
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

Divisional de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

EFFECTOS DE LOS ACIDOS GRASOS DE CADENA CORTA SOBRE EL DAÑO POR REPERFUSIÓN.

Asesor interno: (Dr. Jorge Ismael Castañeda Sánchez, No. 37622)

Asesor externo: (Dr. Francisco Correa Segura, No. De cedula 4125446)

Alumno: Castañeda Gómez Adrian Patricio

Matricula: 2183069947

Lugar de realización del proyecto: Instituto Nacional de Cardiología, Dr.
Ignacio Chávez

Fecha de inicio: 07/11/2022

Fecha de termino: 07/05/2023

Ciudad De México, México



QFB, Unidad Xochimilco

Proyecto en actividades relacionadas

**EFFECTOS DE LOS ACIDOS GRASOS DE CADENA CORTA
SOBRE EL DAÑO POR REPERFUSIÓN.**

Alumno

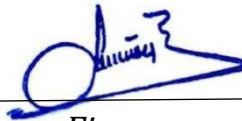
Castañeda Gómez Adrian Patricio, Matricula: 2183069947



Firma

Asesor interno

Dr. Jorge Ismael Castañeda Sánchez, No. 37622



Firma

Asesor externo

Dr. Francisco Correa Segura, No. De cedula 4125446



Firma

Lugar de realización del proyecto: Instituto Nacional de Cardiología, Dr.
Ignacio Chávez

Índice

| | |
|--|----|
| Glosario..... | 4 |
| Resumen | 5 |
| Abstract..... | 5 |
| 1. Introducción | 6 |
| 2. Marco teórico | 7 |
| 2.1 enfermedades cardiovasculares | 7 |
| 2.2 Infarto..... | 8 |
| 2.2.1 Infarto al miocardio | 8 |
| 2.3 Estadísticas mexicanas | 8 |
| 2.4 Ácidos Grasos de Cadena Corta | 9 |
| 2.5 Síndrome Metabólico..... | 9 |
| 2.6 Ácido butírico | 10 |
| 2.7 Isquemia - reperfusión..... | 10 |
| 3. Justificación | 11 |
| 4. pregunta de investigación | 11 |
| 5. Objetivos | 12 |
| 5.1 Objetivo general..... | 12 |
| 5.2 Objetivos específicos | 12 |
| 6. Hipótesis | 12 |
| 7. Metodología | 13 |
| 7.1 Técnica de isquemia - reperfusión en corazón de ratas Wistar macho por medio del sistema aislado langendorff..... | 13 |
| 7.1.1 Ratas de Síndrome metabólico (SM) con ácido butírico..... | 13 |
| 7.2 Medición del tamaño de infarto por técnica de azul de tetrazolio. | 14 |
| 8. Cronograma de actividades (diagrama de Gantt) | 15 |
| 9. Resultados | 16 |
| 9.1 Resultados de la técnica de isquemia - reperfusión en corazón de ratas Wistar macho por medio del sistema aislado langendorff..... | 16 |
| 9.2 Resultados de la medición del tamaño de infarto por técnica de azul de tetrazolio..... | 17 |
| 11. Conclusión | 18 |
| 12. Referencias | 19 |
| 13. Anexos | 20 |

Glosario

AEMPS: Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios

AGCC: Ácidos Grasos de Cadena Corta

AGNE: Ácidos grasos libres

C: Control

Ca²⁺: Calcio

ECA: Enzima Convertidora de la Angiotensina

ECV: Enfermedad Cardiovascular

EMA: Agencia Europea del Medicamento

HDL-c: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad

I/R: Isquemia – Reperusión

IMSS: Instituto Nacional del Seguro Social

INC: Instituto Nacional de Cardiología

SHE: sacarosa, hepes

SM: Síndrome Metabólico

ARA II: Antagonista de los receptores de angiotensina II

ATP: Adenosin trifosfato

ATPe: Atpenina

AcBut: Ácido butírico

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

ISO: Isoproterenol

MTT: Bromuro de tiazoil azul tetrazolio

O₂: Oxígeno

OMS: Organización Mundial de Salud

PELLET: Precipitado

RLO: Radicales libres derivados del oxígeno

RPM: Revoluciones por minuto

S.S: Robrenadante

SDHi: Inhibidores del succinato deshidrogenasa

TGs: Triglicéridos

TI: Tamaño del infarto



Resumen

El efecto de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que causan un daño por reperfusión son triglicéridos (TGs) y ácidos grasos libres que están asociados a estrés oxidante, sin embargo, existen AGCC que no son generados por el tejido adiposo, sino por el metabolismo de la microbiota intestinal, durante la fermentación de la fibra dietética. El Síndrome metabólico es un conjunto de patologías para desarrollar enfermedades cardiovasculares. Por otra parte, el ácido butírico es un AGCC de 4 carbonos que se ha utilizado en modelos de fibrosis miocárdica, hipertensión y de isquemia/reperfusión, mejorando la condición patológica; se espera que con 0.1mM de ácido butírico se obtenga un efecto cardio protector en corazones de ratas con síndrome metabólico, gracias al sistema aislado Langendorff.

