



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS  
DE HIDALGO**

**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

TESIS

**EFFECTO CARDIOVASCULAR DEL BUTIRATO EN *Rattus norvegicus***

AUTOR:  
MARÍA VIANEY CASTAÑEDA RUBIO

PARA OBTENER EL TITULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

DIRECTOR DE TESIS:  
MAESTRO EN CIENCIAS JUAN CARLOS CORTÉS GARCÍA

CO-DIRECTOR DE TESIS:  
MAESTRA EN FARMACOLOGIA BASICA LETICIA PÉREZ ORDAZ

MORELIA, MICHOACÁN MEXICO JULIO 2015



El presente trabajo se desarrolló en los laboratorios de Toxicología y de Farmacología I de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez", bajo la dirección del M.C. Juan Carlos Cortes García y la codirección de M.F.B. Leticia Pérez Ordaz.

## ÍNDICE

I. LISTA DE FIGURAS: .....	3
II. LISTA DE TABLAS .....	4
III. LISTA DE ABREVIATURAS .....	5
RESUMEN.....	6
ABSTRAC.....	7
I. Introducción .....	8
1. Marco teórico:.....	8
2. Alimento funcional .....	8
3. Prebióticos.....	8
4. Fibra dietética .....	9
4.1. Componentes de la Fibra dietética.....	9
5. Ácidos grasos de cadena corta.....	10
5.1. Butirato .....	10
6. Arterias.....	11
6.1. Arterias elásticas.....	12
6.2. Arterias musculares .....	12
6.3. Arteriolas.....	13
6.4. Capilares.....	13
7. Resistencia vascular .....	13
8. Neurotransmisores .....	13
9. Receptores adrenérgicos.....	14
9.1. Mecanismo de acción .....	15
9.2. Fenilefrina .....	16
10. Función endotelial .....	16
11. Fibra y riesgo cardiovascular.....	16
12. Justificación .....	18
II. Hipótesis: .....	19
III. Objetivos .....	19
13. Objetivo general:.....	19
14. Objetivo específicos: .....	19
IV. Materiales y métodos:.....	20
15. Solución fisiológica de Krebs.....	20

16.	Solución de butirato de sodio .....	20
17.	Material biológico .....	20
18.	Análisis de datos: .....	21
V.	Resultados: .....	21
VI.	Discusión de resultados:.....	30
VII.	Conclusiones: .....	32
VIII.	Referencias: .....	33

**I. LISTA DE FIGURAS:**

Figura I: Efecto del butirato en la proliferación celular de los colonocitos normeles y canceroso..... 10

Figura II: Estructura arterial..... 12

Figura III: Biosíntesis de catecolaminas..... 14

Figura IV: Clasificación de receptores adrenérgicos ..... 15

Figura V. Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento abdominal de la arteria aorta con endotelio.. ..... 22

Figura VI. Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento abdominal de la arteria aorta sin endotelio.. ..... 23

Figura VII. Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento torácico de la arteria aorta con endotelio.. ..... 24

Figura VIII. Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento torácico de la arteria aorta sin endotelio.. ..... 25

## II. LISTA DE TABLAS

Tabla I. Solución fisiológica de Krebs .....	20
Tabla II: Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia del efecto del butirato sobre la contracción en el segmento abdominal de la arteria con endotelio de <i>Rattus norvegicus</i> .....	26
Tabla III: Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia del efecto del butirato sobre la contracción en el segmento abdominal de la arteria sin endotelio de <i>Rattus norvegicus</i> . ....	27
Tabla IV: Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia del efecto del butirato sobre la contracción en el segmento torácico de la arteria con endotelio de <i>Rattus norvegicus</i> .....	28
Tabla V: Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia del efecto del butirato sobre la contracción en el segmento torácico de la arteria sin endotelio de <i>Rattus norvegicus</i> .....	29

### III. LISTA DE ABREVIATURAS

AD	Adrenalina
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ATP	Adenosín Triifosfato
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
BRs	Barorreceptores
pD <sub>2</sub>	Logaritmo negativo de la concentración efectiva 50
EC <sub>50</sub>	Concentración efectiva 50
E <sub>max</sub>	Efecto máximo
Fen	Fenilefrina
FD	Fibra dietética
GDP	Guanidín difosfato
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
GTP	Guanosín trifosfato
G	Gramos
LDL	Lipoproteína de baja densidad (Low Density Lipoprotein)
NA	Noradrenalina
SNS	Sistema Nervioso Simpático

## RESUMEN

El butirato es un metabolito derivado de la fermentación bacteriana anaerobia de la fibra dietética; este ácido graso de cadena corta tiene efectos benéficos en los colonocitos, mediante el aumento de la producción de energía y la proliferación celular, exhibe actividad antiinflamatoria potente, entre otras funciones que se han demostrado en múltiples estudios. Recientemente se reportó una asociación entre la presencia o ausencia de bacterias fermentadoras de fibra en el colon de ratas, con efectos vasculares de la fibra, los ácidos grasos de cadena corta pueden participar en el efecto vascular inducido por la fibra.

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar el efecto inducido por el butirato sobre la arteria aorta de ratas

Se utilizaron 9 ratas hembra de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de aproximadamente 300 g de peso, sin control de ciclo estral, las cuales fueron sacrificadas conforme a la Norma Oficial Mexicana NOMZOO062, 1999. Se les extrajo la arteria aorta, y se dividió en dos segmentos anatómicos (torácico y abdominal). Se obtuvieron anillos de unos 3-5 mm de longitud, con y sin endotelio. Se colocaron en cámaras de órgano aislado conectadas a transductores de tensión isométrica FT03 Grass a través de ganchos de nickrom. Se desarrollaron curvas concentración respuesta a fenilefrina ( $1 \times 10^{-9} \text{M}$  a  $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ) en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de butirato ( $1 \times 10^{-9} \text{M}$  a  $1 \times 10^{-7.5} \text{M}$ ). Los registros de tensión isométrica fueron obtenidos a través de un equipo MP100 de BIOPAC® y almacenados en un equipo de cómputo para su evaluación posterior. Los datos fueron analizados utilizando el software Acknowledge, Excel, Win Nan Line y Sigma Plot. Los datos se compararon a través de un análisis de Anova seguido de una prueba de Dunn's.

Los resultados demostraron que la fenilefrina induce contracción en todos los segmentos arteriales, y el butirato modifica la respuesta contráctil inducida por fenilefrina, ya que en los segmentos torácico y abdominal con endotelio la concentración  $1 \times 10^{-9} \text{M}$  de butirato favorece el desarrollo de tensión y en los mismos segmentos la concentración  $1 \times 10^{-7.5} \text{M}$  de butirato se asocia con menor desarrollo de tensión arterial. Asimismo se observó, de manera consistente, que la presencia de butirato disminuye la respuesta contráctil de forma independiente del endotelio, tanto en los segmentos torácica como abdominal.

Con base en lo anterior se puede concluir que, el butirato tiene la capacidad de modificar la respuesta contráctil inducida por la fenilefrina, de manera independiente del endotelio vascular en la arteria aorta de rata. Evento que tiene lugar dentro de un rango de concentraciones del orden nano a micro molar.

**Palabras clave:** Hipertensión arterial, arteria aorta, ácidos grasos de cadena corta, nutraceúticos



## **ABSTRAC**

Butyrate is a metabolite derived from the anaerobic bacterial fermentation of dietary fiber; this short chain fatty acid has beneficial effects in colonocytes, promoting energy production and cell proliferation. Butyrate exhibits potent anti-inflammatory activity, among other functions that have been shown in multiple studies. An association between the presence or absence of fiber fermenting bacteria in the colon of rats with vascular effects of fiber was recently reported for the above, the short chain fatty acids may participate in the vascular effects induced by dietary fiber.

The aim of this study was to characterize the effect induced by butyrate on rat artery aorta.

9 female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) weighing approximately 300g were used, not the estrous cycle of the rats was recorded, which were sacrificed according to the guidelines of the Official Mexican Standard NOMZOO062, 1999. The aorta is extracted rats, and was divided into two anatomical segments (thoracic and abdominal). Rings 3-5 mm in length were obtained, with and without endothelium. They were placed in isolated organ chambers connected to isometric force transducers Grass FT03. Phenylephrine concentration response curves ( $1 \times 10^{-9} \text{M}$  to  $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ) in the absence and presence of increasing concentrations of butyrate ( $1 \times 10^{-9} \text{M}$  to  $1 \times 10^{-7.5} \text{M}$ ) were developed. The isometric tension of the aorta was registered with the MP100 BIOPAC<sup>®</sup> instrument and a computer. Data were analyzed using several Acknowledge, Excel, Win Non Line and Sigma Plot software. The difference between control and treated groups was detected by ANOVA followed by Dunn's test.

The results showed that the phenylephrine induced contraction in all arterial segments, and butyrate alters the phenylephrine-induced contractile response as in the thoracic and abdominal segments with endothelium,  $1 \times 10^{-9} \text{M}$  concentration of butyrate favors the development of tension and in the same segments the  $1 \times 10^{-7.5} \text{M}$  butyrate concentration is associated with lower blood pressure development. It was also consistently observed that the presence of butyrate decreased the contractile response independently of the endothelium, both in the thoracic and abdominal segments.

Based on the above it can be concluded that butyrate has the ability to modify the phenylephrine-induced contractile response independently of the vascular endothelium in rat aorta. Event that takes place within a range of concentrations in the nano to micro molar.

**Keywords:** Hypertension, aorta artery, short chain fatty acid, nutraceuticals

## **I. Introducción**

### **1. Marco teórico:**

En la última década, se le ha dado importancia al consumo de fibra dietética debido a que la población actual enfrenta un riesgo creciente de padecer enfermedades relacionadas a una alimentación deficiente, tales como diabetes, cáncer de colon, hipertensión y otros desordenes metabólicos(1). Desde los trabajos de Burkitt (2), múltiples estudios epidemiológicos y en animales de experimentación han mostrado que la ingesta de una dieta rica en fibra se relaciona con un menor riesgo y mortalidad por cáncer colorrectal. La fibra, el almidón resistente y los fructooligosacáridos escapan a la digestión en el estómago e intestino delgado y sufren un proceso de fermentación anaerobia en el colon produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC), fundamentalmente ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico de los cuales se ha observado que es el ácido butírico tiene los efectos más importantes sobre las células epiteliales colónicas, tanto in vitro como in vivo, por lo que se le reconoce como el principal componente protector de las dietas ricas en fibra frente a la carcinogénesis colónica (3). El butirato ejerce también efectos antiinflamatorios en el intestino debido a la supresión del factor nuclear Kappa B, así como existen evidencias de que modula el estrés oxidativo. Se ha demostrado que el butirato afecta positivamente varios componentes de la barrera de defensa colónica, resultando en una protección mejorada contra antígenos lumbinales (1).

