



**UNIVERSIDAD
MICHOCANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



***"FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA"***

**EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS
SOMETIDAS A ESTRÉS.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICA FARMACOBIOLOGA.

PRESENTA:

ROSAMARIA CASTRO ANGUIANO

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. JUAN CARLOS CORTÉS GARCÍA

Morelia Michoacán, julio del 2022.

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Adrenalina
AC	Adenilato ciclase
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AGV	Ácidos grasos volátiles
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
ANF	Péptido Natriurético Auricular
DAG	Diacil glicerol
FD	Fibra dietética
Hc	Hipertrofia cardíaca
HDAC	Enzima Histona Deacetilase
HPA	Hipotálamo pituitaria adrenal
IFN	Interferón
IL	Producción de Interleucina
LDL	Colesterol de baja densidad
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógenos
NA	Noradrenalina
NFAT	Factor nuclear de las células T activadas
NK	Células asesinas naturales
PGF	Prostaglandina F
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
RI	Respuesta Inmune
SI	Sistema Inmune
SNC	Sistema nervioso central
SNS	Sistema nervioso simpático
β-MHC	Cadena pesada de β-miosina
TA	Tensión Arterial

RESUMEN

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCION ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS

El consumo de fibra dietética es benéfico para la salud, origina ácidos grasos de cadena corta por fermentación colónica, pero se desconoce si podrían inducir efectos sistémicos. El estrés es un factor prevalente en la vida cotidiana que provoca alteraciones fisiológicas en el ser humano. A nivel cardiovascular favorece un tono adrenérgico alto. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la participación del butirato en la función arterial bajo condiciones de estrés. Se utilizaron ratas de ambos sexos divididas por género y en grupos controles y estrés, el grupo estrés se sometió a inmovilización y electrochoques/mes posteriormente fueron sometidos a ayuno por 12 horas, después se sacrificaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-ZOO062-1999. Se recolectó sangre para determinar glucosa y cortisol y se extrajo la arteria aorta para evaluar reactividad a la fenilefrina. Los resultados indicaron que se indujo el estado de estrés evidenciado por indicadores como micción, vocalización y agresividad de manera independiente del género. Se incremento la concentración sérica de glucosa inducida por el estrés en ambos grupos, y la concentración sérica de cortisol fue menor en machos estresados vs hembras. La reactividad vascular en machos estresados mostró que las arterias incrementaron la contractilidad inducida por fenilefrina vs control y el butirato disminuye la respuesta máxima de manera independiente de estrés. La concentración sérica de cortisol fue mayor en hembras estresadas vs control. La reactividad vascular en hembras estresadas mostró una disminución de la contractilidad inducida por fenilefrina vs control y el butirato disminuyó la respuesta máxima de manera independiente del estrés. Conclusión, los modelos estresores generaron de manera eficiente estrés, este se vio manifiesto a nivel vascular como un incremento en la reactividad. La exposición a butirato revirtió el efecto en ambos géneros de manera independiente de la concentración.

Palabras clave: Ácidos grasos, Reactividad vascular, Función vascular, modelo de electrochoque e inmovilidad, Eje HPA.

ABSTRACT
EFFECT OF BUTYRATE ON THE ARTERIAL CONTRACTION OF RATS
UNDER STRESS

The consumption of dietary fiber is beneficial for health, it originates short chain fatty acids by colonic fermentation, but it is unknown if they could induce systemic effects. Stress is a prevalent factor in everyday life that causes physiological alterations in humans. At the cardiovascular level, it favors a high adrenergic tone. Therefore, the objective of this work was to evaluate the participation of butyrate in arterial function under stress conditions. Rats of both sexes divided by gender and in control and stress groups were used, the stress group was subjected to immobilization and electroshocks / month later they were subjected to fasting for 12 hours, then they were sacrificed according to the Official Mexican Standard NOM-ZOO062- 1999. Blood was collected to determine glucose and cortisol and the aorta artery was removed to evaluate reactivity to phenylephrine. The results indicated that the state of stress evidenced by indicators such as urination, vocalization and aggressiveness was induced independently of gender. Stress-induced serum glucose concentration increased in both groups, and serum cortisol concentration was lower in stressed males vs females. Vascular reactivity in stressed males showed that arteries increased contractility induced by phenylephrine vs. control and butyrate decreased maximum response independently of stress. Serum cortisol concentration was higher in stressed vs control females. Vascular reactivity in stressed females showed a decrease in contractility induced by phenylephrine vs. control and butyrate decreased the maximum response independently of stress. Conclusion, the stressor models efficiently generated stress, this was manifested at the vascular level as an increase in reactivity. Butyrate exposure reversed the effect in both genders regardless of concentration.

Keywords: Fatty acids, Vascular reactivity, Vascular function, electroshock and immobility model, HPA Axis.

INDICE

1. Marco teórico.....	8
1.1. Origen de los ensayos experimentales en seres vivos	8
2. Tipología y estrés.....	9
2.1. Estrés.....	9
2.1.1tipos de estrés	10
2.2. Estrés y sistema inmune.....	14
3. Interacciones entre el sistema nervioso y el sistema inmune.....	16
4. Sistema cardiovascular	17
4.1. Características generales	17
4.2. Factores activados de hipertrofia cardiaca	18
5. Arterias.....	19
5.1. Endotelio.....	20
6. Alteraciones vasculares	21
6.1. Placa aterosclerótica.....	21
7. Fármacos que modifican la respuesta vascular	22
7.1. Agonista alfa -1	22
7.2. Antagonista alfa -1	23
7.3. Antagonista beta-adrenérgico.....	23
Mecanismos de señalización transduccional.....	24
8. Ácidos grasos de cadena corta	25
8.1. Efectos de los ácidos de cadena corta en el cuerpo.....	27
9. Fuentes naturales de ácidos grasos de cadena corta.....	27
9. 1. Butirato un ácido graso de cadena corta	28
10. Hipótesis	29
11. Objetivos	29
11.1. General.....	29

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

11.1.1. Particulares.....	29
12. Materiales y métodos	30
12.1. Material biológico	30
12.2. Inducción de estrés	30
12.2.1. Diseño del dispositivo	30
12.2.1.1. Circuito de electrochoque	31
12.2.2. Estrés por inmovilidad	32
12.2.3. Proceso de inducción de estrés por electrochoque	33
12.3. Colección de muestra sanguínea.....	34
12.3.1. Determinación de cortisol	34
12.3.2. Determinación de glucosa sanguínea.....	35
12.4. Evaluación del efecto del butirato sobre la función vascular.....	36
13. Resultados	37
13.1. Inducción de estrés.....	37
13.2. Evaluación bioquímica	38
13.3. Efecto del estrés sobre la reactividad vascular	40
13.4. Efecto del butirato sobre la función vascular bajo condiciones de estrés .	42
14. Discusión.....	46
15. Conclusiones.....	51
16. Referencias bibliográficas	52

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura arterial.....	20
Figura 2. Formación de placa aterosclerótica	21

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

Figura 3 Estructura química de Fenilefrina.	22
Figura 4 Estructura química de Propanolol.	23
Figura 5 Mecanismo de señalización transduccional adrenérgico. Tomado y modificado https://ysjournal.com/__trashed-5/	25
Figura 6. Estructura molecular de los principales ácidos grasos de cadena corta.	26
Figura 7. Dispositivo para electrochoque.	30
Figura 8. Diagrama eléctrico.	31
Figura 9. Dispositivo de inmovilidad.	32
Figura 10. Animales bajo estrés por inmovilización.	37
Figura 11. Animal bajo inducción de estrés que presenta pérdida de pelo.	37
Figura 12. Análisis de varianza de cortisol entre machos y hembras, estrés y control.	39
Figura 13. Análisis de varianza de glucosa entre machos y hembras, estrés y control.	39
Figura 15. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmentos torácicos de ratas hembra.	41
Figura 14. Curva Concentración-Respuesta a la fenilefrina en arteria aorta segmentos abdominales de rata hembra.	41
Figura 16. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmentos abdominal de ratas macho con y sin estrés.....	41
Figura 17. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmentos torácicos de ratas macho con y sin estrés.	41
Figura 21. Curva Concentración -Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento torácico de ratas hembras estresadas	43
Figura 20. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento torácico de ratas hembras.....	43

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

Figura 19. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal de ratas hembras con estrés.	43
Figura 18. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmento abdominal de ratas hembra sin estrés.	43
Figura 22. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal de rata macho.....	44
Figura 23. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal de la rata macho sometida a estrés.....	44
Figura 25. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento torácico de ratas sometidas a estrés.....	44
Figura 24. Curva concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmento torácico de ratas.....	44

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros farmacodinámicos obtenidos para la fenilefrina en la arteria aorta segmento abdominal y torácico en condiciones con endotelio de ratas hembras con y sin estrés.	45
Tabla 2 Parámetros farmacodinámicos obtenidos para la fenilefrina en la arteria aorta segmento abdominal y torácico en condiciones con endotelio de ratas macho con y sin estrés.	45

ANEXOS

16.1. Anexo 1 Solución fisiológica de Krebs	56
16.2. Anexo 2 Solución de butirato	56

1. Marco teórico

1.1. Origen de los ensayos experimentales en seres vivos

La experimentación en animales es tan antigua como la del ser humano, viene de ser un mito religioso, producto de la furia de los Dioses hasta llegar a una ciencia compleja.

Los reyes de Persia permitían a sus médicos experimentar empleando hombres condenados a muerte Herophilus y Erasistratus en el siglo III a. C. practicaron en criminales con el consentimiento de los tolomeos. Celso (siglo II d. C.) sancionó el trabajo con criminales, y por otra parte expresó que no era crueldad infligir sufrimiento a unos cuantos, cuando el beneficio era para muchos. Previamente, en el Corpus Hipocrático (en el 350 a. C.) aparecen experimentos con cerdos, y después en el siglo VI se habla de inmunoprofilaxis en China. Los filósofos Anaxágoras, Aristóteles, Hipócrates, Galeno y muchos otros disecaron animales para conocer su cuerpo (15).

En la década de 1930 Hans Selye (fisiólogo y médico canadiense) estaba comenzando sus estudios en endocrinología acerca de las hormonas ováricas. Como parte de sus experimentos diariamente inyectaba extracto de ovario a un grupo de ratas. Al ser su primer trabajo de investigación no tenía mucha experiencia, y se pasaba la mañana tratando de inyectar a las ratas, se le escapaban, se le caían, las corría, las atrapaba y finalmente las inyectaba. Luego de unos meses de tratamiento Selye examinó a las ratas y encontró algo extraordinario: las ratas tenían úlceras, glándulas adrenales agrandadas y tejidos del sistema inmune atrofiados. Pensó que esos eran claros efectos de la inyección de extracto ovárico, pero al analizar el grupo control (al cual le inyectaba solución salina) halló los mismos efectos. Llegó a la conclusión de que el extracto de ovario no era el responsable y, buscando qué tenían en común ambos grupos, concluyó que esos cambios en los

cuerpos de las ratas eran una respuesta no específica a una situación displacentera (la horrible experiencia de ser inyectadas por un inexperto). Buscando una manera de describir esta respuesta tomó un término de la física y estableció que las ratas estaban “sufriendo estrés”. De hecho, el término estrés ya había sido introducido en la medicina durante la década de los 20 por un fisiólogo llamado Walter Cannon, que lo definió como la respuesta ante una amenaza a nuestro equilibrio interno u homeostasis (17).

2. Tipología y estrés

Destacado investigador de la conducta Weiss publicó en la revista Scientific American sobre un experimento con ratas albinas. Coloco dos ratas en sendos compartimentos con un electrodo conectado en la cola por el cual podían recibir una descarga eléctrica dolorosa. Uno de los dos animalitos recibía un anuncio acústico antes de sufrir la descarga. Además, tenía el privilegio de poder evitarlo accionando una palanca con la pata delantera (16).

Naturalmente, ambas ratas experimentaron estrés. Como resultado las dos perdieron peso y desarrollaron úlceras en el estómago. Sin embargo, la rata que no tenía acceso a ningún tipo de privilegio, sufría una lesión gástrica cuatro veces mayor, y había perdido el doble de peso, que la rata que tenía control sobre las descargas eléctricas (16).

2.1. Estrés

La palabra estrés proviene del vocablo griego *stringere*, que significa «apretar» y de su derivado en lengua inglesa *stress* que significa «fatiga de materia») (2).

