según Ettinger (2002) | 200 | 110 | | |
| Según Nelson y Couto (2000) | 202 | 116 | 161 | 125 |
| Según Wingfiel (1999) | 200 | 110 | 190 | 140 |
| Otros autores | 160 | 95 | | |

La HTA, en perros y gatos afecta mas a los machos (76.7 % en perros y 63 % en gatos), la edad promedio de los perros hipertensos es menor ($8,9 \pm 3,6$ años), que en los gatos hipertensos ($15,1 \pm 3,8$).¹

Los perros y gatos con HTA moderada a intensa por lo usual tienen edad media o avanzada. La HTA puede ser primaria (ideopática o esencial) cuando no se identifica una causa específica o secundaria a ciertas enfermedades subyacentes (por lo usual renales, adrenales o tiroideas). El daño del órgano blanco (órgano terminal) se refiere a los cambios patológicos hallados en los tejidos que reciben sangre a presión elevada. La prevalencia de HTA en perros y gatos es aún incierta debido a que la medición de la presión arterial no es parte de la rutina de un examen clínico (Ettinger, 2002).

¹: <http://www.avepa.org/premios/cientif/99/articulo/htm> (27 noviembre 2007)

En humanos es más frecuente la HTA esencial y la HTA secundaria es más frecuente en pequeños animales (Ettinger, 2002). En animales la hipertensión primaria o esencial se reconoce con escasa frecuencia, y es un diagnóstico por exclusión, pero en caninos se ha reportado la hipertensión esencial hereditaria (Nelson y Couto, 2000).

Según Newman (1997), las causas de HTA más frecuentes en perros y gatos son:

- ❖ Perros: fallas renal crónica e hipertiroidismo
- ❖ Gatos: hiperadrenocortisismo (enfermedad de Cushing) y falla renal crónica.

Birchard (2000) considera que las asociaciones clínicas más frecuentes a HTA son:

- ❖ Enfermedad renal (especialmente, enfermedad glomerular)
- ❖ Feocromocitoma (tumor productor de catecolaminas de la médula suprarrenal)
- ❖ Trastornos del sistema nerviosos central (SNC)

Según Nelson y Couto (2000) las complicaciones más comunes de la HTA son:

- ❖ Oculares: ceguera, hemorragia (retiniana, vitrea, hifema), desprendimiento de retina, glaucoma y ulceraciones corneanas secundarias.
- ❖ Neurológicas: accidente cerebrovascular, convulsiones y síncope.
- ❖ Renales: poliuria/polidipsia y deterioro adicional de la función renal.
- ❖ Cardíacas: hipertrofia ventricular izquierda y soplo.
- ❖ Otros: epistaxis.

Littman (1994), señala que la ceguera es el signo clínico más frecuente en perros y gatos afectados de HTA, además menciona que la hemorragia retiniana es un hallazgo oftalmoscópico más frecuente que el desprendimiento de retina, que es un hallazgo clínico de algunos cuadros de HTA descompensada. Los signos oculares asociados a la HTA ocurren como resultado de la ruptura de pequeños vasos sanguíneos y efusión vascular. Los animales que presentan retinopatías hipertensivas, a menudo presentan niveles de hipertensión de hasta 200 mmHg (Cook y Mughannam, 1998).

La necesidad de estudiar la fisiopatología de la HTA y su posible tratamiento a llevado a desarrollar diversos procedimientos para producir hipertensión sostenida en animales de experimentación entre ellos encontramos variados métodos algunos más invasivos que otros.

En relación con los procedimientos experimentales utilizados para producir HTA, estos implican la manipulación de los riñones, el sistema nervioso o las glándulas suprarrenales. Además, hay cepas de ratas que desarrollan hipertensión en forma espontánea (ratas SHR) o cuando se alimentan con una dieta rica en Na⁺ (ratas Dahl sensibles a la sal) (Ganong, 2006).

Se han desarrollado diversos métodos experimentales para generar HTA, uno de los métodos más ampliamente usados en la actualidad es la administración de L-NAME (L-nitro arginina metil éster), molécula que actúa como inhibidor de la enzima óxido nítrico sintasa, provocando de esta manera un desbalance entre el óxido nítrico (ON) y angiotensina II, modificándose este balance a favor de la vasoconstricción (Moncada, 1991)

El ON es producido por el endotelio a partir de la oxidación del aminoácido L-arginina por una familia de enzimas llamadas ON sintasas (NOS), es un gas liposoluble que difunde y atraviesa con facilidad las membranas celulares y tiene efecto vasodilatador (Nava, 2002). El ON ha sido implicado en diversos procesos fisiológicos incluyendo: relajación del músculo liso, inhibición de la agregación plaquetaria, neurotransmisión, regulación inmune y erección del pene (Leiva y col, 2000).

El efecto vasodilatador de esta molécula es estimulado por diferentes factores como: hipoxia, flujo sanguíneo, tensión de estiramiento, histamina, noradrenalina, bradikinina, y PGI₂; es inhibido a su vez por las endotelinas. El ON es liberado continuamente en condiciones basales, pero el endotelio incrementa su liberación en respuesta al estímulo de sustancias como acetilcolina, bradikinina, difosfato de adenosina e histamina; es importante recordar que en condiciones fisiológicas el estímulo más importante para su liberación lo constituye el efecto de cizalla sobre las células endoteliales debido a un incremento en el flujo de sangre. Se han identificado además inhibidores de la síntesis de ON entre los cuales se destacan: la hemoglobina, el azul de metileno y la N-monometil-L-arginina (L-NMMA) (Leiva y col, 2000).

El ON ejerce importantes efectos en algunos determinantes fisiológicos de la presión arterial incluyendo la regulación central simpática del flujo y la regulación renal del balance de sodio en respuesta a perturbaciones de la tensión arterial o del volumen de fluido extracelular (Leiva y col, 2000).

Una evidencia más del papel fisiológico del ON es la observación de que cuando se administran varios derivados de la arginina que inhiben la sintasa de ON, a animales de experimentación, hay un incremento rápido de la presión arterial. Esto sugiere que la liberación tónica del ON es necesaria para mantener la presión arterial normal (Ganong, 2006).

En los modelos de hipertensión inducida por la inhibición crónica del ON, se altera la capacidad renal de excreción de sodio y se incrementa la resistencia renovascular en ausencia de cambios en la presión arterial sistémica este estado patológico es frecuente en pacientes hipertensos (Lahera, 1997). Actualmente se realizan estudios con el fin de probar la capacidad de los fármacos de atenuar el daño renal del estado hipertensivo (Fortepiani y col, 1999). En relación a lo anterior sería interesante probar la capacidad de protección renal de los compuestos fitoterápicos en los modelos de animales hipertensos con L-NAME.

A nivel renal, L-NAME elimina la influencia natriurética del ON, contribuyendo a la retención de sodio con elevación de la presión sanguínea, además se reduce la tasa de filtración glomerular y se registra un aumento de la actividad de renina plasmática (Szentivanyi, 2000).

El L-NAME inhibe la óxido nítrico sintasa (eNOS), ésta última se encuentran en las caveólas junto a la calmodulina la cual es una proteína ligadora de calcio que interviene en numerosos procesos bioquímicos y fisiológicos, incluidas la contracción muscular y la liberación de noradrenalina. La eNOS permanece inactiva mientras está unida a una

fosfoproteína de la caveola, la caveolina. Cuando aumenta el calcio intracelular éste se fija a la calmodulina y el complejo calmodulina-calcio se une a la eNOS, la desplaza de la caveolina y queda libre para sintetizar ON (Nava, 2002).

En los últimos años han encontrado evidencias indirectas acerca del defecto en la producción de ON como causa de alteraciones en la función vascular que caracteriza a muchas enfermedades vasculares incluyendo la hipertensión experimental en animales y en humanos; todo lo cual permite plantear que en algunos casos de HTA esencial, el problema radica en una insuficiente vasodilatación más que en una excesiva vasoconstricción. Estudios recientes sugieren que la producción total de óxido nítrico (ON) está disminuida en pacientes con HTA esencial (Leiva y col, 2000).

El diagnóstico de hipertensión se basa en las mediciones repetidas y reproducibles de la presión arterial elevada y no de los síntomas informados por el paciente, de hecho la hipertensión suele ser asintomática hasta que un daño orgánico manifiesto es inminente o ya se ha presentado (Katzung, 1998).

