

CAPÍTULO I.
INTRODUCCIÓN

I.I. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA PARED ARTERIAL

El sistema circulatorio está conformado por vasos sanguíneos entre los que se encuentran las venas, las arterias y las arteriolas. El aparato circulatorio sirve para transportar los nutrientes y el oxígeno hacia los tejidos. Las arterias son vasos gruesos y su pared vascular está formada por diferentes células, todas encargadas de mantener la homeostasis vascular. Dichas células están organizadas en tres capas concéntricas (Fig. 1.1): la capa interna, la capa media y la capa externa (Dvorkin y Cardinali, 2003a; Guyton y Hall, 2001).

La capa interna o túnica íntima está formada principalmente por células endoteliales orientadas en dirección longitudinal, que contienen vesículas útiles en el transporte transendotelial. Las arterias elásticas tienen tanto células endoteliales como espacio subendotelial formado por matriz extracelular y células musculares lisas. Las arterias pequeñas y arteriolas también tienen células endoteliales y una capa subendotelial separada de la capa media por una lámina elástica interna. El endotelio tiene muchas funciones, entre las cuales destaca la de regular el tono vascular por medio de la liberación de sustancias vasodilatadoras y sustancias vasoconstrictoras (Simionescu, 1983).

Los agentes vasodilatadores se encargan de disminuir el tono vascular y destacan el factor relajante derivado de endotelio-óxido nítrico (EDRF-NO), la prostaglandina I₂ o prostaciclina (PGI₂) y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF). El EDRF-NO actúa a través de la guanilato ciclasa soluble para aumentar el GMPc. La PGI₂, además de ser vasodilatadora, también inhibe la agregación plaquetaria, y

actúa aumentando el AMPc intracelular a través de la adenilato ciclasa. Por último, el EDHF produce hiperpolarización y relajación por activación de los canales de K^+ ATP sensibles o ATPasa Na-K. Los agentes vasoconstrictores, como el tromboxano A_2 (TXA_2), la prostaglandina H_2 (PGH_2), la endotelina-1 (ET-1) y diversas especies reactivas de oxígeno (ERO), aumentan el tono vascular (Dvorkin y Cardinali, 2003b).

La capa intermedia o túnica media está compuesta principalmente por células musculares lisas (CMLV) que se contraen, reduciendo el diámetro interno arterial, y por matriz extracelular que regula la distensibilidad de las arterias por medio de elastina y fibras de colágeno. La elastina dota de elasticidad al vaso, mientras que el colágeno permite a la pared vascular mantener la forma a pesar de la presión intraluminal ejercida por la sangre. Las arterias elásticas tienen múltiples capas de células de músculo liso vascular (MLV); las arteriolas sólo constan de 1 a 3 capas de estas células comunicadas entre sí por uniones de hendidura (gap junctions, en inglés); los capilares, en cambio, carecen de este tipo de células (Rhodin, 1980).

La capa externa o lámina adventicia contiene fibras de colágeno, fibroblastos y células del músculo liso vascular. Las arterias elásticas y musculares tienen, además de fibroblastos, algunos vasos sanguíneos, vasos linfáticos y terminaciones del sistema nervioso autónomo (Rhodin, 1980). Las pequeñas arterias y arteriolas presentan una capa externa muy reducida.

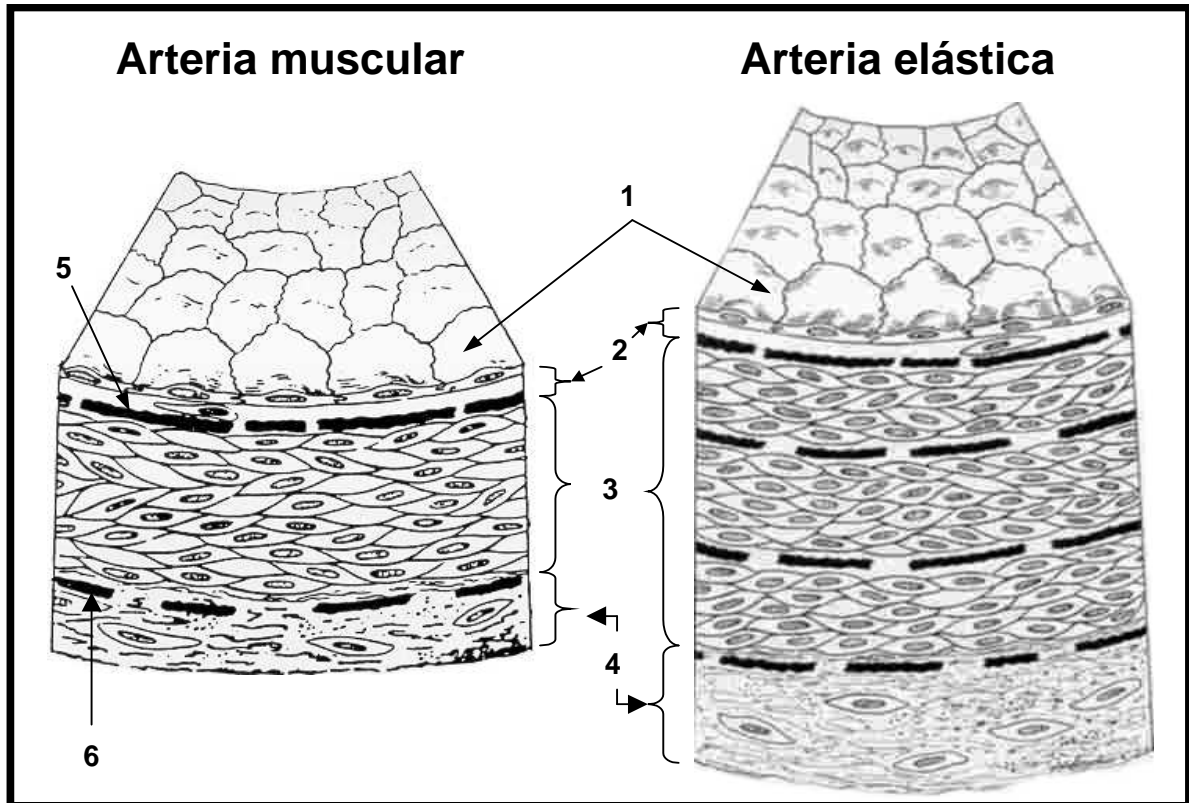


Figura 1.1 Diagrama que muestra las características estructurales de la pared vascular. Los números indican la ubicación de las células endoteliales (1), las capas íntima (2), media (3) y adventicia (4) y las láminas elásticas interna (5) y externa (6) (Rhodin, 1980).