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

A nivel fisiológico y como respuesta al estrés se activa el sistema nervioso y ciertas hormonas. El hipotálamo envía señales a las glándulas adrenales para que produzcan más adrenalina y cortisol y estas hormonas se transporten por el torrente circulatorio. Estas hormonas aumentan la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, la presión arterial y lo cual puede dañar la capa interior de las arterias. Al cicatrizarse las paredes de las arterias, éstas pueden endurecerse o aumentar en grosor, facilitándose así la acumulación de placa (3).

Lo anterior puede entonces restringir la función vascular al evitar que los vasos sanguíneos se ensanchan para permitir una mayor circulación sanguínea hacia los músculos, poniéndolos en alerta.

Otros órganos y sistemas también responden al estrés como las pupilas que se dilatan para mejorar la visión. El hígado libera parte de la glucosa almacenada para aumentar la energía. Todos estos cambios físicos preparan al individuo para reaccionar rápidamente y eficazmente cuando siente tensión emocional (4).

La manera en que el cuerpo responde al estrés es mediante el sistema nervioso simpático cuya activación que da lugar a la respuesta de lucha o huida. Debido a que el cuerpo no puede mantener este estado durante largos períodos de tiempo, el sistema parasimpático vuelve condiciones fisiológicas del cuerpo a la normalidad (homeostasis).

2.1.1 tipos de estrés

Estrés agudo

El estrés agudo es la forma de estrés más común. Surge de las exigencias y presiones del pasado reciente y las exigencias y presiones anticipadas del futuro cercano. El estrés agudo es emocionante y fascinante en pequeñas dosis, pero cuando es demasiado resulta agotador. Una bajada rápida por una pendiente de

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

esquí difícil, por ejemplo, es estimulante temprano por la mañana. La misma bajada al final del día resulta agotadora y desgastante. Esquiar más allá de sus límites puede derivar en caídas y fracturas de huesos. Del mismo modo, exagerar con el estrés a corto plazo puede derivar en agonía psicológica, dolores de cabeza tensionales, malestar estomacal y otros síntomas.

Afortunadamente, la mayoría de las personas reconocen los síntomas de estrés agudo. Es una lista de lo que ha ido mal en sus vidas: el accidente automovilístico que abolló el parachoques, la pérdida de un contrato importante, un plazo de entrega que deben cumplir, los problemas ocasionales de su hijo en la escuela, y demás.

Dado que es a corto plazo, el estrés agudo no tiene tiempo suficiente para causar los daños importantes asociados con el estrés a largo plazo. Los síntomas más comunes son:

- Agonía emocional: una combinación de enojo o irritabilidad, ansiedad y depresión, las tres emociones del estrés.
- Problemas musculares que incluyen dolores de cabeza tensos, dolor de espalda, dolor en la mandíbula y las tensiones musculares que derivan en desgarro muscular y problemas en tendones y ligamentos;
- Problemas estomacales e intestinales como acidez, flatulencia, diarrea, estreñimiento y síndrome de intestino irritable;
- Sobreexcitación pasajera que deriva en elevación de la presión sanguínea, ritmo cardíaco acelerado, transpiración de las palmas de las manos, palpitaciones, mareos, migrañas, manos o pies fríos, dificultad para respirar, y dolor en el pecho.

El estrés agudo puede presentarse en la vida de cualquiera, y es muy tratable y manejable (25).

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

Estrés agudo episódico.

Por otra parte, están aquellas personas que tienen estrés agudo con frecuencia, cuyas vidas son tan desordenadas que son estudios de caos y crisis. Siempre están apuradas, pero siempre llegan tarde. Si algo puede salir mal, les sale mal. Asumen muchas responsabilidades, tienen demasiadas cosas entre manos y no pueden organizar la cantidad de exigencias autoimpuestas ni las presiones que reclaman su atención. Parecen estar perpetuamente en las garras del estrés agudo.

Es común que las personas con reacciones de estrés agudo estén demasiado agitadas, tengan mal carácter, sean irritables, ansiosas y estén tensas. Suelen describirse como personas con "mucho energía nerviosa". Siempre apuradas, tienden a ser cortantes y a veces su irritabilidad se transmite como hostilidad. Las relaciones interpersonales se deterioran con rapidez cuando otros responden con hostilidad real. El trabajo se vuelve un lugar muy estresante para ellas.

La personalidad "Tipo A" propensa a los problemas cardíacos descrita por los cardiólogos Meyer Friedman y Ray Rosenman, es similar a un caso extremo de estrés agudo episódico. Las personas con personalidad Tipo A tienen un "impulso de competencia excesivo, agresividad, impaciencia y un sentido agobiador de la urgencia". Además, existe una forma de hostilidad sin razón aparente, pero bien racionalizada, y casi siempre una inseguridad profundamente arraigada. Dichas características de personalidad parecerían crear episodios frecuentes de estrés agudo para las personalidades Tipo A. Friedman y Rosenman descubrieron que es más probable que las personalidades Tipo A desarrollen enfermedades coronarias que las personalidades Tipo B, que muestran un patrón de conducta opuesto.

Otra forma de estrés agudo episódico surge de la preocupación incesante. Los "doña o don angustias" ven el desastre a la vuelta de la esquina y prevén con pesimismo una catástrofe en cada situación. El mundo es un lugar peligroso, poco

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

gratificante y punitivo en donde lo peor siempre está por suceder. Los que ven todo mal también tienden a agitarse demasiado y a estar tensos, pero están más ansiosos y deprimidos que enojados y hostiles.

Los síntomas del estrés agudo episódico son los síntomas de una sobre agitación prolongada: dolores de cabeza tensos y persistentes, migrañas, hipertensión, dolor en el pecho y enfermedad cardíaca. Tratar el estrés agudo episódico requiere la intervención en varios niveles, que por lo general requiere ayuda profesional, la cual puede tomar varios meses.

A menudo, el estilo de vida y los rasgos de personalidad están tan arraigados y son habituales en estas personas que no ven nada malo en la forma cómo conducen sus vidas. Culpan a otras personas y hechos externos de sus males. Con frecuencia, ven su estilo de vida, sus patrones de interacción con los demás y sus formas de percibir el mundo como parte integral de lo que son y lo que hacen.

Estas personas pueden ser sumamente resistentes al cambio. Sólo la promesa de alivio del dolor y malestar de sus síntomas puede mantenerlas en tratamiento y encaminadas en su programa de recuperación (25).

Estrés crónico.

Si bien el estrés agudo puede ser emocionante y fascinante, el estrés crónico no lo es. Este es el estrés agotador que desgasta a las personas día tras día, año tras año. El estrés crónico destruye al cuerpo, la mente y la vida. Hace estragos mediante el desgaste a largo plazo. Es el estrés de la pobreza, las familias disfuncionales, de verse atrapados en un matrimonio infeliz o en un empleo o carrera que se detesta. Es el estrés que los eternos conflictos han provocado en los habitantes de Irlanda del Norte, las tensiones del Medio Oriente que afectan a árabes y judíos, y las rivalidades étnicas interminables que afectaron a Europa Oriental y la ex Unión Soviética.

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

El estrés crónico surge cuando una persona nunca ve una salida a una situación deprimente. Es el estrés de las exigencias y presiones implacables durante períodos aparentemente interminables. Sin esperanzas, la persona abandona la búsqueda de soluciones.

Algunos tipos de estrés crónico provienen de experiencias traumáticas de la niñez que se interiorizaron y se mantienen dolorosas y presentes constantemente. Algunas experiencias afectan profundamente la personalidad. Se genera una visión del mundo, o un sistema de creencias, que provoca un estrés interminable para la persona (por ejemplo, el mundo es un lugar amenazante, las personas descubrirán que finge lo que no es, debe ser perfecto todo el tiempo). Cuando la personalidad o las convicciones y creencias profundamente arraigadas deben reformularse, la recuperación exige el autoexamen activo, a menudo con ayuda de un profesional.

El peor aspecto del estrés crónico es que las personas se acostumbran a él, se olvidan que está allí. Las personas toman conciencia de inmediato del estrés agudo porque es nuevo; ignoran al estrés crónico porque es algo viejo, familiar y a veces hasta casi resulta cómodo.

El estrés crónico mata a través del suicidio, la violencia, el ataque al corazón, la apoplejía e incluso el cáncer. Las personas se desgastan hasta llegar a una crisis nerviosa final y fatal. Debido a que los recursos físicos y mentales se ven consumidos por el desgaste a largo plazo, los síntomas de estrés crónico son difíciles de tratar y pueden requerir tratamiento médico y de conducta y manejo del estrés (25).

2.2. Estrés y sistema inmune

Durante los últimos años, la Psiconeuroinmunología, que es el estudio de la interacción entre la conducta, función neural y endocrina y los procesos inmunes,

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

ha desarrollado un campo de investigación interdisciplinario. Previamente desconocidas e insospechadas conexiones entre el cerebro y el sistema inmune (SI) proveen una fundamentación para dos importantes observaciones:

- Que la manipulación de las funciones neural y endocrina altera la respuesta inmune (RI), y que la estimulación antigénica, que induce una RI, conduce a cambios en la función neural y endocrina (7).
- Que los procesos conductuales son capaces de influir en la reactividad inmunológica y de este modo, el estatus inmune de un individuo tiene consecuencias en su comportamiento (7).

Los organismos vivos tienen la capacidad de ajustarse a una cantidad, variedad e intensidad de estímulos siempre y cuando estos oscilen dentro de un rango que no altere la homeostasis del organismo. Si la cantidad y calidad de estos estímulos está por debajo o por encima de ese rango, el equilibrio se ve perturbado y esta deficiencia o exceso puede ser considerado como estrés, el cual es generalmente multifactorial (7).

El estrés puede afectar la RI tanto humoral como celular. Las condiciones estresoras pueden suprimir profundamente la RI de los linfocitos sanguíneos, incluyendo la respuesta a mitógenos de las células T, actividad de las células asesinas naturales (NK), producción de interleucina 2 (IL -2) e Interferón (IFN) y la expresión del receptor de IL-2, así como otros aspectos de la RI celular y humoral(7).

Mientras que la mayoría de las condiciones estresoras suprimen las respuestas inmunes, condiciones de moderada intensidad pueden incrementar dicha respuesta (7).

3. Interacciones entre el sistema nervioso y el sistema inmune

El concepto de que el cerebro puede modular al SI da origen a la teoría del estrés. Recientes avances en el estudio de las interacciones entre el SNC y el SI han mostrado una vasta red de vías de comunicación entre estos dos sistemas. El sistema nervioso simpático (SNS), el cual inerva extensamente los órganos linfoides estableciendo conexiones anatómicas entre los sistemas nervioso e inmune, regula la función del SI principalmente por la vía de neurotransmisores adrenérgicos liberados a través de rutas neuronales. Las células inmunes accesorias y los linfocitos tienen receptores de membrana para la mayoría de los neuropéptidos y neurotransmisores como la norepinefrina, el principal neurotransmisor liberado en las terminaciones nerviosas simpáticas, y estas células responden a agonistas adrenérgicos, así como a otros neurotransmisores. Estos receptores son funcionales y su activación conduce a cambios en las funciones inmunes que incluyen la proliferación celular, el quimiotactismo y las respuestas inmunes específicas (8).

Existe una regulación recíproca entre el SNC y el SI, a través de la cual el SNC da señales al SI por vía hormonal y neuronal, y el SI da señales al SNC a través de polipéptidos producidos por las células inmunes. La principal vía hormonal por la cual el SNC regula al SI es el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) a través de las hormonas de la respuesta neuroendocrina de estrés (8).

Las uniones entre el sistema nervioso y el SI son sugeridas por condiciones de comportamiento de inmunosupresión, los efectos de las lesiones cerebrales y el estrés sobre la RI y cambios fisiológicos y químicos que ocurren en el cerebro durante esta respuesta (8).

Estas uniones incluyen glucocorticoides secretados por las glándulas adrenales, catecolaminas y neuropéptidos secretados por terminaciones nerviosas simpáticas y la médula adrenal, ciertas hormonas pituitarias, así como señales

originadas en las células inmunes accesorias tales como los monocitos y los macrófagos, que están representadas principalmente por citosinas proinflamatorias (8).

Bajo condiciones de estrés agudo, la activación del SNS conduce a una liberación de norepinefrina de las terminaciones nerviosas simpáticas posganglionares. A través de interacciones con receptores α y β adrenérgicos, la epinefrina y la norepinefrina median los efectos metabólicos y cardiovasculares adaptativos bajo condiciones de estrés. Sin embargo, en condiciones de estrés crónico o prolongado, las acciones excesivas de los productos del eje HPA (Hipotálamo pituitaria adrenal) y del SNS pueden conducir a alteraciones fisiopatológicas en muchos sitios del cuerpo incluyendo al SI (8).