Abstract

The effect of short-chain fatty acids (SCFA) that cause reperfusion damage are triglycerides (TGs) and free fatty acids that are associated with oxidative stress; however, there are SCFA that are not generated by adipose tissue, but by the metabolism of the intestinal microbiota, during the fermentation of dietary fiber. The metabolic syndrome is a group of pathologies to develop cardiovascular diseases. On the other hand, butyric acid is a 4-carbon SCFA that has been used in models of myocardial fibrosis, hypertension, and ischemia/reperfusion, improving the pathological condition; It is expected that with 0.1mM of butyric acid, a cardioprotective effect will be obtained in the hearts of rats with metabolic syndrome, thanks to the isolated Langendorff system.

1. Introducción

El Síndrome Metabólico (SM), es definido por la OMS como aquellas condiciones patológicas caracterizadas por obesidad abdominal, resistencia a la insulina, hipertensión e hiperlipidemia, factores de riesgo que desarrollan enfermedades cardiovasculares (MG, 2023). La hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus (DM) y el conjunto de síntomas conforman el denominado SM, siendo las condiciones más comunes que padece una persona adulta que acude a una atención primaria (López, et al, 2013).

Se le denomina enfermedades cardiovasculares (ECV), a todas aquellas enfermedades relacionadas con el corazón y los vasos sanguíneos. A nivel mundial, son la primera causa de muerte en adultos y en México se estima que alrededor del 19 al 20% de las muertes son provocadas por ECV de acuerdo con datos estadísticos reportados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (INEGI, 2022).

En la actualidad es cada vez más frecuente encontrar a personas jóvenes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM), lo cual puede asociarse al incremento de factores de riesgo, cuantos como la sobrecarga de trabajo, estrés laboral, malos hábitos dietéticos, sedentarismo, obesidad, tabaquismo y adicciones (Dattoli-García CA, 2021).

Hoy por hoy, existen campañas contra la prevención y tratamiento de ECV, así pudiendo prolongar la vida de todas las personas que sufren de ello a nivel mundial. Los TGs y AGNE están asociados a estrés oxidante; sin embargo, existen ácidos grasos de cadena corta generados por el metabolismo de la microbiota intestinal, durante la fermentación de la fibra dietética relacionados con la disminución: del peso corporal, de los TGs plasmáticos, de la insulina plasmática y de procesos inflamatorios. El ácido butírico viene estudiándose por un corto tiempo en el contexto de las patologías intestinales, principalmente en aquellas que cursen un aumento de la permeabilidad intestinal y una inflamación del epitelio intestinal.

2. Marco teórico

2.1 enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), son todas aquellas enfermedades relacionadas con el corazón y los vasos sanguíneos. A nivel mundial, son la primer causa de muerte, en las que destacan con más frecuencia cardiopatías coronarias las cuales afectan a los vasos sanguíneos que irrigan el miocardio; arteriopatías periféricas las cuales son un padecimiento en el que se irrigan los miembros superiores e inferiores del cuerpo como brazos y piernas; una cardiopatía reumática la cual consiste en alguna lesión en el miocardio y en sus válvulas cardiacas esto a consecuencia de alguna enfermedad causada por bacterias como (*Streptococos sp*) o alguna fiebre neumática; también se puede encontrar las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares en dichos padecimientos se generan coágulos de sangre en las piernas ocasionando émbolos que se alojan en los vasos sanguíneos de los pulmones y corazón. Una cardiopatía congénita es considerada una malformación del corazón presente desde nacimiento y por último enfermedades cerebro cardiovasculares que es la irrigación de los vasos sanguíneos al cerebro.

En México, las ECV representan entre el 19 y 20 % de las muertes en personas de 19 a los 70 años de acuerdo con datos estadísticos reportados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), de igual manera se estima que el 70% de la población mexicana vive con algún factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (INEGI, 2022).

El factor de riesgo cardiovascular es definido por el Ámbito Farmacéutico en Genética (AFG), como cualquier característica o circunstancia detectables de una persona o grupo de personas que se relacionan con un aumento de la probabilidad de presentar o desarrollar una enfermedad cardiovascular (Sandra Torrades y Pol Perez , 2006).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que para el año 2030, casi 23.6 millones de personas morirán por alguna enfermedad cardiovascular, principalmente por cardiopatías y accidentes cerebrovasculares, además menciona

que actualmente 3 de cada 4 personas padecen de alguna ECV, provocando 1.9 millones de muertes al año.

2.2 Infarto

El infarto agudo de miocardio, conocido también como ataque al corazón, es la necrosis o muerte de una porción del músculo cardíaco que se produce cuando se obstruye completamente el flujo sanguíneo en una de las arterias coronarias. El significado de infarto es conocido como la necrosis por falta de riego sanguíneo y con agudo se refiere a súbito, con mio a músculo y con cardio a corazón.

2.2.1 Infarto al miocardio

El término infarto al miocardio es denominada como un tipo de cardiopatía isquémica lo cual es una enfermedad provocada por el deterioro y la obstrucción de las arterias del corazón producido por colesterol, lípidos y células inflamatorias en las paredes de las arterias provocando una disminución en el flujo de sangre.

En la actualidad es cada vez más frecuente encontrar a personas jóvenes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM), lo cual puede asociarse al incremento de factores de riesgo, tales como la sobrecarga de trabajo, estrés laboral, malos hábitos dietéticos, sedentarismo, obesidad, tabaquismo y adicciones (Dattoli-García CA, 2021).

