



Posible mecanismo involucrado en el efecto vasodilatador inducido por fenproporex en anillos aórticos de rata

Jorge Skiold López-Canales,^{***} Jair Lozano-Cuenca,^{**} Raúl Morín-Zaragoza,^{***} Jesús Eduardo Rodríguez-Almaraz,^{*} Óscar Alberto López-Canales,^{*} Carina Ruiz-Frutos,^{*} Juan Daniel Rodríguez Choreño,^{***} Ignacio Valencia-Hernández^{*}

RESUMEN

El fenproporex, un fármaco supresor del hambre, induce relajación en anillos aórticos de rata precontraídos con fenilefrina; sin embargo, ningún estudio ha reportado los mecanismos involucrados en este efecto relajante. Por consiguiente, este estudio investigó los mecanismos involucrados en el efecto vasodilatador del fenproporex bajo condiciones experimentales diferentes (con o sin endotelio, y en la presencia o ausencia de diferentes bloqueadores/inhibidores). El fenproporex a concentraciones de 10^{-9} - 10^{-5} M indujo relajación dependiente de la concentración en los anillos aórticos de rata precontraídos con fenilefrina, los cuales: a) No se afectaron con 10^{-5} M de indometacina, 3.1×10^{-7} M de glibenclamida, 10^{-7} M de apamin o caribdotoxina 10^{-7} M. b) Significativamente atenuado por 10^{-5} M cicloheximida, 10^{-5} M L-NAME, 10^{-2} TEA y la combinación de caribdotoxina + apamin, y c) Bloqueada por la remoción del endotelio. Estos resultados sugieren que los efectos vasodilatadores del fenproporex en los anillos aórticos de rata precontraídos con fenilefrina, involucran la estimulación de mecanismos genómicos, liberación endotelial de óxido nítrico y estimulación de los canales de potasio de tipo K_{v} , y en un menor grado canales de SK_{Ca} , IK_{Ca} y BK_{Ca} .

Palabras clave: Farmacología cardiovascular, fenproporex, obesidad, aorta de rata, óxido nítrico, canales de potasio.

ABSTRACT

Fenproporex, an appetite-suppressant drug, induces relaxation on phenylephrine-precontracted rat aortic rings, but no study has reported the mechanisms involved in this relaxant effect. Hence, this study has investigated the mechanisms involved in the vasorelaxant effect of fenproporex under several experimental conditions (with or without endothelium, and in presence or absence of several inhibitors/blockers). 10^{-9} - 10^{-5} M fenproporex induced concentration-dependent relaxations on phenylephrine-precontracted rat aortic ring, which were: a) Unaffected by 10^{-5} M indomethacin, 3.1×10^{-7} M glibenclamide, 10^{-7} M apamin or charybdotoxin 10^{-7} M. b) Significantly attenuated by 10^{-5} M cycloheximide, 10^{-5} M L-NAME, 10mM TEA and the combination charybdotoxin + apamin; and c) Blocked by endothelium removal. These results, taken together suggest that the relaxant effects of fenproporex on phenylephrine-precontracted rat aortic rings involve stimulation of genomic mechanisms, endothelial release of nitric oxide and stimulation of K_{v} , and to a lesser extent, SK_{Ca} , IK_{Ca} and BK_{Ca} channels.

Key words: Cardiovascular pharmacology, fenproporex, obesity, rat aorta, nitric oxide; potassium channels.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la obesidad es un problema global asociado con el estilo de vida moderno y está correlacionado

con varias comorbilidades, dentro de las cuales se encuentran la diabetes mellitus, hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares.¹ Se encuentran disponibles distintas terapias farmacológicas para el tratamiento de la obesidad, como fármacos supresores del hambre, inhibidores de la lipasa pancreática, agentes termogénicos, productos dietéticos, entre otros.² Sin embargo, el tratamiento de la obesidad es un desafío dentro de la farmacología, ya

* Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, IPN.

