

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**“EFECTO HIPOTENSOR E INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA
ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA I DE EXTRACTOS
DE SEMILLAS DE *Salvia hispánica* L. *IN VITRO* E *IN VIVO*”**

**TESIS
QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**PRESENTA:
VERÓNICA GONZÁLEZ RAMOS**

Monterrey, Nuevo León, diciembre de 2011.

EFFECTO HIPOTENSOR E INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA
CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA I DE EXTRACTOS DE SEMILLAS DE
Salvia hispanica L IN VITRO E IN VIVO

COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS

DR. EN C. ERIK RAMÍREZ LÓPEZ
PRESIDENTE

DRA EN C. JULIA VERDE STAR
SECRETARIO

DRA EN C. BLANCA EDELIA GONZÁLEZ MARTÍNEZ
VOCAL

LUGARES DE TRABAJO

La presente tesis se desarrolló en los siguientes lugares:

- Laboratorio de Alimentos en la Facultad de Salud Pública y Nutrición
- Laboratorio de Fisiología en la Facultad de Medicina
- Laboratorio de Fitoquímica en la Facultad de Ciencias Biológicas
- Laboratorio de Química Analítica en la Facultad de Ciencias Biológicas

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto culminó gracias a muchas personas especiales que de diferentes maneras me apoyaron en esta etapa de mi vida.

Agradezco a:

A mis papas y mis hermanos por su paciencia y apoyo incondicional, comparto este logro con ustedes.

A mis amigas de la maestría en especial a Myriam, Sonia y Hamny, que de diferentes maneras estuvieron siempre conmigo compartiendo mis logros, tristezas, tropezones y aventuras.

A José por el apoyo durante este tiempo que estuve dedicada al proyecto.

A la Dra. Blanca González por confiar en mí, por darme palabras de aliento en momentos difíciles y por compartirme sus conocimientos para lograr completar este camino.

Al Dr. Guzmán por sus enseñanzas y por darme siempre ánimos por lograr cambiar en mí una ceja fruncida por una sonrisa, además por el espacio y facilidades que me brindo para el desarrollo de la experimentación.

También agradezco a las personas que gracias a este proyecto conocí y por su valiosa colaboración en este estudio, en especial a Andrea González, Juan Ibarra, Manuel Paz y Daniela Ortiz.

A la Dra. Julia Verde por brindarme las facilidades para desarrollar la parte fitoquímica del proyecto.

Al MC Sergio García por su apoyo en el análisis de los extractos.

A la Unidad de Hígado por las facilidades que me brindaron para el análisis de los parámetros de laboratorio, en especial a la *Dra. Paula Cordero* y a la *QCB. Claudia Raga*.

Estas palabras no son suficientes para agradecerles a cada uno de ustedes su apoyo, pero en especial agradezco a Dios por todo el amor que siempre me ha brindado.

DEDICATORIAS

Quiero dedicarle este trabajo a Dios, por hacer este sueño realidad.

A mis padres que siempre me han apoyado
a emprender nuevos retos.

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN	1
ABSTRACT	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. HIPÓTESIS	7
4. OBJETIVOS	8
4.1 Objetivo general	8
4.2 Objetivos específicos.....	8
5.	
ANTECEDENTES	9
5.1 Generalidades de la Hipertensión Arterial	9
5.2 Papel del sistema renina-angiotensina sobre la presión arterial	11
5.2.1 Sistema calicreína-óxido nítrico.....	14
5.2.2 Enzima Convertidora de la Angiotensina I.....	15
5.3 Tratamiento de la hipertensión arterial	18
5.3.1 Inhibidores naturales de ECA I	20
5.4 Generalidades sobre alimentos funcionales	21
5.5 <i>Salvia hispanica</i> L.	22
5.5.1 Antecedentes y clasificación	22
5.5.2 Composición química	25
5.5.3 Propiedades de la chía.....	28
6. MÉTODOS	30
6.1 Diseño	30
6.2 Equipos	31
6.3 Metodología.....	32
6.3.1 Fase 1. Elaboración y análisis de extractos	32

6.3.1.1 Obtención de extractos.....	32
6.3.1.2 Pruebas fitoquímicas coloridas para determinación de compuestos presentes en los extractos.....	34
6.3.2. Fase 2. Pruebas de inhibición de la actividad de la ECA I <i>in vitro</i>	37
6.3.2.1. Determinación de la inhibición de actividad de la ECA I (IECA) en extractos	37
6.3.2.2 Partición del extracto metanólico.....	38
6.3.2.3 Cromatografía en capa fina.....	40
6.3.3. Fase 3. Obtención de modelo de hipertensión y bioensayo	41
6.3.3.1 Medición de la presión arterial en las ratas	41
6.3.3.2 Obtención de modelo de ratas con hipertensión	42
6.3.3.3 Prueba piloto para determinar dosis de extracto	43
6.3.3.4 Bioensayo.....	43
6.3.3.4.1. Etapa 1. Inducción de la hipertensión (Pre-tratamiento) (Semana 0-2).....	45
6.3.3.4.2 Etapa 2. Administración de los tratamientos en los grupos (Semana 3-6).....	45
6.3.3.4.3 Determinación de los niveles séricos de colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos y proteína C reactiva en sujetos de estudio.....	46
6.3.3.4.4 Análisis de enzimas hepáticas	48
6.3.3.4.5 Urianálisis.....	48
6.3.5 Análisis estadístico.....	49
7.	
RESULTADOS.....	50
7.1 Fase 1. Elaboración y análisis de extractos	50
7.1.1 Obtención de extractos.....	50

7.1.2 Pruebas fitoquímicas en extractos.....	50
7.2 Fase 2. Pruebas de inhibición de la actividad de la ECA I <i>in vitro</i>	51
7.2.1 Determinación de la inhibición de la ECA I en extractos acuoso, metanólico, acetónico y hexánico.	51
7.2.2 Inhibición de la ECA en particiones del extracto metanólico	55
7.2.3 Cromatografía en capa fina de las particiones del extracto metanólico con mayor actividad IECA	56
7.3. Fase 3. Obtención de modelo de hipertensión y bioensayo	58
7.3.1 Modelo de hipertensión	58
7.3.2 Bioensayo.....	59
7.3.2.1 Prueba piloto para determinar la dosis del extracto.....	59
7.3.2.2 Efecto de los tratamientos en la presión arterial.....	59
7.3.2.3 Variación en peso en los sujetos de estudio	62
7.3.2.4 Análisis de parámetros bioquímicos	63
7.3.2.5 Urianálisis.....	67
7.3.2.6 Análisis de enzimas hepáticas	69
8.	
DISCUSIONES.....	72
8.1 Fase 1. Elaboración y análisis de extractos	72
8.1.1 Análisis de los extractos	72
8.2 Fase 2. Pruebas de inhibición de la actividad de la ECA I <i>in vitro</i>	74
8.2.1 Inhibición de la ECA I en extractos.....	74
8.3 Fase 3 Obtención de modelo animal y bioensayo	76
8.3.1 Modelo animal de hipertensión.....	76
8.3.2 Bioensayo.....	77
8.3.2.1 Análisis del efecto del EMSSH sobre la PAS en el modelo animal	

de hipertensión.....	77
8.3.2.2 Efecto del peso en los grupos	82
8.3.2.3 Efecto en los niveles de colesterol LDL, colesterol total, triglicéridos y proteína C reactiva en los tratamientos.....	82
8.3.2.4. Efecto del EMSSH en el urianálisis.....	85
8.3.2.5. Efecto del EMSSH en las enzimas hepáticas.....	87
9. CONCLUSIONES.....	91
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
11. ANEXOS.....	114
Anexo 1. Técnicas de parámetros bioquímicos.....	115
Anexo 2. Técnicas de las enzimas hepáticas.....	117
Anexo 3. Principios de las técnicas de urianálisis	118
Anexo 4. Composición del alimento para las ratas.....	121
Anexo 5. Análisis estadístico.....	122

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Sistema Renina Angiotensina (SRA).....	12
2	Sistema calicreína-óxido nítrico.....	15
3	Estructura cristalina de la ECA testicular humana con la molécula del inhibidor (lisinopril) unida en el centro de la estructura.....	17
4	Planta y semillas de chía (<i>Salvia hispanica</i> L.).....	23
5	Esquema general presentado en diferentes fases del trabajo.....	30
6	Proceso de elaboración de extractos	33
7	Esquema de elaboración de extractos de semillas de <i>Salvia hispanica</i> L.....	34
8	Esquema de la partición del extracto metanólico.....	39
9	Toma de la presión arterial en ratas.....	42
10	Pesado de animales.....	44
11	Administración de tratamientos en animales vía oral.....	46
12	Fotografías de: a) Jaula metabólica con aditamento para recolección de orina, b) Utilización de tiras reactivas	49
13	Determinación de la IECAI del captopril.....	52
14	Determinación de la IECA I en extracto acuoso.....	52
15	Determinación de la IECA I en extracto metanólico.....	53
16	Determinación de la IECA I en extracto acetónico.....	54
17	Determinación de la IECA I en extracto hexánico.....	54

18	Porcentajes de IECA en las particiones del extracto metanólico en una concentración de 1mg/mL.....	55
19	Cromatografía en placa fina de particiones de extracto metanólico con IECA.....	57
20	Efecto de los diferentes tratamientos sobre la PAS en las diferentes semanas de experimentación	61
21	Efecto de la PAS al final del estudio en los diferentes grupos experimentales.....	62
22	Efecto del peso corporal de las ratas en los diferentes tratamientos durante el estudio.....	63
23	Efecto de los diferentes tratamientos en los niveles de colesterol total al inicio y final de la etapa 2.....	65
24	Efecto de los tratamientos en cada uno de los grupos sobre los niveles de triglicéridos	65
25	Efecto del extracto metanólico de semillas de chía en el perfil de colesterol LDL al inicio y al final de la etapa 2.....	66
26	Efecto de los diferentes tratamientos en los niveles de PCR.....	67
27	Efecto de los tratamientos en los niveles de transaminasas (ALT y AST) al finalizar el estudio.....	70
28	Efecto de los tratamientos en los niveles de LDH al finalizar el estudio.....	71

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I. Clasificación botánica de la <i>Salvia hispanica</i> L	23
II. Contenido de aceite y composición de los ácidos grasos de semillas comerciales de chía provenientes de cinco países.....	26
III. Composición nutricional de la semilla de <i>Salvia hispanica</i>	27
IV. Diseño del estudio presentado en las diferentes fases del trabajo	30
V. Distribución de grupos para el bioensayo	46
VI. Análisis fitoquímico de los extractos de semillas de <i>Salvia hispanica</i> L	51
VII. Resultados de los análisis de las particiones del extracto metanólico con actividad IECA por cromatografía en capa delgada	56
VIII. Modelos de ratas con hipertensión inducida	58
IX. Efecto de los tratamientos en la PAS (mmHg) en la etapa 1 (Pre-tratamiento)	60
X. Efecto de la administración de los tratamientos en la PAS (mmHg) en la etapa 2	60
XI. Efecto de los diferentes tratamientos sobre los niveles de colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos y proteína C reactiva	64
XII. Efecto de los tratamientos en el urianálisis al final del estudio.....	68
XIII. Efecto de los tratamientos en los niveles de ALT, AST y LDH.....	69

LISTA DE ANEXOS

Anexo	Página
I. Principios de las técnicas de los parámetros bioquímicos.....	115
II. Principios de las técnicas del análisis de enzimas hepáticas.....	117
III. Principios de las técnicas de urianálisis.....	118
IV. Composición del alimento para las ratas.....	121
V. Análisis estadístico.....	122

NOMENCLATURA

AGI	Precursor Inactivo del Angiotensinógeno
Ang II	Angiotensina II
AP-t	Activador del plasminógeno tisular
CAGE	Chymostatin-sensitive Ang II Generating Enzyme
CCD	Cromatografía en capa delgada
DASH	Dietary Approaches to Stop Hypertension
DHA	Ácido Docosahexanoico
EAcSSH	Extracto acuoso de semillas de <i>Salvia hispanica</i> L.
EASSH	Extracto acetónico de semillas de <i>Salvia hispanica</i> L.
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina I
ECEA	Enfermedades Crónicas Esenciales del Adulto
EHSSH	Extracto hexánico de semillas de <i>Salvia hispanica</i> L.
EMSSH	Extracto metanólico de semillas de <i>Salvia hispanica</i> L.
EPA	Ácido eicoisapentanoico
FAPGG	Furiacrilolil-L-Fenil-Glicil-Glicina
FDA	Food and Drug Administration
FOSHU	Alimentos para uso específico a la Salud
HTA	Hipertensión Arterial
IECA's	Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina I
kDa	kilo Daltons
KMnO ₄	Permanganato de potasio
KNOS	Sistema Óxido Nítrico-Cinina
KOH	Hidróxido de potasio
LDH	Lactato deshidrogenasa
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
mL	Mililitros
μL	Microlitro
mmHg	Milímetros de mercurio

NaOH	Hidróxido de Sodio
nM	Nanomoles
nm	Nanometros
NEP	Endopeptidasa neutral
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Presión arterial
PAD	Presión arterial Diastólica
PAS	Presión Arterial Sistólica
PCR	Proteína C reactiva
SHR	Ratas espontáneamente hipertensas
SRA	Sistema Renina Angiotensina
USDA	United States Department of Agriculture
WHO	World Health Organization
WKY	Ratas Wistar Kyoto

1. RESUMEN

En el tratamiento de la hipertensión arterial existen diversos manejos en los cuales es indispensable la adopción de estilos de vida saludables. La modificación de los estilos de vida, incluyendo reducción de peso en personas con obesidad y con sobrepeso, la adopción de dietas saludables ricas en potasio y calcio, la reducción de sodio en la dieta, el incremento en actividad física y la moderación en consumo de alcohol. Esta modificación del estilo de vida reduce la presión arterial (PA), aumenta la eficacia de los fármacos antihipertensivos y disminuye el riesgo cardiovascular. Entre los medicamentos más comunes para el tratamiento de la hipertensión arterial que se encuentran en el mercado son los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I (IECA's) sin embargo, se han demostrado algunos efectos adversos como angioedema, hipotensión, dermatitis, etc. En la actualidad se ha despertado el interés en IECA's naturales, entre ellos los derivados de alimentos. La *Salvia hispánica* L. (chía) es una semilla milenaria, rica en nutrientes a la cual se le han atribuido algunas propiedades benéficas en enfermedades cardiovasculares como la hipertensión sin embargo, existe poca información de carácter científico al respecto, por lo que es importante ahondar en el conocimiento de los compuestos y el mecanismo responsable de dicho efecto. Los resultados de este trabajo demuestran que la semilla de chía posee principalmente compuestos con insaturaciones, terpenoides, glucósidos, compuestos fenólicos y grupos carbonilo. Los diferentes extractos de chía presentaron actividad de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I (IECA) y el extracto metanólico demostró tener mejor actividad de las particiones que se realizaron a partir de este extracto, la fracción insoluble en acetona obtuvo la mejor actividad de inhibición; esta fracción contiene glucósidos de terpenos y glucósidos unidos a compuestos fenólicos. En ratas hipertensas, el extracto metanólico mostró un claro efecto hipotensor con una dosis de 400 mg/kg, administrada por cuatro semanas sin cambiar

significativamente los niveles séricos de colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos y proteína C reactiva. Al analizar la función renal y hepática, los resultados muestran que la administración del extracto metanólico no produce daño hepático ni renal en los animales. Se concluye que el extracto metanólico de semillas de *Salvia hispanica L.* (EMSSH) posee compuestos químicos con efecto de inhibición *in vitro*, un efecto hipotensor tras su administración *in vivo* y ausencia de efecto tóxicos a nivel hepático y renal; los principales responsables del efecto son glucósidos de terpenos y glucósidos unidos a compuestos fenólicos.

Este trabajo nos aporta las primeras evidencias de la concentración del EMSSH con efecto hipotensor y de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina *in vitro* e *in vivo*, así como los posibles compuestos responsables del efecto, los cuales pudieran ser purificados para su uso en el tratamiento y prevención de la hipertensión.

2. ABSTRACT

There are several management practices in the hypertension in which the adoption of healthy lifestyles is essential. The modification of life-styles, including weight reduction in people with obesity and overweight, the adoption of healthy diets rich in potassium and calcium, the reduction of sodium in the diet, the increase in physical activity and self-restraint in the consumption of alcohol are some examples. This modification of lifestyle reduces blood pressure (BP) increases the effectiveness of antihypertensive drugs and reduces cardiovascular risk. The most commonly medications for the treatment of arterial hypertension that are on the market are angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI's) however some adverse effects such as angioedema, hypotension, dermatitis and others have been demonstrated.

Currently natural ACEI's has arouse curiosity among them those that proceed from food. The *Salvia hispanica* L. (chia) is a millennial seed, which is rich in nutrients with some beneficial properties in cardiovascular diseases such as hypertension however there is poor scientific information to support it, so it is important to acquire a deeper knowledge about the compounds and the mechanism responsible for this effect.

The results show that the chia seed has mainly metabolites such as unsaturated compounds, terpenoids, glycosides, phenolic compounds and carbonyl groups. The different extracts of chia showed activity of angiotensin converting enzyme inhibition (ACEI) and methanolic extract showed the better activity. The insoluble in acetone fraction of the methanolic extract of *Salvia hispanica* L. seeds (EMSSH) had the best action against the activity of ACE I, this fraction contains glycosides of terpenes and glycosides attached to phenolic compounds.

In hypertensive rats, methanolic extract showed a clear hypotensive effect with a dose of 400 mg/kg, administered by four weeks; without changing significantly in serum levels of total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides and C-reactive protein. The results of urianalysis and the hepatic enzymes

values show that the administration of the methanolic extract does not produce liver or renal damage in animals.

It is concluded that the EMSSH have chemical compounds with ACE inhibition *in vitro*, an a hypotensive effect after its administration *in vivo* and absence of toxic effect in the liver and kidney; where the main responsible compounds for the effect are glycosides of terpenes and glycosides attached to phenolic compounds. This work gives us the first evidences of the concentration of the EMSSH with hypotensive effect and ACEI *in vitro* and *in vivo*, as well as possible compounds responsible for the effect, which could be purified for use in the treatment and prevention of hypertension.

2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares actualmente representan la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. De los principales factores que predisponen al desarrollo y complicación de estas enfermedades se encuentran la hipertensión arterial (WHO, 2002). En México, la prevalencia de la hipertensión arterial, en el año 2006 fue del 30,8%, afectó principalmente a personas de 20 a 60 años. Los estados del norte de República Mexicana, alcanzaron cifras mayores de un 30% de incidencia (Rojas *et al.*, 2006). El tratamiento principal para esta enfermedad involucra tanto tratamientos no farmacológicos como la terapia dietética y cambios de estilo de vida así como medicamentos sintéticos como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I (Chen *et al.*, 2007). Sin embargo estos fármacos presentan un nivel moderado de toxicidad, con efectos secundarios como reacciones alérgicas, tos, cefalea, náuseas, dificultad para respirar, hiperpotasemia y síntomas de hipotensión (Burnier & Biollaz, 1992).

En los últimos años se han encontrado algunos inhibidores naturales de la enzima convertidora de angiotensina I en diferentes fuentes principalmente en lácteos, fuentes vegetales y animales (Ariyoshi, 1993), inclusive con igual ó con mayor efecto hipotensor que los inhibidores sintéticos pero a diferencia de éstos sin efectos adversos (Barbosa-Filho *et al.*, 2006).

La semilla de chía (*Salvia hispánica L.*) es un alimento endémico de México, sin embargo con el paso del tiempo su consumo se había disminuido, recientemente resurgió el interés por la chía, ya que se encontró que posee un elevado contenido de ácidos grasos omega-3, antioxidantes y posee una buena fuente de fibra dietaria (Ayerza, 2005). Algunas de sus efectos terapéuticos no han sido demostrados científicamente; en el 2007 un estudio demostró que posee un efecto antihipertensivo y cardioprotector ya que disminuye algunos de los marcadores del riesgo cardiovascular como la proteína C reactiva (Vuksan *et al.*, 2007). Sin embargo no se han identificado

los compuestos activos ni el mecanismo por el cual se presenta este efecto y hasta el momento no se estudiado el efecto hipotensor en algún modelo de hipertensión. Por lo que, en el presente trabajo se trabajó con diferentes extractos para obtener compuestos de diferente polaridad a los cuales se le realizó un análisis fitoquímico encontrando en el extracto principalmente glucósidos, insaturaciones, terpenos, óxidos fenólicos y coumarinas. Se evaluó *in vitro* el efecto que presentan los diferentes extractos en la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I, como posible mecanismo del efecto hipotensor, encontrando que el extracto metanólico tiene mayor actividad anti-ECA; además se logró aislar a partir de este extracto con actividad anti-ECA, el cual pudiera contener un glucósido de terpeno y un glucósido unido a un compuesto fenólicos identificados con cromatografía en capa delgada (CCD). Posteriormente se evaluó el efecto hipotensor del extracto metanólico en un modelo animal con hipertensión inducida así como el efecto hipolipemiante y cardioprotector; evaluando los niveles de triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL, proteína C reactiva y la presión arterial sistólica; encontrando disminución de la PAS a partir de la primera semana del tratamiento pero sin cambios significativos en los otros parámetros.

También se evaluó el efecto del extracto en la función renal y hepática descartando daño a esa concentración.

3. HIPOTESIS

Los extractos de *Salvia hispanica L.* presentan efecto hipotensor y actividad inhibitoria sobre la enzima Convertidora de la Angiotensina I en un modelo de ratas hipertensas.

Los extractos de *Salvia hispanica L.* provocan la disminución de los niveles séricos de colesterol total, LDL, triglicéridos y proteína C reactiva y no alteran la función hepática y renal.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Identificar el efecto de extractos de semillas de *Salvia hispanica* L. sobre la presión arterial y la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener extractos de *Salvia hispanica* L. en solventes acuoso, metanólico, acetónico y hexánico.
- Determinar los componentes presentes en los extractos de *Salvia hispanica* L. por medio de pruebas fitoquímicas preliminares.
- Evaluar el efecto de inhibición de la actividad de la ECA I de los extractos (acuoso, metanólico, acetónico y hexánico) *in vitro*.
- Desarrollar un modelo de ratas hipertensas con la administración de L-NAME.
- Cuantificar el efecto de los extractos de *Salvia hispanica* L. en la reducción de la presión arterial en el modelo propuesto.
- Evaluar el efecto de extracto metanólico de semillas de *Salvia hispanica* L. sobre los niveles séricos de colesterol LDL, colesterol total, triglicéridos y proteína C reactiva en ratas hipertensas.
- Determinar el daño hepático en el modelo propuesto al final del estudio.
- Analizar daño renal en el modelo de ratas midiendo densidad, pH, leucocitos, nitritos, proteína, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina y sangre.

5. ANTECEDENTES

5.1 Generalidades de la Hipertensión Arterial

En México, la hipertensión arterial (HTA) es una de las enfermedades crónicas con mayor prevalencia, alrededor del 30.8% de la población mayor de 20 años la padecen, y más del 50% de los hombres a partir de los 60 años presenta hipertensión arterial, mientras que, en las mujeres, la afección se presenta en casi 60% para el mismo periodo de edad (Rojas *et al.*, 2006). La HTA es un importante factor de riesgo para las principales complicaciones cardiovasculares, como la cardiopatía isquémica y los accidentes cerebrovasculares (Yusuf, Vaz y Pais, 2004). La mortalidad por estas complicaciones ha mostrado un incremento sostenido durante las últimas décadas, por lo que la hipertensión arterial representa un importante problema de salud pública no sólo por su alta incidencia y prevalencia, sino por su estrecha relación con las complicaciones de las enfermedades crónicas degenerativas.

La prevalencia de HTA guarda estrecha relación con la edad, medio ambiente-estilo de vida, género y factores co-mórbidos, tales como diabetes, obesidad, dislipidemias, tabaquismo y predisposición genética (Johnson *et al.*, 2002). Además, no sólo es la gravedad de la HTA en términos de mmHg, sino su interacción con estos factores, lo que determina la magnitud y velocidad de progresión de daño a un órgano blanco, situación que debe considerarse primordial para el establecimiento de un tratamiento (Roccella & Kaplan, 2003).

La hipertensión se define como una enfermedad crónica, controlable de etiología multifactorial, que se caracteriza por elevación sostenida en las cifras de la presión arterial sistólica (PAS) por arriba de 140 mmHg, y/o de la presión arterial diastólica (PAD) igual o mayor a 90 mmHg (Chobanian *et al.*, 2004).

En general, la HTA en sus inicios es asintomática, o bien, produce síntomas inespecíficos que difícilmente el paciente los asocia a la misma.

La HTA puede clasificarse dependiendo de los factores asociados a su desarrollo en esencial (primaria) y secundaria. Las primarias (esenciales) representan entre el 90-95% de los casos y son de etiología multifactorial; están relacionadas con antecedentes hereditarios de hipertensión, sobrepeso, obesidad, sedentarismo, estrés mental, hábitos alimenticios (consumo excesivo de alimentos ricos en sodio y bajos en potasio, pobre ingesta de verduras y frutas), abuso en el consumo de alcohol y drogas como el tabaquismo. Otros factores de riesgo que precipitan la aparición de HTA en individuos mayores de 30 años son el uso de medicamentos (vasoconstrictores, antihistamínicos, esteroides, antiinflamatorios no esteroideos), diabetes mellitus y síndrome cardiometabólico. La enfermedad secundaria se presenta en un 5-10% de los casos, y está asociada a la apnea del sueño, la insuficiencia renal crónica, el aldosteronismo primario, la enfermedad renovascular, la coartación de la aorta, la enfermedad tiroidea o paratiroidea, la terapia con esteroides o el síndrome de Cushing (Cárdenas & Carrillo, 2006).

La hipertensión es un factor de riesgo controlable en el desarrollo de un número de enfermedades cardiovasculares como el accidente cerebrovascular, la hipertrofia del ventrículo izquierdo y el infarto coronario (Unger, 2002).

El riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares está directamente relacionado con el nivel de la presión arterial, se ha demostrado que una disminución de 5 mm Hg en la presión diastólica reduce alrededor de un 16% el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Collins *et al.*, 1990). Las principales estrategias recomendadas actualmente para la regulación de la PA, son los cambios en el estilo de vida y los tratamientos farmacológicos. Algunos estudios con enfoques dietéticos para detener la hipertensión (DASH por sus siglas en inglés) han demostrado que una dieta balanceada rica en frutas, verduras y producto lácteos bajos en grasa representan un método eficaz para disminuir la presión arterial (Sacks *et al.*, 2001). Además, incrementar la actividad física por encima de niveles sedentarios también se ha demostrado efectos clínicos significativos en la reducción de la PA (Ishikawa-Takata, Ohta y Tanaka, 2003).

Por otra parte, existe una amplia gama de tratamientos farmacológicos específicos que pueden ser empleados en el tratamiento de la hipertensión, como son los antagonistas de calcio, los bloqueadores de los receptores de la angiotensina II, los diuréticos y los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina I (Conlin, 2001).

En el organismo, la presión arterial está controlada por diferentes vías bioquímicas, clásicamente el control se ha asociado con el sistema renina-angiotensina (SRA). Sin embargo SRA no es el único regulador de la presión arterial; el sistema óxido nítrico-cinina (KNOS), el sistema endopeptidasa neutra, y el sistema de la enzima convertidora de la endotelina generan péptidos adicionales vaso regulatorios independientes de enzima convertidora de angiotensina I (ECA I) (Ehlers & Riordan, 1989; Weber, 2001). En conjunto, estos sistemas generan una variedad de péptidos reguladores, que contribuyen a modular la presión arterial, a los líquidos y al equilibrio de electrolitos a través de receptores de membrana que se encuentran en diferentes tejidos del cuerpo. La PA también puede afectarse por un aumento o una disminución en el volumen de los líquidos dentro o fuera de los vasos sanguíneos o por una obstrucción en el interior de los vasos (Weber, 2001).

5.2 Papel del sistema renina-angiotensina sobre la presión arterial

El sistema renina-angiotensina (SRA) es uno de los sistemas de regulación central de la presión arterial por lo que la patogénesis de la hipertensión está estrechamente asociada con desórdenes del SRA (Matsui *et al.*, 2003). En éste, la principal fuente de la renina activa en la circulación es la renina secretada por las células yuxtglomerulares en el riñón (Brown & Vaughan, 1998), también se han encontrado en diversos tejidos de como el cerebro, las glándulas adrenales, las glándulas submandibulares, los ovarios, los testículos, la próstata y el cerebro (Pan & Gross, 2005).

Como se puede observar en la Figura 1, el angiotensinógeno (AGI) es un glucopéptido con un peso molecular de 60 kDa y se distribuye en numerosos tejidos, además de plasma y el líquido cefalorraquídeo. AGI es el

único precursor conocido de la angiotensina I, así como el único sustrato conocido de renina (Inagami, 1992; Scow, Smith y Shaughnessy, 2003).

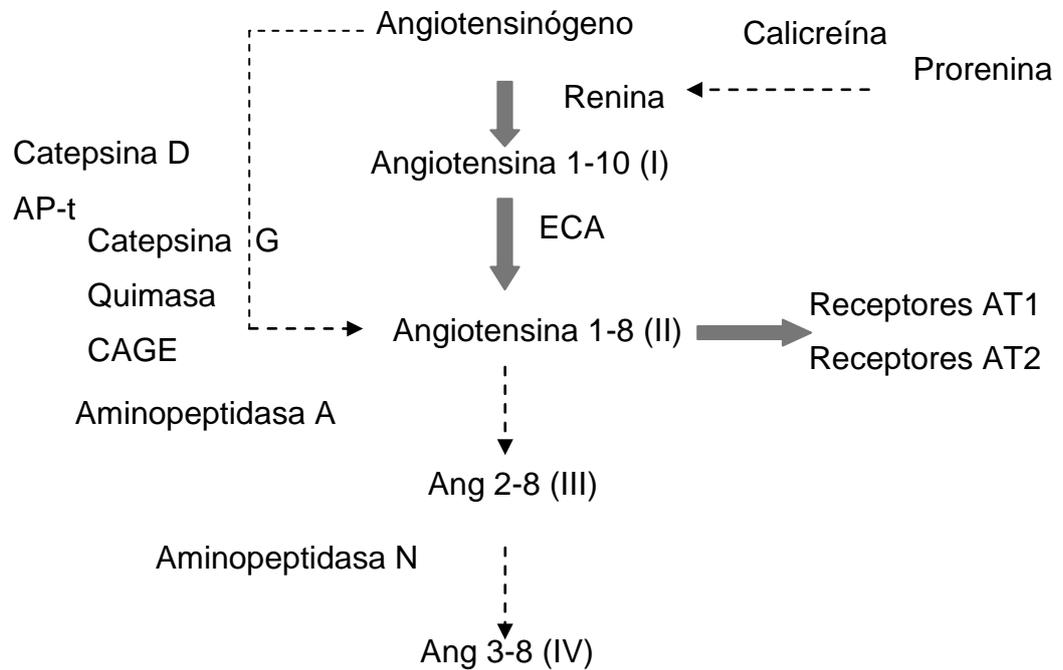


Figura 1. Sistema Renina Angiotensina (SRA). AP-t, activador del plasminógeno tisular; ECA, enzima convertidora de angiotensina; CAGE, enzima generadora de angiotensina sensible a quimostatina. Adaptado de Lavoie & Sigmund, 2003.

La renina es una proteasa ácida que contiene 350 aminoácidos, se genera a partir del precursor inactivo pro-renina, por la acción de la calicreína. La principal fuente de la renina son las células yuxtaglomerulares del riñón, sin embargo, la renina también se ha aislado de la glándula submaxilar y del líquido amniótico. Existen varios factores que influyen en la liberación de renina, incluyendo la presión de la perfusión renal, el agotamiento de sal, y la estimulación de β_2 -receptores por la aldosterona (Deszi, 2000). La renina actúa sobre el angiotensinógeno (AGI) para generar la angiotensina I.

La inhibición de la actividad de la renina puede lograrse como resultado de la producción de angiotensina II (Ang II) y numerosos agentes farmacológicos. Por lo general la concentración de AGI en el plasma nunca es lo suficientemente alta para saturar la renina, por lo que los cambios en la

concentración de AGI pueden influir en la tasa de producción de Ang II (Inagami, 1992).

La angiotensina I, es el decapeptido liberado de la porción N-terminal del AGI por la acción de la renina. La ECA elimina el dipéptido C-terminal HL de la angiotensina I dando lugar a la formación de angiotensina II, un potente vasoconstrictor. La ECA también cataliza la eliminación del dipéptido C-terminal de la bradicidina (un potente vasodilatador), resultando en la formación de fragmentos de péptidos inactivos. Los niveles de angiotensina II y de bradicinina son principalmente regulados por la ECA, la cual permite la regulación de la presión arterial periférica. Los principales receptores de la Ang II son AT1, AT2 y AT3, se encuentran en numerosos tejidos (Turner & Hooper, 2002).

Los principales efectos de la Ang II son el control de la presión arterial, volumen de líquidos, interacciones de neurotransmisores y el control de la actividad de la hormona gonadotropina y de hormonas pituitarias (Ehlers & Riordan, 1989). La Ang II es un sustrato para las angiotensinasas, de los cuales la aminopeptidasa A es la más abundante. La acción de la aminopeptidasa A y aminopeptidasa N sobre la Ang II provoca la formación de angiotensina III y IV, respectivamente (Turner & Hooper, 2002). La enzima quinasa también media la conversión de Ang I en Ang II (Husain, 1993; Oliveri, 2001).

El sitio donde se produce la mayor tasa de conversión a Angiotensina II por la ECA, es el borde luminal endotelial del lecho vascular pulmonar y en menor escala todo el lecho vascular sistémico y aquellos órganos que producen Angiotensina II localmente. Si bien esta es la vía más importante para generar Angiotensina II, existen vías metabólicas alternativas que garantizan la producción de Angiotensina II, incluso cuando se produce inhibición farmacológica para la producción de la misma (Bénéteau-Burnat & Baudin, 1991).

Es importante destacar que existen mecanismos alternativos para la transformación de la Ang-I en Ang-II que no requieren la presencia de la ECA; con la acción de otras enzimas como la quinasa, la catepsina G y la enzima generadora de angiotensina II sensible a quimostatina (CAGE por sus siglas en inglés chymostatin-sensitive Ang II generating enzyme).

La Ang-I también puede ser convertida en el hexapéptido Ang 1-7 por ciertas endopeptidasas tisulares tales como las endopeptidasa neutral NEP 24.11, NEP 24.15 y NEP 24.26 (Lindpaitner, 1991; Urata *et al.*, 1990).

5.2.1 Sistema calicreína-óxido nítrico

En el sistema calicreína-óxido nítrico, la calidina, un potente vasodilatador/vasopresor, es formado a partir de cininógeno por la acción de enzimas cininogenasas como la calicreína (Wohlfart *et al.*, 1997). La hidrólisis de calidina por la calicreína regula la formación de péptidos vasodilatadores (cininas) como la bradiginina, la des-Arg9-bradiginina y la des-Arg10-calidina.

Estas moléculas regulan una respuesta vasodilatadora mediante la unión a receptores de membrana, dando como resultado una serie de reacciones que conducen a un aumento intracelular de los niveles de Ca^{2+} (Wohlfart *et al.*, 1997). Estos aumentos en los niveles de Ca^{2+} estimulan la enzima óxido nítrico sintetasa para convertir la L-arginina en óxido nítrico (Schrör, 1992) (Figura 2).

En circunstancias normales, las cininas son destruidas por un grupo de enzimas llamadas cininasas, localizadas en los pulmones y en otros tejidos. Las cininasas más conocidas son la ECA o cininasa II, las endopeptidasas neutras 24.11 y 24.15, las aminopeptidasas y las carboxipeptidas. (Yang, Erdös y Levin, 1970).

Las cininas actúan principalmente como hormonas locales autocrinas y paracrinas a través dos tipos de receptores, *B1* y *B2*. La mayoría de los efectos conocidos de las cininas son mediados por receptores *B2*. Este receptor pertenece a la familia de receptores acoplados a proteína G. Las prostanglandinas, el óxido nítrico y el activador del plasminógeno pueden mediar algunos de los efectos de las cininas (Bhoola, Figueroa y Worthy, 1992).

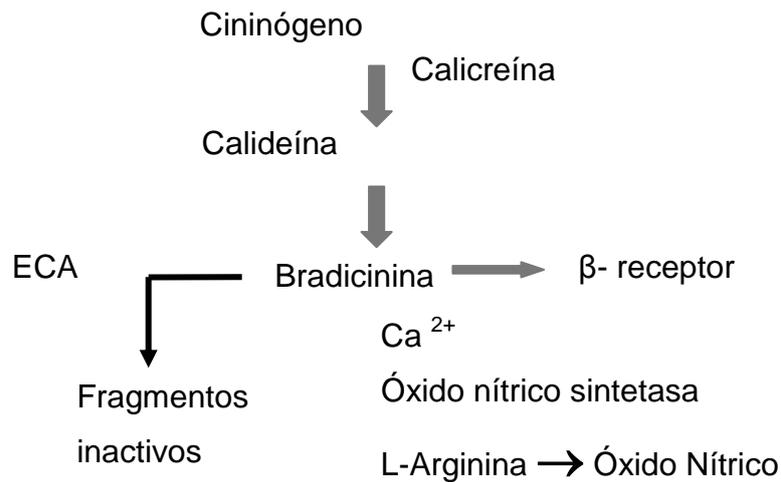


Figura 2. Sistema calicreína-óxido nítrico. Adaptado de Fitzgerald *et al.*, 2004.