2.3 Estadísticas mexicanas

En el año 2021 en México, se reportaron 144,272 defunciones registradas a causa de dicho padecimiento, mientras que en el año 2022 se tuvo un aumento considerable ya que, en este, de enero a junio se registraron 439,878 defunciones.

El INEGI, mediante su censo del año 2022, reportó un total de 105,864 defunciones debido a enfermedades cardiovasculares, siendo la primera causa de muerte a nivel nacional. Cabe destacar que la información de los datos recabados fue tomada de las actas del registro civil y los registros médico-forenses (INEGI, 2022).

Conforme a ello, el Instituto Nacional del Seguro Social (IMSS), conforma una serie de Guías Prácticas Clínicas donde se mencionan a los fármacos considerados de primera línea como antihipertensivos en adultos mayores de 65 años, entre los que

se encuentran los diuréticos tiazídicos, bloqueadores de canales de calcio de acción prolongada, inhibidores de la ECA, ARA II, sin embargo, los beta-bloqueadores se han excluido como tratamiento de primera línea ya que se consideran como adyuvantes en situaciones especiales (Social, 2018).

2.4 Ácidos Grasos de Cadena Corta

Los Ácidos Grasos de Cadena Corta (AGCC), son subgrupos de ácidos de entre 2 a 6 carbonos producidos por el aparato gastro intestinal debido a la fermentación de la fibra dietética por parte de la microbiota intestinal. Por ello, el epitelio del intestino los usa como substrato energético para mantener su funcionamiento e integridad (David Manrique Vergara y María Eugenia González Sánchez, 2017). Los tratamientos con antibióticos, procedimientos radioterapéuticos, quimioterapias y hasta las dietas con un bajo contenido de fibra son acontecimientos que deterioran el microbiota intestinal, para aprovechar los AGCC como una fuente energética.

2.5 Síndrome Metabólico

El Síndrome Metabólico (SM), es considerado como una serie de diversos factores para un riesgo metabólico, que se pueden caracterizar por obesidad abdominal, hipertensión, dislipidemia, niveles bajos de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c), y resistencia a la insulina. Un cambio en el estilo de vida, especialmente los hábitos alimentarios como los dietéticos, son la principal estrategia terapéutica para el tratamiento y manejo del SM, sin embargo, no se tiene establecido un estándar dietético más efectivo para su manejo. Las modificaciones en la alimentación como mejorar la calidad de los alimentos o cambiar la distribución de macronutrientes, han demostrado efectos beneficiosos sobre las condiciones del SM dado que la evidencia científica respalda el uso de la intervención al comparar dietas bajas y restringidas en grasa, mediante ha enfoques dietéticos mediterráneos para detener la hipertensión como el nuevo paradigma para la prevención y el tratamiento del síndrome metabólico. (Castro-Barquero S et al , 2020). La calidad nutricional de este tipo de dietas saludables permite que los profesionales de la salud brinden consejos dietéticos fáciles de seguir sin necesidad de dietas restringidas. Sin embargo, cabe destacar que los estándares dietéticos con restricción energética y las mejoras en la actividad física son cruciales para mejorar

las alteraciones metabólicas observadas en los pacientes con síndrome metabólico. Hay que destacar que la alimentación es un complejo desorden que afecta a varios sistemas, aumentando el riesgo de enfermedades.

2.6 Ácido butírico

El ácido butírico, es el AGCC considerado como el principal metabolito energético utilizado por los conolocitos; el cual es un elemento clave para la nutrición del intestino, así como para el mantenimiento y restablecimiento de la integridad de la mucosa y el epitelio intestinal (David Manrique Vergara y María Eugenia González Sánchez, 2017). Por tanto, han despertado mucho interés los AGCC, y de manera especial el ácido butírico, en aquellas situaciones en la que a pacientes críticos no se les puede aportar o no interesa aportar fibra; planteándose como alternativa formulaciones de ácido butírico en diferentes cantidades (García de Lorenzo, 2014). La administración de ácido butírico viene estudiándose por un corto tiempo en el contexto de las patologías intestinales, principalmente en aquellas que cursen un aumento de la permeabilidad intestinal y una inflamación del epitelio intestinal.

2.7 Isquemia - reperfusión

El daño causado por Isquemia – reperfusión, es considerado como una de las principales causas dentro de la tasa de muertes por enfermedad en una población y en un tiempo determinados, conocida en el ámbito medico como morbimortalidad.

En condiciones normales, la mitocondria del cardiomiocito consume altas concentraciones de O₂, genera adenosín trifosfato (ATP) por la vía aeróbica y produce atrapadores de oxígeno para contrarrestar a los radicales libres derivados del oxígeno (RLO); además, también interviene en la homeostasis del calcio (Ca²⁺). El Ca del citosol es imprescindible para la contracción del músculo cardiaco, de tal forma que los niveles de Ca²⁺ citosólico están controlados y regulados de forma precisa (Cipriano Abad, Mario Castaño Ruiz, Bernardino Clavo, 2018).