I.II. LA CIRCULACIÓN CORONARIA

Las arterias son las responsables de transportar sangre a los tejidos y se caracterizan por tener fuertes paredes vasculares que soportan la presión que ejerce el flujo sanguíneo. Las arterias de gran calibre son expandibles, elásticas y absorben la energía que el ventrículo libera, devolviéndola durante la diástole. Las arterias de menor calibre tienen una menor cantidad de fibras elásticas y una mayor proporción de músculo liso vascular (Guyton y Hall, 2001).

Las arterias coronarias principales están situadas sobre la superficie del corazón y las más pequeñas penetran desde la superficie a la masa del músculo cardíaco. Estas arterias son las responsables del aporte nutritivo sanguíneo y oxígeno del corazón. Se han descrito tres arterias coronarias principales (fig. 1.2): las arterias coronarias descendente anterior y circunfleja que se originan en el tronco coronario izquierdo, y la arteria coronaria derecha que surge en el seno de Valsalva derecho (Dvorkin y Cardinali, 2003a).

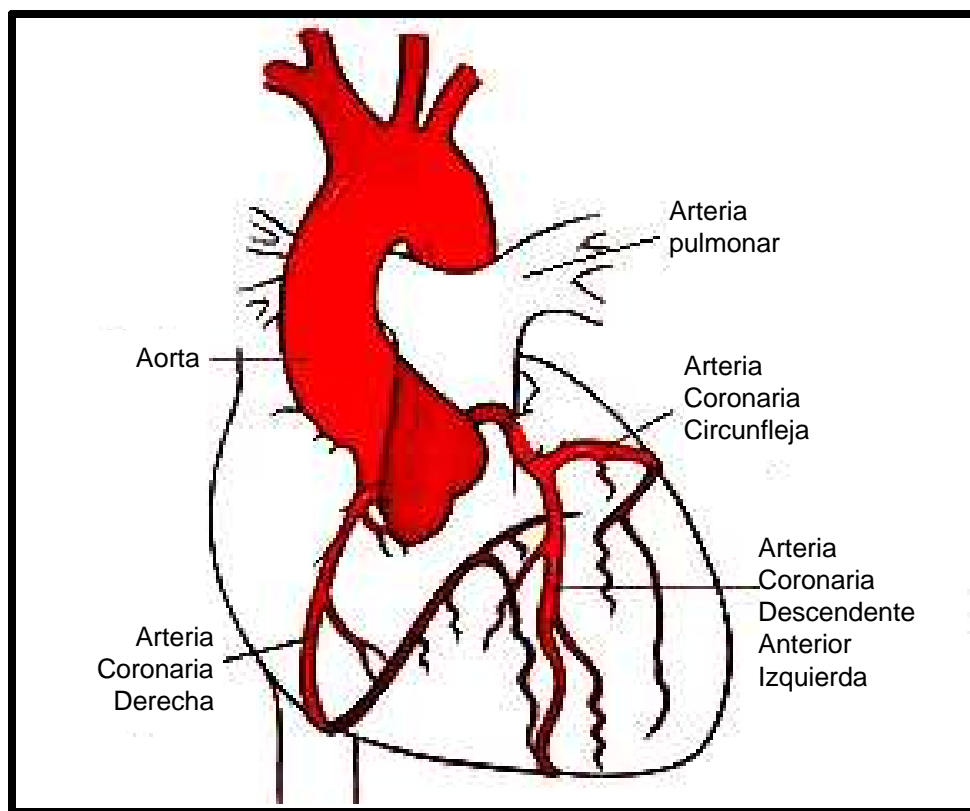


Figura 1.2. Esquema del corazón y sus principales arterias (Modificado de <http://www.texheartsurgeons.com/cad.htm>).

La descendente anterior baja por el surco interventricular izquierdo, llegando hasta la cara diafragmática del ventrículo izquierdo en la punta del corazón. Esta arteria se separa en dos ramas: las septales que conectan con las septales ascendentes de la descendente posterior, y las diagonales que irrigan la cara anterolateral del corazón. La arteria

circunfleja recorre el surco aurículoventricular izquierdo, dividiéndose en obtusomarginales o marginales que irrigan la pared libre del ventrículo izquierdo. Por último, la coronaria derecha nace en el seno aórtico derecho y baja por el surco aurículoventricular derecho. Se separa en arteria del cono que se dirige al tronco coronario izquierdo, en arteria del nodo sinusal, en descendente posterior y en otras ramas que irrigan el nodo seno auricular.

La arteria coronaria izquierda irriga la parte anterior y lateral del ventrículo izquierdo, mientras que la arteria coronaria derecha irriga el ventrículo derecho y la parte posterior del izquierdo. La sangre venosa procedente del ventrículo izquierdo pasa a través del seno coronario para regresar al lado derecho del corazón; en cambio, la sangre venosa del lado derecho no pasa por el seno coronario sino por las venas cardíacas anteriores.

En el ser humano, el flujo sanguíneo coronario es en promedio de 225 mL/min., que corresponde al 4 a 5% del gasto cardíaco total. En el ejercicio intenso, la producción de trabajo del corazón puede aumentar de seis a nueve veces. Por esta razón, el flujo coronario aumenta de tres a cuatro veces para aportar los nutrientes y oxígeno adicionales que el corazón necesita.

El flujo sanguíneo coronario depende de la presión aórtica, la resistencia de los vasos y la compresión extravascular. Cuando hay una alta demanda de O₂, el miocardio comunica dichos requerimientos a las arterias coronarias, a través de los mediadores de vasodilatación como son la adenosina, los protones, el CO₂, el lactato, la tensión de O₂ reducida, el potasio liberado por miocitos isquémicos y la PGI₂.

I.III. MECANISMOS QUE PARTICIPAN EN LA CONTRACCIÓN Y EN LA RELAJACIÓN DEL MÚSCULO LISO VASCULAR

El proceso contráctil en el músculo liso vascular (MLV) se activa por aumento intracelular de iones calcio ($[Ca^{2+}]_i$), y la energía para ésta es obtenida de la degradación de adenosín trifosfato (ATP) a adenosín difosfato (ADP). El aumento de calcio puede ser ocasionado por estimulación nerviosa, por estimulación hormonal, por distensión de la fibra o por cambios en el entorno químico (Fig. 1.3).

En reposo, la $[Ca^{2+}]_i$ es 20.000 veces menor que la concentración en el medio extracelular ($<0.1 \mu\text{M}$ vs. $1-2 \text{ mM}$); además, el interior celular es electronegativo (-50 a -60 mV), es decir, existe un gradiente electroquímico que favorece la entrada de Ca^{2+} en la célula (Tamargo y Delpón, 1997). Algunas células del MLV contienen un retículo sarcoplásmico moderadamente desarrollado que libera iones calcio al transmitirse un potencial de acción. La concentración de iones calcio en el líquido extracelular, superior a 10^{-3} M , es razonablemente superior a la del sarcoplasma, inferior a 10^{-7} M . En la fibra muscular lisa también pueden entrar iones calcio a través de canales de calcio activados por hormonas. Una vez dentro de la célula, los iones calcio difunden a todas partes del MLV en 200 a 300 milisegundos (período de latencia).