Investigadores de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, descubrieron que el butirato, un compuesto presente en verduras, frutas, legumbres y otros alimentos ricos en fibra, como son la avena, linaza y arroz integral, detiene la proliferación de células cancerosas (4,5).

En noviembre del 2010 Nilsson A. y colaboradores también afirman que una cena rica en cereales en carbohidratos indigestibles puede aumentar la concentración plasmática de butirato a la mañana siguiente, esto podría ser el mecanismo por el cual los cereales integrales ayudan a prevenir la diabetes y enfermedades del corazón (6).

### **2. Alimento funcional**

Los denominados alimentos funcionales constituyen un gran avance en el recorrido hacia una nutrición óptima personalizada que supere en niveles de salud la simple cobertura de las ingesta recomendada. De acuerdo al Instituto Internacional de Ciencias de la Vida en Europa: “Un alimento puede considerarse funcional si ha demostrado satisfactoriamente que afecta de manera benéfica a una o más funciones del organismo, más allá de sus efectos nutricionales, de manera que es relevante tanto para mejorar el estado de salud y bienestar como para reducir alguno de los factores de riesgo de enfermedades” (7).

### **3. Prebióticos**

Los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles que afectan de manera útil al hospedero estimulando el crecimiento o la actividad de una o varias bacterias del colon, y por tanto mejoran la salud. Su fermentación puede promover algunas funciones fisiológicas específicas a través de la liberación de metabolitos de las bacteria en especial los ácidos grasos de cadena corta al lumen intestinal, estos pueden actuar directa o indirectamente sobre las células intestinales así como participar en el control de varios procesos de proliferación, la carcinogénesis colorectal, la absorción de minerales y la eliminación de compuestos nitrogenados (8).

#### 4. Fibra dietética

La fibra es un nutriente esencial en una dieta saludable, que contribuye al mantenimiento de la salud y a la prevención de la aparición de enfermedades, además de los efectos conocidos en la regulación del tránsito intestinal. Como resultado de la fermentación de la fibra dietética, se producen ácidos grasos de cadena corta, los cuales son de suma importancia en el colon a nivel sistémico (9).

El interés en la fibra dietética (FD) aparece a partir de los trabajos de Burkitt y Cols., quienes se interesaron en la relación que hay entre el consumo inadecuado de fibra y el aumento de enfermedades degenerativas en las sociedades desarrolladas (10).

##### 4.1. Componentes de la Fibra dietética

Los componentes principales de la fibra son:

*Polisacáridos no almidón:* Polímeros de carbohidratos que contienen al menos veinte residuos de monosacáridos. El almidón digerido y absorbido en el intestino delgado es un polisacárido, por ello se utiliza el término polisacáridos no almidón para aquellos que llegan al colon y poseen los efectos fisiológicos de la fibra. Podríamos clasificarlos en celulosa,  $\beta$ -glucanos, hemicelulosas, pectinas y análogos, gomas y mucílagos (10).

*Oligosacáridos resistentes:* Hidratos de carbono con nivel de polimerización menor, tienen de tres a diez moléculas de monosacáridos. Se dividen en fructooligosacáridos (FOS) e inulina, galactooligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS) e isomaltooligosacáridos (IMOS) (10).

*Lignina:* No es un polisacárido, sino un polímero aromático complejo que contiene ácidos y alcoholes fenilpropílicos, es resistente a la digestión en el intestino delgado y no es atacada por la microflora bacteriana del colon (11).

*Sustancias asociadas a polisacáridos no almidón:* Poliésteres de ácidos grasos e hidroxiácidos de cadena larga y fenoles. Los más importantes son la suberina y la cutina. (10).

*Almidones resistentes:* Son la suma del almidón y de sus productos de degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de los individuos sanos (10).

La fibra dietética se clasifica de una forma simplificada en:

Fibra soluble en agua (viscosas), que es fermentada en el colon por las bacterias (incluye pectinas, gomas, mucílagos,  $\beta$ -glucanos y algunas hemicelulosas) (12). Las fibras solubles en contacto con el agua forman un retículo donde quedan atrapadas, originándose soluciones de gran viscosidad. Los efectos derivados de la viscosidad de la fibra son los responsables de sus acciones sobre el metabolismo lipídico, hidrocarbonado y en parte su potencial anticarcinogénico (10).

Fibra insoluble o poco solubles en agua (no viscosa) que sólo es fermentada en una parte limitada del colon (incluye celulosa, ligninas y algunas hemicelulosas), es capaz de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad (12).

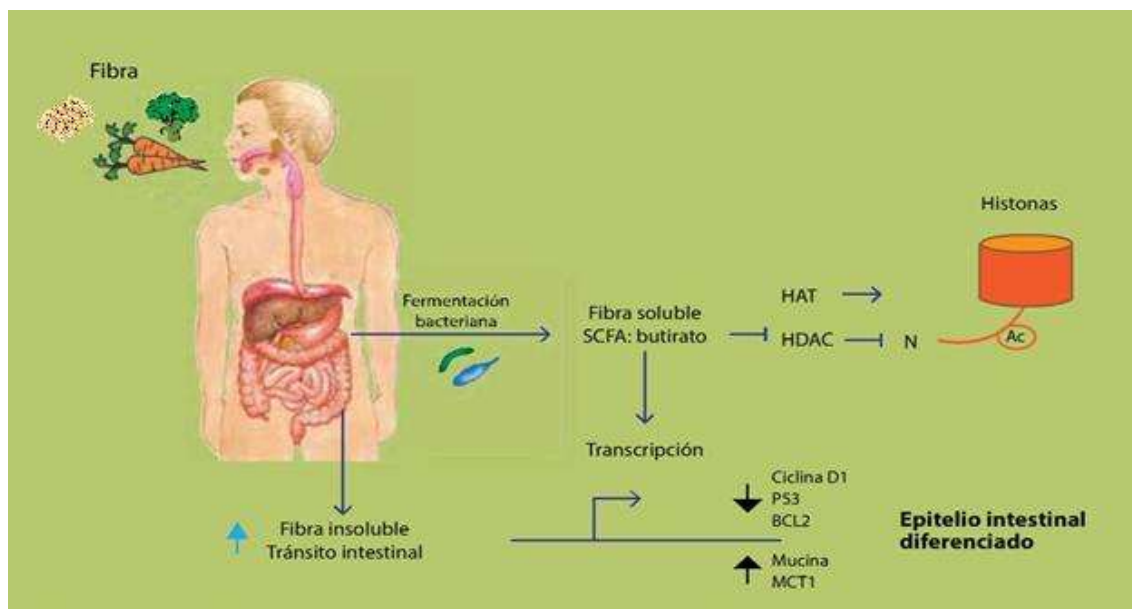
## 5. Ácidos grasos de cadena corta

Los principales productos de la fermentación de la fibra son: ácidos grasos de cadena corta (AGCC), gases (hidrógeno, anhídrido carbónico y metano) y energía. Los polímeros de glucosa son hidrolizados a monómeros por acción de las enzimas extracelulares de las bacterias del colon (13). El metabolismo continúa en la bacteria hasta la obtención de piruvato, a partir de la glucosa, en la vía metabólica de Embden-Meyerhoff. Este piruvato es convertido en ácidos grasos de cadena corta (AGCC): acetato, propionato y butirato (10).

Se considera que estos AGCC son productos de la fermentación de la fibra dietética en el intestino grueso y confieren efectos benéficos a ese nivel, ejerciendo efectos tróficos en las células no transformadas del colon, al disminuir la proliferación y mejorar la diferenciación en las células tumorales de colon (14). Además, son aprovechados normalmente por la mucosa gastrointestinal como sustrato energético para mantener la integridad y la función (15).

### 5.1. Butirato

El butirato es una molécula altamente energética rápidamente absorbible y metabolizable, es el combustible preferido por las células del epitelio colónico, aportando un 70% del consumo total de energía (Figura I) (15).



**Figura I:** Efecto del butirato en la proliferación celular de los colonocitos normales y cancerosos. Los vegetales ingeridos en la dieta contienen fibra insoluble que le dan volumen al bolo fecal y aceleran su tránsito intestinal, por tanto, disminuyen la exposición de los compuestos carcinogénicos derivados de la dieta. Los vegetales también contienen fibra soluble que es fermentada por las bacterias presentes en la luz del colon produciendo AGCC, incluyendo el butirato. El butirato inhibe a las desacetilasas de histona que resulta en un aumento de la acetilación de histonas que sostiene la apertura de la cromatina y transcripción genética. Butirato induce y reprime la expresión de diferentes genes que en conjunto favorecen un programa normal de diferenciación del epitelio intestinal. Este mecanismo de regulación epigenética impide la proliferación celular descontrolada e induce apoptosis con la consecuente exfoliación de los colonocitos de la luz intestinal.

(Tomado de Nilsson A. y colaboradores Journal of nutrition)

El butirato influye en diversas funciones celulares, se conoce su potencial anticarcinogénico dada la habilidad de influenciar la expresión de genes, la cual se atribuye a la inhibición de la enzima histona deacetilasa (HDAC) (16). El butirato ejerce efectos antiinflamatorios en el intestino debido a la supresión del factor nuclear Kappa- $\beta$ , que regula la expresión de genes que codifican para citocinas proinflamatorias, así como quimiocinas y prostaglandinas(17). Además, existen evidencias de que el butirato modula el estrés oxidativo, en dos estudios, la preincubación de colonocitos de rata (18) y de humano (19) con butirato demostró una reducción significativa de daño al DNA inducido por peróxido de hidrógeno.

El butirato sódico es una materia prima con demostrados efectos bactericidas (tanto contra bacterias gramnegativas (20) como contra grampositivas (21) si se refuerza con aceites esenciales). Los efectos se pueden resumir, por tanto, en control de la barrera intestinal, reducción de patógenos, aumento de síntesis de mucina, regulación de la respuesta inmune, y efectos en el epitelio intestinal: controlando la apoptosis celular (reduciendo la degradación de células normales y aumentando la de las células malignas), es fuente de energía para los colonocitos y enterocitos (en forma de ATP) y dirige la proliferación, diferenciación y maduración de las células intestinales (22).

Se conoce que, el efecto de los ácidos grasos de cadena corta se realiza mediante su interacción con los receptores GPR41 y GPR43, los cuales pertenecen a la familia GPR40. La activación de GPR41 inhibe la síntesis de GMPc en tanto que la activación de GPR43 puede inhibir o activar la síntesis de GMPc. El GPR41 se expresa en intestino, páncreas, bazo y tejido adiposo (en ratones Knockout para GPR41 se encontró que tienen un contenido menor de grasa) y GPR43 se expresa en tejido adiposo, intestino, células de la sangre mononucleares, eosinófilos y basófilos. Los ratones knockout para GPR43 presentaron colitis exacerbada, lo que deja una evidencia clara de la relación entre el receptor GPR43 y la enfermedad inflamatoria intestinal. (23,24).