Las catecolaminas son otra parte integral de la respuesta fisiológica a los estresores y son los efectores principales de la clásica respuesta “huida o lucha”. La activación inducida por el estresor de las células cromafines de la médula adrenal, conduce a la liberación de epinefrina a la circulación. Las elevaciones en plasma de epinefrina están estrechamente relacionadas con las elevaciones en plasma de glucocorticoides que sigue a la activación del eje HPA (8).

4. Sistema cardiovascular

4.1. Características generales

El miocardio está constituido por tres tipos de componentes: Cardiomiocitos, células no musculares y la matriz extracelular que sirve de apoyo al ensamblaje de la unidad contráctil.

Cardiomiocitos: función contráctil.

Células no musculares: fibroblastos, células endoteliales, macrófagos.

El corazón puede tener distintas condiciones fisiológicas y/o patológicas que conducen a una sobre carga y tiene diferentes respuestas de adaptación que lleva a un cambio celular extracelular y funcional.

4.2. Factores activados de hipertrofia cardiaca

Factores activados en hipertrofia cardiaca (HC). El aumento del tamaño de los cardiomiocitos se desencadena por estímulos externos que activan diferentes señales intracelulares que favorecen una mayor síntesis de proteínas, produciendo una duplicación de los sarcómeros que estaría determinando un incremento del tamaño de la célula.

Entre la amplia gama de genes activados destacan la cadena pesada de β -miosina (β -MHC) y el péptido natriurético auricular (ANF), los cuales se utilizan como marcadores de HC. La potenciación de la actividad de noradrenalina (NA) induciría HC, debido a la activación de los receptores β - adrenérgicos. Cuando NA se une a su ligando, se conduce a la activación de la adenil ciclasa (AC), con la consecuente acumulación de AMPc y la activación de la proteína cinasa A (PKA), la cual posee entre sus múltiples proteínas blanco a los canales de calcio tipo L, fosfolamban y el receptor de rianodina, con el consecuente incremento de la concentración de calcio intracelular, siendo una de las posibles vías conductoras de la HC, debido a la translocación al núcleo de factores transcripcionales pro-hipertroficados, tales como Factor nuclear de las células T activadas (NFAT). Dado a que la delección genética de NFAT atenúa el desarrollo de la hipertrofia, se ha postulado que la movilización de calcio intracelular es una posible vía de generación de hipertrofia (1).

Los receptores β se encuentran en tres subtipos y la forma predominante en el corazón son los receptores β_1 , la activación de los receptores β_1 produce estimulación del sistema adenililciclase mediada por proteínas G_s (estimuladoras)

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

que incrementan 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 (24).

Se conocen tres tipos de receptores β adrenérgicos, los receptores β_1 se encuentran en el corazón, los receptores β_2 de localización presináptica, cardiaca y diversos músculos lisos. Los receptores β_3 principalmente se expresan en tejido adiposo y los receptores β_4 localizados en el tejido cardiaco, su activación determina un incremento en la fuerza y velocidad de contracción del corazón (23). Todos los tipos receptores β adrenérgicos son estimulados por noradrenalina (NA) y adrenalina (AD).

Se ha propuesto que los receptores β pueden modificar su densidad durante la hipertrofia cardiaca, en donde debido a un aumento de la estimulación adrenérgica, los receptores β_1 disminuyen su densidad y los receptores β_2 aumentan su densidad, y estos cambios de densidad de receptores pueden contribuir al desarrollo de la hipertrofia cardiaca.

5. Arterias

El sistema cardiovascular tiene otro componente importante que es un sistema de conductos que transportan la sangre, el cual está constituido por las arterias y las venas.

Las arterias son conductos cuya función es llevar la sangre desde el corazón a diferentes partes de nuestro cuerpo (20).

Físicamente, se trata de un conducto elástico y membranoso que ostenta diversas ramificaciones. Mientras tanto, cada conducto se encuentra compuesto por tres capas (como se muestra en la figura 1): externa o adventicia (conformada por

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

tejido conjuntivo), media (compuesta por fibra musculares lisas, fibras elásticas y fibras de colágeno, las cuales varían dependiendo del tipo de arterias que se trate) e interna o intima (compuesta por el endotelio, existe en todos los vasos y la composición es idéntica) (20).

5.1. Endotelio

Esta estructura fue considerada como una barrera inerte de división entre la sangre y el músculo liso vascular, el endotelio es ahora reconocido como un órgano vital endocrino y paracrino que juega un papel clave en la prevención de la aterosclerosis. Entre las funciones importantes del endotelio están el mantenimiento del tono vascular, la regulación del crecimiento celular vascular, regulación de la adhesión leucocitaria y plaquetaria, regulación de la trombosis y fibrinólisis y mediación de la inflamación (18).

El endotelio normal detecta cambios en distintos factores hemodinámicos (p.ej. presión y fuerzas de rozamiento) y hormonales (p. ej. sustancias vasoactivas, así como mediadores que se producen en las células sanguíneas y plaquetas), y entonces sintetiza y libera sustancias biológicamente activas que mantienen la homeostasis vascular (18).

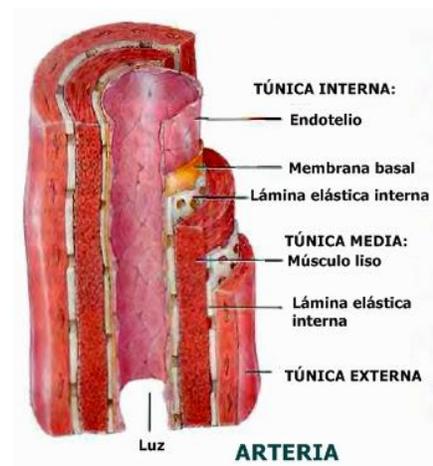
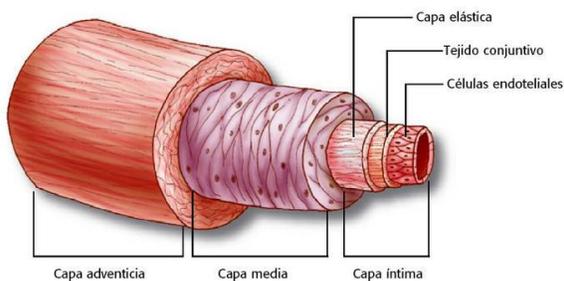


Figura 1. Estructura arterial.

<http://sistemacardiovascularecci.blogspot.mx/p/arterias-por-definicion-son-aquellos.html>
<http://www.anatolandia.com/2014/09/estructura-y-funcion-de-los-vasos-sanguineos.html>

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

En los vasos sanguíneos se han identificado receptores para acetilcolina, ubicados en el endotelio vascular, así como receptores alfa 1 y receptores β_2 ubicados en el musculo liso.

6. Alteraciones vasculares

Los vasos sanguíneos pueden sufrir cambios que comprometen sus funciones, como interferir con el endotelio vascular y ya no regule exitosamente la contracción y relajación de los vasos, en este caso se presentaría una disfunción endotelial que puede tener menor expresión de NO y mayor sensibilidad a factores protrombóticos y proinflamáticos dentro de las causas de disfunción endotelial tendríamos a la placa aterosclerótica.

6.1. Placa aterosclerótica

Esta sustancia, denominada «placa» (figura 2), está compuesta de colesterol, compuestos grasos, calcio y una sustancia coagulante denominada «fibrina». Se han identificado dos tipos de placa: placa dura y placa blanda (4).

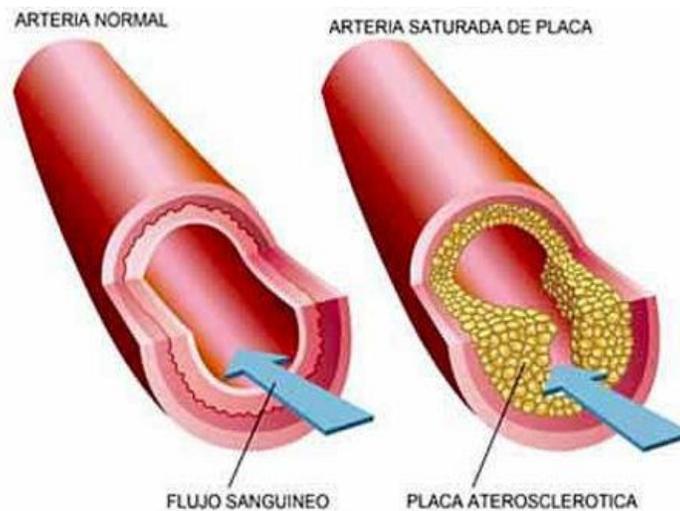


Figura 2. Formación de placa aterosclerótica
<http://aterosclerosis2015.blogspot.mx/2015/05/>

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

La presencia de placa aterosclerótica es de mal pronóstico porque se puede desprender de la pared arterial y navega por el sistema circulatorio obstruyendo los vasos por ejemplo la circulación pulmonar conduciendo a paro respiratorio, y la circulación coronaria en el corazón que lleva a paro cardiaco, las partículas que se desprenden de la placa se conocen como trombo.

7. Fármacos que modifican la respuesta vascular

7.1. Agonista alfa -1

Fenilefrina

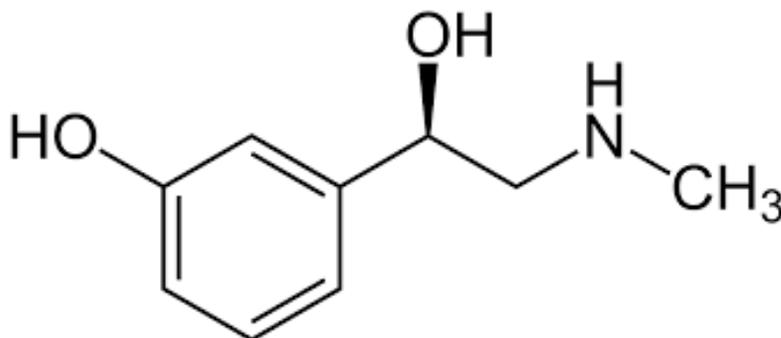


Figura 3 Estructura química de Fenilefrina.
<https://es.wikipedia.org/wiki/Fenilefrina>

La fenilefrina es un potente vasoconstrictor que posee efectos simpaticomiméticos directos. El efecto dominante es el de agonista alfa adrenérgico (21), con predominio de aumentar las resistencias periféricas (vasoconstricción en arterias y arteriolas o vasos sanguíneos de resistencia). Se emplearon durante la anestesia para aumentar la Tensión arterial (T.A.) Esto se justifica cuando se presenta hipotensión arterial severa causado por un agente anestésico sea local o general (barbitúricos) (19).

7.2. Antagonista alfa -1

Prazosina

La prazosina es un antagonista α -adrenérgico, activo por vía oral que se usa principalmente para tratar la hipertensión. Se clasifica como una quinazolina y es similar a la doxazosina y a la terazosina (21).

La prazosina es un antagonista competitivo de los receptores adrenérgicos α -1 postsinápticos a diferencia de fenoxibenzamina y fentolamina, que son antagonistas inespecíficos de los receptores alfa. La prazosina no activa la liberación de norepinefrina y, por tanto, tiene una menor incidencia de taquicardia refleja. La prazosina causa vasodilatación periférica debido a la inhibición selectiva y competitiva de los receptores adrenérgicos alfa-1 postsinápticos vasculares, reduciendo así la resistencia y la presión arterial vascular periférica (21).

7.3. Antagonista beta-adrenérgico

Propanolol

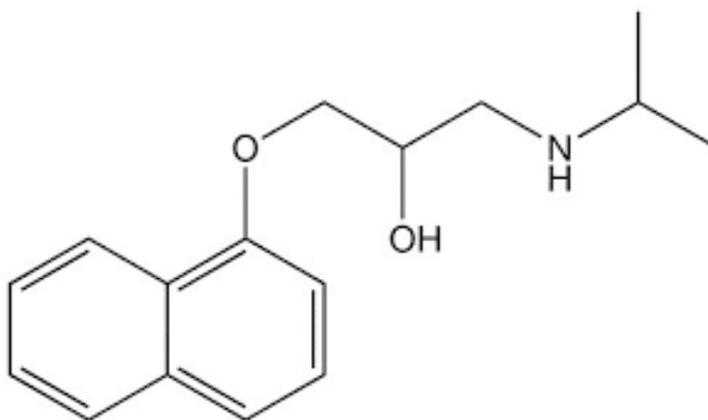


Figura 4 Estructura química de Propanolol.