I.III.1 Acoplamiento excitación-contracción

Algunos factores físicos (estiramiento, presión, cizallamiento), agonistas y factores de crecimiento aumentan la $[Ca^{2+}]_i$, por facilitar su entrada desde el medio extracelular y/o su liberación desde el RS, generando una respuesta contráctil en las CMLV. Sin embargo, a

diferencia de las células cardíacas, las CMLV pueden contraerse incluso en ausencia de Ca^{2+} en el medio extracelular. Es decir, que son capaces de aumentar la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ a nivel de las proteínas contráctiles sólo liberando el Ca^{2+} almacenado en sus depósitos intracelulares.

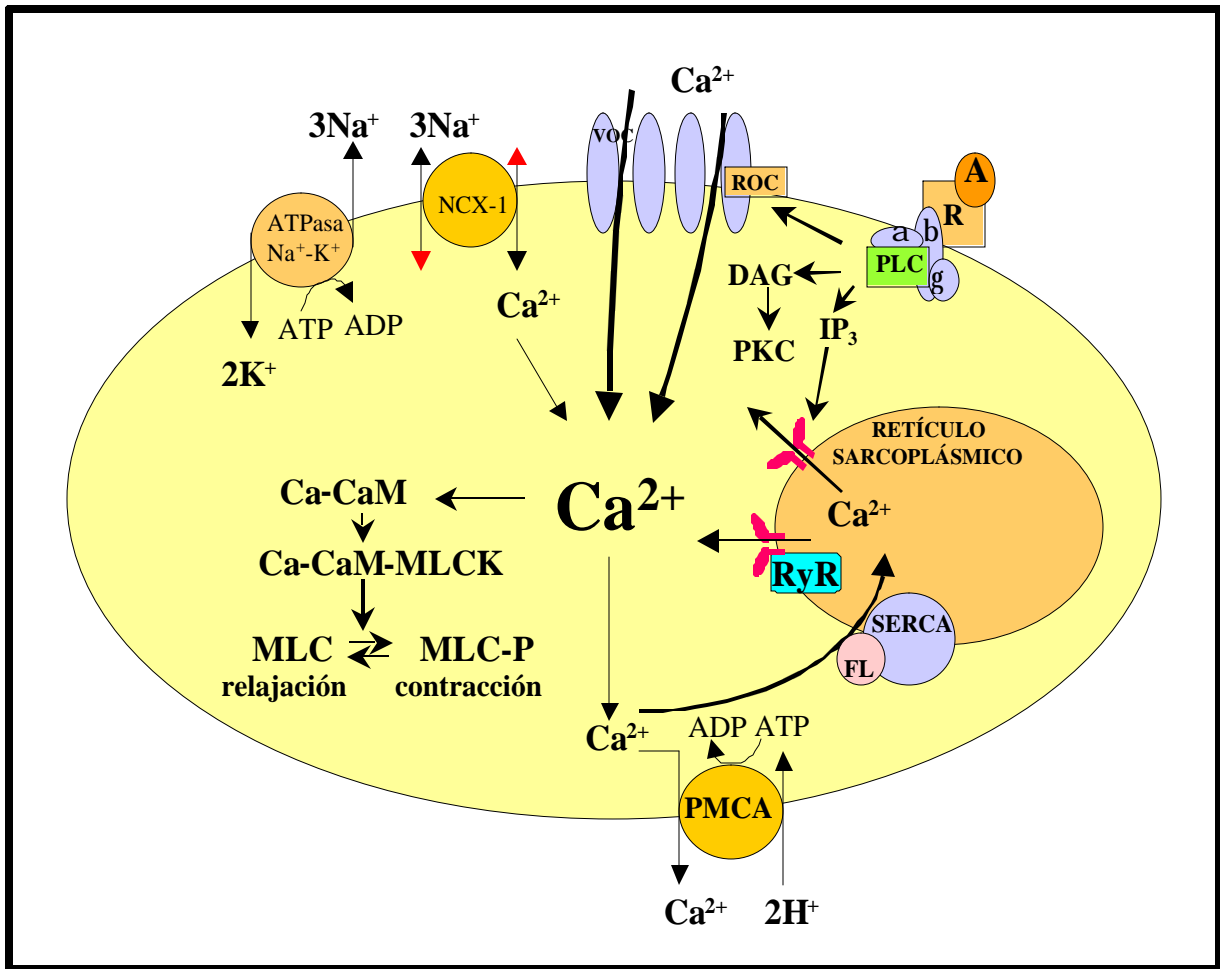


Figura 1.3. Esquema de los mecanismos que intervienen en la regulación del Ca^{2+} intracelular de la CMLV. **ATPasa Na^+/K^+** : Bomba de Na^+/K^+ ; **NCX-1**: intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$; **VOC**: canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje; **ROC**: canales de Ca^{2+} dependientes de la activación por receptor; **A**: agonista; **R**: receptor asociado a proteínas G (subunidades alfa, beta y gamma); **PLC**: fosfolipasa C; **DAG**: diacilglicerol; **IP₃**: inositol-1,4,5-trifosfato; **PKC**: proteína cinasa C; **PMCA**: bomba de Ca^{2+} de la membrana celular; **SERCA**: bomba de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico; **FL**: fosfolambano; **RyR**: receptores para rianodina; **CaM**: calmodulina; **MLCK**: cinasa de la cadena ligera de la miosina; **MLC**: cadena ligera de miosina; **MLC-P**: cadena ligera de la miosina fosforilada (López y López, 2001).

En la CMLV, la miosina es un hexámero formado por 2 cadenas pesadas, de 200 kDa, y 4 ligeras, dos de 20 kDa y dos de 17 kDa. Cuando aumenta la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, éste se fija a

la calmodulina (se unen 4 iones Ca^{2+} por cada molécula de calmodulina), formándose el complejo Ca^{2+} -CaM, que se une a la subunidad catalítica de la cinasa de la cadena ligera de la miosina (MLCK), dando lugar al complejo activo Ca^{2+} -CaM-MLCK. Una vez activada, la MLCK induce la fosforilación de la serina en posición 19 de la cadena ligera de miosina (MLC_{20}). Esta fosforilación permite su unión a la actina, lo que facilita el establecimiento de los puentes cruzados entre ambas proteínas y la contracción de la CMLV (Pfitzer, 2001).