Es conocido que existen diversos factores que afectan la supervivencia de las células isquémicas como la duración de la isquemia al restaurar el flujo sanguíneo, ya que es el principal factor de éxito para la terapia de reperfusión. La terapia con reperfusión no garantiza la sobrevivencia de las células isquémicas, pero en las

últimas décadas se obtuvieron resultados sobre la restauración de la perfusión en el corazón, conocida como revascularización, la cual es la única manera posible de rescatar células isquémicas de la muerte, esto gracias al estudio experimental mediante a tratamientos cardioprotectores coadyuvantes (Marisol Ruiz Meana, David Garcia Dorado, 2009).

3. Justificación

El Síndrome metabólico (SM) es un conjunto de patologías como la obesidad, la resistencia a la insulina y la hipertrigliceridemia, que a su vez son un factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares (ECV) y diabetes tipo 2. La obesidad y la resistencia a la insulina juegan un papel fundamental en el aumento de triglicéridos (TGs) y ácidos grasos libres (AGNE) a nivel circulatorio, así como de la acumulación de estos, en órganos como hígado, riñón y corazón. Los TGs y AGNE están asociados a estrés oxidante; sin embargo, existen ácidos grasos de cadena corta que no son generados por el tejido adiposo, sino por el metabolismo de la microbiota intestinal, durante la fermentación de la fibra dietética. Estos ácidos grasos son de cadena corta (AGCC) están relacionados con la disminución: del peso corporal, de los TGs plasmáticos, de la insulina plasmática y de procesos inflamatorios. El ácido butírico es un AGCC de 4 carbonos que se ha utilizado en modelos de fibrosis miocárdica, hipertensión y de isquemia/reperfusión, mejorando la condición patológica (Chen XF, 2020).

4. pregunta de investigación

¿El ácido butírico a 0.1Mm de tendrá un mejor efecto cardioprotector como tratamiento al asociado a los ácidos grasos de cadena corta en SM de ratas Wistar que pasaron por I/R?

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto cardioprotector generado por el ácido butírico a través del daño provocado por isquemia– reperfusión al corazón, mediante el sistema aislado de Langendorff.

5.2 Objetivos específicos

1. Analizar el daño causado por la reperfusión a la función cardiaca del corazón de rata macho por sistema aislado de Langendorff con ácido butírico
2. Identificar el tamaño del infarto por medio de la técnica de azul de tetrazolio y el uso del programa ImagineJ obteniendo un resultado estadístico.

6. Hipótesis

1. El ácido butírico al 0.1mM, ejerce un mayor efecto cardioprotector en corazón de ratas con síndrome metabólico a través del sistema aislado de langendorff por I/R vs las ratas control.
2. El tamaño del infarto en corazón de rata macho SM, cardiprottegido con ácido butírico, será mayor que el tamaño del infarto en corazón de rata control.

7. Metodología

7.1 Técnica de isquemia - reperfusión en corazón de ratas Wistar macho por medio del sistema aislado langendorff.

El procedimiento fue llevado a cabo en ratas macho de cepa Wistar procedentes del bioterio del INC al departamento de Biomedicina Cardiovascular ubicado en el tercer piso del edificio de investigación, las ratas utilizadas contaban con un peso aproximado entre 250 a 300 gramos, para posterior mente anestésiarlas con solución de pentobarbital sódico 3.5 unidades (0.35mL), heparina sódica 2.5 unidades (0.25mL) y solución salina 4 unidades (0.4mL de NaCl). Cinco minutos posteriormente a ser anestésiadas, se realizó un procedimiento denominado toracotomía, realizando un corte en forma de “Y” en el estómago de la rata, para posterior a ello levantar las capas de la piel y tener los órganos expuestos (imagen 1). El corazón fue perfundido vía aorta con un flujo constante de 12mL/min con solución Krebs-Henseleit a un pH de 7.4.

Cabe destacar, que la técnica fue utilizada en 4 procedimientos de las actividades relacionadas del sistema aislado langendorff.

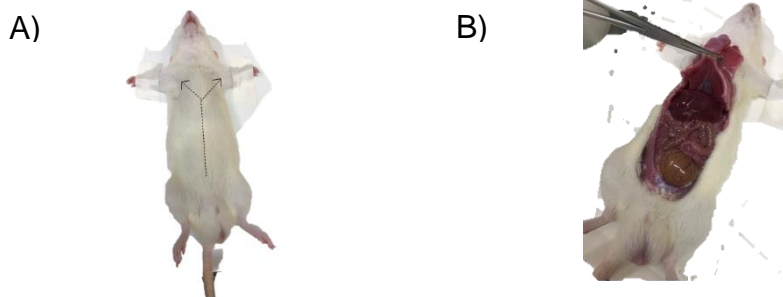


Imagen 1: A) Visualización de la posición para toracotomía y la dirección del corte a realizar, donde se cortará las dos capas de la piel de la rata para tener expuestos los órganos. B) Procedimiento de toracotomía para extracción de corazón hacia su colocación en el sistema aislado de langendorff.

7.1.1 Ratas de Síndrome metabólico (SM) con ácido butírico

El procedimiento consistió en grupos de ratas macho de la cepa Wistar, de las cuales se tuvo un grupo control (C) y un grupo Síndrome metabólico (SM). Para ello, se llevó a cabo la preparación de 2 Litros de la solución de Krebs-Henseleit, donde se agregaron 0.1 mM de ácido butírico y ajustando el pH a 7.37. El grupo C + I/R +

But: fue sometido a 30 minutos de adaptación, 30 minutos de isquemia y 30 minutos de reperfusión; el grupo SM + I/R + But: fue sometido al mismo procedimiento con 30 minutos de adaptación, 30 minutos de isquemia y 30 minutos de reperfusión (figura 1).