<https://stabilis.org/Monographie.php?IdMolecule=379&codeLangue=SP-sp>

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

El propanolol es el fármaco prototipo de los antagonista beta-adrenérgicos. Es un bloqueante competitivo no específico de los receptores beta, sin actividad simpaticomimética intrínseca. Aunque el propanolol tiene propiedades estabilizadoras de la membrana, estos efectos son clínicamente irrelevantes a menos que se administren dosis muy elevadas. El propanolol es un compuesto racémico y sólo el enantiómero L es que tiene actividad farmacológica (21); igual que ocurre con otros antagonistas beta-adrenérgicos, el propanolol compite con los neurotransmisores adrenérgicos con estructura de catecolaminas en el lugar de unión a los receptores del simpático. De esta forma bloquea la neuroestimulación simpática en el músculo liso vascular y en el corazón, donde abundan estos receptores. La consecuencia de este bloqueo es una reducción de la frecuencia cardiaca tanto en reposo como durante el ejercicio, así como una disminución de la presión arterial tanto sistólica como diastólica. Por este motivo, el propanolol en casos aislados puede producir una hipotensión ortostática (21).

La reducción del gasto cardíaco producida por el bloqueo beta-1 es a menudo contrarrestada por un moderado aumento de la resistencia periférica vascular que incluso puede ser aumentada por el bloqueo de los receptores beta-2. Por este motivo, la reducción de la presión arterial diastólica producida por los bloqueantes beta inespecíficos es menor que la producida por los bloqueantes selectivos beta-1. Adicionalmente, el bloqueo de los receptores beta-2 puede antagonizar la relajación de los músculos bronquiales, llegando a provocar un broncoespasmo (21).

Mecanismos de señalización transduccional.

A nivel fisiológico las catecolaminas inducen contracción al activar los receptores α -adrenérgicos en el músculo liso vascular. Estos receptores, pertenecen a la familia de receptores metabotrópicos de siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G (Gq/11) que activa a la proteína lipasa C que a su vez hidroliza fosfolípidos de membrana para formar dos segundos

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

mensajeros diacilglicerol (DGA) y fosfatidilinositol trifosfato (IP3), este último migra hacia el retículo sarcoplásmico en donde reactiva receptores a IP3 y favorece la liberación de calcio, este calcio se asocia con calmodulina para activar a la enzima cinasa de miosina (MK) para que esta fosforile a la actina y conduzca a la contracción vascular como se muestra en la figura 5.

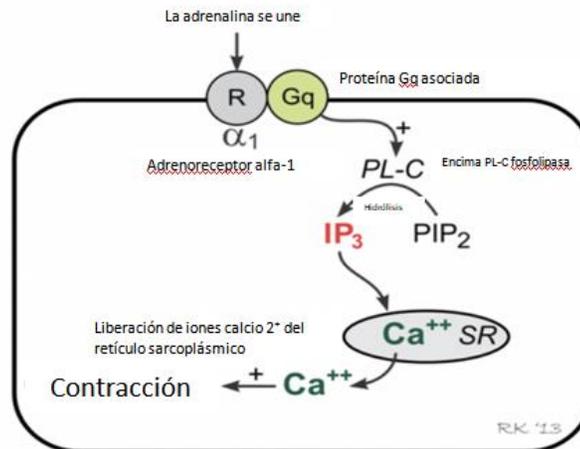


Figura 5 Mecanismo de señalización transduccional adrenérgico.

Tomado y modificado https://ysjournal.com/_trashed-5/

8. Ácidos grasos de cadena corta

La fibra dietética es un componente de los alimentos que tiene muchas propiedades y se ha considerado un nutraceutico, por los beneficios que otorga como disminuir los niveles de colesterol y glucosa plasmáticos, disminuir la presión arterial y evitar los picos de glucosa e insulina plasmáticos por el consumo de los alimentos, aumenta la sensibilidad de la insulina a los tejidos y favorece la pérdida de peso. La fibra dietética da lugar a otros compuestos como los ácidos grasos de cadena corta.

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

Los ácidos grasos de cadena corta o ácidos grasos volátiles (AGV) son un subgrupo de ácidos grasos con cadenas carbonadas de menos de seis carbonos (Figura 6). Su volatilidad se debe a la corta cadena carbonada que poseen, en contraste con los ácidos grasos de cadena larga, que son sólidos a temperatura ambiente (6).

Los ácidos grasos de cadena corta son:

- Ácido acético.
- Ácido propiónico.
- Ácido isobutírico (ácido 2-metilpropanoico).
- Ácido butírico.
- Ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico).
- Ácido valérico.
- Ácido caproico.

Los ácidos grasos de cadena corta se producen cuando la fibra alimentaria soluble y el almidón resistente son fermentados por los microorganismos intestinales en el colon y son transportados directamente a la vena porta durante la digestión de las grasas, sin embargo, en el caso de los ácidos de cadena larga son almacenados dentro de los quilomicrones y entran a los capilares linfáticos y llegan a la sangre por la vena subclavia (6).

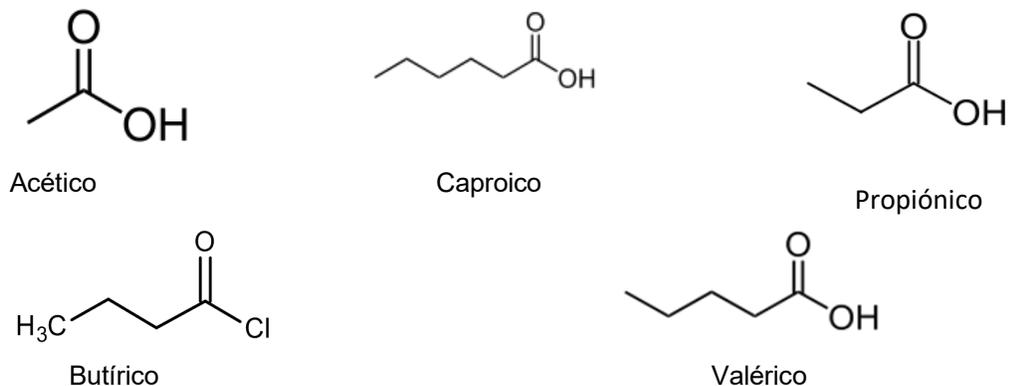


Figura 6. Estructura molecular de los principales ácidos grasos de cadena corta.

8.1. Efectos de los ácidos de cadena corta en el cuerpo

La fibra insoluble, disminuye la absorción de ácidos biliares y tiene actividad hipocolesterolemiantes. En cuanto al metabolismo lipídico, parece disminuir los niveles de triglicéridos, colesterol (baja densidad, LDL) y reducir la insulinemia postprandial.

Una característica fundamental de la fibra insoluble es su capacidad para ser metabolizada por las bacterias colónicas, con la consiguiente producción de gases (flatulencia, propulsión fecal) y ácidos grasos de cadena corta: acetato, propionato y butirato. Los dos primeros pueden ser absorbidos y emplearse para obtener energía (14). El propionato posee una acción inhibidora sobre la hidroximetilglutarilcoenzima A reductasa, paso limitante en la síntesis del colesterol endógeno. Mientras que el butirato es la principal fuente energética del colonocito y ejerce efectos tróficos sobre el mismo, así como acciones antiproliferativas. El aporte energético puede llegar a alcanzar las 300 kcal/100 gr. (14).

9. Fuentes naturales de ácidos grasos de cadena corta.

La leche materna contiene abundantes grasas saturadas como el ácido butírico, cáprico, caprílico, láurico, mirístico, palmítico y esteárico. Estas grasas aseguran el crecimiento y la supervivencia del bebé, a la vez que le protegen de los patógenos gracias a los efectos antivíricos, antibacterianos y antihongos de los ácidos caprílico, cáprico y láurico. El Aceite de coco también contiene estos tres ácidos además de láurico que es el más abundante y a quien se le ha atribuido evitar la formación de caries y placa dental. Por otro lado, se sabe que el aceite de coco participa en la regulación de la tiroides, estimula el metabolismo y se la ha considerado un adyuvante en el tratamiento del hipotiroidismo en vista de que un déficit de hormonas tiroides conduce a un aumento del colesterol sanguíneo (12).

9. 1. Butirato un ácido graso de cadena corta

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

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). El butirato ejerce también efectos anti inflamatorios en el intestino debido a la supresión del factor nuclear Kappa – β que regula la expresión de genes que codifican para citosinas proinflamatorias, así como quimiocinas y prostaglandinas. Además, existen evidencias de que el butirato modula el estrés oxidativo, en dos estudios, la pre-incubación de colonocitos de rata y de humano con butirato demostró una significativa reducción de daño al DNA inducido por peróxido de hidrógeno.

El butirato sódico es una materia prima con demostrados efectos bactericidas (tanto contra gramnegativos como contra grampositivos 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), fuente de energía para los colonocitos y enterocitos (en forma de ATP) y dirigiendo la proliferación, diferenciación y maduración de las células intestinales.

Se conoce que, el efecto de los ácidos grasos de cadena corta se realiza mediante su interacción con los receptores GPR41 y GPR43, estos pertenecen a la familia GPR40. La activación de GPR41 inhibe la síntesis de GMPc. El GPR41 se expresa en intestino, páncreas, bazo y tejido adiposo, en ratones knockout para GPR41 se encontró que tiene un contenido menor de grasa y GPR43 se expresa en tejido adiposo, intestino, células de la sangre monocelulares, eosinófilos y

basófilos. Los ratones knockout a GPR43 presentaron colitis exacerbada y deja una evidencia clara entre receptor GPR43 y la enfermedad inflamatoria intestinal.

Los receptores GPR41 y GPR43 no solo están ubicados en el colonocito sino también en células extracolónicas lo que indica una probable absorción del butirato y otros ácidos grasos de cadena corta y puedan interaccionar con sus receptores para producir efectos en otras células del organismo.

10. Hipótesis

El butirato disminuye el efecto contráctil inducido por fenilefrina en la arteria aorta de las ratas sometida a estrés.

11. Objetivos

11.1. General

Evaluar el efecto del butirato sobre la respuesta vascular de la rata estresada.

11.1.1. Particulares

- Inducir estrés en la rata mediante electrochoque e inmovilidad.
- Determinar las concentraciones séricas de cortisol y glucosa en ratas hembras y machos sometidas a estrés.
- Evaluar el efecto vascular del butirato en la arteria aorta de ratas machos y hembras sometidas a estrés.

12. Materiales y métodos

12.1. Material biológico

Se utilizarán 14 ratas de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de aproximadamente 250 gramos de peso, 7 machos y 7 ratas hembras (sin control del ciclo estral). Las cuales se distribuyeron en cuatro grupos. Los animales fueron alojados en cajas de acrílico, recibieron alimento y agua *ad libitum* y fueron mantenidas en condiciones estándares de temperatura y humedad bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12h/12h. Todos los procedimientos se realizaron apegados a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-1999, sobre el manejo y cuidado de animales.

12.2. Inducción de estrés

12.2.1. Diseño del dispositivo

Los dispositivos utilizados fueron cajas construidas con triplay con capacidad para cuatro animales, con acceso independientes, recubiertas con alambre mosquitero como se muestra en la figura 7.



Figura 7. Dispositivo para electrochoque.

12.2.1.1. Circuito de electrochoque

El circuito se estructuro con las siguientes partes:

- Fuente de poder (cargador de celular de 9 voltios).
- Interruptor manual (botón).
- Transformador de voltaje.
- Jaula para ratas.

Se conectó la fuente en serie con el botón y el secundario del transformador, en el primario del transformador se conectó la jaula como carga, por lo tanto, el diagrama resultante se observa en la siguiente figura 8:

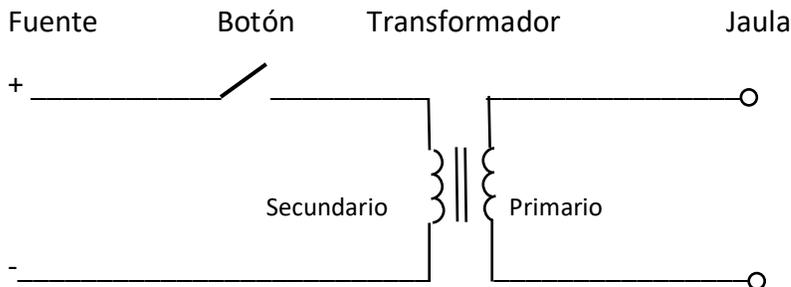


Figura 8. Diagrama eléctrico.

