



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**QUIMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

**Evaluación farmacológica del propilparabeno en el mecanismo de relajación en aorta de cobayo.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
Químico Farmacéutico Biólogo**

**P R E S E N T A:  
Aniller Rodriguez Márquez**



**JURADO DE EXAMEN**  
**DIRECTOR: DRA. PATRICIA CAMPOS BEDOLLA**  
**ASESOR DR. JOSE ANGEL ROJAS ZAMORANO**  
**ASESOR: DR. OSVALDO DANIEL CASTELAN MARTINEZ**  
**SINODAL: M en C. MARIA TERESA GRISELDA FUENTES LARA**  
**SINODAL: DRA ADRIANA HERNANDEZ REYES**

Ciudad de México

JULIO 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme todo.

A la Dra. Patricia Campos-Bedolla por ser mi asesora y directora de esta tesis. Al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en particular a la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, lugar donde realicé mi trabajo de investigación y por el soporte recibido. Al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), de manera específica al laboratorio de Hiperreactividad Bronquial, por el apoyo en mi formación académica, además de proveer sus animales, instalaciones, equipo y reactivos.

A mis compañeros de laboratorio, gracias por permitirme conocerlos y formar parte de mí.

A mis profesores y asesores de tesis, el Dr. José Ángel Rojas Zamorano y el Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez por sus aportaciones que enriquecieron este trabajo.

A las sinodales, la Dra. Adriana Hernández Reyes y la M en C. María Teresa Griselda Fuentes Lara

---

***Dedicatoria***

A la vida, por permitirme terminar una de tantas metas.

A mi alma máter, la UNAM por mostrarme la puerta de la ciencia.

A mi familia, por su amor.

A mi hermana Badith, por todo su apoyo.

A los amores de mi vida, Natalia e Isabel son lo mejor que me ha pasado.

---

---

---

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS .....	6
INTRODUCCIÓN.....	9
Músculo Liso Vascular.....	9
Mecanismo de contracción del músculo liso vascular.....	11
Mecanismos de relajación del músculo liso vascular .....	16
Propilparabeno.....	22
JUSTIFICACIÓN.....	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
HIPÓTESIS .....	28
OBJETIVOS .....	29
Objetivo general .....	29
Objetivos específicos .....	29
MATERIAL Y MÉTODOS.....	30
Animales de estudio .....	30
Sistema de órganos aislados <i>in vitro</i> .....	30
Análisis estadístico.....	35
RESULTADOS .....	36
Contracción de aorta de cobayo inducido por K <sup>+</sup> , Phe y 5-HT.....	36
Efecto de relajación del Propilparabeno en el músculo liso vascular.....	37
DISCUSIÓN.....	52
CONCLUSIONES.....	56
PERSPECTIVAS .....	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXO.....	63

---

---

---

## ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub>	Concentración de calcio intracelular
5-HT	5-Hidroxitriptamina, 5-hidroxi-3-(2-aminoetil)-indol, serotonina
ADP	Adenosín difosfato
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ATP	Adenosín Trifosfato
Ca <sup>2+</sup> -CaM	Complejo Calcio-Calmodulina
ChTX	Caribdotoxina
DAG	1,2-diacilglicerol
GDP	Guanosín difosfato
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
GPCR	Receptores acoplados a proteínas G
GTP	Guanosín trifosfato
IbTX	Iberitoxina
IP <sub>3</sub>	Inositol 1,4,5 trifosfato
IP <sub>3</sub> R	Receptor de IP <sub>3</sub>
K <sup>+</sup>	Ion Potasio
K <sub>2P</sub>	Canal de K <sup>+</sup> de dominio de dos poros
K <sub>ATP</sub>	Canales de K <sup>+</sup> sensibles a ATP
K <sub>Ca</sub>	Canales de K <sup>+</sup> activados por calcio
K <sub>IR</sub>	Canal de K <sup>+</sup> de Rectificador interno
K <sub>Na</sub>	Canales de K <sup>+</sup> activados por sodio
K <sub>V</sub>	Canales de K <sup>+</sup> activados por voltaje
L-NAME	N(ω) nitro-L-arginina metilester
MLC	Cadena ligera de miosina
MLCK	Cinasa de la cadena ligera de miosina

---

---

---

MLCP	Fosfatasa de la cadena ligera de miosina
MLV	Músculo liso vascular
mm	Milímetros
Nav	Canales de sodio dependientes de voltaje
NO	Óxido Nítrico
NOS	Sintasa del óxido nítrico
PIP <sub>2</sub>	Fosfatidil Inositol 4,5-bifosfato
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
PKG	Proteína cinasa G
PLC-β	Fosfolipasa C-β
PMCA	Ca <sup>2+</sup> -ATPasa de la membrana plasmática
PPB	Propilparabeno
RKB	Solución Ringer-Krebs Bicarbonato
ROCC	Canal de Ca <sup>2+</sup> regulado por receptor
RS	Retículo Sarcoendoplásmico
SOCC	Canales de Ca <sup>2+</sup> regulados por el almacenamiento
SERCA	Bomba de ATPasa de Ca <sup>2+</sup> del retículo sarcoendoplásmico
u <sup>2</sup>	Unidades arbitrarias de área bajo la curva
VGSC	Canales de sodio dependientes de voltaje
VOCC	Canales de Ca <sup>2+</sup> dependientes de voltaje
μm	Micrómetros
μM	Micromolar