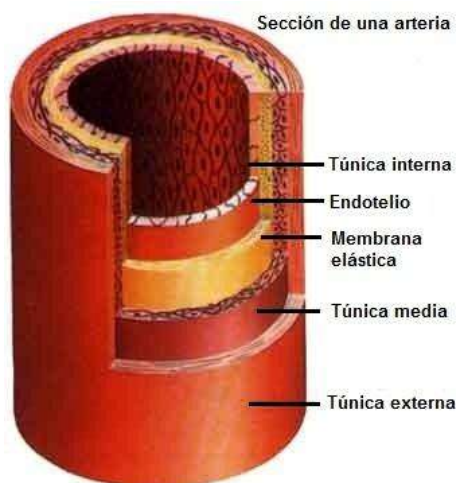
Los receptores GPR41 y GPR43 no solo están ubicados en los colonocitos, sino también en células extra colónicas, lo que indica una probable absorción del butirato y otros ácidos grasos de cadena corta que de esta forma puedan interactuar con sus receptores para producir efectos en otras células del organismo (23).

## **6. Arterias**

Las arterias son vasos por los que circula la sangre del corazón a los tejidos con el oxígeno y los nutrientes requeridos para estos. Las arterias elásticas de gran calibre nacen en el corazón y se ramifican (dividen) en arterias musculares de diámetro intermedio. Estas arterias musculares se dividen a su vez en otras más pequeñas: las arteriolas (25). Cuando las arteriolas entran en los tejidos se ramifican en incontables vasos microscópicos, conocidos como capilares.

La pared de las arterias tiene tres capas o tunicas (Figura II):

- Túnica o Capa Interna,
- Túnica o Capa Intermedia y
- Túnica o Capa Externa.



**Figura II:** Estructura arterial

(Tomada de <http://www.uv.mx/personal/cblazquez/files/2012/01/Sistema-Arterial.pdf>)

Las paredes de algunas de las arterias y arteriolas poseen, además de su túnica elástica, una túnica muscular. La nutrición de estas túnicas corre a cargo de los *vasa vasorum*; y su inervación, de los *nervi vasorum* (fenómenos vasomotores). Dada la abundancia de fibras elásticas, las arterias suelen tener alta distensibilidad, lo cual quiere decir que su pared se estira o expande sin desgarrarse en respuesta a pequeños incrementos de presión. (25).

Las arterias o vasos de resistencia se clasifican en tres tipos:

- Arterias elásticas o grandes
- Arterias musculares o medianas
- Arterias pequeñas y arteriolas

### **6.1. Arterias elásticas**

Las arterias elásticas transportan grandes caudales de sangre y a su vez, soportan importantes cambios cíclicos en el volumen de sangre que transportan. Los vasos más representativos de esta categoría son la arteria aorta, la pulmonar y sus ramas principales, en este tipo de arterias abundan las láminas elásticas en la capa media. Las fibras musculares lisas de la capa media sintetizan el colágeno, la elastina y las demás moléculas de la matriz extracelular. (26).

### **6.2. Arterias musculares**

En primer lugar, es interesante destacar que no existe un punto de diferenciación exacto entre este tipo de arterias y las elásticas, sino que se produce un cambio gradual desde éstas hacia las arterias musculares y muchas veces hay vasos intermedios entre ambas. La principal diferencia entre estos dos tipos de vasos es que en la capa media de las arterias musculares desaparecen las láminas elásticas para dejar paso a una predominancia casi absoluta de fibras musculares lisas. Por esta misma razón, al faltar las láminas elásticas de la capa media, en este tipo de arterias se hace evidente la presencia de las membranas elásticas interna y externa (26).



### **6.3. Arteriolas**

Una arteria pequeña tiene hasta alrededor de 8 capas de células musculares lisas en su capa media, mientras que una arteriola no supera las 3 capas. La función principal de las arteriolas es controlar el flujo hacia el lecho capilar, regulando la contracción del músculo liso de su capa media, para reducir o bloquear la entrada de sangre a los capilares. La capacidad de contracción y de relajación de una arteriola es notoria, por lo que un gran aumento o una gran disminución de la resistencia vascular ejercen un efecto directo sobre el flujo sanguíneo y la tensión arterial sistémica, regulación que permite dirigir la sangre hacia el sitio donde más se necesite (26).

### **6.4. Capilares**

Los capilares son arterias que al entrar en los tejidos se ramifican en incontables vasos microscópicos que por lo regular conectan las arteriolas con las vénulas. Estas llegan a casi todas las células del cuerpo, si bien su distribución varía con la actividad metabólica del tejido correspondiente. Su función principal consiste en permitir el intercambio de nutrimentos y desechos entre la sangre y las células de los tejidos a través del líquido intersticial. (25).

## **7. Resistencia vascular**

La resistencia vascular está regulada por el tono muscular de las arteriolas, pero la resistencia total de una red de vasos ubicados en forma paralela es menor que la resistencia de aquel vaso que aisladamente presente la menor resistencia. La resistencia vascular se incrementa cuando hay vasoconstricción generalizada, mientras que disminuye cuando se produce vasodilatación. (27).

El tono muscular arteriolar es regulado en el corto plazo por mecanismos extrínsecos e intrínsecos: Son extrínsecos: la regulación nerviosa; la humoral; y la hormonal; Son intrínsecos factores autocrinos, paracrinos e intracrinos, tales como los derivados del endotelio y el metabolismo celular. En la regulación nerviosa interviene el control autonómico, en el que participa esencialmente el sistema nervioso simpático (SNS), los barorreceptores (BRs) arteriales y sus reflejos, el centro vasomotor de la base cerebral, y otros núcleos y áreas cerebrales. En estos sitios se encuentran los neurotransmisores (27).

## **8. Neurotransmisores**

Los efectos de las catecolaminas son mediados por receptores de superficie celular. Son usuales los adrenorreceptores acoplados a proteínas G (28).

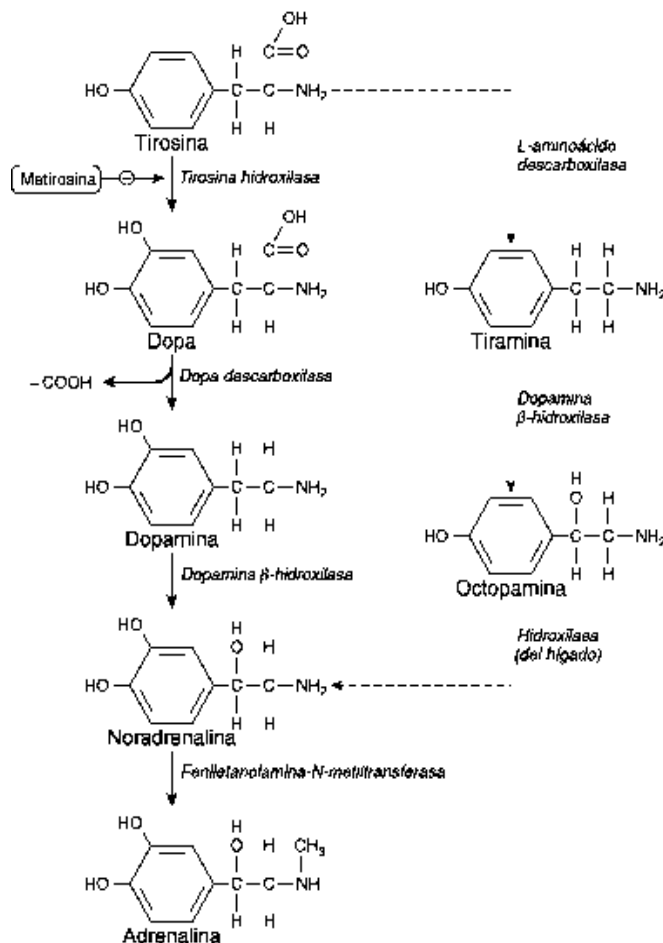
Las catecolaminas son importantes reguladores endógenos de la secreción de hormonas de varias glándulas. La acción de los simpaticomiméticos sobre el sistema nervioso central varía de manera notoria dependiendo de su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica. Las catecolaminas son casi por completo excluidas por esa barrera y se observan efectos subjetivos en el sistema nervioso central sólo las más altas velocidades de inyección en solución intravenosa (28).

En las catecolaminas endógenas encontramos a la adrenalina, noradrenalina y dopamina.

La adrenalina es un agonista de receptores  $\alpha$  y  $\beta$ , por lo que se trata de un vasoconstrictor y estimulante cardíaco muy potente (28).

La noradrenalina es un agonista de receptores  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ , que también activan los receptores  $\beta_1$  con una potencia similar a la de la adrenalina, pero tiene relativamente poco efecto sobre los receptores  $\beta_2$ . La noradrenalina (NA) es el neurotransmisor del SNS sintetizado (figura III) en sus terminaciones nerviosas (28).

La dopamina es el precursor inmediato en la síntesis de noradrenalina.



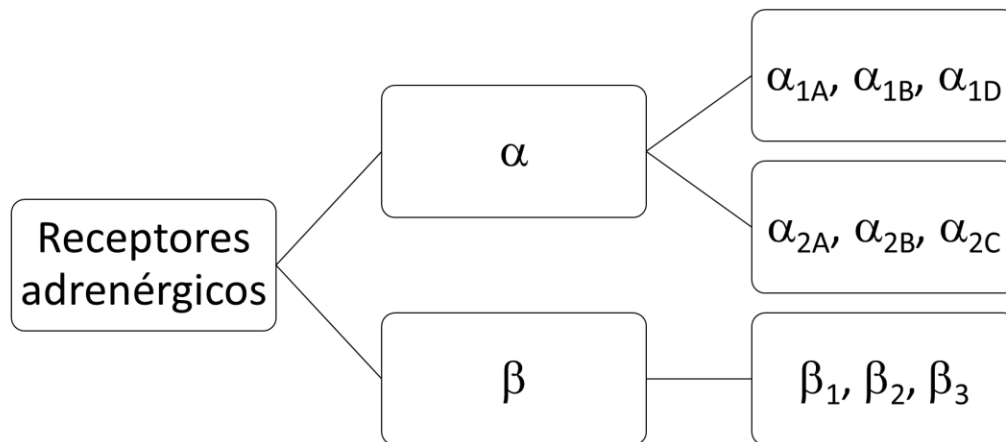
**Figura III:** Biosíntesis de catecolaminas. Es una etapa cineticolimitante, que incluye conversión de tirosina a dopa, que puede ser inhibida por la metirosina (α-metiltirosina). La otra vía señalada por flechas punteadas no ha tenido importancia fisiológica en los seres humanos. Sin embargo, puede acumularse tiramina y octopamina en sujetos tratados con inhibidores de la monoaminooxidasa.