La relajación de la CMLV tiene lugar cuando disminuye la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ a nivel de las proteínas contráctiles. Esta disminución conlleva la disociación del complejo Ca^{2+} -CaM-MLCK y la regeneración de la apoenzima MLCK inactiva, lo que permite la defosforilación de la MLC a través de la fosfatasa de la cadena ligera de miosina (MLCP) y que la miosina vuelva a su estado inactivo, produciéndose vasodilatación (Pfitzer, 2001; Karaki *et al*, 1997).

I.III.2. Acoplamiento electromecánico y farmacomecánico

Se han descrito dos tipos de acoplamiento excitación-contracción en la CMLV, dependiendo de si el estímulo es consecuencia de la despolarización de la membrana (*acoplamiento electromecánico*) o de la interacción de agonistas con sus receptores específicos, localizados en la membrana celular (*acoplamiento farmacomecánico*). Estos mecanismos no son independientes, sino que en muchos casos pueden tener lugar de forma simultánea (Karaki *et al*, 1997).

Acoplamiento electromecánico. El potencial de reposo de las CMLV varía entre -50 y -60 mV. Cuando la célula se despolariza y estos valores se vuelven menos negativos se abren los canales de calcio dependientes de voltaje, produciéndose la entrada de Ca^{2+} , el aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y finalmente vasoconstricción (Somlyo y Himpens, 1989; Himpens *et al*, 1995).

Acoplamiento farmacomecánico. Este proceso engloba una serie de mecanismos de señalización celular, que pueden inducir la contracción o la relajación vascular sin modificar el potencial de membrana de la CMLV (Somlyo y Himpens, 1989). Este acoplamiento también se asocia a un aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ procedente, fundamentalmente, del RS y, en menor grado, de la entrada de Ca^{2+} extracelular a través de los canales de Ca^{2+} dependientes de la activación por receptor (ROC).

Es evidente que existe una interacción bidireccional entre los acoplamientos electromecánico y farmacomecánico. Las características de la respuesta contráctil dependen, por tanto, del tipo de estímulo (despolarización o agonista) y de la fuente (extra o intracelular) responsables del aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

I.III.3. Mecanismos de entrada de Ca^{2+}

Se han descrito dos mecanismos de aumento de Ca^{2+} en el MLV: canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje y canales de Ca^{2+} activados por receptor. Altas concentraciones de iones potasio (K^+) inducen una despolarización de la membrana y activan los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. La noradrenalina, en cambio, libera el Ca^{2+} almacenado y

abre los canales de Ca^{2+} activados por receptor. Algunos resultados indican que tanto el K^+ como la noradrenalina abren el mismo canal de Ca^{2+} tipo L y que la noradrenalina también abre canales de cationes no selectivos para Na^+ , K^+ y Ca^{2+} (Karaki *et al*, 1997).

I.III.3.1. Canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (VOC)

De los seis subtipos de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, el tipo L es considerado el de mayor importancia en la entrada de Ca^{2+} a la CMLV. Este tipo de canales es rápidamente desensibilizado cuando hay una despolarización sostenida en la membrana. En presencia de una alta concentración de K^+ , se mantiene una $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevada y una contracción sostenida. La actividad del canal de Ca^{2+} tipo L dependiente de voltaje también está regulada por el estiramiento del tejido y el retículo sarcoplásmico, ya que cuando éste no puede liberar Ca^{2+} se abren los canales de la membrana y aumenta la $[\text{Ca}^{2+}]_i$. El tono basal del MLV está regulado por la entrada de Ca^{2+} a través de este tipo de canales (Karaki *et al*, 1997).

I.III.3.2. Canales de Ca^{2+} activados por receptor (ROC)

Parte de la entrada de Ca^{2+} desde el medio extracelular producida por los agonistas implica la activación de canales catiónicos no selectivos, independientes de cambios en el potencial de membrana e insensibles a los bloqueadores de los canales de Ca^{2+} clásicos (Karaki *et al*, 1997).

I.III.4. Mecanismos de salida de Ca^{2+}

El intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ y la ATPasa de Ca^{2+} de la membrana son los principales mecanismos de salida de Ca^{2+} en la CMLV.

I.IV.4.1. Intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX-1)

El NCX-1 es una proteína de la membrana que favorece tanto la entrada como la salida de Ca^{2+} , intercambiando un Ca^{2+} por 3 Na^+ . En la CMLV, cuando la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ es superior a 1 μM , el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ juega un importante papel en la relajación vascular (Tada y Katz, 1982).

I.IV.4.2. ATPasa de Ca^{2+} de la membrana (PMCA)

La PMCA es una ATPasa, dependiente de Mg^{2+} , que intercambia un Ca^{2+} del interior celular por un H^+ del medio extracelular. Cuando aumenta la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ se forma un complejo Ca^{2+} -CaM que facilita la salida de Ca^{2+} fuera de la célula. La actividad de la PMCA también se ha implicado en la vasodilatación producida por dadores de NO, que aumentan los niveles celulares de GMPc (Cogolludo *et al*, 2001).

I.III.5. Papel del retículo sarcoplásmico (RS) en la homeostasis del Ca^{2+}

I.IV.5.1. ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (SERCA)

La SERCA es una bomba que actúa transportando 2 iones Ca^{2+} por cada molécula de ATP hidrolizada, desde el citosol hacia el interior del RS, donde se almacena y queda

disponible para liberarse y generar nuevas contracciones. Las dos isoformas de la SERCA 2 (a y b) son ATPasas tipo P, dependientes de Mg^{2+} y estimuladas por Ca^{2+} (Austin y Wray, 2000).

La actividad de la SERCA se regula mediante el fosfolambano, una proteína pentamérica de bajo peso molecular (6 kDa). Cuando el fosfolambano se encuentra en su forma no fosforilada disminuye la afinidad de SERCA por el Ca^{2+} . Al ser fosforilado, aumenta la afinidad de ésta por el Ca^{2+} y su capacidad transportadora (Karaki *et al*, 1997).

I.IV.5.2. Canales de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico

La liberación de Ca^{2+} del RS sólo es responsable de la porción inicial de la contracción vascular mantenida inducida por agonistas. De hecho, la contracción inducida por agonistas en ausencia de Ca^{2+} extracelular es transitoria y varía en los distintos territorios vasculares. Existen dos mecanismos fundamentales de liberación de Ca^{2+} desde el RS de las CMLV: inducida por Ca^{2+} y la inducida por inositol trisfosfato (IP_3) (Zucchi y Roca-Testoni, 1997).

