



Dependencia endotelial del efecto de canfenol plus 3 % sobre el músculo liso vascular arterial

Endothelial dependence of the effect of 3 % camphenol plus on arterial vascular smooth muscle

Oscar Rodríguez Reyes^{1*}, Robert Patejdl², Thomas K. Noack²
Ramón Enrique García Rodríguez¹, Ana Ibis Bosch Nuñez¹

¹Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba, Facultad de Estomatología. Santiago de Cuba, Cuba.

²Universidad de Rostock, Facultad de Medicina, Instituto de Fisiología "Oscar Langerdoff". Rostock, Alemania.

*Autor para la correspondencia: orreyes7807@infomed.sld.cu

Cómo citar este artículo

Rodríguez Reyes O, Patejdl R, K. Noack T, García Rodríguez RE, Bosch Nuñez AI. Dependencia endotelial del efecto de canfenol plus 3 % sobre el músculo liso vascular arterial. Rev haban cienc méd [Internet]. 2022 [citado]; 21(2):e4427. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4427>

Recibido: 16 de Septiembre del año 2021
Aprobado: 11 de Marzo del año 2022

RESUMEN

Introducción: el canfenol plus, es un derivado clorado del fenol empleado de forma habitual como medicación intraconducto durante los tratamientos pulporradiculares en Estomatología. Son escasos los estudios en relación con sus efectos sobre el músculo liso vascular arterial y la participación del endotelio en estos.

Objetivo: determinar la dependencia endotelial del efecto de canfenol plus 3 % sobre el músculo liso vascular arterial.

Material y Métodos: se realizó una investigación experimental preclínica utilizando 26 anillos de carótida externa desprovistos de endotelio vascular. Las preparaciones realizadas se colocaron en baño de órganos, registrándose la tensión desarrollada por el músculo liso vascular tras la adición de acetilcolina, así como de soluciones de canfenol plus 3 % durante diferentes intervalos de tiempo. La dependencia entre ambas tensiones, se determinó a través de un modelo de regresión lineal simple.

Resultados: tras la preactivación con solución Krebs concentrada de iones potasio, la adición de 10 µl de acetilcolina y canfenol plus 3 %, indujeron una discreta, pero significativa vasorelajación de la musculatura lisa vascular. El modelo de regresión lineal elaborado, demostró la dependencia entre las variables tensión producida por acetilcolina y tensión producida por el fármaco al décimo minuto, corroborando la implicación del endotelio vascular en dicho efecto relajante.

Conclusiones: el canfenol plus 3 %, produjo *in vitro*, un efecto vasorelajante sobre la musculatura lisa de anillos de carótida externa, dependiente de endotelio y a partir de un factor relajante o hiperpolarizante derivado de este.

Palabras claves:

vasodilatación; músculo liso vascular; tensión muscular; acetilcolina; paraclorofenol alcanforado.

ABSTRACT

Introduction: Camphenol plus is a chlorinated phenol derivative commonly used as intracanal medication during pulporradicular treatments in Dentistry. Studies in relation to its effects on arterial vascular smooth muscle and the involvement of the endothelium in them are scarce.

Objective: To determine the endothelial dependence of the effect of 3 % camphenol plus on arterial vascular smooth muscle.

Material and Methods: A preclinical experimental research was carried out using 26 external carotid artery rings devoid of vascular endothelium. The preparations made were placed in an organ bath, recording the tension developed by the vascular smooth muscle after the addition of acetylcholine, as well as 3 % Camphenol plus solutions during different intervals of time. The dependence between both tensions was determined through a simple linear regression model.

Results: After pre-activation with Krebs concentrated potassium ion solution, the addition of 10 µl of acetylcholine and 3 % camphenol plus induced a discrete but significant vasorelaxation of the vascular smooth muscle. The linear regression model developed demonstrated the dependence between the variables tension produced by acetylcholine and tension produced by the drug at the tenth minute, corroborating the involvement of the vascular endothelium in that vasorelaxant effect.

Conclusions: It is concluded that 3 % Camphenol plus *in vitro*, produced a vasorelaxant effect on the smooth muscle of external carotid rings dependent on endothelium and from a relaxing or hiperpolarizing factor derived from it.