La relación de transformación del transformador es 2.11. La fuente utilizada es de 9 voltios por lo que, al introducir nueve voltios en el secundario, el voltaje visto en el primario (y por los roedores) es de $9 \times 2.11 = 18.9$ voltios aproximadamente.

Los grupos fueron separados por género se alojaron asignados al azar 4 machos en una caja y 3 en la otra. De la misma manera se procedió con las hembras.

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

Las cajas de 4 animales fueron sometidas a estrés por inmovilidad y con electrochoque. Las cajas de 3 animales no fueron sometidas a estrés y todas fueron alimentadas e hidratadas con una dieta estándar y agua a libre demanda.

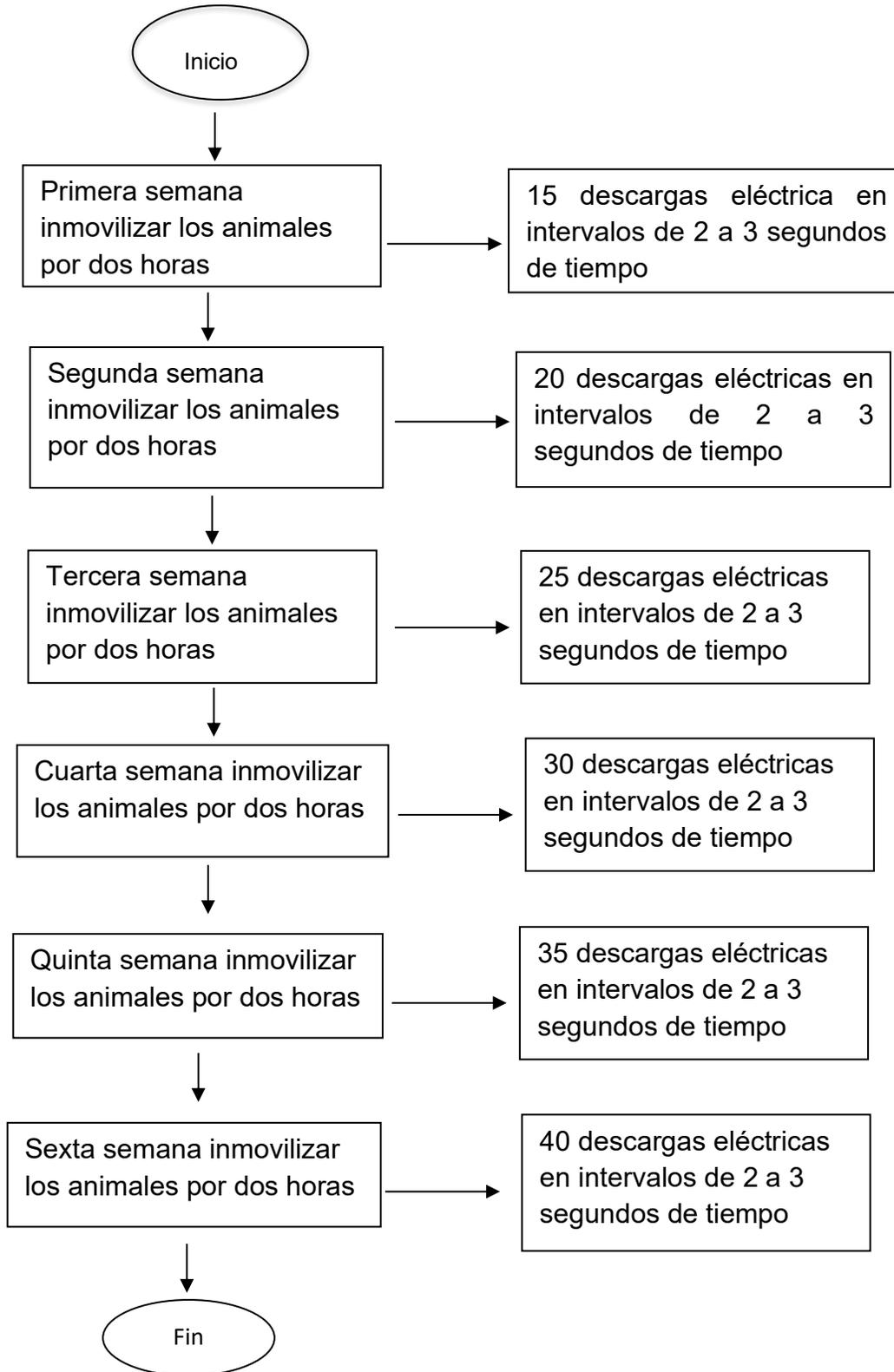
12.2.2. Estrés por inmovilidad

Los animales fueron colocados en el interior del dispositivo de manera individual y permanecieron inmóviles por un periodo de dos horas, inmediatamente después de concluir el periodo de inmovilización se les sometió a electrochoques como se muestra en la figura 9.



Figura 9. Dispositivo de inmovilidad.

12.2.3. Proceso de inducción de estrés por electrochoque



12.3. Colección de muestra sanguínea

Una vez concluida la inducción de estrés los animales se mantuvieron en ayuno por 12 horas y posteriormente fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital administrado vía intraperitoneal. La muestra sanguínea se obtuvo por punción cardíaca, se separó el suero del paquete globular y se congeló para la determinación bioquímica de cortisol y glucosa.

12.3.1. Determinación de cortisol

Se incuban 10 μ L de muestra con un anticuerpo biotinilado específico para cortisol y un complejo de rutenio marcado con cortisol derivado. Dependiendo de la concentración del analito en la muestra y la formación del complejo inmune respectivo, el marcado el sitio de unión del anticuerpo está ocupado en parte con el analito de muestra y en parte con hapteno rutenilado.

Se realiza una segunda incubación después de la adición de micropartículas recubiertas con estreptavidina, en este paso el complejo se une a la fase sólida a través de la interacción de biotina y estreptavidina.

La mezcla de reacción se aspira a la celda de medición donde las micropartículas se capturan magnéticamente en la superficie del electrodo. Las sustancias no unidas se eliminan con ProCell / ProCell M. La aplicación de un voltaje al electrodo induce emisión quimioluminiscente que se mide mediante un fotomultiplicador.

Los resultados se determinan a través de una curva de calibración que es el instrumento específicamente generado por la calibración de 2 puntos y una curva maestra proporcionada a través del reactivo de código de barras o e-barcode.

12.3.2. Determinación de glucosa sanguínea

Método de determinación enzimático con hexoquinasa. La hexoquinasa cataliza la fosforilación de glucosa a glucosa-6-fosfato por ATP, de acuerdo a la siguiente reacción.



La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa oxida a la glucosa-6-fosfato en la presencia de NADP a gluconato-6-fosfato. Ningún otro carbohidrato está oxidado. La velocidad de formación de NADPH durante la reacción es directamente proporcional a la concentración de glucosa y se mide fotométricamente.



Recogida y preparación de muestras.

Para la recolección y preparación de muestras, se usaron tubos individuales o contenedores de recolección.

La estabilidad de la glucosa en las muestras se ve afectada por el almacenamiento, la temperatura, la contaminación bacteriana y la glucólisis en el plasma o suero.

Las muestras sin conservante deben separarse de las células o del coágulo. Cuando se extrae sangre y se permite coagularse y permanecer sin centrifugar a temperatura ambiente, el promedio la disminución de la glucosa sérica es de ~ 7% en 1 hora (0.28 a 0.56 mmol / L o 5a 10 mg/dL). Esta disminución es el resultado de la glucólisis. La glucólisis puede ser inhibida al recoger la muestra en tubos de fluoruro.

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

Estabilidad (sin hemólisis): 5.5 a 8 horas a 15-25 °C o 72 horas a 2-8 °C

Estabilidad en plasma de fluoruro: 5.5 a 24 horas a 15-25 °C

12.4. Evaluación del efecto del butirato sobre la función vascular

Una vez que se sacrificaron los animales y fueron exanguinados se extrajo la arteria aorta (segmentos abdominal y torácico), y se colocó en solución Krebs (Anexo 1) para mantenerla viable mientras que se limpió de tejido graso y conectivo y se obtuvieron anillos de 3-5 mm de longitud que fueron colocados en el fondo de una cámara para órgano aislado sujetas por un anillo de nickrom y del extremo opuesto sujeto a un transductor de tensión isométrica FT03 Grass® el cual se encontraba enlazado a un amplificador y éste conectado a una consola MP100 BIOPAC® la cual envió los resultados a una computadora que los almacenó para su posterior análisis, se empleó como interfaz el software acknowladeg ver 3.0.

Una vez montado el tejido dentro de la cámara se cubrió con solución Krebs, manteniendo la temperatura a 37°C y burbujeo de carbógeno y ajustando la tensión basal del tejido a 3 ± 0.2 g. A continuación, se realizó una curva de sensibilización utilizando una concentración submáxima de fenilefrina (1×10^{-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 tres ocasiones). Después de la tercera estimulación con fenilefrina y una vez alcanzada la meseta se adicionó carbacol (1×10^{-6} M) durante 5 minutos, finalmente, se lavó el tejido en tres ocasiones y se repitió el lavado cada 20 minutos durante 1 hora.

Una vez transcurrido el tiempo de recuperación se corrió una curva concentración-respuesta a fenilefrina (1×10^{-9} – 1×10^{-5} M) en presencia de propanolol y rauwolscina antagonistas beta y alfa₂ respectivamente, adicionando una concentración después de que la anterior hubiera alcanzado su meseta (5 minutos)

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

y finalmente se lavó el tejido en 3 ocasiones y se dejó en recuperación por espacio de 1 hora lavando cada 20 minutos. Estos datos conformaron la curva control.

Posterior al tiempo de recuperación se adiciono a cada cámara una concentración de butirato (Anexo 2), permitiendo un periodo de 30 minutos para establecer el equilibrio y se corrió nuevamente una curva concentración- respuesta a fenilefrina.

13. Resultados

13.1. Inducción de estrés

La evaluación conductual de los animales durante el proceso aplicación de los estímulos estresores exhibió que se indujo la defecación, micción (figura 10), vocalización, incremento de la frecuencia respiratoria en los días 1 a 3 del inicio de la aplicación del estímulo. A las 2 semanas se tornaron agresivos y se indujeron autolesión mordiendo su cola y arrancando su pelaje (figura 11). Durante la semana 4 las hembras sometidas al protocolo, así como los machos de menor peso evidenciaron una mayor sensibilidad al electrochoque. En las semanas 5 y 6 la conducta fue mantenida, ya había crecido el pelo.



Figura 10. Animales bajo estrés por inmovilización.



Figura 11. Animal bajo inducción de estrés que presenta pérdida de pelo.

Los datos anteriores muestran que los modelos fueron efectivos para inducir estrés en los animales.

13.2. Evaluación bioquímica

Con la finalidad de establecer si el estrés inducido en los animales condujo a modificaciones orgánicas, se cuantificaron las concentraciones de cortisol y glucosa séricos, y se observó que las hembras sometidas a estrés incrementan su concentración de cortisol mientras que los machos presentan una tendencia a disminuirlo como se puede apreciar en la figura 12. Cabe hacer notar que las concentraciones basales de cortisol en ambos grupos difieren siendo superior en las hembras.

Con respecto a la concentración sérica de glucosa, se muestra que la concentración basal de glucosa en hembras es menor que en machos y dentro de los grupos sometidos a estrés el perfil de concentración de glucosa tiende a incrementarse en ambos grupos (hembras y machos) como puede observarse en la figura 13.

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

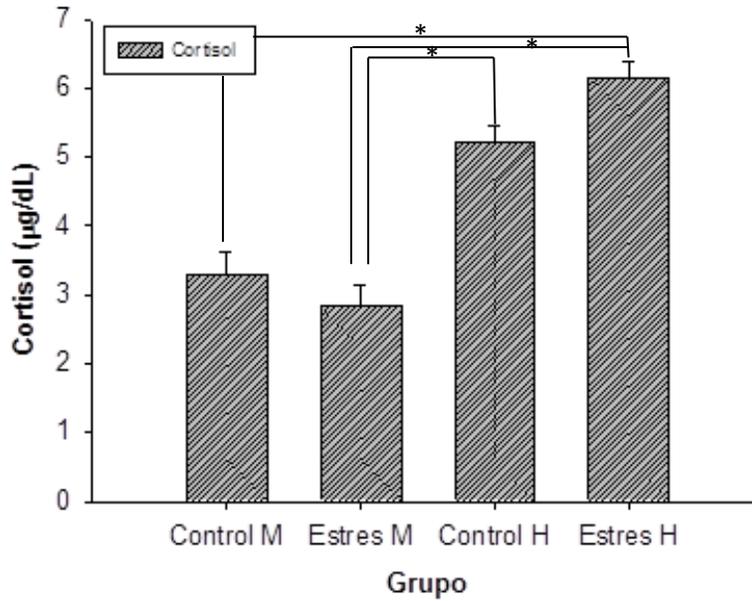


Figura 12. Análisis de varianza de cortisol entre machos y hembras, estrés y control. Muestra la concentración de cortisol plasmático en los diferentes grupos, Control M (Machos) Control H (Hembras), Estrés M (Machos), Estrés H (Hembras). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguida de un análisis de contraste Holme-Sidak y se consideró como significativo cuando * $p \leq 0.05$.