La hipertensión en animales puede sospecharse a partir de la anamnesis, examen clínico, de laboratorio, radiográficos u otros hallazgos sugestivos de daño orgánico terminal o enfermedades conocidas por cursar con HT secundaria (Ettinger, 2002).

Cuando se toma la presión arterial según Birchard (2000) es necesario considerar que existe un aumento de la presión en los animales excitados; que las pequeñas diferencias entre los miembros anteriores y posteriores son normales en muchos animales y que el tamaño del manguito (diámetro) es fundamental para evitar la hiperestimación (manguito demasiado pequeño) o la hipostimación (manguito demasiado ancho).

Existen diversos métodos para medir presión arterial, los cuales se dividen en métodos directos e indirectos:

- ❖ Los métodos directos pueden realizarse mediante la punción arterial con una aguja o un catéter conectado a un transductor de presión y monitor. En el animal consciente, no entrenado, la ansiedad o dolor por la sujeción y luego la inserción de la aguja pueden aumentar la tensión sanguínea (Ettinger, 2002).
- ❖ Los métodos indirectos como Doppler (Doppler, Flor Detector, Parks Electronics), oscilométrico (Dinamap, Criticón) o fotopleletismográfico (Finapres, Ohmeda) no son invasivos, y poseen un manguito que contrae una arteria periférica y emplean un transductor ultrasónico distal al manguito para detectar el flujo sanguíneo o movimiento mural arterial (Ettinger, 2002).

Según Mucha y Camacho (2005)¹ es recomendable emplear métodos no invasivos en la medición de la presión arterial. Las correlaciones entre sistemas directos e indirectos en general son buenas, aunque los indirectos pueden subestimar a los directos simultáneos en 8 – 14 mmHg. (Ettinger, 2002).

¹: <http://www.mevepa.cl/modules.php?name=News&file=article&sid=738> (16 abril 2008)

Los lugares más comunes para medir la PA son la base de la cola (arteria coccígea), el miembro anterior (proximal del carpo, arteria mediana); o bien distal del carpo, (arteria digital palmar); y el miembro posterior (rama craneal de la safena); o bien distal del corvejón (arteria plantar medial) (Mucha y Camacho, 2005)¹. El ancho del manguito debe ser del 30 – 40% de la circunferencia del miembro (uno muy grande puede dar lecturas bajas falsas y viceversa) (Ettinger, 2002).

En cuanto al tratamiento de la hipertensión, Birchard (2000) menciona que no se dispone de grandes estudios de eficacia terapéutica en animales. Según Galiana y Gil (2000) El objetivo principal del tratamiento en un paciente hipertenso es producir un descenso estable de la presión arterial, y disminuir el riesgo absoluto de aparición de enfermedades, o muerte prematura, secundaria a la enfermedad vascular. El riesgo que se produzca una complicación cardiovascular depende de numerosos factores, como son la edad, el sexo, la existencia de enfermedades previas, otros factores de riesgo, así como la propia gravedad de la hipertensión. Por lo tanto, el tratamiento correcto de la hipertensión, afectará el riesgo absoluto para cada paciente solamente de forma parcial. Razón por la cual, el uso de antihipertensores debe hacerse siempre en el contexto de un enfoque terapéutico multifactorial.

El manejo de la dieta en animales hipertensos es una parte importante del tratamiento global de pacientes con enfermedad cardiaca. Las dietas controladas tienen por finalidad producir una restricción de sodio y control de la debilitación y pérdida de peso (caquexia cardiaca); a menudo el control de la dieta es instauradas temprano en la patogénesis de la enfermedad cardiaca, antes que los signos clínicos sean observados o la terapia farmacológica empiece (Wanamaker, 2000).

Una limitación pequeña de sodio en la dieta es razonable, siempre que se ingiera la dieta y se mantenga la ingestión calórica. Sin embargo, no se recomienda o aconseja tratar de controlar la HTA severa solo controlando la dieta; el manejo de la dieta debe considerarse como una adición al tratamiento con fármacos antihipertensivos. La presión arterial puede disminuirse farmacológicamente, reduciendo el gasto cardiaco o dilatando las arteriolas sistémicas. En general el tratamiento de la hipertensión sistémica incluye un planteamiento gradual, empezando con una dosis pequeña de un fármaco, aumentando la dosis hasta el efecto deseado, según necesidad, o añadiendo otros medicamentos cuando es preciso. Es importante tener en consideración las posibles interacciones farmacológicas al prescribir varios fármacos (Birchard, 2000).

La hipertensión representa un problema único en la terapéutica. Suele ser una enfermedad de por vida, que ocasiona algunos síntomas hasta que alcanza la etapa avanzada. Para un tratamiento eficaz, deben tomarse a diario medicamentos costosos y que con frecuencia producen efectos adversos. Una vez que se decide instaurar un tratamiento, debe establecerse un régimen terapéutico. La selección de los fármacos se determina por el nivel de la presión arterial y la presencia y gravedad del daño orgánico final, así como la concurrencia de otras enfermedades (Katzung, 1996). En muchos casos resulta más efectiva una combinación de drogas que el empleo de una sola, pues al necesitarse dosis menores se reducen los riesgos de presentación de efectos colaterales indeseados

Las terapias antihipertensivas se fundamentan en una reducción del gasto cardiaco, reducción del volumen sanguíneo o en la reducción de resistencia vascular periférica (Newman, 1997).

Dentro de la amplia gama de fármacos usados para controlar la hipertensión se encuentran:

1.- Diuréticos: deben ser las drogas más usadas en el tratamiento de las alteraciones cardiacas, porque ellos tienen la habilidad de promover la reducción de la precarga debido a la diuresis. Existen diferentes diuréticos, algunos trabajan inhibiendo la reabsorción de sodio y agua en el Asa de Henle o en los túbulos distales. Si los iones de sodio no se absorben y quedan en los túbulos, estos ejercen un incremento osmótico reteniendo agua lo que aumenta la diuresis. Ejemplo de ellos son furosemide y las tiazidas.

2.- Drogas vasodilatadores: actúan dilatando arterias, venas, o ambas. (Wanamaker, 2000). Todos los vasodilatadores utilizados en la hipertensión relajan el músculo liso de las arteriolas disminuyendo por tanto la resistencia vascular sistémica (Katzung, 1996). Hay diferentes mecanismos de acción:

a) Bloqueadores adrenérgicos (Prazosin)

b) Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA): (Captopril y enapril)

Como no están disponibles los datos de morbimortalidad, no sabemos si se justifica el tratamiento de la HTA leve o limítrofe comúnmente notada en animales con enfermedad renal o hiperadrenocortisismo (60%), glomerulopatía (80%), hipertiroidismo (87%) o diabetes mellitus (51%). Si el daño orgánico terminal es evidente o se identifica una HTA moderada a intensa ($\geq 200/110$ mmHg), la terapia se administra para reducir la presión un 20% o, si es posible, hasta menos de 160/100 mmHg. El control de la HTA se alcanza con el uso simple o combinado de un inhibidor de la ECA (para reducir la resistencia periférica, volumen minuto) como enapril (Enacard, Vasotec, 0,5 mg/kg cada 12 – 24 horas) (Ettinger, 2002).

Diversos estudios han demostrado que en las terapias antihipertensivas hay un importante porcentaje de efectos adversos que se manifiestan frente a una incorrecta determinación de la dosis adecuada y sumado a las características de este tipo de pacientes (Hoes, 1995; Psaty, 1995; Cohen, 2001).

Debido al no muy favorable escenario que enfrenta la farmacología tradicional relacionada con la hipertensión, a causa de sus múltiples complicaciones originadas a partir de los mecanismos de acción, dosis y reacciones adversas, surge desde hace un tiempo atrás la idea de considerar la utilidad de las plantas como posibles agentes de salud. Es ahí donde la Fitoterapia toma un lugar importante dentro de las alternativas para tratar patologías tan complejas como lo es la hipertensión. Por esta razón se hace necesario indagar cada vez más en las propiedades de diversas plantas. Las plantas como organismos vivos son capaces de elaborar, a partir de compuestos sencillos, estructuras moleculares propias y características, a veces muy complejas. Cada especie vegetal es una creación original: sintetiza, elabora, transforma y degrada sustancias químicas de acuerdo a su peculiar especificidad biosintética.