Keywords:

vasodilation; vascular smooth muscle; muscle tension; acetylcholine; camphorated parachlorophenol.



INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia, son disímiles los agentes químicos que han sido empleados como cura medicamentosa temporal durante los tratamientos pulporradiculares en Estomatología. Se destacan entre ellos los compuestos fenólicos y sus derivados tales como: eugenol, paraclorofenol, paraclorofenol alcanforado, cresatina o acetato de metacresilo, cresol, creosota y timol. Son llevados al interior de los conductos dentarios radiculares mediante una punta de papel impregnada en ellos, o la colocación en la cámara pulpar de una pequeña bolilla de algodón estéril embebida en el medicamento.

Uno de los antisépticos y antimicrobianos más utilizados en Estomatología en Cuba, e internacionalmente en los tratamientos de endodoncia, es el paramonoclorofenol alcanforado (PMCF, CPK, camphenol), caracterizado según el sitio web Drugbank,⁽¹⁾ como una sustancia oleosa de color pardo y olor penetrante característico. Con frecuencia suele asociarse con timol y dexametasona, para formar mezclas de soluciones con perspectivas antibacterianas y desinfectantes avanzadas como son los medicamentos canfenol plus, cresofeno y dentofar.

A pesar de innumerables investigaciones como las de Rodríguez Guerrero,⁽²⁾ Pedraza Maquera⁽³⁾ e Himadri P.,⁽⁴⁾ que avalan la efectividad del PMCF como agente bactericida (fármaco independiente o en mezclas), otros estudios como el de Canalda C.⁽⁵⁾ sugieren que sus efectos no se limitan solo al conducto radicular dentario principal, ya que su baja tensión superficial puede facilitar la difusión a través de los conductos radiculares secundarios y túbulos dentinarios, e igualmente sus vapores atravesar el ápice dentario con un efecto potencial en el área periapical.

Hallazgos de su presencia en sangre y orina indican su posible acción en los vasos sanguíneos, específicamente en el endotelio y músculo liso vascular; así como sus probables efectos vasomotores y hemodinámicos aparejados a su acción antiséptica, modificando el flujo sanguíneo tisular, afectando la irrigación de las estructuras de soporte del diente, modulando de forma no controlada el proceso inflamatorio en las distintas afecciones pulporradiculares y retardando los procesos de reparación tisular.

Rincón-Silva *et al.*,⁽⁶⁾ sostienen que cuando el PMCF penetra al interior del organismo, ya sea a través de la piel o el sistema digestivo, produce aumento transitorio de la presión sanguínea, retarda el pulso, aumenta la glucemia, causa daños en el ácido desoxirribonucleico, colapso vascular y puede producir la muerte.

Un estudio realizado por Low *et al.*⁽⁷⁾ y publicado por la *British Journal of Pharmacology* en 2009, demostró que el 4-cloro-3-etil-fenol, derivado fenólico clorado, deprime la respuesta contráctil muscular lisa vascular a una variedad de vasoconstrictores, sugiriendo una acción inespecífica probablemente a lo largo del proceso de generación de fuerza, un efecto que aparentemente no era evidente en el músculo esquelético. Por su interferencia reversible con el proceso contráctil más allá de los canales de calcio, dicho fármaco se catalogó solo como herramienta farmacológica útil en el estudio del calcio citosólico en células no contráctiles como las endoteliales.

En la bibliografía consultada, son escasas las evidencias científicas relacionadas con efectos farmacológicos producidos por canfenol plus *in vivo* e *in vitro* sobre el músculo liso de los vasos sanguíneos, así como la participación del endotelio en dichos efectos. Los mecanismos de un supuesto efecto dependiente o no del endotelio vascular no están dilucidados, situación que constituye el problema científico de la presente investigación. Motivados por lo antes planteado, los autores proponen como **objetivo** determinar *in vitro* la dependencia de endotelio vascular del efecto de soluciones de canfenol plus 3 % sobre el músculo liso vascular arterial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una investigación experimental preclínica en el Instituto de Fisiología Oscar Langerdorff, Facultad de Medicina, Universidad de Rostock, Alemania, entre octubre y diciembre de 2018.