** Departamento de Biología Celular, Instituto Nacional de Perinatología.

*** Productos Medix S.A. de C.V.

que algunos fármacos antiobesidad producen efectos colaterales.¹ En este sentido, los fármacos serotoninérgicos supresores del hambre, la fenfluramina y la dexfenfluramina fueron retirados del mercado por contar con dos complicaciones cardiopulmonares importantes: hipertensión pulmonar primaria y regurgitación aórtica.³ El mecanismo por el cual estos fármacos desarrollaron enfermedad valvular es especulativo y puede estar relacionado con sus propiedades agonistas serotoninérgicas. Se encontraron características ecocardiográficas que son similares a la enfermedad carcinoide cardiaca y a valvulopatía asociada con el uso de ergot.⁴ La sibutramina, otro supresor del hambre, fue retirado del mercado, por diversos eventos cardiovasculares que fueron notificados (hipertensión, taquicardia, arritmias, infarto al miocardio). Los efectos cardiovasculares de la sibutramina son complejos e involucran su capacidad de ser combinados con inhibidores de la recaptura de norepinefrina y serotonina en los sistemas nervioso central y nervioso autónomo.⁵

Los efectos cardiovasculares de la fenfluramina, dexfenfluramina y sibutramina fueron determinados en varios estudios experimentales *in vivo* e *in vitro*, en los cuales:

- La fenfluramina produjo hipotermia asociada a dilatación cutánea en la rata.⁶
- La (+)-norfenfluramina, un metabolito de la fenfluramina, produce contracción dependiente de la concentración en la aorta torácica y en las arterias mesentéricas en ratas y ratones.^{7,8}
- La dexfenfluramina y nordexfenfluramina, el principal metabolito de la dexfenfluramina, produce vasoconstricción en el pulmón perfundido y aislado de la rata y en las arterias pulmonares aisladas.⁹
- La dexfenfluramina eleva la presión arterial sistémica al inhibir los canales de potasio en las células de músculo liso vascular de ratas.¹⁰
- La sibutramina causó un efecto presor y taquicárdico en las arterias celiacas y mesentéricas, así como vasodilatación hiperémica en la rata.¹¹

Por otro lado, el fenproporex es un supresor del hambre utilizado para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad, y su mayor metabolito, la anfetamina, un estimulante del sistema nervioso central.¹² Fenproporex es un fármaco derivado de la feniletilamina, cuya eficacia anorexigénica ha sido asociada con propiedades estimulantes centrales y periféricas marcadas.¹³ Hay evidencia que sugiere que el fenproporex podría estar implicado en el desarrollo de efectos adversos pulmonares y cardiacos, ya que el fenproporex incrementa los niveles plasmáticos de serotonina.¹⁴ No obstante, estudios preliminares de

nuestro laboratorio mostraron que el fenproporex produce relajación en los anillos aórticos de ratas precontraídos por fenilefrina y hasta ahora, para nuestro conocimiento, el último hallazgo es una propiedad cardiovascular experimental del fenproporex que permanece sin explorar. En este sentido, el presente estudio expone la evaluación de los mecanismos involucrados en el efecto relajante inducido por el fenproporex en anillos aórticos de rata precontraídos con fenilefrina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Los experimentos fueron realizados en anillos aislados tomados de aortas torácicas de ratas Wistar machos (rango de peso corporal 250-300 g). Los animales se obtuvieron de nuestro propio bioterio y tuvieron acceso libre a comida y agua antes de los experimentos; asimismo, fueron colocados en cajas de plástico a una temperatura controlada (22 ± 2 °C, 50% humedad) en un ciclo luz-oscurecimiento de 12:12 h (con luz, iniciando a las 7:00 a.m.). Adicionalmente, el estudio fue aprobado por el Comité de Cuidado Animal de la Escuela Superior de Medicina, en acuerdo con el Acta de los Animales de 1986 (Procedimientos científicos) del parlamento del Reino Unido (A(SP)A86).¹⁵

Preparación de los anillos aórticos

Después de sacrificar al animal por dislocación cervical, se extrajo la aorta torácica e inmediatamente después se colocó en solución Krebs (ver composición más adelante) bajo oxigenación constante con carbógeno (5% CO₂ y 95% O₂) y se eliminó el tejido conectivo circundante. Tomando como referencia el diafragma, se separaron los segmentos torácico y abdominal de la aorta y cada uno de ellos se cortó en anillos de aproximadamente 5 mm de ancho. Posteriormente, se colocaron en cámaras para órgano aislado conteniendo 10 mL de solución Krebs-bicarbonato con la siguiente composición (mM): NaCl 118, KCl 4.7, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 7H₂O 1.2, CaCl₂ 2H₂O 2.5, NaHCO₃ 25, dextrosa 11.7 y edetato disódico y cálcico 0.026. Las cámaras para órgano aislado mantuvieron la solución a una temperatura constante a 37 °C, un pH 7.4 y burbujeada constante con una mezcla de 95% O₂ y 5% CO₂. Los anillos se montaron en dos ganchos de acero inoxidable, uno de los cuales se fijó al fondo de la cámara y el otro a un transductor de tensión Grass FTO3 que se conecta a un polígrafo modelo 7D (Grass Instrument Co.,