I.III.6. Mecanismos de sensibilización de las proteínas contráctiles al Ca^{2+}

A diferencia del músculo cardíaco, donde la magnitud de la respuesta contráctil es función directa de la $[Ca^{2+}]_i$, en la CMLV, la relación entre la fuerza desarrollada y la $[Ca^{2+}]_i$ es variable. La sensibilización de las proteínas contráctiles al Ca^{2+} contribuye a la fase tónica de la contracción vascular. Los ésteres de forbol y diversos agonistas (p.ej. NA,

ET-1, TXA₂) inducen una respuesta contráctil mayor que la producida tras la despolarización celular y sin producir cambios en la [Ca²⁺]_i (Tamargo y Delpón, 1997).

La actividad de la miosina del músculo liso se regula no sólo por fluctuaciones en la [Ca²⁺]_i sino también por otros mecanismos de señalización independientes de la [Ca²⁺]_i. Ya mencionamos que tras la fosforilación de la serina-19 de la MLC₂₀, ésta interactuaba con la actina, dando lugar a la contracción muscular. La MLCK incrementa la fosforilación de la MLC₂₀, mientras que la MLCP es la encargada de defosforilarla, por lo que el nivel de fosforilación y, por tanto, de contracción, resulta del balance global entre la actividad de ambas enzimas. La fosforilación de la serina-19 de la MLC₂₀ y la contracción muscular, puede producirse como resultado bien de una activación de la MLCK, bien de una inhibición de la MLCP. Mientras que la actividad de la MLCK depende, fundamentalmente, del complejo Ca²⁺-CaM, es decir, es dependiente de la [Ca²⁺]_i, la actividad de la MLCP se regula por mecanismos independientes de la [Ca²⁺]_i (Pfitzer, 2001).

La MLCP presenta una subunidad reguladora (110-130 kDa o M₁₁₀₋₁₃₀) y otra catalítica (PP-1C). Se han descrito dos posibles vías de inhibición de la MLCP: la vía de la PKC y la de la proteína Rho cinasa. Los receptores acoplados a proteína Gq activan la PLCβ, la cual hidroliza el PIP₂ en IP₃ y DAG. Mientras que el IP₃ moviliza Ca²⁺ desde el RS, el DAG activa la PKC. Ésta, a su vez, fosforila el CPI-17, que actúa como un potente inhibidor de la subunidad reguladora de la MLCP. Ello explicaría porqué la activación de la PKC producida por los ésteres de forbol aumenta, mientras que los inhibidores de la PKC disminuyen la sensibilización de las proteínas contráctiles al Ca²⁺ (Fig. 1.4).

Recientemente, se ha puesto en duda que la PKC tenga un papel importante en la sensibilización al Ca^{2+} inducida por agonistas, y al mismo tiempo está cobrando especial relevancia la vía de sensibilización al Ca^{2+} mediada a través de la activación de la proteína RhoA/Rho cinasa (Somlyo y Somlyo, 2000).

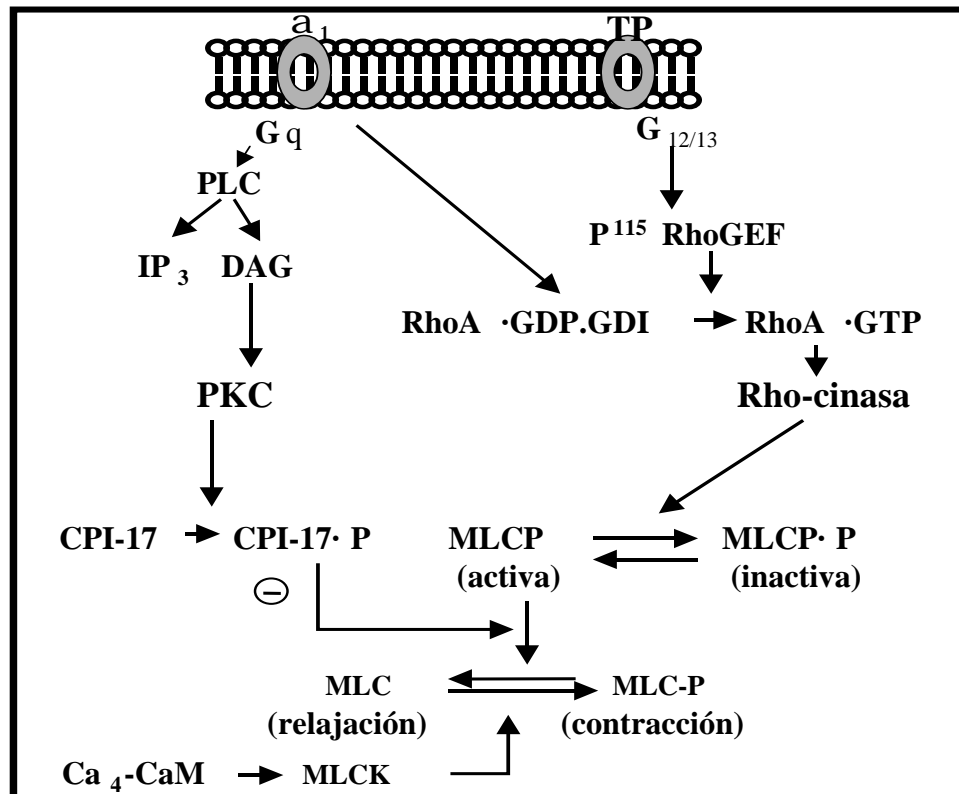


Figura 1.4. Mecanismos de regulación de la miosina en la CMLV. TP: receptor TP; $\text{G}_{12/13}$: proteína G_{12,13}; RhoA: proteína RhoA; GEF: factores intercambiadores de nucleótidos; MLC-P: cadena ligera de la miosina fosforilada; MLC: cadena ligera de la miosina; CaM: calmodulina; MLCP: fosfatasa de la cadena ligera de la miosina; MLCP-P: fosfatasa de la cadena ligera de la miosina fosforilada (inactiva); IP_3 : inositol -1,4,5-trifosfato; PKC: proteína cinasa C; DAG: diacilglicerol. (Modificado de Somlyo y Somlyo, 2000)

La RhoA, es una proteína G monomérica, que es inactiva cuando está unida al 3'5'-fosfato de guanosina (GDP) y se activa cuando se une al trifosfato de guanosina (GTP). Los factores intercambiadores de nucleótidos de guanina (GEFs) reemplazan el GDP por GTP, facilitan la disociación del complejo RhoA-GTP y su translocación a la membrana celular,

desde donde activa la Rho cinasa. Ésta fosforila la subunidad reguladora de la MLCP e inhibe su actividad enzimática, a la vez que aumenta la fosforilación de la serina-19 de la MLC_{20} y la contractilidad vascular. El ácido araquidónico (AA), producido por diversos agonistas, puede también activar la Rho-cinasa e inhibir la MLCP por disociar la subunidad reguladora de la catalítica. La figura 1.4 también muestra que los receptores acoplados a la proteína $G\alpha_{12/13}$ (p.ej. los receptores TP del TXA_2) o los acoplados a la $G\alpha_q$ (p.ej. los receptores α -adrenérgicos) pueden activar la vía de la RhoA a través de los GEFs (Somlyo y Somlyo, 2000).