Se emplearon para el estudio 14 arterias carótidas externas obtenidas de 7 ratas Wistar, de ambos sexos y comprendidas entre 200-250 gramos de peso.

Cada arteria fue seccionada en tres anillos concéntricos de 5 mm cada uno para un total de 42. Se emplearon 26 en los experimentos y 16 como grupo control para probar reactivos, sustancias preactivadoras y soluciones del medicamento antes de la experimentación.

Con el empleo de un microscopio óptico estereoscópico marca Olympus, modelo SZ61 de fabricación alemana y un fino tubo plástico rugoso de 2,5 mm de diámetro, se les retiró con sumo cuidado el endotelio vascular a los 26 anillos que sirvieron de muestras biológicas. A todos luego, se les practicó un corte helicoidal siguiendo la organización histológica de las células de músculo liso vascular.

Para cumplir con el objetivo trazado, se midieron las siguientes variables:

1. Tensión basal espontánea (TBE): tensión alcanzada por el músculo liso vascular tras la adición en solución Krebs fisiológica.
2. Tensión base inicial (TBI): tensión máxima alcanzada por el músculo liso vascular tras la preactivación con solución Krebs concentrada en iones potasio ($K^+=80$ mmol/L). Se registró al minuto cero.
3. Tensión inducida por acetilcolina (TI Ach): tensión alcanzada por el músculo liso vascular (previamente activado con $K^+=80$ mmol/L), tras la adición de 10 μ l de acetilcolina (10^{-6} mol/L). Se registró al minuto seis.
4. Tensión inducida por solución de canfenol Plus 3 %: tensión alcanzada por el músculo liso vascular (previamente activado con $K^+=80$ mmol/L), tras la adición de 10 μ l de canfenol Plus 3 %. Se registró al minuto uno, tres, cinco, siete y diez.

Técnicas y procedimientos

Obtención del registro de la tensión basal espontánea:

Para medir la TBE, los anillos arteriales se colocaron en un baño de órganos [Tissue Bath Station, BIOPAC™] con 30 mL de solución Krebs fisiológica (NaCl: 112; NaHCO₃: 25; KH₂PO₄: 1,2; KCl: 4,7; MgCl₂ + 6H₂O: 1,2; CaCl₂ + 2H₂O: 3,6; Glucosa: 11,5 milimoles respectivamente), a 36,5 °C, manteniendo un suministro continuo de carbógeno (95 % de O₂ y 5 % de CO₂). Posteriormente, se estandarizó dicha tensión mediante un peso de tracción de 1 g, realizando ajustes de calibración y, para garantizar su estabilidad, los anillos se lavaron con solución Krebs cada 15 minutos durante una hora.

Obtención del registro de la tensión base inicial e inducida por acetilcolina y canfenol plus:

Para registrar la TBI, las muestras biológicas se preactivaron con solución Krebs concentrada en iones potasio (K⁺ = 80 mmol/L) hasta alcanzar la máxima constricción (meseta). Luego, se adicionó 10 µl de acetilcolina (10⁻⁶ mol/L) para medir la tensión inducida por dicha sustancia a los seis minutos. Tras obtener dicho registro, se lavaron las preparaciones de 2-3 veces con solución Krebs fisiológica fresca, se esperó la recuperación de la TBE de las muestras y se volvieron a preactivar con solución Krebs K⁺ = 80 mmol/L. Seguidamente, se adicionó 10 µl de la solución de canfenol al 3 %. En la preparación de dicha solución se utilizó como solvente orgánico el dimetilsulfóxido al 0,95 % (DMSO), dada la naturaleza oleosa del medicamento. En 10 anillos del grupo control previo a la experimentación, se comprobó que el DMSO 0,95 % no ejerció efecto alguno sobre la dinámica contráctil espontánea del músculo liso vascular de los anillos de carótida externa.

Los registros gráficos de la actividad contráctil espontánea e inducida del músculo liso vascular, se obtuvieron con el uso del software *LabChart 7.2* de *ADInstruments*. Tales registros se almacenaron en soporte digital para su posterior análisis e interpretación. Se emplearon como medida de resumen la media aritmética (X), desviación estándar (DE) y el porcentaje.