Quincy MA, USA), el cual fue usado para medir la tensión isométrica desarrollada por los anillos aórticos. A los anillos se le dio una tensión inicial de 2 g y se les dejó estabilizar por un periodo de 2 h, durante el cual cada 30 min se expusieron a fenilefrina (10^{-6} M) para probar la viabilidad del tejido mediante la inducción de una respuesta contráctil. Posteriormente, se lavó el tejido tres veces con solución de Krebs para recuperar el nivel basal de tensión. A algunos anillos se les retiró el endotelio, frotándolos gentilmente sobre el borde estriado de unas pinzas de disección. Para determinar si se removió adecuadamente el endotelio, después de precontraer con fenilefrina, se agregó acetilcolina (10^{-6} M). La remoción del endotelio se corroboró mediante la ausencia de efecto relajante.

Fármacos

Todos los fármacos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis MO, EUA). El fenproporex fue proporcionado por Productos Medix, S.A. de C.V.

Protocolo experimental

Para determinar los mecanismos involucrados en el efecto relajante inducido por el fenproporex en los anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina, se formaron dos grupos de experimentos bajo varias condiciones experimentales.

En el primer grupo de experimentos, después de la contracción sostenida de los anillos aórticos con o sin endotelio inducida por fenilefrina 10^{-6} M, el fenproporex fue añadido de manera acumulativa (10^{-9} - 10^{-5} M). La tensión fue expresada como un porcentaje de contracción inducido por fenilefrina. La fenilefrina alcanzó una contracción sostenida después de 20 min. Después de esto fueron añadidas concentraciones acumulativas de fenproporex en intervalos de aproximadamente 20 min.

En el segundo grupo de experimentos, después de la contracción por fenilefrina (ver el primer grupo de experimentos), fueron inducidas respuestas vasodilatadoras al fenproporex en los anillos aórticos en presencia y ausencia de:

- 10^{-5} M de L-NAME (un inhibidor no selectivo de la ON sintasa).
- 3.1×10^{-7} M de glibenclamida (un bloqueador de los canales de K^+ sensible a ATP; K_{ATP}).
- 10^{-2} de TEA (un bloqueador de los canales de K^+ activados por voltaje no específico).

- 10^{-7} M de apamin (un bloqueador de los canales de K^+ activado por Ca^{2+} de baja conductancia; SK_{Ca}).
- 10^{-7} M de caribdotoxina (un bloqueador de los canales de K^+ activado por Ca^{2+} de conductancia intermedia y alta; IK_{Ca} y BK_{Ca}).
- 10^{-7} M de apamin + 10^{-7} M caribdotoxina.
- 10^{-5} M de indometacina (un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas).
- 10^{-5} M de cicloheximida (un inhibidor de la síntesis de proteínas).

Los segmentos de aorta de rata fueron preincubados con inhibidores o bloqueadores por 30 min.

Análisis estadístico de los datos

Los datos fueron presentados como medias \pm SEM. En todos los experimentos, n es igual al número de animales de los cuales fueron obtenidos los segmentos aórticos (seis en cada caso). El efecto relajante del fenproporex en los segmentos aórticos precontraídos por fenilefrina fue analizado utilizando mediciones de análisis y varianza, en repetidas ocasiones. Finalmente, el efecto del inhibidor/bloqueador en el efecto relajante del fenproporex se analizó utilizando un análisis de varianza de dos vías para medidas repetidas. Cada análisis de varianza fue seguido por una prueba de Student-Newman-Keuls. La significancia estadística fue aceptada a $P < 0.05$.¹⁶ El análisis estadístico fue realizado en el programa SigmaPlot (systat software Inc.; San José, CA, EUA).