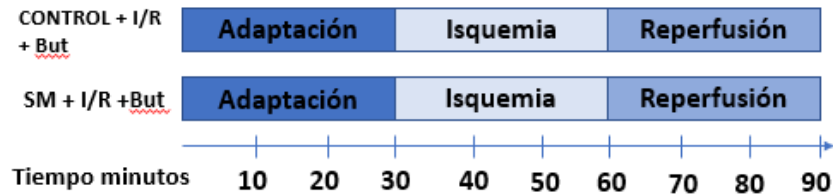


Figura 1: Esquema del protocolo experimental aplicado a grupo de SM con ácido butírico, donde se realizaron 4 grupos diferentes de SM con sus respectivos controles a los cuales se les realizaron procedimientos de I/R, T.I, Mitochondrias.

7.2 Medición del tamaño de infarto por técnica de azul de tetrazolio.

Para la técnica de tamaño del infarto, se prepararon reactivos de Fosfato de sodio (Na_2HPO_4) al 0.1 M a un pH de 2.2 y Fosfato biácido de sodio (NaH_2PO_4) al 0.1M a un pH de 7.7, en donde se colocaron las rebanadas de cada corazón.

Se pesó 0.05gr de Cloruro de 2,3,5-Trifenil tetrazolio en un tubo Falcón y se agregó 7.7 mL de Na_2HPO_4 + 2.2 mL de NaH_2PO_4 , para posteriormente llevarlo al vortex hasta su homogenización, se debe tener en consideración que el pesaje del reactivo de cloruro de 2,3,5-Trifenil tetrazolio debe realizarse con sumo cuidado por su elevado costo. Posterior al tiempo de congelación al cual fueron sometidos los corazones, se estrajeron de refrigeración para quitarles el resto de tejido de pulmones, esto con ayuda de un bisturí. Se llevaron a cabo 4 cortes generando 5 rebanadas desde el inicio hacia el ápex, posteriormente con ayuda de pinzas de disección colocaron las rebanadas en la solución preparada de azul de tetrazolio, y se colocaron en el equipo a baño maría durante 30 minutos a una temperatura de 41.7°C.

8. Cronograma de actividades (diagrama de Gantt)



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
DE LA SALUD**
Actividades de
Servicio Social
Calendario

| Etapa | Mes | Actividades a realizar | Objetivo | |
|-------|-------|---|---------------------------|---|
| I | MES 1 | Desarrollo de modelo secuencial del modelo, se solicitará al bioterio semanalmente 7 ratas de las cuales 5 formaran el grupo de síndrome metabólico y 2 controles, se hará de manera secuencial hasta completar 15 ratas con síndrome y 7 controles | Objetivo metodológico I | Tomas semanales de muertassanguíneas |
| | | | Objetivo metodológico II | Monitoreo de peso y presión sanguínea sistémica no invasiva |
| | | | objetivo metodologico III | Al final de la etapa grupos secuenciales de ratas con síndrome y controles |
| II | MES 2 | Los grupos de ratas, controles con síndrome serán sometido al fenómeno de isquemia y reperfusión en el sistema de corazón aislado. Se evaluará el efecto de los ácidos grasos, así mismo elefecto de los inhibidores | Objetivo metodológico I | Se harán toma de electrocardiograma, así como los datos del trabajo cardiaco |
| | | | Objetivo metodológico II | Se harán colectas de tejido parahacer homogenados |
| | | | Objetivo metodologico III | Otra serie de corazones se usan para aislar mitocondrias (junto confase citosólica) |
| III | MES 3 | Con las muestras generadas en la etapa II, se medirán marcadoresesenciales de la vía de activación de los ácidos grasos | Objetivo metodológico I | Corrida de muestras en geles y posterior transferencia (western blot) |
| | | | Objetivo metodológico II | Actividad de la vía con anticuerpos |
| | | | Objetivo metodologico III | Análisis de la densidad proteica de proteínas de interés en los westernblots |
| IV | MES 4 | En esta última etapa experimental, de probar que la hipótesis escorrecta en el último grupo experimental | Objetivo metodológico I | Cuantificación de los parámetros cardiacos y eléctricos de corazones con síndrome metabólico isquémicos reperfundidos con un donador externo de óxido nítrico |
| | | | Objetivo metodológico II | Colectar muestras de tejido para homogenado, mitocondrias y citosol para determinar e efecto directo del donador sobre la vía de JAK/STAT |
| | | | Objetivo metodologico III | Corrida de geles y western blots para evaluar el impacto de losácidos grasos sobre la vía demetabólica de ATP |
| V | MES 5 | Participación en la difusión de datos | Objetivo metodológico I | Preparación análisis y discusión de datos para su inclusión en publicación |
| VI | MES 6 | Participación en la difusión de datos | Objetivo metodológico I | Preparación análisis y discusión de datos para su inclusión en publicación |