La “fitoterapia” es un término griego (Phytos: planta y Terapia: tratamiento), que corresponde a la ciencia del tratamiento de las enfermedades por medio de las plantas o sustancias vegetales. (Briones, 1990)

La fitoterapia es el uso de especies vegetales en la prevención y tratamiento de enfermedades en especies animales. Es quizás la técnica de curación más antigua en la historia de la humanidad. Antes de la era moderna, constituía la principal forma de tratamiento y era practicada ya por las civilizaciones primitivas. En la última década se ha observado un renacer de la fitoterapia, con su incorporación definitiva en la ciencia médica oficial. Esto ha sido posible gracias al inmenso caudal de conocimientos generados recientemente sobre la acción farmacológica de diversos compuestos naturales aislados de las plantas. Estudios en fisiología vegetal, química, bioquímica y ecología, entre otras disciplinas permiten comprobar ahora científicamente, lo que antes era solamente un conocimiento empírico (Briones, 1990).

El uso de las algas marinas como alimento humano y como fertilizante en agricultura data de muchos siglos atrás. Además de eso, las algas han sido explotadas desde hace ya más de un siglo como fuente de coloides que son usados exitosamente y con un amplio espectro de posibilidades como espesantes, gelificantes y estabilizantes en la industria alimentaria. Sin embargo, es desde hace aproximadamente 30 años que las algas marinas han sido reconocidas como fuentes potenciales de sustancias con propiedades farmacológicas (Pelegrín, 2001)¹.

En relación al uso de las algas pardas como fitoterápicos Álvarez (1996) realizó un estudio sobre el efecto del extracto de *Durvillaea antarctica* sobre la presión arterial, la frecuencia cardíaca y la frecuencia respiratoria en ratas normotensas, el método utilizado para medir la presión arterial consistió en la introducción de una cánula a través de la arteria carótida. Los resultados demostraron un efecto hipotensor de *Durvillaea antarctica*, lo que sirvió de base para el presente estudio ya que se hace necesario evaluar el efecto de esta alga en ratas hipertensas, esta vez con un método de medición no invasivo como el Doppler.

Durvillaea antarctica pertenece a la división Phaeophyta (algas pardas), orden Durvillaeales, familia Durvillaeaceae, género Durvillaea. *Durvillaea antarctica* es grande de hasta 15 m. de largo, de color pardo verdoso o pardo amarillento, superficie lisa y consistencia carnosa, elástica y firme. Esta alga, se encuentra a lo largo de toda la costa de Chile, se distribuye entre Cabo de Hornos y Antofagasta, pero su abundancia varía, siendo mayor hacia el sur. Se encuentra también en Nueva Zelanda, Argentina (Tierra del Fuego), Islas Malvinas, Islas Heard y McDonald. Es decir, la especie tiene una distribución subantártica (Hoffmann y Santaelices, 1997).

Durvillaea antarctica es un alga parda intermareal y es de especial importancia pues es explotada comercialmente como fuente de alginato, goma usada como aditivo alimenticio. Además de eso, esta especie posee importantes cantidades de polisacáridos sulfatados por lo que ha sido seleccionada para probar la actividad anticoagulante. La hidrólisis total del

polisacárido sulfatado de *Durvillaea antarctica* mostró una estructura heterogénea: 55.8% de carbohidratos (fucosa es el más abundante), 23.5% de sulfatos, 4.22% de ácidos urónicos y 0.14% de proteínas (Pelegrín, 2001)¹.

Un estudio realizado por Gómez y Westermeier (1995) sobre contribuyentes orgánicos y contenidos energéticos de algas marinas pardas al sur de Chile y de la Antártica, reporta la macrocomposición de *Durvillaea antarctica*, expresado como porcentaje de su peso seco: proteína 10%, lípidos 0,5%, carbohidratos solubles 3,96%, manitol 9,1%. Los contenidos de energía fueron: energía total 12,09 Kj, energía libre de ceniza 17,24 Kj.

Respecto a la composición química, el alginato está formado por dos tipos de monosacáridos, ambos con un grupo ácido, el ácido manurónico y el ácido gulurónico. La cantidad de alginato depende también del grado de desarrollo del alga, las algas más jóvenes tienen menor contenido de alginato, y con menor viscosidad y capacidad gelificante, que las algas maduras (Calvo, 2007)².

El presente estudio tiene por finalidad evaluar el efecto antihipertensivo de *Durvillaea antarctica*, así como también profundizar y complementar estudios anteriores en que se demostró su efecto hipotensor, aportando información que permita evaluar la posible utilización de esta alga como un fitoterápico en alteraciones orgánicas en que exista hipertensión arterial.

Este estudio trata de dar un enfoque hacia la medicina animal. La idea principal es dar pie al inicio de investigaciones, que se puedan extrapolar a los animales domésticos, pues la información al respecto es escasa, lo que dificulta aún más la implementación de tratamientos en base a diagnósticos precisos, debido a que la evaluación o medición de la presión arterial no es un procedimiento de rutina dentro del examen clínico del paciente, hecho relevante ya que muchas veces es la hipertensión la causa primaria de otras enfermedades.

En base a los antecedentes descritos, se planteó como hipótesis de trabajo que el extracto de *Durvillaea Antarctica* disminuye la presión arterial en ratas con hipertensión inducida L-NAME.

El objetivo planteado para el presente trabajo es el de valorar el efecto antihipertensivo del extracto de *Durvillaea antarctica* en ratas con hipertensión inducidas L-NAME.

¹: <http://www.cinvestav.mx/Portals/0/Publicaciones%20y%20Noticias/Revistas/Avance%20y%20perspectiva/septoct01/2%20ALGAS.pdf> (16 abril 2008)

²: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/alginate.html> (16 abril 2008)

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1 Material Biológico

Se usaron 22 ratas hembra, Sprague Dawley procedentes del Bioterio de la Universidad Católica de Chile. Las cuales tenían un peso promedio en el inicio del estudio de 218 g para finalizar con un peso promedio de 244 g.

4.1.2. Material Farmacológico

- Extracto etanólico de *Durvillaea antarctica* al 7,7% de alcohol.*
- N-nitro-L-arginina-metil éster (L-NAME).
- Solución etanólica al 7,7%.

4.1.3. Material para evaluar presión arterial

- Equipo de ultrasonido DOPPLER (Parks Medical Electronic Inc. Modelo 811-B).
- Esfigmomanómetro y manguito inflable.
- Gel para ultrasonido.
- Fuentes de calor.
- Cubículo de inmovilización.

4.1.4. Otros materiales:

- Balanza Soehnle.
- Jeringas.
- Sondas bucoesofágicas.
- Guantes.

* Extracto proporcionado por Laboratorio Knop.

4.2 MÉTODOS

4.2.1. Condiciones previas de las series experimentales

Previo a la selección, diariamente y durante 3 días, se midió en la totalidad de las ratas la presión arterial sistólica (PAS) en la base de la cola, por medio de un método no invasivo, utilizando un esfigmomanómetro y un equipo de ultrasonido Doppler (Parks Medical Electronic Inc. Modelo 811-B), con la finalidad de verificar su condición de normotensas.

4.2.3. Condiciones experimentales

Las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en 2 series de 11 ratas cada una. Cada rata fue marcada en la base de la cola con el fin de identificarla.

Los animales se mantuvieron en jaulas colectivas bajo condiciones ambientales controladas, ciclos de luz-oscuridad alternados de 12 horas. La temperatura se mantuvo entre 18 y 22°C y la alimentación fue con pellet estandarizado para rata y agua ad-libitum.

4.2.4. Series experimentales

Serie 1 Control: L-NAME al 0,5% en dosis de 25 mg/kg de peso vivo, en volumen de 0,5 ml /100g de peso vivo, desde día 1 hasta el día 17.

Desde el día 8 hasta el día 14 se administró además etanol al 7,7% (el solvente del extracto), en volumen de 0,5 ml /100g de peso vivo, vía sonda bucoesofágica.

Serie 2 Experimental: L-NAME al 0,5% en dosis de 25 mg/kg de peso vivo en volumen de 0,5 ml /100g de peso vivo desde día 1 hasta el día 17.

Desde el día 8 hasta el día 14 se administró además extracto de *Durvillaea antarctica* (diluido en etanol al 7,7%), en dosis de 40 mg/kg de peso, en volumen de 0,5 ml/100 g de peso vivo, vía sonda bucoesofágica.