RESULTADOS

Efecto vasodilatador del fenproporex

Después de la contracción sostenida inducida por fenilefrina 10^{-6} M, el fenproporex fue agregado acumulativamente (10^{-9} - 10^{-5} M), el fenproporex indujo relajación dependiente de la concentración en aortas de rata precontraídas con fenilefrina, alcanzando un porcentaje del máximo de relajación de 65.76 ± 4 (34.24% de la contracción inducida por fenilefrina) (Figura 1) esas relajaciones fueron estadísticamente significativas, $P < 0.05$ a altas concentraciones ($10^{-7.5}$ - 10^{-5}) cuando se compara con la línea basal de la contracción inducida por fenilefrina. La remoción funcional del endotelio bloqueó las relajaciones inducidas por fenproporex en los anillos aórticos de rata precontraídos con fenilefrina (Figura 1).

Efecto del L-NAME y varios bloqueadores de canales de K⁺ en el efecto relajante inducido por fenproporex en los anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina

La figura 2 muestra el efecto de 10⁻⁵ M de L-NAME (Figura 2A), 10⁻² M de TEA (Figura 2B) y 10⁻⁷ M de apamin (Figura 2C)

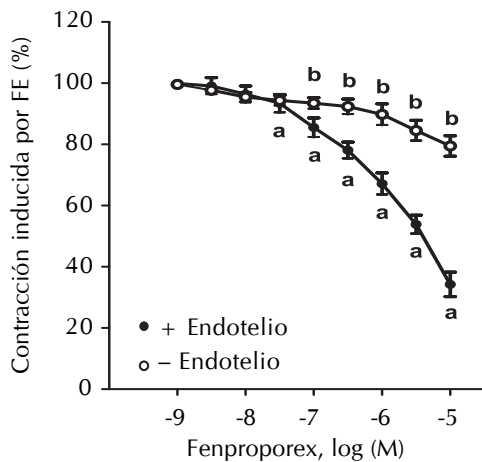


Figura 1. Relajación concentración dependiente del fenproporex (10⁻⁹-10⁻⁵ M) en anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina (10⁻⁶ M) (FE) con (+endotelio) o sin endotelio (-endotelio). Datos expresados como media ± E.E.M de n observaciones, n = 6. **a.** P < 0.05 vs. contracción inducida por fenilefrina basal. **b.** P < 0.05 vs. control.

+ 10⁻⁷ caribdotoxina (Figura 2C) en las relajaciones inducidas por 10⁻⁹-10⁻⁵ de fenproporex. Las relajaciones inducidas por fenproporex fueron significativamente (P < 0.05) atenuados por L-NAME, TEA y la combinación de apamin + caribdotoxina.

Las respuestas vasodilatadoras inducidas por fenproporex en los anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina no se modificaron con indometacina de 10⁻⁵ M (datos no mostrados). Esas respuestas vasodilatadoras fueron similares antes y después de la preincubación de los segmentos aórticos con este inhibidor de la síntesis de prostaglandinas.

DISCUSIÓN

General

Además de las implicaciones discutidas anteriormente, los resultados mostraron que la relajación inducida por fenproporex en los anillos aórticos precontraídos por fenilefrina fueron:

- No afectados por indometacina, glibenclamida, apamin y caribdotoxina.
- Significativamente atenuados por cicloheximida, L-NAME, TEA y la combinación de apamin + caribdotoxina.
- Bloqueado por la remoción del endotelio.

Estos resultados sugieren que el fenproporex produce efectos relajantes en los anillos aórticos precontraídos por