I.IV. PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LA CIRCULACIÓN CORONARIA

Furchgott y Zawadzki (1980) descubrieron que las células endoteliales producían un factor que inducía relajación en arterias aisladas en respuesta a la acetilcolina (ACh). A esta sustancia o al conjunto de sustancias vasodilatadoras producidas por el endotelio se les denominó EDRF. Actualmente, sabemos que el NO es uno de los principales mediadores endógenos, que presenta propiedades vasodilatadoras, antiagregantes y antiproliferativas (Hampl y Herget, 2000).

El NO tiene un electrón desapareado por lo que puede considerarse un radical libre. Por ello, tiene capacidad para reaccionar rápidamente con otras moléculas, que tienen también electrones desapareados, principalmente, otros radicales libres y metales de transición, como el hierro del grupo hemo. Por su gran reactividad, el NO tiene una corta semivida tanto *in vitro* como *in vivo*.

I.IV.1. Síntesis del NO

El NO se sintetiza a partir de la L-arginina por medio de la NO sintetasa (NOS) (Moncada *et al*, 1991), del complejo Ca^{2+} -calmodulina sensible que requiere de cuatro cofactores: dinucleótido de nicotinamida y adenina monofosfato (NADPH), tetrahidrobiopterina (BH_4), flavín adenín dinucleótido (FAD) y flavín mononucleótido (FMN). El NADPH actúa como fuente de electrones. Las flavinas aceptan los electrones del NADPH y los transfieren al hierro del grupo hemo de la NOS. El grupo hemo en estas condiciones, puede unirse al oxígeno, que actúa como aceptor final de electrones.

Existen tres isoformas de la NOS: dos constitutivas y una inducible. La NOS neuronal (nNOS), codificada por un gen localizado en el cromosoma 12, se expresa en distintos tipos de neuronas del sistema nervioso central y periférico. La NOS inducible (iNOS), codificada en el cromosoma 7, es elaborada por macrófagos y CMLV a partir de estímulos como endotoxinas o citocinas. Por último, la NOS endotelial (eNOS), codificada en el cromosoma 6, se encuentra unida a la membrana celular de las células endoteliales, donde se expresa constitutivamente (Cooke y Dzau, 1997).

I.IV.2. Regulación de la eNOS

El NO se libera de las células endoteliales en respuesta a fuerzas físicas (cizallamiento o presión) y humorales (ACh, catecolaminas, A-II, ET-1, vasopresina, trombina y ATP, entre otros) y es responsable de mantener el tono vascular y prevenir la adhesión plaquetaria y leucocitaria a la superficie endotelial. Al difundir en la CMLV, se induce la liberación de Ca^{2+} desde el RS mediante el IP_3 y su entrada desde el medio

extracelular (Dolor *et al*, 1992; Lüscher y Barton, 1997). El aumento de la $[Ca^{2+}]_i$ conduce a la formación del complejo Ca^{2+} -CaM y a su unión a la eNOS para, finalmente, dar lugar a la formación y liberación de NO.