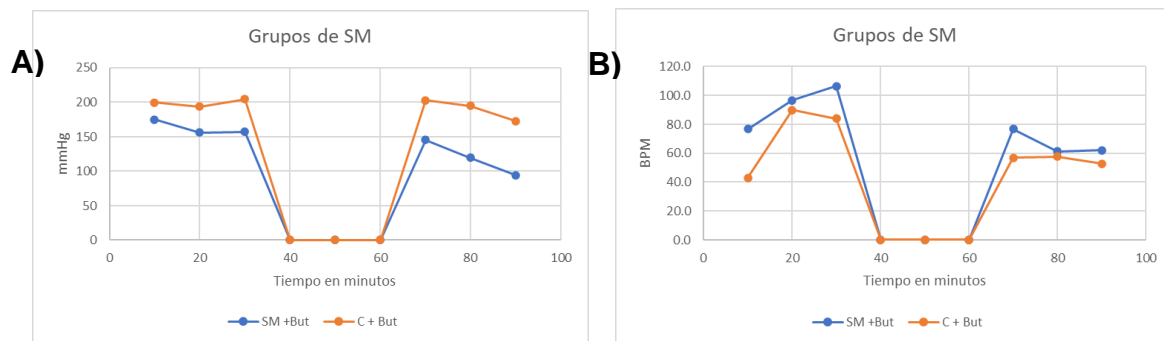
Tabla 1: Cronograma de actividades a realizar durante mi instancia del servicio social a lo largo de 6 meses en el Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”, en el departamento de biomedicina cardiovascular participando en el proyecto “EFECTOS DE LOS ACIDOS GRASOS DE CADENA CORTA SOBRE EL DAÑO POR REPERFUSIÓN.”

9. Resultados

9.1 Resultados de la técnica de isquemia - reperfusión en corazón de ratas Wistar macho por medio del sistema aislado langendorff.

Los resultados en el modelo de isquemia reperfusión en ratas con SM, demostraron que a una concentración de 0.1 mM de ácido butírico se tiene un efecto cardio protector en corazones de rata macho que cruzaron por un periodo de infarto o post infarto.

Por otro lado, técnicas como el tamaño del infarto han demostrado un poco más el efecto cardio protector con la que cunetan y el sitio del corazón en el que se puede presentar el infarto. A continuación, se presentan las gráficas de los resultados obtenidos durante el periodo de isquemia- reperfusión con ácido butírico mejorando el efecto que se tiene en los ácidos grasos de cadena corta (grafica 1).



Grafica 1: Funciones cardíacas de los grupos de SM con But y sus controles A) la presión ventricular (mmHg), B) la frecuencia cardíaca BPM. Los resultados de las gráficas presentadas son el promedio de 4 grupos diferentes de SM, donde la presión ventricular en los controles fue mayor que en los SM +But, pero respecto a su frecuencia cardíaca fue más similar posterior a la reperfusión demostrando el efecto cardioprotector.

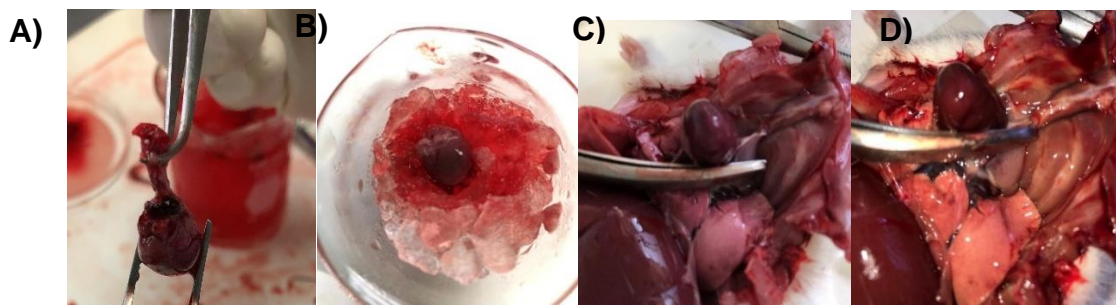


Imagen 2: Visualización del protocolo experimental aplicado a los grupos de ratas, llevando a cabo una toracotomía. A) exposición del corte de la aorta posterior a la extracción del ratón, B) corazón

en hielo, C) Corazón de rata perteneciente al grupo SM + But, D) Corazón de rata perteneciente al grupo control +But.

9.2 Resultados de la medición del tamaño de infarto por técnica de azul de tetrazolio.

Los resultados del tamaño del infarto por la técnica de azul de tetrazolio fueron los esperados. El ácido butírico como efecto cardio protector en ratas con SM, demostró resultados positivos ante el isoproterenol donde se buscaba crear un área infartada; por lo cual, evidencio un área de infarto menor en ratas macho con SM en comparación con sus controles.

A continuación, se muestran imágenes de lo realizado con esta técnica y sus resultados (imagen 3).



Imagen 3: Tamaño del infarto (T.I), aplicado a corazones de rata SM con Isoproterenol con diferentes días. A) Visualización de los cortes en los corazones con la comparación del corazón control demostrando el área infartad, apreciando el corte superior de la imagen es el inicio del corazón y el corte de la parte inferior de la imagen es el ápex. B) Presentación del T.I en corazón de rata macho control. C) Presentación del T.I en corazón de rata macho con SM.