4.2.2. Periodo de experimentación

1. Periodo de inducción de hipertensión arterial en ambas series: (días 1 a 7): Administración de N-nitro-L-arginina-metil éster (L-NAME) mediante sonda bucoesofágica en dosis de 25 mg/kg día. La presión arterial se midió día por medio (día 1, 3, 5 y 7).

2. Periodo de valoración del efecto de *Durvillaea antarctica* sobre la presión arterial: (días 8 a 14): En ambas series se continuó administrando L-NAME, a la serie 1 (control) se le administró solvente etanólico al 7,7%, y a la serie 2 se le administró extracto etanólico de *Durvillaea antarctica*. La presión arterial se midió día por medio previo a la administración del solvente o *Durvillaea antarctica* (día 8, 10, 12 y 14).

3. Periodo de valoración de la mantención del efecto sobre la presión arterial: (días 15 a 17): A partir del día 15 de experimentación y durante 3 días se suspendió la administración del extracto etanólico de *Durvillaea antarctica* y de la solución etanólica al 7,7%. Se mantuvo la administración de L-NAME en las dos series. En esta etapa la presión arterial se midió diariamente.

La medición de la presión arterial sistólica se realizó en la cola de cada una de las ratas, previamente se colocaron en un cubículo inmovilizador que facilitó el manejo. Se utilizó un método no invasivo mediante un equipo de ultrasonido DOPPLER, Parks Medical Electronic Inc. Modelo B-811 (foto 1), a través del cual se envía una señal por un cristal ubicado en la punta de un transductor. El Doppler es siempre una señal de audio con un tono proporcional a la velocidad del flujo y el volumen auditivo es proporcional a la cantidad de sangre. Los valores fueron registrados individualmente y se consideraron hipertensas a las ratas cuyas presiones se mantuvieron por 2 días consecutivos sobre 150 mm/Hg, valores de referencia descritos por Álvarez (1996), Yutronic (2001) y Torres (2002).

Las ratas se pesaron en una balanza Soehnle previo a la administración, cada vez que el producto fue administrado, el peso se expresó en gramos.

4.2.3. Procedimiento estadístico:

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

A continuación se detalla la metodología estadística aplicada en el análisis de los resultados de este estudio.

- 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 Bartlett aplicada para comprobar que las varianzas entre las series fueran homogéneas (Sokal y Rohlf, 1981).
- c) Análisis de varianza paramétrico (Andeva) de medidas repetidas, cuyo objetivo es comparar promedios de grupos de datos (Spiegel, 1991).
- d) Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, se uso en los casos en que el Andeva paramétrico resultó significativo (Zar, 1999).

El análisis de los resultados se realizó usando el programa computacional estadístico Statistica (versión 7.0)



Foto 1: Etapa de experimentación. Toma de presión.

5. RESULTADOS

5.1. PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA (PAS)

5.1.2. Análisis interserie durante el periodo de inducción de hipertensión arterial (primer periodo). (Gráfico 1, anexo 2).

Durante este periodo (día 1 a 7) no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre la serie 1 control y la serie 2 experimental. Se evidencia un aumento constante de la PAS promedio en ambas series; en la serie 1 ($128,55 \pm 4,46$ a $154,45 \pm 5,07$) y en la serie 2 ($129,27 \pm 4,56$ a $155,27 \pm 5,39$).

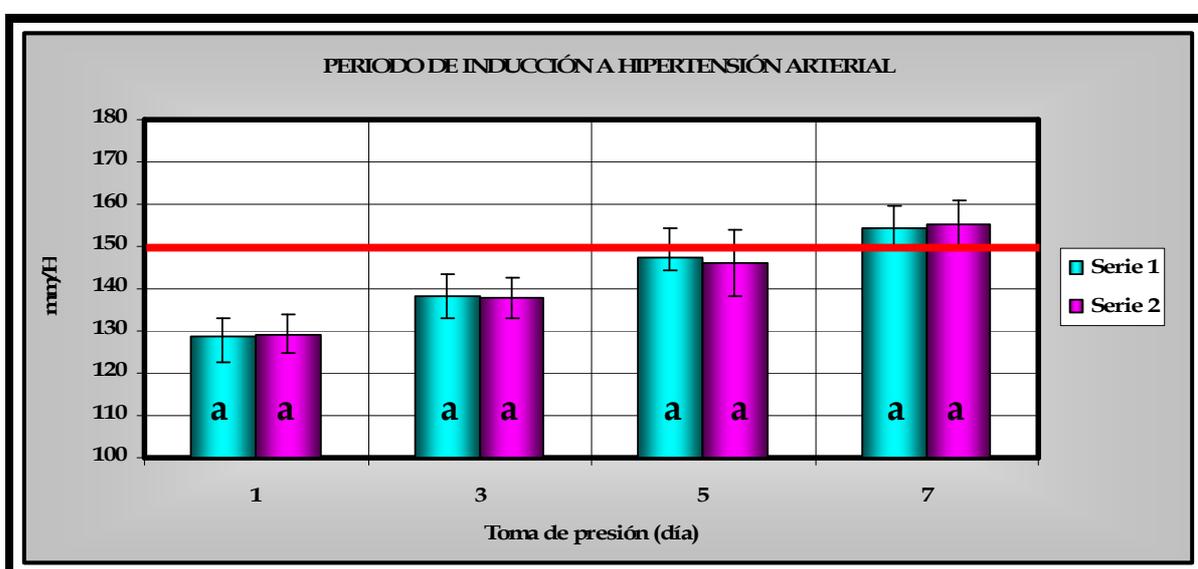


Gráfico 1: Presión arterial sistólica promedio (PASP) en mm Hg \pm DE en ratas para las series en estudio, del periodo de inducción hipertensión. Letras minúsculas iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.1.3. Análisis interserie durante el periodo de valoración del efecto antihipertensivo (segundo periodo). (Gráfico 2, anexo 3).

Día 8 y 10: no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre la PASP serie 1 control L-NAME y la serie 2 experimental. La PAS el día 8 para la serie 1 fue de $160,09 \pm 3,51$ mmHg y para la serie 2 de $161,45 \pm 5,39$ mmHg. El día 10 la PAS para la serie 1 fue $162,36 \pm 2,64$ mmHg y en la serie 2 de $158,09 \pm 4,50$ mmHg.

Día 12: se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre la serie 1 control (PAS $165,82 \pm 3,12$) y la serie 2 experimental (PAS $151,18 \pm 4,02$).

Día 14: se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre la serie 1 control (PAS $167,36 \pm 2,8$) y la serie 2 experimental (PAS $146,09 \pm 5,38$).

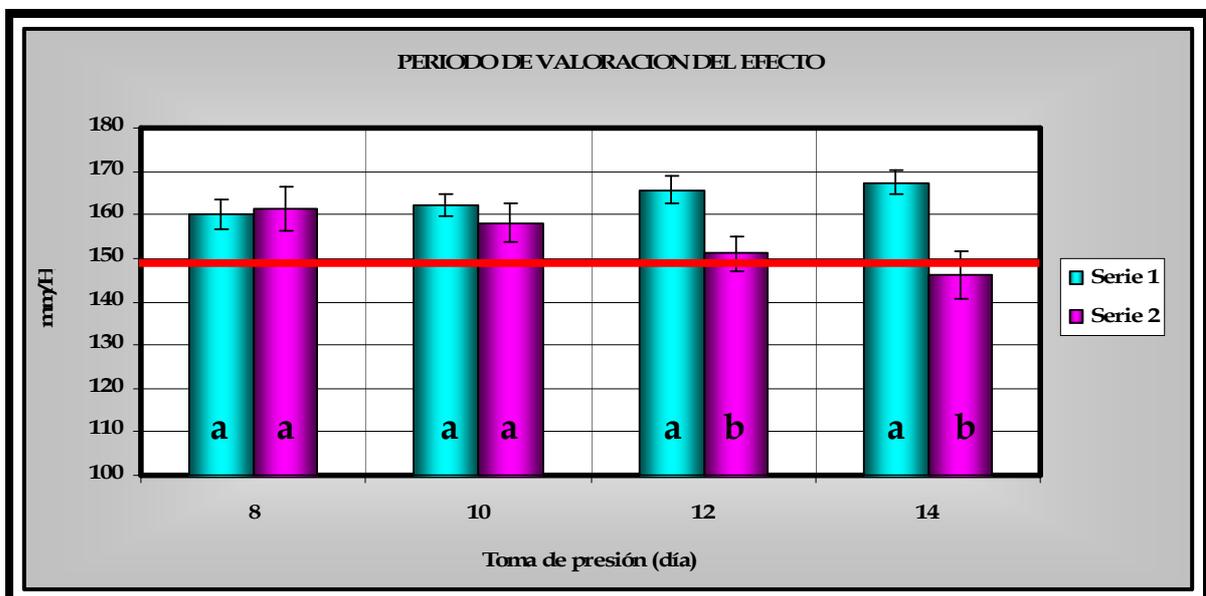


Gráfico 2: Presión arterial sistólica promedio (PASP) en mm Hg \pm DE en ratas, para las series en estudio del periodo de valoración del efecto antihipertensivo. Las letras minúsculas diferentes indican que hay diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$)

5.1.4. Análisis interserie durante el periodo de mantención del efecto antihipertensivo (tercer periodo). (Gráfico 3, anexo 4)

Día 15: se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre la serie 1 control (PAS $169,64 \pm 3,35$) y la serie 2 experimental (PAS $142,64 \pm 5,10$).