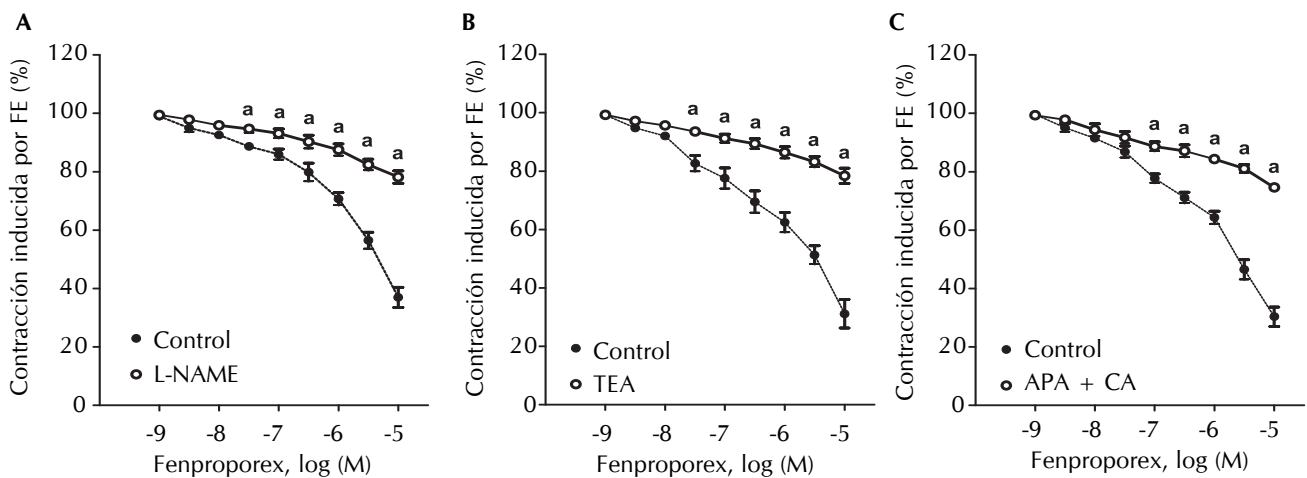


Figura 2. Efecto del éster de metilo de L-NG nitroarginina (10⁻⁵ M) (L-NAME). **A.** Tetraetilamonio (10⁻² M) (TEA). **B.** Combinación de apamin (10⁻⁷ M) + caribdotoxina (10⁻⁷ M) (APA + CHA). **C.** En la vasodilatación inducida por fenproporex en anillos aórticos de rata con endotelio precontraídos por fenilefrina (10⁻⁶ M) (FE). Los datos son expresados como media ± EEM de n observaciones, n = 6. **a.** P < 0.05 vs. control.

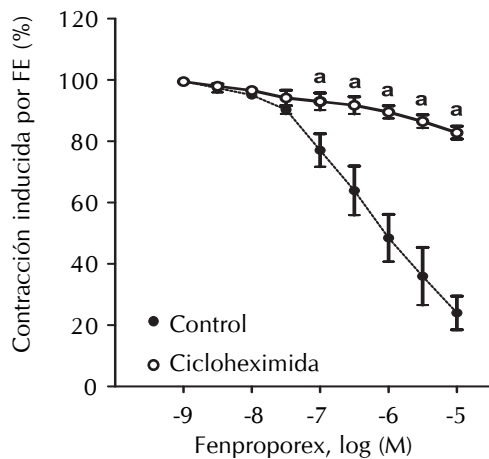


Figura 3. Efectos de la cicloheximida (10^{-5} M) en la vasodilatación inducida por fenproporex en anillos aórticos con endotelio de rata precontraídos con fenilefrina (10^{-6} M) (FE). Los datos son expresados como media \pm E.E.M de n observaciones, $n = 6$. **a.** $P < 0.05$ vs. control.

fenilefrina con endotelio funcional, sugiriendo que los efectos vasodilatadores inducidos por fenproporex son dependientes del endotelio. El efecto vasodilatador inducido por fenproporex contrasta con varios estudios *in vitro* e *in vivo*, que sugieren que los fármacos antiobesidad producen efectos vasoconstrictores. En este sentido, la (+)-norfenfluramina, un metabolito de la fenfluramina, produce contracción en las arterias dependiente de la concentración, principalmente en la aorta torácica y en arterias mesentéricas en ratas y ratones,^{7,8} la dexfenfluramina y nordexfenfluramina, el principal metabolito de la dexfenfluramina, produce vasoconstricción en los anillos de arterias pulmonares de los modelos experimentales,⁹ la dexfenfluramina eleva la presión arterial sistémica al inhibir la corriente de potasio en las células de músculo liso vascular de las ratas¹⁰ y la sibutramina causó un efecto presor y efectos taquicárdicos en las arterias celiacas y mesentéricas en la rata.¹¹ Además, la respuesta vasodilatadora inducida por fenproporex, contrasta con estudios que sugieren que el fenproporex podría estar implicado en el desarrollo de efectos adversos agudos en tejido cardíaco y pulmonar, ya que el fenproporex incrementa los niveles plasmáticos de serotonina.¹⁴ A pesar de la evidencia especulativa que sugiere que el fenproporex podría producir vasoconstricción, la investigación mostró evidencia directa de que el fenproporex produce vasodilatación. Esta discrepancia de fenproporex puede estar relacionada con:

- Diferencias en condiciones experimentales.
- La naturaleza de la vasculatura que se analiza.

- Una propiedad diferente de este fármaco muy importante, para el posible tratamiento de la obesidad sin efectos cardiovasculares adversos.