5.2.2 Enzima Convertidora de la Angiotensina I

La enzima convertidora de la Angiotensina I también conocida como cininasa II, se encuentra unida a la membrana celular y trabaja como una ectoenzima, con su centro catalítico expuesto en la superficie extracelular. La ECA es una metaloenzima que requiere zinc como cofactor y también necesita iones cloro para escindir la mayoría de sus sustratos; la conversión de Angiotensina I es absolutamente dependiente del cloro, mientras que la hidrólisis de la bradicinina se ve menos afectada (Villard & Soubrier, 1996). Esta dipeptidil carboxipeptidasa ó dipeptidil dipeptidasa hidrolasa presenta un peso molecular de 129 kDa, se origina en gran parte de las células endoteliales por un proceso proteolítico (Sturrock *et al.*, 2004).

La ECA se encuentra en la superficie del endotelio vascular, en células de órganos como el cerebro, corazón, pulmones, hígado, intestino, páncreas, bazo, músculo esquelético, glándula suprarrenal y la placenta (Inagami, 1992).

Se han identificado algunas formas de ECA (Sturrock *et al.*, 2004):

- Somática
- Germinal
- Homóloga (ECA 2)

- La ECA somática: es una peptidasa transmembranal, la cual se une a la superficie externa de la membrana plasmática de las células a través del dominio hidrofóbico de anclaje (Beldent *et al.*, 1993; Ehlers & Riordan, 1989), tiene una masa molecular de 170 kDa y una estructura repetitiva con dos dominios homólogos, denominados dominio N y C, cada uno con un sitio activo con diferentes propiedades catalíticas, en el cual se encuentra una secuencia conservada denominada HEXXH (H607, E608 y H611), en donde las dos histidinas establecen enlaces de coordinación con el ion Zn^{2+} , el glutamato que forma parte de este determinante forma un tercer enlace con el Zn^{2+} (Schulz, Dale y Karami-Nejad, 2008).

La estructura secundaria de la ECA está formada en su mayor parte de α -hélice y una pequeña porción de β -plegada. En la figura 3 se puede observar las dos regiones desde el N-terminal hasta el C-terminal, cada región se conoce como dominio I y II.

El sitio activo se encuentra en un canal profundo y estrecho que divide a la molécula en dos subdominios I y II, sin embargo se encuentra restringido por las hélices α_1 , α_2 , y α_3 que contienen varios residuos que evitan el acceso a polipéptidos hacia el sitio activo definiendo la especificidad del sitio activo. En la parte superior de la molécula posee un amino-terminal como "tapa", por lo que solo permite el acceso al sitio activo a sustratos pequeños, péptidos de 2530 aminoácidos, lo que explica la incapacidad de la ECA para hidrolizar sustratos plegados muy grandes (Sturrock *et al.*, 2004). Los sitios activos de ambos dominios catalizan la hidrólisis de Ang I y la bradiginina, sin embargo en el dominio C se lleva a cabo la regulación de la presión arterial y la función cardiovascular, es decir este dominio es de interés la regulación de la ECA (Natesh *et al.*, 2003).

- La ECA germinal o testicular: tiene una masa molecular más pequeña de 100 kDa y su estructura primaria (Figura 3) es completamente idéntica a la fracción C-terminal de la enzima somática, pero posee un péptido N-terminal específico. La isoforma germinal sólo consta de un sitio activo potencial, lo que corresponde al dominio C de la isoforma somática (Inagami, 1992; Villard & Soubrier, 1996).

- La tercera forma de ECA conocida como homóloga de ECA o ECA 2: es una carboxipeptidasa, contiene un solo sitio activo y su función es separar

un solo aminoácido de la angiotensina I, generando un residuo de 9 aminoácidos, la llamada angiotensina 1-9 (nonapéptido), que no tiene acción vascular, pero puede ser convertido por la ECA en Ang 1-7 que es un vasodilatador. La ECA-2 no hidroliza a la bradisinina; mientras que la Ang 1-7 puede bloquear la vasoconstricción inducida por la Ang-II en las arterias de humano (Oudit, *et al.*, 2003).

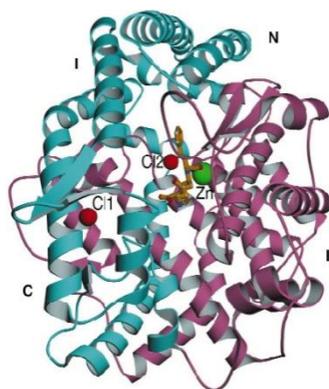


Figura 3. Estructura cristalina de la ECA testicular humana con la molécula del inhibidor (lisinopril) unida en el centro de la estructura. La esfera verde representa el ión Zinc y las esferas rojas representan los iones cloruro Adaptado de Schwagar, Sturrock y Acharya 2003.

Los péptidos con un anión carboxilato con C-terminal libre pueden servir como sustratos para la ECA. El C-terminal debe estar anclado a una carga positiva de un grupo base y el enlace peptídico escindible debe estar en yuxtaposición al ion Zn^{2+} en el sitio activo, su residuo catalítico es el Glu384 (Inagami, 1992).

En la HTA se induce expresión génica de la ECA y otros componentes del SRA tisular produciendo aumento local de Ang II (Timmermans, Wong y Chiu, 1993). Por ejemplo, la ECA se expresa ampliamente en el endotelio de todos los vasos sanguíneos, lo que permite la conversión de Ang I en Ang II en el lecho vascular independientemente del SRA sistémico. El SRA tisular ejerce función autocrina y paracrina. La síntesis local de Ang II está implicada en la hipertrofia e hiperplasia vascular y cardíaca (Lees *et al.*, 1993), por estimulación de factores de crecimiento (bFGF, PDGF), lo que determina el mantenimiento de la HTA y la enfermedad vascular y miocárdica secundaria

(responsable de la hipertrofia cardiaca como respuesta a la sobrecarga de presión) (Chang *et al.*, 1997).

En estudio en ratones genéticamente modificados, en donde se bloqueó la producción de ECA endotelial, se demostró que producen ECA dentro de hepatocitos, pero no se producen en otros tejidos como en el pulmón, aorta o en cualquier otras estructura vascular, dando como resultado niveles normales de presión arterial y función renal (Cole *et al.*, 2006).

5.3 Tratamiento de la hipertensión arterial

Existen varias formas de tratar la hipertensión, la adopción de estilos de vida saludable es indispensable como parte del manejo de los sujetos hipertensos. La modificación de los estilos de vida, incluyendo reducción de peso en personas con obesidad y con sobrepeso (He *et al.*, 2000), la adopción de la dieta del programa “Enfoques dietéticos para detener la hipertensión” ó conocida por sus siglas en inglés DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) (Sacks *et al.*, 2001) rica en potasio y calcio (Vollmer *et al.*, 2001), la reducción de sodio en la dieta (Kelley & Kelley, 2000), el incremento en actividad física (Whelton *et al.*, 2002) y la moderación en consumo de alcohol. La modificación del estilo de vida reduce la PA, aumenta la eficacia de los fármacos antihipertensivos y disminuye el riesgo cardiovascular. Por ejemplo, una dieta DASH de 1600 mg de sodio tiene un efecto similar a un tratamiento farmacológico simple (Sacks *et al.*, 2001).

Entre los medicamentos más comunes para el tratamiento de la hipertensión arterial son los inhibidores de la ECA, los beta bloqueadores, los diuréticos y los bloqueadores de los receptores de angiotensina-II (Neal, MacMahon y Chapman, 2000; Zeglin, Pacos y Bisognano, 2009).

Los inhibidores de la ECA o los bloqueadores de los receptores de angiotensina (BRA) son utilizados como terapia de primera línea para la hipertensión, debido a sus efectos cardioprotectores.

Existe la tendencia a combinar dos ó más antihipertensivos, buscando el control de la presión arterial y la disminución de los efectos secundarios

que cada uno de ellos puedan ocasionar por separado (Ong, 2009). Por ello es importante reconocer las principales interacciones farmacológicas, tanto benéficas como perjudiciales de los fármacos antihipertensivos.

El primer fármaco que demostró actividad de inhibición de la ECA I fue el Captopril el cual fue sintetizado por Ondetti, Rubin y Cushman (1977); este fármaco demostró ser activo por vía oral, impidiendo así la conversión de la Ang-I en Ang-II. Después de una década de utilización del Captopril, han aparecido una multitud de fármacos con capacidad de inhibición de la ECA, que difieren de éste por la ausencia de un grupo sulfhidrilo en la formulación química y una vida media más prolongada, lo que permite utilizarlos en una sola dosis diaria (Vazquez, 1998).

Aunque los inhibidores de la ECA sintéticos han demostrado su utilidad, no están totalmente exentos de efectos secundarios (Atkinson & Robertson, 1979; Lever *et al.*, 1999). El efecto secundario más común de los inhibidores de la ECA es una tos seca que aparece en el 5-20% de los pacientes y puede dar lugar a la interrupción del tratamiento. Otro problema grave es el angioedema que tiene una influencia en 0.1-0.5% de los pacientes y puede ser mortal. También se le han atribuido problemas dermatológicos (dermatitis), gastrointestinales como náuseas, vómitos, estreñimiento ó diarrea, úlcera péptica, boca seca, pancreatitis; a nivel hepático como ictericia, colestasis y hepatitis; cardiovascular como hipotensión, angina, taquicardia, palpitaciones, disturbios del ritmo, accidente cerebrovascular y también tanto nivel renal (nefritis intersticial poliuria, oliguria, síndrome nefrótico, etc) como respiratorio (disnea, asma, embolia pulmonar, etc) (Acharya *et al.*, 2003; Riordan, 2003).

Además Baltar, Marín y Álvarez (2004) reportaron el daño de los fármacos usados para el tratamiento de la hipertensión arterial, señalan que todos los antihipertensivos atraviesan la placenta en el embarazo, por lo que pueden afectar al feto indirectamente disminuyendo el flujo útero-placentario o directamente a través de la circulación umbilical. En el 2008, Cooper alertó que el uso de inhibidores de la ECA como: Benazapril (Lotensin), Captopril (Capoten), Enalapril/Enalaprilat (Vasotec oral e inyectable), Fosinopril (Monopril), Lisinopril (Zestril y Prinivil), Moexipril (Univasc), Perindopril (Aceon), Quinapril (Accupril), Ramipril (Altace) y Trandolapril (Mavik) durante

el primer trimestre de embarazo, puede estar asociado con el incremento de riesgo de malformaciones congénitas del recién nacido.

5.3.1 Inhibidores naturales de ECA I

La investigación de compuestos naturales con efecto antihipertensivo son el presente y futuro de la investigación dentro de la línea de alimentos funcionales, los cuales pueden ayudar en la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas como la hipertensión.

En tiempos recientes ha surgido interés de identificar compuestos naturales como fuente potencial de inhibidores naturales de la ECA. Se han realizado estudios *in vitro* con algunas plantas y algunos alimentos que poseen compuestos con potencial efecto inhibidor de la ECA como los péptidos bioactivos presentes en lácteos (FitzGerald, Murray y Walsh, 2004; Seppo *et al.*, 2003), cereales como el maíz (Parris *et al.*, 2008), avena (Cheung *et al.*, 2009), linaza (Udenigwe & Aluko, 2010) ó pseudocereales como el amaranto (Tovar *et al.*, 2009) y frutas con compuestos antioxidantes con efecto inhibidor como el kiwi (Jung *et al.*, 2005).

En ratas hipertensas, la administración de una dieta enriquecida con hidrolizado de leche de cabra a largo plazo (12 semanas), inhibe la enzima angiotensina en aorta, el ventrículo izquierdo y el riñón (Geerlings *et al.*, 2006). Otro estudio analizó la actividad antihipertensiva e inhibitoria de la actividad de la angiotensina *in vitro* con hidrolizados de proteína de arroz midiendo la inhibición *in vitro* y un efecto hipotensor en modelos animales, los resultados se compararon con un inhibidor sintético de ECA (Chen *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2007).

Algunos extractos de Salvias como la *Salvia scutellarioides* han demostrado efecto antihipertensivo e inhibidor de la ECA I en ratas hipertensas (Arenas *et al.*, 2009).

5.4 Generalidades sobre alimentos funcionales

La creencia en el poder medicinal de los alimentos no es un acontecimiento reciente pero ha sido una filosofía ampliamente aceptada por generaciones. Hoy en día, están aumentando las creencias de los consumidores en los beneficios de salud de determinados alimentos y sus componentes (Meyer, 1998).

El concepto de alimentos funcionales nació en Japón, en los años 80's las autoridades sanitarias japonesas se dieron cuenta que para controlar los gastos sanitarios, generados por la mayor esperanza de vida de la población anciana, había que garantizar también una mejor calidad de vida. Se introdujo un nuevo concepto de alimentos, que se desarrollaron específicamente para mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades (Bellisle, Diplock y Hornstra, 1998).

En 1991, el Ministro de Salud y Bienestar Social Japonés creó las regulaciones de etiquetado de Alimentos para uso especificado a la Salud (FOSHU). Estos alimentos están incluidos como 1 de 4 categorías descritas en la Ley de la nutrición de Japón como "alimentos para regímenes especiales", es decir, alimentos que se utilizan para mejorar la salud de las personas y para las que las declaraciones de efectos en la salud específicos son permitidos (Roberfroid, 2000).

Varios estudios han demostrado que ciertas frutas y verduras actúan como alimentos funcionales, su funcionalidad está dada por la presencia de compuestos llamados fitoquímicos tales como fenoles, flavonoides, isoflavonas, terpenos, glucosinolatos y otros compuestos que están presentes en la dieta diaria (Craig, 1997; Potter & Steinmetz, 1996).

También existe un fuerte potencial de alimentos funcionales derivados de granos enteros debido al papel importante que desempeñan en la prevención de enfermedades crónicas. Algunas agencias de salud incluyendo la FDA, aprueban la declaración de propiedades saludables, basadas principalmente en estudios de población, epidemiológicos y prospectivos, los cuales señalan una fuerte relación inversa entre el aumento en el consumo de alimentos de granos enteros y reducción del riesgo de diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Richardson, 2003).

Las poblaciones que consumen tres o más porciones de granos enteros por día pueden tener un efecto cardioprotector, los cuales son atribuibles en parte a los cambios inducidos en la PA. En algunos estudios se ha evaluado el efecto de alimentos de granos enteros en la reducción de la presión arterial (Kestin *et al.*, 1990; Saltzman *et al.*, 2001; Swain *et al.*, 1990). Otro ejemplo es la dieta DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), la cual fue propuesta en un estudio con el fin de detener la hipertensión; basada en frutas, verduras y granos de cereales, con la cual se demostró reducción en la PA en sujetos con y sin hipertensión (Sack *et al.*, 1995). La asociación estos componentes fitoprotectores, como la fibra, antioxidantes, vitaminas y minerales se han propuesto como posibles mediadores de los efectos cardioprotectores sin embargo todavía no son completamente entendidos.

Las principales fuentes de los granos enteros en la dieta de los mexicanos son el trigo, avena, linaza, los cuales son preparados en forma de pan y cereales para el desayuno, sin embargo aún existen variedades de granos enteros que no han sido totalmente explotados que son de origen mexicano y que pueden contribuir a la prevención del riesgo cardiovascular como es el caso de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.).

5.5 *Salvia hispanica* L.

5.5.1 Antecedentes y clasificación

La chía, *Salvia Hispánica* L., es una planta de la familia de las Lamiáceas (familia de la menta), herbácea, anual, de 1 a 1.50 m. de altura. Crece en las zonas montañosas que se extienden desde el oeste de México hasta el norte de Guatemala. Las formas silvestres se dispersan a través de la Sierra Madre Occidental de Sonora y de Chihuahua (Ayerza & Coates, 2006).

Tabla I

Clasificación botánica de la *Salvia hispanica* L. (USDA, 2010b)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta-Planta vascular
Superdivisión	Spermatophyta-Planta de semillas
División	Magnoliophyta-Planta con flores
Clase	Magnoliopsida-Dicotiledónea
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae (Familia de la menta)
Género	Salvia
Especie	S. hispánica



Figura 4. Planta y semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) (Lado izquierdo cultivo de la planta y de lado derecho las semillas de chía).

Como se muestra en la tabla I, pertenece a la familia Lamiaceae, aunque tradicionalmente es considerada como grano, no pertenece a la familia Gramineae, en la cual la mayoría de los cereales son clasificados, por lo que se ha considerado a su vez como una semilla por su alto contenido de aceite (Lee, 2009).

La semilla de chía comenzó a emplearse en la alimentación humana unos 3500 años antes de Cristo. En la época precolombina, era para los mayas uno de los cuatro cultivos básicos destinados a su alimentación, junto al maíz, el frijol y el amaranto (Ayerza & Coates, 2005). Los mayas y aztecas

usaban la chía en distintos preparados nutricionales y medicinales, así como en la elaboración de ungüentos cosméticos. Era fuente de energía para travesías prolongadas y alimento para los guerreros, combinada con maíz. La harina de chía tostada se utilizaba en la preparación de una popular bebida refrescante y nutritiva, costumbre que, con variantes, hoy persiste en Centroamérica y se denomina “chía fresca” (agua, limón y chía). Los ceramistas y pintores utilizaban el aceite de chía para la preparación de barnices y pinturas, que se destacaban por su brillo y resistencia al envejecimiento dado su alto poder antioxidante. También era ofrecida a los dioses en las ceremonias religiosas, motivo por el cual durante la conquista española fue suprimida de las tradiciones. Con el paso del tiempo la semilla perdió su importancia y su uso cayó en el olvido en la cultura mexicana (Salgado, Cedillo y Beltrán, 2005), fue además desplazada por los cereales aportados por los españoles. El cultivo de chía desapareció durante las colonias; sobrevivió sólo en áreas montañosas aisladas de México y en algunas regiones de Guatemala, donde se cultiva comercialmente desde hace siglos y hasta la fecha, (Ayerza y Coates, 2004).

La chía posee varias especies: *Polystachya Salvia*, *Hyptis suaveolens* y *Salvia hispanica* L (Ayerza, 2000), la última, actualmente se cosecha en pequeña escala en algunos estados de México como Veracruz, Michoacán, Oaxaca, Jalisco, San Luis Potosí y Chiapas. También se cultiva en Guatemala y en el noreste de Argentina, donde se introdujo como cultivo alternativo (Benavides *et al.*, 2010).

La *Salvia hispanica* L. cuenta con varios nombres comunes como salvia española, artemisa española, chía mexicana, chía negra, chian del vocablo náhuatl ó simplemente chía. La variedad nativa de la República Mexicana es *chionocalyx Fernand*, la cual crece en bosques de juníperos, encino, pino-encino y a una altitud aproximada de 1900 m y se propaga por semilla (Beltrán-Orozco & Romero, 2003).

El consumo en México se ha ido incrementando recientemente, sin embargo es limitado y regional por varias razones: falta de información sobre las características de la semilla que lo hacen atractivo como alimento, precio de venta, baja disponibilidad y hábitos de consumo de los mexicanos, que

son diferentes de los aztecas, para quienes la semilla era un alimento básico (Monroy *et al.*, 2008).

En los últimos años se han reconocido sus propiedades, debido a que es una buena fuente de fibra dietética, proteína, omega-3 y antioxidantes. El cultivo ha sido reactivado gracias a programas de desarrollo e investigación como el de la Universidad de Arizona, promoviendo la recuperación de este cultivo subtropical en EEUU, México y Argentina (Di Saprio *et al.*, 2008).

5.5.2 Composición química

Como fuente botánica, existe variabilidad en la composición de las semillas de chía, esto puede ser de acuerdo al lugar de crecimiento, años de cosecha dentro de la ubicación, debido a los efectos del genotipo y medio ambiente, así como las interacciones genéticas por el ambiente. Se han realizado algunos para demostrar la variación en la composición las semillas en diferentes tipos de ecosistemas, en donde han encontrado variaciones significativas de acuerdo a la región en función de una sola especie (Ayerza y Coates, 2004). En un estudio más reciente, se evaluó el efecto de la ubicación en la duración del ciclo de crecimiento y el contenido de proteínas y lípidos en la semilla de chía de un genotipo, y se encontró que el tipo de ambiente afecta la composición bioquímica de la semilla (Ayerza, 2009).

Con base a las variaciones que pueden existir en la composición química de las diferentes variedades, condiciones climáticas y zonas de cultivo de las semillas de chía (*Salvia hispanica L*), se tomó como referencia un estudio de la Universidad Nacional Autónoma en el que se realizó un análisis proximal (Tabla IV) de la semilla de chía originaria de Jalisco, México (Olivos, Valdivia y Tecante, 2009).

Los semilla de chía posee un contenido de aceite superior al de otras semillas oleaginosas de importancia comercial (Tabla II), constituye el 32%-39% del total, donde el 60% de éstos es el ácido α -linolénico (omega-3, precursor de los ácidos DHA y EPA) y el 20% es ácido α -linoleico (omega-6). Esta elevada cantidad implica que la semilla de chía, junto con el lino (*Linum usitatissimum L.*) sea una de las mejores fuentes de ácidos grasos

esenciales (AGE) de origen agrícola. Sin embargo, la chía, por encima del lino, es el cultivo con mayor porcentaje de estos AGE (α -linolénico y α -linoleico) al tener más del 80 % de sus lípidos con dicha característica. También, comparado con el aceite de menhaden (especie de róbalo) y de algas (Ayerza ,1995); o inclusive con el cártamo y el girasol con 75% y 67% respectivamente. Esta diferencia es aún mayor considerando que el cártamo y el girasol no contienen ácido α -linolénico. El aceite de colza también contiene un alto grado de insaturación (67%), pero esto es debido a su alto contenido de ácido oleico (monoinsaturado), con un contenido relativamente bajo (27%) de ácidos grasos poliinsaturados (Ayerza & Coates, 2006).

Tabla II

Contenido de aceite y composición de los ácidos grasos de semillas comerciales de chía provenientes de cinco países. Adaptado de Ayerza y Coates, 2006.

País	Aceite	Ácidos grasos (%)				
		Alfa-Linolénico	Linoleico	Oleico	Estearico	Palmítico
Argentina	34	63.1	19.5	6.7	3.0	7.0
Bolivia	32.7	63.3	18.7	7.1	2.7	7.4
Colombia	29.9	57.9	19.2	7.6	3.5	7.5
México	31	61.6	19.6	7.5	3.3	6.7
Perú	32.4	64.2	18.4	6.9	3.0	7.2

El contenido de proteínas que posee la chía es de alrededor de un 19-20%, un porcentaje superior al de otros granos como el trigo (8-12%), maíz (9,42%), arroz (6,8%), avena (16,9%), cebada (9.9%) y amaranto (13.56%) (Bos *et al.*, 2005; USDA, 2010) (Tabla III). Además, a diferencia de otros cereales posee lisina el cual es un aminoácido limitante, sin embargo la treonina es el primer aminoácido limitante. Esto significa que tiene un perfil parecido a la “proteína ideal” por lo que es de gran utilidad su incorporación en la dieta, y mezclada con otros granos, con el fin de producir una fuente

equilibrada en proteínas. Las proteínas de la semilla de chía, a diferencia del trigo, avena, cebada y centeno, no contienen gluten (Weber *et al*, 1991).

Tabla III

Composición nutricional de la semilla de *Salvia hispanica* L. (Adaptado de Lee, 2009)

Componente	Contenido en 100g
Energía (kcal)	509.96
Proteínas (g)	21.62
Grasa total (g)	30.52
Hidratos de Carbono (g)	37
Fibra dietética (g)	27.6
Colesterol (mg)	0
Sodio (mg)	<3.0
Potasio (mg)	52.92
Vitamina A (mg. ER)	<50
Tiamina (B1) (mg)	0.2
Riboflavina (B2) mg	5.2
Niacina (B3) mg EN	6.4
Calcio (mg)	52.09
Hierro (mg)	0.43
Zinc (mg)	0.005
Cobre (mg)	<0.25
Boro (mg)	0.14
Molibdeno (mg)	<0.0015

Los hidratos de carbono engloban entre el 35% y 40% de su peso final. Dentro de éstos, no se encuentran azúcares (0% de monosacáridos y disacáridos), y casi el 90% es fibra y el resto fécula. La mayoría de la fibra es soluble y de alto peso molecular (mucílagos), con una extraordinaria capacidad de retención de agua (Reyes, Tecante y Valdivia, 2008). Por este motivo, cuando se ponen en contacto con agua u otro medio acuoso, incrementan su peso 14 veces más que el salvado de trigo y 16 veces más que la linaza, creando un gel de textura viscosa.

Otros nutrientes a destacar son la gran variedad de compuestos con potente actividad antioxidante, principalmente flavonoides. Por este motivo sus productos derivados, como el aceite o harina, no necesitan usar antioxidantes adicionales para su conservación. Los antioxidantes más destacados en las semillas de chía son: la quercetina, la miricetina, el kaempferol, los glucósidos flavonoides; y en menor concentración el ácido cafeico y el ácido clorogénico. Estas sustancias ayudan a mantener más estable la composición lipídica de la semilla y que su aceite no se enrancie a lo largo del tiempo, mientras que en los ácidos esenciales extraídos de los animales y algas, como DHA y EPA, al no contener estos antioxidantes se peroxidan más fácilmente (Reyes *et al.*, 2008; Taga *et al.*, 1984).

La chía es también una buena fuente de riboflavina, niacina, tiamina, calcio, fósforo, potasio, cinc y cobre (Ayerza & Coates, 2006). En consecuencia, las semillas de chía son productos de interés para enriquecer gran cantidad de productos como fórmulas y alimentos para bebés, alimentos horneados, barras nutritivas, yogurt, salsas, etc.

Dentro de los metabolitos secundarios la semilla de chía contiene principalmente terpenoides y flavonoides, las partes aéreas de la planta contienen flavonoides, triterpenos y monoterpenos, particularmente en las flores y en las hojas. Los diterpenos fueron encontrados principalmente en las raíces (Topçu, 2006).

5.5.3 Propiedades de la chía

Las propiedades de la chía se han atribuido a su contenido nutricional, principalmente por su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados, fibra y antioxidantes.

Existen códigos que reportan los efectos benéficos de la chía en la prevención o tratamiento de enfermedades, en los cuales se menciona que fué utilizada por los aztecas como parte de la medicina tradicional en México, entre estos efectos se pueden mencionar los siguientes: antiagregante plaquetario, antiinflamatorio, antimutagénico, anticarcinogénico y antitumoral, laxante, hipotensor, ayuda en la regulación

de los niveles de colesterol, reduce los niveles de los triglicéridos. En el tratamiento de la diabetes se recomienda como hipoglucemiante (Castañeda, 2010).

Actualmente la chía ha despertado interés por algunas de las propiedades anteriormente mencionadas, esto se ve reflejado en la cantidad de información vaga y confusa que hay en algunos sitios de internet sobre las propiedades y beneficios de esta semilla. Es decir existen pocos estudios en la literatura científica recientes sobre los efectos de la chía en enfermedades crónicas como diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc (Chicco *et al.*, 2009; Vuksan *et al.*, 2007). En el 2007, Vuksan *et al.* publicaron un estudio a largo plazo realizado en individuos con diabetes tipo 2 a quienes se les administró *Salvia hispanica* L, en el cual reporta que el consumo de 37 g al día logró la disminución de la glucosa post-prandial, reducción de la presión arterial sistólica y reducción de los factores de riesgo de enfermedad cardíaca, factores de coagulación y factores de la inflamación como la proteína C-reactiva.

En un estudio *in vitro*, el consumo de las semillas de chía disminuyó la adiposidad visceral y la resistencia a la insulina en un modelo de ratas con dislipidemia y resistencia a la insulina (Chicco *et al.*, 2009). Otro estudio demostró mejorar la saciedad, al incluir semillas de chía en un pan a diferentes concentraciones (Lee, 2009).

La semilla de chía también se asocia con actividad antiinflamatoria, antiviral y antibacterial. Recientemente se estudió este efecto en extractos de *Salvia hispanica* L, *Tila mexicana*, *Aloe vera*, *Opuntia ficus-indica* entre otras, cuyo resultado demostró que los extractos hexánicos de la semilla de chía, fueron los que presentaron mayor actividad antiinflamatoria después de la *Tila mexicana* (Baez, 2007).

6. MÉTODOS

El estudio se dividió en tres fases:

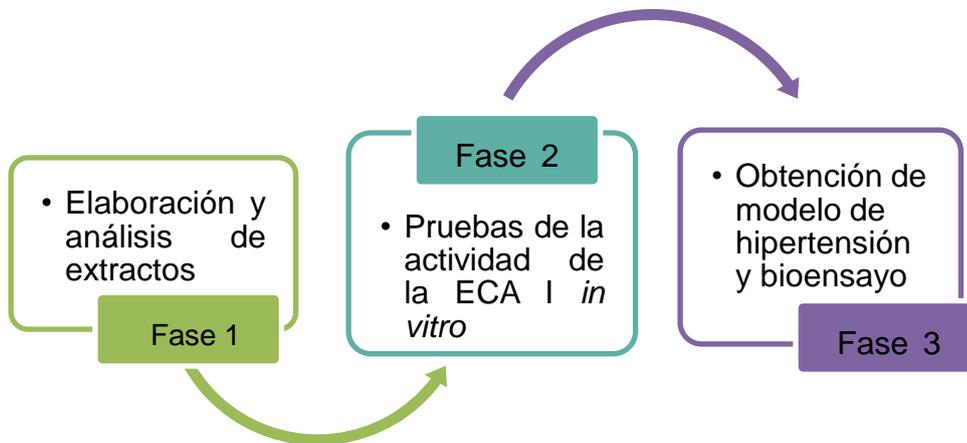


Figura 5. Esquema general presentado en diferentes fases del trabajo

6.1 Diseño

Tabla IV

Diseño del estudio presentado en las diferentes fases del trabajo

Diseño	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Tipo de estudio	Experimental	Experimental <i>in vitro</i>	Experimental comparativo, longitudinal <i>in vivo</i> , prospectivo,
Unidades de observación	Extractos	% inhibición de ECA I	Ratas macho raza Wistar (WKY) de 5 semanas de edad.
Grupo control		Captopril	Ratas normotensas WKY de 5 semanas de edad.
Criterios de inclusión	N/A	N/A	Ratas normotensas WKY de 5 semanas de edad.
Criterios de exclusión	N/A	N/A	Ratas enfermas
Criterios de eliminación	N/A	N/A	Ratas enfermas

6.2 Equipos

- Horno de secado (Felisa FE-292D)
- Incubadora con sistema de agitación (SHEL Lab 1575)
- Campana de flujo laminar (VECO E-3659)
- Homogenizador (DAIGGER PRO 250)
- Agitador (LAB Rotator 1346-1)
- Baño seco (Labnet D1200)
- Placa de agitación y calentamiento (THERMO Scientific)
- Microcentrífuga (Eppendorf Mini spin plus)
- Centrífuga (Eppendorf 5804 R)
- Liofilizadora (Labconco 7752020)
- Incubadora (ShelLAB 1575)
- Espectrofotómetro (ThermoScientific-Evolution 300)
- Centrivap Labconco (PN/7462900)
- Balanza electrónica de precisión (Sartorius BL-1500)
- Potenciómetro (Hanna Instruments HI 254 pH/ORP meter)
- Rotavapor (BUCHI R-300)
- Micropipetas (Eppendorf)
- Congelador -80 (Sanyo)
- Jaulas metabólicas Tecniplast
- Analizador bioquímico (A25 Biosystem)
- Analizador Vitros system chemistry DTSC II (Ortho-Clinical Johnson & Johnson Company)
- Balanza granataria para roedores
- Aparato de medición de presión no invasivo para ratas (Power Lab Adsystems)
- Bomba al vacío DOA-P712-AA Pall Life Sciences
- Cámara de luz UV Spectroline EA140
- Lector de ELISA Biochrome Expert plus Asys Hitec

6.3 Metodología

6.3.1 Fase 1. Elaboración y análisis de extractos

6.3.1.1 Obtención de extractos

La semilla de chía se obtuvo con el apoyo de la empresa CHIAGROMEX, empresa mexicana productora de chía orgánica certificada, localizada en Colima cultiva la semilla una vez al año aprovechando la temporada de lluvias, por lo tanto su cultivo abarca de verano a otoño. Los mejores suelos para este propósito son los areno-limosos aunque puede crecer en los arcillo-limosos. Esta empresa produce en promedio 1100 kg usando técnicas de rotación de cultivos y aplicando lombricomposta como fuente de nutrientes.

El material se pesó y se colocó en charolas de aluminio a secar a 60°C durante 24 horas. Posteriormente se molió en una licuadora.

Con la finalidad de obtener compuestos de diferente polaridad se realizaron cuatro tipos de extractos: hexánico, acetónico, metanólico y acuoso.

El extracto acuoso se realizó por triplicado pesando 60 g del material seco y molido, se le agregaron 600 mL de agua hirviendo e inmediatamente se mezcló. Se filtró inmediatamente a través de manta y el filtrado restante se centrifugó a 3000 rpm (Eppendorf 5804 R) durante 15 minutos. Posteriormente se filtraron al vacío mediante filtros de nylon de 0.55mm. Por último se liofilizaron (Labconco 7752020) a -48°C por 0.520 mBar durante 96 horas (Modificado de Cirilo, 2003).

Los tres extractos restantes se realizaron de forma secuencial es decir de menor a mayor polaridad, para ello se pesaron 50 g de chía (seca y molido) y se colocaron en matraces Erlenmeyer por triplicado, posteriormente a cada uno se les adicionó 250 mL de hexano y se dejaron

en maceración perfectamente cerrados con agitación constante (LAB Rotator 1346-1) durante 72 horas a temperatura ambiente. Se separaron con filtros Whatman N° 1 y posteriormente mediante vacío con un filtro de membrana (0.55mm). Finalmente se concentraron en un rotavapor (R-300) y se llevaron a un desecador con vacío durante 5 días para lograr la evaporación del hexano (Figura 6).

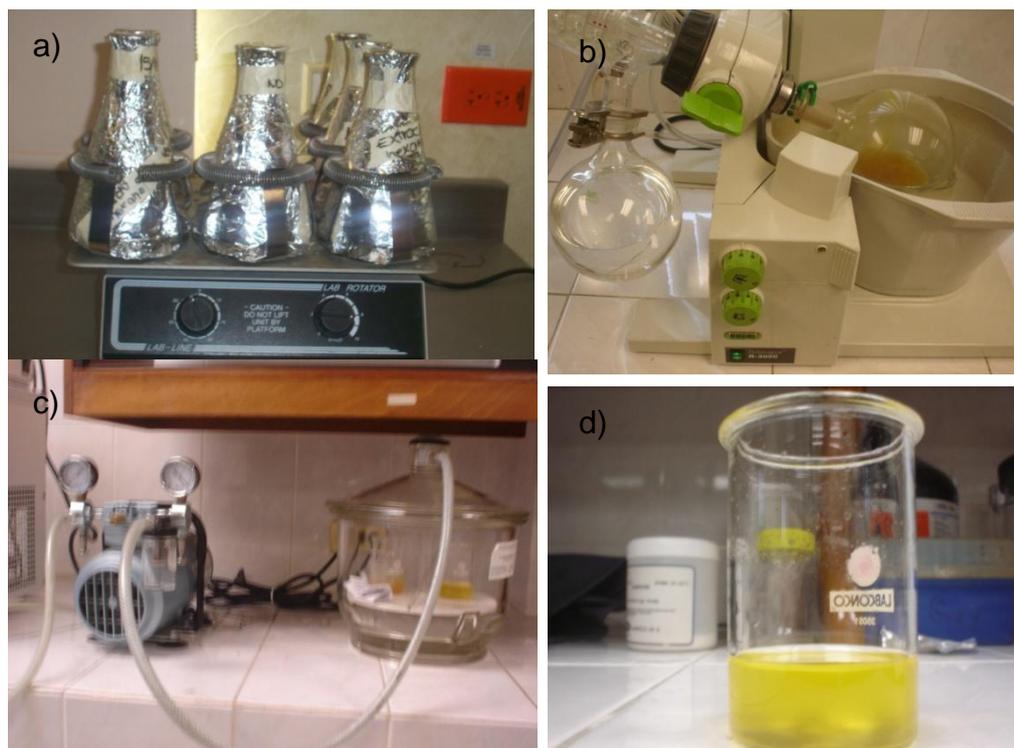


Figura 6. Proceso de elaboración de extractos. a) agitación, b) concentración en rotavapor, c) concentración al vacío y d) extracto hexánico

Con el sólido restante del filtrado se realizó el extracto acetónico colocando 250 mL de acetona en cada uno de los matraces, se dejaron en agitación por 72 horas, se filtraron y se llevaron a concentrar en el rotavapor. Por último para el extracto metanólico se utilizó el residuo del filtrado restante al cual se le añadió 250 mL de metanol y se sometió al mismo procedimiento que los extractos anteriores. La metodología a seguir se resume en la figura 7.