11. Conclusión

El efecto cardioprotector del ácido butírico provocado en el daño por reperfusión en un corazón infartado o post infarto SM obtuvo resultados satisfactorios. Se demostró que con una concentración de 0.1 mM de ácido butírico, se evita el daño por reperfusión obteniendo un efecto cardioprotector en ratas macho con SM. Por otro lado, el tamaño del infarto presente en un corazón con SM fue menor al presentado por su control, debido al efecto del ácido butírico aplicado anterior a la reperfusión, reduciendo el área infartada en ratas macho con SM.

12. Referencias

- Castro-Barquero S et al . (2020). Dietary Strategies for Metabolic Syndrome: A Comprehensive Review. *Nutrients. Pubmed*, 12(10):2983.
- Chen XF, C. X. (2020). Short-chain fatty acid, acylation and cardiovascular diseases. *National Center for Biotechnology Information*, 27;134(6):657-676. .
- Cipriano Abad, Mario Castaño Ruiz, Bernardino Clavo. (2018). Myocardial-reperfusion injury in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. Biochemical aspects. *ScienceDirect*, 6.
- Dattoli-García CA, J.-P. C.-G.-N.-G.-M. (2021). Acute myocardial infarction: Review on risk factors, etiologies, angiographic characteristics and outcomes in young patients. *National Center Biotechnology Information*, 1;91(4):485-492.
- David Manrique Vergara y María Eugenia González Sánchez. (2017). Short chain fatty acids (butyric acid) and intestinal diseases. *Nutrición Hospitalaria*, 58.
- García de Lorenzo, M. A. (2014). Workshop en Farmaconutrición en el. *ARAN*, 4.
- Gómez, I. T. (2020). DIANAS TERAPÉUTICAS BASADAS EN EL METABOLISMO MITOCONDRIAL PARA EL TRATAMIENTO DE INFARTO DE MIOCARDIO. *Trabajo de grado de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Complutense*, 19.
- INEGI. (2022). ESTADÍSTICA DE DEFUNCIONES REGISTRADAS DE ENERO A JUNIO DE 2022 (PRELIMINAR)1. *INEGI. Estadísticas de Defunciones Registradas, enero-junio de 2021 y 2022P*, 40.
- Interián-Gómez Leticia*, Aguila-Gutiérrez Sara Elena*, Esquivias-López Katia Marisol*, Pulido-De la Cruz. (2021). FOOD COMPONENTS, MOOD AND THEIR RELATIONSHIP WITH THE IMMUNE SYSTEM IN COVID-19. . *Revista Salud Pública y Nutrición*, 20 (4), 73-86.
- Marisol Ruiz Meana, David Garcia Dorado. (2009). Fisiopatología del daño miocárdico por isquemia-reperusión: nuevas oportunidades terapéuticas en el infarto agudo de miocardio. *Rev. Española de Cardiología*.
- MG, S. (2023). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *National Center for Biotechnology Información*, 26;20(2):12.
- Pediatría, A. E. (2020). Isoprenalina/ Isoproterenol. *Pediamécum*, 3.
- Ramírez, M. T. (2018). Antagonismo de *Trichoderma* ssp. SOBRE *Fusarium* spp. AISLADO DE MARCHITEZ DEL ARANDANO, EN DOS MUNICIPIOS DE MICHOACAN. *Tesis*, 82.
- Sandra Torrades y Pol Perez . (2006). ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES: Factores de riesgo . *Ambito Farmacéutico en Genética* , 4.
- Social, I. M. (2018). Guía de Practica Clínica . *Coordinación de Unidades Médicas de Alta Especialidad Coordinación Técnica de Excelencia Clínica*, 41.

13. Anexos

Solución de perfusión

KREBS-Henseleit:

| | 1L | 2L | 3L | 4L |
|-------------------------|------|------|-------|-------|
| NaCl (g) | 7.01 | 14.2 | 21.03 | 28.04 |
| NaHCO ₃ (g) | 2.13 | 4.26 | 6.39 | 8.52 |
| Glucosa (g) Dextrosa | 0.78 | 1.56 | 2.34 | 3.12 |

Agregar:

| | 1L | 2L | 3L | 4L |
|-----------------|-----|------|------|----|
| Solución A (ml) | 2.5 | 5.0 | 7.5 | 10 |
| Solución B (ml) | 5.0 | 10.0 | 15.0 | 20 |
| Solución C (ml) | 2.5 | 5.0 | 7.5 | 10 |
| Solución D (ml) | 5.0 | 10.0 | 15.0 | 20 |

IMPORTANTE: Agregar a la solución octanoato desacoplado la cantidad de: 33mg (0.033gr) por cada 2L.

Solución líquida (stock)

Solución A al 6.58% de KH₂PO₄=16.45g/250ml (3.29g/50ml)

Solución B al 7.17% de KCl= 35.85g/500ml

Solución C al 11.91% de MgSO₄ *7H₂O= 29.78g/250ml

Solución D al 7.56% de CaCl₂ *2H₂O=18.90g/250ml

Molaridad final

Na⁺=145mM

K⁺=6.0mM

Mg²⁺=1.20mM

Ca²⁺=2.5mM

Glucosa=4.3mM

Octanoato desacoplado= (15.12g/200ml)