El porcentaje del efecto sobre el músculo liso vascular inducido por acetilcolina y canfenol plus 3 % al minuto seis y diez, respectivamente, se calculó mediante la expresión:

$$\% \text{ de efecto producido} = \frac{(\text{tensión base inicial} - \text{tensión inducida minuto } x)}{(\text{tensión base inicial} - \text{tensión basal espontánea})} \times 100$$

Los valores promedios de tensión registrados por acción del canfenol plus 3 % en los diferentes intervalos, fueron comparados con los de TBI a través de test de Wilcoxon de los rangos con signo.

Para la determinación de la existencia o no de correlación entre las variables tensión inducida por acetilcolina y tensión inducida por canfenol plus 3 % a los diez minutos, se determinó el coeficiente de correlación de Pearson.

A partir de los supuestos de relación lineal, independencia, normalidad multivariante, homocedasticidad y multicolinealidad entre dichas variables, se elaboró un modelo de regresión lineal simple con el fin de predecir la existencia o no de dependencia entre ellas.⁽⁸⁾

Los datos obtenidos se procesaron de forma computarizada utilizando el paquete estadístico SPSS versión 22.0. El nivel de significación utilizado en todas las pruebas estadísticas fue de $\alpha = 0,05$. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Este artículo científico, constituye parte de los resultados de la investigación doctoral del primer autor, derivada de un proyecto institucional con colaboración internacional, aprobado por el Consejo Científico y Comité de Ética de Investigaciones en Salud, Facultad de Estomatología, Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba, 2018. Todos los experimentos se realizaron según las normas éticas y regulaciones alemanas en relación con el cuidado, uso y manejo de animales de experimentación.

RESULTADOS

Los valores obtenidos de TBE, TBI y tensión inducida por 10 µl de Ach 10⁻⁶ mol/L tras la primera preactivación de los anillos se resumen en la **Tabla**.

Tabla- Valores promedios de tensión basal espontánea, tensión base inicial e inducida por acetilcolina en anillos desprovistos de endotelio vascular				
(n=26) Medicamento	TBE	TBI	TI (Ach 10 ⁻⁶ mol/L)	
	X̄ ± DE	X̄ ± DE	X̄ ± DE	Vasorrelajación (%)
canfenol 3 %	6,62 ± 0,24	11,3 ± 0,41	10,9 ± 0,52	8,5

Fuente: registros de tensión LabChart 7.2 ADInstruments

Obsérvese como tras la preactivación, la adición de 10 µl de acetilcolina produjo discreta relajación de la musculatura lisa vascular, con una disminución de tensión a los seis minutos de solo 0,4 mN/g. En promedio, el porcentaje de relajación no alcanzó el 10 %.

Los valores promedios de TBE, TBI (segunda preactivación) y la inducida por canfenol plus 3 % en el tiempo, se representan en la **Figura 1**.

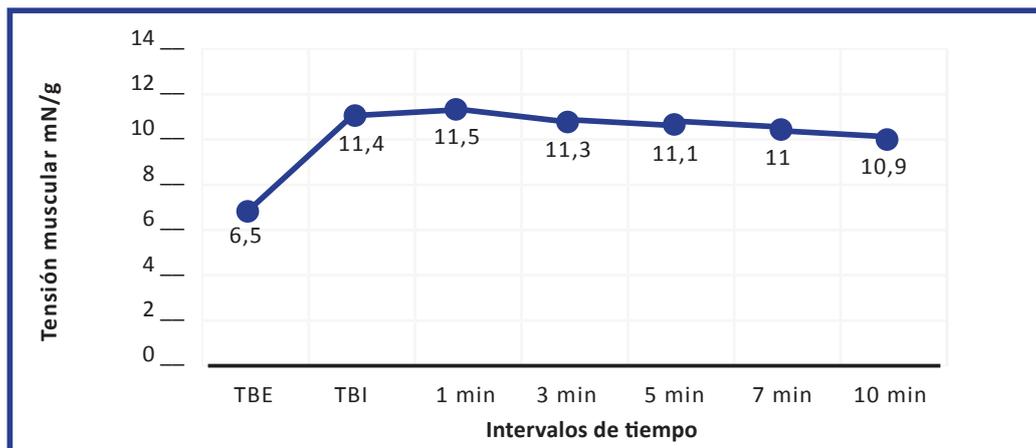


Fig. 1- Tensión basal espontánea, tensión base inicial e inducida por solución de Camphenol Plus 3 % en el tiempo (anillos de carótida externa desprovistos de endotelio vascular).