Día 16: se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre la serie 1 control (PAS $171,00 \pm 2,68$) y la serie 2 experimental (PAS $147,18 \pm 4,49$).

Día 17: se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre la serie 1 control y la serie 2 experimental. La PAS promedio fue de $172,36 \pm 2,42$ para la serie control y $150,18 \pm 8,01$ para la serie experimental.

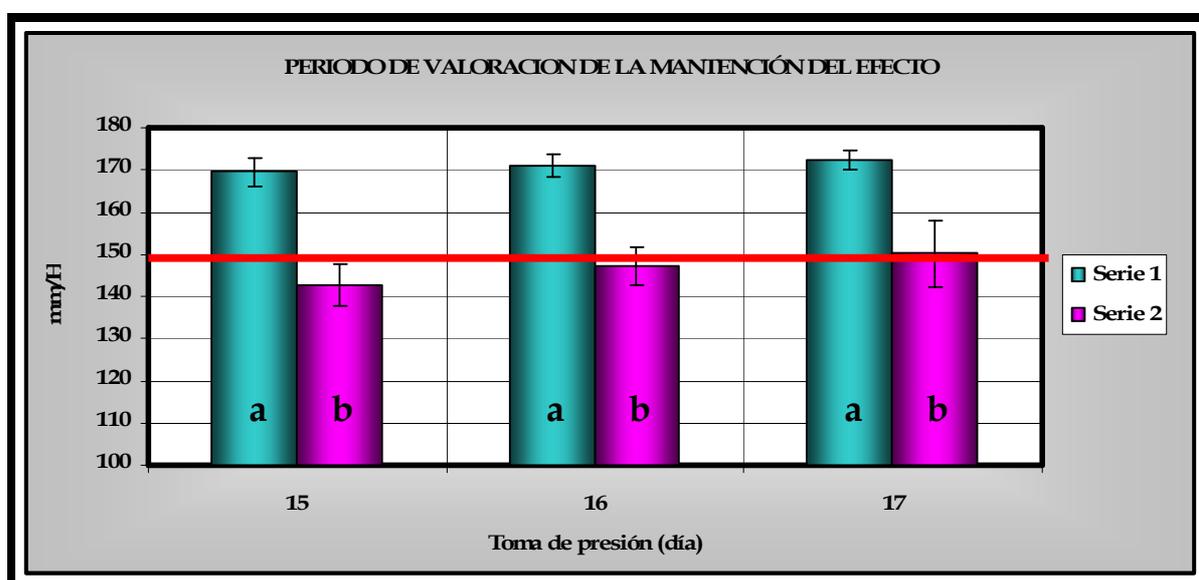


Gráfico 3: Presión arterial sistólica promedio (PASP) en mm Hg \pm DE en ratas, para las series en estudio, del periodo de mantención del efecto antihipertensivo. Las letras minúsculas diferentes indican que hay diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$)

5.1.5. Variación de la PASP durante el experimento.

El comportamiento de la curva en ambas series es similar hasta el periodo 2 (inducción de HTA), posteriormente la serie experimental expresa una disminución de la HTA la cual se hace significativa desde el día 12 en adelante, lo que incluye el periodo de valoración del efecto, donde si bien la serie 2 muestra un aumento de la presión arterial su valor sigue siendo notoriamente menor que el de la serie control

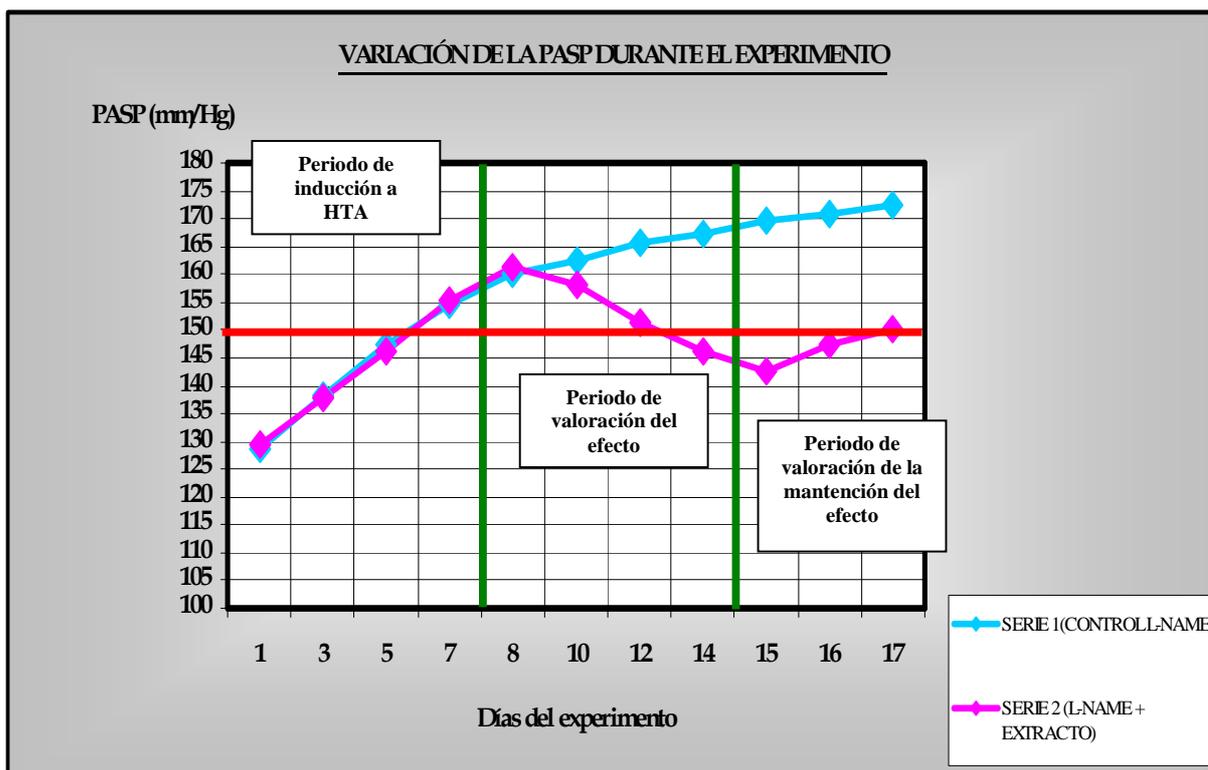


Gráfico 4: Variación de la presión arterial sistólica promedio (PASP) de las dos series de ratas en estudio, expresada en mm de Hg, durante el desarrollo del experimento (día 1 al 7, periodo de inducción de la hipertensión; día 8 al 14 valoración del efecto antihipertensivo; día 15 al 17, valoración de la mantención del efecto antihipertensivo).

6. DISCUSIÓN

6.1. PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA NORMAL.

En el primer día del presente estudio, previo a la administración de L-NAME, se obtuvieron valores de presión arterial sistólica promedio (PASP), a través del método de ultrasonido Doppler, de $128,55 \pm 4,25$ para la serie 1 y de $129,27 \pm 4,35$ mmHg para la serie 2, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (anexo 4 y 5). Valores similares han sido obtenidos utilizando el mismo método de medición de la presión arterial y la misma cepa de ratas, en diversos estudios realizados en el Instituto de Farmacología, de la Universidad Austral de Chile, por Cárcamo (2000) $127,26 \pm 0,53$ mmHg, Gallardo (2001) $124,0 \pm 1,03$ mmHg, Pantanalli (2001) $135,0 \pm 1,62$, Yutronic, (2001) $134,6 \pm 4,28$ y Torres (2002) $129,16$ mmHg.