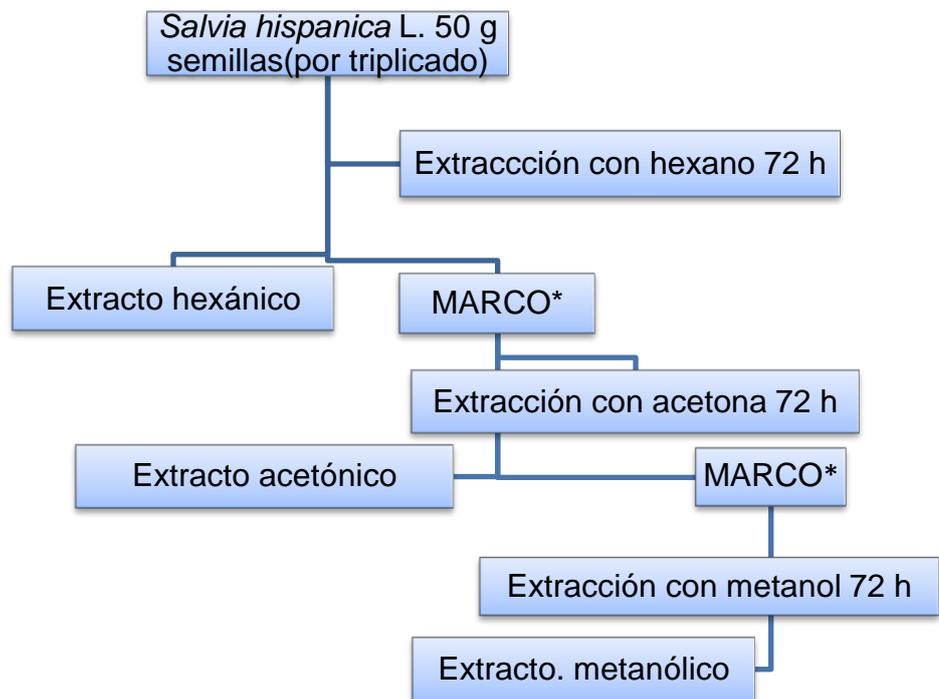


Figura 7. Esquema de elaboración de extractos de semillas de *Salvia hispanica* L. *Marco: Semillas después de haber sido extraídas con el solvente respectivo

6.3.1.2 Pruebas fitoquímicas coloridas para determinación de compuestos presentes en los extractos

Las pruebas coloridas son útiles ya que son sencillas, sensibles, específicas y rápidas de realizar. Las reacciones químicas de coloración y de precipitación que junto con propiedades físicas como la sublimación o la fluorescencia permiten observar la existencia de determinados compuestos químicos en las planta. Estos ensayos fisicoquímicos cualitativos se pueden realizar sobre la misma planta, entera o pulverizada, o sobre extractos de la planta con diferentes solventes. Se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas para identificar los principios activos de los extractos de chía (acuoso, metanólico, acetónico y hexánico) (García, 1992; Domínguez, 1979).

Alcaloides

Prueba de Dragendorff: Se elabora con la mezcla de dos soluciones, la solución A se prepara disolviendo 0.85 g de nitrato de bismuto en una mezcla de 10 mL de ácido acético glacial (o no glacial) y 40 mL de agua. La solución B se prepara disolviendo 8 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua. El reactivo se prepara mezclando 5 mL de solución A, 4 mL de solución B y 100 mL de agua. Se disuelven 1-2 mg de la muestra en etanol y se colocan unas gotas en una placa de porcelana, luego se le añaden unas gotas del reactivo de Dragendorff. La prueba resulta positiva para alcaloides cuando se forman en la placa precipitados de color rojo, naranja o marrón, persistente por 20 min.

Coumarinas

Prueba de Hidróxido de Potasio

Se disuelven 1-2 mg de la muestra en una solución de KOH al 10%, se agregaron unas gotas a la muestra y la aparición de una coloración amarilla que desaparece al acidular se considera positiva.

Flavonoides

Prueba de Shinoda

Se disuelven 1-2 mg de la muestra en un 1 mL de etanol, se le agregan 3 a 4 gotas de HCl concentrado y se añaden limaduras de magnesio. Se considera positiva con la aparición de colores naranja, rojo, rosa-azul a violeta.

Óxidos fenólicos (Taninos)

Prueba de Cloruro Férrico

Se toma 1 ó 2 mg de la muestra, se mezclaron con 1 mL de agua o etanol y se le adiciona unas gotas de cloruro férrico al 5%, la aparición de un precipitado rojo, azul violeta o verde se considera positivo. En algunas ocasiones, para hacer más sensible la determinación, es necesario utilizar una solución no acuosa de cloruro férrico a la que se le añade una base débil, como una combinación de piridina-cloroformo.

Insaturaciones

Prueba de Baeyer: KMnO_4 al 2% en agua

Se disuelven 1-2 mg de la muestra en 1 ml de metanol ó agua y se agrega gota a gota una solución de permanganato de potasio al 2% en agua. La

prueba es positiva si se observa decoloración o formación de un precipitado café resultado de la formación de bióxido de manganeso.

Esteroides y terpenos

Prueba de Liebermann-Buchard

El reactivo se prepara mezclando 1 mL de anhídrido acético más 1 ml de cloroformo y 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se disuelve una pequeña cantidad de muestra (1-2mg) en 1 mL de cloroformo, la aparición de un color azul o morado se considera prueba positiva para esteroides y color rojizo para triterpenos, en el lapso de 2 horas.

Grupos carbonilo

Prueba de 2,4-dinitrofenilhidracina

En un tubo de ensaye se disuelven 100 mg de 2,4-dinitrofenilhidracina en 10 ml de etanol con 3 mL de HCl y se afora con agua destilada. Se añaden unas gotas de este reactivo a la muestra disuelta en etanol, la formación de un precipitado amarillo, rojo o naranja indica presencia de grupos carbonilo.

Azúcares

Prueba de Antronas

En un tubo de ensaye se coloca 1- 2 mg de muestra disuelta en agua, después se deja resbalar por las paredes del tubo una solución reciente de antrona al 0.2% en ácido sulfúrico concentrado; la prueba es positiva si en la interfase aparece un anillo azul-verdoso o violeta.

Lactonas

Se colocan 1 a 2 mg de muestra con solución alcohólica de NaOH al 10%, un color amarillo o anaranjado que se pierde al agregar unas gotas de HCl indica la presencia de un anillo lactónico.

Saponinas

En un tubo de ensaye se coloca la muestra (1-2 mg) disuelta en 1 mL de agua y se agita fuertemente. La formación de espuma abundante se considera prueba positiva.

Quinonas

Se coloca 2-3 mg de muestra y se le añaden 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico. La prueba es positiva si se colorea de rojo y se confirma al añadir 2-3 gotas de hidrosulfito de sodio al 5% decolorándose la solución y se genera el color rojo anterior añadiendo de 2-3 gotas de agua oxigenada al 30%.

6.3.2. Fase 2. Pruebas de inhibición de la actividad de la ECA I *in vitro*

6.3.2.1. Determinación de la inhibición de actividad de la ECA I (IECA) en extractos

La actividad inhibidora de la ECA I se midió *in vitro* de acuerdo con el método de Cushman y Cheung modificado posteriormente por Quiros *et al.* (2007).

Para estandarizar el método primero se realizó una curva de calibración con el inhibidor sintético captopril (Rufián-Henares *et al.*, 2007). La reacción se inició con el sustrato hipuril histidil leucina (HHL, Sigma-H1635) se disolvió en tampón tetraborato 0.1 M con NaCl 0.3 M, pH 8.3, para obtener una concentración final 5 mM. A 100 µl de disolución de sustrato se le añadieron 40 µl de cada una de las muestras cuya actividad IECA se determinó. Se añadió la enzima ECA (EC 3.4.15.1, Sigma), disuelta en glicerol al 50%, y diluida en el momento de realizar el ensayo 1/10 en agua bidestilada. La reacción se llevó a cabo a 37°C, durante 30 min en una incubadora y, a continuación, la enzima se inactivó descendiendo el pH con 150 µl de HCl 1M. El ácido hipúrico formado se extrajo con 1000 µl de acetato de etilo. Tras agitación en vórtex durante 20 segundos, se centrifugó a 4000 rpm durante 12 min, a temperatura ambiente. Se tomaron 750 µl de la fase orgánica que se evaporó por calentamiento a 95°C durante 10 minutos. El residuo de ácido hipúrico se redisolvió en 800 µl de agua bidestilada y, tras agitar durante 20 segundos, se midió la absorbancia (A) a 228 nm. El blanco y el control positivo recibieron el mismo tratamiento que el resto de las muestras, sin embargo, al blanco se le añadió agua en vez de enzima y al control agua en vez de muestra.

La actividad de la inhibición de la ECA se determinó a diferentes concentraciones por triplicado en cada uno de los extractos obteniendo una curva de calibración en cada caso de acuerdo al procedimiento antes detallado. El extracto acuoso se diluyó con agua bidestilada estéril a

diferentes concentraciones. Para trabajar con el extracto metanólico se realizaron pruebas de solubilización con agua, agua-metanol 20% y metanol puro con el fin de evitar la inhibición de la enzima por el propio solvente. A los extractos acetónico y hexánico se les dio un tratamiento adicional de evaporación con Centrivap a 60°C por 3 horas, posteriormente en el caso del extracto acetónico se realizaron pruebas con diferentes solventes (agua, acetona 20% y acetona pura) y con el extracto hexánico se trabajó con etanol 10%, 20% y 30%. Para el cálculo del % de inhibición de la ECA se realizó un ajuste en la fórmula ya que utilizó un blanco de muestra el cual es como el blanco (se le añade muestra pero no enzima), esto con el fin de restar la interferencia de la muestra a la siguiente fórmula.

$$\% \text{ inhibición de ECA} = \frac{(A_{\text{muestra-Ablanco}}) - (A_{\text{control-Ablanco}})}{A_{\text{muestra-Ablanco}}} * 100$$

donde: A= absorbancia a 228 nm

Los resultados se presentan como la concentración necesaria para inhibir el 50% de actividad de la enzima que corresponden a la concentración necesaria para inhibir el 50% de la actividad de la enzima (IC50). Para llevar a cabo su cálculo, se representa el porcentaje de actividad inhibidora de la ECA (% de inhibición) frente a la concentración de la muestra, para dicho cálculo se utilizó el programa PRISM versión 5.04 (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA. USA).

6.3.2.2 Partición del extracto metanólico

En base a los resultados de la IECA en los diferentes extractos se trabajó en la purificación de los compuestos del extracto de semillas de chía que obtuvieron mayor actividad de IECA, como se muestra en el apartado 7.2 de resultados, el extracto metanólico presentó un menor IC50. Por tal motivo se fraccionó este extracto para buscar compuestos más puros y con mayor actividad de IECA.

Al extracto metanólico ya concentrado en el rotavapor, se le hizo una extracción con cloroformo calentando en la parrilla eléctrica y agitando constantemente teniendo como resultado una fracción soluble y una insoluble en cloroformo. Esta fracción insoluble en cloroformo fue soluble en agua y una vez que se concentró se le realizó la prueba de Antrona, Liebermann-Buchard y la de Cloruro férrico en etanol (para hidroxilos fenólicos). Posteriormente esta fracción soluble en agua se concentró por evaporación y se le agregó acetona obteniendo una fracción soluble y una insoluble en acetona. La soluble en cloroformo se concentró a sequedad y se le agregó 50 mL de hexano para hacer una extracción en caliente; obteniendo por lo tanto una fracción soluble en hexano y otra insoluble en hexano. La metodología anterior se resume en el siguiente diagrama, en la cual se especifica en las diferentes fracciones el peso (p) obtenido (Figura 8).

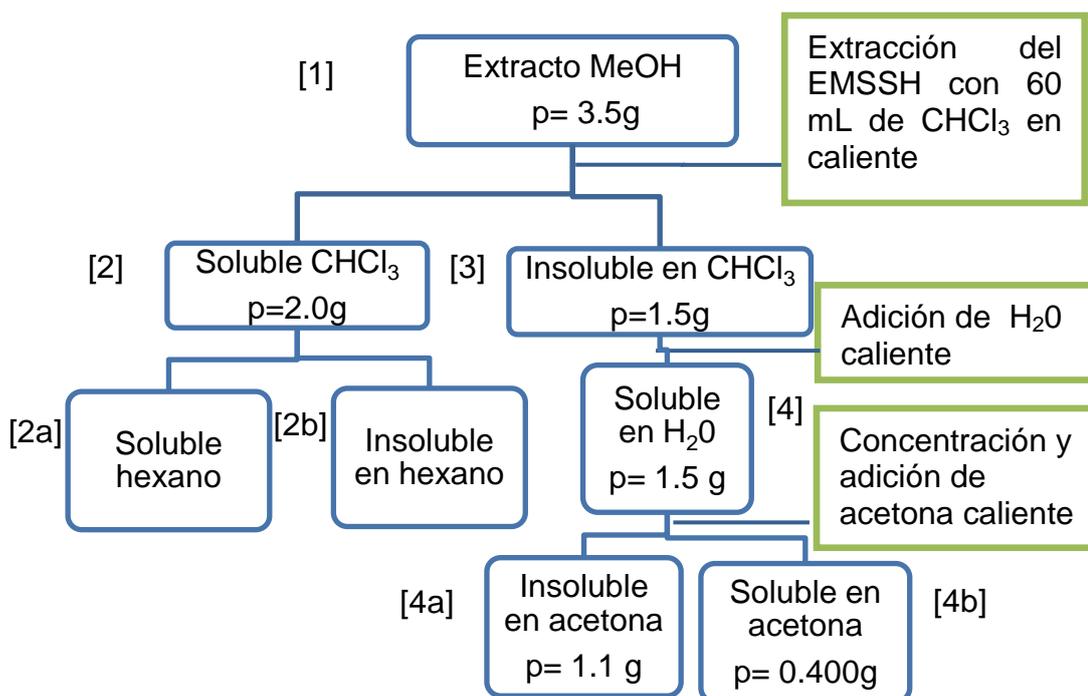


Figura 8. Esquema de la partición del extracto metanólico (p=peso)

A todas estas particiones se les midió actividad biológica en la inhibición de la ECA I, y en base a las que presentaban mejor IC50 se realizaron cromatografías en capa fina.

6.3.2.3 Cromatografía en capa fina

La técnica de cromatografía en capa fina se utilizó para la separación e identificación de compuestos por métodos de agentes cromogénicos y luz ultravioleta para obtener la relación frentes (Rf).

En la cromatografía en capa fina se utiliza una placa de vidrio recubierta con fase estacionaria (generalmente sílica gel G tipo 60) manteniendo un pequeño espesor constante a lo largo de la placa. La placa se coloca en una cuba cromatográfica, la cual debe encontrarse saturada en el eluente (fase móvil líquida). El eluente ascenderá por la placa y arrastrará los componentes a lo largo de ésta produciendo “manchas” de los componentes. Cuando los componentes no son coloreados se utilizan técnicas de revelado bajo luz UV y/o con cloruro de cobalto.

Se usó como absorbente, sílica gel, sobre placas de vidrio las cuales fueron activadas en una estufa a 120°C durante 1:00 h. La cámara cromatográfica se saturó con la mezcla de solvente benceno/acetona (B/A) en una relación 9:1 para las fracciones solubles en hexano e insolubles en hexano. Para la fracción soluble en agua se utilizó un sistema de cloroformo/metanol en las siguientes relaciones: 9:1, 8:2, 8:1, 6:4 y 4:6. Se aplicó una gota de las fracciones con un capilar en las placas cromatográficas, Después de la separación de los componentes de la muestra, la placas se observaron a la luz ultravioleta (UV) y se revelaron con CoCl_2 es decir, a la placa se le hace una aspersion con la solución reveladora de CoCl_2 al 2% y después se calentó para ver los compuestos que pueda tener la muestra.

El cloruro de cobalto (revelador general) se preparó con 800 mL de agua destilada, 20gr de CoCl_2 y 100 mL de ácido sulfúrico concentrado, éste último añadiéndolo por las paredes del matraz poco a poco, finalmente se aforó a 1L con agua destilada.

Finalmente se determinó la relación de frentes (Rf) mediante la siguiente ecuación:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el soluto}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

6.3.3. Fase 3. Obtención de modelo de hipertensión y bioensayo

6.3.3.1 Medición de la presión arterial en las ratas

La presión arterial sistólica (PAS), se midió con un equipo de toma de tensión arterial no invasivo el cual consiste en un sistema NIBP de AdInstruments, un tensiómetro de cola con un transductor conectado a un amplificador de pulsos. El Controlador NIBP se conecta directamente a un sistema PowerLab y permite seleccionar los rangos de pulso, inflar y desinflar el manguito automáticamente. Las señales análogas de presión y pulso se digitalizan en la unidad PowerLab y se grabaron en la computadora utilizando Chart (Adinstruments, 2011).

Las ratas se colocaron cuidadosamente en un cepo, para disminuir el estrés se colocó papel oscuro para disminuir la visibilidad, para mantener la temperatura a 37-40°C se acerca una lámpara con la finalidad de provocar una vasodilatación en las arterias para una mejor detección de los pulsos durante 15 minutos. Posteriormente se ajusta el manguito neumático en la cola y al inflarse con aire éste ocluye la circulación sanguínea y al desinflarse paulatinamente deja pasar otra vez la sangre, a su vez se coloca el segundo dispositivo el cual es un detector de fotopulso pletismográfico adaptado a manera de pinza semicircular que se fija también en la cola, enseguida del manguito (Figura 9).



Figura 9. Toma de la presión arterial en ratas

6.3.3.2 Obtención de modelo de ratas con hipertensión

Se probaron cuatro métodos ya reportados para obtener el modelo de hipertensión para el bioensayo:

- 1) Modelo de fructosa al 10%: se administró la solución de fructosa al 10% en el agua de beber a un grupo de 7 ratas macho Wistar; a partir de la cuarta semana se empezó a observar incremento de la presión sistólica por arriba de 150 mmHg sin embargo, a partir de la quinta semana los valores se empezaron a normalizar. En 1995, Dai y McNeill reportaron que a partir de la sexta semana se induce la hipertensión en ratas Wistar, aún con este antecedente se decidió prolongar por cuatro semanas más la prueba en busca de algún cambio durante este tiempo; a la 12^a semana se suspendió la prueba ya que en promedio las cifras de presión arterial eran de 120 mmHg.
- 2) Modelos de hipertensión renal: se llevaron a cabo dos modelos de hipertensión renal:
 - a) 2K1C: consistió en la estenosis de la arteria renal conocido como 2K1C (por sus siglas en inglés two kidney one clip)

- b) 1K1C: se logra con la estenosis de la arteria renal derecha y uninefroctomía conocido como 1K1C (por sus siglas en inglés one kidney one clip):

En ambos modelos (a y b) se provoca un incremento de la actividad del sistema renina-angiotensina y presentaron cifras de la PAS superiores a los 150mmHg en los primeros días después de la cirugía, logrando mantenerse por 3 semanas con estas cifras, la desventaja de estos modelos es que no es un procedimiento que se genera de manera uniforme (Doggrell & Brown, 1998) y además tiene elevada mortalidad alrededor del 50% en nuestra experiencia.

- 3) Modelo L-NAME: se induce por un aumento de la actividad de la renina plasmática por medio de la inhibición de la óxido nítrico sintasa utilizando NG-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) en dosis de 20 y 40 mg/kg/d por vía oral durante 7 días a cuatro semanas respectivamente (Bernátová *et al.*, 2009; Biancardi *et al.*, 2007).

Se hicieron dos grupos con las dosis, obteniendo resultados positivos en ambos grupos a la semana del tratamiento, se continuó con el ensayo dos semanas más para comprobando que las ratas fueran hipertensas con cifras arriba de 150 mmHg.

6.3.3.3 Prueba piloto para determinar dosis de extracto

Para determinar la dosis del extracto se realizó una prueba con 9 ratas macho Wistar utilizando 3 ratas por dosis (200, 400 y 800 mg/kg/d), dicha dosis fue calculada en base a reportes previos de un efecto hipotensor de la *Salvia hispanica* L., en humanos. Se extrapolaron las dosis en base al peso de los animales. Se administró junto con el L-NAME durante una semana y se vigiló la presión para determinar la dosis con mayor efecto hipotensor sobre ésta.

6.3.3.4 Bioensayo

Se utilizaron 32 ratas Wistar macho de 230 a 250 g. proporcionadas por el bioterio del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina.

Las ratas fueron mantenidas en las condiciones apropiadas del bioterio: humedad relativa entre 40 y 70%; temperatura entre 20 – 22°C; luz artificial con una intensidad de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y alimentación *ad libitum* elaborada por Harlan (Teklad global 18% proteína), ver composición en Anexo 4.



Figura 10. Pesado de los animales

Las ratas se mantuvieron durante una semana en el laboratorio para su adaptación, durante este tiempo se pesaron (Figura 10) y posteriormente se marcaron. A su vez se procedió a la toma de la presión arterial como se describe en la sección 6.3.3.1.

Posteriormente los animales se colocaron en jaulas metabólicas para recolectar la orina basal, además se tomaron muestras de sangre basales en la cola para la determinación de la función hepática. El procedimiento consistió en colocar la rata en un cepo para mantenerla inmovilizada evitando que se generara estrés. Se limpió la cola con una gasa y etanol al 70% y se sumergió la cola en agua tibia para dilatar la arteria caudal, se realizó una pequeña incisión con un bisturí estéril en la parte final de la cola y se presionó la cola para extraer la sangre. La sangre se guardó en tubos microtainer con EDTA y se llevaron al laboratorio de Bioquímica Nutricional para su análisis.

El bioensayo se dividió en dos etapas experimentales: la etapa 1 ó pre-tratamiento que consistió en la inducción de la hipertensión en las ratas y la etapa 2 en la que se administran los diferentes tratamientos a las ratas hipertensas.

6.3.3.4.1. Etapa 1. Inducción de la hipertensión (Pre-tratamiento) (Semana 0-2)

La inducción de la hipertensión en las ratas se realizó con la administración de N-nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME) a dosis de 40 mg/kg/día por vía oral, como se describe en la sección 6.3.3.2. Este periodo de inducción de la hipertensión fue de 14 días. La solución de L-NAME se administraba en 1 mL, a su vez al grupo control sano se le administró 1 mL/d de solución fisiológica.

Las ratas se consideraron hipertensas cuando presentaron cifras de PAS de 140-180 mmHg durante dos días consecutivos. Los animales hipertensos se dividieron en 3 grupos de 8, se comprobó la homogeneidad de las cifras de PAS entre los grupos mediante la prueba de Levene.

6.3.3.4.2 Etapa 2. Administración de los tratamientos en los grupos (Semana3-6)

Las ratas se distribuyeron de acuerdo al grupo y tipo de tratamiento que se administró, ver tabla V. Se administraron las soluciones por vía oral utilizando una sonda de plástico incorporada a una jeringa, el horario de la administración fue diaria en un horario de 9:00 a 10:00 am.

El procedimiento consistía en sostener al animal firmemente manteniendo extendidos la cabeza y el cuello y en línea con el dorso con un abreboca, una vez colocada la rata en posición, se introducía por el abreboca la sonda flexible con movimientos circulares hasta llegar al estómago, una vez asegurando que la sonda llegara al estómago se introducía el medicamento ó extracto según el caso (Figura 11).

Tabla V

Distribución de grupos para el bioensayo

GRUPOS	N	L-NAME (mg/kg)	Captopril (mg/kg)	EMSSH (mg/kg)	Solución fisiológica
1 Control sano	8	-	-	-	1 mL
2 Control positivo (Captopril)	8	60	50	-	-
3 Experimental EMSSH	8	60	-	400	-
4 Control negativo L-NAME	8	60	-	-	1 mL



Figura 11. Administración de tratamientos en animales vía oral

6.3.3.4.3 Determinación de los niveles séricos de colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos y proteína C reactiva en sujetos de estudio

Los niveles séricos de colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos y proteína C reactiva se analizaron en muestras de sangre recolectada al final al final de la etapa del pre-tratamiento (es decir cuando eran hipertensas) y al final del estudio; las cuales se recolectaron por ruptura del plexo venoso de la órbita ocular y recolectadas en tubos eppendorf. Las muestras fueron centrifugadas para separar el suero el cual fue colocado en congelación a -80°C para su posterior procesamiento.

Los análisis del perfil de lípidos se utilizaron kits comerciales de la marca Biosystems y se procesaron de acuerdo a las especificaciones del proveedor en el analizador bioquímico A25, a continuación se describen brevemente (Biosystems, 2011).

Para determinar la concentración de triglicérido, colesterol total y colesterol LDL en las muestras primero se colocaron 300 μ L de la muestra diluida (1:2) en las copas, se capturó la información en la computadora del analizador y finalmente se procesaron por duplicado de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Antes de analizar las muestras se realizó una curva de calibración de acuerdo a las especificaciones del fabricante, además se corrieron controles y blancos para cada una de las determinaciones.

La proteína C-reactiva (PCR) sérica se determinó por medio un kit de Millipore® basado en un inmunoensayo enzimático sándwich de doble anticuerpo monoclonal (EIA).

Las muestras de suero se diluyeron 1:4,000 con la solución de buffer de lavado. Se colocaron 100 μ L de las diluciones estándar, controles y muestras, por duplicado en los pocillos designados. Se elaboró a su vez una curva de calibración. La placa se incubó a temperatura ambiente (20-25°C) por 30 minutos. Posteriormente se lavó la placa 4-5 veces con solución de lavado (0.35 mL por pocillo) y se añadieron 100 μ L de solución diluida del conjugado. Se incubó la placa a temperatura ambiente (20-25°C) por 30 minutos) y se volvió a lavar la placa. Después se añadieron 100 μ L de solución substrato cubriendo la placa de exposición a la luz. Se incubó la placa por 5-10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C). Un color azul indica reacción positiva.

Finalmente se interrumpió la reacción añadiendo 100 μ L de la solución para detener “stop” y la reacción de la mezcla cambió de azul a amarillo. Se determinó la absorbancia con la lectura de la placa a 450 nm. Los resultados se multiplicaron por 4 para obtener las concentraciones de suero actuales en μ g/mL (Millipore, 2011).

6.3.3.4.4 Análisis de enzimas hepáticas

Para descartar daño hepatocelular se realizó la determinación en suero de las enzimas lactato deshidrogenasa, aspartato aminotransferasa y alanino aminotransferasa LDH, AST Y ALT al inicio y al final del estudio. Se determinaron por medio de un analizador bioquímico Vitros DTSC II (Johnson-Johnson company) automatizado. Se colocaron 10 µL de suero de cada una de las muestras de suero directas en el analizador y dependiendo del caso se realizaron diluciones (Orthoclinical, 2011).

6.3.3.4.5 Urianálisis

Se utilizaron tiras reactivas para urianálisis COMBU¹⁰ COBAS (marca Roche). Las tiras contienen pruebas para la determinación semicuantitativa de glucosa, bilirrubina, cetonas, densidad, sangre, pH, proteínas, urobilinógeno, nitritos y leucocitos en orina. El resultado del test puede proveer información acerca del estado del metabolismo de los carbohidratos, función renal, función hepática, equilibrio ácido-base y bacteriuria (Cobas, 2011).

Para la recolección de la orina se colocaron a los animales al principio y al final del estudio en jaulas metabólicas durante 24 horas. Se utilizó la orina fresca sin centrifugar. En cada muestra se colocaba la tira reactiva brevemente (aprox. 1 segundo), mojando todas la zonas reactivas. Al cabo de 60 segundos (para la zona de leucocitos, al cabo de 60-120 segundos), se compararon los colores de reacción de las zonas reactivas de la tira con la escala de colores de la etiqueta y se asignó el valor correspondiente según el valor del bloque cromático más parecido al color observado (Fig.12). El análisis se corrió por duplicado ó triplicado únicamente en los casos que se dudara del resultado.

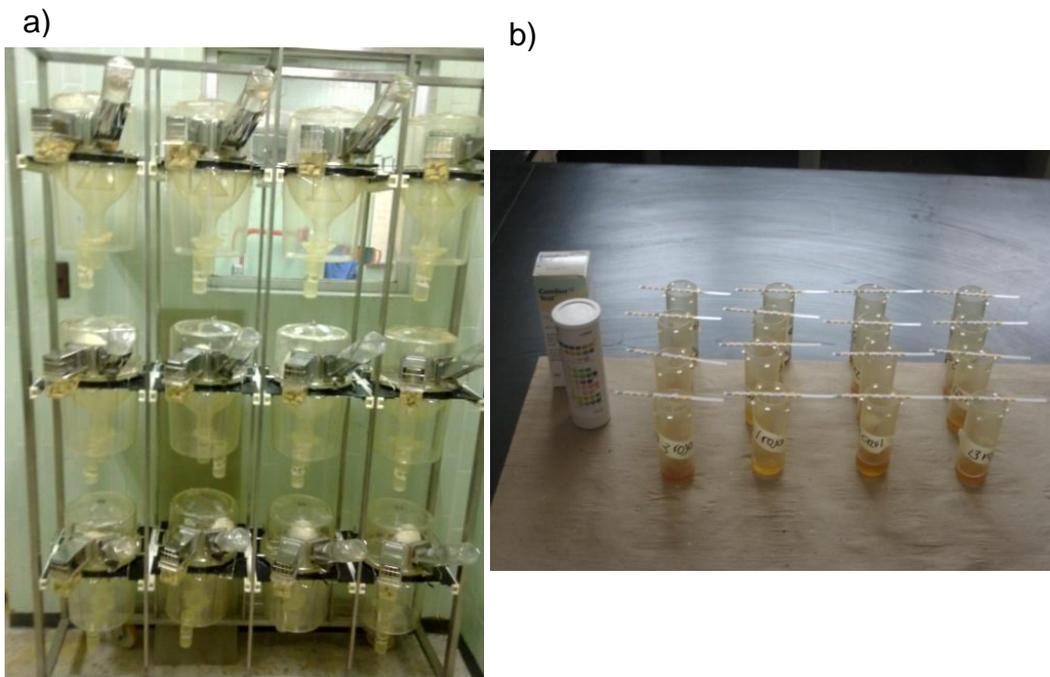


Figura 12. Fotografías de: a) Jaula metabólica con aditamento para la recolección de orina, b) Utilización de tiras reactivas

6.3.5 Análisis estadístico

Los resultados se expresan como la media \pm DE. Para comparar las medias se utilizó el test ANOVA seguido de prueba de Tukey para diferencias significativas entre grupos. Se consideró una diferencia significativa para un valor de $p < 0.05$. El estudio estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS versión 15.0 (Statistical Package for the Social Science Software). Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado. Los valores de IC50 se expresan como la media \pm DE, fueron calculados a partir de curvas dosis respuesta. El cálculo de la IC50 de los datos se llevó a cabo con el software PRISM versión 4.02 para Windows (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, USA).

7. RESULTADOS

7.1 Fase 1. Elaboración y análisis de extractos

7.1.1 Obtención de extractos

Se realizaron primero los extractos de hexano, acetona y metanol de forma secuencial; los rendimientos que se obtuvieron fueron 23.86 ± 0.5 %, 6.26 ± 0.38 % y 3.76 ± 0.85 % respectivamente. El porcentaje de rendimiento de los extractos (%RE) se calculó con la siguiente expresión:

$$\%RE = \frac{\text{Peso final del extracto seco}}{\text{Peso inicial de la muestra seca}} \times 100$$

Con el extracto acuoso se presentaron algunas complicaciones a la hora de la filtración ya que al tener mucílago y mezclarse con agua forma un gel por lo que se utilizó tela de manta, posteriormente se realizó una filtración al vacío y finalmente se liofilizó. El rendimiento del extracto acuoso fue el menor de todos los extractos con un 3.4 ± 0.9 %.

7.1.2 Pruebas fitoquímicas en extractos

En la tabla VI se muestran los resultados obtenidos de las pruebas para identificación preliminar de compuestos presentes en los extractos. En el extracto acuoso se encontró presencia únicamente de azúcares, mientras que en el extracto metanólico se identificó mayor número de compuestos como óxidos fenólicos, azúcares, esteroides, coumarinas, insaturaciones y grupos carbonilo. En los extractos acetónico y hexánico se encontraron presencia de insaturaciones y esteroides (Tabla VI).

Tabla VIAnálisis fitoquímico de los extractos de semillas de *Salvia hispanica* L.

COMPUESTOS	EXTRACTOS				PRUEBAS
	Hexano	Acetona	Metanol	Agua	
Alcaloides	-	-	-	-	Dragendorff
Azúcares	-	-	+	+	Antrona
Óxidos fenólicos	-	-	+	-	FeCl ₃
Coumarinas	-	-	+	-	KOH
Sesquiterpenolactonas	-	-	-	-	Baljet
Flavonoides	-	-	-	-	Shinoda
Insaturaciones	+	+	+	-	KMnO ₄
Saponinas	-	-	-	-	Etanol y agua
Esteroides y terpenos	+	+	+	-	Liebermann- Burchard
Grupos carbonilo	-	-	+	-	2,4 –dinitro Fenilhidracina

7.2 Fase 2. Pruebas de inhibición de la actividad de la ECA I *in vitro*

7.2.1 Determinación de la inhibición de la ECA I en extractos acuoso, metanólico, acetónico y hexánico.

Se trabajó primero en la técnica de estandarización con el control captopril (inhibidor sintético de la ECA) usando la metodología descrita por Quiros *et al.* (2007), probando dosis de 5nM hasta 50nM. Se obtuvo un 50% de inhibición a 2.4 µg/mL (Figura 13).

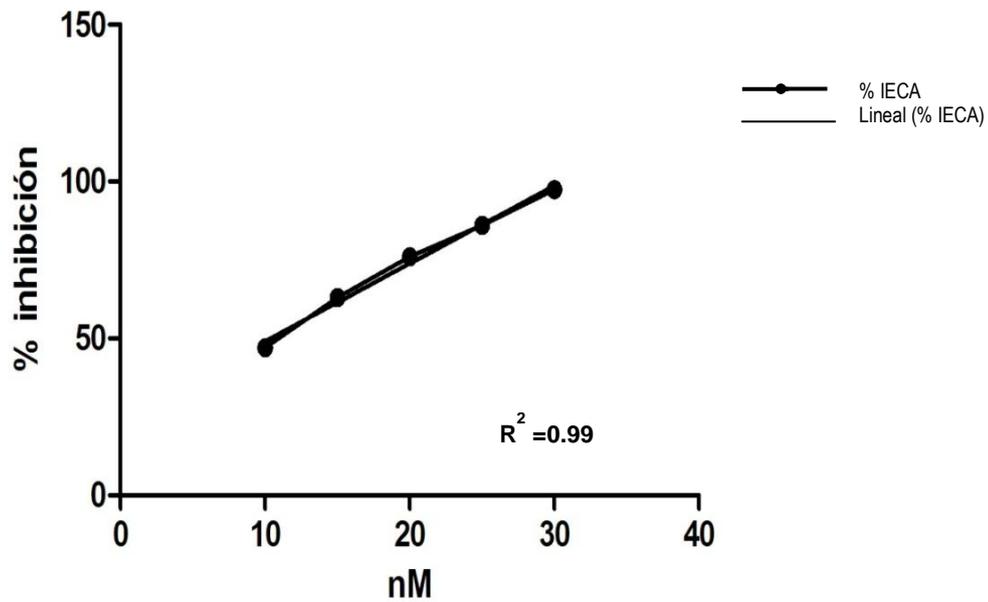


Figura 13. Determinación de la IECAI del captopril

Posteriormente se determinó si los extractos presentaban efecto de inhibición de la ECA I. En el extracto acuoso liofilizado (EAcSSH) se probaron concentraciones de 1 a 50 mg/mL, el extracto se solubilizó con agua. Se encontró que se presentó un 100% de inhibición a 11.47 mg/mL y un IC50 de 5.6 mg/mL. Los resultados se presentan en la figura 14.