I.IV.3. Mecanismo de la relajación producida por el NO

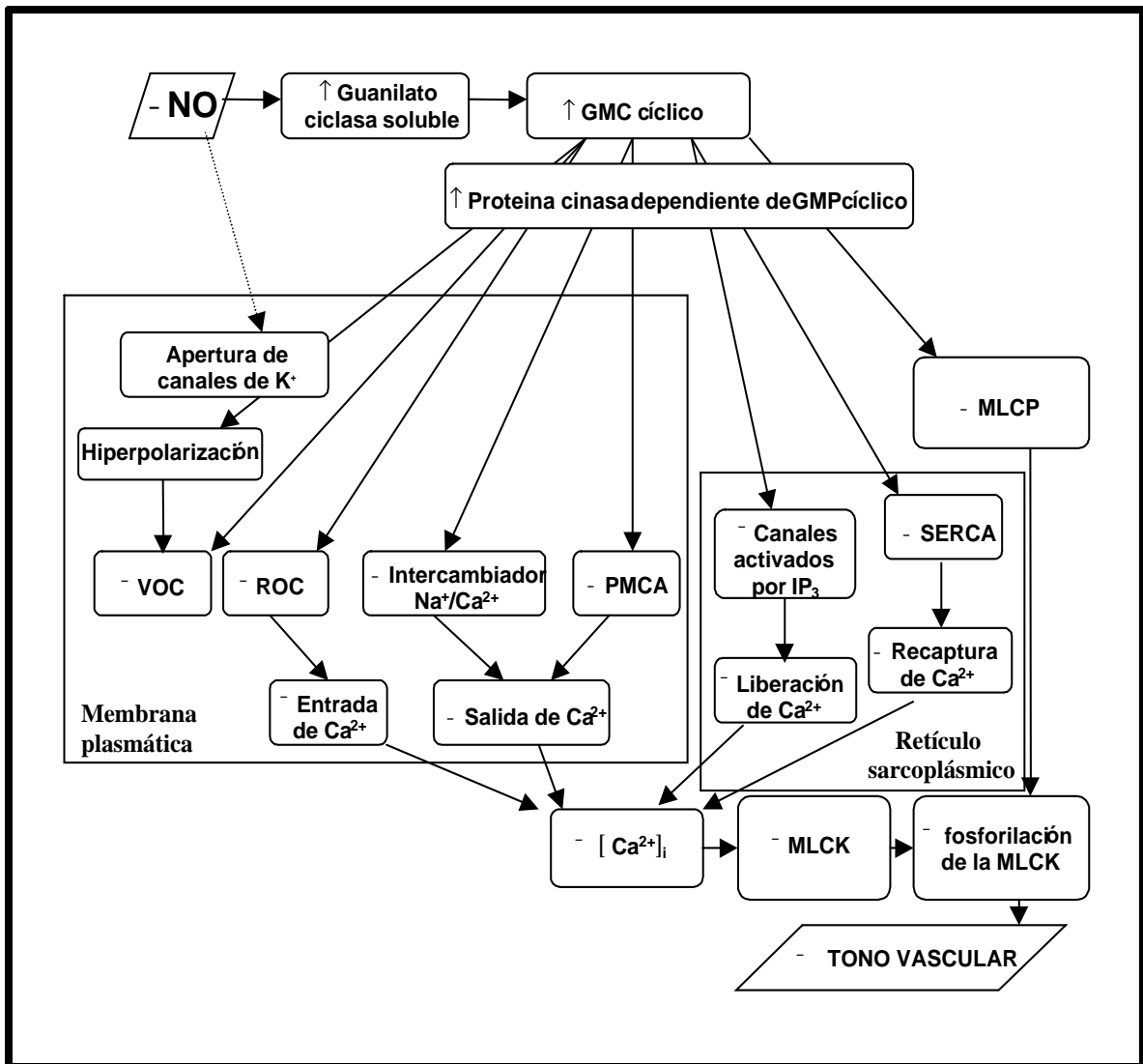


Figura 1.5. Esquema de los mecanismos que participan en la vasodilatación inducida por el NO/GMP cíclico. **MLCP**: cadena ligera de la miosina fosfatasa; **VOC**: canal de Ca^{2+} dependiente de voltaje; **ROC**: Canal de Ca^{2+} activado por receptor; **PMCA**: bomba de Ca^{2+} de la membrana celular; **SERCA**: bomba de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico; **MLCK**: cinasa de la cadena ligera de la miosina (López y López, 2001) .

El NO activa las guanilato ciclasas (GCs), aumentando la concentración citosólica de GMPc en la CMLV. El GMPc reduce la $[Ca^{2+}]_i$ por varios mecanismos y activa la SERCA, regula la PMCA, cierra los VOC, inhibe la liberación de Ca^{2+} por el RS, activa la ATPasa Na^+/K^+ , activa los canales de K^+ activados por Ca^{2+} y estimula el intercambiador Na^+/Ca^{2+} (Fig 1.5) (Rapoport *et al*, 1985; Ruiz-Velasco *et al*, 1998; Woodrum *et al*, 1999). También se ha descrito que el GMPc induce relajación por mecanismos independientes de variaciones en $[Ca^{2+}]_i$, relacionados con una reducción directa de la sensibilidad al Ca^{2+} del aparato contráctil (Karaki *et al*, 1997).

I.V. FLAVONOIDES

Los flavonoides son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Son los responsables de la coloración de las plantas y están formados por estructuras fenólicas variables. Las frutas, los vegetales, los granos y las flores, que los contienen en cantidades considerables, han sido utilizados por sus efectos benéficos en la salud mucho antes de la identificación de los flavonoides como principios activos. El consumo diario promedio de estas sustancias, provenientes principalmente de la manzana, la cebolla, el brócoli, el té y el vino, se ha estimado entre 23 mg y 25.9 mg en Holanda, incluyendo flavonoles y flavonas, (Hertog *et al*, 1993) y 1 g considerando flavonoides y ácidos fenólicos (Scalbert *et al*, 2000).

Estos compuestos de bajo peso molecular son fenilbenzo-pironas con una variedad de estructuras basadas en un núcleo común de tres anillos. Esta estructura básica (fig. 1.6) consiste de dos anillos bencénicos (A y B) unidos por un un pirano heterocíclico o pirona

(con un doble enlace). Se han caracterizado más de 4000 de ellos y se han dividido, con base en la estructura química de la cadena intermedia, como se muestra en la figura 1.7.

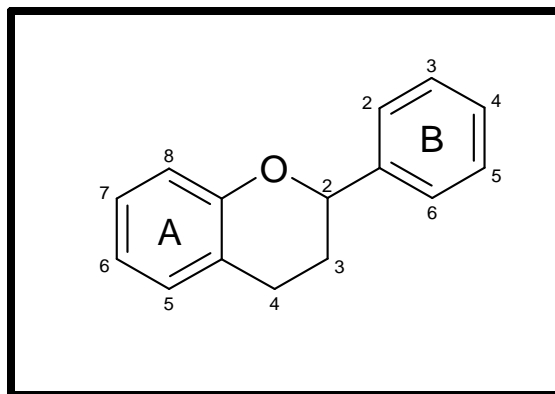


Fig. 1.6 Estructura básica de flavonoides (Modificado de Middleton *et al*, 2000).

La subdivisión se basa principalmente en la presencia (o ausencia) de un doble enlace en la posición 4, en la presencia (o ausencia) de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 y en la presencia de grupos hidroxilo en el anillo B. En la estructura flavonoide, la sustitución del anillo B se da en la posición 2 del pirano; en los isoflavonoides, dicha sustitución se da en la posición 3 (Middleton *et al*, 2000).

Estudios epidemiológicos recientes han mostrado que los flavonoides podrían reducir el riesgo de enfermedad coronaria cardíaca (Rimm *et al*, 1996; Yochum *et al*, 1999; Hertog *et al*, 1993b; Hertog *et al*, 1995; Hirvonen *et al*, 2001; Knekt *et al*, 1996) y de infarto al miocardio (Hirvonen *et al*, 2001). Además se les han atribuido propiedades antitrombóticas puesto que inhiben la agregación plaquetaria (Grygiewski *et al*, 1987), propiedades vasodilatadoras (Duarte *et al*, 1993) y propiedades antioxidantes (Manach *et al*, 1998; Morand *et al*, 1998). Dichas propiedades producen efectos antiinflamatorios al inhibir la liberación de ácido araquidónico y la síntesis de eicosanoides, antitumorales al

reaccionar con radicales libres y antivirales por mecanismos que podrían afectar la replicación (Nijveldt *et al*, 2001). Dado que varios estudios indican que dichos flavonoides tienen diversas propiedades farmacológicas, serían de gran utilidad terapéutica en el área de la salud. Sin embargo, son pocas y muy recientes las investigaciones que se han realizado a