(Tomado de Katzun B. Fármacos que actúan en el sistema nervioso autónomo)

## 9. Receptores adrenérgicos

Los receptores adrenérgicos se encuentran en la membrana celular y por ello entran dentro de la clasificación de receptores membranales, están involucrados en la contracción, median acciones centrales y periféricas y se activan por los agonistas adrenalina y noradrenalina, produciendo una respuesta celular. Son el objetivo de muchos fármacos de importancia terapéutica utilizados en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, asma, obesidad y dolor. Los receptores adrenérgicos se dividen en dos grandes categorías: receptores alfa y receptores beta (Figura IV) (30,31).





**Figura IV:** Clasificación de receptores adrenérgicos

(Tomado de Zhong H. y Minneman K. P. Alpha1-adrenoceptor subtypes)

Los receptores alfa están localizados en el músculo liso vascular, terminales presinápticas nerviosas, en plaquetas sanguíneas, en células de grasa (lipocitos) y en el cerebro (33).

En el músculo liso vascular la localización de los receptores  $\alpha_1$  es en la membrana de células efectoras postsinápticas y funcionan en respuesta a la liberación del neurotransmisor noradrenalina o la hormona adrenalina (34). Los receptores  $\alpha_2$  se encuentran tanto en el sistema nervioso central como en el sistema nervioso periférico y en ambos su localización es presináptica; este subtipo está involucrado en funciones inhibitorio (31).

Los receptores beta se localizan en los músculos liso y cardiaco, en los bronquios, en algunas terminales presinápticas nerviosas, en lipocitos y en el cerebro (34). El receptor  $\beta_1$  es de tipo postsináptico, se localiza principalmente en el corazón, su activación provoca un incremento de la fuerza y de la velocidad de contracción del mismo. El subtipo  $\beta_2$  es de igual manera postsináptico, se localiza en diversos tejidos como vasos, bronquios, hígado, aparato gastrointestinal, músculo esquelético, entre otros y su activación provoca vasodilatación, broncodilatación, relajación del tubo digestivo, etc (31).

### 9.1. Mecanismo de acción

En el músculo liso los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , una vez que interaccionan con su ligando, noradrenalina (NA) o adrenalina (AD), se activa la proteína Gq/11, esta proteína en reposo se encuentra asociada a guanidin difosfato (GDP), la activación de la proteína G requiere del intercambio de GDP por GTP, lo que ocasiona la disociación de la subunidad  $\alpha$  y esto conduce a la activación de la vía de señalización mediada por la acción de la fosfolipasa C. Esta enzima libera inositol-1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) y diacilglicerol (DAG) (segundos mensajeros que amplifican la señal), el DAG activa a la proteína cinasa C (PKC) y el  $IP_3$  libera  $Ca^{2+}$  de los depósitos intracelulares, aumentando la concentración de este ion en el interior de la célula, lo cual induce la contracción muscular (31,35,36).

La activación de la familia de receptores  $\alpha_2$ : La interacción de los ligandos NA y AD con estos receptores activa a las proteínas Gi (inhibitorias), en este caso la subunidad  $\alpha$  unida a GTP, disminuye la actividad de la adenilato ciclasa, estabilizándola en su estado

inactivo y por tanto disminuyendo la concentración de AMPc, y bloqueando la señalización ulterior. En tanto que, la subunidad  $\beta\gamma$  parece activar la apertura de canales de  $K^+$  induciendo una hiperpolarización de la célula (31).

La activación de los receptores  $\beta$  produce estimulación de la enzima adenilciclase, mediada por proteínas  $G_s$  (estimuladoras) o por inhibición de las proteínas  $G_i$  produciendo un aumento en la concentración de AMPc intracelular que a su vez activa proteínas cinasas responsables de la fosforilación de diversas proteínas enzimáticas y estructurales que modulan numerosas funciones (37).

Los receptores  $\beta_1$  se encuentran en el corazón y están acoplados a proteínas  $G_s$  para que se produzca el AMPc, y son estimulados por NA y AD en forma equipotente. La activación de los receptores  $\beta_2$  produce un aumento en la liberación de neurotransmisores desde la terminación nerviosa. Los receptores  $\beta_3$  principalmente se expresan en tejido adiposo, su activación por la NA, favorece la lipólisis y la termogénesis y finalmente, los receptores  $\beta_4$  localizados en el tejido cardiaco, cuya activación determina un incremento en la fuerza y velocidad de contracción del corazón (30).

## **9.2. Fenilefrina**

La fenilefrina (fen) es un agonista simpaticomimético, relativamente puro, que aumenta la resistencia arterial periférica y disminuye la capacidad venosa. La mayor resistencia arterial suele llevar a un incremento de la presión arterial dependiente de la dosis (28).

El efecto más evidente de la fenilefrina es la activación de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos del músculo liso vascular (agonista  $\alpha_1$ - selectivo). Desde el punto de vista químico, difiere de la adrenalina sólo en carácter de un grupo hidroxilo en la posición 4 del anillo de benceno (30).

## **10. Función endotelial**

El endotelio vascular, un órgano estructuralmente simple y funcionalmente complejo, es una capa unicelular que cubre la superficie interna de los vasos sanguíneos y conforma la pared de los capilares. Lejos de ser sólo una barrera mecánica entre la sangre y los tejidos, es un órgano activamente comprometido en una gran variedad de procesos fisiológicos y patológicos. Debido a su ubicación estratégica, detecta cambios en las fuerzas hemodinámicas que actúan sobre la pared vascular, así como señales químicas transportadas por la sangre y responde a ellas liberando sustancias vasoactivas, algunas de las cuales tienen funciones antagónicas como vasodilatadores y vasoconstrictores o hemostáticos y antihemostáticos (38).

## **11. Fibra y riesgo cardiovascular**

Las fibras, en especial las aportadas por cereales, sobre todo los integrales, ha demostrado tener un efecto protector cardiovascular. La fibra se puede encontrar en forma soluble e insoluble, sin embargo, la fibra insoluble no influye de forma significativa en el nivel de colesterol sérico total y en el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) (12). Es posible que otras acciones biológicas ligadas al consumo de cereales y de fibra que impliquen los efectos de otros componentes, como un mayor aporte de antioxidantes (vitamina E), magnesio, fitoesteroles y folatos, que actúen a diferentes niveles, optimizando no sólo el perfil lipídico, sino también mejorando la coagulación o activando la función endotelial (aumentando la liberación de óxido nítrico) o

disminuyendo las concentraciones de homocisteína a través del aporte de folatos. Toda esta diversidad de factores contribuye a disminuir los fenómenos de aterotrombosis (39).

En el 2011 López Arias y colaboradores reportaron que los extractos de fibra soluble de *Amaranthus hypochondriacus* y *Linum usitatissimum* disminuyen la respuesta contráctil del musculo liso vascular de *Rattus norvegicus* (40).

Estudios en nuestro laboratorio reportaron en 2013 que, la fibra soluble de *Avena sativa*, disminuye la respuesta contráctil del musculo liso vascular y este efecto depende de la presencia de *lactobacillus* intestinales, sugiriendo la participación de los productos de fermentación de la fibra soluble en el efecto sobre el musculo liso vascular.

## **12. Justificación**

Sabemos que la fibra dietética es un conjunto de carbohidratos y lignina intrínsecos e intactos de las plantas. En los últimos tiempos se ha dado mayor importancia al consumo de fibra dietética debido a que la población actual enfrenta un riesgo creciente de padecer enfermedades relacionadas con una alimentación deficiente, tales como diabetes, cáncer de colon, hipertensión y otros desordenes metabólicos.

Estudios anteriores llevados a cabo en nuestro laboratorio han demostrado que el consumo de la fibra dietética está acompañada de una disminución de la respuesta contráctil del músculo liso vascular, y sugieren que este efecto puede implicar la participación de los productos de la fermentación de la fibra.

El butirato es un subproducto de la fermentación colónica de la fibra dietética, es una molécula altamente energética, rápidamente absorbible y metabolizable. Es el combustible preferido por las células del epitelio colónico, de donde estas obtienen un 70% del consumo total de energía; el butirato tiene la capacidad de regular la expresión genética por mecanismos como la inhibición de la enzima histona deacetilasa.

A la fecha no se han encontrado investigaciones acerca del efecto directo que tiene el butirato a nivel arterial, por lo cual resulta atractivo determinar si el butirato modifica la actividad vasocontráctil de la arteria aorta aislada, lo cual explicaría el efecto de la fibra soluble administrada por vía oral sobre la actividad contráctil de las arterias aisladas.

## **II. Hipótesis:**

El butirato disminuye la respuesta contráctil inducida por Fenilefrina en la arteria aorta de ratas.

## **III. Objetivos**

### **13. Objetivo general:**

Caracterizar el efecto inducido por butirato sobre la arteria aorta de ratas.

### **14. Objetivo específicos:**

Establecer un rango de concentraciones de butirato para evaluación de la arteria aorta en ratas.

Estimar el efecto de diferentes concentraciones de butirato sobre la actividad contráctil de arteria aorta de rata.

#### IV. Materiales y métodos:

##### 15. Solución fisiológica de Krebs.

Con la finalidad de mantener la arteria aorta viable una vez extraído del animal se preparó la solución Krebs con las sales y a las concentraciones que se describen en la tabla I.

Tabla I. Solución fisiológica de Krebs

Nombre del compuesto	Fórmula química	Concentración (M)
Cloruro de sodio, cristal	NaCl	0.118
Dextrosa	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	0.012
Bicarbonato de sodio	NaHCO <sub>3</sub>	0.025
Cloruro de potasio cristal	KCl	0.0047
Sulfato de magnesio cristal	MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	0.00118
Fosfato de potasio monobásico, cristal.	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.0018
EDTA	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0.0000269
Cloruro de calcio, dihidratado	CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0.00252

##### 16. Solución de butirato de sodio

Se realizó una solución patrón de butirato de sodio de  $1 \times 10^{-2}$  M (acuosa) a partir de la cual se obtuvieron diluciones  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-8.5}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M y  $1 \times 10^{-7.5}$  M.

##### 17. Material biológico

Para la evaluación funcional del efecto de butirato se utilizaran 9 ratas hembras de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de aproximadamente 300g de peso, sin control de ciclo estral, las cuales se distribuyeron en dos grupos. Los animales fueron alojadas en cajas de acrílico, recibieron alimento y agua ad libitum y fueron mantenidos en condiciones estándares de temperatura y humedad bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12h/12h.