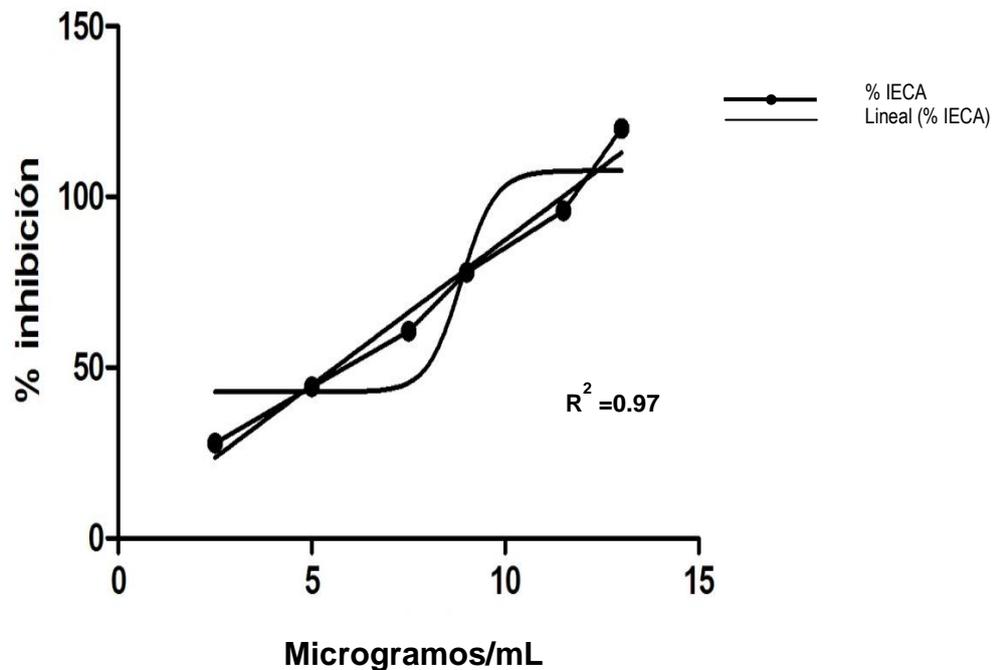


Figura 14. Determinación de la IECA I en extracto acuoso

En el extracto metanólico (EMSSH) se realizaron diferentes pruebas de solubilización con metanol al 100% y 10% y con agua pura para determinar si el solvente causaba inhibición de la enzima y evitar falsos positivos. Se compararon los resultados del blanco y control. Encontrando valores más altos de absorbancia con el metanol al 100% y con el metanol al 10% se encontraron valores similares al blanco y el control que se realizó con agua; por ello se decidió trabajar a esta concentración realizando una curva de calibración partiendo de una concentración de 12 mg/mL en donde se obtuvo más del 100% de inhibición (Figura 15). Finalmente se encontró una inhibición del 100% a 150 $\mu\text{g/mL}$ y un IC_{50} de 63 $\mu\text{g/mL}$.

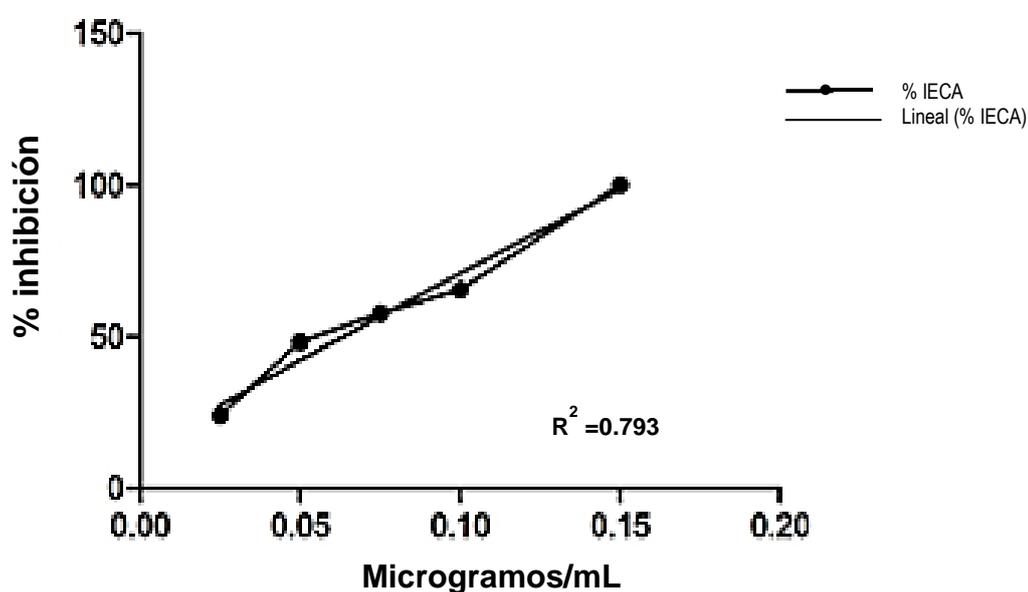


Figura 15. Determinación de la IECA I en extracto metanólico

El extracto acetónico (EASSH) se procesó de la misma manera que el extracto metanólico, se realizó una prueba de inhibición de ECA I con acetona al 10, 20 y 30%. Los valores de inhibición de la enzima obtenidos en el control y blanco fueron similares al encontrado con acetona al 20%, por lo que el extracto fue disuelto a esta concentración para su análisis. Posteriormente se realizó una curva de calibración con valores de 0.05 a 0.7 mg/mL, obteniendo un 100% de inhibición a 493 $\mu\text{g/mL}$ y un IC_{50} de 218 $\mu\text{g/mL}$. (Figura 16).

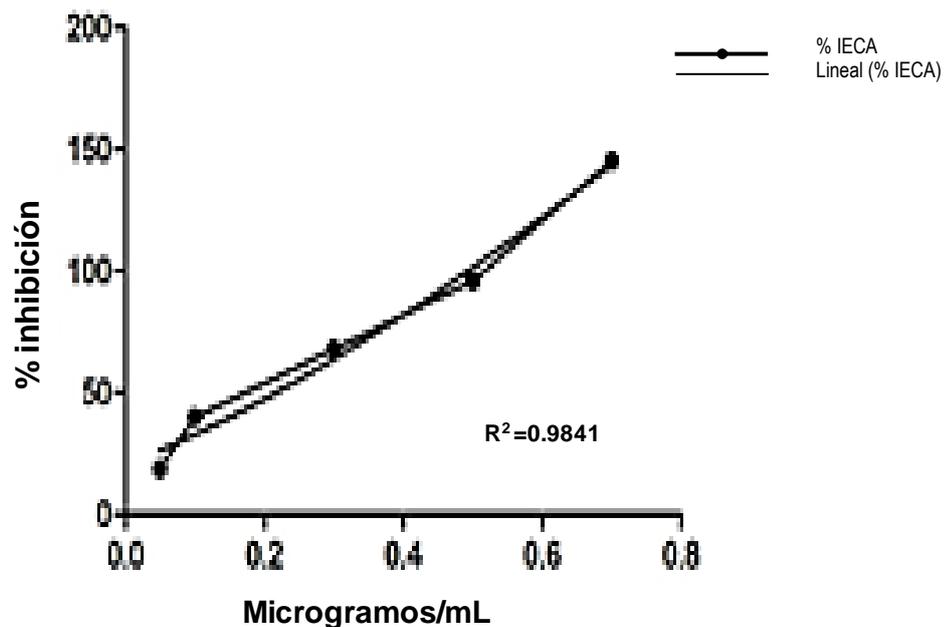


Figura 16. Determinación de la IECA I en extracto acetónico

Finalmente se analizó el extracto hexánico (EHSSH) el cual se procesó de la misma manera que el extracto anterior, sin embargo se encontró que en todas las concentraciones probadas inhibe la ECA por ello se utilizó etanol al 20% para su disolución probando que los controles y el blanco dieran valores similares a los que se encontraron con agua.

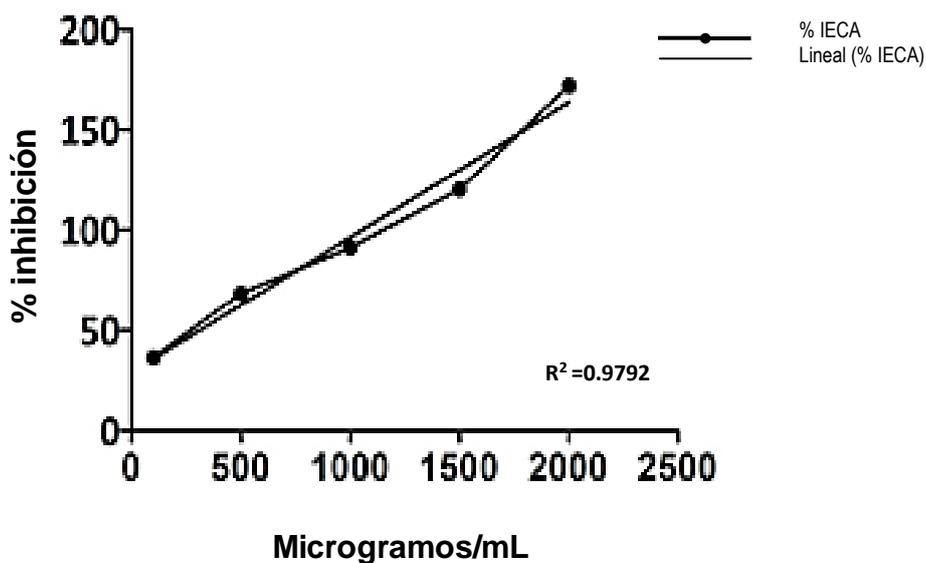


Figura 17. Determinación de la IECA I en extracto hexánico

En base a los resultados anteriores se realizó una curva de calibración de 0.1 a 2 mg/mL encontrando el 100% de inhibición a 1.05 mg/mL y un IC50 de 311.88. µg/mL (Figura 17).

Se realizó un cálculo para obtener la cantidad de chía en miligramos necesarios para obtener un IC50 en cada extracto, resultando 164.7, 1.67, 3.48 y 4.42 mg para el extracto acuoso, metanólico, acetónico y hexánico, respectivamente.

7.2.2 Inhibición de la ECA en particiones del extracto metanólico

De las particiones del extracto metanólico, solo tres obtuvieron actividad biológica de IECA, cada partición como se muestra en la figura 8 se identificó con números arábigos.

En el caso de la fracción soluble en cloroformo, la fracción 2 no se encontró IECA. Sin embargo, se encontró IECA en el insoluble en cloroformo [3] así como en el soluble en agua [4] y en el insoluble en acetona [4a].

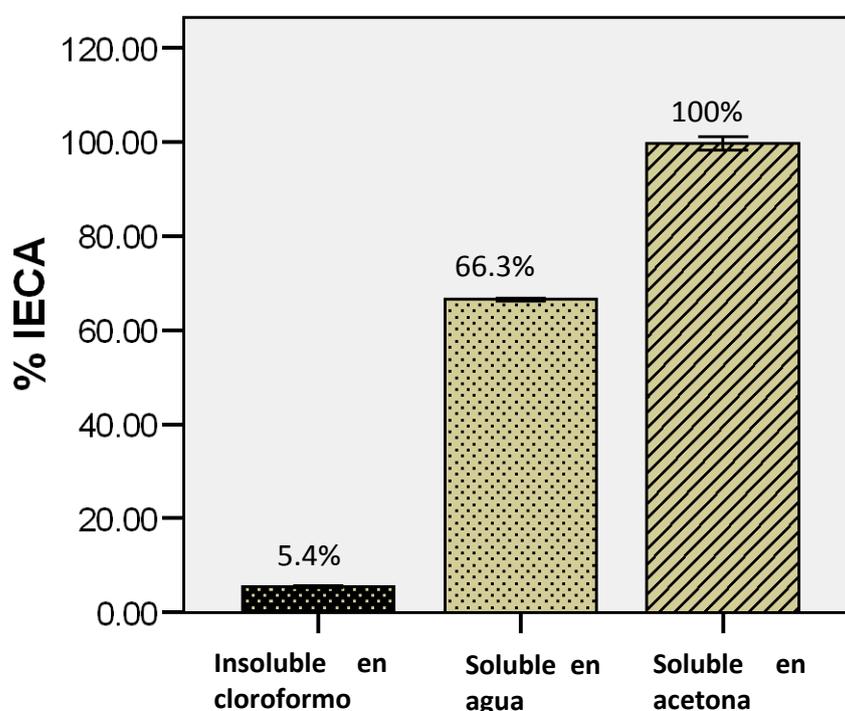


Figura 18. Porcentajes de IECA en las particiones del extracto metanólico en una concentración de 1mg/mL

En la figura 18 se observa el porcentaje de inhibición de la IECA en una concentración de 1 mg/mL, donde se observa la fracción 4a con mayor actividad de inhibición en comparación con las otras particiones. De ésta partición se calculó el IC50, obteniendo un valor de 100 µg/mL, encontrando que a mayor polaridad de los eluentes utilizados en las particiones, la IECA se fue incrementando, es decir, existen compuestos polares con mayor actividad para inhibir la ECA en el extracto insoluble en acetona (4a).

7.2.3 Cromatografía en capa fina de las particiones del extracto metanólico con mayor actividad IECA

Se realizaron cromatografías para el análisis de los compuestos presentes en las particiones del extracto metanólico con mayor actividad. En la tabla VII se muestran los resultados.

Tabla VII

Resultados del análisis de las particiones del extracto metanólico con actividad IECA por cromatografía en capa delgada.

Fracción	Eluente	Sistema revelador	Rf	Compuestos identificados
Insoluble en cloroformo [3]	Cloroformo/metanol 4:6	CoCl ₂	0.50,0.52, 0.56, 0.74, 0.92	Mezcla de 5 compuestos: azúcares, terpenos y compuestos fenólicos
Soluble en agua [4]	Cloroformo/metanol 4:6	CoCl ₂	0.52,0.56, 0.74,0.92	Se observan mezcla de 4 compuestos: azúcares, terpenos y compuestos fenólicos.
Insoluble en acetona[4a]	Cloroformo/metanol 4:6	CoCl ₂	0.50	1 compuesto identificado por pruebas químicas como glucósido de terpeno ó glucósido unidos a un compuesto fenólico.

Como se muestra en la tabla VII, en la fracción insoluble en cloroformo [3] se encontraron diversos compuestos, utilizando como eluente el sistema

cloroformo/metanol 4:6, los compuestos se observaron en manchas color verde oscuro y morado con Rf de 0.50, 0.52, 0.56, 0.74 y 0.92 dando positivo a las pruebas de Antrona, Lieberman-Buchard y Cloruro Férrico. Por otra parte, la fracción soluble en agua [4] se desplazó en cromatografía de cloroformo/metanol 4:6, observándose a la luz UV una línea difusa color azul con un Rf de 0.52 y revelada con CoCl_2 se observó una mancha verde oscura de Rf de 0.50 casi igual que la anterior, con una pequeña cauda de color verde oscuro probablemente impureza de la mancha anterior. De la fracción soluble en acetona [4b] se observaron 2 manchas de color verde oscuro al revelarlas con CoCl_2 y con Rf de 0.52 y 0.56, además se visualizaron otras dos con Rf de 0.74 y 0.92 de color morado rojizo. Mientras que en la fracción insoluble en acetona [4a] en el mismo sistema Cloroformo/metanol 4:6 se logró obtener un compuesto más puro, en la figura 18 se observa en un círculo la única mancha verde oscura con un Rf de 0.50 revelada con CoCl_2 , obteniendo un peso final de 13 mg con consistencia aceitosa (Tabla VII).

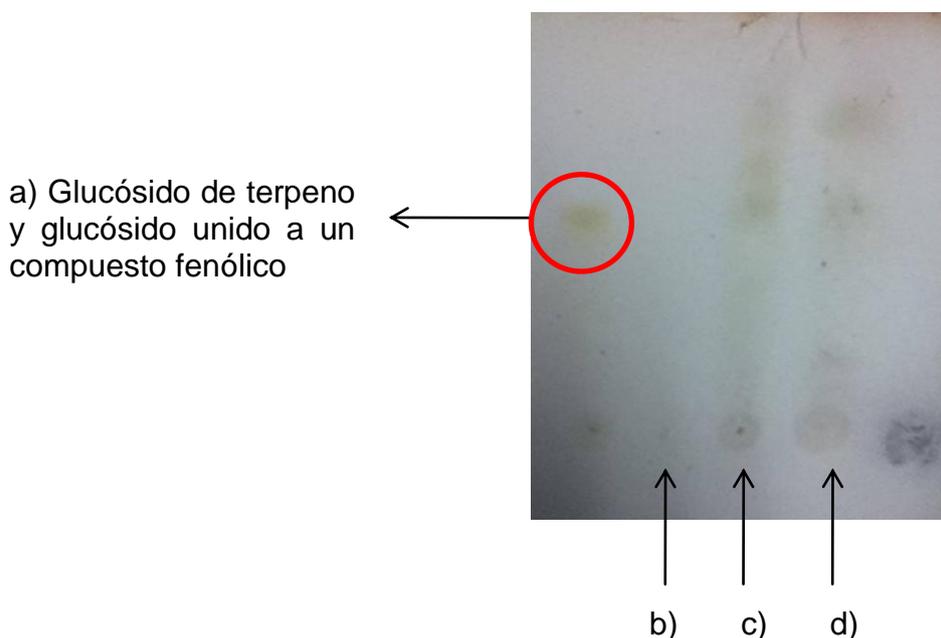


Figura 19. Cromatografía en placa fina de particiones de extracto metanólico con IECA. a). Insoluble en acetona [4a], b) Soluble en agua [4], c) solución madre soluble en acetona [4b], d) Insoluble en cloroformo [3].

Estos resultados revelan que la partición que se realizó del extracto metanólico identificada como [4a] fue la que obtuvo mayor inhibición de la

ECA, además, se logró purificar mejor esta partición, ya que al revelar la placa cromatográfica, únicamente se observó una mancha (Figura 19), resultando positivo a las pruebas de Antrona, Liebermann-Buchard y la de Cloruro férrico en etanol (para óxidos fenólicos), es decir, presencia de glucósidos de triterpenos o glucósidos unidos a compuestos fenólicos.

7.3. Fase 3. Obtención de modelo de hipertensión y bioensayo

7.3.1 Modelo de hipertensión

En la tabla VIII se muestra los resultados de los modelos que se probaron.

Tabla VIII

Modelos de ratas con hipertensión inducida

Método	Descripción	Tiempo	Resultado	Referencia
Fructosa al 10%	Administración oral de fructosa al 10%.	30 días	No se logró obtener ratas con hipertensión	Dai & McNeill, 1999.
Hipertensión renovascular 1K1C	Extracción de un riñón, se colocó un clip en la arteria renal del riñón restante disminuyendo el flujo sanguíneo.	14 días	Se obtuvo la hipertensión en la primera semana con cifras de PAS de 145-150 mmHg, con un 50% de mortalidad	Dussaule <i>et al.</i> , 1986. Dogdrell & Brown, 1998.
Hipertensión renovascular 2K1C	Un riñón permanece intacto y en el contralateral se coloca un clip en la arteria renal.	7 días	La hipertensión se logró en la primera semana con cifras de PAS de 145-150 mmHg, con un 50% de mortalidad	Abdulazeez <i>et al.</i> , 2010.
L-NAME (N-nitro arginina metil ester)	Administración de L-NAME vía oral (20 y 60 mg/kg/d).	14 días	Se logró aumento de la PAS arriba de 150 mmHg.	Biacardi <i>et al.</i> , 2007.

De acuerdo a los resultados anteriores, se seleccionó el cuarto modelo de inducción con L-NAME, ya que se desarrolló la hipertensión en todas las

ratas obteniendo cifras elevadas por arriba de 150 mmHg después de la segunda semana de administración del medicamento con una dosis de 40 mg/kg/d vía oral.

7.3.2 Bioensayo

Para el bioensayo se seleccionó el extracto metanólico por su mayor inhibición frente a la ECA I *in vitro* en comparación con los otros extractos (acuoso, acetónico y hexánico).

7.3.2.1 Prueba piloto para determinar la dosis del extracto

Se realizó una prueba piloto para determinar la dosis del extracto metanólico (200, 400 y 600 mg/kg/d) durante una semana encontrando mayor reducción en la PAS en una dosis de 400 mg/kg/d.

7.3.2.2 Efecto de los tratamientos en la presión arterial

Los animales experimentales al inicio del estudio presentaron valores de presión arterial sistólica en promedio de 100.0 ± 7.55 mmHg y para la segunda semana de la etapa 1 las cifras de la presión arterial se elevaron en las ratas que se les indujo la hipertensión con L-NAME, obteniendo un promedio por grupo después de la distribución de: 158 ± 19.3 mmHg grupo captopril, 155.8 ± 13.7 mmHg en el grupo del EMSSH y 157.7 ± 18.6 mmHg para el grupo control negativo con hipertensión (Tabla IX). El grupo sano se mantuvo durante el estudio con una PAS promedio de 97.9 ± 8.6 mmHg (Figura 20).

Tabla IX

Efecto de los tratamientos en la PAS (mmHg) en la etapa 1 Pre-tratamiento.

Etapa 1 Pre-tratamiento			
GRUPOS		Semana 1	Semana 2
1	Sano	100.3±15.2 ^b	98.6±9.0 ^b
2	Captopril	98.4±5.8 ^a	158.04±19.3 ^a
3	EMSSH	100.1±7.8 ^a	155.8±13.7 ^a
4	Control L-NAME	102.5±7.7 ^a	157.7±18.6 ^a

Valores reportados como medias ± DE para cada tratamiento. Superíndices indican diferencias estadísticamente

La presión se tomó diariamente 1 hora después de la administración de los tratamientos. En la primera semana de la etapa 2, tras la administración de los tratamientos se obtuvo una reducción de la PAS de 17.2 mmHg en el grupo 3, 56.8 mmHg para el grupo 2 y un aumento de 14.9 mmHg en el grupo control con hipertensión (Tabla X).

Tabla X

Efecto de la administración de los tratamientos en la PAS (mmHg) en la etapa 2

Etapa 2 Administración de tratamientos					
GRUPOS		Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
1	Sano	95.7±10.5 ^a	105.0±10.6 ^a	107.9±12.0 ^{a,b}	103.2±8.5 ^a
2	Captopril	98.9±20.4 ^a	110.7±23.9 ^a	97.2±22.0 ^b	112.0±12.3 ^a
3	EMSSH	138.6±20.9 ^b	153.6±24.2 ^b	129.7±19.8 ^a	143.1±10.8 ^b
4	Control L-NAME	172.6±18.0 ^c	174.4±14.7 ^b	197.9±27.0 ^c	203.1±17.6 ^c

Valores reportados como medias ± DE para cada tratamiento. Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas p<0.05.

En las siguientes semanas se observaron cambios en la presión en el grupo del extracto metanólico, en la semana 5 se observó una diferencia significativa del grupo 3 ($p < 0.05$) con respecto al grupo captopril y al grupo control hipertenso, logrando una reducción de 26.1 mmHg.

Mientras que en la última semana la presión llegó a 143.1 ± 10.8 mmHg logrando una reducción de la presión arterial del inicio de la etapa 2 al final de un 8.21%; y una diferencia significativa con respecto al grupo control con L-NAME ($p < 0.01$). El grupo control con hipertensión mostró las cifras más elevadas en la PAS al finalizar el estudio con 203.1 ± 17.5 mmHg.

En el caso del control positivo (captopril) el comportamiento en la PAS fue significativo ($p > 0.05$) con una reducción de 28.06% desde el inicio de la etapa 2 hasta el final (Figura 20).

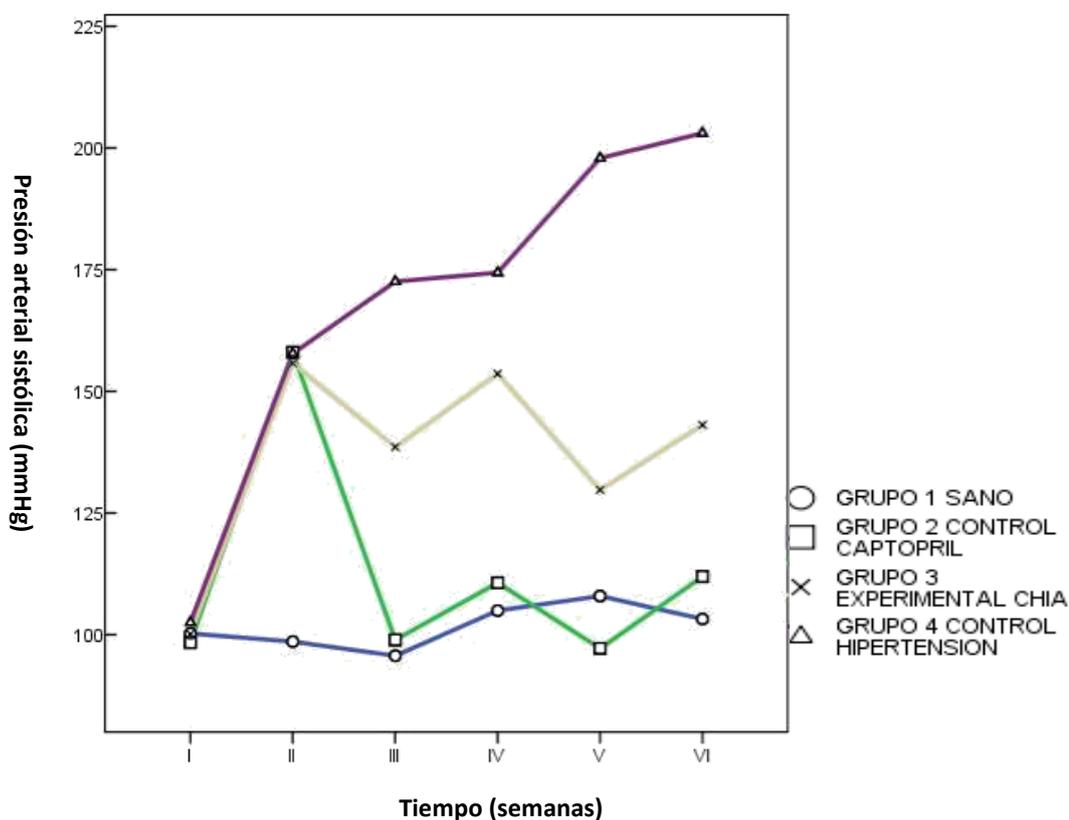


Figura 20. Efecto de los diferentes tratamientos sobre la PAS en las diferentes semanas de experimentación

En la figura 21 se muestran los valores promedio de la PAS al finalizar el tratamiento en cada uno de los grupos, de los cuales los grupos 1 y 2 no presentaron diferencias significativas entre sí, mientras que el grupo 3 tuvo diferencias significativas con respecto al grupo 4 ($p < 0.05$). El grupo control 4 presentó las cifras más elevadas de PAS mostrando diferencias significativas con todos los grupos.

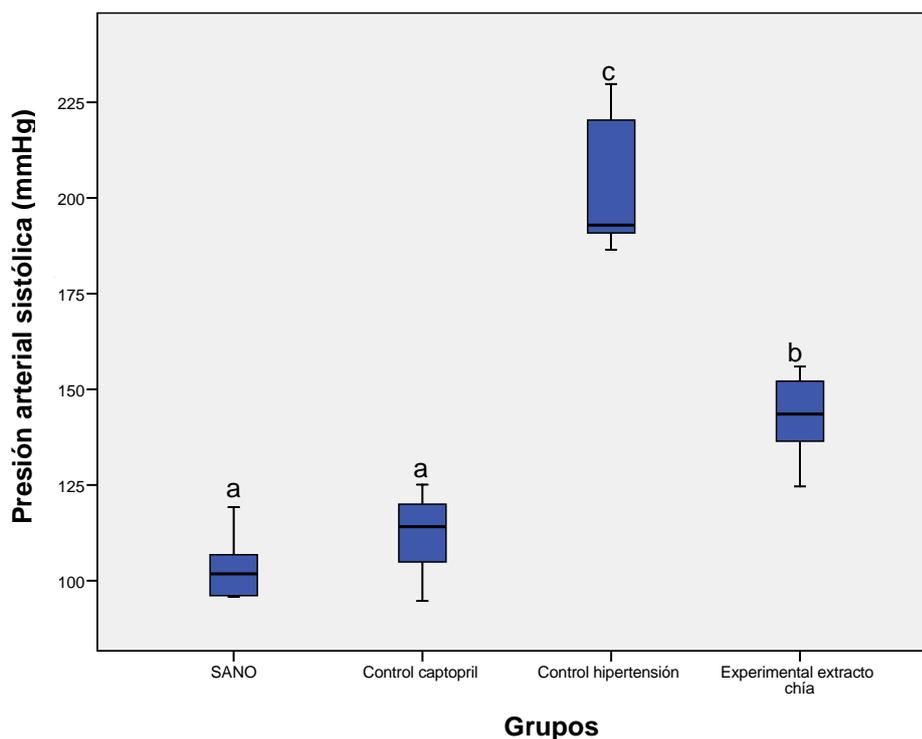


Figura 21. Efecto de la PAS al final del estudio en los diferentes grupos experimentales. Valores reportados como medias \pm DE para cada tratamiento. Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$.

7.3.2.3 Variación en peso en los sujetos de estudio

Al inicio del estudio los animales en promedio pesaron $238.34 \pm 19.7g$, como se observa en la figura 22. Al finalizar el estudio en promedio las ratas tratadas con L-NAME pesaron en promedio $254.55 \pm 25.9 g$, es decir un incremento de un 9.2%, mientras que la media en el grupo sano fue $286.02 \pm 24.5 g$, con un 16.6% de incremento respecto al inicio. (Figura 22).

El cambio en el peso fue un poco menor en los grupos con L-NAME en comparación con el grupo sano, sin embargo esas diferencias no son estadísticamente significativas. Los animales siempre se mostraron sanos y cualquier cambio en el peso que repercutiera en el estado de salud del animal se analizaba para determinar si ese animal debía excluirse de acuerdo a los criterios eliminación que se plantearon.

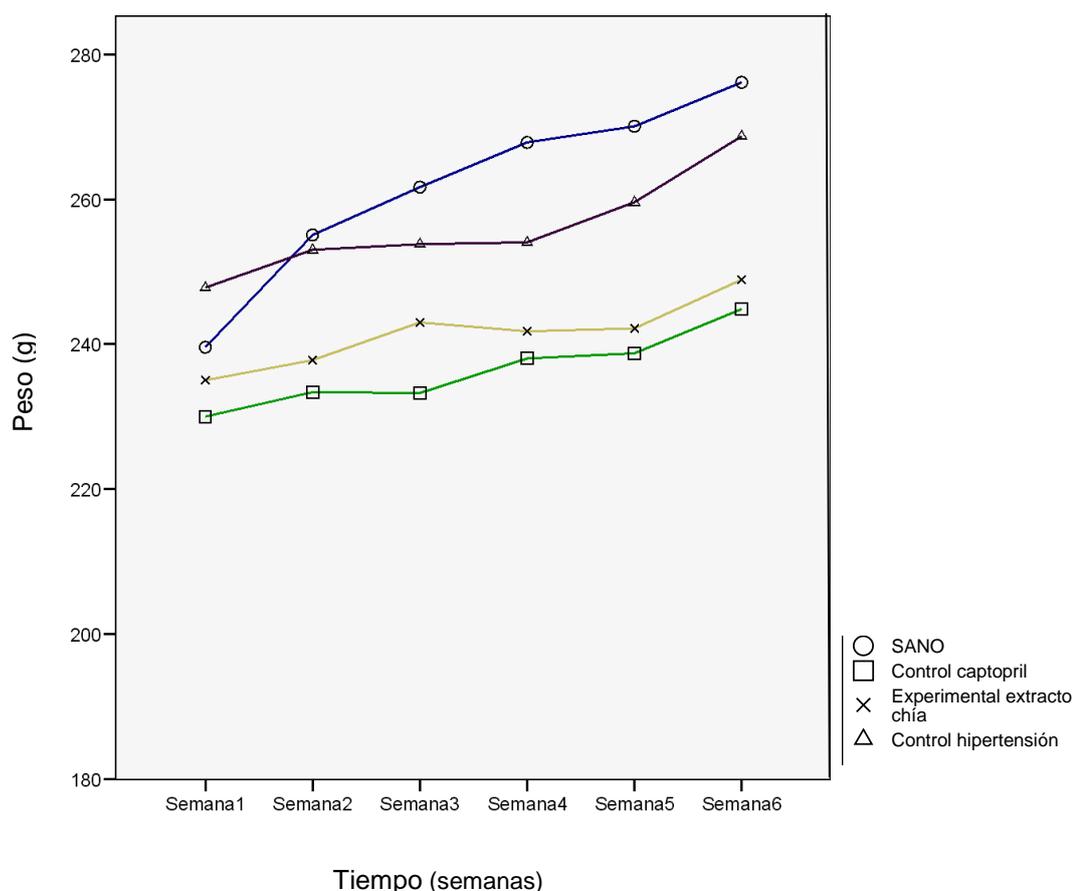


Figura 22. Efecto del peso corporal de las ratas en los diferentes tratamientos durante el estudio.

7.3.2.4 Análisis de parámetros bioquímicos

Los parámetros bioquímicos como triglicéridos, colesterol LDL, colesterol total y proteína C reactiva se analizaron al final de la etapa de inducción y al final de la etapa 2. En la tabla XI podemos observar las diferencias en los valores de estos parámetros en cada uno de los grupos.

No existieron diferencias significativas en los grupos tras administrar los diferentes tratamientos. Las ratas hipertensas iniciaron con cifras de colesterol total en promedio de 117.92 mg/dL \pm 28.16, mientras, el control sano inició con valores de 104.64 mg/dL \pm 41.6.

Tabla XI

Efecto de los diferentes tratamientos sobre colesterol total, LDL, triglicéridos y proteína C reactiva

Parámetros bioquímicos		Grupo 1 Sano	Grupo 2 Captopril	Grupo 3 EMSSH	Grupo 4 Control L-NAME
Colesterol total (mg/dL)	Inicio	104.64 \pm 41.6	131.92 \pm 14.6	120.40 \pm 17.6	103.22 \pm 39.3
	Fin	97.92 \pm 47.0	119.57 \pm 11.9	114.37 \pm 17.2	113.00 \pm 5.8
Triglicéridos (mg/dL)	Inicio	101.57 \pm 70.1 ^a	96.8 \pm 38.4 ^a	108.62 \pm 86.9 ^a	182.05 \pm 8.4 ^b
	Fin	98.92 \pm 48.0 ^a	111.42 \pm 29.3 ^a	68.56 \pm 29.8 ^a	198.56 \pm 41.6 ^b
Colesterol LDL (mg/dL)	Inicio	24.44 \pm 8.7	32.94 \pm 5.5	32.05 \pm 9.1	26.42 \pm 8.2
	Fin	21.45 \pm 8.5	27.6 \pm 3.6	28.21 \pm 6.8	29.92 \pm 7.6
PCR (μ g/mL)	Inicio	486.66 \pm 30.4	508.95 \pm 28.0	503.59 \pm 29.9	501.56 \pm 5.3
	Fin	499.02 \pm 28.2	511.38 \pm 28.4	503.68 \pm 28.2	502.52 \pm 27.8

Valores reportados como medias \pm DE para cada tratamiento. Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$.

En la figura 23 se observan niveles de colesterol total en cada uno de los tratamientos al final del estudio, en la cual al igual que el inicio se observa una diferencia entre los grupos con L-NAME, en donde el grupo 2 (captopril) presentó cifras más elevadas en comparación con el grupo 3 y 4, sin embargo no existe diferencia entre estos grupos ni tampoco de estos con el grupo sano.

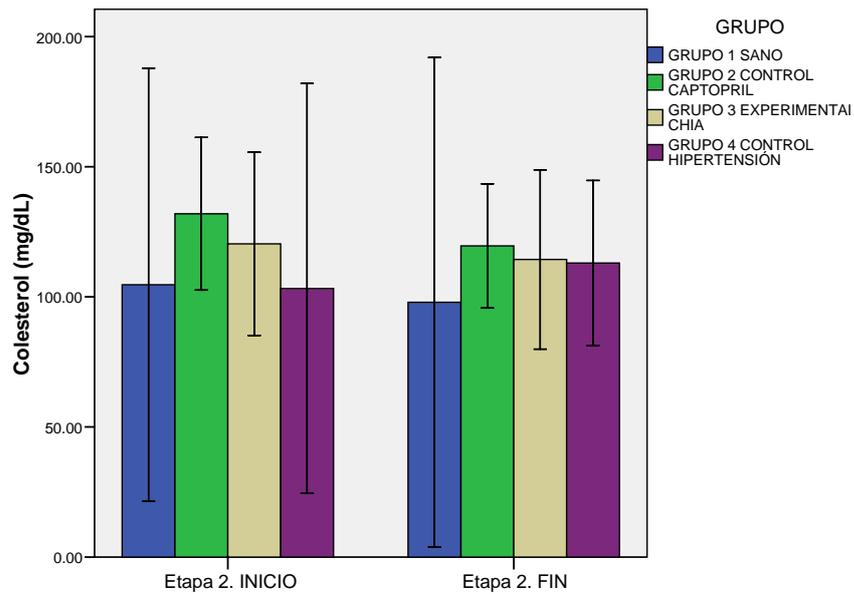


Figura 23. Efecto de los diferentes tratamientos en los niveles de colesterol total al inicio y final de la etapa 2.

Los resultados de las medias de los niveles de triglicéridos en los grupos se muestran en la tabla XI, en la cual se observa que los grupos 2 y 3 tienen valores similares al inicio incluso en comparación con el grupo sano, a diferencia del grupo 4 que muestra valores más elevados, sin embargo, estadísticamente no existe diferencia significativa entre los grupos (Figura 24).