De forma similar al efecto producido por la acetilcolina, la adición de 10 µl de solución al 3 % de canfenol plus, solo produjo un ligero descenso de la tensión muscular; con una diferencia registrada al minuto diez, de 0,5 mN con respecto a la tensión base inicial. En término de porcentaje de vasorrelajación, solo el 10,2 % de la musculatura lisa vascular fue inhibida por el medicamento.

El modelo de regresión lineal simple elaborado en busca de dependencia entre las variables tensión inducida por acetilcolina y tensión inducida a los diez minutos de añadido el canfenol plus 3 %, reveló los siguientes resultados:

1. Coeficiente de Pearson (r) = 0,91
2. Coeficiente de determinación (r²) = 0,83
3. El estadígrafo F (Fisher) fue significativo (p<0,05), lo que dio validez al modelo hipotético elaborado.
F (1,24) = 117,531 p < 0,001.
4. El coeficiente Durbin-Watson obtenido de 1,154 confirmó correlaciones entre los residuos.

El gráfico de regresión lineal del modelo propuesto (**Figura 2**), mostró de forma general poca dispersión de los datos con respecto a la diagonal, lo que evidenció que los supuestos de normalidad y linealidad no fueron violados.

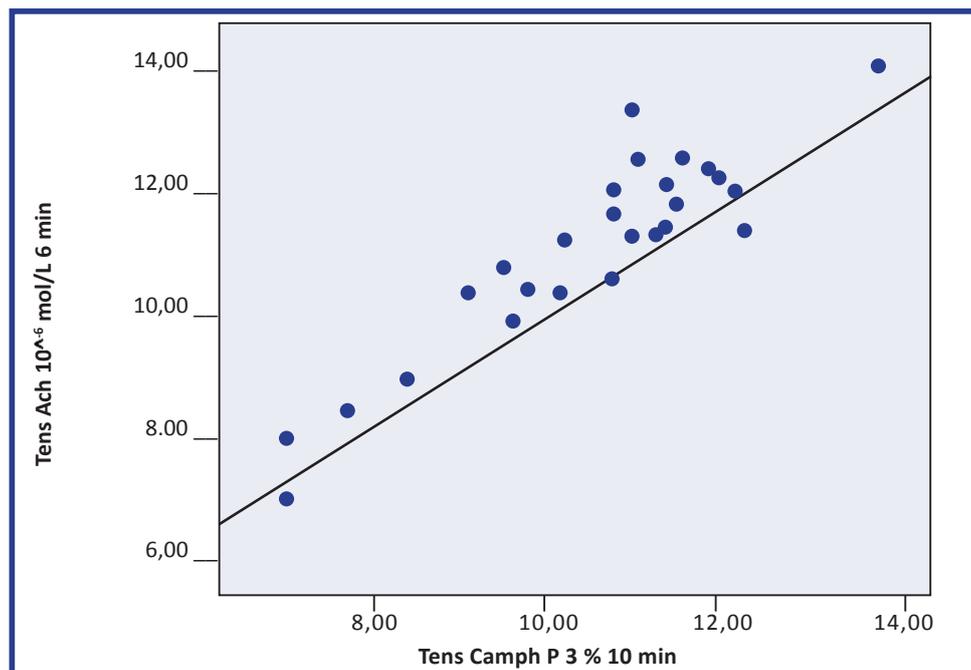


Fig. 2- Correlación lineal entre tensión inducida por acetilcolina y tensión inducida por canfenol plus 3 % al minuto 10.