Para realizar este procedimiento se utilizó la plataforma MP100 de BIOPAC® acoplada a transductores de tensión isométrica FT03 Grass, así como a una computadora, con el software Acqknowledge V.3.07 para Windows XP como interfase.

Una vez preparada la solución Krebs y calibrado el equipo, se sacrificaron los animales bajo una atmósfera de dióxido de carbono, de acuerdo al procedimiento establecido en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999. Se extrajo la totalidad de la arteria aorta (segmentos torácico y abdominal), se liberó de tejido graso y conectivo y se obtuvieron anillos de 3-5 mm de longitud. Con la finalidad de evaluar la participación endotelial, se removió el endotelio a algunos anillos frotando la capa endotelial contra un manguillo rugoso. Posteriormente, se sujetaron los anillos por un extremo a la cámara de órgano aislado y por el otro al transductor de tensión isométrica, esto a través de ganchos de nickrom. Inmediatamente después se cubrió el tejido con solución Krebs, manteniendo la

cámara a 37°C, con un burbujeo de carbógeno (95% de CO<sub>2</sub>: 5% de O<sub>2</sub>) y ajustando la tensión basal del tejido a 3±0.2g.

Se realizó una curva de sensibilización utilizando una concentración submáxima de fenilefrina (fen) ( $1 \times 10^{-7}$  M) que fue adicionada a cada cámara y permaneció durante 5 minutos, seguida de tres lavados con solución Krebs y un periodo de recuperación de 20 minutos (se repitió dicho procedimiento por 3 ocasiones). Después de la tercera estimulación con fenilefrina y una vez alcanzada la meseta, se aplicó carbacol (agonista que estimula la síntesis de factores relajantes del endotelio) ( $1 \times 10^{-6}$  M) durante 5 minutos. Finalmente, se lavó el tejido en tres ocasiones y se repitió este proceso cada 20 minutos durante una hora.

Se corrieron curvas concentración-respuesta acumuladas a fenilefrina ( $1 \times 10^{-9}$  -  $1 \times 10^{-5}$  M), en presencia de propranolol y rauwolscina (antagonistas  $\beta$  y  $\alpha_2$  respectivamente), adicionando una concentración después de que la anterior haya alcanzado su meseta (5 minutos) y finalmente se lavó el tejido en tres ocasiones y se dejó en recuperación por espacio de una hora lavando cada 20 minutos.

Posterior al tiempo de recuperación se adicionó a cada cámara cuatro concentraciones de butirato de sodio, permitiendo un periodo de 30 minutos para establecer el equilibrio y se corrió nuevamente una curva concentración-respuesta acumulada a fenilefrina.

### 18. Análisis de datos:

Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  el error estándar y se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba de contrastes de Dunn's. Se consideraron valores estadísticamente significativos cuando  $p \leq 0.05$ . Para este proceso se utilizó el programa Sigma Plot Version 11.

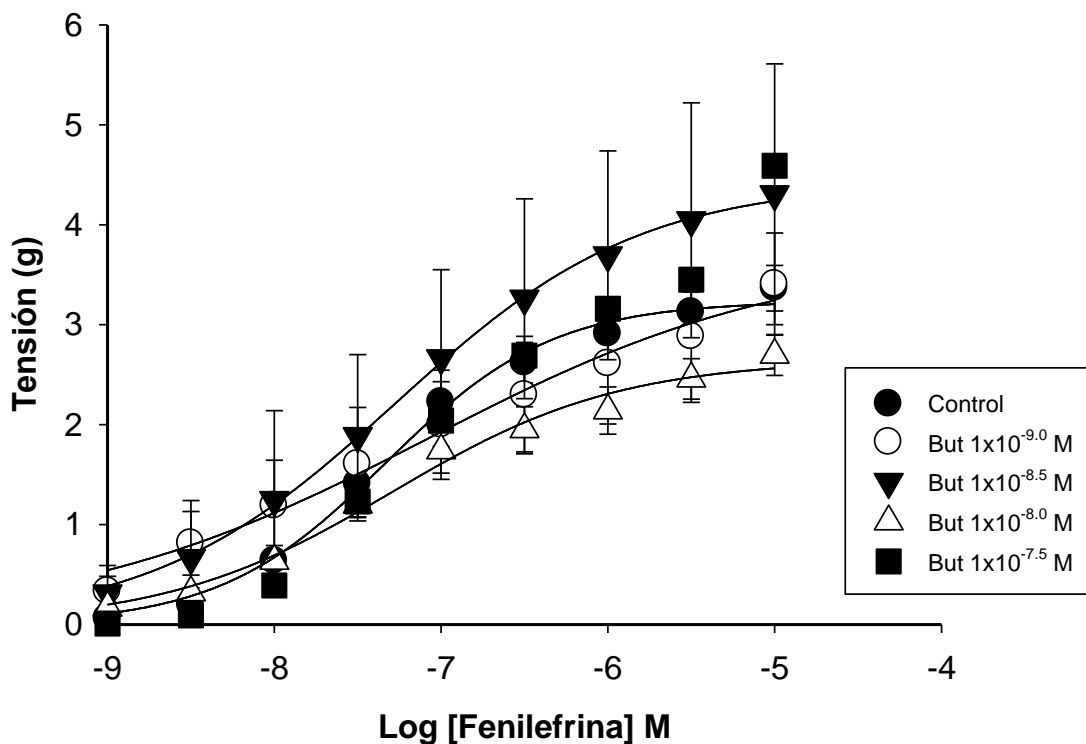
Los datos se presentan en gráficos y tablas.

## V. Resultados:

### Respuesta funcional de las arterias de *Rattus norvegicus* al butirato.

Las siguientes figuras representan las curvas concentración-respuesta a fenilefrina en presencia de concentraciones de butirato de sodio, donde se graficó en el eje de las abscisas el logaritmo negativo de las concentraciones de fenilefrina y en el eje de las ordenadas la tensión desarrollada expresada en gramos. Las curvas con círculos llenos representan al grupo control. Los círculos vacíos muestran la concentración de  $1 \times 10^{-9}$  M, los triángulos llenos  $1 \times 10^{-8.5}$  M, los triángulos vacíos  $1 \times 10^{-8}$  M, los cuadrados llenos corresponden a la concentración de  $1 \times 10^{-7.5}$  M de butirato.

Arteria aorta segmento abdominal con endotelio

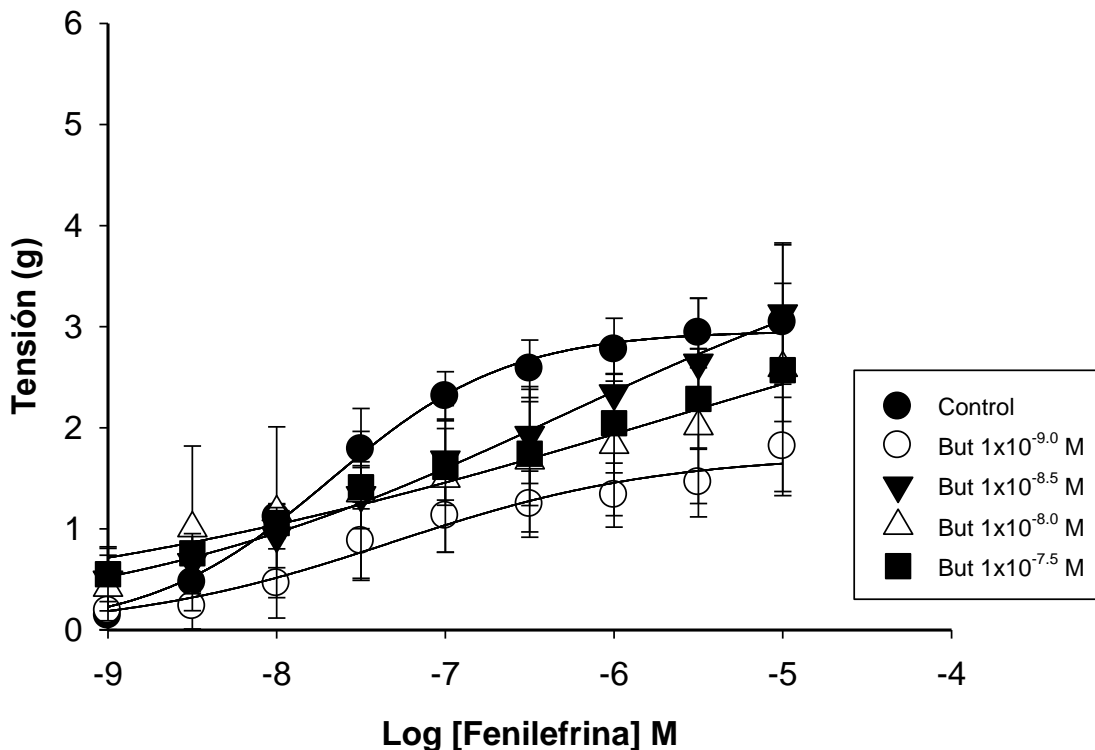


**Figura V.** Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento abdominal de la arteria aorta con endotelio. Cada curva representa el promedio de cuando menos 2 segmentos arteriales (n=2). Cada punto representa el valor promedio  $\pm$  el error estándar, expuestos a diferentes concentraciones de butirato de sodio.

En la figura V la respuesta funcional del grupo control corresponde a la curva construida con círculos llenos, se puede observar que el butirato ( $1 \times 10^{-9} \text{M}$  y  $1 \times 10^{-7.5} \text{M}$ ) no presentaron comportamientos diferentes al grupo control; sin embargo se observa una respuesta contráctil aumentada cuando se llevó a cabo el estudio funcional en presencia de butirato  $1 \times 10^{-8.5} \text{M}$ , en tanto que se apreció una respuesta disminuida en presencia de butirato  $1 \times 10^{-8} \text{M}$ .