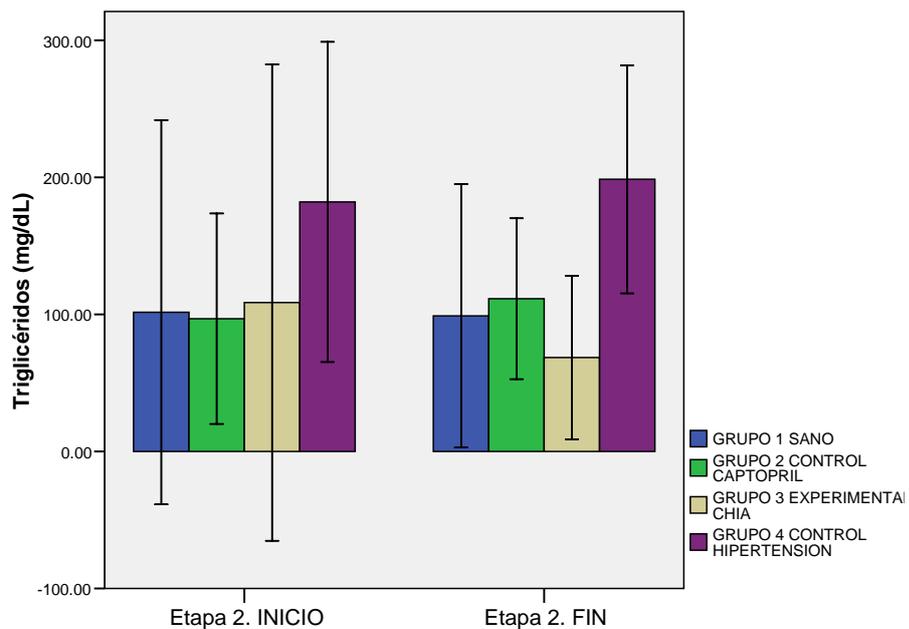


Figura 24. Efecto de los tratamientos en cada uno de los grupos sobre los niveles de triglicéridos al inicio y final de la etapa 2.

En la tabla XI, se muestran los valores iniciales de colesterol LDL en las ratas hipertensas, en promedio estas cifras fueron de 30.36 ± 8.07 mg/dL, mientras que para el grupo sano fue de 24.44 ± 8.7 mg/dL, es decir, no se observó diferencia significativa entre los grupos tratados con L-NAME ni de estos con respecto al grupo control sano. Al finalizar el estudio el comportamiento fue similar, los valores en el grupo sano si fueron menores en comparación de los grupos 2, 3 y 4, pero dicha diferencia no es significativa. Además al hacer comparaciones de inicio y fin en cada grupo tampoco no se presentaron diferencias significativas. Es decir los tratamientos con L-NAME, no afectan de manera en este estudio el perfil de lípidos aún tampoco el captopril y el EMSSH (Figura 25).

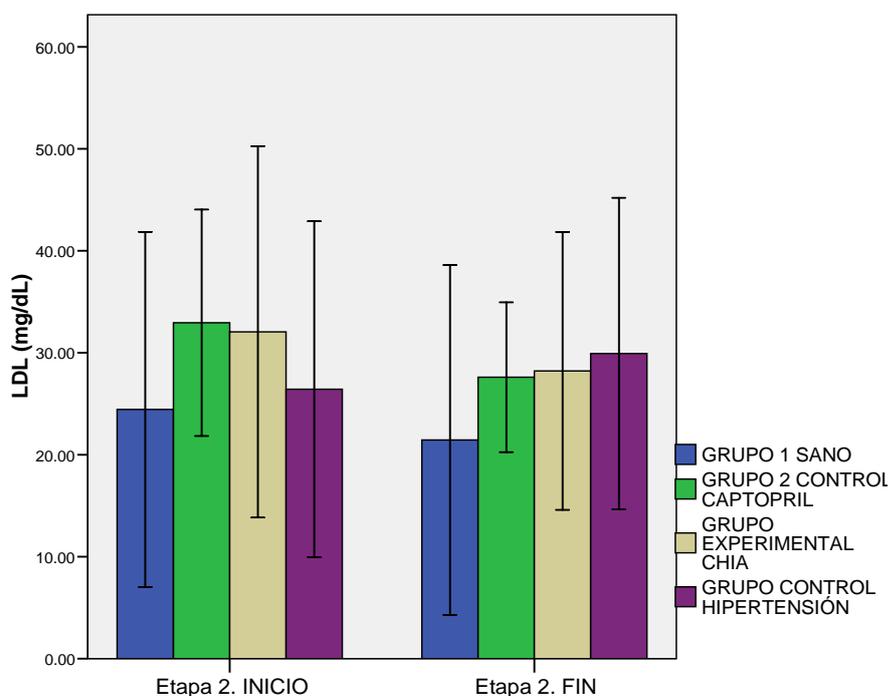


Figura 25. Efecto del extracto metanólico de semillas de chía en el perfil de colesterol LDL al inicio y final de la etapa 2. No existe diferencia significativa entre los grupos.

De acuerdo con los resultados que se muestran en la tabla XI, los valores iniciales de proteína C reactiva (PCR) en las ratas hipertensas son relativamente similares al grupo control sano, aunque menor, la diferencia tampoco fue significativa. En promedio las ratas con hipertensión inducida presentaron valores en promedio de 504.51 ± 26.7 μ g/mL, mientras que el

grupo sano inició con una media de $486.66 \pm 30.4 \mu\text{g/mL}$, como se observa en la tabla XI.

Los valores de PCR al finalizar el estudio no se modificaron, como se observa en la figura 25, los valores fueron similares tanto en los grupos control como en el grupo del extracto de chíá. La media del grupo sano fue de $499.02 \pm 28.2 \mu\text{g/mL}$, mientras que el grupo 3 (EMSSH) de $503.68 \pm 28.2 \mu\text{g/mL}$

En resumen, el L-NAME no incrementó los niveles de PCR en los 2, 3 y 4 y tampoco se presentó una evidencia de reducción de esta variable al finalizar el estudio tras la administración del EMSSH en el grupo 3 (Fig. 26).

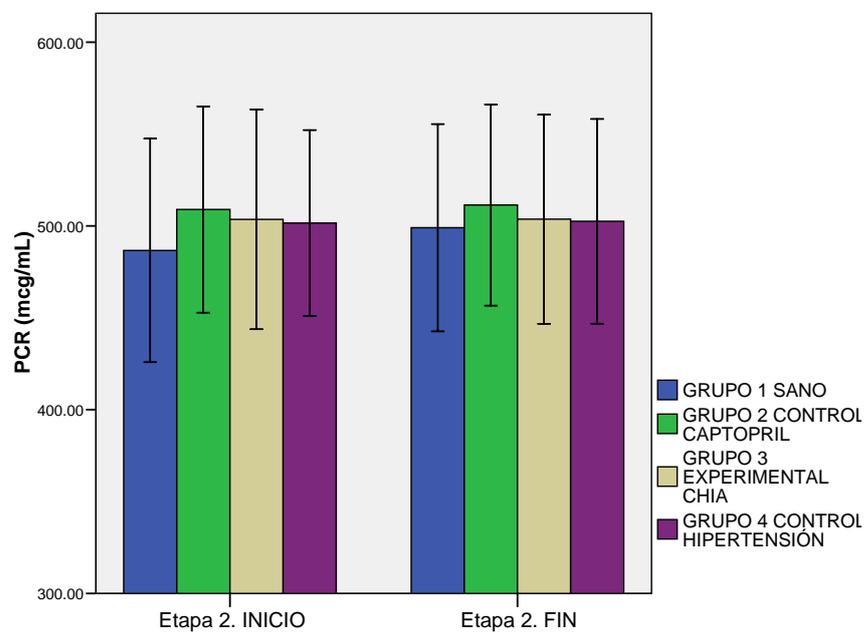


Figura 26. Efecto de los diferentes tratamientos en los niveles de PCR.

7.3.2.5 Urianálisis

Las pruebas que se analizaron fueron densidad, valor de pH, leucocitos, nitrito, proteína, glucosa, cetona, urobilinógeno, bilirrubina y sangre (COMBUR10 Test® Roche, Alemania). De acuerdo a la escala cromática proporcionada por el proveedor, los resultados al inicio indicaban un buen estado de salud de las ratas.

Tabla XII

Efecto de los tratamientos en el urianálisis al final del estudio

Parámetro	Grupo 1 Sano	Grupo 2 Captopril	Grupo 3 Exp. Chía	Grupo 4 Ctrl HTA
Densidad*	1.023 ± .004	1.02 ± 0.008	1.02± 0.008	1.02 ± 0.002
pH*	5.75 ±0.46	6.12 ± 1.24	6.0 ± 0.53	5.87 ± 0.35
Leucocitos	Negativo (8)	Negativo(8)	Positivo (6)**	Positivo (6)**
Nitritos	Negativo (8)	Negativo (7)	Negativo (8)	Negativo (8)
Proteína	Positivo (8)	Negativo(8)**	Positivo (8)	Positivo (8)
Glucosa	Normal (8)	Normal (8)	Normal (5)	Normal (6)
C.cetónicos	Negativo (8)	Positivo (8)**	Negativo (8)	Negativo (8)
Urobilinógeno	Normal (8)	Normal (8)	Normal (8)	Normal (8)
Bilirrubina	Negativo (8)	Negativo (8)	Negativo (8)	Negativo (8)

*Valores expresados en promedio ± D.E. *Valores no significativos $p < 0.05$. **Diferencias entre grupos. Letras con negritas significan diferencias al inicio y final. Números entre paréntesis significa el número de casos que se presentaron en cada grupo $n = 8$ ratas.

Los resultados al final del estudio se muestran en la tabla XII, en la cual se observa un comportamiento normal en la mayoría de los parámetros sin diferencias significativas entre grupos ni en comparación con el inicio como en la densidad, pH y tampoco diferencias cualitativas en urobilinógeno, bilirrubina, nitritos y glucosa.

Por otro lado, al final del estudio el grupo captopril dió positivo en la prueba de cuerpos cetónicos, sin embargo, se ha reportado que el captopril y sus derivados pueden presentar interferencias con esta determinación mostrando falsos positivos.

7.3.2.6 Análisis de enzimas hepáticas

En este análisis se determinaron las concentraciones séricas de ALT, AST y LDH, en la tabla XIII se muestran los valores al inicio y al final del estudio en cada uno de los grupos.

Tabla XIII
Efecto de los tratamientos en los niveles de ALT, AST y LDH

Parámetro		Grupo 1 Sano	Grupo 2 Captopril	Grupo 3 EMSSH	Grupo 4 Control L-NAME
ALT U/L	Inicio	111.0± 82.6	94.28± 36.0	88.7±16.3	107.5±72.2
	Final	91.57±18.0 ^a	145.0±11.8 ^b	113.3±23.1 ^a	92.1±19.5 ^a
AST U/L	Inicio	194.28±87.5	263.57±86.9	254.5±99.6	255.0±152.0
	Final	330.16±32.9	329.71±52.6	257.0±41.1	306.3±97.1
LDH U/mL	Inicio	8.58±8.4	7.76.0±8.5	7.63±8.4	8.11±9.0
	Final	15.98±2.8	15.620±2.8	13.61±5.1	15.31±.5.9

Valores reportados como medias ± DE para cada tratamiento. Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas p<0.05.

El valor de ALT al inicio en promedio en las ratas fue de 100.23 ± 55.6 U/L, es decir los grupos fueron homogéneos al iniciar el estudio, evaluados mediante la prueba de Levene y no se diferenciaron del grupo sano (Tabla XIII).

El análisis de los niveles de transaminasas (ALT Y AST) después del tratamiento experimental con el EMSSH no evidenció cambios sustanciales, en ninguno de los grupos se identificaron elevaciones de dos veces más que los valores del grupo basal. No obstante, los niveles más altos de ALT se observaron en el grupo que recibió captopril (Fig. 27).

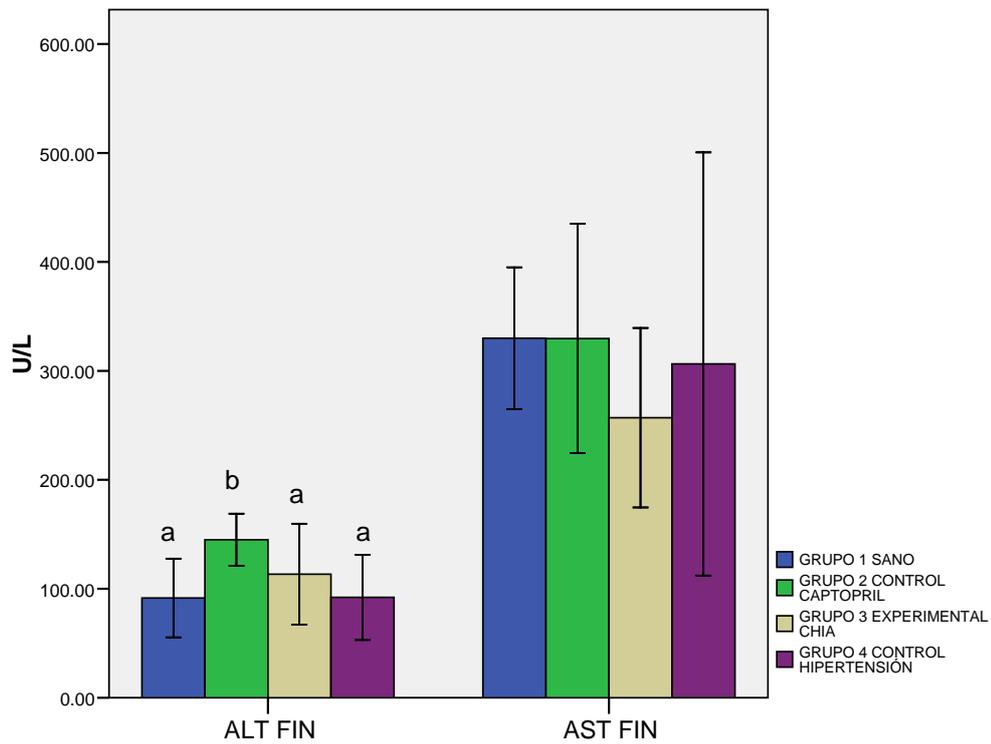


Figura 27. Efecto de los tratamientos en los niveles de transaminasas (ALT y AST) al finalizar el estudio. Valores reportados como medias±DE para cada tratamiento. Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$.

Los valores de LDH al finalizar el estudio se elevaron al doble en los cuatro grupos, encontrando diferencias significativas al inicio y al final del tratamiento en cada grupo (Fig. 28). Sin embargo, a pesar de no existir diferencia significativa entre los grupos al finalizar, en el grupo del EMSSH se observaron cifras menores en comparación de los grupos control.

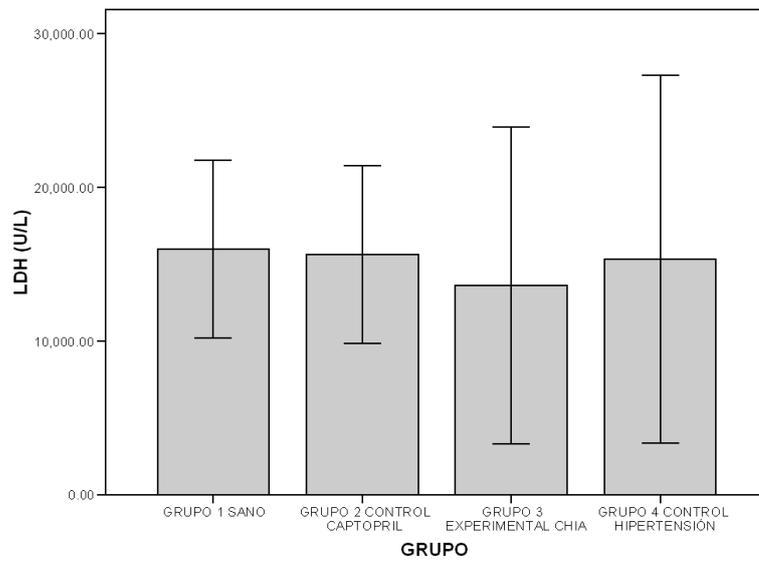


Figura 28. Efecto de los tratamientos en los niveles de LDH al finalizar el estudio. Valores reportados como medias \pm DE para cada tratamiento. Superíndices indican diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$.

8. DISCUSIONES

La hipertensión es una de las causas más comunes de riesgo cardiovascular y está asociada a otras co-morbilidades como la obesidad y diabetes. Actualmente se han investigado compuestos bioactivos presentes en diversos alimentos con actividad biológica, como el caso de la *Salvia hispanica* L., que actualmente ha despertado el interés por sus propiedades cardioprotectoras, entre ellas el efecto hipotensor, y aunque sus propiedades se conocían desde las culturas prehispánicas, éstas propiedades no habían sido confirmadas en estudios científicos. En función de establecer bases científicas para el uso de esta semilla como coadyuvante en el tratamiento y prevención de la hipertensión, se decidió evaluar el efecto de inhibición de ECAI *in vitro* de extractos de semillas de chía, e identificar aquel con mayor inhibición para después probarlo en ratas hipertensas, así como analizar los compuestos responsables y sus efectos tras administrar el extracto por vía oral durante 4 semanas sobre el perfil de lípidos, proteína C reactiva, el estudio parcial de orina (urianálisis) y el análisis de las enzimas ALT, AST y LDH como monitoreo de daño hepático.

8.1 Fase 1. Elaboración y análisis de extractos

8.1.1 Análisis de los extractos

En una primera fase se logró obtener los cuatro extractos. Con el fin de obtener compuestos de diferentes polaridades se trabajó con hexano, acetona, metanol y agua. A mayor polaridad menor fue el rendimiento obtenido, esto confirma lo que se ha reportado en literatura, es decir la riqueza de esta semilla en compuestos insolubles en agua entre ellos ácidos grasos, esteroides y terpenoides (Reyes *et al*, 2007; Topcu *et al*, 2007).

Con pruebas fitoquímicas se detectó en el extracto acuoso, la presencia de azúcares. La semilla de chía contiene principalmente en la capa externa de la semilla un mucílago, el cual provoca un aumento de tamaño cuando se sumerge en agua, este hecho complicó el manejo del extracto acuoso antes

de liofilizarlo. En este mucílago gelatinoso han sido identificados xilosa, glucosa y ácido metil glucurónico (Bushway *et al.*, 1984; Reyes *et al.*, 2007; Weber *et al.*, 1991).

A diferencia del extracto acuoso, en el extracto metanólico se encontró bajo rendimiento pero mayor variedad de compuestos como se muestra en la tabla VI.

Reyes *et al.* (2007) encontraron en las semillas de *Salvia hispanica* L. presencia de compuestos fenólicos confirmando el estudio de Taga *et al.* (1984) quienes por primera vez reportaron presencia de quercetina, mircetina, kaempferol, glucósidos flavonoides; y en menor concentración ácido clorogénico y cafeico. Estas sustancias por su capacidad antioxidante ayudan a mantener más estable la composición lipídica de la semilla y que su aceite no se enrancie a lo largo del tiempo. Por otra parte Topcu *et al.* (2007) reportaron presencia de terpenoides en un análisis de un grupo de plantas de la familia de la Salvia, sin embargo, este estudio se realizó únicamente en la parte aérea y las raíces de la planta, confirmando con este trabajo que estos metabolitos también se encuentran en esta semilla, la cual pertenece a la misma familia.

Cabe señalar que la especie vegetal del presente estudio pertenece a la familia Lamiaceae, aunque tradicionalmente es considerada como grano, no pertenece a la familia Gramineae, en la cual la mayoría de los cereales son clasificados. En esta misma familia se encuentran las especies vegetales de la *Satureja obovata* (ajedrea), la *Orthosiphon aristatus* (bigotes del gato) y la *Salvia scutellarioides* (mastranto) que en su composición fitoquímica también presentan triterpenos, lignanos y flavonoides (Matsubara *et al.*, 1999; Ramírez, Palacios y Gutiérrez, 2006; Sánchez *et al.*, 1996). La presencia de glucósidos, terpenoides, óxidos fenólicos (quercetina, mircetina), insaturaciones (ácido linolénico) han sido implicados en actividades hipotensores de muchas plantas y semillas (Cheng *et al.*, 2009; Guang *et al.*, 2009; Taylor *et al.*, 2001)

Los extractos acetónico y hexánico dieron positivo a las mismas pruebas (esteroides, terpenos e insaturaciones); es importante hacer hincapié en la consistencia aceitosa de estos extractos, confirmando la

presencia de insaturaciones y esteroides, metabolitos que se han reportado en esta semilla (Ayerza, 2009; Ayerza & Coates, 2006).

8.2 Fase 2. Pruebas de inhibición de la actividad de la ECA I *in vitro*

8.2.1 Inhibición de la ECA I en extractos

Los resultados nos muestran datos evidentes de inhibición de la actividad enzimática de la ECA I en los cuatro extractos, y en todos se encontró un efecto dosis dependiente y de forma lineal, aunque existen diferencias en cuanto a la composición del tipo de metabolitos presentes en cada una de los extractos. El extracto metanólico generó mayor actividad anti-ECA, éste contiene compuestos que podrían estar generando mayor actividad anti-ECA ya sea de forma individual ó sinérgica.

Para identificar los compuestos presentes en el extracto metanólico se obtuvieron particiones de diferente polaridad. La fracción insoluble en acetona contenía glucósidos de triterpenos ó glucósidos unidos a compuestos fenólicos y presentaba mayor actividad; sin embargo, se requieren más estudios para identificar con precisión los compuestos presentes en esta partición. Como se muestra en la figura 18, ninguna de las fracciones aisladas tuvo el mismo efecto (IC50), que tuvo el extracto metanólico completo, esto hace suponer que existe un efecto sinérgico entre algunos de los compuestos presentes en el extracto, principalmente entre los metabolitos presentes en la partición insoluble en acetona del extracto metanólico.

Se ha documentado efecto anti IECA *in vitro* e *in vivo* de compuestos aislados de algunos alimentos como chocolate, café, té verde, en particular glucósidos fenólicos (quercetina, mircetina, kaempferol) su presencia en el extracto metanólico podría explicar la observación de reducción de la presión arterial (Basu & Lucas, 2007; Diebolt *et al* 2001). Existen diferentes propuestas sobre el mecanismo de inhibición de estos compuestos, se describe que su estructura fenólica inhibe competitivamente, alterando su

función por aglutinación (Arenas *et al.*, 2009). En otros estudios se ha demostrado una inhibición no competitiva de la actividad *in vitro*, es decir, tanto el sustrato como el inhibidor (tanino) se unen a la enzima simultáneamente y de forma reversible. Por otro lado, Liu *et al.* (2003) probaron que el efecto inhibitorio puede explicarse por el secuestro del Zn²⁺ por los taninos; esto se probó por la teoría que la ECA es una metaloproteínasa dependiente de Zn²⁺, y que los compuestos quelantes de metales no específicos también pueden presentar un efecto IECA (Liu *et al.*, 2003). También destaca el hecho que los grupos hidroxilo presentes en los compuestos fenólicos establecen una interacción tipo puente de hidrógeno con ciertas secuencias ricas en prolina presentes cerca del sitio activo de la ECA (Kaushik & Bhat, 2003; Simon *et al.*, 2003).

En el 2009, Arenas *et al.*, estudiaron el efecto *in vitro* de un extracto de *Salvia scutellaroides* en la inhibición de la ECAI. En este estudio demostraron la interacción de los taninos con el sitio catalítico de la ECA I, apoyando la propuesta de relaciones alostéricas que afectan la conformación de la proteína y su interacción con el sustrato. Algunos de los compuestos del extracto de *Salvia scutellaroides* coinciden con los reportados en el extracto metanólico del presente estudio como óxidos fenólicos, glucósidos y cuumarinas.

Otros autores han reportado un efecto de IECA I por la presencia de triterpenos principalmente en familias de la *Salvia* (*S. ampexicaulis*, *S. elegans*, *S. syriaca* L. y *S. amplexicaulis* L) y en la familia de las Lamiáceas como *Salvia miltiorrhiza*; a la cual se le han atribuido propiedades hipotensoras (Topcu, 2006). Kang *et al.* (2003) aislaron un terpeno presente en esta planta (*Salvia miltiorrhiza*) conocido como ácido litospérmico B, el cual tiene valores de IC₅₀ de manera dosis dependiente de 86 µg/mL, valor superior al obtenido en la presente investigación, es decir el extracto metanólico posee mayor actividad anti-ECA.

Las semillas de *Salvia hispanica* L. comparten los efectos hipotensor y de inhibición de la ECAI reportados en plantas de su misma familia, como es el caso de la *Salvia scutellaroides*. Además el EMSSH posee compuestos que se han aislado de otros alimentos a los cuales también se les ha comprobado su efecto anti ECA I *in vitro*. Sin embargo es prematuro concluir

con estos resultados quienes son los responsables del efecto, lo que se deduce a partir de los datos obtenidos es que existe un evidente efecto de sinergia entre los componentes, es decir la combinación de los metabolitos principalmente glucósidos de triterpenos y glucósidos unidos a compuestos fenólicos pudieran estar inhibiendo la enzima, un posible mecanismo es que estén inhibiendo en un lugar diferente al sitio catalítico, ya que al no ser estructuras proteicas podrían estar provocando cambios conformacionales de la estructura proteica de la enzima que resultan de las interacciones de los dominios N y C presentes.

De esta manera se están aportando las primeras evidencias sobre el grupo de metabolitos que generan este efecto en la semilla de chía y que posiblemente actúen como principios activos en la actividad hipotensora de este extracto en el modelo de inducción de hipertensión que se estudió.

8.3 Fase 3 Obtención de modelo animal y bioensayo

8.3.1 Modelo animal de hipertensión

Se probaron cuatro modelos de animales, 2 modelos de hipertensión renovascular, el modelo de fructosa y el de L-NAME para inducir la hipertensión como se muestra en el resumen de la tabla VIII, resultando éste último, el más viable en nuestras condiciones de estudio, técnicamente más sencillo y con menor mortalidad (Doggrell & Brown, 1998). Con una dosis de 60 mg/kg, obtuvimos en 12 a 14 días la mayor elevación de la presión arterial en comparación con la dosis de 20 mg/kg/d reportada por Biacardi *et al.* (2007). Existen diversos estudios con este inhibidor, y las dosis que se han reportado son desde 10 mg/kg hasta 50 a 100 mg/kg, con diferencias en los tiempos de obtención de la hipertensión, pero en nuestra experiencia en dosis mayores a 20 mg/kg por vía oral la presión se empieza a elevar por arriba de 130mmHg a partir de los primeros 7 días y con PAS de 150-170mmHg a los 12 a 14 días; sin embargo, no se aumentó de manera uniforme la presión en todas las ratas.

Se sabe que el L-NAME es un inhibidor irreversible de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) encargada de la producción de óxido nítrico en el endotelio a partir de la L-arginina. La inhibición de la NOS disminuye la producción de óxido nítrico (NO), favorece la vasoconstricción, ocasiona aumento de la liberación de renina e hipertensión. También se ha observado en este modelo la disminución de la tasa de filtración glomerular, características que también han sido descritas en la hipertensión primaria o esencial de los seres humanos (Biancardi hipertensión arterial (Doggrell & Brown, 1998; Ramírez *et al.*, 2006; Ribeiro *et al.*, 1992). *et al.*, 2007; Sekiguchi *et al.*, 2001).

Una característica distintiva del modelo de L-NAME es el mayor grado de fibrosis cardíaca y arterioesclerosis en comparación con otros modelos de hipertensión (Bernátová *et al.*, 2002). Además, este modelo también se caracteriza por desarrollo de hipertrofia cardíaca y daño renal evidenciado por isquemia renal, alteraciones en la excreción de sodio, incremento de la resistencia renovascular, entre otras (Jover, 2001; Nguelefack-Mbuyo *et al.*, 2010).

En resumen es un modelo que presenta mucha similitud con la hipertensión arterial sistémica que se presenta en humanos, porque además de los incrementos en la PA genera daños a órganos blanco; por tal motivo es un modelo que se ha utilizado frecuentemente en la investigación de compuestos y plantas con acción hipotensora y de inhibición de la ECA (Jover & Mimran, 2001; Ramírez *et al.*, 2006; Torres, 2002).

8.3.2 Bioensayo

8.3.2.1 Análisis del efecto del EMSSH sobre la PAS en el modelo animal de hipertensión

Con el fin de validar el efecto hipotensor de las semillas de *Salvia hispanica* L. *in vivo*, se administró el extracto metanólico en animales con hipertensión inducida (L-NAME) durante 6 semanas.

En la literatura consultada se ha reportado que la hipertensión se induce en una dosis de 20-40 mg/kg/d en un periodo de 7 días (Arnal, Warin & Michel, 1992; Biancardi *et al.*, 2007), sin embargo, en la prueba piloto del bioensayo, la PAS se incrementó en la segunda semana es decir entre los días 12 y 14, con un incremento de 55%, de esta forma se consideraron hipertensas las ratas que presentaron PAS igual o superior a 150 mmHg. Los valores de referencia para ratas sanas se compararon con datos de diferentes investigaciones, algunos autores mencionan valores de presión arterial sistólica promedio en ratas sanas de 110 mmHg (Farris & Griffith, 1996). En trabajos efectuados en ratas de la misma especie en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina (UANL) se identificaron valores de presión arterial sistólica promedio de 100-115 mmHg (Guzmán, 2011). Mientras que los valores máximos reportados en ratas hipertensas con L-NAME varían entre 170 a 200 mmHg a partir del día 7 (Biancardi *et al.*, 2007). Otros autores mencionan que la hipertensión se logra a partir de la cuarta semana (Arnal *et al.*, 1992; Bernátova *et al.*, 2002). Cabe destacar que a pesar de que estos estudios se realizaron en la misma raza, existen siempre distintos factores que pueden provocar cambios en la PA de las ratas; como el ambiente y las condiciones de manipulación, tipo de dieta, clima, zona geográfica, entre otros. Por ello fue determinante establecer con la prueba piloto en cual semana las ratas serían hipertensas ratas y a partir de esto, cuándo se administraría el extracto así como, la duración del tratamiento.

Las cifras de PAS se tomaron en ratas conscientes pues la anestesia disminuye la PA (Biacardi *et al.*, 2007), además para evitar alguna interacción de la anestesia con el extracto, evitando alteración en los resultados.

El efecto del captopril sobre las ratas, ya ha sido reportado en otros estudios utilizando una dosis de 50mg/kg, debido a que es un potente inhibidor de la ECA I con un IC50 de hasta 0.02 μ mol. (Fujita & Yoshikawa, 1999). Como se explicó anteriormente en la Figura 20, la mayor disminución de las cifras de la PA se obtuvo cuando se administró 50 mg/kg de captopril en el grupo 2.

En el caso del EMSSH en dosis de 400 mg/kg/día, presentó un efecto hipotensor a nivel de la PAS a lo largo del tratamiento con reducciones significativas en la primer semana del tratamiento de un 11.03%, 16.75% en la tercera semana y un 8.15% en la última; aunque en la última semana fuera menor con respecto al inicio esta disminución es significativa con respecto al grupo control con hipertensión L-NAME. No obstante, la reducción del EMSSH en la PAS fue menor en comparación del fármaco (captopril), es evidente que el extracto tiene una acción sobre la presión arterial y que uno de los mecanismos por los que se genera pudiera ser por una inhibición de la ECA I, efecto que se comprobó *in vitro* en esta investigación.

En cuanto al poder de acción de los inhibidores naturales de la ECA existe disparidad de opinión entre los autores por el valor de IC50 adecuado para que un compuesto realmente ejerza su actividad antihipertensiva *in vivo*. Algunos autores defienden que los valores deben estar comprendidos entre 100 μM y 500 μM en compuestos aislados para poder ejercer efecto fisiológico. Por el contrario, otros lo limitan a valores $\leq 100 \mu\text{M}$. Sin embargo, dependerá de diversos factores para asumir que la potencia antihipertensiva *in vivo* así como la eficacia *in vitro* para inhibir la ECA (Fujita & Yoshikawa, 1999; Miguel *et al.*, 2005). Aunque el EMSSH tuviera un menor IC50 en comparación de otros extractos, hay que tener en cuenta que los compuestos no se encuentran aislados, existen diversos compuestos presentes en el extracto como coumarinas, terpenoides, glucósidos, compuestos fenólicos, insaturaciones, grupos carbonilo a los cuales se le podría atribuir dicho beneficio ya que de manera *in vitro* se demostró en base a los resultados obtenidos que podrían estar actuando de forma sinérgica.

El estudio de plantas medicinales y alimentos funcionales con efecto hipotensor desarrollado en modelos preclínicos y clínicos muestran constituyentes químicos responsables del efecto hipotensor e inhibición de la ECA I. Algunos de ellos son derivados de compuestos fenólicos, saponinas esteroidales, terpenos, glucósidos, entre otros; estos metabolitos secundarios se encuentran en abundante cantidad en la especie vegetal evaluada (Martínez *et al.*, 2002; Rojas, Palma & Quintana, 2006; Somova *et*

al., 2003). Por ejemplo, la eficacia de la suplementación de quercetina, el cual es uno de los principios activos presentes en la chía y responsables de la actividad hipotensora de la cebolla. Con este compuesto se demostró que la suplementación de 730 mg (quercetina) en pacientes con hipertensión, redujo 7 mmHg la PAS y 5mmHg la PAD; en el cual demostraron que el principal mecanismo de acción de este compuesto es por la IECA I, la cual reduciría en teoría la producción de angiotensina II (Chen *et al.*, 2009). Otro compuesto fenólico que se ha reportado en la chía es el kaemferol, Olszanecki *et al.* (2008) reportaron que 100µmol/l es la concentración necesaria de este compuesto para inhibir el 46% de la actividad de la ECA. En el caso de algunos triterpenos con efecto IECA se podría citar varios como los presentes en la *Olea europea L.* (olivo), planta que se usa ampliamente en la medicina tradicional como diurético, antihipertensivo, emoliente, entre otros efectos hipoglucemiantes han sido bien documentados. Algunos investigadores han estudiado algunos compuestos aislados como es el caso del glucósido oleuropeina, así como los triterpenos ácido ursólico y oleánico a los cuales se han demostrado su efecto hipotensor así como acción antiarrítmica. Incluso se han aislado compuestos de la hoja de oliva, conocido como secoiridoide oleaceina, con efecto de inhibición de la ECA. (Hansen *et al.*, 1995; Morigiwa *et al.*, 1986).

Otros los posibles compuestos con efecto mediador son los ácidos grasos insaturados presentes en abundancia en la semilla de chía, principalmente los omega 3. Al ácido linolénico se le han atribuido propiedades antihipertensivas y aunque se han propuesto diversos mecanismos de acción, como antiinflamatorio. Ogawa *et al.* recientemente demostraron el efecto del ácido linolénico en ratas espontáneamente hipertensas en la IECA I a nivel de la aorta así como la disminución en la expresión del mRNA de la ECA en la aorta principalmente así como en corazón, pulmón, hígado y riñón (Ogawa *et al.*, 2009).

Lo anterior explica que existen compuestos de la misma naturaleza química a los que se encontraron en este estudio en el extracto metanólico, con efecto de inhibición de la ECA e hipotensor, en algunos de ellos se ha demostrado el efecto de manera individual y en otros el efecto que en conjunto generan estos compuestos.

Pese a los estudios antes mencionados, no todos han demostrado sus efectos *in vivo*, en el estudio de compuestos con acción antihipertensiva es necesario comprobar los efectos *in vitro* y posteriormente *in vivo*, debido a que algunos compuestos que muestran actividad biológica *in vitro* pueden metabolizarse *in vivo* junto con el metabolismo en metabolitos inactivos, es decir, pasar de compuestos activos a compuestos inactivos. Controversialmente, algunos extractos muestran solo actividad *in vivo*, es decir compuestos inactivos se convierten gracias al metabolismo en compuestos con efecto biológico, alternativamente algunos compuestos son inactivos *in situ* pero actúan sinérgicamente con otros compuestos en el extracto. En ocasiones la separación del extracto en fracciones durante la purificación puede resultar en la disminución ó pérdida total en todas las fracciones. Esto puede deberse a la labilidad de los compuestos como la sensibilidad a la temperatura, luz y acidez-basicidad del solvente (Lahlou, 2003; Taylor *et al.*, 2001). El presente trabajo soporta este efecto, ya que al fraccionar el extracto para aislar compuestos con mayor actividad IECA, las fracciones dieron valores más bajos de IECA en comparación con el EMSSH completo (Taylor *et al.*, 2001).

Como se ha mencionado anteriormente, el EMSSH fue el que presentó mayor actividad IECA I y al que se le han atribuido sus propiedades por la variedad de compuestos que presenta a diferencia de los otros extractos, se podría deducir que los compuestos polares tuvieron una mejor inhibición de la ECA a diferencia de los compuestos menos polares. Los resultados del presente estudio coinciden con la revisión de Barbosa-Filho *et al.* (2006), que al analizar 321 especies de plantas con actividad IECA documentan que la mayor actividad se encuentra en las fracciones más polares y medio polares.

En resumen existe un evidente efecto del EMSSH sobre la PAS; sin embargo, es importante continuar en el estudio para identificar el compuesto con mayor efecto hipotensor, sus sinergias y/o antagonismos así como su seguridad en la administración crónica ya que se vislumbra como un compuesto prometedor en la terapéutica no farmacológica de la hipertensión arterial.

8.3.2.2 Efecto del peso en los grupos

Como se observa en la figura 22, las ratas que se trataron con el inhibidor L-NAME, durante el transcurso del experimento se mostraron sanas incluso al finalizar el estudio y aunque el aumento de peso fue en menor proporción que el grupo de las ratas sin L-NAME, éste cambio no es estadísticamente significativo.