El modelo de regresión obtenido se planteó de la siguiente forma:
 $y = 0,547 + 0,911x$; por lo que: Tensión 10 min canfenol plus 3 % = $0,547 + 0,911 \times$ Tensión Ach 10^{-6} mol/L

DISCUSIÓN

La disminución de la tensión muscular lisa al añadir acetilcolina (10^{-6} mol/L) tras la preactivación de los anillos de carótida externa, así como el porcentaje de relajación vascular observado, confirma lo descrito por Furchgott y Zawadzki, citado por Marcelo Campos,⁽⁹⁾ al afirmar que es necesario la presencia de endotelio para que un anillo vascular previamente constreñido con fenilefrina u otro agente vasoconstrictor, responda a la vasodilatación de la acetilcolina, por medio de la liberación de un factor o factores producidos llamados en su conjunto factor relajante derivado de endotelio (EDRF).

Este autor⁽⁹⁾ también hace referencia a Palmer y Moncada, quienes demostraron que las células endoteliales *in vitro*, producen EDRF y que este compartía las mismas propiedades físico-químicas con el óxido nítrico (ON), sugiriendo que se trataba del mismo compuesto o un compuesto nitroso muy lábil que rápidamente lo liberaba.

Expertos en Farmacología del Sistema Cardiovascular como Brown JH. *et al.*⁽¹⁰⁾ y Flórez J.,⁽¹¹⁾ aseguran que la vasodilatación generalizada producida por la administración de acetilcolina exógena, se debe a la estimulación de receptores muscarínicos M_3 localizados en el endotelio vascular, su ocupación activa la vía proteína Gq - fosfolipasa C - inositol-3-fosfato, lo que lleva a la activación de Ca^{2+} - calmodulina dependiente de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) y la producción de ON.

Este ON producido por el endotelio difunde a las células de músculo liso vascular, donde estimula la guanilciclase, promueve la apertura de canales de potasio subordinados a acetilcolina (K^+ -Ach), así como el cierre de canales de calcio dependientes de voltaje de tipo L (Cav1.2), mediante un mecanismo dependiente de guanosín monofosfato cíclico (GMPC); como consecuencia, se hiperpolariza la membrana y se produce una marcada vasorrelajación,^(12,13,14,15,16,17) hallazgo no observado en la investigación por la ausencia de un endotelio vascular íntegro y funcional.

La discreta relajación vascular producida por canfenol plus 3 % tras la segunda preactivación de los anillos, podría estar asociada de forma similar a la ausencia de endotelio vascular y de un posible EDRF, que podría ser el propio ON u otro de origen endotelial (prostanoides, leucotrienos o derivados epoxidados del sistema citocromo P450). Cualquiera de estos mediadores produciría el efecto vasorrelajante a través del control de canales de potasio y calcio en el músculo liso vascular adyacente.

Autores como Syed AU *et al.*,⁽¹⁸⁾ Bergantin LB⁽¹⁹⁾ y Aiello AE,⁽²⁰⁾ han profundizado en el funcionamiento de los canales de iones de potasio y calcio en la musculatura lisa vascular, así como su control por agonistas endógenos y algunos fármacos, pero aún son escasos los artículos científicos que citan el vínculo de estos canales con el mecanismo de acción de los fenoles clorados utilizados en Estomatología (Endodoncia).

A pesar de la escasa relajación vascular producida por canfenol plus 3 %, las pruebas de Wilcoxon de los rangos con signos permitió a los autores de la investigación afirmar con un margen de error del 5 %, que el medicamento al 3 % produce una vasorrelajación significativa del músculo liso vascular *in vitro* tras la preactivación con $K^+=80$ ($Z < -1,96$; $p < 0,05$), hecho a tener en cuenta a la hora de su empleo como medicación intraconducto, por la posible implicación en alteraciones vasomotoras locales y sistémicas responsables del edema, el dolor y la irritación de los tejidos periapicales durante el manejo terapéutico del conducto dentario radicular infectado.

El modelo de regresión lineal mostró que la correlación entre las dos variables fue positiva y considerable; por su parte, el coeficiente de determinación evidenció que el 83 % de los cambios de la variable dependiente (tensión inducida por canfenol plus 3 % al minuto 10) pueden ser explicados por cambios en la variable independiente, en este caso, tensión inducida por acetilcolina al sexto minuto.