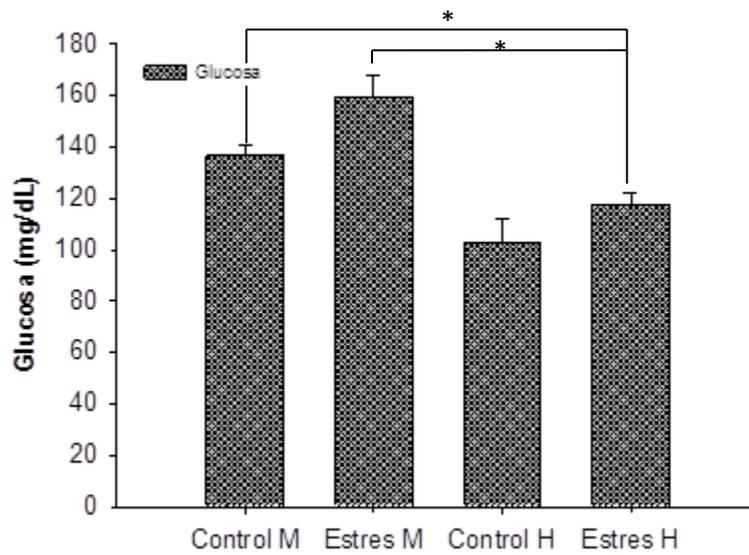


Figura 13. Análisis de varianza de glucosa entre machos y hembras, estrés y control. Muestra la concentración de glucosa contra los diferentes grupos, Control M (MACHOS) Control H (HEMBRAS), Estrés M (MACHOS), Estrés H (HEMBRAS). Se realizó un análisis de varianza (anova) seguida de un análisis de contraste Holm-Sidak y se consideró como significativo cuando * $p \leq 0.05$.

13.3. Efecto del estrés sobre la reactividad vascular

Los ensayos vasculares exhibieron que el estrés disminuye la contracción inducida por la fenilefrina en la arteria aorta segmento abdominal de rata hembra como se muestra en la figura 14, sin embargo, el estrés ejerció disminución en la respuesta contráctil de la aorta torácica de la rata hembra como se exhiben en la figura 15. Este efecto divergente podría estar asociado a una regulación a la baja en la densidad de receptores α -adrenérgico, como un mecanismo compensador ante la elevación de la concentración de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) circulantes, aunado a esto podrían haber una disminución de la concentración de prostanooides vasocontráctiles que se sabe participan en la contracción de la arteria aorta en el segmento abdominal, como una consecuencia del incremento en la concentración de cortisol que podría disminuir la actividad de la fosfolipasa A2. De manera opuesta en el segmento torácico donde el estrés incrementa de manera discreta la contracción inducida por fenilefrina y donde los prostanooides parecen tener una acción limitada dado que el segmento torácico de la aorta se comporta como un vaso de conductancia que contribuye poco a la resistencia vascular sistémica.

Por otro lado, el perfil de contracción vascular que experimentan la vasculatura de machos sometidos a estrés en ambos segmentos vasculares (abdominal y torácico) muestra el mismo patrón, es decir en ambas regiones anatómicas de la arteria el estrés ejerce un efecto positivo pero de magnitud diferente siendo mayor en el segmento abdominal como se muestra en las figuras 16 y 17, lo que podría explicarse como un descenso en producción de prostanooides vasoactivos mínimos en concordancia con un incremento pobre en la producción de cortisol aunado a ello un incremento en la sensibilidad de los receptores a fenilefrina podría estar ocurriendo.

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

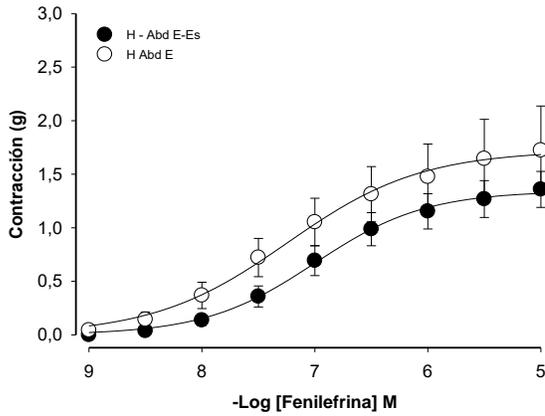


Figura 14. Curva Concentración-Respuesta a la fenilefrina en arteria aorta segmentos abdominales de rata hembra. Los puntos negros representan segmentos abdominales con estrés y los puntos blancos segmentos abdominales sin estrés. Cada punto es el promedio \pm el error estándar de N=2.

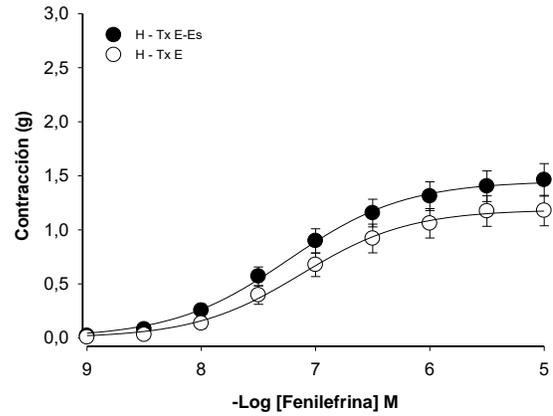


Figura 15. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmentos torácicos de ratas hembra. Los puntos negros representan segmentos torácicos con estrés y los puntos blancos el segmento torácico sin estrés. Cada punto es el promedio \pm el error estándar de N=2.

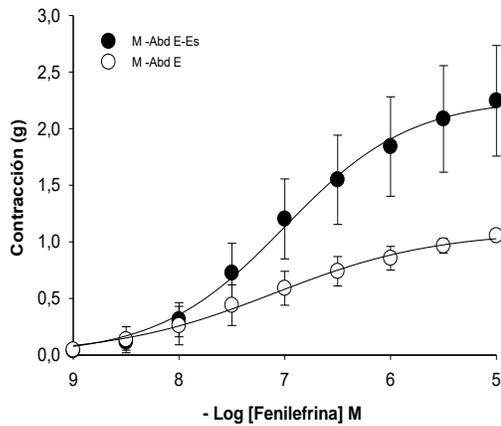


Figura 16. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmentos abdominal de ratas macho con y sin estrés. Los puntos negros representan animales sometidos a estrés, los puntos blancos animales sin estrés. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de N=2.

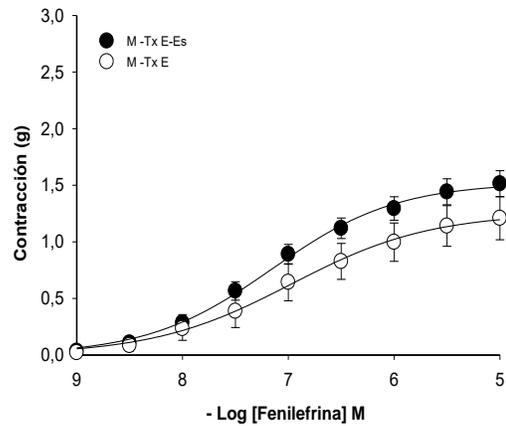


Figura 17. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmentos torácicos de ratas macho con y sin estrés. Los puntos negros representan animales sometidos a estrés, los puntos blancos animales sin estrés. Cada punto representa el promedio \pm , el error estándar de N=2.

13.4. Efecto del butirato sobre la función vascular bajo condiciones de estrés

La vasculatura arterial aortica en su segmentos abdominal y torácico de la rata hembra mostró que concentraciones bajas (1×10^{-9} Y 1×10^{-8} M) de butirato pueden disminuir el efecto vasocontráctil inducido por fenilefrina en condiciones control y estrés como se aprecia en las figuras 18 - 21. Sin embargo, bajo condiciones de estrés el efecto vasorelajante atribuido al butirato es discreto en el segmento abdominal de animales estresados como se observa en la figura 18. Cabe destacar que, en el segmento torácico de animales estresados únicamente la concentración mayor (1×10^{-8} M) mantiene el efecto vasorelajante mostrado en la figura 20, lo que quizá podría indicar una expresión diferencial de las dianas farmacológicas para el butirato o bien cambios en la sensibilidad del receptor como consecuencia del factor estrés.

La evaluación del efecto del butirato sobre la vasculatura aortica en sus segmentos abdominal y torácico de ratas macho exhiben de manera semejante a lo que ocurre en las hembras, que concentraciones bajas de butirato (1×10^{-9} Y 1×10^{-8} M) disminuyen la respuesta contráctil inducida por la fenilefrina como puede apreciarse en las figuras 22 y 24. La misma evaluación pero en condiciones de estrés interesantemente el butirato mantuvo el descenso de la contracción inducido por fenilefrina como puede apreciarse en la figura 23 y 25.

Tomando juntos estos datos podría sugerirse que el butirato tiene la capacidad de revertir la hiperreactividad vascular inducida por la fenilefrina bajo condiciones de estrés. Cabe destacar que se desconoce el mecanismo preciso a través del cual el butirato ejerce sus acciones vasculares.

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

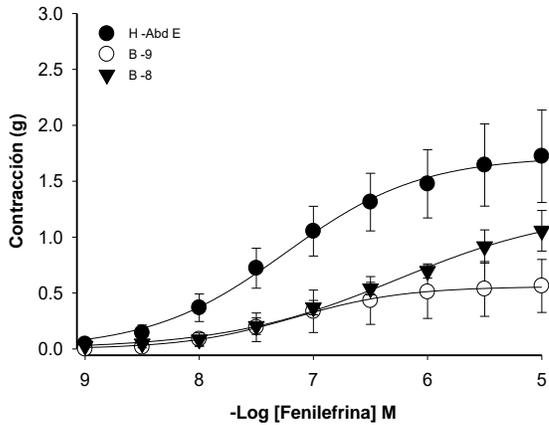


Figura 18. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmento abdominal de ratas hembra sin estrés. Los puntos negros corresponden al control, los puntos blancos son segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M, los triángulos corresponden a segmentos con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa promedio \pm el error estándar de N=2.

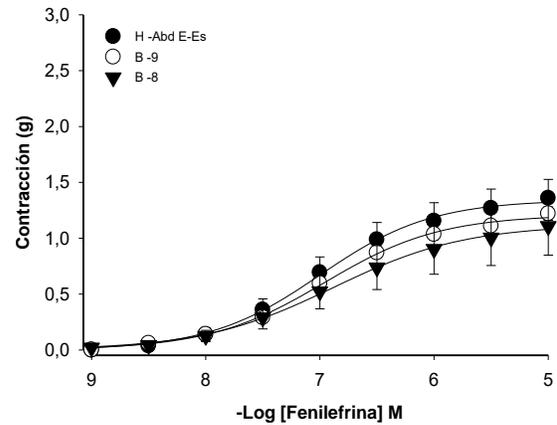


Figura 19. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal de ratas hembras con estrés. Los puntos negros corresponden al control y los puntos blancos segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M, los triángulos son segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa promedio \pm el error estándar de N=2.

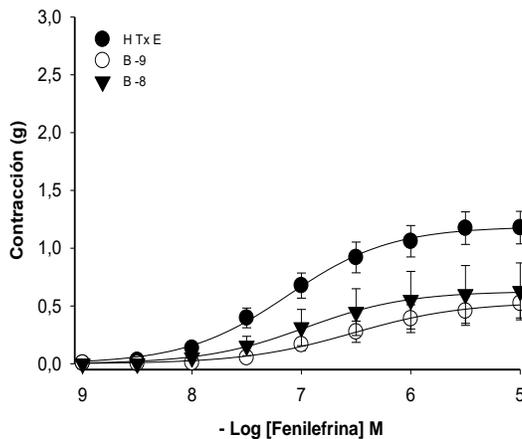


Figura 20. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento torácico de ratas hembras. Los puntos negros representan el control, los puntos blancos anillos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M, los triángulos representan segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa promedio \pm el error estándar de N=2.