8.3.2.3.Efecto en los niveles de colesterol LDL, colesterol total, triglicéridos y proteína C reactiva en los tratamientos

La elevación de la presión arterial, niveles elevados de colesterol total y LDL, niveles bajos de HDL, obesidad y diabetes, son factores de riesgo de riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. La modificación de la dieta y el aumento de la actividad física son la primera línea de acción para la prevención y/o tratamiento de la hipertensión (Pyörälä *et al.*, 1994).

En la figura 23 se muestran los niveles de colesterol tras la administración del EMSSH, se observa que no existió diferencia significativa en ninguno de los grupos. Los grupos con hipertensión inducida con L-NAME se comportaron de manera similar a los valores del grupo control sano.

No obstante, los niveles de colesterol plasmáticos en ratas hipercolesterolémicas dependerá del tipo de inducción de dicha patología, los valores que se han reportado son de 168 a 180 mg/dL, mientras que los valores para ratas sanas son de 50 a 80 mg/dL (Ardakani, 2009; Jain *et al.*, 2010; Saravana, Kumar & Raja, 2010; Vijaya, Ramanathan & Suresh, 2008). Se ha observado que la manipulación de los animales en el laboratorio causan cambios en los niveles de lípidos plasmáticos y la magnitud de estos cambios dependen del grado de estrés (Jain *et al.*, 2010).

Los resultados de este trabajo confirman acorde con la literatura que el reactivo L-NAME bajo las condiciones de estudio no ocasiona modificaciones de los niveles de colesterol total en ninguno de los tres

grupos. Resultados similares observados a corto o largo plazo de administración de L-NAME sobre los lípidos plasmáticos han sido reportados por algunos investigadores (Abdelzaher, AbdelReheem, Abdel-Halim, Abdelhameed & Kamal, 2010; Nakaya *et al.*, 2002; Navarro *et al.*, 1994).

No obstante, en la literatura también existe información contradictoria (Saravana *et al.*, 2010). Sin embargo, son pocos los estudios publicados sobre la relación de L-NAME y los niveles de colesterol total, triglicéridos y colesterol LDL, es decir no queda claro si el L-NAME pudiera ejercer un efecto hiperlipemiente.

En resumen no se logró demostrar con estos resultados el efecto hipolipemiente de la chía reportado por Chicco *et al.* (2008) y por Ayerza y Coates (2005b). Dichas investigaciones aseguraron que la adición de semillas de chía en la dieta de ratas sanas como hipertriglicerolémicas disminuye la concentración plasmática de colesterol y aumento de colesterol HDL. Ayerza y Coates (2005b) atribuyen dichas propiedades al contenido de ácido linolénico.

Sin embargo, pueden existir varios factores por los cuales no se presentó en nuestro estudio el efecto hipolipemiente. Uno de ellos pudiera ser la forma de administración, en nuestro caso se administró un extracto, es decir solo una parte de los compuestos presentes en la semillas, otro posible causa es la estabilidad de los compuestos activos en el extracto ó la concentración de los compuestos activos responsables del efecto en el EMSSH. Por último al ser una fuente botánica, la variabilidad en la composición de la semilla se ve afectada por las zonas de cultivo, por los efectos de genotipo, el medio ambiente y las interacciones genéticas de los entornos (Ayerza, 2009).

En cuanto al colesterol LDL no se obtuvieron diferencias significativas ni al inicio de la hipertensión ni al finalizar el estudio en ninguno de los grupos. Los valores que se obtuvieron son similares a los que se han reportado en la literatura para ratas de la misma especie sin hipercolesterolemia, el rango reportado va desde 15.0 a 25 mg/dL (Jain *et al.*, 2010; Kapoor, Nazam & Bhandari, 2008). Saravana *et al.* (2010) reportaron en su grupo con L-NAME valor de 113.7mg/dL, 4 a 7.5 veces más elevado que los resultados del presente estudio (figura 25).

En el caso de los triglicéridos, se presentó un efecto diferente a los anteriores. Los valores para ratas sanas de la misma especie han sido descritos por algunos laboratorios especialistas en la cría y reproducción de animales de laboratorio como es Harlan, el cual reporta valor promedio para ratas sanas Wistar de 123.15mg/dL (www.harlan.com) y en algunos estudios presentan cifras de 67, 92 hasta 104 mg/dL (Ardakani, 2009; Jain *et al.*, 2010; Saravana *et al.*, 2010; Vijaya *et al.*, 2008). Para ratas con hiperlipidemia se han reportado valores de 200 hasta 350 mg/dL (Ardakani, 2009, Vijaya *et al.*, 2008).

Un estudio con ratas Wistar a las cuales se les induce hipertrigliceridemia, mostraron en promedio un valor de triglicéridos de 164.7 mg/dL a diferencia de su grupo control con un valor de 57.04 mg/dL (Saravana *et al.*, 2010). Los resultados que presentamos en la tabla XI muestran valores para el grupo sano menores a los reportan Harlan y Charles River. A su vez nuestro grupo control con L-NAME presentó valores similares a los reportados por Saravana *et al.* (2010) tanto al inicio de la etapa 2 como al finalizar el estudio, sin embargo esta diferencia podría ser en función al tipo de alimento que se administra en los animales, ya que los niveles de triglicéridos en sangre están en proporción directa con la cantidad de grasa e hidratos de carbono ingeridos.

Podemos observar valores de triglicéridos significativamente más bajos ($p < 0.01$) en el grupo del EMSSH en comparación con el grupo 4, con respecto al grupo 1 y 2 no existió diferencia significativa. En este parámetro se podría deducir el posible efecto hipolipemiante de la chía reportado por Chicco *et al.* (2008) y por Ayerza y Coates (2005b). Los metabolitos secundarios presentes en el EMSSH como los compuestos fenólicos, terpenos y ácidos grasos insaturados, desde hace tiempo se les han atribuido efectos de reducción en los niveles de lípidos plasmáticos (Cicerale, Lucas & Keast, 2010; Iacono, Dougherty & Puska, 1982; Saravana *et al.*, 2010).

Otro parámetro analizado fué la PCR, el cual es un marcador de inflamación y daño tisular. A diferencia de los humanos la PCR en ratas normotensas se encuentran en altas concentraciones en suero (200 a 600 $\mu\text{g/mL}$) y se puede ver aumentada hasta 100 veces durante infecciones, así

mismo es 300 veces más elevada que la PCR en humanos (Taylor *et al.*, 1984). La PCR disminuye la producción de ON endotelial e indirectamente puede promover la vasoconstricción, adhesión de leucocitos, activación de plaquetas, oxidación y trombosis; también se ha relacionado con efecto proaterogénicos por el incremento de la expresión del receptor de la angiotensina I, afectando el sistema renina angiotensina y contribuyendo a la patogénesis de la hipertensión (Maslova *et al.*, 2005; Ruiz de Gordo *et al.*, 1994).

Los niveles de PCR sérica no presentaron variaciones entre los grupos, ni a lo largo del estudio.

Acorde con los resultados de este estudio en la literatura revisada, no se encontraron estudios en donde relacionen los valores de proteína C reactiva e hipertensión en modelo L-NAME, en este estudio se aportan los primeros valores sobre el efecto de L-NAME en los niveles de PCR.

En contraste con lo reportado por Vuksan *et al.* (2007) en el presente estudio no existió disminución de la PCR en el grupo del extracto metanólico de chía, se podría deducir que existen otros compuestos que no están presentes en el EMSSH los responsables del efecto observado por estos autores ó incluso también se pudiera atribuir esta falta de efecto a la concentración y/o biodisponibilidad de los compuestos del EMSSH.

El efecto del captopril en la reducción de los niveles de PCR fue diferente a lo que se ha reportado. En el 2006, Prasad *et al.* (2006) en una revisión sobre el efecto de diversos fármacos en la reducción de la PCR, en donde describen el efecto de algunos inhibidores de la ECA I en la disminución de los valores de PCR en pacientes con procesos inflamatorios como diabetes, aterosclerosis, daño cardiaco, entre otras. Sin embargo señalan que el efecto del captopril es menor en comparación con otros inhibidores como es el fosinopril, esto pudiese explicar la falta de efecto del captopril en la disminución de los valores de PCR.

8.3.2.4. Efecto del EMSSH en el urianálisis

En el campo clínico las tiras reactivas de urianálisis son instrumentos básicos de gran utilidad para diagnóstico parcial ya que permiten la

obtención de resultados de manera inmediata que pueden indicar diversas afecciones. Las muestras de orina son como biopsias líquidas de los tejidos de las vías urinarias y su análisis es imprescindible ya que con frecuencia un padecimiento renal es detectado inicialmente por esta forma. Los resultados obtenidos con las tiras reactivas proporcionan datos referentes al metabolismo de carbohidratos, función hepática y en especial función renal, así como balance ácido-base e infecciones de vías urinarias (Medina *et al.*, 2005; Ruíz Reyes, 2004).

En cuanto a la presencia de proteínas, normalmente no deben de ser excretados más de 150 mg de proteína en 24 horas, la presencia de proteínas en la orina se debe a un aumento de la permeabilidad glomerular, y a una alteración de la reabsorción tubular, o una combinación de ambos. Sin embargo, existen reportes de proteinuria transitoria que puede ser causada por: fallo cardiaco congestivo, deshidratación, estrés emocional, ejercicio, fiebre, proteinuria ortostática y convulsiones (Simerville, Maxted y Pahira, 2005). En el presente estudio se pudiera atribuir el efecto al estrés que se presentó en las ratas al iniciar su manipulación tanto el cambio de cama a la jaula como la toma de presión. Sin embargo, al finalizar el estudio en los grupos 1 y 2 este efecto se revirtió, pudiendo ser en parte por la adaptación a las condiciones ó en el caso del grupo 2 podría ser también por un efecto protector, se ha comprobado que disminuye el daño renal en ratas con hipertensión (Ashab *et al.*, 1995), también se ha demostrado que reduce la proteinuria en pacientes con nefropatía diabética retardando la aparición de Glomérulo esclerosis al reducir la presión arteriolar sin modificar el flujo sanguíneo (Hommel *et al.*, 1986).

La persistencia en la detección de proteínas en la orina de los grupos 3 y 4 pudiera deberse a las alteraciones provocadas por el L-NAME, evidenciando daño renal en estos grupos. De esta manera se pudiese decir que el EMSSH no generó un daño adicional al ocasionado por el reactivo L-NAME.

Otra variable del urianálisis con cambios durante el estudio fue la presencia de cuerpos cetónicos en el grupo 2 (Captopril) al finalizar el estudio, sin embargo este resultado no se tomó en cuenta ya que el

proveedor revela en sus especificaciones que el captopril puede generar falsos positivos en esta prueba por la presencia de grupos sulfhidrilo,

Los niveles de glucosa, urobilinógeno, nitritos, bilirrubina, densidad, pH no muestran diferencias al finalizar el estudio. En resumen no existen cambios significativos en el análisis de la función renal que evidencien daño renal ocasionado por el EMSSH.

8.3.2.5. Efecto del EMSSH en las enzimas hepáticas

Cuando se estudian las propiedades medicinales de algunas plantas así como acción la farmacológica de diversos compuestos naturales aislados de las plantas es necesario comprobar que no se genera un daño toxico en las células y en algunos órganos como el hígado en donde principalmente se metabolizan estos compuestos. Las enzimas como la ALT, AST y LDH son indicadores de daño tisular y hepático y por ello se utilizan para analizar la función hepática tras administrar un compuesto ó un extracto en modelos de animales. El daño hepatocelular tanto agudo como crónico suele asociarse frecuentemente con la elevación de estas enzimas, dicha elevación puede expresarse desde un aumento en la permeabilidad de la membrana celular del hepatocito hasta una necrosis celular masiva (Fuster, 2006).

La ALT es la prueba más específica del daño hepático a nivel citoplasmático, su máxima actividad se manifiesta en el hígado, ya que fuera de éste su concentración es más baja (Fuster, 2006; Prieto Valdueña, 2006; Ruiz Reyes, 2004).

Como se observa en la Figura 27, los niveles de ALT se elevaron tanto en el grupo 2 (Captopril) como en el grupo del EMSSH, sin embargo, el aumento en el grupo de captopril fue significativamente mayor en comparación con el grupo sano, control con L-NAME y del EMSSH. Este resultado demuestra uno de los efectos secundarios del uso del captopril y que ha sido reportado por algunos autores como daño hepático (Bellary, Issacs & Scott, 1989; Hagley, Hullisz & Burns, 1993).

La AST está presente en hígado a nivel citosólico (20%) y mitocondrial (80%), y la concentración más alta es en la zona 3 del lobulillo hepático, por lo que, un daño en dicha zona, generalmente isquémico ó tóxico, puede

resultar en una gran elevación en los niveles de AST (Fuster, 2006). Para diagnóstico de enfermedades hepáticas puede considerarse a la ALT como una prueba más específica, mientras que la AST resulta más sensible, siendo de utilidad en enfermedades crónicas o infiltrativas (Ruiz Reyes, 2004).

El origen hepático de un aumento de AST debe confirmarse por medición de ALT. La elevación de dichas transaminasas se correlaciona con la infiltración del contenido enzimático de los hepatocitos afectados en la sangre (Prieto Valdueña, 2006).

En la figura 27 podemos observar los valores finales de AST en los diferentes grupos, nuestros datos arrojaron resultados que no son significativamente diferentes entre sí, sin embargo en los tres grupos se observó un aumento después del tratamiento, un tanto menor en el grupo del EMSSH. Aunque este valor no representó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, existe la posibilidad de un efecto hepatoprotector del EMSSH sin embargo, se necesitarían realizar otro tipo de evaluaciones histopatológicas para confirmar dicho efecto. El efecto protector se podría atribuir a la riqueza de compuestos antioxidantes como son los compuestos fenólicos presentes en el extracto metanólico reportado por Taga, Miller y Pratt (1984) y confirmado en este trabajo. Los antioxidantes evitan que se produzcan daños tisulares por radicales libres, al reducir su formación o eliminarlos una vez originados (Young & Woodside, 2001). Existen reportes de compuestos fenólicos que ejercen una acción protectora ante el daño ocasionado por fármacos, tal es el caso de una planta del género *Salvia*, la *Salvia miltiorrhiza* que demostró tener un efecto benéfico sobre el daño por la peroxidación en los microsomas de los hepatocitos así como en los eritrocitos (Liu *et al.*, 1992).

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) está presente en múltiples tejidos orgánicos se libera al plasma como consecuencia de la destrucción celular (fisiológica o patológica), es un marcador de destrucción celular sensible aunque poco específico. Sin embargo, es útil cuando se eleva y se mantiene alta de igual forma que las transaminasas en la hepatitis isquémica (Prieto Valdueña, 2006).

En este estudio el análisis de la LDH se muestra en la figura 28 en la cual podemos observar el cambio que se presentó en los diferentes grupos durante el estudio, es notable el incremento en los grupos tratados con L-NAME, no obstante el grupo sano también aumentó al doble sus valores iniciales al finalizar el estudio.

En el hígado el ON está involucrado en el control del tono vascular y en la citoprotección, por lo tanto, cambios en los niveles de producción de ON han sido implicados en alteraciones celulares (incluyendo la citotoxicidad) asociadas a patologías como la hipertensión portal sistémica, shock hemorrágico, isquemia y reperfusión, tumores hepáticos, cirrosis y daños causados por las toxinas (Muriel, 2000; Tarsitano *et al.*, 2007; Kaplowitz, 2000).

Tarsitano *et al.*(2007) han reportado que existe una evidente hipertrofia y fibrosis en el hígado inclusive de manera similar a lo que se observa en otros órganos como corazón, cerebro y riñón tras la inhibición crónica del ON a una dosis de 20 mg/kg/d en un período de 8 semanas. Además, evaluaron el efecto de dos inhibidores de la ECA el losartán y enalapril sobre los daños hepáticos producidos en este modelo encontrando que no hubo alteraciones hepáticas ya que fueron reprimidas por dichos fármacos y su acción se la atribuyen al incremento de la actividad del SRA y su capacidad de proteger contra los daños morfológicos en el tejido cardíaco y renal.

Aún con estos estudios, podemos observar claramente que el fármaco L-NAME no fue el único potenciador de esta respuesta si no que probablemente existan otros factores que alteraron estos valores como el tiempo de procesamiento de la muestra, ya que el retraso en la centrifugación también produce un aumento de la hemólisis en las muestras provocando falsos positivos, es decir hemólisis mínimas pueden mostrar niveles falsamente altos de LDH (Greer *et al.*, 2009; Prieto Valdueña, 2006). Lo que podríamos concluir de este análisis de la función hepática es lo siguiente:

- El EMSSH no generó un aumento mayor a los grupos control y por el contrario el captopril muestra algo de evidencia de daño. Los valores para AST y LDH mostraron discrepancias, sin embargo en los dos casos los valores del grupo EMSSH siempre fueron un tanto menores

a los demás grupos. Se requieren más estudios de tipo histológico para demostrar el efecto hepatoprotector del EMSSH, no obstante, se pudiese deducir con los resultados presentados que el extracto no causó alteraciones en la función hepática.

9. CONCLUSIONES

Elaboración de extractos y análisis fitoquímico

- El rendimiento fue diferentes en los extractos, el mayor rendimientos se obtuvo para el hexánico con 23.86% de peso seco y el de menor rendimiento fue el extracto acuoso.
- El estudio fitoquímico reveló que el extracto metanólico fue el que contiene mayor número de familias de compuestos principalmente glucósidos, terpenoides, fenoles, insaturaciones, coumarinas y grupos carbonilo.
- Los extractos hexánico y acetónico dieron positivo en las mismas pruebas coloridas del análisis fitoquímico.
- En el extracto acuoso se detectó la presencia de azúcares.

Evaluación del efecto de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I *in vitro*

- Los extractos de semillas de *Salvia hispanica* L. inhiben la ECA. A mayor polaridad de los extractos mayor actividad de IECA, en el siguiente orden de mayor a menor IECA: Metanólico > Acetónico > Hexánico>Acuoso.
- El extracto metanólico obtuvo el mejor IC50 en las pruebas de IECA *in vitro* y su efecto es directamente proporcional a la concentración.
- De las 7 particiones del extracto la 4ª partición (insoluble en acetona), tiene mayor actividad anti-ECA. Se logró obtener en esta fracción compuestos más puros con presencia de glucósidos de terpenos y glucósidos unidos a compuestos fenólicos principalmente con un Rf de 0.50.

- El efecto IECA del extracto metanólico disminuye tras su partición, se deduce que existe un evidente efecto sinérgico entre los compuestos del extracto metanólico en la IECA I.

Evaluación del efecto hipotensor *in vivo*

- Con el modelo L-NAME se ocasiona hipertensión en menor tiempo a ratas mediante un procedimiento práctico y con baja mortalidad.
- El extracto metanólico presentó un efecto hipotensor en una dosis de 400 mg/kg/d en ratas hipertensas L-NAME,
- No se encontró ningún efecto en los niveles de colesterol total, triglicéridos, colesterol LDL y proteína C reactiva tras la administración del extracto metanólico en las ratas hipertensas.
- No hay evidencia de que el EMSSH ocasionó un daño hepático-tisular.
- El urianálisis no muestra efecto tóxico por la administración del EMSSH a la dosis que se probó.
- El EMSSH demostró tener efecto de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina *in vitro* y efecto hipotensor *in vivo* en un modelo de ratas hipertensas L-NAME.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abdelzaher, E., AbdelReheem Otman, I., Abdel-Halim Hassan, M., Abdelhameed, A., Kamal D. (2010). Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors, peroxisome proliferators activated receptor- α and γ agonists, and statins on a rat model of hypertension. *Bull. Alex. Fac. Med*, 46(3):231-45.

Abdulazeez, A.M., Awasum, C.A., Dogo, Y.S., Abiayi PN. (2010). Effect of *Peristrophe bicalyculata* on blood pressure, kidney and liver functions of two kidney one Clip (2K1C) hypertensive rats. *Br. J. Pharm. Toxicol*, 1(2): 101-107.

Ackerman, Z., Oron-Herman, M., Grozovski, M., Pappo, O., Link, G., Sela, B., (2005). Fructose-induced fatty liver disease hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension*, 45:1012-1018.

Adinstruments (2011) Técnica para medición de la presión arterial por método no invasivo en ratas. Consultado en enero, 2011 a partir de www.adinstruments.com/products/software/chart.php

Ardakani, F.E., Karbasi, M.H., Vahidi, A., Mirjalili, N., Eslampour, N. (2009). Effects of chitosan and salvadora pérsica on blood lipids in the Wistar rat. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 17:2, 95-102.

Arenas, R., Pachón, E., Méndez, G., Guzmán, A. (2009). Estudio del efecto inhibitorio de extractos de *Salvia scutellarioides* sobre la actividad de la enzima convertidora de angiotensina. *Universitas Scientiarum*, 14(2-3): 141-150.

Ariyoshi, Y. (1993). Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 4:139–144.

Arnal, J.F., Warin, L., Michel, J.B. (1992). Determinants of aortic cyclic guanosine monophosphate in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase. *J Clin Invest*, 90(2):647-52.

Acharya, K.R., Sturrock, E.D., Riordan, J.F., Ehlers, M.R. (2003). ACE revisited: a new target for structure-based drug design. *Nature Rev. Drug Discovery*, 2, 891–902.

Ashab, I., Peer, G., Blum, M., Wollman, Y., Chernihovsky, T., Hassner, A., Schwartz, D., Cabili, S., Silverberg, D., Iaina, A. (1995). Oral administration of L-arginine and captopril in rats prevents chronic renal failure by nitric oxide production. *Kidney Int*, 47(6):1515-21.

Atkinson, A.B., Robertson, J.I.S. (1979). Captopril in the treatment of clinical Hypertension and cardiac failure. *Lancet* 2, 836-839.

Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(9) 971-1090.

Ayerza, R. (2000). Chía a new source of omega-3 fatty acids: from research to commercialization. Annual Meeting of the 95 Association for the Advancement of Industrial Crops, Saint Louis, Missouri, U.S.A.

Ayerza, R. & Coates, W. (2004). Protein and oil content, peroxide index and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Tropical Science*. 3, 131-135.

Ayerza, R. & Coates, W. (2005). Chia: Rediscovering a forgotten crop of the aztecs. Tucson: The University of Arizona Press. pp. 98-100.

Ayerza, R. & Coates, W. (2005b). Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutr Res* 25, 995–1003.

Ayerza, R. & Coates, W. (2006) Semillas de Chía: nueva fuente natural de ácidos grasos omega-3, antioxidantes y fibra dietética. Southwest Center for Natural Products Research & Commercialization. Office of Arid Lands Studies, University of Arizona. Revisado en Marzo, 2010 a partir de <http://www.eatchia.com/chiasourcesp.htm>.

Ayerza, R. (2009). The seed's protein and oil content, fatty acid composition, and growing cycle length of a single genotype of Chia (*Salvia hispanica* L.) as affected by environmental factors. *Journal of the Oleo Science*. 58(7) 347-354.

Baez, G. (2007). Determinación del efecto antiinflamatorio de los extractos hexánicos, etanólicos y clorofórmicos de las plantas medicinales: *Bursera aloexylon*, *Amphyteryngium adstringens*, *Tilia mexicana*, *Verbascum thapsus*, *Rosmarindus officinalis*, *Salvia hispanica*, *Aloe vera*, *Opuntia ficus-indica* en un modelo animal. Tesis de maestría. Universidad de las Americas Puebla, México.

Baltar, M.J., Marín, I.R., Álvarez, G.J. (2004). Toxicidad Fetal de los Fármacos Antihipertensivos. *Hipertensión* 21(9) 455-465.

Barbosa-Filho, J.M., Martins, V., Rabelo, L., Moura, M., Silva, M., Cunha, E., Souza, M., Almeida, R., Medeiros, I. (2006). Natural products inhibitors of the angiotensin converting enzyme (ACE): a review between 1980 - 2000. *Rev. bras. Farmacogn*, 16(3):421-446.

Basu, A. & Lucas, E.A..(2007). Mechanisms and effects of green tea on cardiovascular health. *Nutr Rev*, 65(8 Pt1): 361-75.

Bellary, S.V., Isaacs, P.E.T., Scott, A.W.M. (1989). Captopril and the liver. *Lancet*, 2:514.

Beldent, V., Michaud, A., Wei, L., Chauvet, M.T., Corvol, P. (1993). Proteolytic release of human angiotensin converting enzyme: localization of the cleavage site. *Journal of Biological Chemistry*. 268: 26428–26434.

Bellisle, R., Diplock, A.T., Hornstra, G. (1998). Functional food science in Europe. *British Journal of Nutrition* 80(1) S3–193.

Beltrán-Orozco, M.C. & Romero, M.R. (2003). La Chía, alimento milenario. *Industria Alimentaria*. Septiembre/octubre: 20-29.

Benavides, A., Hernández, R.E., Ramírez, H., Sandoval, A. (2010). Tratado de botánica económica moderna. Universidad Agraria Antonio Narro.

Revisado en Marzo, 2010 a partir:

<http://www.uaaan.mx/DGA/public/BotanicaEcon2010.pdf>.

Bénéteau-Burnat, B. & Baudin, B. (1991). Angiotensin-converting enzyme: clinical applications and laboratory investigations on serum and other biological fluids. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 28(5-6):337-56.

Bernátová, I., Pechánová, O., Babál, P., Kyselá, S., Stvrtina, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 282(3):H942-8.

Bhoola, K.D., Figueroa, C.D., Worthy, K. (1992) Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. *Pharmacological Reviews*, 44(1) 1-80.

Biancardi, V.C., Bergamaschi, C.T., Lopes, O.U., Campos, R.R. (2007). Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. *Braz J Med Biol Res*, 40(3):401-8.

Bos, C., Juillet, B., Fouillet, H., Turlan, H., Daré, S., Luengo, C., N'tounda, R. (2005). Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81:87–94.

Brown, J.N. & Vaughan, E.D. (1998). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation* 97, 1411-1420.

Burnier, M. & Biollaz, J. (1992). Pharmacokinetic optimisation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor therapy. *Clinical Pharmacokinetics*; 22: 375-84.

Bushway, A.A., Wilson, A.M., Houston, L., Bushway, R.J. (1984). Selected properties of the lipid and protein fractions from Chia seed. *Journal of Food Science*, 49:555-557.

Biosystems, 2011. Técnicas para la determinación de colesterol total, triglicéridos y colesterol LDL. Consultado en marzo, 2011 a partir de <http://www.biosystems.es/>.

Cárdenas, M. & Carrillo, C. (2006). Hipertensión arterial sistémica, diagnóstico, prevención y tratamiento. Boletín de práctica médica efectiva. Instituto Nacional de Salud Pública y la Secretaría de Salud. pp. 1-6.

Castañeda, N. (2010) Propiedades medicinales de la chía (*Salvia hispanica* L.), y entrevista a la curandera Adelina López Terán, de Progreso, Morelos, México. Tlahui-Medic No. 29,I.

Chang, N.C., Lai, Z.Y., Chan, P., Wang, T.C. (1997). Left ventricular filling profiles in young white-coat hypertensive patients without hypertrophy. *Hypertension*. 30 (2): 746-752.

Chen, Q., Xuan, G., Mingliang, F., He, G., Wang, W., Zhang, H., Ruan, H. (2007). Effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from rice dregs protein on antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16 (1):281-285.

Chen, Z.Y., Peng, C., Jiao, R., Wong, Y.M., Yang, N., Huang, Y. (2009). Anti-hypertensive nutraceuticals and functional foods. *J Agric Food Chem*, 10;57(11):4485-99.

Cheung, I.W., Nakayama, S., Hsu, M.N., Samaranayaka, A.G., Chan, E.C. (2009). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of hydrolysates from oat (*avena sativa*) proteins by *in silico* and *in vitro* analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 9234–9242.

Chicco, A.G., D'Alessandro, M.E., Hein, G.J., Oliva, M.E., Lombardo, Y.B. (2009). Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in α -linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *British Journal of Nutrition*. 101, 41–50.

Chobanian, A.V., Bakris, G.L., Black, H.R., Cushman, W.C., Green, L.A., Izzo, J.L., Jones, D.W., Materson, B.J., Oparil, S., Wright, J.T., Rocella, E.J. (2004). Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure . *Hypertension*. 42: 1206-52.

Cicerale, S., Lucas, L., Keast, R. (2010). Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. *Int J Mol Sci*, 2;11(2):458-79.

Cirilo, B. (2003). Determinación bioquímica, reductora ponderal y supresora de apetito de *smilax moranwnsis* Martens & Galeotti y *centaurium quítense* (Kunth) B.L. Robinson. Tesis doctorado en ciencias biológicas con especialidad en productos naturales. Universidad Autónoma de Nuevo León.

Cobas (2011) Técnica de urianálisis por tiras reactivas. Consultado en abril, 2011 a partir de <http://cobas.com/Products/Pages/UrineTestStrips.aspx>.

Cole, J., Quach, D.L., Sundaram, K., Corvol, P., Capecchi, M.R., Bernstein, K.E. (2006). Mice lacking endothelial angiotensin-converting enzyme have a normal blood pressure. *Circulation Research*. 90:87-92.

Collins, R., Peto, R., MacMahon, S., Hebert P., Fiebach, N.H., Eberlein, K.A., Godwin, J., Qizilbash, N., Taylor, J.O., Hennekens, C.H. (1990). Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet*. 335(8693):827-38.

Conlin, P.R. (2001). Efficacy and safety of angiotensin receptor blockers: A review of Losartan in essentials hypertension. *Current Therapeutic Research*. 62: 79–91.

Cooper, W.O. (2008) Clinical implications of increased congenital malformations after first trimester exposures to angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 23(1):20-4.

Craig, W.J. (1997). Phytochemicals: guardians of our health. *Journal of American Dietetic Association*, 97(1):199S–204S.

Cushman, D.W. & Cheung, H.S. (1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, 20, 1637–1648.

Dai, S. & McNeill, JH. (1995). Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. *J Pharmacol Toxicol Meth*, 33:101-107.

Deszi, L. (2000) Fibrinolytic actions of ACE inhibitors: a significant plus beyond antihypertensive therapeutic effects. *Cardiovascular Research*. 47: 42–644.

Guzmán, F.J. (2011, Septiembre). Sinergias entre metformina y espironolactona sobre la histología, citocinas proinflamatorias, marcadores de estrés oxidativo y de daño celular tras un evento de isquemia/reperfusión instentinal. Póster expuesto en Congreso de Investigación Nacional en Medicina, Monterrey, N.L.

Di Saprio, O., Bueno, M., Busilacchi, H., Severin, C. (2008). Chía: importante antioxidante vegetal. Publicación cuatrimestral de la Facultad de Ciencias Agrarias UNR. ISSN: 16698584.

Diebolt, M., Bucher, B., Andriantsitohaina, R. (2001). Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasodilatation, and induce gene expression. *Hypertension*, 38(2): 159-65.

Doggrell, S.A. & Brown, L. (1998). Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res.*, 39(1):89-105.

Domínguez, X.A. (1979). *Métodos de Investigación Fitoquímica*, Limusa, México, pp.13-16.

Dussaule, J.C., Mitchel, J.B., Auzan, C., Schwartz, K., Corvol, P., Menard, J. (1986). Effect of antihypertensive treatment on the left ventricular isomyosin profile in one clip, two kidney hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 236:512-518.

Ehlers, R.W. & Riordan, J.F. (1989). Angiotensin-converting enzyme: new concepts concerning its biological role. *Biochemistry*, 28: 5311–5318.

Farris, E.J. & Griffith, J.Q. (1996). *The rat in laboratory investigation*. 2ed., Hafner Publishing Company. New York. United States of America.

FitzGerald, R., Murray, B.A, Walsh, D.J. (2004). Hypotensive peptides from milk proteins. *Journal of Nutrition*, 134: 980S–988S.

Fujita, H. & Yoshikawa, M. (1999). LKPNM: a prodrug-type ACE-inhibitory peptide derived from fish protein. *Immunopharmacology* 44, 123–127.

Fuster, F. (2006). Transaminasas elevadas ¿Qué hacer?. *Gastr Latinoam*, 17 (2): 265-269.

García, S. (1992). Estudio químico de *Cnidoscopus urens*. Tesis de maestría, ITESM, Monterrey, Dic, 1992.

Geerlings, A., Villar, I., Zarco, H., Sánchez, M., Vera, R., Gomez, A., Boza, J., Duarte, J. (2006). Identification and characterization of novel Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors obtained from goat milk. *Journal of Dairy Science* 89:3326–3335.

Greer, J.P., Forester, J., Rodgers, G.M., Paraskevas, B., Glader, D.A., Arder, R.T. (2009). *Wintrobe's clinical hematology*. Filadelfia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.

Hagley, M.T., Hullisz, D.T., Burns, C.M. (1993). Hepatotoxicity associated with angiotensin converting enzyme inhibitors. *Ann Pharmacoth*, 27:228-231.

Hommel, E., Parving, H.H., Mathiesen, E., Edsberg, B., Damkjaer Nielsen, M., Giese, J. (1986). Effect of captopril on kidney function in insulin-dependent diabetic patients with nephropathy. *BMJ*, 293:467-470.

Hansen, K., Nyman, U., Smit, U.W. *et al.* (1995). In vitro screening of traditional medicines for anti-hypertensive effect based on inhibition of the angiotensin converting enzyme (ACE). *J Ethnopharmacol*, 48: 43-51.

He, J., Whelton, P.K., Appel, L.J., Charleston, J., Klag, M.J. (2000). Long-term effects of weight loss and dietary sodium reduction on incidence of hypertension. *Hypertension*, 35:544-549

Husain, A. (1993) The chymase-angiotensin system in humans. *Journal of Hypertension*. 11: 1155–1159.

Iacono, J.M., Dougherty, R.M., Puska, P. (1982). Reduction of blood pressure associated with dietary polyunsaturated fat. *Hypertension*, 4:III134-III142.

Inagami, T. (1992) The renin-angiotensin system. *Essays Biochem*. 28: 147–164.

Ishikawa-Takata, K., Ohta, T., Tanaka, H. (2003). How much exercise is required to reduce blood pressure in essential hypertensives: a dose-response study. *American Journal of Hypertension*, 16: 629–633.

Jain, P.G., Patil, S.D., Haswani, N.G., Girase, M.V., Surana, S.J. (2010). Hypolipidemic activity of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, on high fat diet induced hyperlipidemia in albino rats. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 20(6): 969-973.

Johnson, R.J., Herrera, J., Schreiner, G.F., Rodríguez, B. (2002). Mechanisms of Disease: subtle acquired renal injury as a mechanism of salt-sensitive hypertension. *New England Journal of Medicine*. 346: 913-23.

Jover, B., Mimran, A. (2001). Nitric oxide inhibition and renal alterations. *J Cardiovasc Pharmacol*, 38 (Suppl 2):S65–S70.

Jung, K.Y., Song, T.C., Daeseok, H., Kim, I.H., Kim, Y.E., Lee, C.H. (2005). Cardiovascular protective properties of kiwifruit extracts in vitro. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(9) 1782—1785.

Kang, D.G., Oh, H., Chung, H.T., Lee, H.S. (2003). Inhibition of angiotensin converting enzyme by lithospermic acid B isolated from *Radix Salviae miltiorrhiza* Bunge. *Phytother Res*, 17(8):917-20.

Kapoor, P., Nazam, M., Bhandari, U. (2008). Modulatory effect of curcumin on methionine-induced hyperlipidemia and hyperhomocysteinemia in albino rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 46:534-540.

Kaushik, J.K. & Bhat, R. (2003). Why is trehalos an exceptional protein stabilizer? An analysis of the thermal stability of proteins in the presence of the compatible osmolyte trehalose. *Journal of Food Chemistry*. 278:26458-26465.

Kelley, G.A. & Kelley, K.S. (2000). Progressive resistance exercise and resting blood pressure. *Hypertension* 35:838-843.

Kestin, M., Moss, R., Clifton, P.M., Nestel, P.J. (1990). Comparative effects of three cereal brans on plasma lipids, blood pressure, and glucose metabolism in mildly hypercholesterolemic men. *American Journal of Clinical Nutrition*. 52:661– 6.

Lahlou, M. (2003). Biological and pharmacological approaches to the screening and evaluation of natural products. *Therapie*, 58(6):535-9.

Lavoie, J.L., Sigmund, C.D. (2003). Minireview: overview of the renin-angiotensin system—an endocrine and paracrine system. *Endocrinology*, 144(6) 2179-2183.

Lee, A.S. (2009). The Effects of *Salvia hispanica* L. (Salba) on postprandial glycemia and subjective appetite. Thesis M.Sc. University of Toronto, Canada.

Lees, K.R., Macfadyen, R.J., Doig, J.K., Reid, J.L. (1993). Role of angiotensin in the extravascular system. *Journal of Human Hypertension*, 7 (2): S7-S12.

Lever, A.F., Hole, D.J., Gillis, C.R., McInnes, G.T., Meredith, P.A., Murray, L.S., Reid, J.L. (1999). Is cancer related to hypertension or to its treatment? clinical and experimental *Hypertension*, 21(5-6), 937-946.

Li, G.H., Qu, M.R., Wan, J.Z., You, J.M. (2007). Antihypertensive effect of rice protein hydrolysate with in vitro angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in spontaneously hypertensive rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16 (1):275-280.