Los hallazgos observados demuestran que la variación de tensión del músculo liso de anillos de carótida externa producida por adición de 10 μ l de acetilcolina (Ach) 10^{-6} mol/L, puede predecir de forma significativa, la variación de tensión producida por igual dosis de canfenol plus al 3 %, tras preactivación de los anillos con solución Krebs $K^+=80$. Se corrobora de esta forma, la posible implicación del endotelio vascular y el factor de relajación endotelial (EDRF), en el efecto vasorrelajante producido por el medicamento.

Como *limitación* del estudio declaramos el bajo número de muestras y vasos sanguíneo estudiados.

CONCLUSIONES

Se concluye que soluciones de canfenol plus al 3 %, producen *in vitro*, un discreto, pero significativo efecto vasorrelajante del músculo liso vascular de anillos de carótida externa. Dicho efecto es dependiente de endotelio vascular, a partir de un factor relajante o hiperpolarizante derivado de este.

RECOMENDACIONES

Se recomienda para futuras investigaciones abarcar otras arterias más cercanas y relacionadas con la irrigación del diente y sus estructuras de soporte, con el fin de establecer parámetros de comparación con los hallazgos encontrados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Drugbank Online. Paraclorofenol [Internet]. Vancouver: Educe Design & Innovation Inc; 2016 [Citado 24/11/2020]. Disponible en: <https://go.drugbank.com/drugs/DB13154>
2. Rodríguez Guerrero ME. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano entre tres sustancias utilizadas como medicamento intraconducto contra cepas de *Enterococcus faecalis* [Tesis Especialidad Odontología]. Ecuador: Universidad Nacional de Loja; 2018 [Citado 24/11/2020]. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/20688/1/Tesis%20Marlon%20Rodriguez%20Guerrero.pdf>
3. Pedraza Maquera KI. Medicación intraconducto frente al *Enterococcus faecalis*. Revista Odontológica Basadrina [Internet]. 2019 [Citado 24/11/2020];3(2):49-55. Disponible en: <http://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/rob/article/view/893>
4. Himadri P, Arpita S, Lopamoodra D, Subrahata H, Subir S. Application of Intra canal Medicaments: A Review. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences [Internet]. 2019 [Citado 24/11/2020];18(1):14-21. Disponible en: <https://iosrjournals.org/iosr-jdms/papers/Vol18-issue1/Version-3/B1801031421.pdf>
5. Canalda C. Medicación intraconducto. En: Canalda C, Brau E. Endodoncia. Técnicas clínicas y Bases científicas [Internet]. España: Editorial Masson; 2019.p.184-93 [Citado 24/11/2020]. Disponible en: <https://booksmedicos.org/endodoncia-tecnicas-clinicas-y-bases-cientificas/#more-139329>
6. Rincón Silva NG, Moreno Piraján JC, Giraldo L. Remoción de fenol, p-nitrofenol y p-clorofenol desde carbones activados químicamente con ácido sulfúrico desde material lignocelulosico de desecho: efecto de la concentración del agente activante. Afinidad [Internet]. 2017 [Citado 24/11/2020];74(578):112-123. Disponible en: <https://www.raco.cat/index.php/afinidad/article/view/326513>
7. Low AM, Sormaz L, Kwan CY, Daniel EE. Actions of 4-chloro-3-ethyl phenol on internal Ca²⁺ stores in vascular smooth muscle and endothelial cells. British Journal of Pharmacology [Internet]. 2009;122(3):504-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701389>
8. Goss Sampson MA. Análisis estadístico con JASP: una guía para estudiantes [Internet]. Barcelona: Universitat Oberta de Catalunya; 2019 [Citado 18/03/2021]. Disponible en: <http://openaccess.uoc.edu/webapps/o2/bitstream/10609/102926/6/An%C3%A1lisis%20estad%C3%ADstico%20con%20JASP%20una%20gu%C3%ADa%20para%20estudiantes.pdf>
9. Marcelo Campos D. Óxido Nítrico. Fisiología y Farmacología. Rev Arg Anest [Internet]. 2001 [Citado 18/03/2021];59(4):297-303. Disponible en: https://www.anestesia.org.ar/search/articulos_completos/1/1/230/c.pdf