Papel del ON y los canales de K^+ en el efecto relajante producido por el fenproporex en anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina

Los resultados sugieren que el ON y los canales de K^+ se encuentran involucrados en los efectos vasodilatadores de fenproporex, ya que 10^{-5} M de L-NAME (un inhibidor directo de la ONS),¹⁷ 10^{-2} M de TEA (un bloqueador de canales de K^+ voltaje dependiente no selectivo)¹⁸ y la combinación 10^{-7} de apamin (un inhibidor de canales de potasio activados por calcio de baja conductancia)¹⁹ + 10^{-7} de carbidotóxina (un inhibidor de canales de potasio activados por calcio de intermedia y alta conductancia)²⁰ significativamente atenuaron esas respuestas vasodilatadoras ($P < 0.05$) en los anillos aórticos de endotelio funcional. Existen reportes previos que sugieren que el ON y los canales de K^+ juegan un papel crítico en la regulación del tono vascular.²¹⁻²⁶ Además, estas observaciones son consistentes con varios reportes en los cuales los diferentes fármacos producen vasodilatación a través de la estimulación de ON y canales de K^+ .²⁷⁻³³ Sin embargo, para nuestro mejor conocimiento, éste es el primer reporte acerca de:

- El efecto vasodilatador inducido por un fármaco antiobesidad.
- Posible mecanismo involucrado en los efectos vasodilatadores inducidos por fenproporex en anillos aórticos de rata.

Por otro lado, el hecho de que 3.1×10^{-7} M de glibenclamida, un bloqueador de los canales de K^+ sensible a ATP,³⁴ apamin y carbidotóxina, no modificaron las respuestas vasodilatadoras inducidas por fenproporex sugieren que no se encuentran involucrados los canales K_{ATP} , SK_{Ca} , IK_{Ca} y BK_{Ca} en dicho efecto. Por otro lado, la combinación de 10^{-7} de apamin + 10^{-7} de carbidotóxina atenuó significativamente ($P < 0.05$) el efecto relajante del fenproporex. Lo último sugiere que un bloqueo completo de canales activados de Ca^{2+} y K^+ es necesario para producir una respuesta farmacológica, como se reportó previamente.³⁵⁻³⁷ En general, los hallazgos previos sugieren que los efectos relajantes inducidos por fenproporex en anillos aórticos precontraídos por fenilefrina involucran la liberación endotelial de óxido nítrico y la estimulación de K_v y en menor proporción en los canales SK_{Ca} , IK_{Ca} y BK_{Ca} .

Papel de la síntesis de prostaglandinas y proteínas en los efectos relajantes producidos por fenproporex en los anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina

El hecho de que 10^{-5} M de cicloheximida, un inhibidor de síntesis de proteínas,³⁸ atenuara significativamente ($P < 0.05$) las respuestas relajantes del fenproporex en los anillos aórticos precontraídos por fenilefrina, sugiere el rol de mecanismos genómicos. Sin embargo, la estimulación de la síntesis de prostaglandinas a través de los mecanismos genómicos es poco probable, ya que las respuestas vasodilatadoras inducidas por fenproporex en los anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina no fueron afectados por 10^{-5} M de indometacina ($P > 0.05$) un inhibidor de síntesis de prostaglandinas.³⁹ En contraste, los mecanismos genómicos que estimulan la liberación endotelial de óxido nítrico, así como apertura de canales de K_v , SK_{Ca} , IK_{Ca} y BK_{Ca} , podrían estar involucrados en las respuestas vasodilatadoras inducidas por fenproporex en los anillos aórticos precontraídos por fenilefrina, ya que 10^{-5} M de L-NAME, 10^{-2} M de TEA o la combinación de 10^{-7} de apamin + 10^{-7} de caribdotoxina, pero no de 3.1×10^{-7} M de glibenclamida, 10^{-7} M de apamin o 10^{-7} de caribdotoxina, atenuaron significativamente esas respuestas vasodilatadoras ($P < 0.05$). Por otro lado, con nuestros estudios farmacológicos no es posible afirmar que la liberación de óxido nítrico endotelial y la apertura de los canales de potasio involucran síntesis de proteínas. Además, no sabemos el mecanismo específico genómico (el tipo específico de las proteínas sintetizadas) involucrado en los efectos relajantes del fenproporex. Claramente, se necesitan experimentos adicionales, lo cuales caen mas allá del ámbito de la presente investigación, para determinar el tipo de mecanismo genómico involucrado en los efectos inducidos por el fenproporex.