Otros estudios mencionan para ratas valores de PASP de $120 \pm 1,9$ (Frans y col., 1971) de 116 mmHg (Baker y col., 1979) de 127 ± 2 mmHg (Bouriquet y Casellas, 1996), y de $129,2 \pm 2,7$ mmHg (Arribas y McGrath, 1997).

6.2. INDUCCIÓN DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL CON L-NAME (N-NITRO L-ARGININA METIL ESTER). (PRIMER PERIODO).

L-NAME en dosis de 25mg/Kg/día vía oral, generó al día 7 hipertensión en ambas series de ratas sin presentar diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$); alcanzando valores de PASP de $154,45 \pm 4,83$ para la serie 1 y de $155,27 \pm 5,14$ para la serie 2. En otros estudios, en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile, en que se utilizó la misma dosis de L-NAME para inducir HTA y Doppler para la medición de la presión arterial se han obtenido valores similares de PAS $156,2$ mmHg, Cárcamo (2000), $152,8$ mmHg, Yutronic (2001), $150,4$ Torres (2002).

Yamada y col. (1996) obtuvieron una de PAS de 150 mmHg administrando L-NAME en dosis de 25 mg/Kg/día vía oral por un periodo de 10 días. Al igual que Sventek (1997) quien registró una PAS de $189,3$ mmHg con la administración de L-NAME por un periodo de 3 semanas, en agua de bebida.

Otros estudios han descrito aumentos significativos de PAS en ratas, posteriores a la administración de L-NAME, en diferentes dosis y por distintos periodos de tiempo. Arribas y Mc Grath (1997) registran una PAS de $176,2$ mmHg, con dosis de 10 mg/Kg/día e.v. durante un periodo de 3 semanas. Mendizábal (1999) obtuvo una PAS de $171,1$ mmHg, en dosis de 30 mg/Kg/día por un periodo de 4 semanas. Brien (1999)¹ describe la generación de un estado

¹: <http://www.ccc.ca/society/annmeet.program>. (12 Diciembre 2007)

de hipertensión agudo, con un aumento de 38,5 mmHg por sobre la presión normal después de la administración de 100 mg/Kg de L-NAME vía intraperitoneal, en dosis única.

Yutronic (2001) y Torres (2002), mencionan en sus estudios que utilizando una dosis de 25 mg/kg/día de L-NAME se genera un cuadro hipertensivo similar a aquellos que se presentan en los individuos hipertensos. Evitando factores de riesgo presentes en otros métodos como Golblatt, que involucran manipulación quirúrgica y manejo anestésico entre otros.

En base a los antecedentes discutidos se puede atribuir el aumento de la presión arterial en ambas series, a la administración de L-NAME. Fuster y col. (1997), mencionan que L-NAME produce hipertensión arterial por inhibición en la producción del vasodilatador óxido nítrico, además reduce la tasa de filtración glomerular disminuyendo la excreción de sodio urinario y aumentando la actividad de renina plasmática.

6.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *DURVILLAEA ANTARCTICA*, EN RATAS CON HIPERTENSIÓN INDUCIDA CON L-NAME.

La administración de extracto alcohólico de *Durvillaea antarctica* en dosis de 40 mg/kg a las ratas de la serie 2, desde el día 8 al 14 del presente estudio generó una disminución significativa de la PAS a partir del día 12, alcanzándose al día 14 valores de PAS de 146,09 mmHg lo que significa una disminución de la PAS de 15,36 mm Hg.

No se encontraron referencias respecto a estudios que hayan evaluado el efecto antihipertensivo de *Durvillaea antarctica* utilizando la misma metodología. Sin embargo existe un estudio, realizado por Álvarez (1996), quien utilizó *Durvillaea antarctica* en dosis de 12,5mg/Kg. en ratas normotensas, midiendo la presión arterial a través de un método directo e invasivo mediante una cánula a nivel de la carótida, demostrando un efecto hipotensor para el alga, logrando una disminución de la PAS de 30,2 mmHg.

La diferencia en relación a la magnitud de la variación de la presión arterial entre este trabajo y el de Álvarez (1996) que utilizando menor dosis obtuvo mayor efecto sobre la presión arterial podría deberse a que éste realizó las mediciones 30 minutos posterior a la administración del extracto, en cambio en este estudio se realizó 24 horas después de la administración del extracto. Por ende la curva que representa el efecto probablemente se encontraba ya en descenso. Otro factor que podría incidir en esta diferencia, es el modelo animal utilizado por Álvarez (1996) (ratas normotensas), esta diferencia podría ser sustancial si consideramos que se desconoce el mecanismo de acción del alga para ejercer el efecto antihipertensivo, por ende puede sospecharse que el efecto del extracto podría verse afectado al coexistir con un factor hipertensivo paralelo (L-NAME), ya que podrían comportarse como agentes competitivos. Por lo cual el extracto no pueda expresar todo su potencial hipotensor.

Estudios realizados por Takemoto (1965) reportan, que el alga parda *Laminaria sp* presenta un efecto hipotensor, atribuible a un aminoácido básico el cual es depresor de la musculatura contraída.

La disminución significativa de la presión arterial, efecto antihipertensivo, se evidenció el día 12 del experimento, donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre la serie 1 y 2, con una diferencia de PAS entre ambas de 14,64 mmHg, pues la PAS para la serie 1 fue de 165,82 para el día 12 y de 151,18 para la serie 2 el mismo día. Situación que difiere de los resultados obtenidos por Torres (2002) que evaluó el efecto antihipertensivo de extracto n-butanólico de ramas de *tristerix (Phrygilanthus) tetrandus*, obteniendo el día 10 diferencias estadísticamente significativas y con los de Cárcamo (2000) y Pantanalli (2001) quienes probaron extractos de *Allium ampreloprasum* y *Stachytarpheta cayennensis* respectivamente, obteniendo diferencias estadísticamente significativas al día 11 del estudio.

En relación a la magnitud del efecto antihipertensivo de *Durvillaea antarctica* de 15,36 mm Hg, este es inferior al obtenido para *Tristerix (Phrygilanthus) tetrandus* 23,7 mmHg (Torres, 2002) y superior al obtenido para *Allium ampreloprasum*, 8,4 mmHg (Cárcamo, 2000) y para *Stachytarpheta cayennensis* 6,1 mmHg (Pantanalli, 2001). Todos los estudios anteriores utilizaron ratas hipertensas L-NAME y Doppler para medir la presión arterial.

La administración de etanol al 7,7% en ratas hipertensas L-NAME, no generó efecto sobre la presión arterial, cabe señalar que según estudios realizados por Wallgren y Barri (1970) y por Álvarez (1996), el alcohol en cantidades moderadas, como las utilizadas, no altera la presión arterial, gasto cardiaco ni la fuerza de contracción del miocardio.

6.4. EVALUACIÓN DE LA PERSISTENCIA DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DEL EXTRACTO DE *DURVILLAEA ANTARCTICA*.

Es necesario evaluar la persistencia del efecto antihipertensivo, ya que es una de las características básicas para considerar un fármaco como ideal. Generalmente se considera como bueno aquel fármaco que su efecto terapéutico persiste como mínimo durante 24 horas posterior a su administración.

La duración del efecto pos administración para esta alga en estudio fue de 48 a 60 horas aproximadamente, ya que hasta las 72 horas se presenta diferencia estadísticamente significativa con la serie 1 control, sin embargo, ya se comienzan a presentar discretamente niveles de hipertensión de 150,18 mmHg.

Katzung (1996), relata que los fármacos comúnmente utilizados en la medicina tradicional, presentan una duración pos administración dosis dependiente, por ejemplo la acción de enalapril por vía oral se extiende aproximadamente por 11 horas. Existen otros fármacos muy potentes para casos de hipertensión severa y falla renal como el Minoxidil que su acción permanece por casi 24 horas.