Lindpaintner, K. & Ganten, D. (1991). Tissue renin-angiotensin systems and their modulation: the heart as a paradigm for new aspects of converting enzyme inhibition. *Cardiology*, 79(1)32-44.

Liu, J.C., Hsu, F.L., Tsai, J.C., Chan, P., Liu, J.Y., Thomas, G.N., Tomlinson, B., Lo, M.Y., Lin, J.Y. (2003). Antihypertensive effects of tannins isolated from traditional Chinese herbs as non-specific inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Life Sci.*73(12): 1543-55.}

Liu, G.T., Zhang, T.M., Wang, B.E., Wang, Y.W. (1992). Protective action of seven natural phenolic compounds against peroxidative damage to biomembranes. *Biochem Pharmacol*, 22;43(2):147-52.

Martínez, S., González, J., Culebras, J., Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, XVII (6): 271-278.

Maslova, M.N., Khama-Murad, A.L., Kazennov, A.M., Kislyakova, L.P., Tavrovskaya, T.V., Bartitenko, N.N. (2005). Changes of Functional and Biochemical Blood Parameters in Wistar Rats and in Spontaneously Hypertensive Rats of the SHR Line during Short-Term and Long Treadmill Running. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 41(2):162-168.

Matsubara, T., Bohgaki, T., Watarai, M., Suzuki, H., Ohashi, K., Shibuya, H. (1999). Antihypertensive actions of methylripariochromene A from *Orthosiphon aristatus*, an Indonesian traditional medicinal plant. *Biol Pharm Bull* 22: 1083-1088.

Matsui, T., Hayashi, A., Tamaya, K., Matsumoto, K., Kawasaki, T., Murakami, K., Kimoto, K.I. (2003). Depression effect induced by dipeptide, val-tyr, in hypertensive transgenic mice is due, in part, to the suppression of human

circulating renin-Angiotensina system. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 30, 262-265.

Morigiwa, A., Kitabatake, K., Fujimoto, Y., Ikekawa, N. (1986). Angiotensin converting enzyme-inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Chem Pharm Bull*, 34(7):3025-8.

Medina, J.L. (2007). Aplicaciones exitosas del diseño de fármaco utilizando métodos computacionales. *Revista Ciencia*, Enero-Marzo. 1-8.

Medina, M., Villanueva, S., Gala, E., Larrocha, M., Medina, C. (2005). Comparación entre las lecturas de las tiras de orina Combur10testM y Multistix10SG. *Bioquímica*, 30(3):76-81.

Meyer, A. (1998). The 1998 top 100 R&D survey. *Food Process* 58: 32–40.

Miguel, M., López-Fandiño, R., Ramos, M., Aleixandre, A. (2005). Short-term effect of egg-white hydrolysate products on the arterial blood pressure of hypertensive rats. *Br J Nutr*, 94(5):731-7.

Millipore (2011). Técnica para determinación de proteína C reactiva con un kit de ELISA. Consultado en abril, 2011 a partir de:

[http://www.novaseptic.ch/userguides.nsf/a73664f9f981af8c852569b9005b4ee/921e803d2c82578985257641001d9ab9/\\$FILE/CYT294.pdf](http://www.novaseptic.ch/userguides.nsf/a73664f9f981af8c852569b9005b4ee/921e803d2c82578985257641001d9ab9/$FILE/CYT294.pdf)

Monroy, R., Mancilla, M.L., Gallaga, J.C., Medina, S., Santiago, E.J. (2008). Protein Digestibility of chia seed *Salvia hispanica L.* *Revista Salud Publica y Nutrición*, 9(1).

Muriel, P. (2000). Regulation of nitric oxide synthesis in the liver. *J Appl Toxicol*, 20:89–195.

Nakaya, Y., Ishimura, N., Takishita, E., Takahashi, A. (2002). Chronic feeding of a nitric oxide synthase inhibitor induces postprandial hypertriglyceridemia in type 2 diabetic model rats, Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats, but not in nondiabetic rats. *Metabolism*, 51(6):702-7.

Navarro, J., Sanchez, A., Sáiz, J., Ruilope, L.M., García-Estañ, J., Romero, J.C., Moncada, S., Lahera, V. (1994). Hormonal, renal, and metabolic alterations during hypertension induced by chronic inhibition of NO in rats. *Am J Physiol*, 267(6 Pt2):R1516-21.

Natesh, R., Schwager, S.L., Sturrock, E.D., Acharya, K.R. (2003). Crystal structure of the human angiotensin converting enzyme-lisinopril complex. *Nature*, 412:551-554.

Neal, B., MacMahon, S., Chapman, N. (2000). Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs. *Lancet*, 356:1955-1964.

Nguelefack-Mbuyo, E.P., Dimo, T., Nguelefack, T.B., Dongmo, A.B., Kamtchouing, P., Kamanyi, A. (2010). Renal effects of *Mammea africana* Sabine (Guttiferae) stem bark methanol/methylene chloride extract on L-NAME hypertensive rats. *Indian J Pharmacol*, 42(4):208-13.

Ogawa, A., Suzuki, Y., Aoyama, T., Takeuchi, H. (2009). Dietary alpha-linolenic acid inhibits angiotensin-converting enzyme activity and mRNA expression levels in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *J Oleo Sci*, 58(7):355-60.

Oliveri, C., Ocaranza, M.P., Campos, X., Lavandero, S., Jalil, J. (2001). Angiotensin I-converting enzyme modulates neutral endopeptidase activity in the rat. *Hypertension*; 38: 650–654.

Olivos, B.L., Valdivia, M.A., Tecante, A. (2009). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.) *Food Science and Technology International* (00):0001-0008.

Olszanecki, R., Bujack-Gizycka, B., Madej, J., Suski, M., Wolkow, P.P., Jawien, J., Korbut, R. (2008). Kaempferol, but not resveratrol inhibits angiotensin converting enzyme. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59 (2):387-392.

Ondetti, M.A., Rubin, B., Cushman, D.W. (1977). Design of Specific Inhibitors of Angiotensina I-Converting Enzyme: New Class of Orally Active Antihypertensive Agents. *Science*, 196: 441-444.

Ong, H. (2009). Are angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers especially useful for cardiovascular protection? *Journal of the American Board of Family Medicine*, 22:686–697.

Orthoclinical, 2011. Técnica para determinación de ALT, AST y LDH. Consultado en abril, 2011 a partir de <http://www.orthoclinical.com/en-gb/productInformation/clinicallaboratories/VitrosDT60/Pages/Overview.aspx>.

Oudit, G.Y., Crackower, M.A., Backx, P.H., Penninger, J.M. (2003). The role of ACE2 in cardiovascular physiology. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 3:93-101.

Pan, L. & Gross, K.W. (2005). Transcriptional regulation of renin. *Hypertension*, 5; 45:3.

Parris, N., Moreau, R.A., Johnston, D.B., Dickey, L.C., Aluko, R.E. (2008). Angiotensin I converting enzyme-inhibitory peptides from commercial wet- and dry-milled corn germ. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2620–2623.

Potter, J.D. & Steinmetz, K. (1996). Vegetables, fruit and phytoestrogens as preventive agents. *IARC Scientific Publications*. 139:61–90.

Prasad, K. (2006) C-reactive protein (CRP)-lowering agents. *Cardiovasc Drug Rev*, 24(1):33-50.

Prieto Valdueña, J. M. (2006). *La clínica y el laboratorio: Interpretación de análisis y pruebas funcionales, exploración de síndromes y cuadro bilógico de las enfermedades*. Barcelona, España: Masson.

Quiros, A., Ramos, M., Muguera, B., Delgado, M.A., Miguel, M., Alexandre, A., Recio, I. (2007). Identification of novel antihypertensive peptides in milk fermented with *Enterococcus faecalis* *International Dairy Journal*, 17,33–41.

Ramírez, J., Palacios, M., Gutiérrez, O. (2006). Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. *Biomédica*; 26: 145-9.

Reyes, E., Tecante, A., Valdivia, M.A. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry*, 107(2):656-663.

Ribeiro, M.O., Antunes, E., de Nucci, G., Lovisolo, S.M., Zatz, R. (1992). Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension*.20(3):298-303.

Richardson, D.P. (2003). Improving health by exploiting bioactivity of European grains: Health grain. *Nutrition Bulletin* 31 (2):145-149.

Riordan, J.F. (2003). Angiotensin-I-converting enzyme and its relatives. *Genome Biol*, 4, 225.

Roberfroid, M.B. (2000) Concepts and strategy of functional food science: the European perspective *American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1660S-1664.

Roccella, E.J. & Kaplan, N.M. (2003). Interpretation and evaluation of clinical guidelines. In: Izzo JL Jr, Black HR, eds. Hypertension Primer. Dallas, TX: American Heart Association.126: 126-7.

Rojas, R., Palma, O., Quintana, I. (2006) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Ed: Olaiz G, Rivera J, Shamah T, Rojas R, Villalpando S, Hernández M, Sepulveda J. Instituto Nacional de Salud Pública. México pp. 80-82.

Rojas, J., Ronceros, S., Palomino, R., Tomás, G., Chenguayen, J. (2006). Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Pasiflora edulis* (maracuyá), en ratas. *An Fac Med*. 2006; 67 (3): 206-213.

Rufian-Henares, J.A., Morales, F.J. (2007). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21;55(4):1480-5.

Ruiz de Gordo, J.C., Santafé, J., Segarra Domenech, J., Santisteban, A. (1994). Modification of rat plasma lipoproteins induced by acute immobilization stress. *Psychosom Med*, 56(6):486-92.

Ruiz Reyes, G. (2004). *Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio*. México: Medica Panamericana.

Sacks, F.M., Obarzanek, E., Windhauser, M.M., Svetkey, L.P., Vommer, W.M., McCulloch, M., Karanja, N., Lin, P.H., Steele, P., Praschem, M.A., Evans, M., Appel, L.J., Bray, G.A., Voght, T., Moore, M.D. (1995). Rationale and design of the Dietary Approaches to Stop Hypertension trial (DASH). A multicenter controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. *Annals of Epidemiology* 5:108 –18.

Sacks, F.M., Svetkey, L.P., Vollmer, W.M., Appel, L.J., Bray, G.A., Harsha, D., Obarnek, E., Conlin, P.R., Miller, E.R., Simons-Morton, D.G., Karanja, N., Lin, P.H. (2001). Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. *New England Journal of Medicine*, 344:3-10.

Salgado, M.P., Cedillo, D., Beltrán, M.C. (2005). Estudio de las Propiedades Funcionales de la Semilla de Chía (*Salvia hispánica*) y de la Fibra Dietaria Obtenida de la Misma. Memorias del VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y Tercer Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Gto. Pág. 358-366.

Saltzman, E.A., Lichtenstein, A.H., Das, S.K., Corrales, A., Schaefer, E.J., Greenberg, A.S., Roberts, S.B., Dallal, G.E. (2001). An oat-containing hypocaloric diet reduces systolic blood pressure and improves lipid profile beyond effects of weight loss in men and women. *Journal of Nutrition*, 131:1465– 70.

Sánchez, D., Somoza, B., Ortega, T., Villar, A.M. (1996). Isolation of vasodilatory active flavonoids from the traditional remedy *Satureja obovata*. *Planta Med*, 62: 272-274.

Saravana, M., Kumar, S., Raja, B. (2010). Antihyperlipidemic effect of borneol on L-NAME induced hypertensive rats. *Journal of Pharmacy Research*, 3(10):2362-2365.

Schrör, K. (1992). Role of prostaglandins in the cardiovascular effects of bradykinin and angiotensin converting enzyme inhibitors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 20: 568–573.

Schulz, H., Dale, G.E., Karami-Nejad, Y. (2008). Structure of human Endothelin-converting Enzyme I Complexed with Phosphoramidon. *Journal of Molecular Biology*, 10:052.

Schwagar, S.L.U., Sturrock, E.D., Acharya, K.R. (2003). Crystal structure of the human angiotensin converting enzyme lisopril complex. *Leters to nature*, 421:551-554.

Scow, T.D, Smith, G.E., Shaughnessy, F.A. (2003). Combination therapy with ACE inhibitors and angiotensin-receptor blockers in heart failure. *Clinical Pharmacology*, 68(9), 1795-1798.

Seppo, L., Jauhiainen, T., Poussa, T., Korpela, R. (2003). A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure–lowering effect in hypertensive subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*; 77:326–30.

Sekiguchi, F., Yamamoto, K., Matsuda, K., Kawata, K., Negishi, M., Shinomiya, K., Shimamura, K., Sunano, S. (2002). Endothelium-dependent relaxation in pulmonary arteries of L-NAME-treated Wistar and stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Smooth Muscle Res*, 38(4-5):131-44.

Simerville, J.A., Maxted, W.C., Pahira, J.J. (2005). Urinalysis: a comprehensive review: *Am Fam Physician*, 71:1153-1162.

Simon, C., Barethieu, K., Laguerre, M., Schmitter, J., Fouquet, E., Pianet, I., Dufourc, E.J. (2003). Three-dimensional structure and dynamic of wine tannin-saliva protein complexes. A multitechnique approach. *Biochemistry*, 42; 10385-10395.

Somova, L., Nadar, A., Rammanan, P., Shode, F. (2003). Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. *Phytomedicine*; 10 (2): 115-121.

Sturrock, E.D., Natesh, R., Van Rooyen, J.M., Acharya, K.R. (2004). Structure of angiotensin I converting enzyme. *Cellular and Molecular Life Sciences* 61: 2677-2686.

Swain, J.F., Rouse, I.L., Curley, C.B., Sacks, F.M. (1990) Comparison of the effects of oat bran and low-fiber wheat on serum lipoprotein levels and blood pressure. *New England Journal of Medicine*, 322:147–52.

Taga, M.S., Miller, E.E., Pratt, D.E. (1984) Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61, 928–932.

Tarsitano, C.A., Paffaro, V.A. Jr., Pauli, J.R., da Silva, G.H., Saad, M.J., Salgado, I., da Cruz-Höfling, M.A., Hyslop, S.(2007). Hepatic morphological alterations, glycogen content and cytochrome P450 activities in rats treated chronically with N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME). *Cell Tissue Res*, 329(1):45-58.

Taylor, J.A., Bruton, C.J., Anderson, J.K., Mole, J.E., De Beer, F.C., Baltz, M.L., Pepys, M.B. (1984). Amino acid sequence homology between rat and human C-reactive protein. *Biochem J*, 1;221(3):903-6.

Taylor, J.L.S., Rabe, T., McGaw, L.J., Jager, A.K., van Staden, J. (2001). Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. *Biomedical and Life Sciences*, 34: 23-37.

Timmermans, P.B., Wong, P.C., Chiu, A.T., Herblin, W.F., Benfield, P., Carini, D.J., Lee, R.J., Wexler, R.R., Saye, J.A., Smith, R.D. (1993). Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacological Reviews* 45: 205-251.

Topçu, G. (2006). Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. *Journal of Natural Products*, 69(3):482-7.

Torres, L. (2002). Evaluación del efecto antihipertensivo del extracto N-butanólico de ramas de *Tristerix (Phrygilanthus) tetrandus* en ratas con hipertensión inducida con LNAME. Tesis, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.

Tovar, E.G., Guerrero, I., Farrés, A., Soriano, J. (2009) Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptide fractions from albumin 1 and globulin as obtained of amaranth grain. *Food Chemistry*, 116 (2) 437-444.

Turner, A.J. & Hooper, N.M. (2002) The angiotensin-converting enzyme gene family; genomics and pharmacology. *Trends in Pharmacological Science*, 23: 177–183. 33.

Udenigwe, C.C. & Aluko, R.E. (2010). Antioxidant and angiotensin converting enzyme-inhibitory properties of a flaxseed protein-derived high fischer ratio peptide mixture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (8) 4762–4768.

Unger, T. (2002). New options in the drug treatment of hypertension: claim and reality. *Dtsch Med Wochenschr.*, 127(45):2404-6.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference (2010a) Disponible en línea <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Revisión en línea Marzo, 2010.

USDA, (2010b.) Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Salvia hispanica* L. Plants Database. Disponible en: <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=SAH16&display=31>. Revisión en línea Marzo, 2010.

Urata, H., Kinoshita, A., Misono, K.S., Bumpus, F.M., Husain, A.(1990). Identification of a highly specific chymase as the major angiotensin II-forming enzyme in the human heart. *Journal of Biological Chemistry*, 265:22348–22357.

Vázquez, V.A., Cruz, A.N.M., Vázquez, C.A., Millán, P.A. (1998). Inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina en el tratamiento de la hipertensión arterial. *Revista Cubana de Farmacología*, 32(3), 204-210.

Villard, E. & Soubrier, F. (1996). Molecular biology and genetics of the angiotensin-I-converting enzyme: potential implications in cardiovascular diseases. *Cardiovascular Research*, 32. 999–1007.

Vijaya, C., Ramanathan, M., Suresh, B. (2009). Lipid lowering activity of ethanolic extract of leaves of *Aegle marmelos* (Linn.) in hyperlipidaemic models of wistar albino rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47:182-185.

Vollmer, W.M., Sacks, F.M., Ard, J., Appel, L.J., Bray, G.A., Simons-Morton, D., Conlin, P.R., Svetkey, L.P., Erlinger, T.P, Moore, T.J., Karanja N. (2001). Effects of diet and sodium intake on blood pressure. Subgroup Analysis of the DASH-Sodium Trial. *Annals of Internal Medicine*,135:1019-1028.

Vuksan, V., Whitham, D., Sievenpiper, J.L., Jenkins, A.L., Rogovik, A.L., Bazinet, R.P., Vidgen, E., Hanna, A. (2007). Supplementation of conventional therapy with the novel grain Salba (*Salvia hispanica L.*) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 30, 2804–2810.

Weber, C.W., Gentry, H.S., Kohlhepp, E.A., McCrohan, P.R. (1991). The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. *Ecology of Food and Nutrition*, 26:119-125.

Weber, M. A. (2001) Vasopeptidase inhibitors. *The Lancet* 358: 1525– 1532.

Whelton, S.P., Chin, A., Xin, X., He, J. (2002). Effect of aerobic exercise on blood pressure. *Annals of Internal Medicine* 136:493-503.

Wohlfart, P., Dedio, J., Wirth, K., Schölkens, B.A., Wiemer, G. (1997). Different B1 kinin receptor expression and pharmacology in endothelial cells of different origins and species. *Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics* 280: 1109–1116.

Yang, H.Y.T., Erdös, E.G., Levin, Y. (1970). A dipeptidyl carboxypeptidase that converts angiotensin I and inactivates bradykinin. *Biochimica et biophysica acta* 214: 374–376.

Young, I.S. & Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in health disease. *J Clin Pathol*, 54:176-85.

Yusuf, S., Vaz, M., Pais, P. (2004). Tackling the challenge of cardiovascular disease burden in developing countries. *American Heart Journal*. 148(1):1-4.

Zeglin, M.A., Pacos, J., Bisognano, J.D. (2009). Hypertension in the very elderly: Brief review of management. *Cardiology Journal*, 16 (4):379-85.

11. ANEXOS

ANEXO 1. TÉCNICAS DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

Los principios de las técnicas se explican a continuación

Triglicéridos

La prueba consiste en el método de glicerol fosfato oxidasa/peroxidasa, en donde los triglicéridos presentes en la muestra originan un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

Colesterol Total

El colesterol se determinó por medio de un kit comercial de Biosystem el cuál se basa en el método de colesterol oxidasa/peroxidasa, en el cual colesterol libre y el esterificado presente en la muestra originan un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

Colesterol LDL

Este método consiste en la reacción de un detergente específico que solubiliza el colesterol de las proteínas de alta densidad (HDL), las de muy baja densidad (VLDL) y los quilomicrones. Los ésteres de colesterol reaccionan por acción de la enzima colesterol esterasa y la colesterol oxidasa mediante una reacción no formadora de color. El segundo detergente, presente en el reactivo B, solubiliza el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) de la muestra. El colesterol LDL se cuantifica espectrofotométricamente.

Proteína C reactiva

El principio consiste en estándares, controles y muestras de suero los cuales son incubados en pocillos de microtitulación recubiertas con anticuerpos policlonales de PCR. Después se hace un lavado a fondo, los anticuerpos anti PCR rata marcados con la peroxidasa de rábano picante (PRP) se añaden a los pocillos y se incuban con el complejo de anticuerpos inmovilizados-PCR. Tras otro paso de lavado el anticuerpo conjugado PRP se deja que reaccione con el sustrato y la tetrametilbenzidina. La reacción se detiene mediante la adición de una solución ácida y finalmente la absorción del producto de color amarillo resultante se mide espectrofotométricamente a 450 nm. La absorbancia es proporcional a la concentración de PCR. Se

realizó una curva de calibración con la absorbancia frente a las concentraciones de la PCR de los estándares y en base a esta curva estándar se determinaron las concentraciones de las muestras.

ANEXO 2. TÉCNICAS DE LAS ENZIMAS HEPÁTICAS

El fundamento de la LDH se basa en la reacción de lactato deshidrogenasa (LD o LDH) que cataliza la reducción del piruvato por NADH, obteniéndose lactato y NAD⁺. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de desaparición del NADH, medido a 340 nm.

La aspartato aminotransferasa (AST) es una de varias enzimas que catalizan el intercambio de grupos amino y oxoentre alfa-aminoácidos y alfa-oxoácidos. Está ampliamente distribuida en los tejidos corporales con una cantidad significativa en corazón e hígado. El daño a estos tejidos da por resultado una liberación de la enzima AST a la circulación general. El principio se basa en la reacción de AST la cual cataliza la transferencia del grupo amino aspartato a 2-oxoglutarato para producir oxalacetato y glutamato. El oxalacetato formado en la primera reacción va a reaccionar con el NADH en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) para formar NAD. La actividad de AST se determina midiendo el valor total de oxidación del NADH a 340 nm.

La alanino aminotransferasa (ALT) se encuentra distribuida ampliamente en tejidos, con concentraciones más altas en hígado y riñones. La ALT se considera más específica para hígado que la AST. Niveles elevados de ALT son comúnmente observados en enfermedades del hígado tales como cirrosis, hepatitis, o carcinoma metastático. La reacción del fundamento se basa en la transferencia del grupo amino de L-alanina a 2-oxoglutarato produciendo piruvato y L-glutamato. La lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la reducción de piruvato y la oxidación simultanea de NADH a NAD. La relación resultante de la reducción en absorbancia es directamente proporcional a la actividad de ALT.

ANEXO 3. PRINCIPIOS DE LAS TÉCNICAS DE URIANÁLISIS

Principios de las pruebas:

Glucosa: La detección se efectúa según el método específico de la glucosa-oxidasa-peroxidasa. Esta prueba reacciona independientemente del pH y de la densidad de la orina y no es perturbado por cuerpos cetónicos. La influencia del ácido ascórbico queda casi eliminada, de manera que con concentraciones de glucosa a partir de 100 mg/dL (5,5 mmol/L) no son de esperar resultados de pruebas falsos negativos, aunque las concentraciones de ácido ascórbico sean altas.

Bilirrubina: La detección se basa en el acoplamiento de una sal de diazonio con bilirrubina para formar un colorante azoico. Incluso los matices más leves de rosa se deben de considerarse positivo y con ello como patológicos. El rango de colores va desde amarillo claro a marrón rojizo.

Cuerpos cetónicos: Esta prueba se basa en el principio de la prueba de Legal y reacciona más intensamente al ácido acetilacético que a la acetona. Las fenilcetonas y los compuestos de ftaleína crean en la zona reactiva matices de color rojo, que sin embargo, se diferencian manifiestamente de los colores violeta producidos por cuerpos cetónicos. El captopril, Mesna (mercapto-2-etanosulfonato de sodio) y otras sustancias conteniendo grupos sulfhidrilo pueden ser causa de reacciones falsas positivas.

Densidad: La prueba registra la concentración iónica de la orina. SE basa en la liberación de protones por un formador de complejos en presencia de cationes. Esto causa un viraje de color del indicador azul de bromotimol, de azul hacia amarillo, pasando por el verde azulado. Para valores de pH de 7 o más s debe de aumentar el resultado del ensayo en 0.05. Pequeñas cantidades de proteína (100-500 mg/dL) y las orinas cetoacidóticas pueden llevar a falsos resultados positivos.

Sangre: La hemoglobina, respectivamente la mioglobina, cataliza la oxidación del indicador por el hidróxido orgánico contenido en el papel reactivo. Puntos verdes aislados hasta acumulados en la zona reactiva indican eritrocitos intactos. La hemoglobina así como los eritrocitos hemolizados o la mioglobina son indicados por una coloración verde homogénea de la zona reactiva.

pH: Esta prueba es específica para la detección de iones de hidronio, siendo el valor pH el logaritmo decimal negativo de la concentración de iones de hidronio. El papel reactivo contiene los indicadores rojo de metilo, fenoftaleína y azul de bromotimol.

Proteínas: Se basa en el principio de error de proteico de indicadores de pH y reacciona de manera especialmente sensible a la albúmina. La quinina, quinidina, cloroquinina y tolbutamida así como un elevado valor de pH (de hasta 9) no ejercen influencia alguna sobre la prueba. Se pueden obtener resultados falsos positivos después de infusiones con polivinilpirrolidona (sucedáneo de sangre) o causados por residuos de desinfectantes con grupos amonio cuaternarios o con clorhexidina en el recipiente de la orina.

Urobilinógeno: Una sal de diazonio estable produce con el urobilinógeno, casi instantáneamente, un colorante azoico rojo. Se considera normal que en la zona reactiva no se produzca coloración alguna o que los colores que aparecen sean más claros que los observados con 1 mg/dL (17 μ mol/L). La prueba es específica para el urobilinógeno y no está sometido a las conocidas perturbaciones de la prueba según Erlich. Grandes cantidades de bilirrubina producen una coloración amarilla inmediata y pueden conducir al cabo de aprox. 60 segundos a una coloración amarilla más o menos intensa.

Nitritos: Los agentes patógenos más frecuentemente causantes de las infecciones de las vías urinarias, *E.coli* y la mayoría de los gérmenes patógenos urinarios, transforman el nitrato absorbido con la alimentación en nitrito. Este es detectado por una coloración del rosa al rojo de la zona reactiva. De este modo se realiza una detección indirecta de gérmenes formadores de nitrito en la orina. Incluso una leve coloración rosa indica una bacteriuria significativa.

Leucocitos: Esta técnica comprueba la actividad esterásica de granulocitos. Estas enzimas desdoblan un éster de indoxilo a indoxilo, que reacciona con una sal de diazonio formando un colorante violeta. Se detectan leucocitos intactos y también los lisados. Los colores de reacción que al cabo de 60 segundos no pueden ser asignados de modo inequívoco al resultado negativo o aproximadamente 10-25 leucocitos/ μ L de orina, generalmente pueden ser evaluados más fácilmente a los 120 segundos. Las bacterias, tricomonas y eritrocitos presentes en orina no reaccionan con la prueba. El

formaldehído y la medicación con imipenem, meropenem y ácido clavulánico como principios activos pueden conducir a reacciones falsas positivas. En muestras intensamente coloreadas (por bilirrubina o nitrofurantoína) se produce una superposición del color inherente y el de la reacción. Las concentraciones de proteína superiores a 500 mg/dL y las de la glucosa superiores a 1g/dL pueden producir un color de reacción más débil, así como la medicación con altas dosis de diarias de cefalexina y gentamicina.

ANEXO 4. COMPOSICIÓN DEL ALIMENTO PARA LAS RATAS

El alimento está compuesto por trigo molido, maíz molido, acemite de trigo, harina de soya, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, levadura de cerveza deshidratada, sal yodatada, L-lisina, DL metionina, cloruro de colina, caolín, complejo de bisulfito sódico de menadiona (fuente de vitamina K, funcional), óxido de magnesio, acetato de vitamina E, pantotenato de calcio, mononitrato de tiamina, óxido de manganeso, niacina, sulfato ferroso, óxido de zinc, riblofavina, acetato de vitamina E, pantotenato de calcio, mononitrato de tiamina, óxido de tiamina, óxido de manganeso, niacina, sulfatp ferroso, óxido de zinc, riboflavina, acetato de vitamina A, clorhidrato de piridoxina, sulfato de cobre, suplemento de vitaminade B12, ácido fólico, yodato de calcio, biotina, suplemento de vitamina D, carbonato de cobalto.

ANEXO 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

• PRESION SEMANA 1

Descriptivos

Presión semana1

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	100.26	15.270	5.771	86.14	114.38	69	116
GRUPO CONTROL	7	98.40	5.862	2.216	92.98	103.82	88	106
CAPTOPRIL	7	98.40	5.862	2.216	92.98	103.82	88	106
GRUPO EXPERIMENTAL	8	100.14	7.832	2.769	93.59	106.69	89	113
CHIA	8	100.14	7.832	2.769	93.59	106.69	89	113
GRUPO CONTROL HIPERTENSION	8	102.52	8.269	2.924	95.61	109.44	95	119
Total	30	100.40	9.428	1.721	96.88	103.92	69	119

ANOVA

Presión semana1

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	64.734	3	21.578	.223	.879
Intra-grupos	2513.218	26	96.662		
Total	2577.952	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Presión semana 1
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	1.857	5.255	.985	-12.56	16.27
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	.120	5.088	1.000	-13.84	14.08
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	-2.265	5.088	.970	-16.22	11.69
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	-1.857	5.255	.985	-16.27	12.56
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-1.738	5.088	.986	-15.70	12.22
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	-4.123	5.088	.849	-18.08	9.84
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	-.120	5.088	1.000	-14.08	13.84
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	1.738	5.088	.986	-12.22	15.70
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	-2.385	4.916	.962	-15.87	11.10
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	GRUPO 1 SANO	2.265	5.088	.970	-11.69	16.22
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	4.123	5.088	.849	-9.84	18.08
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	2.385	4.916	.962	-11.10	15.87

Presión semana 1

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	98.40
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	100.14
GRUPO 1 SANO	7	100.26
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	102.52
Sig.		.849

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

• **PRESIÓN SEMANA 2**

Descriptivos

Presión semana 2

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	98.5714	9.04686	3.41939	90.2045	106.9384	89.60	116.10
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	158.0429	19.37858	7.32442	140.1207	175.9651	136.60	191.40
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	155.7750	13.70764	4.84638	144.3151	167.2349	141.90	176.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	157.7875	18.66528	6.59917	142.1829	173.3921	134.20	189.80
Total	30	143.4933	29.33002	5.35491	132.5413	154.4453	89.60	191.40

ANOVA

Semana 2

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	18448.963	3	6149.654	24.605	.000
Intra-grupos	6498.295	26	249.934		
Total	24947.259	29			

Presión Semana 2

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		2	1
GRUPO 1 SANO	7	98.5714	
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8		155.7750
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8		157.7875
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7		158.0429
Sig.		1.000	.992

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

Presión semana 2

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	98.5714	9.04686	3.41939	90.2045	106.9384	89.60	116.10
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	158.0429	19.37858	7.32442	140.1207	175.9651	136.60	191.40
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	155.7750	13.70764	4.84638	144.3151	167.2349	141.90	176.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	157.7875	18.66528	6.59917	142.1829	173.3921	134.20	189.80
Total	30	143.4933	29.33002	5.35491	132.5413	154.4453	89.60	191.40

• PRESIÓN SEMANA 3

Descriptivos

Presión semana 3

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	95.6714	10.53766	3.98286	85.9257	105.4171	80.60	110.10
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	98.9286	20.43247	7.72275	80.0317	117.8255	74.40	138.40
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	138.5625	20.98305	7.41863	121.0202	156.1048	118.80	184.80
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	172.5625	18.01776	6.37024	157.4993	187.6257	151.50	199.90
Total	30	128.3733	36.45145	6.65509	114.7621	141.9845	74.40	199.90

ANOVA

Presión semana 3

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	30006.873	3	10002.291	30.503	.000
Intra-grupos	8525.666	26	327.910		
Total	38532.539	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Presión2
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	-3.25714	9.67929	.987	-29.8105	23.2962
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-42.89107(*)	9.37193	.001	-68.6013	-17.1809
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-76.89107(*)	9.37193	.000	-102.6013	-51.1809
	GRUPO 1 SANO	2	3.25714	9.67929	.987	-23.2962	29.8105
GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-39.63393(*)	9.37193	.001	-65.3441	-13.9237
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-73.63393(*)	9.37193	.000	-99.3441	-47.9237
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	3	42.89107(*)	9.37193	.001	17.1809	68.6013
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	39.63393(*)	9.37193	.001	13.9237	65.3441
GRUPO CONTROL HIPERTENSION	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	4	-34.00000(*)	9.05415	.005	-58.8384	-9.1616
	GRUPO 1 SANO	4	76.89107(*)	9.37193	.000	51.1809	102.6013
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	73.63393(*)	9.37193	.000	47.9237	99.3441
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	34.00000(*)	9.05415	.005	9.1616	58.8384

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Presión semana 3

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
GRUPO 1 SANO	7	95.6714		
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	98.9286		
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8		138.5625	
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8			172.5625
Sig.		.985	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

• PRESION SEMANA 4

Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	104.9571	10.60092	4.00677	95.1529	114.7614	88.90	123.10
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	110.6714	23.90277	9.03440	88.5651	132.7778	76.10	152.70
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	153.6375	24.18677	8.55131	133.4169	173.8581	120.80	187.10
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	174.4000	14.75292	5.21594	162.0663	186.7337	155.40	193.10
Total	30	137.7900	34.81292	6.35594	124.7906	150.7894	76.10	193.10

ANOVA

Presión semana 4

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	25425.377	3	8475.126	22.668	.000
Intra-grupos	9720.870	26	373.880		
Total	35146.247	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Presión semana 4
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	-5.71429	10.33551	.945	-34.0679	22.6393
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-48.68036(*)	10.00731	.000	-76.1336	-21.2271
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-69.44286(*)	10.00731	.000	-96.8961	-41.9896
GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2 GRUPO 1 SANO		5.71429	10.33551	.945	-22.6393	34.0679
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-42.96607(*)	10.00731	.001	-70.4193	-15.5128
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-63.72857(*)	10.00731	.000	-91.1818	-36.2753
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3 GRUPO 1 SANO		48.68036(*)	10.00731	.000	21.2271	76.1336
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	42.96607(*)	10.00731	.001	15.5128	70.4193
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-20.76250	9.66798	.165	-47.2849	5.7599
GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4 GRUPO 1 SANO		69.44286(*)	10.00731	.000	41.9896	96.8961
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	63.72857(*)	10.00731	.000	36.2753	91.1818
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	20.76250	9.66798	.165	-5.7599	47.2849

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Presión semana 4

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1	2
GRUPO 1 SANO	7	104.9571	
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	110.6714	
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8		153.6375
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8		174.4000
Sig.		.940	.188

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

• **PRESION SEMANA 5**

Descriptivos

Presión semana 5

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	107.9429	12.07627	4.56440	96.7742	119.1115	93.50	129.80
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	97.1857	22.05126	8.33459	76.7917	117.5797	65.50	138.40
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	129.7625	19.85375	7.01936	113.1644	146.3606	105.90	167.10
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	197.9250	27.07301	9.57175	175.2914	220.5586	158.60	231.30
Total	30	135.2467	44.99446	8.21483	118.4455	152.0479	65.50	231.30

ANOVA

Presión semana 5

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	47028.135	3	15676.045	34.888	.000
Intra-grupos	11682.399	26	449.323		
Total	58710.535	29			

Presión semana 5

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	97.1857		
GRUPO 1 SANO	7	107.9429	107.9429	
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8		129.7625	
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8			197.9250
Sig.		.762	.218	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Presión semana 5
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	10.75714	11.33040	.779	-20.3258	41.8401
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-21.81964	10.97061	.218	-51.9155	8.2763
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-89.98214(*)	10.97061	.000	120.0780	-59.8862
GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	2	-10.75714	11.33040	.779	-41.8401	20.3258
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-32.57679(*)	10.97061	.030	-62.6727	-2.4809
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-100.73929(*)	10.97061	.000	130.8352	-70.6434
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	3	21.81964	10.97061	.218	-8.2763	51.9155
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	32.57679(*)	10.97061	.030	2.4809	62.6727
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-68.16250(*)	10.59862	.000	-97.2379	-39.0871
GRUPO CONTROL HIPERTENSION	GRUPO 1 SANO	4	89.98214(*)	10.97061	.000	59.8862	120.0780
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	100.73929(*)	10.97061	.000	70.6434	130.8352
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	68.16250(*)	10.59862	.000	39.0871	97.2379

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

- **PRESIÓN SEMANA 6**

Descriptivos

Presión semana 6

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	103.2286	8.55896	3.23498	95.3129	111.1443	95.80	119.20
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	111.9571	12.36647	4.67409	100.5201	123.3942	94.70	125.10
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	143.1125	10.80852	3.82139	134.0764	152.1486	124.60	156.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	203.0625	17.60032	6.22265	188.3483	217.7767	186.50	229.80
Total	30	142.5233	41.94190	7.65751	126.8620	158.1847	94.70	229.80