CONCLUSIÓN

El fenproporex produce efectos relajantes en los anillos aórticos de rata precontraídos por fenilefrina posiblemente a través de mecanismos genómicos, liberación endotelial de óxido nítrico y estimulación de los canales K_v y en menor medida de los canales SK_{Ca} , IK_{Ca} y BK_{Ca} .

CONFLICTOS DE INTERÉS

No tenemos conflictos de interés que declarar.

REFERENCIAS

1. Pagotto U, Vanuzzo D, Vicennati V, Pasquali R. Pharmacological therapy of obesity. *G Ital Cardiol (Rome)* 2008; 9: 835-935.

2. Alemany M, Remesar X, Fernandez-Lopez JA. Drug strategies for the treatment of obesity. *IDrugs: the investigational drugs journal* 2003; 6: 566-72.
3. Adams C, Cohen A. Appetite suppressants and heart valve disorders. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux* 1999; 92: 1213-9.
4. Seghatol FF, Rigolin VH. Appetite suppressants and valvular heart disease. *Current opinion in cardiology* 2002; 17: 486-92.
5. Scheen AJ. Sibutramine on cardiovascular outcome. *Diabetes care* 2011; 34(Suppl. 2): S114-S119.
6. Subramanian S, Vollmer RR. Fenfluramine-induced hypothermia is associated with cutaneous dilation in conscious rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 2004; 77: 351-9.
7. Ni W, Li MW, Thakali K, Fink GD, Watts SW. The fenfluramine metabolite (+)-norfenfluramine is vasoactive. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2004; 309: 845-52.
8. Ni W, Wilhelm CS, Bader M, Murphy DL, Lookingland K, Watts SW. (+)-Norfenfluramine-induced arterial contraction is not dependent on endogenous 5-hydroxytryptamine or 5-hydroxytryptamine transporter. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2005; 314: 953-60.
9. Hong Z, Olschewski A, Reeve HL, Nelson DP, Hong F, Weir EK. Nordexfenfluramine causes more severe pulmonary vasoconstriction than dexfenfluramine. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 2004; 286: L531-L538.
10. Michelakis ED, Weir EK, Nelson DP, Reeve HL, Tolarova S, Archer SL. Dexfenfluramine elevates systemic blood pressure by inhibiting potassium currents in vascular smooth muscle cells. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 1999; 291: 1143-9.
11. Woolard J, Bennett T, Dunn WR, Heal DJ, Aspley S, Gardiner SM. Acute cardiovascular effects of sibutramine in conscious rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2004; 308: 1102-10.
12. Comiran E, Souza DZ, Boehl PO, Cassia Mariotti K, Pechansky F, Duarte Pdo C, De Boni RB, Froehlich PE, Limberger RP. Fenproporex and amphetamine pharmacokinetics in oral fluid after controlled oral administration of fenproporex. *Therapeutic drug monitoring* 2012; 34: 545-53.
13. Mariotti KC, Rossato LG, Froehlich PE, Limberger RP. Amphetamine-Type Medicines: A Review of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Toxicological Aspects. *Current clinical pharmacology* 2013.
14. Zolkowska D, Rothman RB, Baumann MH. Amphetamine analogs increase plasma serotonin: implications for cardiac and pulmonary disease. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2006; 318: 604-10.