AJUSTAR SOLUCIÓN A pH=7.37

MÉTODOS

Sacarosa 250mM
Hepes 10mM
EGTA 1mM (KOH)

pH 7.4

OBTENCIÓN DE MITOCONDRIAS

Todo debe ser en frío

- Obtener corazones (mantener en una solución de 250mM sacarosa, 10mM TRIS, 1mM EDTA, pH 7.4) en frío.
- Picar finamente y lavar con la misma solución para eliminar sangre
- Incubar el tejido 10 minutos con Nagarse (subtilisina) 2mg X corazón en 10 ml de la misma solución.
- Centrifugar a 10,000 RPM (10 minutos)
- Eliminar el S.S (Sobrenadante).
- Homogenizar el pellet (precipitado) con la misma solución
- Centrifugar a 3,500 RPM (10 minutos)
- Eliminar el pellet, recuperar el sobrenadante por medio de un filtrado con una gasa
- Centrifugar el sobrenadante a 10,000 RPM (10 minutos)
- (Cito 15ml) Recuperar el pellet con pincel y resuspender en +/- 30 ml de sacarosa 250mM, TRIS 10mM pH 7.4 + 0.1% de albumina de suero bovino
- Incubar 10 minutos
- Centrifugar a 10,000 RPM
- Recuperar el pellet (mitocondrias con pincel en un volumen pequeño 50µl) de sacarosa 250mM, TRIS 10Mm pH 7.0
- Tapar y determinar proteína:

CORAZÓN

Determinación de proteína: Biuret

| | Blanco | Muestras | Estándar |
|--------------------------------|--------|----------|----------|
| NaOH 8% | 2000µl | 2ml | 2ml |
| Desoxicolato de sodio 0.4% | 100µl | 0.1ml | 0.1ml |
| CuSO4 1% | 100µl | 0.1ml | 0.1ml |
| H2O | 600µl | 560µl | 500µl |
| Estándar de albumina (10mg/ml) | | | 0.1ml |
| Mitocondria | | 40µl | |


- Agitar y leer a 540nm

Medición del tamaño de infarto por la técnica de azul de tetrazolio.

Reactivos

- pH 2.2 Bajo Na_2HPO_4 0.1M (Fosfato ácido de sodio)
- pH 7.7 Alto NaH_2PO_4 0.1M (Fosfato Biácido de sodio)
- Cloruro de 2,3,5-Trifenil tetrazolio (rojo)

Procedimiento

| | |
|--|---|
| <p>1ª Parte Preparación de la mezcla de azul de tetrazolio</p> | <p>1) Realizar la mezcla de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • pH Bajo 7.7:2.2 pH Alto + 0.5% de cloruro de 2,3,5-Trifenil tetrazolio • Ejemplo: Para 10ml de solución se debe medir 7.7 ml de pH bajo Na_2HPO_4 0.1M +2.2 de pH Alto NaH_2PO_4 0.1M + 0.05gr de cloruro de 2,3,5-Trifenil tetrazolio. <p>Por cada corazón se utilizarán 10 ml de la solución preparada, homogenizando en un vortex.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nota: El pesado del reactivo de cloruro de 2,3,5-Trifenil tetrazolio debe de realizarse con sumo cuidado por el costo elevado de éste. <div style="text-align: center;">  </div> |
| <p>2ª Parte Preparación del corazón y su limpieza</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1) Anestesiarse al ratón con 3.5 microlitros de pentobarbital, 2 μl de heparina y 4.5 μl de solución salina (NaCl). 2) Con ayuda de tijeras quirúrgicas sin punta, hacer un corte en Y en el estómago del ratón teniendo expuesto el corazón. 3) Extraer el corazón y colocarlo en hielo, quitando los pulmones 4) Quitar el exceso de sangre del corazón con solución salina para posteriormente colocarlos en un tubo Falcón con una gasa. 5) Llevar a congelación a temperatura de -20°C durante 30 minutos |
| <p>3ª. Parte Preparación de los cortes para baño maría.</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1) Posterior al tiempo de congelación, sacar corazón del Falcón y quitar resto de tejido de pulmones. 2) Con ayuda de un bisturí, llevar un total de 4 cortes desde el inicio hacia el ápex. 3) Con ayuda de pinzas colocar los 5 pedazos de corazón, en el tubo Falcón con la mezcla de azul de tetrazolio. |

| | |
|---|---|
| | <p>4) Con ayuda de una tapa de unicel, colocarlo en el equipo a baño maría durante 30 minutos.</p> |
| <p>4ª Parte Interpretación de los resultados obtenidos</p> | <p>1) Posterior a los 30 minutos, sacarlos del baño maría evitando que se encojan los cortes.</p> <p>2) Con ayuda de un cristal grueso, colocar los cortes del corazón de arriba hacia abajo conforme al inicio del corazón al ápex.</p> <p>3) Colocar 4 porta objetos en los laterales del cristal y con ayuda de otro cristal grueso colocarlo por enzima, haciendo una presión para expandir los cortes de corazón.</p> <p>4) Con ayuda de 4 sujetadores hacer una mayor presión y así poder ver el tamaño del infarto, comparando un corazón control vs un corazón con isoproterenol.</p> <p>5) Por medio de un software hacer la medición de tamaño del infarto gracias a pixeles que genere una foto del corte del corazón.</p> <p>6) Su interpretación se dará de la siguiente forma: R: las zonas que si presentan daño no se teñirán de color rojo y serán blancas. R: las zonas que no presentan daño permanecerán de color rojo.</p> |