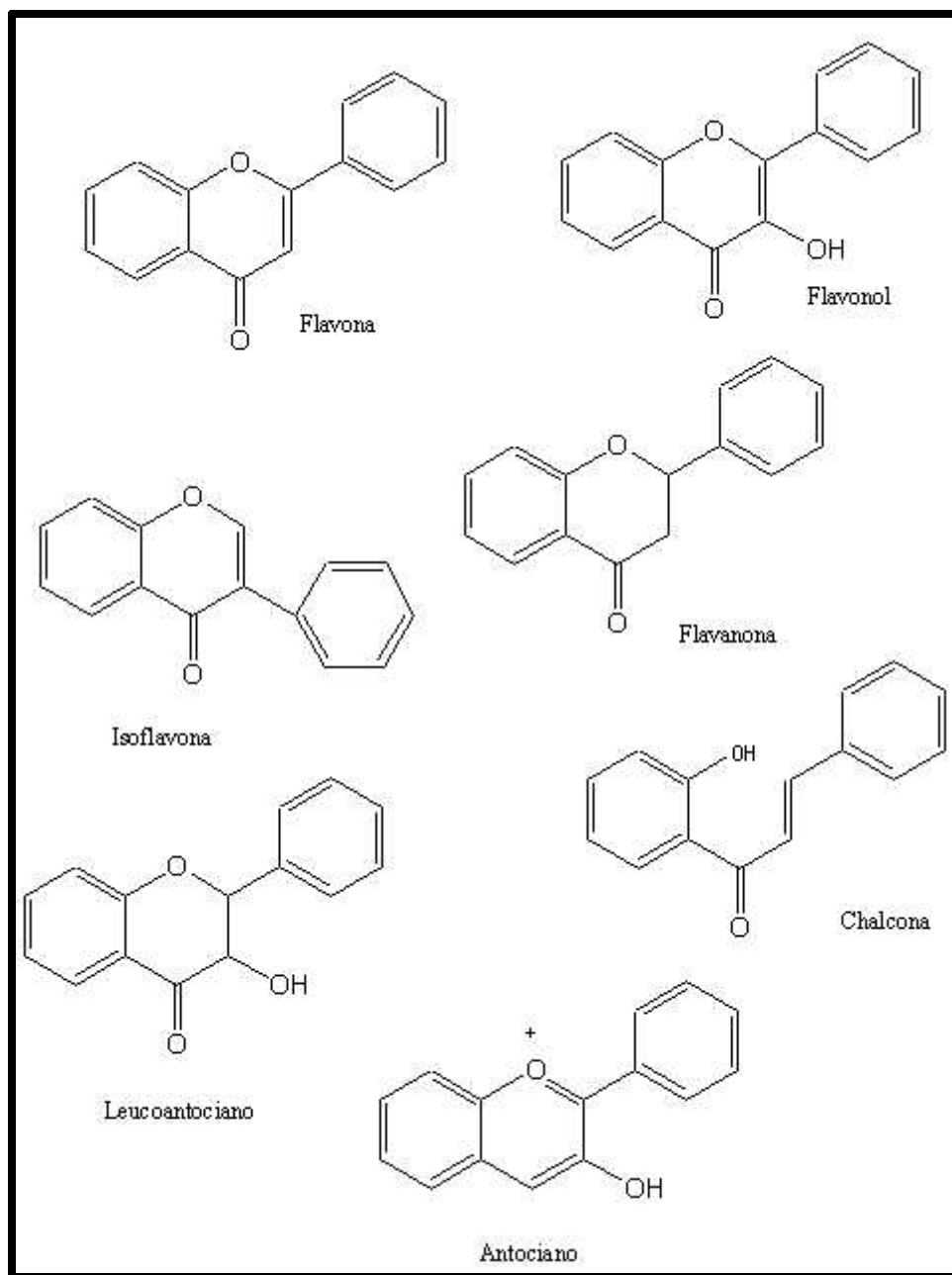


Fig. 1.7 Clasificación de los flavonoides con base en la estructura química de la cadena intermedia (Modificado de Middleton *et al*, 2000).

este respecto (Duarte *et al*, 1993a; López-López *et al*, 2004; Nijveldt *et al*, 2001; Pérez-Vizcaíno *et al*, 2002).

I.V.1. Quercetina

De todos los flavonoides reportados, la quercetina (fig. 1.8) es el más abundante. Ésta pertenece al subgrupo de las flavonas y se encuentra presente en la cebolla, la manzana, el brócoli y las frutillas. Se ha estimado que contribuye con el 60 – 75 % de la ingesta diaria de flavonoides y es absorbido en el intestino en cantidades significativas. Puesto que tiene un tiempo de vida media largo, el consumo de alimentos que lo contienen favorece su acumulación en la sangre (Hollman *et al*, 1997).

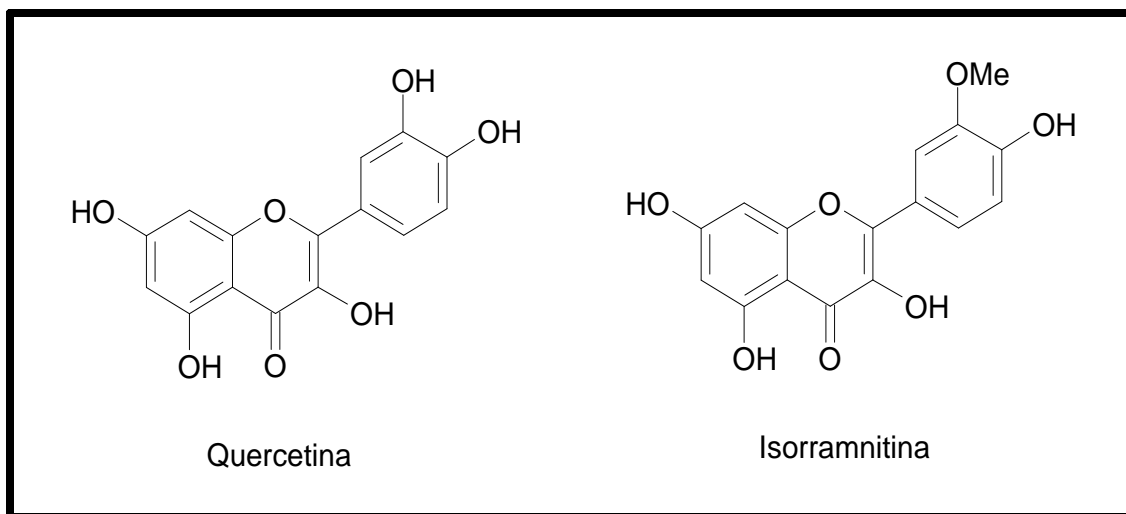


Fig. 1.8. Estructura química de la quercetina y la isorramnitina, dos flavonoides (Modificado de Pérez-Vizcaíno *et al*, 2002).

Los reportes de toxicidad son muy controvertidos. Algunos autores mencionan que la quercetina es carcinogénica, sin embargo, otros le confieren propiedades antimutagénicas. En lo que se refiere a los efectos benéficos, se le atribuyen efectos

antioxidantes con mecanismos como el de interferir con la actividad de la enzima óxido nítrico sintetasa, el de barrido de radicales libres y el de inhibición de la actividad de la xantina oxidasa (Nijveldt *et al*, 2001).

En músculo liso vascular, algunos estudios sugieren que la quercetina podría afectar la disponibilidad de Ca^{2+} para la maquinaria contráctil aunque no se descartaron efectos en los sistemas enzimáticos cruciales. Además, en estudios realizados en aorta de rata, la quercetina, en una concentración de 1×10^{-4} M, inhibió la respuesta contráctil inducida por el KCl, el Ca^{2+} y la PMCA (Duarte *et al*, 1993b). El mecanismo por el cual la quercetina induce la vasodilatación no está bien aclarado, sin embargo se ha propuesto que inhibe a la proteína cinasa C (Pérez-Vizcaíno *et al*, 2002).