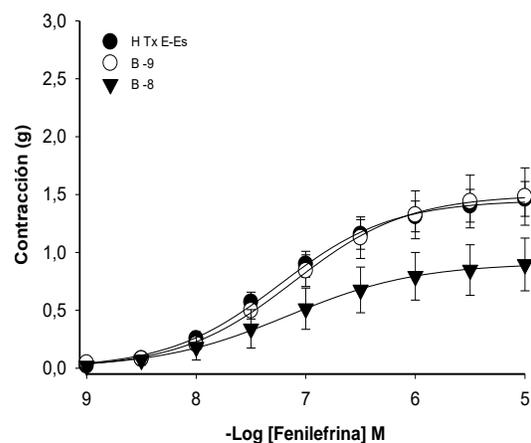


Figura 21. Curva Concentración -Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento torácico de ratas hembras estresadas. Los puntos negros representan Control, los puntos blancos son segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M, los triángulos representan segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa promedio \pm el error estándar de N=2.

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

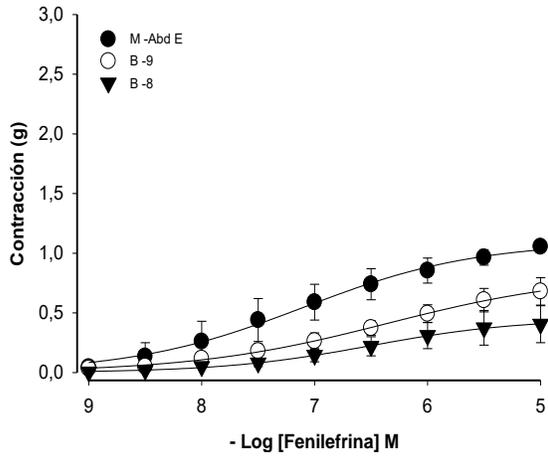


Figura 22. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal de rata macho. Los puntos negros representan el control, los puntos blancos segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M, los triángulos representan segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa promedio \pm el error estándar de N=2.

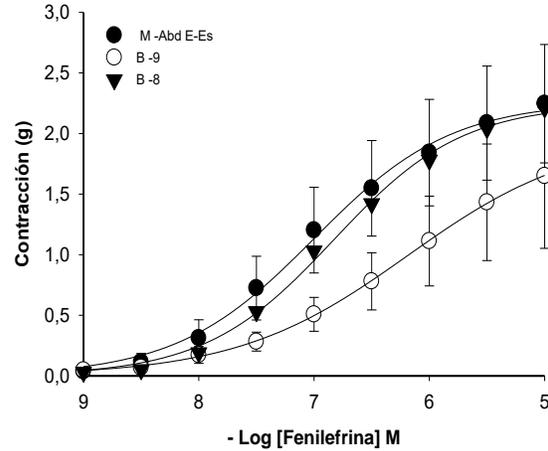


Figura 23. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal de la rata macho sometida a estrés. Los puntos negros representan el control, los puntos blancos son segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M, los triángulos representan segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa promedio el error estándar de N=2.

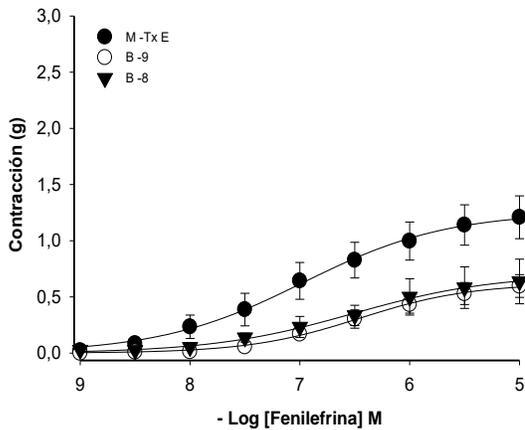


Figura 24. Curva concentración-Respuesta a fenilefrina de arteria aorta segmento torácico de ratas. Los puntos negros representan el control, los puntos blancos son segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M, los triángulos representan segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa promedio \pm el error estándar de N=2.

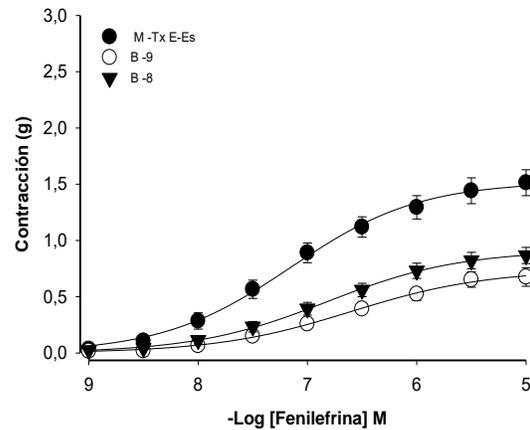


Figura 25. Curva Concentración-Respuesta a fenilefrina en arteria aorta segmento torácico de ratas sometidas a estrés. Los puntos negros corresponden al control, los puntos blancos representan segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-9} M. Los triángulos representan segmentos pre-incubados con butirato 1×10^{-8} M. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de N=2.

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

Parámetros farmacodinámicos obtenidos para la fenilefrina en la arteria aorta segmento abdominal y torácico en condiciones con endotelio de ratas hembras y macho con y sin estrés.

Tabla 1. Se muestran la eficacia (E_{Max}), la potencia (CE_{50}) y la afinidad ($-\text{Log}CE_{50}$) para la fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal y torácico con endotelio de ratas hembra con y sin estrés. Cada valor representa el promedio \pm error estándar de $n= 3$ a 4 ratas. Se consideró estadísticamente significativo cuando $*p<0.05$ vs control tras t-Student.

	SIN ESTRÉS		CON ESTRÉS	
	TX	ABD	TX	ABD
E_{Max}	1.19 \pm 0.14	1.76 \pm 0.46	1.45 \pm 0.14	1.34 \pm 0.16
C_{Eso}	8.69E-08 \pm 1.34E-08	6.58526E-08 \pm 1.24178E-08	7.0E-08 \pm 70.0E-08	1.14778E-07 \pm 2.10522E-08
$-\text{Log}C_{Eso}$	7.09 \pm 0.08	7.22 \pm 0.09	6.7 \pm 0.6	6.98 \pm 0.08

Tabla 2. Se muestran la eficacia (E_{Max}), la potencia (CE_{50}) y la afinidad ($-\text{Log}CE_{50}$) para la fenilefrina en arteria aorta segmento abdominal y torácico con endotelio de ratas macho con y sin estrés. Cada valor representa el promedio \pm error estándar de $n= 3$ a 4 ratas. Se consideró estadísticamente significativo cuando $*p<0.05$ vs control tras t-Student.

	SIN ESTRÉS		CON ESTRÉS	
	TX	ABD	TX	ABD
E_{Max}	1.21 \pm 0.18	1.079 \pm 0.004	1.52 \pm 0.12	2.25 \pm 0.47
C_{Eso}	1.5E-07 \pm 4.1E-08	1.20E-07 \pm 9.61E-08	8.47E08 \pm 2.00E-08	1.42E-07 \pm 4.83E-08
$-\text{Log}C_{Eso}$	6.99 \pm 0.18	7.145 \pm 0.480	7.16 \pm 0.08	6.95 \pm 0.15

14. Discusión

Vélez-Marín (2012), definió al estrés como las acciones de estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente sobre los sistemas nervioso, endocrino, circulatorio y digestivo de un animal, donde dichos cambios son susceptibles de valorarse a nivel funcional. También destacó que los individuos presentan una reacción de defensa ante los agentes inductores de estrés. Por otro lado, se sabe que las consecuencias fisiológicas y patológicas de la exposición al estrés dependen de dos factores, por un lado las características de la situación estresante y por el otro de las variaciones individuales, se conoce también que el estrés condiciona alteraciones agudas y crónicas en las concentraciones plasmáticas de cortisol y hormonas tiroideas; además, puede inducir alteraciones en las reacciones fisiológicas y el comportamiento en animales, en este contexto nosotros encontramos marcados cambios conductuales condicionados por los estímulos estresores aplicados y que se manifestaron con un incremento en la defecación, la micción, vocalización e incremento de la frecuencia respiratoria que evidenciaron una conducta alterada, cabe destacar que estas manifestaciones fueron evidentes dentro de los primero tres días tras aplicar los estímulos estresores lo que permite suponer un efecto agudo y que guarda relación con lo expuesto por dicho autor (28).

De acuerdo a McLeod (2010), el estrés repentino y severo generalmente produce: aumento de la frecuencia cardíaca, aumento de la respiración, disminución de la actividad digestiva e incremento de la liberación de glucosa por el hígado para obtener energía (26), en concordancia con estas aseveraciones la evaluación de la concentración de glucosas aquí realizada mostró un incremento en aquellos animales sometidos a estrés respecto de los controles lo que permite evidenciar un marcador biológico que refiere la presencia de estrés en estos animales, además, es independiente del sexo, sin embargo, también se hace evidente una diferencia en la magnitud de la concentración relacionada al género lo que podría asociarse con la manera en que cada sexo responde al estrés. En este sentido se sabe que

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

en los modelos animales los efectos del estrés en el cerebro muestran que las hembras y los machos responden de manera diferente a los factores estresantes agudos y crónicos debido a factores de desarrollo que involucran tanto los efectos epigenéticos de las hormonas como los genes en los cromosomas sexuales (29).

El cortisol es una hormona esteroide sintetizada por las glándulas suprarrenales a partir del colesterol, pero es el hipotálamo quien inicia la cascada de señalización en la síntesis del cortisol al liberar la hormona liberadora de corticotropina (CRH) que induce a la glándula pituitaria para que ésta secrete la hormona adrenocorticotropina (ACTH). Después, la ACTH hace que las glándulas suprarrenales liberen cortisol en el torrente sanguíneo. Su secreción es regulada por el mismo cortisol quien en concentraciones elevadas disminuye la liberación adicional de ACTH y CRH a través de un circuito de retroalimentación negativa (33). La evaluación sérica de cortisol en condiciones con y sin aplicación del factor estrés muestra la respuesta al estrés biológico, es decir, al conjunto de respuestas que le permiten al organismo adaptarse a las nuevas condiciones del entorno. En condiciones de estrés metabólico asociado con factores ambientales y de comportamiento, el eje Hipotálamo Hipófisis Adrenal (HPA) estimula la hipófisis para segregar más ACTH, en comparación con las condiciones normales. Bajo este contexto los resultados permitieron mostrar que las hembras incrementan las concentraciones de cortisol cuando son sometidas a factores estresores como un mecanismo adaptativo al estrés, sin embargo, esto no se observa en los machos, lo que podría sugerir una respuesta adaptación disminuida o reflejar la evaluación de la cuantificación en una etapa de estrés crónico, sin embargo, esto requerirá demostrarse.

Conjuntando los resultados anteriores es plausible mencionar que los modelos de electrochoque e inmovilización aplicados a los animales en este protocolo condujeron al desarrollo de estrés, lo que permite suponer que el sistema cardiovascular es sensible al mismo y susceptible de evaluarse. Aunado a esto recordemos que la primera respuesta fisiológica al estrés se manifiesta como la

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

activación del eje simpático-adreno-medular (SAM), que estimula la liberación de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), como una respuesta inmediata y transitoria, cuyo objetivo es preparar al cuerpo para el esfuerzo físico mediante el incremento de los niveles de glucosa y de ácidos grasos (27). Sin embargo, también es conocido que existe una asociación entre el estrés psicológico y las enfermedades cardiovasculares, aunque los mecanismos que subyacen a tales alteraciones cardiovasculares no se han esclarecido, se ha propuesto que la hiperactividad del sistema nervioso autónomo y cambios humorales que finalmente convergen en disfunción endotelial desencadenan los efectos cardiovasculares indeseados. Además, se ha postulado que la cascada inflamatoria aunada a un desequilibrio del estrés oxidativo podrían ser componentes fisiopatológicos claves de los cambios cardiovasculares inducidos por estrés (30). En esta misma secuencia de ideas nosotros evaluamos la reactividad vascular de animales sometidos a estrés manteniendo íntegro el tejido endotelial con la exploración de dos segmentos anatómicos de la arteria aorta, los resultados mostraron en principio respuestas divergentes, las hembras sometidas a estrés en su segmento abdominal desarrollaron una menor contracción respecto a su control no estresado, esto podría ser el resultado de una respuesta de adaptación a las descargas adrenérgicas inducida por el estrés, que intenta revertir la respuesta contráctil a través de la liberación de vasodilatadores dependientes del endotelio, aunque no es posible descartar una regulación negativa en la expresión de receptores adrenérgicos como respuesta reguladora en virtud de que el estímulo estresor se aplicó por un periodo prolongado, tampoco en este ensayo podríamos discriminar la participación de hormonas sexuales y esto tendría que ser probado en ensayos futuros. Mientras que en el segmento arterial torácico de estos mismos animales la contracción arterial fue ligeramente mayor respecto a los controles, este efecto podría explicarse al menos en parte, asumiendo que dicho segmento arterial se comporta como vaso de capacitancia más que de resistencia como lo hace el segmento abdominal, y en cuyo caso, la participación de mediadores de origen endotelial es menor.