En otros trabajos en que se ha usado el mismo método experimental realizados en la Universidad Austral de Chile en el Instituto de Farmacología también se ha evaluado la persistencia del efecto hipotensor diversas plantas; Torres (2002), comprueba la persistencia del efecto antihipertensivo de *Tristerix tetrandus* durante 2 días. Por su parte Gallardo (2001) observa la persistencia del efecto antihipertensivo de *Allium ampreloprasum* durante 3 días, sobre ratas hipertensas renovasculares. De la misma forma investigadores como Al-Qattan y col. (1999) también en un modelo de hipertensión renovascular, comprueban que en el caso de *Allium sativum*, se logra una persistencia del efecto de 24 horas posterior a la administración del extracto acuoso.

De acuerdo con el efecto antihipertensivo demostrado por el extracto etanólico de *Durvillaea antarctica* en el presente trabajo, se acepta la hipótesis planteada de que “el extracto etanólico de *Durvillaea antarctica*, tiene un efecto antihipertensivo en ratas con hipertensión inducida con L-NAME”.

Si bien no existen estudios concretos que traten sobre el mecanismo de acción a través del cual el extracto de *Durvillaea antarctica* ejerce su poder antihipertensivo e hipotensor, podría aventurarse a generar la hipótesis de que el alga lleva a cabo su efecto a través del alginato, componente mayoritario de las algas pardas, el cual posee alta afinidad para unirse a calcio, por ende serviría como captador de calcio intracelular, con lo cual disminuirían los niveles de dicho ion disminuyendo la presión arterial. Sosteniendo que el alginato quela un porcentaje determinado de calcio, esto explicaría que el efecto hipotensor sea mayor al antihipertensor, ya que en el primer caso, el alginato captaría proporcionalmente más calcio intracelular, que cuando existe hipertensión generada por L-NAME, ya que los niveles de calcio en estados normotensos son menores a los existentes en estados hipertensivos, por lo que la disminución de la presión en la última situación sería menor.

En el desarrollo del presente estudio, se presentaron algunas consideraciones válidas de mencionar, como recomendaciones para futuros estudios similares, con el fin de mejorar el modelo experimental. Para una mayor exactitud en la evaluación de la efectividad del extracto se sugiere que la medición se realice a las 12 y 24 horas posterior a la administración, con la finalidad de lograr visualizar parcialmente el comportamiento de la curva del efecto del extracto.

CONCLUSIÓN

Según los resultados obtenidos en el presente trabajo experimental, luego de administrar extracto etanólico de *Durvillaea antarctica* en dosis de 40 mg/Kg/día, vía sonda bucoesofágica, en un volumen de 0,5 ml/100gr de peso vivo, en ratas con hipertensión inducida con L-NAME se concluye que:

- El extracto etanólico de *Durvillaea antarctica* disminuye significativamente la presión arterial sistólica, a partir del día 12 del experimento, manteniendo la disminución hasta el día 14.
- El efecto antihipertensivo se mantuvo por dos días luego de finalizado el tratamiento.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Al-Qattan KK, Alnaqeeb MA, Ali M. 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 antarctica* sobre la presión arterial, frecuencias cardiaca y respiratoria en ratas. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Arribas SM, Mcgrath J. 1997. Cellular changes induced by chronic nitric oxide inhibition in intact rat basilar arteries revealed by confocal microscopy. *Journal of hypertension* 15, 1663-1685
- Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH. 1979. The laboratory rat Vol. 1, 2° ed. Editorial Academia Press Inc. New York. Estados Unidos.
- Birchard S, Sherding R. 2000. Manual clínico de procedimientos en pequeñas especies. 2° ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.
- Bouriquet N, Casellas D. 1996. Chronic L-NAME Preglomerular sudanophilia in L-NAME hypertensive rats: involvement of endothelin. *Hypertension* 27, 382-391
- Briones F. 1990. Manual de Medicina Veterinaria Homeopática. Editorial Hochstetter Ltda. Santiago. Chile
- Cárcamo N. 2000. 1996. Efecto de los extractos etanólicos y acuoso de *Allium ampreloprasum* (ajo chilote) sobre la presión arterial, administrado por vía oral en ratas hipertensas inducidas por L-NAME. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Cohen J. 2001. Adverse drugs effects, compliance and inicial doses of antihypertensive drugs. *Arch Intern Med.* 161, 880-885.
- Cook C, Mughannam A. 1998. Veterinary vision, animal eye specialist. www.Veterinaryvision.com/index/html. En: Torres L. 2002. Evaluación del efecto antihipertensivo del extracto N-butanólico de ramas de *Tristerix (Phrygilanthus) tetrandus* en ratas con hipertensión inducida con L-NAME. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Ettinger S. 2002. Tratado de medicina interna veterinaria. Enfermedades del perro y el gato. 5° ed. Editorial Inter-médica. Argentina.

- Frans H, Leenen H, De Jong W. 1971. A solid silver clip for induction of predictable levels of renal oin the rat. *Journal of applied Physiology*. 31, 142-143.
- L, Rodrigo E, Ortiz M, Cachofeiro V, Antucha N. 1999. Pressure natriuresis in nitric oxide-deficient hypertensive rats: effect of antihypertensive treatments. *J am soc nephrol* 10, 21-27.
- Fuster V. 1997. Arteriosclerosis y enfermedad arterial coronaria. Vol 2. Editorial Springer-Verlag Ibérica, S.A. Barcelona. España.
- Gallardo S. 2001. Valoración del efecto sobre la presión arterial del extracto etanólico de *Allium ampreloprasum*, administrado vía oral en ratas hipertensas renovasculares. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Galiana J, Gil M. 2000. Fármacos antihipertensores. En: *Farmacología Humana*. Flórez J. 4° ed. Editorial El sevier. España.
- Ganong W. 2006. Fisiología médica. 20° ed. Editorial El Manual Moderno. México D.F. México
- Gomez I, Westermeier R. 1995. Energy contens and organic constituents in antartic and South Chilean marine brown algae. Universidad austral de Chile, Instituto de Pesquerías y Oceanografía Puerto Montt. Chile.
- Guyton A, Hall J. 2001. Tratado de fisiología médica. 10ª ed., Editorial Interamericana. McGraw-Hill. Ciudad de México. México.
- Hassell T. 2005. 14° Reunión Interamericana a Nivel Ministerial en Salud y Agricultura. La Pobreza Rural: Salud y Estilo de Vida. México. Distrito federal.
- Hoes J. 1995. Beta-bloquers or nonpotassium-sparing diuretics increases risk of sudden cardiac death in hypertensive patients. *Ann Intern Med* 123, 481-487.
- Hoffmann A, Santaelices B. 1997. Flora marina de Chile central. Editoral Universidad Católica de Chile. Facultad de Ciencias Biológicas. Santiago. Chile.
- Katzung B. 1996. Farmacología básica y clínica. 6° ed. Editorial El Manual Moderno. Distrito Federal, México.
- Lahera V, Navarro J, Chafoeiro V. 1997. Nitric oxide, the kidney, and hipertensión. *Am J hypertens* 10, 129-140.
- Leiva y col. 2000. Óxido nítrico y su relación con la hipertensión arterial. *Rev Cubana Med* 39,174-9

- Littman M. 1994. Actualización: Tratamiento de la hipertensión en perros y gatos. En *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. Kirk R.- Bonagura J. Editorial Interamericana McGraw-hill.
- Mendizabal V. 1999. Effects of the chronic in vivo administration of L-NAME on the contractile response of rat perfused mesenteric bed. *Journal of Autonomic Pharmacology* 19, 241-248
- CHILE. Ministerio De Salud. 1995. Hipertensión arterial. Normas Técnicas. Santiago de Chile.
- Moncada S. 1991. Nitric oxide. *Pharmacol Review* 43, 109-110; 132-134.
- Nava E. 2002. Fisiología. Boletín de la SECF. Vol5, n° 1.
- Nelson R, Couto C. 2000. Medicina interna de animales pequeños. 2° ed. Editorial Inter-médica. Buenos Aires, Argentina.
- Newman C. 1997. Hipertensión in Dogs and Cats. <http://www.newmanveterinary.com/hiperten.html>. En: Torres L. 2002. Evaluación del efecto antihipertensivo del extracto N-butanólico de ramas de *Tristerix (Phrygilanthus) tetrandus* en ratas con hipertensión inducida con L-NAME. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. 1996. Control de la Hipertensión. Informe de Comité de Expertos. Ginebra, Suiza.
- Pantanalli M. 2001. Valoración del efecto antihipertensivo del extracto liofilizado de hojas de *Stachytarpheta cayennensis*, sobre ratas con hipertensión inducida con L-NAME. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Psaty W. 1995. Short-acting calcium channel blockers-particularly at high doses-increase MI risk in hypertensive patients. *J.A.M.A.* 274, 620-625.
- Sokal R, Rohlf JF. 1981. Biometry. 2° ed. Editorial Freeman, San Francisco.
- Spiegel M. 1991. Estadística. 2° ed. McGraw Hill Interamericana S.A. Madrid, España.
- Sventek P. 1997. Vascular endothelin-1 gene expression and effect on blood nitric oxide synthase inhibition with L-NAME in normal rats. *Circulation* 95, 240-244.
- Szentivanyi T. 2000. Nitric oxide in the renal medulla protects from vasopressin induced hypertension. *Hypertension* 31, 740-745.