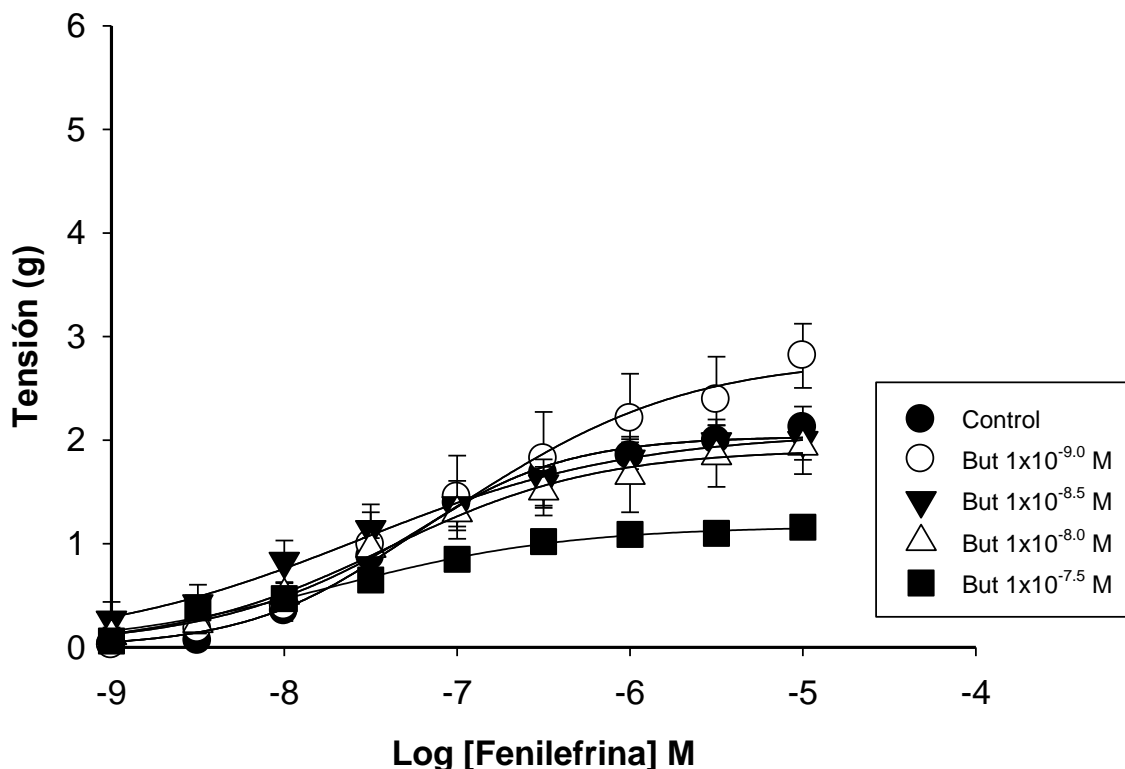
Arteria aorta segmento abdominal sin endotelio



**Figura VI.** Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento abdominal de la arteria aorta sin endotelio. Cada curva representa el promedio de cuando menos 2 segmentos arteriales (n=2). Cada punto representa el valor promedio  $\pm$  el error estándar, expuestos a diferentes concentraciones de butirato de sodio.

En la figura VI se observa una disminución en la contracción en los anillos tratados con butirato y este efecto es más notorio en la curva en presencia de butirato  $1 \times 10^{-9} \text{M}$ .

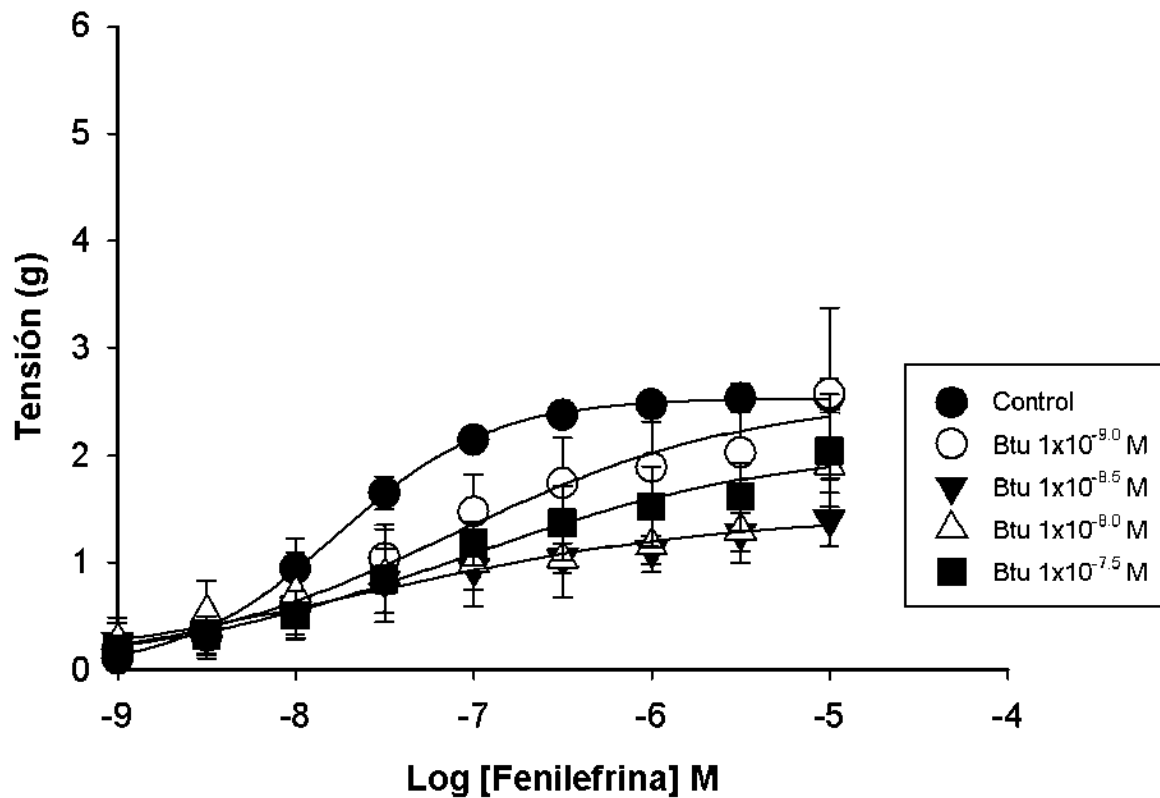
Arteria Aorta Segmento Torácico con endotelio



**Figura VII.** Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento torácico de la arteria aorta con endotelio. Cada curva representa el promedio de cuando menos 2 segmentos arteriales (n=2). Cada punto representa el valor promedio  $\pm$  el error estándar, expuestos a diferentes concentraciones de butirato de sodio.

En la figura VII se aprecia la respuesta funcional del grupo control en la curva construida con círculos negros y se observa que la respuesta contráctil en presencia de butirato  $1 \times 10^{-8.5}$  M y  $1 \times 10^{-8.0}$  M es similar, ya que se traslapan las curvas; sin embargo, la concentración  $1 \times 10^{-9.0}$  M de butirato induce un incremento en la respuesta contráctil a la fenilefrina, sin alcanzar significancia estadística. Es evidente además, que el butirato a la concentración de  $1 \times 10^{-7.5}$  M indujo una disminución de la respuesta contráctil a la fenilefrina en el músculo liso vascular.

Arteria aorta segmento torácico sin endotelio



**Figura VIII.** Curva concentración-respuesta a fenilefrina en segmento torácico de la arteria aorta sin endotelio. Cada curva representa el promedio de cuando menos 2 segmentos arteriales ( $n=2$ ). Cada punto representa el valor promedio  $\pm$  el error estándar, expuestos a diferentes concentraciones de butirato de sodio.

En la figura VIII se observa que el butirato en el rango de concentraciones de  $1 \times 10^{-9.0}$  M a  $1 \times 10^{-7.5}$  M provocó la disminución de la respuesta contráctil inducida por fenilefrina. Adicionalmente, es importante destacar que este efecto del butirato no parece ser dependiente de la concentración.

Las siguientes tablas muestran los valores farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia de diferentes concentraciones de butirato de sodio en los segmentos abdominal y torácico de la arteria aorta con endotelio y sin endotelio.

**Tabla II:** Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia de butirato en la contracción en el segmento abdominal de la arteria con endotelio de *Rattus norvegicus*. Se representa la eficacia como el efecto máximo (Emax), la potencia como la concentración efectiva 50 (EC50) y la afinidad aparente como el logaritmo negativo de la concentración efectiva 50 (pD2). Se realizó un análisis de varianza y se consideró como significativo cuando  $*p \leq 0.05$ , los datos se presentan como el promedio  $\pm$  ee de  $n \geq 2$ .

AORTA ABDOMINAL CON ENDOTELIO					
Grupo	Control	Butirato de sodio (M)			
		$1 \times 10^{-9}$	$1 \times 10^{-8.5}$	$1 \times 10^{-8}$	$1 \times 10^{-7.5}$
Emax (g)	3.23 $\pm$ 0.22	3.81 $\pm$ 0.48	4.41 $\pm$ 1.46	2.77 $\pm$ 0.15	4.60 $\pm$ 0.00
EC50 ( $\times 10^{-8}$ M)	4.90 $\pm$ 7.43	7.24 $\pm$ 5.97	5.55 $\pm$ 1.32	8.4 $\pm$ 3.0	2.06 $\pm$ 0.0
pD2	7.33 $\pm$ 0.06	6.88 $\pm$ 0.43	7.27 $\pm$ 0.11	7.15 $\pm$ 0.14	6.69 $\pm$ 0.00

En esta tabla se puede observar que la eficacia farmacológica medida como efecto máximo de la fenilefrina en presencia de butirato ( $1 \times 10^{-7.5}$ M) se incrementa, mientras que en concentración de butirato ( $1 \times 10^{-8}$ M) disminuye..

En el caso de la potencia representada como la concentración efectiva 50, la presencia de butirato disminuyó este parámetro en el rango de concentraciones  $1 \times 10^{-9}$ M a  $1 \times 10^{-8}$ M y la incrementa con la concentración de butirato a  $1 \times 10^{-7.5}$ M.

La afinidad medida como el logaritmo negativo de la concentración efectiva 50, en presencia de las diferentes concentraciones de butirato no se modifica.

**Tabla III:** Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia de butirato en la contracción en el segmento abdominal de la arteria sin endotelio de *Rattus norvegicus*. Se representa la eficacia como el efecto máximo (Emax), la potencia como la concentración efectiva 50 (EC50) y la afinidad aparente como el logaritmo negativo de la concentración efectiva 50 (pD2). Se realizó un análisis de varianza y se consideró como significativo cuando  $*p \leq 0.05$ . Los datos se presentan como el promedio  $\pm$  ee de  $n \geq 2$ .

AORTA ABDOMINAL SIN ENDOTELIO					
Grupo	Control	Butirato de Sodio (M)			
		$1 \times 10^{-9}$	$1 \times 10^{-8.5}$	$1 \times 10^{-8}$	$1 \times 10^{-7.5}$
<b>Emax (g)</b>	3.14 $\pm$ 0.31	1.66 $\pm$ 0.43	2.93 $\pm$ 0.87	2.75 $\pm$ 1.31	2.62 $\pm$ 0.42
<b>EC50M (<math>\times 10^{-8}</math>M)</b>	2.31 $\pm$ 2.89	5.74 $\pm$ 2.91	33.5 $\pm$ 22.2*	5.88 $\pm$ 2.78	20.0 $\pm$ 1.58
<b>pD2</b>	7.68 $\pm$ 0.09	7.38 $\pm$ 0.26	6.72 $\pm$ 0.25*	7.29 $\pm$ 0.22	7.22 $\pm$ 0.27

En la tabla 3, en cuanto a la eficacia farmacológica (medida como Emax) en presencia de butirato, disminuye la eficacia a fenilefrina en comparación con el grupo control.