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

De manera análoga la comparación de la respuesta contráctil en arteria aorta segmento abdominal de machos sometidos a estrés mostro una respuesta mayor vs el control, cabe destacar además, que la comparación con las hembras bajo las mismas condiciones presenta un efecto opuesto, este menor efecto contráctil en las hembras podría estar asociado con la concentración hormonal propia para el género, aunado a ello es preciso mencionar que no fueron cicladas disponiendo de ellas en cualquier etapa del ciclo estral. En el caso de la contracción del segmento aórtico torácico tanto en machos y hembras de manera consistente a lo esperado mostró mayor contracción el tejido procedente de animales con estrés respecto de su control.

En otro orden de ideas, se reconoce que la microbiota gastrointestinal participa en la regulación fisiológica y el comportamiento, se asume que los compuestos derivados de su proceso metabólico desempeñan un papel central en la comunicación entre los microorganismos simbiotes y el huésped, estas moléculas mensajeras al parecer incluyen a los ácidos grasos de cadena corta, mismos que provienen de la fermentación de la fibra dietética y desempeñan funciones intestinal, metabólica e inmunitaria en el huésped, sin embargo, estos efectos benéficos se observan afectados por el estrés. Ensayos en ratones sometidos a estrés han intentado revertir los efectos del estrés psicosocial crónico con suplementación de tres ácidos grasos (acetato, propionato y butirato) logrando aliviar de manera selectiva y duradera las alteraciones duraderas inducida por estrés psicosocial (31). Por otro lado, el butirato ha sido señalado como un componente indispensable para las funciones del colon y la protección del cáncer colorrectal, atribuyendo este efecto benéfico a su capacidad del butirato para inhibir a la enzima histona desacetilasa, se ha sugerido también que el receptor GPR43 para ácidos grasos de cadena corta participa en el proceso de transducción de señales intracelulares tras su enlace al butirato, acción que conduce a efectos fisiológicos del butirato sobre los colonocitos, sin embargo, también se han identificado la expresión de GPR41 y GPR43 en células del sistema inmune, incluyendo células polimorfonucleares (GPR41 y GPR43), monocitos (GPR43),

EFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

células dendríticas (GPR41) y mastocitos (GPR43), estos pertenecen a la familia de los receptores metabotrópicos que se encuentran acoplados a proteínas G, particularmente a las GPR43 se acopla a Gq y GPR41 a Gi/o (32). A la fecha se desconoce si estos receptores podrían estar expresados en el musculo liso vascular pero los resultados de este trabajo muestran que el efecto contráctil inducido por fenilefrina es revertido cuando se expone a butirato, lo que podría suponer una interacción directa de este ácido graso con su receptor o bien una interacción con el receptor α -adrenérgico, sin embargo, a través del análisis de los parámetros farmacodinámicos se puede observar que no se manifiestan cambios en la afinidad de la fenilefrina, esto permite sugerir que el butirato no interacciona con el receptor, sin embargo, no se puede descartar una interacción alostérica negativa toda vez que el efecto del butirato es independiente de la concentración, del sexo y de la presencia de estrés.

Considerando los resultados del butirato sobre el tejido vascular, creemos que son necesarios estudios futuros para indagar sobre la presencia de receptores a butirato en el tejido vascular.

15. Conclusiones

Los modelos de electrochoque e inmovilidad generaron de manera eficiente estrés en las ratas.

El estrés aumento la respuesta vascular de la arteria aorta en sus segmentos torácico y abdominal en hembras y machos.

El butirato disminuye la respuesta vascular de aorta en los segmentos torácicos y abdominales de manera dependiente de la concentración e independiente del género.

El butirato revierte la hiperreactividad vascular inducida por estrés en ratas machos y hembras.

16. Referencias bibliográficas

1. Bahamondes Vidal G.C. Estrés crónico intermitente aplicado en ratas durante el periodo de gestación induce "programming" sobre el tejido cardiaco en la descendencia de ratas machos [tesis licenciatura] Universidad de Chile 2011. Acceso 21 /10/2015
[www./2011/qf_bahamondes_gc/pdfAmont/qf-bahamondes_gc.pdf](http://www.2011/qf_bahamondes_gc/pdfAmont/qf-bahamondes_gc.pdf)
2. Martínez plaza C.A., Fernández Sánchez L. Estrés: aspectos médicos Madrid, España: Ministerio de trabajo y Asunto sociales: instituto Nacional de seguridad e Ingeniería en el trabajo, 2001, c 2001/ Acceso 21/10/2015 pantalla 1
www.es.m.wikipedia.org/wiki/Estres
3. D'Arcy Lyness, Ph D. La tension Emocional (estrés) Teens Health. Mayo 2013.consulta 13/01/2016. Página 1
Kidshealth.org/teenlen_espanol/mente/stress_esp.html
4. Frazier, O.H, William E. cohn, Ellen Meyers D, Civi Tello A.B, Reynolds M. Delgado III, Factor de riesgo cardiovascular. Texas Heart institute. 2014 / 21/10/2015 pantalla 1
www.texasheart.org/HIC/Topic_Esp/HSmart/riskspan.cfm
5. Bozón Martínez Erix. Ácidos grasos de cadena corta. Rev colomb Cir 1991; 6 (3): 157 – 163 Acceso 13/01/2016
6. Roth S. Karl. Ácidos grasos de cadena corta. Agosto 2015. Consulta 13/01/2015.
<http://emedicine.medscape.com/article/946755-overview>
7. Lorenzo Fernández P. Inmunodepresión en situaciones de estrés experimental y morfíno dependencia: su modulación farmacológica [Tesis Doctoral] Departamento de farmacología facultad de Medicina Universidad computense de Madrid 1992 acceso 21/10/2015 pantalla paginas 44,45
www.biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/DI0/D0048101.pdf
8. Sánchez Segura M., González García R.M., Yanelkys cos padrón., Macías Abraham C. Estrés y sistema inmune: Instituto de Hematología e

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

- inmunología 2007 / acceso 21/10/2015 paginas 1,10
http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vo123_2_07/hih1207.html
9. Lahera V. Que es fibra dietética: universidad compútense de Madrid. Noviembre 2012. Acceso 14/01/2016
 10. www.botanical-online.com/fibrasoluble.htm
 11. Fernández Miranda C. Fibra dietética y riesgo cardiovascular+fibra. Archivos médicos 2010: 2: 2-11 acceso 15/01/2016 página
 12. Gómez M, ¿Es el colesterol el malo de la película? julio 2007 acceso 08/02/2016
 13. Benavides J, Benavides J, Guerrero M, Burbana R; El empleo del ácido acético como antiséptico: 5(2): 117-24 julio 1991 acceso 08/02/2016.
 14. Silveira Rodríguez M.B, Moreno Mejía S, Molina Baena B: Alimentos funcionales y nutrición optima ¿cerca o lejos? Rev. Esp. Salud pública. 77: 3: Madrid mayo-junio. 2003. acceso 10/02/2016.
 15. Alvarado Torres A, Romero Zepeda H, Romero Márquez R.S. Animales: modelos de experimentación para la enseñanza. Universidad veracruzana. Enero-abril. 2015. Acceso 10/02/2016.
 16. Melgosa J. ¡sin estrés ¡1ª ed. Madrid. Safeliz S.L. abril 2006 pagina 64. Acceso 10/02/2016.
 17. Florencia Daneri M, Muzio N.R. Psicobiología del estrés [trabajo practico] Universidad de buenos Aires 2012 acceso 10/02/2016 páginas 3,4.
 18. Badimon L. Sociedad española de cardiología. Rev. Esp vol. 55. Supl 1 julio 2002. Acceso 29 de febrero del 2016.
 19. Spinola Flores L. Drogas adrenérgicas indicaciones y contraindicaciones. Rev. Mex. Aneste vol. 23 No. 5, 1974. Pág. 280. Acceso 29 de febrero de 2016.
 20. Gerardo J, Torta y Reynolds S, 2003 Principios de Anatomía y Fisiología. Ed. Oxford. México Acceso 3/03/2016
 21. Rodríguez Carranza R. VADEMECUM Académico de Medicamentos. MCGRAW-HILL/ INTERAMERICANAS DE MEXICO equipo de redacción

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

- IQB ANMAT argentina. Acceso 17/03/2016.
www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/p042.htm , p057.htm,i013.htm,f007.htm
22. Tamargo J, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Vaquero M, Delpón E. Efectos del óxido nítrico sobre la función cardiaca. Rev Esp cardiol supl. 2006;6(A):3-20-vol 6 Núm. Supl. A DOI: 10.1157/13087917. Acceso 9/04/2016.
www.revespcardiol.org/es/efectos-del-oxido-nitrico-sobre/articulo/13087917/
23. 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. 9na edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F. p. 229-30,247.
24. 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
25. AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION 2020. Los distintos tipos de estrés, acceso 02/12/2020. <https://www.apa.org/centrodeapoyo/tipos>
26. McLeod, S. (2010). ¿Qué es la respuesta al estrés? <https://www.simplypsychology.org/stress-biology.html>.
27. Cedeño, BP. (2015). Estrés en poblaciones de mamíferos silvestres expuestos al impacto humano. Nthe. 12:19-24.
28. Vélez-Marín, M., Hurtado, A. y Uribe-Velásquez, L. (2012). Plasma cortisol activity in rats under conditions of chronic stress supplemented with resveratrol. Colombia Médica. 42(3):221-225.
29. McEwen, B. A life-course, epigenetic perspective on resilience in brain and body in Stress Resilience, 2020. (libro).
30. Golbidi, S., Frisbee, JC., y Laher, I. (2015). Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 308(12):H1476-98.
31. Van de Wouw, M., Boehme, M., Lyte, JM., Wiley, N., Strain, C., O'Sullivan, O., Clark, G., Stanton, C., Dinan., TG., y Cryan, JF. (2018). Short-chain fatty

EFFECTO DEL BUTIRATO SOBRE LA CONTRACCIÓN ARTERIAL DE RATAS SOMETIDAS A ESTRÉS.

acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain–gut axis alterations. *J Physiol.* 596.20: 4923–4944.

32. Corte, LY., Martínez, HE., y Ortiz, 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.
33. Leung, <https://www.dynamed.com/management/glucocorticoid-therapy-in-surgical-patients>. Acceso 28/10/2021.

16. Anexos

16.1. Anexo 1

Solución fisiológica de Krebs.

Con la finalidad de mantener el tejido viable una vez extraído del animal se preparó la solución Krebs con las sales y a las concentraciones que se describen a continuación:

NOMBRE DEL COMPUESTO	FORMULA QUIMICA	CONCENTRACION (M)
Cloruro de sodio, cristal (J.T.Barker)	NaCl	0.118
Dextrosa (Quimica Meyer)	C6H12O6	0.012
Bicarbonato de sodio. (J.T. Barker)	NaHCO3	0.025
Cloruro de potasio cristal. (J.T. Barker)	KCl	0.0047
Sulfato de magnesio cristal. (Mallinckrodt AR)	MgSO4 * 7H2O	0.00118
Fosfato de potasio monobásico, cristal.	KH2PO4	0.0018
EDTA. (Mallinckrodt AR)	C10H14O8N2Na2 * 2H2O	0.0000269
Cloruro de calcio, dihidratado. (Mallinckrodt AR)	CaCl2 * 2H2O	0.00252

16.2. Anexo 2

Solución de butirato.

Se preparó una solución estándar de butirato de sodio (Sigma-aldrich) de 1×10^{-2} M a partir de la cual se obtuvieron diluciones 1×10^{-9} M, 1×10^{-8} M.