ANOVA

Presión semana 6

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	46671.295	3	15557.098	93.129	.000
Intra-grupos	4343.279	26	167.049		
Total	51014.574	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Presión semana 6
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	-8.72857	6.90857	.594	-27.6810	10.2238
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-39.88393(*)	6.68919	.000	-58.2345	-21.5333
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-99.83393(*)	6.68919	.000	-118.1845	-81.4833
GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2 GRUPO 1 SANO		8.72857	6.90857	.594	-10.2238	27.6810
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	-31.15536(*)	6.68919	.000	-49.5060	-12.8048
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-91.10536(*)	6.68919	.000	-109.4560	-72.7548
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3 GRUPO 1 SANO		39.88393(*)	6.68919	.000	21.5333	58.2345
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	31.15536(*)	6.68919	.000	12.8048	49.5060
	GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4	-59.95000(*)	6.46238	.000	-77.6784	-42.2216
GRUPO CONTROL HIPERTENSION	4 GRUPO 1 SANO		99.83393(*)	6.68919	.000	81.4833	118.1845
	GRUPO CONTROL CAPTOPRIL	2	91.10536(*)	6.68919	.000	72.7548	109.4560
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	3	59.95000(*)	6.46238	.000	42.2216	77.6784

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Presión semana 6

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
GRUPO 1 SANO	7	103.2286		
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	111.9571		
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8		143.1125	
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8			203.0625
Sig.		.568	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

- **Peso**

Descriptivos

Peso semana1

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
SANO	7	239.59	21.775	8.230	219.45	259.72	*	*
Control captopril	7	230.03	15.542	5.875	215.65	244.40	*	*
Experimental extracto chíá	8	235.04	21.179	7.488	217.33	252.74	*	*
Control hipertensión	8	247.81	18.988	6.713	231.94	263.69	*	*
Total	30	238.34	19.702	3.597	230.98	245.69	*	*

ANOVA

Peso semana1

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1299.499	3	433.166	1.131	.355
Intra-grupos	9957.930	26	382.997		
Total	11257.430	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Peso semana1

HSD de Tukey

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
SANO	Control captopril	9.557	10.461	.798	-19.14	38.25
	Experimental extracto chíá	4.548	10.129	.969	-23.24	32.33
	Control hipertensión	-8.227	10.129	.848	-36.01	19.56
Control captopril	SANO	-9.557	10.461	.798	-38.25	19.14
	Experimental extracto chíá	-5.009	10.129	.960	-32.79	22.78
	Control hipertensión	-17.784	10.129	.317	-45.57	10.00
Experimental extracto chíá	SANO	-4.548	10.129	.969	-32.33	23.24
	Control captopril	5.009	10.129	.960	-22.78	32.79
	Control hipertensión	-12.775	9.785	.568	-39.62	14.07
Control hipertensión	SANO	8.227	10.129	.848	-19.56	36.01
	Control captopril	17.784	10.129	.317	-10.00	45.57
	Experimental extracto chíá	12.775	9.785	.568	-14.07	39.62

Peso semana 1

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
Control captopril	7	230.03
Experimental extracto chía	8	235.04
SANO	7	239.59
Control hipertensión	8	247.81
Sig.		.317

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

Semana2

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
SANO	7	255.0714	15.64073	5.91164	240.6062	269.5367	238.00	285.70
Control captopril	7	233.4000	22.34457	8.44546	212.7347	254.0653	200.00	260.70
Experimental extracto chía	8	237.8125	20.39373	7.21027	220.7629	254.8621	213.00	265.50
Control hipertensión	8	253.0250	21.04918	7.44201	235.4274	270.6226	224.20	287.20
Total	30	244.8667	21.21823	3.87390	236.9436	252.7897	200.00	287.20

ANOVA

Peso semana 2

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2579.909	3	859.970	2.134	.120
Intra-grupos	10476.278	26	402.934		
Total	13056.187	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Peso semana 2
HSD de Tukey

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
SANO	Control captopril	21.67143	10.72958	.207	-7.7632	51.1061
	Experimental extracto chía	17.25893	10.38887	.364	-11.2411	45.7589
	Control hipertensión	2.04643	10.38887	.997	-26.4536	30.5464
Control captopril	SANO	-21.67143	10.72958	.207	-51.1061	7.7632
	Experimental extracto chía	-4.41250	10.38887	.974	-32.9125	24.0875
	Control hipertensión	-19.62500	10.38887	.257	-48.1250	8.8750
Experimental extracto chía	SANO	-17.25893	10.38887	.364	-45.7589	11.2411
	Control captopril	4.41250	10.38887	.974	-24.0875	32.9125
	Control hipertensión	-15.21250	10.03661	.443	-42.7461	12.3211
Control hipertensión	SANO	-2.04643	10.38887	.997	-30.5464	26.4536
	Control captopril	19.62500	10.38887	.257	-8.8750	48.1250
	Experimental extracto chía	15.21250	10.03661	.443	-12.3211	42.7461

Peso semana2

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
Control captopril	7	233.4000
Experimental extracto chía	8	237.8125
Control hipertensión	8	253.0250
SANO	7	255.0714
Sig.		.184

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

- **Peso semana 3**

Descriptivos

Semana3

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
SANO	7	261.6714	18.74742	7.08586	244.3330	279.0099	240.30	297.40
Control captopril	7	233.2714	26.38786	9.97367	208.8667	257.6761	189.80	265.10
Experimental extracto chíá	8	243.0125	17.45848	6.17250	228.4168	257.6082	219.00	266.60
Control hipertensión	8	253.8000	24.53150	8.67319	233.2912	274.3088	224.90	295.70
Total	30	247.9700	23.43577	4.27877	239.2189	256.7211	189.80	297.40

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Peso semana 3
HSD de Tukey

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
SANO	Control captopril	28.40000	11.78230	.100	-3.9226	60.7226
	Experimental extracto chíá	18.65893	11.40816	.377	-12.6373	49.9552
	Control hipertensión	7.87143	11.40816	.900	-23.4248	39.1677
Control captopril	SANO	-28.40000	11.78230	.100	-60.7226	3.9226
	Experimental extracto chíá	-9.74107	11.40816	.828	-41.0373	21.5552
	Control hipertensión	-20.52857	11.40816	.296	-51.8248	10.7677
Experimental extracto chíá	SANO	-18.65893	11.40816	.377	-49.9552	12.6373
	Control captopril	9.74107	11.40816	.828	-21.5552	41.0373
	Control hipertensión	-10.78750	11.02133	.763	-41.0225	19.4475
Control hipertensión	SANO	-7.87143	11.40816	.900	-39.1677	23.4248
	Control captopril	20.52857	11.40816	.296	-10.7677	51.8248
	Experimental extracto chíá	10.78750	11.02133	.763	-19.4475	41.0225

Peso semana 3

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
Control captopril	7	233.2714
Experimental extracto chía	8	243.0125
Control hipertensión	8	253.8000
SANO	7	261.6714
Sig.		.085

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

- **Peso semana 4**

Descriptivos

Peso semana 4

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
SANO	7	267.8429	22.30955	8.43222	247.2100	288.4758	238.50	305.20
Control captopril	7	238.0429	26.78239	10.12279	213.2733	262.8124	198.40	276.00
Experimental extracto chía	8	241.7875	14.19864	5.01998	229.9171	253.6579	222.50	259.00
Control hipertensión	8	254.0500	23.62317	8.35205	234.3005	273.7995	228.50	293.30
Total	30	250.2633	23.85715	4.35570	241.3549	259.1717	198.40	305.20

ANOVA

Peso semana4

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3898.087	3	1299.362	2.680	.068
Intra-grupos	12607.663	26	484.910		
Total	16505.750	29			

Peso semana 4

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Semana4
HSD de Tukey

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
SANO	Control captopril	29.80000	11.77055	.078	-2.4904	62.0904
	Experimental extracto chía	26.05536	11.39678	.127	-5.2097	57.3204
	Control hipertensión	13.79286	11.39678	.626	-17.4722	45.0579
Control captopril	SANO	-29.80000	11.77055	.078	-62.0904	2.4904
	Experimental extracto chía	-3.74464	11.39678	.987	-35.0097	27.5204
	Control hipertensión	-16.00714	11.39678	.508	-47.2722	15.2579
Experimental extracto chía	SANO	-26.05536	11.39678	.127	-57.3204	5.2097
	Control captopril	3.74464	11.39678	.987	-27.5204	35.0097
	Control hipertensión	-12.26250	11.01034	.684	-42.4674	17.9424
Control hipertensión	SANO	-13.79286	11.39678	.626	-45.0579	17.4722
	Control captopril	16.00714	11.39678	.508	-15.2579	47.2722
	Experimental extracto chía	12.26250	11.01034	.684	-17.9424	42.4674

Peso semana 4

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
Control captopril	7	238.0429
Experimental extracto chía	8	241.7875
Control hipertensión	8	254.0500
SANO	7	267.8429
Sig.		.066

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

Peso semana5

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
SANO	7	270.0571	22.54247	8.52025	249.2088	290.9054	242.60	310.10
Control captopril	7	238.7571	20.09095	7.59366	220.1761	257.3382	219.00	267.40
Experimental extracto chíá	8	229.1625	16.80493	5.94144	215.1132	243.2118	204.50	247.10
Control hipertensión	8	259.5875	25.26525	8.93261	238.4652	280.7098	232.00	302.00
Total	30	249.0567	26.12908	4.77050	239.2999	258.8134	204.50	310.10

ANOVA

Peso semana 5

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	7883.112	3	2627.704	5.733	.004
Intra-grupos	11916.022	26	458.309		
Total	19799.134	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Peso semana 5

HSD de Tukey

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
SANO	Control captopril	31.30000	11.44313	.051	-.0922	62.6922
	Experimental extracto chíá	40.89464(*)	11.07977	.005	10.4993	71.2900
	Control hipertensión	10.46964	11.07977	.781	-19.9257	40.8650
Control captopril	SANO	-31.30000	11.44313	.051	-62.6922	.0922
	Experimental extracto chíá	9.59464	11.07977	.822	-20.8007	39.9900
	Control hipertensión	-20.83036	11.07977	.261	-51.2257	9.5650
Experimental extracto chíá	SANO	-40.89464(*)	11.07977	.005	-71.2900	-10.4993
	Control captopril	-9.59464	11.07977	.822	-39.9900	20.8007
	Control hipertensión	-30.42500(*)	10.70407	.040	-59.7897	-1.0603
Control hipertensión	SANO	-10.46964	11.07977	.781	-40.8650	19.9257
	Control captopril	20.83036	11.07977	.261	-9.5650	51.2257
	Experimental extracto chíá	30.42500(*)	10.70407	.040	1.0603	59.7897

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Semana5

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
Experimental extracto chía	8	229.1625		
Control captopril	7	238.7571	238.7571	
Control hipertensión	8		259.5875	259.5875
SANO	7			270.0571
Sig.		.822	.261	.781

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

Peso Semana 6

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
SANO	7	276.1286	23.03893	8.70790	254.8211	297.4360	249.60	314.60
Control captopril	7	244.8571	22.87603	8.64633	223.7003	266.0139	218.20	281.20
Experimental extracto chía	8	248.9000	16.94478	5.99089	234.7338	263.0662	227.90	268.70
Control hipertensión	8	268.6875	31.83796	11.25642	242.0703	295.3047	232.50	326.10
Total	30	259.5867	26.54891	4.84715	249.6731	269.5002	218.20	326.10

ANOVA

Peso semana 6

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5010.394	3	1670.131	2.814	.059
Intra-grupos	15430.100	26	593.465		
Total	20440.495	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Peso semana 6

HSD de Tukey

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
SANO	Control captopril	31.27143	13.02158	.102	-4.4509	66.9938
	Experimental extracto chía	27.22857	12.60809	.161	-7.3595	61.8166
	Control hipertensión	7.44107	12.60809	.934	-27.1470	42.0291
Control captopril	SANO	-31.27143	13.02158	.102	-66.9938	4.4509
	Experimental extracto chía	-4.04286	12.60809	.988	-38.6309	30.5452
	Control hipertensión	-23.83036	12.60809	.257	-58.4184	10.7577
Experimental extracto chía	SANO	-27.22857	12.60809	.161	-61.8166	7.3595
	Control captopril	4.04286	12.60809	.988	-30.5452	38.6309
	Control hipertensión	-19.78750	12.18057	.383	-53.2027	13.6277
Control hipertensión	SANO	-7.44107	12.60809	.934	-42.0291	27.1470
	Control captopril	23.83036	12.60809	.257	-10.7577	58.4184
	Experimental extracto chía	19.78750	12.18057	.383	-13.6277	53.2027

Peso Semana6

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
Control captopril	7	244.8571
Experimental extracto chía	8	248.9000
Control hipertensión	8	268.6875
SANO	7	276.1286
Sig.		.087

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

- Colesterol total

Descriptivos

COL.INICIO

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	104.6429	41.61902	15.73051	66.1517	143.1340	25.00	140.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	131.9286	14.66410	5.54251	118.3665	145.4906	112.50	159.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	120.3750	17.59819	6.22190	105.6625	135.0875	96.00	141.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	103.2275	39.36993	13.91937	70.3134	136.1416	62.50	160.00
Total	30	114.8273	31.51178	5.75324	103.0606	126.5940	25.00	160.00

ANOVA

COL.INICIO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4095.893	3	1365.298	1.437	.255
Intra-grupos	24700.885	26	950.034		
Total	28796.778	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: COL.INICIO
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-27.28571	16.4753	.366	-72.4830	17.9115
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-15.73214	15.9522	.758	-59.4942	28.0299
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	1.41536	15.9522	1.000	-42.3467	45.1774
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	27.28571	16.4753	.366	-17.9115	72.4830
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	11.55357	15.9522	.887	-32.2085	55.3156
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	28.70107	15.9522	.296	-15.0610	72.4631
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	15.73214	15.9522	.758	-28.0299	59.4942
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-11.55357	15.9522	.887	-55.3156	32.2085
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	17.14750	15.4113	.685	-25.1307	59.4257
	GRUPO 1 SANO	-1.41536	15.9522	1.000	-45.1774	42.3467
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-28.70107	15.9522	.296	-72.4631	15.0610
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-17.14750	15.4113	.685	-59.4257	25.1307

COL.INICIO

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	103.2275
GRUPO 1 SANO	7	104.6429
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	120.3750
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	131.9286
Sig.		.296

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

COL.FIN

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	97.928	47.01102	17.768	54.4506	141.40	28.50	172.50
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	119.57	11.92836	4.5085	108.5395	130.60	109.50	139.50
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	114.37	17.22902	6.0913	99.9712	128.77	81.00	135.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	113.00	15.85650	5.6061	99.7436	126.25	90.00	130.00
Total	30	111.38	26.11701	4.7682	101.6311	121.13	28.50	172.50

ANOVA

COL.FIN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1829.038	3	609.679	.883	.463
Intra-grupos	17951.804	26	690.454		
Total	19780.842	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: COL.FIN
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-21.64286	14.04538	.429	-60.1738	16.8881
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-16.44643	13.59938	.627	-53.7539	20.8610
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-15.07143	13.59938	.688	-52.3789	22.2360
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	21.64286	14.04538	.429	-16.8881	60.1738
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	5.19643	13.59938	.981	-32.1110	42.5039
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	6.57143	13.59938	.962	-30.7360	43.8789
	GRUPO 1 SANO	16.44643	13.59938	.627	-20.8610	53.7539
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-5.19643	13.59938	.981	-42.5039	32.1110
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	1.37500	13.13825	1.000	-34.6674	37.4174
	GRUPO 1 SANO	15.07143	13.59938	.688	-22.2360	52.3789
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-6.57143	13.59938	.962	-43.8789	30.7360
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-1.37500	13.13825	1.000	-37.4174	34.6674

COL.FIN

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
GRUPO 1 SANO	7	1
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	97.9286
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	113.0000
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	114.3750
Sig.		119.5714
		.401

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

- **Triglicéridos**

ANOVA

TRIGL.INICIO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	37526.928	3	12508.976	2.826	.058
Intra-grupos	115092.286	26	4426.626		
Total	152619.215	29			

Descriptivos

TRIGL.INICIO

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	101.57	70.10434	26.496	36.7357	166.40	21.50	207.50
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	96.857	38.40759	14.516	61.3360	132.37	55.50	171.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	108.62	86.90337	30.724	35.9720	181.27	15.00	294.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	182.05	58.41763	20.653	133.2116	230.88	135.00	298.90
Total	30	123.81	72.54469	13.244	96.7247	150.90	15.00	298.90

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: TRIGL.INICIO
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	4.71429	35.56333	.999	-92.8473	102.2759
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-7.05357	34.43405	.997	-101.5172	87.4100
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	-80.47857	34.43405	.115	-174.9422	13.9850
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	-4.71429	35.56333	.999	-102.2759	92.8473
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-11.76786	34.43405	.986	-106.2315	82.6957
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	-85.19286	34.43405	.088	-179.6565	9.2707
	GRUPO 1 SANO	7.05357	34.43405	.997	-87.4100	101.5172
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	11.76786	34.43405	.986	-82.6957	106.2315
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	-73.42500	33.26645	.148	-164.6855	17.8355
	GRUPO 1 SANO	80.47857	34.43405	.115	-13.9850	174.9422
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	85.19286	34.43405	.088	-9.2707	179.6565
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	73.42500	33.26645	.148	-17.8355	164.6855

TRIGL.INICIO

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	96.8571
GRUPO 1 SANO	7	101.5714
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	108.6250
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	182.0500
Sig.		.088

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

TRIGLIC.FIN

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	98.9286	48.06110	18.16539	54.4795	143.3777	50.00	170.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	111.4286	29.35193	11.09399	84.2826	138.5746	73.50	165.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	68.5625	29.84656	10.55235	43.6102	93.5148	24.00	123.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	198.5625	41.60137	14.70831	163.7829	233.3421	143.50	291.00
Total	30	120.3167	62.01814	11.32291	97.1587	143.4746	24.00	291.00

ANOVA

TRIGLIC.FIN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	74162.376	3	24720.792	17.195	.000
Intra-grupos	37378.866	26	1437.649		
Total	111541.242	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: TRIGLIC.FIN
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-12.50000	20.26714	.926	-68.0992	43.0992
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	30.36607	19.62357	.425	-23.4677	84.1998
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	99.63393(*)	19.62357	.000	-153.4677	45.8002
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	12.50000	20.26714	.926	-43.0992	68.0992
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	42.86607	19.62357	.154	-10.9677	96.6998
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	87.13393(*)	19.62357	.001	-140.9677	33.3002
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	-30.36607	19.62357	.425	-84.1998	23.4677
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-42.86607	19.62357	.154	-96.6998	10.9677
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	GRUPO 1 SANO	130.00000(*)	18.95817	.000	-182.0083	77.9917
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	99.63393(*)	19.62357	.000	45.8002	153.4677
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	87.13393(*)	19.62357	.001	33.3002	140.9677
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	130.00000(*)	18.95817	.000	77.9917	182.0083

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

TRIGLIC.FIN

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		2	1
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	68.5625	
GRUPO 1 SANO	7	98.9286	
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	111.4286	
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8		198.5625
Sig.		.154	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

- **Colesterol LDL**

Descriptivos

LDLINICIO

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	24.4429	8.70849	3.29150	16.3888	32.4969	17.40	41.75
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	32.9429	5.55288	2.09879	27.8073	38.0784	22.65	38.70
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	8	32.0500	9.10632	3.21957	24.4369	39.6631	21.15	47.85
GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	8	26.4289	8.23428	2.91126	19.5449	33.3130	18.50	41.23
Total	30	28.9844	8.46214	1.54497	25.8246	32.1442	17.40	47.85

ANOVA

LDLINICIO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	381.492	3	127.164	1.950	.146
Intra-grupos	1695.133	26	65.197		
Total	2076.625	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: LDLINICIO
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-8.50000	4.31600	.225	-20.3402	3.3402
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	-7.60714	4.17895	.287	-19.0713	3.8570
	GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	-1.98607	4.17895	.964	-13.4503	9.4781
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	8.50000	4.31600	.225	-3.3402	20.3402
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	.89286	4.17895	.996	-10.5713	12.3570
	GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	6.51393	4.17895	.419	-4.9503	17.9781
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	7.60714	4.17895	.287	-3.8570	19.0713
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-.89286	4.17895	.996	-12.3570	10.5713
	GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	5.62108	4.03725	.515	-5.4544	16.6965
GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 1 SANO	1.98607	4.17895	.964	-9.4781	13.4503
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-6.51393	4.17895	.419	-17.9781	4.9503
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	-5.62108	4.03725	.515	-16.6965	5.4544

LDLINICIO

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
GRUPO 1 SANO	7	1
GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	8	24.4429
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	8	26.4289
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	32.0500
Sig.		32.9429
		.202

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

LDLFIN

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	21.4500	8.57875	3.24246	13.5160	29.3840	7.40	32.75
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	27.6000	3.67219	1.38796	24.2038	30.9962	23.55	32.70
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	8	28.2188	6.81290	2.40873	22.5230	33.9145	22.10	43.35
GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	8	29.9250	7.63989	2.70111	23.5379	36.3121	20.40	46.00
Total	30	26.9500	7.32110	1.33664	24.2163	29.6837	7.40	46.00

ANOVA

LDLFIN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	298.390	3	99.463	2.059	.130
Intra-grupos	1255.965	26	48.306		
Total	1554.355	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: LDLFIN
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-6.15000	3.71508	.367	-16.3416	4.0416
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	-6.76875	3.59711	.260	-16.6368	3.0993
	GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	-8.47500	3.59711	.111	-18.3430	1.3930
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	6.15000	3.71508	.367	-4.0416	16.3416
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	-.61875	3.59711	.998	-10.4868	9.2493
	GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	-2.32500	3.59711	.916	-12.1930	7.5430
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	6.76875	3.59711	.260	-3.0993	16.6368
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	.61875	3.59711	.998	-9.2493	10.4868
	GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	-1.70625	3.47514	.960	-11.2397	7.8272
GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 1 SANO	8.47500	3.59711	.111	-1.3930	18.3430
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	2.32500	3.59711	.916	-7.5430	12.1930
	GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	1.70625	3.47514	.960	-7.8272	11.2397

LDLFIN

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
GRUPO 1 SANO	7	1
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	21.4500
GRUPO EXPERIMENTAL CHIA	8	27.6000
GRUPO CONTROL HIPERTENSIÓN	8	28.2188
Sig.		29.9250
		.111

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

• **Proteína C reactiva (PCR)**

Descriptivos

PCRINICIO

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	486.6610	30.41027	11.49400	458.5362	514.7858	446.70	524.36
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	508.9594	28.06921	10.60916	482.9997	534.9191	476.06	547.93
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	503.5918	29.91770	10.57750	478.5800	528.6036	471.81	543.68
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	501.5634	25.29895	8.94453	480.4129	522.7138	465.25	537.49
Total	30	500.3528	28.13033	5.13587	489.8488	510.8568	446.70	547.93

ANOVA

PCRINICIO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1926.418	3	642.139	.794	.508
Intra-grupos	21021.727	26	808.528		
Total	22948.145	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: PCRINICIO
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-22.29836	15.19895	.471	-63.9939	19.3972
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-16.93075	14.71632	.662	-57.3023	23.4408
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-14.90237	14.71632	.744	-55.2739	25.4692
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	22.29836	15.19895	.471	-19.3972	63.9939
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	5.36761	14.71632	.983	-35.0040	45.7392
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	7.39599	14.71632	.958	-32.9756	47.7676
	GRUPO 1 SANO	16.93075	14.71632	.662	-23.4408	57.3023
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-5.36761	14.71632	.983	-45.7392	35.0040
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	2.02838	14.21731	.999	-36.9743	41.0310
	GRUPO 1 SANO	14.90237	14.71632	.744	-25.4692	55.2739
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-7.39599	14.71632	.958	-47.7676	32.9756
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-2.02838	14.21731	.999	-41.0310	36.9743

PCRINICIO

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
GRUPO 1 SANO	7	486.6610
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	501.5634
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	503.5918
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	508.9594
Sig.		.443

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

PCRFIN

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	499.0245	28.21722	10.66510	472.9279	525.1210	472.59	536.34
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	511.3879	27.37680	10.34746	486.0686	536.7072	479.54	541.36
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	503.6884	28.43641	10.05379	479.9149	527.4618	474.52	541.74
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	502.5293	27.84764	9.84563	479.2481	525.8105	474.13	542.52
Total	30	504.0876	26.86894	4.90557	494.0546	514.1206	472.59	542.52

ANOVA

PCRFIN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	573.211	3	191.070	.244	.865
Intra-grupos	20363.042	26	783.194		
Total	20936.253	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: PCRFIN
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-12.36345	14.95893	.841	-53.4006	28.6737
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-4.66389	14.48393	.988	-44.3979	35.0701
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-3.50482	14.48393	.995	-43.2389	36.2292
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	12.36345	14.95893	.841	-28.6737	53.4006
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	7.69956	14.48393	.951	-32.0345	47.4336
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8.85863	14.48393	.927	-30.8754	48.5927
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	4.66389	14.48393	.988	-35.0701	44.3979
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-7.69956	14.48393	.951	-47.4336	32.0345
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	1.15907	13.99280	1.000	-37.2277	39.5458
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 1 SANO	3.50482	14.48393	.995	-36.2292	43.2389
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-8.85863	14.48393	.927	-48.5927	30.8754
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-1.15907	13.99280	1.000	-39.5458	37.2277

PCRFIN

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
GRUPO 1 SANO	7	499.0245
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	502.5293
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	503.6884
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	511.3879
Sig.		.828

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

- Enzimas hepáticas (ALT; AST y LDH)

Descriptivos

ALTINICIO

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	111.0000	82.63978	31.23490	34.5710	187.4290	59.00	294.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	94.2857	36.08654	13.63943	60.9112	127.6602	68.00	172.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	88.7500	16.34232	5.77788	75.0875	102.4125	61.00	116.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	107.5000	72.21199	25.53079	47.1293	167.8707	40.00	225.00
Total	30	100.2333	55.61486	10.15384	79.4664	121.0003	40.00	294.00

ANOVA

ALTINICIO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2536.438	3	845.479	.252	.859
Intra-grupos	87160.929	26	3352.343		
Total	89697.367	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: ALTINICIO

HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	16.71429	30.94854	.948	-68.1875	101.6160
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	22.25000	29.96580	.879	-59.9558	104.4558
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	3.50000	29.96580	.999	-78.7058	85.7058
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	-16.71429	30.94854	.948	101.6160	-68.1875
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	5.53571	29.96580	.998	-76.6701	87.7415
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-13.21429	29.96580	.971	-95.4201	68.9915
	GRUPO 1 SANO	-22.25000	29.96580	.879	104.4558	-59.9558
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-5.53571	29.96580	.998	-87.7415	76.6701
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-18.75000	28.94971	.915	-98.1683	60.6683
	GRUPO 1 SANO	-3.50000	29.96580	.999	-85.7058	78.7058
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	13.21429	29.96580	.971	-68.9915	95.4201
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	18.75000	28.94971	.915	-60.6683	98.1683

ALTINICIO

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	88.7500
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	94.2857
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	107.5000
GRUPO 1 SANO	7	111.0000
Sig.		.879

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

ALTFIN

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	91.5714	18.05415	6.82383	74.8741	108.2687	74.00	120.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	145.0000	11.98610	4.53032	133.9147	156.0853	122.00	155.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	113.3750	23.16363	8.18958	94.0097	132.7403	85.00	164.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSION	8	92.1250	19.56263	6.91643	75.7702	108.4798	69.00	121.00
Total	30	110.0000	28.07134	5.12510	99.5180	120.4820	69.00	164.00

ANOVA

ALTFIN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	13599.536	3	4533.179	12.739	.000
Intra-grupos	9252.464	26	355.864		
Total	22852.000	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: ALTFIN
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	53.42857(*)	10.08342	.000	-81.0906	25.7665
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-21.80357	9.76323	.141	-48.5872	4.9801
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-.55357	9.76323	1.000	-27.3372	26.2301
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	53.42857(*)	10.08342	.000	25.7665	81.0906
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	31.62500(*)	9.76323	.016	4.8413	58.4087
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	52.87500(*)	9.76323	.000	26.0913	79.6587
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	21.80357	9.76323	.141	-4.9801	48.5872
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	31.62500(*)	9.76323	.016	-58.4087	-4.8413
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	21.25000	9.43218	.136	-4.6255	47.1255
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 1 SANO	.55357	9.76323	1.000	-26.2301	27.3372
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	52.87500(*)	9.76323	.000	-79.6587	26.0913
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-21.25000	9.43218	.136	-47.1255	4.6255

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

ALTFIN

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		2	1
GRUPO 1 SANO	7	91.5714	
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	92.1250	
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	113.3750	
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7		145.0000
Sig.		.141	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

AST.INICIO

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	194.2857	87.50755	33.07475	113.3547	275.2167	125.00	350.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	263.5714	86.94607	32.86253	183.1597	343.9831	145.00	396.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	254.5000	99.69525	35.24759	171.1527	337.8473	104.00	378.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	255.5000	152.01410	53.74510	128.4130	382.5870	109.00	545.00
Total	30	242.8333	108.99481	19.89964	202.1340	283.5327	104.00	545.00

ANOVA

AST.INICIO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	21881.024	3	7293.675	.588	.628
Intra-grupos	322635.143	26	12409.044		
Total	344516.167	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: AST.INICIO
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-69.28571	59.54361	.654	232.6329	94.0614
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	-60.21429	57.65285	.725	218.3745	97.9459
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-61.21429	57.65285	.715	219.3745	96.9459
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	69.28571	59.54361	.654	-94.0614	232.6329
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	9.07143	57.65285	.999	149.0888	167.2316
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8.07143	57.65285	.999	150.0888	166.2316
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	60.21429	57.65285	.725	-97.9459	218.3745
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-9.07143	57.65285	.999	167.2316	149.0888
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-1.00000	55.69794	1.000	153.7973	151.7973
	GRUPO 1 SANO	61.21429	57.65285	.715	-96.9459	219.3745
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-8.07143	57.65285	.999	166.2316	150.0888
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	1.00000	55.69794	1.000	151.7973	153.7973

AST.INICIO

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
GRUPO 1 SANO	7	194.2857
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	254.5000
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	255.5000
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	263.5714
Sig.		.631

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

AST.FINAL

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	330.0000	32.53204	12.29595	299.9129	360.0871	290.00	380.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	329.7143	52.60454	19.88265	281.0632	378.3654	281.00	440.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	257.0000	41.17558	14.55777	222.5764	291.4236	205.00	315.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	306.3750	97.10221	34.33082	225.1955	387.5545	210.00	510.00
Total	30	304.1667	66.41047	12.12484	279.3686	328.9647	205.00	510.00

ANOVA

AST.FINAL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	27076.863	3	9025.621	2.327	.098
Intra-grupos	100823.304	26	3877.819		
Total	127900.167	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: AST.FINAL

HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	.28571	33.28586	1.000	91.0280	91.5995
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	73.00000	32.22889	.133	15.4142	161.4142
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	23.62500	32.22889	.883	64.7892	112.0392
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	-.28571	33.28586	1.000	91.5995	91.0280
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	72.71429	32.22889	.135	15.6999	161.1285
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	23.33929	32.22889	.887	65.0749	111.7535
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	-73.00000	32.22889	.133	161.4142	15.4142
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-72.71429	32.22889	.135	161.1285	15.6999
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	-49.37500	31.13607	.404	134.7912	36.0412
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 1 SANO	-23.62500	32.22889	.883	112.0392	64.7892
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-23.33929	32.22889	.887	111.7535	65.0749
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	49.37500	31.13607	.404	36.0412	134.7912

AST.FINAL

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	257.0000
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	306.3750
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	329.7143
GRUPO 1 SANO	7	330.0000
Sig.		.133

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

LDH.INICIO

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	8587.8571	8444.58328	3191.75247	777.9202	16397.7941	488.00	22935.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	7766.8571	8585.73317	3245.10211	-173.6217	15707.3360	787.00	22635.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	7631.2500	8474.11251	2996.05121	546.7147	14715.7853	746.00	23280.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	8118.1250	9061.82242	3203.83804	542.2519	15693.9981	321.00	25770.00
Total	30	8015.9333	8203.52449	1497.75181	4952.6869	11079.1797	321.00	25770.00

ANOVA

LDH.INICIO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3991345.777	3	1330448.592	.018	.997
Intra-grupos	1947645264.090	26	74909433.234		
Total	1951636609.867	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: LDH.INICIO
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	821.00000	4626.30470	.998	-11870.4336	13512.4336
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	956.60714	4479.40027	.996	11331.8206	13245.0349
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	469.73214	4479.40027	1.000	11818.6956	12758.1599
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 1 SANO	-821.00000	4626.30470	.998	13512.4336	11870.4336
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	135.60714	4479.40027	1.000	12152.8206	12424.0349
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	351.26786	4479.40027	1.000	12639.6956	11937.1599
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 1 SANO	-956.60714	4479.40027	.996	13245.0349	11331.8206
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	-135.60714	4479.40027	1.000	12424.0349	12152.8206
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	486.87500	4327.51179	.999	12358.6240	11384.8740
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	GRUPO 1 SANO	-469.73214	4479.40027	1.000	12758.1599	11818.6956
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	351.26786	4479.40027	1.000	11937.1599	12639.6956
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	486.87500	4327.51179	.999	11384.8740	12358.6240

LDH.INICIO

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	7631.2500
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	7766.8571
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	8118.1250
GRUPO 1 SANO	7	8587.8571
Sig.		.996

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Descriptivos

LDH.FINAL

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO 1 SANO	7	15985.7143	2888.44888	1091.73106	13314.3446	18657.0839	11955.00	20640.00
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	15627.8571	2899.09592	1095.75526	12946.6406	18309.0737	11460.00	20325.00
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	13612.5000	5150.68789	1821.04317	9306.4172	17918.5828	6600.00	19700.00
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	15318.7500	5995.01802	2119.55895	10306.7895	20330.7105	8805.00	24860.00
Total	30	15091.5000	4407.28201	804.65593	13445.7938	16737.2062	6600.00	24860.00

ANOVA

LDH.FINAL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	25523755.714	3	8507918.571	.411	.746
Intra-grupos	537776151.786	26	20683698.146		
Total	563299907.500	29			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: LDH.FINAL
HSD de Tukey

(I) GRUPO	(J) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
GRUPO 1 SANO	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	357.85714	2430.97265	.999	6311.0784	7026.7927
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	2373.21429	2353.77915	.746	4083.9548	8830.3834
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	666.96429	2353.77915	.992	5790.2048	7124.1334
	GRUPO 1 SANO	-	2430.97265	.999	7026.7927	6311.0784
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	2015.35714	2353.77915	.827	4441.8119	8472.5262
	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	309.10714	2353.77915	.999	6148.0619	6766.2762
	GRUPO 1 SANO	-	2353.77915	.746	8830.3834	4083.9548
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	2015.35714	2353.77915	.827	8472.5262	4441.8119
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	1706.25000	2273.96670	.876	7944.4680	4531.9680
	GRUPO 1 SANO	-	2353.77915	.992	7124.1334	5790.2048
	GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	309.10714	2353.77915	.999	6766.2762	6148.0619
	GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	1706.25000	2273.96670	.876	4531.9680	7944.4680

LDH.FINAL

HSD de Tukey

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = .05
GRUPO 3 EXPERIMENTAL CHIA	8	13612.5000
GRUPO 4 CONTROL HIPERTENSIÓN	8	15318.7500
GRUPO 2 CONTROL CAPTOPRIL	7	15627.8571
GRUPO 1 SANO	7	15985.7143
Sig.		.746

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.467.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

RESUMEN CURRICULAR

Verónica González Ramos

Candidato para el Grado de Maestro en Ciencias en Nutrición

Tesis:

EFFECTO HIPOTENSOR E INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA
CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA I DE EXTRACTOS DE SEMILLAS
DE *Salvia hispanica L* IN VITRO E IN VIVO

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales:

Fecha y lugar de nacimiento. México, D.F. 18 de Mayo de 1984
Padres: Ramiro González Treviño y María Luisa Ramos Villarreal

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Coahuila, grado obtenido Químico Farmacéutico Biólogo con acentuación en bromatología. Tesis de licenciatura; "Efecto de un pan con inulina sobre el perfil de la glucosa sanguínea en individuos con diabetes mellitus tipo 2" apoyada por beca de COECYT.

Experiencia Profesional:

Toma Productos: Asesor externo para proyecto de desarrollo de bebida funcional para personas con diabetes. Enero-Agosto 2009.

Pharmalim de México S. de R.L. de C.V.: Coordinación del área comercial y capacitación Septiembre-Julio 2009.

Facultad de Ciencias Químicas (UAdeC). Asistente de investigación en el Departamento de Investigación en Alimentos, Octubre 2006-Agosto 2009.

Molinos El Fénix (Prácticas profesionales) Analista de control de calidad. Recepción de materia prima y determinación de análisis fisicoquímicos (pH, humedad, sedimentación, etc.) a materia prima y producto terminado. Junio-Julio 2005.

Asesoría académica: Capacitación a estudiantes de medio superior en áreas de química y biología. Junio 2002- 2007.

Participación en congresos nacionales con cartel

- 26° Congreso Nacional de AMMFEM (Marzo, 2011)
- Congreso de Ciencias Fisiológicas (Septiembre, 2011)
- Congreso Nacional de Investigación en Medicina (Septiembre, 2011)