En el caso de la potencia (representada como EC50) de la fenilefrina en presencia de butirato se observó que esta disminuye en presencia de butirato de manera independiente de la concentración comparada con el grupo control.

La afinidad (medida como pD2) en presencia de la mayoría de las concentraciones de butirato no se modifica, excepto la concentración de butirato  $1 \times 10^{-8.5}$ M la cual mostró una disminución en el valor de afinidad aparente para la fenilefrina y esta diferencia fue estadísticamente significativa en comparación con el grupo control al realizar un análisis de varianza, seguido de una prueba de Dunn's.

**Tabla IV:** Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia de butirato en la contracción en el segmento torácico de la arteria con endotelio de *Rattus norvegicus*. Se representa la eficacia como el efecto máximo (Emax), la potencia como la concentración efectiva 50 (EC50) y la afinidad aparente como el logaritmo negativo de la concentración efectiva 50 (pD2). Se realizó un análisis de varianza y se consideró como significativo cuando  $*p \leq 0.05$ , los datos se presentan como el promedio  $\pm$  ee de  $n \geq 2$ .

AORTA TORACICA CON ENDOTELIO					
Grupo	Control	Butirato de Sodio (M)			
		$1 \times 10^{-9}$	$1 \times 10^{-8.5}$	$1 \times 10^{-8}$	$1 \times 10^{-7.5}$
Emax (g)	2.03 $\pm$ 0.17	3.32 $\pm$ 0.64	2.31 $\pm$ 0.31	1.88 $\pm$ 0.33	1.17 $\pm$ 0.00
EC50M ( $\times 10^{-9}$ M)	5.01 $\pm$ 1.06	206.0 $\pm$ 166.0	28.5 $\pm$ 23.9	4.11 $\pm$ 2.26	1.9 $\pm$ 0.00
pD2	7.34 $\pm$ 0.08	6.79 $\pm$ 0.47	7.17 $\pm$ 0.45	7.57 $\pm$ 0.31	7.72 $\pm$ 0.00

En la tabla 4 se muestra que la eficacia farmacológica (medida como Emax) a la fenilefrina se incrementó con las concentración de butirato  $1 \times 10^{-9}$ M y  $1 \times 10^{-8.5}$ M, mientras que con las concentraciones de butirato  $1 \times 10^{-8.5}$ M a  $1 \times 10^{-7.5}$ M se observó una disminución de la eficacia.

En el caso de la potencia (representada como EC50) de la fenilefrina, ésta disminuye con la concentración de butirato  $1 \times 10^{-9}$ M, y conforme aumento la concentración de butirato de  $1 \times 10^{-8.5}$ M a  $1 \times 10^{-7.5}$ M, la potencia aumentó progresivamente. Específicamente a la concentración de butirato  $1 \times 10^{-7.5}$ M la potencia de fenilefrina aumentó comparada con el grupo control.

La afinidad aparente (medida como pD2) a la fenilefrina no se modificó, sugiriendo que probablemente solo existe interacción con un receptor único y que el butirato no parece interferir a este nivel.

**Tabla V:** Parámetros farmacodinámicos de la fenilefrina en presencia de butirato en la contracción en el segmento torácico de la arteria sin endotelio de *Rattus norvegicus*. Se representa la eficacia como el efecto máximo (Emax), la potencia como la concentración efectiva 50 (EC50) y la afinidad aparente como el logaritmo negativo de la concentración efectiva 50 (pD2). Se realizó un análisis de varianza y se consideró como significativo cuando  $*p \leq 0.05$ , los datos se presentan como el promedio  $\pm$  ee de  $n \geq 2$ .

AORTA TORACICA SIN ENDOTELIO					
Grupo	Control	Butirato de Sodio (M)			
		$1 \times 10^{-9}$	$1 \times 10^{-8.5}$	$1 \times 10^{-8}$	$1 \times 10^{-7.5}$
<b>Emax (g)</b>	2.52 $\pm$ 0.13	2.43 $\pm$ 0.67	1.32 $\pm$ 0.19	1.51 $\pm$ 0.46	2.0 $\pm$ 0.30
<b>EC50M (<math>\times 10^{-8}</math>M)</b>	1.99 $\pm$ 8.45	6.74 $\pm$ 3.19	346.0 $\pm$ 2.3	7.1 $\pm$ 6.11	6.56 $\pm$ 2.81
<b>pD2</b>	7.82 $\pm$ 0.18	7.36 $\pm$ 0.26	7.85 $\pm$ 0.50	7.81 $\pm$ 0.91	7.26 $\pm$ 0.18

En la tabla 5 se muestra que la eficacia farmacológica de la fenilefrina en la arteria aorta torácica sin endotelio y en presencia de diferentes concentraciones de butirato disminuye, mientras que la potencia de la fenilefrina presentó de igual manera disminución. No obstante, la afinidad aparente no se vio modificada.

## **VI. Discusión de resultados:**

Los AGCC son probablemente el producto de la fermentación bacteriana más interesante en el colon humano, siendo los principales combustibles para las células epiteliales intestinales; los AGCC juegan un papel importante en la moderación del crecimiento y en la diferenciación celular, y por lo tanto en el mantenimiento de la salud intestinal y en general en el humano.

En diversos artículos se documenta el efecto del butirato mediante su interacción con los receptores GPR41 y GPR43. Estas biomoléculas pertenecen a la familia GPR40, dichos hallazgos se han observado en intestino, en neuronas y en colon de ratas, así como en arterias mesentéricas de rata (41, 42, 43).

En el 2013, Plunznick J. reportó que los receptores GPR41 de los ácidos grasos de cadena corta desempeñan papeles muy importantes en la regulación de la presión arterial. En este sentido, en el presente trabajo se encontró que el butirato actúa en la arteria aorta, el cual es un dato novedoso, ya que no se han encontrado reportes al respecto en estas arterias. Además, el butirato modifica la respuestas contráctiles a muy baja concentración ( $1 \times 10^{-9} \text{M}$ ), hallazgo que al parecer no se ha encontrado en reportes relacionados con el butirato (44).

Se ha mencionado que el efecto del butirato se produce a través de la interacción con sus receptores GPR41 y GPR43, en tal caso, es posible esperar que el efecto en la arteria aorta ocurra mediante la interacción con éstos. Sin embargo, no se han encontrado reportes de su presencia en estos vasos.

En este trabajo se caracterizó el efecto del butirato sobre arteria aorta en un rango de concentraciones de  $1 \times 10^{-9.0} \text{M}$ ,  $1 \times 10^{-8.5} \text{M}$ ,  $1 \times 10^{-8.0} \text{M}$ ,  $1 \times 10^{-7.5} \text{M}$  que pone en evidencia un efecto diferencial independiente del endotelio.

El efecto global de la fenilefrina observado en el grupo control está dado por el estímulo de receptores adrenergicos  $\alpha_1$  además, está presente el efecto atribuido a los prostanoïdes, tanto vasocontráctiles como vasorelajantes, y también el óxido nítrico basal. Al adicionar el butirato, parece que el equilibrio del efecto vascular de las diferentes sustancias (fenilefrina, prostanoïdes y óxido nítrico) se desplaza. Por lo anterior, el butirato parece tener efectos diferenciales, ya que favorece la contracción con la concentración de  $1 \times 10^{-8.5} \text{M}$  y la relajación con una concentración de  $1 \times 10^{-8} \text{M}$ . Este efecto pudiera estar relacionado con los receptores GPR41 y GPR43 ambos funcionales para el butirato, en donde uno de ellos puede estar relacionado con efectos vasocontráctiles y el otro con los vasodilatadores.

Es importante señalar que en un rango estrecho de dosis molares desde  $1 \times 10^{-9} \text{M}$  hasta  $1 \times 10^{-8} \text{M}$  se presenten efecto, como lo es en el caso de la figura 4, que se esperaría una respuesta que ocurriera en un mismo sentido, ya sea estimular o inhibir la función vascular, más no encontrar respuestas. Sin embargo, es importante señalar que se está reportando un efecto novedoso del butirato sobre el musculo liso vascular.

El butirato induce vasorelajación independiente de endotelio, lo cual se puede observar en las figuras 5 y 7, que podría explicarse como el producto de la interacción entre el butirato y el receptor GPR41, que podría estar siendo activado, y estar asociado con la apertura de canales de potasio. En este sentido, el efecto vasodilatador de los ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) fue reportado en un estudio funcional, para



las arterias de resistencia intestinales humanas de pacientes con cáncer rectal (45). La evaluación del efecto cardiovascular del butirato se ha realizado también evaluando la expresión génica, en donde el butirato se ha asociado con la posible regulación a la baja de la proliferación celular del músculo liso vascular, efecto que puede ser el resultado de la desacetilación de la histona H3, este efecto se pudo detectar después de 24 horas de exposición al butirato, lo cual indica, que el efecto sobre la funcionalidad vascular puede involucrar al receptor GPR41 (46).

Con el presente trabajo podemos identificar que el butirato puede modificar la funcionalidad de las arterias que se encuentran anatómicamente alejadas del intestino, fuente de origen del butirato, y que su acción puede ser independiente del endotelio. En este punto, es necesario identificar la presencia de los receptores GPR41 y GPR43 en el tejido vascular, para poder tener una base más contundente de la participación de este ácido graso de cadena corta. Además, por reportes de la literatura, dedujimos que el butirato ejerce efectos negativos sobre la proliferación de las células de músculo liso vascular, que de acuerdo con la evolución crónica de patología vasculares como la aterosclerosis y la hipertrofia de músculo liso vascular, que se puede asociar a la hipertensión, esta acción antiproliferativa del butirato puede contribuir a largo plazo a mejorar la función cardiovascular.

## **VII. Conclusiones:**

El butirato tiene la capacidad de modificar la respuesta contráctil inducida por la fenilefrina, de manera independientemente del endotelio vascular en la arteria aorta de rata. Evento que tiene lugar dentro de un rango de concentraciones del orden nano a micro molar.