10. Brown JH, Brandt K, Wess J. Agonistas y antagonistas del receptor muscarínico. En: Brunton LL, Hilal Dandan R, Knollmann BC. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 13 ed [Internet]. Mexico: Editorial McGraw Hill Interamericana; 2019.p. 149-50 [Citado 18/03/2021] Disponible en: <https://booksmedicos.org/goodman-gilman-las-bases-farmacologicas-de-la-terapeutica-13a-edicion/#more-136377>
11. Flórez J. Farmacología general del sistema nervioso autónomo. En: Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A. Farmacología Humana. 6 ed [Internet]. Barcelona: Editorial Elsevier Masson; 2014.p.220 [Citado 18/03/2021]. Disponible en: <https://booksmedicos.org/farmacologia-humana-5a-edicion-jesus-flores/#more-50295>
12. Paredes Carbajal MC, Ramírez Rosas E, Cervantes Hernández I, Verdugo Díaz L, Torres Durán PV, Juárez Oropeza MA. Relación entre la disfunción endotelial y el estrés mental. Revista de Educación Bioquímica [Internet]. 2020 [Citado 18/03/2021];39(1):3-13. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=93155>
13. Carvajal Carvajal C. El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. Med Leg Costa Rica [Internet]. 2017 [Citado 18/03/2021];34(2).Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140900152017000200090
14. Garland CJ, Dora KA. EDH: hiperpolarización dependiente del endotelio y señalización microvascular. Acta Physiologica [Internet]. 2017;219(1):152-61. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/apha.12649>
15. Vives Guerrero C. Papel biológico del óxido nítrico [Tesis Especialidad]. España: Universidad Complutense; 2018 [Citado 18/03/2021]. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CARLOS%20VIVES%20GUERRERO.pdf>
16. Fernández Agudelo S, Zeledón Corrales N, Rojas Jara A. Rol del óxido nítrico en la fisiopatología del ictus cerebral. Revista Médica Sinergia [Internet]. 2020 [Citado 21/03/2021];5(1):[Aprox. 2 p]. Disponible en: <https://revistamedicasinerгия.com/index.php/rms/article/download/339/707?inline=1>
17. Prieto Ocejo D. Reactive oxygen species: role in vascular function and in metabolic disease-associated endothelial dysfunction. An Real Acad Farm [Internet]. 2019 [Citado 18/03/2021];89(4):288-300. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/346966600_Reactive_oxygen_species_role_in_vascular_function_and_in_metabolic_disease-associated_endothelial_dysfunction
18. Syed AU, Thanhmai L, Navedo MF, Nieves Cintrón M. Canales iónicos y su regulación [Internet]. London: IntechOpen; 2019. Disponible en: <http://doi.org/10.5772/intechopen.88962>
19. Bergantin LB. The Control of Vascular Smooth Muscle Tone: Concepts Coming from Ca²⁺ and cAMP Signalling. J Thrombo Cir [Internet]. 2018 [Citado 05/09/2020];4:1000e111. Disponible en: <https://www.longdom.org/open-access/the-control-of-vascular-smooth-muscle-tone-concepts-coming-fromca2-and-camp-signalling-2572-9462-1000e111.pdf>
20. Aiello EA. Canales de potasio y calcio en el músculo liso vascular. En su: Hipertensión arterial, epidemiología, fisiología, fisiopatología, diagnóstico y terapéutica [Internet]. Argentina: Sociedad Argentina de Hipertensión Arterial; 2017.p.85-92 [Citado 05/09/2020]. Disponible en: <http://www.saha.org.ar/pdf/libro/Cap.019.pdf>

Conflicto de intereses

Los autores del presente artículo científico declaran no tener conflictos de intereses.

Contribución de autoría

Oscar Rodríguez Reyes: Conceptualización; análisis formal; investigación; metodología; validación; visualización; redacción – borrador original; redacción – revisión y edición.

Robert Patejdl: Conceptualización; análisis formal; metodología; administración del proyecto; recursos; validación.

Thomas K. Noack: Conceptualización; análisis formal; adquisición de fondos; metodología; administración del proyecto; recursos; supervisión; validación.

Ramón Enrique García Rodríguez: Análisis formal; visualización; redacción – borrador original; redacción – revisión y edición.

Ana Ibis Bosch Nuñez: redacción – borrador original; redacción – revisión y edición.

Todos los autores participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final del artículo.