- Takemoto. 1965. En: Álvarez H. 1996. Efecto del extracto de *Durvillaea antarctica* sobre la presión arterial, frecuencias cardíaca y respiratoria en ratas. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Torres L. 2002. Evaluación del efecto antihipertensivo del extracto N-butanólico de ramas de *Tristerix (Phrygilanthus) tetrandus* en ratas con hipertensión inducida con L-NAME. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Wallgren H, Barry H. 1970. Alcoholes alifáticos. En: Álvarez H. 1996. Efecto del extracto de *Durvillaea antarctica* sobre la presión arterial, frecuencias cardíaca y respiratoria en ratas. *Tesis*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Wanamaker B. 2000. Applied pharmacology for the veterinary technician. 2° ed. Editorial W.B. Saunders Company. Estados Unidos.
- Wingfield W. 1999. Secretos de la medicina de urgencias en veterinaria. Editorial Interamericana Mc Graw Hill. Ciudad de México. México.
- Yamada S, Sasaki A-L. 1996. Effect of SALT intake and inhibitor dose on arterial hypertension and renal injury induced by chronic nitric oxide blockade. *Hipertensión*. 27, 65-72
- 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*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Zar H. 1999. Bioestadistical analisis. Multisample hypotheses. 4th ed., Plentice-Hall Internacional Inc. New Jersey. USA.

9. ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 1: Presión arterial sistólica promedio (PASP) y su desviación estándar (DE) para los grupos en estudio, expresados en mmHg, el día 7 del experimento.

| SERIES | Periodo verificación P.A. normal (días) | | | | | |
|-----------------------------|---|------|--------|------|--------|------|
| | 1 | | 2 | | 3 | |
| | PASP | DE | PASP | DE | PASP | DE |
| Serie 1 CONTROL (L-NAME) | 129,82 | 5,78 | 127,82 | 5,34 | 128,09 | 2,98 |
| Serie 2 (L-NAME + EXTRACTO) | 129,36 | 5,22 | 128,18 | 3,63 | 128,00 | 4,69 |

ANEXO 2

Tabla 2: Presión arterial sistólica promedio (PASP) y su desviación estándar (DE) para los grupos en estudio, expresados en mmHg, para el periodo de verificación de presión arterial.

| SERIES | Periodo inducción (días) | | | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------|------|--------|------|--------|------|--------|------|
| | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | |
| | PASP | DE | PASP | DE | PASP | DE | PASP | DE |
| Serie 1 CONTROL (L-NAME) | 128,54 | 4,45 | 138,27 | 5,38 | 147,27 | 6,94 | 154,45 | 5,06 |
| Serie 2 (L-NAME + EXTRACTO) | 129,27 | 4,56 | 137,81 | 4,77 | 146,09 | 7,77 | 155,27 | 5,38 |

ANEXO 3

Tabla 3: Presión arterial sistólica promedio (PASP) y su desviación estándar (DE) para los grupos en estudio, expresados en mmHg, para el periodo de valoración del efecto de L-NAME.

| SERIES | Periodo valoración del efecto (días) | | | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------------------|------|--------|------|--------|------|--------|------|
| | 8 | | 10 | | 12 | | 14 | |
| | PASP | DE | PASP | DE | PASP | DE | PASP | DE |
| Serie 1 CONTROL (L-NAME) | 160,09 | 3,50 | 162,36 | 2,54 | 165,81 | 3,12 | 167,36 | 2,80 |
| Serie 2 (L-NAME + EXTRACTO) | 161,45 | 5,20 | 158,09 | 4,50 | 151,18 | 4,02 | 146,09 | 5,37 |

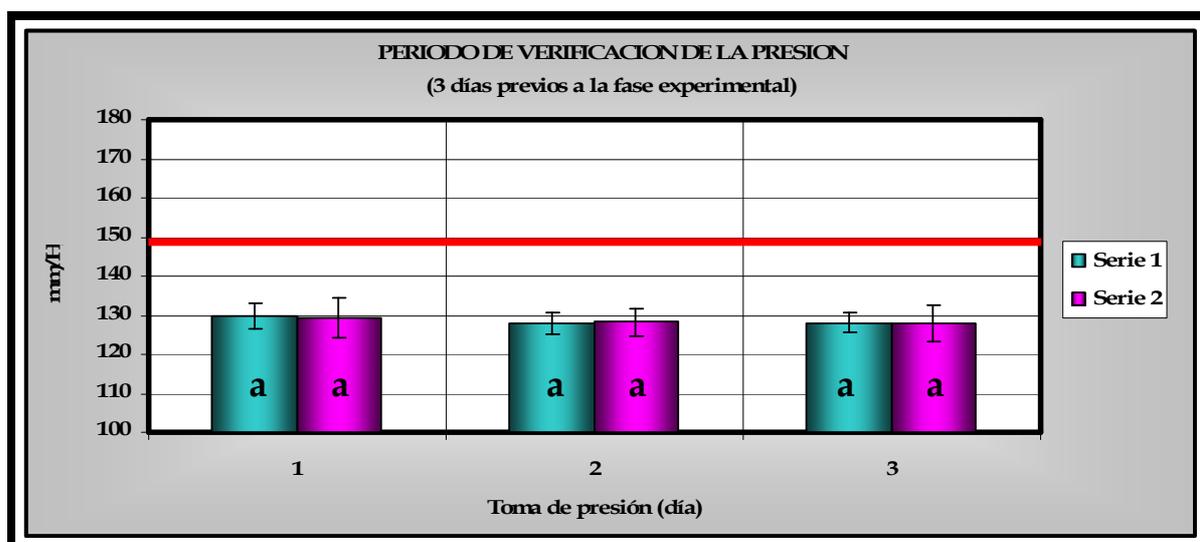
ANEXO 4

Tabla 4: Presión arterial sistólica promedio (PASP) y su desviación estándar (DE) para los grupos en estudio, expresados en mmHg, para el periodo de valoración de mantención del efecto del extracto de *Durvillaea Antarctica*.

| SERIES | Periodo valoración mantención (días) | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------------------|------|--------|------|--------|------|
| | 15 | | 16 | | 17 | |
| | PASP | DE | PASP | DE | PASP | DE |
| Serie 1 CONTROL (L-NAME) | 169,63 | 3,35 | 171,00 | 2,68 | 172,36 | 2,41 |
| Serie 2 (L-NAME + EXTRACTO) | 142,63 | 5,10 | 147,18 | 4,49 | 150,18 | 8,01 |

ANEXO 5

Gráfico 6: Presión arterial sistólica promedio (PASP) en mm Hg \pm DE en ratas para las series en estudio, durante tres días previos al inicio de la fase experimental. Letras minúsculas iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).



10. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a quienes fueron parte fundamental en llevar a cabo esta tesis, quienes me dieron apoyo durante todo este proceso, en especial a:

- ❖ Dr. Marcos Moreira, profesor patrocinante, por su gran disposición, consejos, orientación y paciencia todo este tiempo.
- ❖ Dr. Frederick Ahumada, quien realizó las gestiones para conseguir el extracto del alga.
- ❖ Srta. Catherine Lara, secretaria del Instituto de Farmacología, por darme toda su ayuda cada vez que la necesite.
- ❖ Sr. Dario Salazar, por su buena voluntad para enseñarme el manejo de las ratas durante la fase experimental.
- ❖ A mis padres, por su apoyo incondicional.
- ❖ A mis amigos de siempre, que pese a la distancia están conmigo.