### VIII. Referencias:

1. Corte L.Y., Martínez H.E. y Órtiz R, 2010. Efecto del consumo de fibra dietética en la expresión cuantitativa de receptores de Butirato en colon de ratas. *Ciencia Nicolaita* No. Especial. Coordinación de la investigación científica.
2. Burkitt DP. 1971. Epidemiology of cancer of the colon and rectum. *Cancer*. 28: 3-13.
3. Bravo A. Alfonso J.J., Pérez J., Lorenzo N., Fernández M.V., González F. 2000. Butirato y carcinogénesis colorrectal. Santa Cruz de Tenerife, España. *Cirugía española*. Vol. 68. Núm. 1.
4. Flores Paredo L. y Zarain Herzberg A. 2014. Papel de la dieta rica en fibra en la prevención y tratamiento del cáncer: terapia dirigida al manejo del calcio intracelular. *Revista de la facultad de medicina de la UNAM*. Vol. 57, N°5. p 56-61.
5. Soporte electrónico disponible en: <http://www.clikisalud.net/alimentos-ricos-en-fibra-contienen-compuesto-que-detiene-el-cancer-senalan-investigadores-mexicanos/>
6. Nilsson A. Ostman E. Bach Kundsen K. Holst J. y Björck I. 2010. A cereal-based evening meal rich in indigestible carbohydrates increases plasma butyrate the next morning. *Journal of nutrition*. 140: 1932–1936.
7. Aranceta B. J. 2004. Alimentos Funcionales y salud. Guía de buena práctica clínica en alimentos funcionales. IMC. Madrid España. p.15-16.
8. Marti del Moral A., Moreno-Aliaga M.J., Y Martínez J.A. 2003. Efecto de los prebióticos sobre el metabolismo lipídico. *Nutr. Hosp*. XVIII (4)181-188.
9. García P.P. y Velasco G.C. 2007. Evolución en el conocimiento de la fibra. *Nutr. Hosp*. 22(supl.2):20-5.
10. Escudero Álvarez E. y González Sánchez P. 2006. La fibra dietética. *Nutr. Hosp*. 21(Supl.2) 61-72.
11. Fernández Bañares F. y Gassull Duró M.Á. 1999. Tratado de nutrición. Fibra dietética. Ediciones Diaz de Santos. Madrid. p. 126-127.
12. Fernández Miranda C. 2010. La fibra dietética en la prevención del riesgo cardiovascular. *Nutr. clín. diet. hosp*. 30(2);4-12.
13. Cook S.I. y Sellin J.H. 1998. Review article: short chain fatty acids in health and disease. *Rev. Aliment Pharmacol*. 12:499-507.
14. Abrahamse S.L., Pool-Zobel B.L. y Rechkemmer G. 1999. Potential of short chain fatty acids to modulate the induction of DNA damage and changes in the intracellular calcium concentration by oxidative stress in isolated rat distal colon cells. *Rev. Carcinogenesis*. vol. no.4. p 629-634.
15. Corte L.Y., Martínez H.E. y Órtiz R. 2011. Efecto del consumo de la fibra dietética en la expresión cuantitativa del receptor de butirato GPR43 en colon de ratas. *Nutr. Hosp*. 26(5):1052-1058.
16. Hinnebusch Brian f., Shufen meng, James T. Wu, Sonia Y. Archer, Richard A. Hodin. 2002. The effects of Short-Chain Fatty Acids on Human Colon Cancer Cell Phenotype Are Associated with Histone Hyperacetylation. *J. Nutr*. 132:1012-1017.
17. Andoh A., Fujiyama Y., Hata K., Takaya H., Shimada M., Bamba T. 1999. Counter-regulatory effect of sodium butyrate on tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )-induced complement C3 and factor B biosynthesis in human intestinal epithelial cells. *Clin Exp Immunol*. 118:23-9.
18. Abrahamse SL, Pool-Zobel BL, Rechkemmer G. 1999. Potential of short chain fatty acids to modulate the induction of DNA damage and changes in the intracellular calcium concentration by oxidative stress in isolated rat distal colon cells. *Carcinogenesis*. 20:629-34.

19. Rosignoli P. Fabiani R. De Bartolomeo A. Spinozzi F. Agea E. Pelli M.A. Morozzi G. 2001. Protective activity of butyrate on hydrogen peroxide-induced DNA damage in isolated human colonocytes, and HT29 Tumor cells. *Carcinogenesis*. 22:1675-80.
20. Fernández -Rubio C., Ordóñez C., Abad -González J., García -Gallego A., Honrubia M.P., Mallo J.J., Balaña -Fouce R. 2009. Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from Salmonella Enteritidis infection. *Poultry Science*, 88: 943-948.
21. Jerzsele Á, Szekér K., Gálfi P., Puyalto M., Honrubia P., Mallo J.J. 2011. Effects of protected sodium-n-butyrate (BP70), its combination with essential oils (BP70+EO), and of a *Bacillus amyloliquefaciens* probiotic (Ecobiol) in a necrotic enteritis artificial infection model in broilers. *International Poultry Scientific Forum Abstract* 42731.
22. Gilloteau P., Martin L., Eeckhaut V., Ducatelle R., Zabielski R., Van Immerseel F. 2010. From the gut to the peripheral tissue: the multiple effects of butyrate. *Nutrition Research Reviews*, 23: 366-384.
23. Arpaia N., Campbell C., Fan X., Dikiy S., Van Der Veecken J., Deroos P., Liu H., Cross J.R., Pfeffer K., Coffey P.J., Rudenski A.Y. 2013. Nature Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Dec 19;504(7480):451-5*
24. Kim S., Kim J.H., Park, B.O. and Kwak Y.S. 2014. Perspectives on the therapeutic potential of short-chain fatty acid receptors. *BMP Rep.* 47(3):173-178.
25. Gerard J., Tortora y Reynolds S. 2003. *Principios de Anatomía y Fisiología*. Ed. Oxford. Mexico. Soporte electrónico disponible en: <http://www.uv.mx/persona/l/cblazque/files/2012/01/Sistema-Arterial.pdf>.
26. Diaz S., Sánchez A. 2006. *Aparato cardiovascular*. Soporte electrónico disponible en: <http://www.fvet.uba.ar/histologia/siscard.pdf>.
27. Rinaldi G. De la Serna. *Bases fisiológicas. Sección hipertensión arterial. Etiopatogenia. 1ra parte*. Soporte electrónico disponible en: [http://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/hta\\_01/BASES.pdf](http://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/hta_01/BASES.pdf)
28. Biaggioni I., y Robertson D. 2010. *Farmacología Básica y Clínica. Agonistas de adrenoreceptores y fármacos simpaticomiméticos*. 11ª Edición. Editorial McGraw-Hill. p. 127-147.
29. Katzung B. 2010. *Fármacos con acción en el sistema nervioso autónomo: introducción*. 11ª Edición. Editorial McGraw-Hill. p. 84.
30. Hardman J.G., Limbird L.E., y Molinoff P.B. 1996. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Catecolaminas, fármacos simpaticomiméticos y antagonistas de los receptores adrenérgicos*. Vol.I. 9na edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F. p. 229-30,247.
31. Lorenzo P., Moreno A., Lizasoain I., Ieza J.C., Moro M.A. y Portolés A. 2009. *Farmacología Básica y Clínica. Neurotransmisión adrenérgica. Sistema Nervioso Simpático: Fármacos simpaticomiméticos*. 18ª edición. Editorial Médica Paramericana. Madrid. p. 148-150.
32. Zhong H. and Minneman K. P. 1999. "Alpha1-Adrenoceptor Subtypes," *European Journal of Pharmacology*, Vol. 375, No. 1-3, p. 261-276.
33. Von Zastrow M., Bourne H.R. 2010. *Farmacología básica y clínica. Receptores para Fármacos y farmacodinámica*. 11 edición. Editorial Médica Mc Graw Hill Interamericana. p. 15-35.

34. Loodish H., Berk A., Matsudaira P., Kaiser C.A., Krieger M., Scott M.P., Zipursky S. y Darnell J. 2005. *Biología Celular y Molecular*. 5a. Edición. Editorial Médica Paramericana. Buenos Aires. p. 972.
35. Chaturvedi K., and Sarkar D.K. 2008. Alteration in Gproteins and prolactin levels in pituitary after ethanol and estrogen treatment. *Alcohol Clin Exp Res*. 32(5): 806-813.
36. Foskett J.K., White C., and Cheung K.H. 2007. Inositol triphosphate receptor  $Ca^{2+}$  release channels. *Physiol Rev*. 87 (2): 593-658.
37. Malgor L.A y Valsocia M. 2000. *Farmacología Médica*. Farmacología de los beta bloqueantes 2ª Edición. 5 Volúmenes. Soporte electrónico disponible en: [med.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap21\\_betabloq.pdf](http://med.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap21_betabloq.pdf).
38. Vittone L y Mundiña-Weilenmann C. 2008. *Endotelio Vascular e Hipertensión*. Soporte electrónico disponible en: [http://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/hta\\_01/endotelio2.pdf](http://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/hta_01/endotelio2.pdf).
39. Anguera Villa A. 2007. Efectos de la fibra soluble cáscaras de *Plantago ovata* sobre factores lipídicos de riesgo cardiovascular .Tesis doctoral. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad Rovira i Virgili Reus.
40. López Arias C.C. 2011. Efecto de la fibra soluble de las semillas de *Amaranthus hypochondriacus* y *Linum usitatissimum* sobre la reactividad vascular de *Rattus norvegicus*. Tesis. Facultad de Quimicofarmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. p. 25 -33.
41. Dass N.B., John A.K., Bassil A.K., Crumbley C.W., Shehee W.R., Maurio F.P., Moore G.B., Taylor C.M. and Sanger G.J. 2007. The relationship between the effects of short- chain fatty acids on intestinal motility in vitro and GPR43 receptor activation. *Neurogastroenterol Motil* 19, 66-74.
42. Macfarlane G.T. y Macfarlane S. 2011. Fermentation in the human large intestine. *Clin Gastroenterol*. Volume 45, Supp. 3.
43. Kurita-Ochiai T., Hashizume T., Yonezawa H., Ochiai K. and Yamamoto M. 2006. Characterization of the effects of butyric acid on cell proliferation, cell cycle distribution and apoptosis. *ImmunolMed Microbiol* 47. 67-74.
44. Pluznick J. 2013. Renal and cardiovascular sensory receptors and blood pressure regulation. *Am J Physiol Renal Physiol* 305:F439-F444.
45. Mortensen F.V., Nielsen H., Mulvany M.J., Hesso I. 1990. Short chain fatty acids dilate isolated human colonic resistance arteries. *Gut*. 31(12):1391-1394.
46. Omana P.M. Rangann K. and Frank M.Y. 2010. Butyrate, an HDAC inhibitor, stimulates interplay between different posttranslational modifications of histone H3 and differently alters G1-specific cell cycle proteins in vascular smooth muscle cells. *BiomedPharmacother*. 64(10): 733–740.