15. Animals (Scientific Procedures) Act 1986 (A(SP)A86).
16. Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistic: a biomedical approach. NY: McGraw-Hill; 1997.
17. Palacios M, Knowles RG, Palmer RM, Moncada S. Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylate cyclase in adrenal glands. *Biochemical and biophysical research communications* 1989; 165: 802-9.
18. Mathie A, Wooltorton JR, Watkins CS. Voltage-activated potassium channels in mammalian neurons and their block by novel pharmacological agents. *General pharmacology* 1998; 30: 13-24.
19. Romey G, Hugues M, Schmid-Antomarchi H, Lazdunski M. Apamin: a specific toxin to study a class of Ca²⁺-dependent K⁺ channels. *Journal de physiologie* 1984; 79: 259-64.
20. Ouadid-Ahidouch H, Van Coppenolle F, Le Bourhis X, Belhaj A, Prevarskaya N. Potassium channels in rat prostate epithelial cells. *FEBS letters* 1999, 459: 15-21.
21. Knot HJ, Nelson MT. Regulation of membrane potential and diameter by voltage-dependent K⁺ channels in rabbit myogenic cerebral arteries. *The American journal of physiology* 1995; 269: H348-H355.
22. Leblanc, N., Wan, X., Leung, P.M., 1994. Physiological role of Ca²⁺-activated and voltage-dependent K⁺ currents in rabbit coronary myocytes. *The American journal of physiology* 266, C1523-1537.
23. Moncada S, Higgs EA, Palmer RM. Characterization and biological significance of endothelium-derived relaxing factor. *Biochemical Society transactions* 1988; 16: 484-6.
24. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1988; 12: 365-72.
25. Moncada S, Radomski MW, Palmer RM. Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochemical pharmacology* 1988; 37: 2495-501.
26. Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *The American journal of physiology* 1995; 268: C799-C822.
27. Assis AC, Araujo IG, Lima RP, Almeida MM, Marinho AF, Barbosa-Filho JM, Cruz JS, et al. Warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid, induces relaxation by activating potassium channels in vascular myocytes. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 2013; 40: 37-44.
28. Hoshi T, Wissuwa B, Tian Y, Tajima N, Xu R, Bauer M, Heinemann SH, et al. Omega-3 fatty acids lower blood pressure by directly activating large-conductance Ca²⁺-dependent K⁺ channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2013; 110: 4816-21.
29. Kang YH, Yang IJ, Morgan KG, Shin HM. Cinnamyl alcohol attenuates vasoconstriction by activation of K⁺ channels via NO-cGMP-protein kinase G pathway and inhibition of Rho-kinase. *Experimental & molecular medicine* 2012; 44: 749-55.
30. Wang TT, Zhou GH, Kho JH, Sun YY, Wen JF, Kang DG, Lee HS, et al. Vasorelaxant action of an ethylacetate fraction of *Euphorbia humifusa* involves NO-cGMP pathway and potassium channels. *Journal of ethnopharmacology* 2013.
31. Wang Y, Han Y, Yang J, Wang Z, Liu L, Wang W, Zhou L, et al. Relaxant effect of all-trans-retinoic acid via NO-sGC-cGMP pathway and calcium-activated potassium channels in rat mesenteric artery. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 2013b; 304: H51-H57.
32. Xu YC, Leung GP, Wong PY, Vanhoutte PM, Man RY. Kaempferol stimulates large conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BKCa) channels in human umbilical vein endothelial cells via a cAMP/PKA-dependent pathway. *British journal of pharmacology* 2008; 154: 1247-53.
33. Yamazaki F, Chi H, Eguchi S, Kawano T. Activation of ATP-sensitive potassium channels by nicorandil is preserved in aged vascular smooth muscle cells in rats. *Journal of anesthesia* 2013.
34. Davies NW, Pettit AI, Agarwal R, Standen NB. The flickery block of ATP-dependent potassium channels of skeletal muscle by internal 4-aminopyridine. *Pflugers Archiv: European journal of physiology* 1991; 419: 25-31.
35. Pataricza J, Marton Z, Lengyel C, Toth M, Papp JG, Varro A, Kun A. Potassium channels sensitive to combination of charybdotoxin and apamin regulate the tone of diabetic isolated canine coronary arteries. *Acta Physiol (Oxf)* 2008; 194: 35-43.
36. Qiu Y, Quilley J. Apamin/charybdotoxin-sensitive endothelial K⁺ channels contribute to acetylcholine-induced, NO-dependent vasorelaxation of rat aorta. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research* 2001; 7: 1129-36.
37. Stankevicius E, Lopez-Valverde V, Rivera L, Hughes AD, Mulvany MJ, Simonsen U. Combination of Ca²⁺-activated K⁺ channel blockers inhibits acetylcholine-evoked nitric oxide release in rat superior mesenteric artery. *British journal of pharmacology* 2006; 149: 560-72.
38. Satav JG, Katyare SS, Fatterparker P, Sreenivasan A. Study of protein synthesis in rat liver mitochondria use of cycloheximide. *European journal of biochemistry/FEBS* 1977; 73: 287-96.
39. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature: New biology* 1971; 231: 232-5.



Solicitud de sobretiros:

Dr. Jorge Skiold López-Canales
Escuela Superior de Medicina
Instituto Politécnico Nacional
Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n

Col. Casco de Santo Tomás
C.P. 11340, México D.F.
Tel.: (52 55) 5520-9900, Ext. 270, 340
Fax: (52 55) 5520-0034
Correo electrónico: skiold666@hotmail.com