---

---

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PIE DE FIGURA
1	Anatomía de la aorta.
2	Corte histológico de la aorta.
3	Acoplamiento farmacomecánico y electromecánico del MLV.
4	Producción del Óxido Nítrico (NO)
5	Participación de los canales iónicos en los mecanismos de contracción-relajación del MLV.
6	Fórmula química del propilparabeno (PPB)
7	Esquema del Sistema de órganos aislados <i>in vitro</i>
8	Registro de la contracción de los agonistas utilizados en el sistema de órganos aislados <i>in vitro</i>
9	Respuesta de contracción a concentración única de los diferentes agonistas utilizados: K <sup>+</sup> , Phe y 5-HT
10	Curva acumulativa del propilparabeno (PPB).
11	Efecto del PPB (100 $\mu$ M) sobre el 100% de respuesta de K <sup>+</sup> (80 mM) con L-NAME (100 $\mu$ M), ChTX (0.1 $\mu$ M), IbTX (0.1 $\mu$ M) y DFH (100 $\mu$ M) en la aorta de cobayo
12	Efecto del PPB (100 $\mu$ M) sobre el 100% de respuesta de Phe (100 $\mu$ M) con L-NAME (100 $\mu$ M), ChTX (0.1 $\mu$ M), IbTX (0.1 $\mu$ M) y DFH (100 $\mu$ M) en la aorta de cobayo
13	Efecto del PPB (100 $\mu$ M) sobre el 100% de respuesta la concentración única de 5-HT (320 $\mu$ M) con L-NAME (100 $\mu$ M), ChTX (0.1 $\mu$ M), IbTX (0.1 $\mu$ M) y DFH (100 $\mu$ M) en aorta de cobayo
14	Efecto del PPB (1 mM) sobre el 100% de respuesta de K <sup>+</sup> (80 mM) con L-NAME (100 $\mu$ M), ChTX (0.1 $\mu$ M), IbTX (0.1 $\mu$ M) y DFH (100 $\mu$ M) en la aorta de cobayo

---

---

---

15	Efecto del PPB (1 mM) sobre el 100% de respuesta de Phe (100 $\mu$ M) con L-NAME (100 $\mu$ M), ChTX (0.1 $\mu$ M), IbTX (0.1 $\mu$ M), y DFH (100 $\mu$ M) en la aorta de cobayo
16	Efecto del PPB (1 mM) sobre el 100% de respuesta la concentración única de 5-HT (320 $\mu$ M) con L-NAME (100 $\mu$ M), ChTX (0.1 $\mu$ M), IbTX (0.1 $\mu$ M), y DFH (100 $\mu$ M) en aorta de cobayo.

---

---

## ÍNDICE CUADROS

Cuadro	Titulo
1	Compuestos Químicos
2	Efecto del PPB (100 $\mu$ M) en la contracción de K <sup>+</sup> (80 mM). Valores promedio del área bajo la curva (u <sup>2</sup> ).
3	Efecto del PPB (100 $\mu$ M) en la contracción de Phe (100 $\mu$ M). Valores promedio del área bajo la curva (u <sup>2</sup> )
4	Efecto del PPB (100 $\mu$ M) en la contracción de 5-HT (320 $\mu$ M). Valores promedio del área bajo la curva (u <sup>2</sup> )
5	Efecto del PPB (1 mM) en la contracción de K <sup>+</sup> (80 mM). Valores promedio del área bajo la curva (u <sup>2</sup> )
6	Efecto del PPB (1 mM) en la contracción de Phe (100 $\mu$ M). Valores promedio del área bajo la curva (u <sup>2</sup> )
7	Efecto del PPB (1 mM) en la contracción de 5-HT (320 $\mu$ M) Valores promedio del área bajo la curva (u <sup>2</sup> )

---

---

## RESUMEN

El sistema cardiovascular tiene como función principal transportar nutrientes y metabolitos por todo el organismo y se encuentra conformado por una red tubular de vasos. Las arterias son vasos sanguíneos de gran calibre que transportan la sangre impulsada por el corazón hacia los órganos, siendo la aorta la arteria principal y la de mayor calibre.

El Propilparabeno (PPB) es una sustancia química que ha sido ampliamente utilizada como conservador en la industria alimentaria y cosmética por sus propiedades antimicrobianas, especialmente contra levaduras. Esta sustancia ha sido considerada, como una segura, no irritante y de baja toxicidad.

En diversas investigaciones se ha determinado que tiene propiedades de cardioprotector y anticonvulsivante, debido a que actúa como bloqueador de los canales de sodio dependientes de voltaje ( $Na_v$ ). Así mismo, se ha determinado que tiene un efecto vasodilatador en capilares cerebrales. No obstante, se desconoce los efectos en la contracción y relajación de la aorta de cobayo. Por tal motivo, el objetivo de la presente tesis fue evaluar el efecto del PPB en la aorta de cobayo en un sistema de órganos aislados *in vitro*. Se determinó el efecto del PPB en la contracción inducida por potasio ( $K^+$ , 80 mM), Fenilefrina (Phe, 100  $\mu$ M) y Serotonina (5-HT, 320  $\mu$ M).

En este trabajo, determinamos que el PPB tiene un efecto de relajación en la aorta de cobayo, por lo que decidimos definir los posibles mecanismos que pudieran estar participando en este proceso de relajación. De este modo, evaluamos la acción del óxido nítrico (NO), los canales de potasio ( $K_{Ca}$ ) y los canales de sodio ( $Na_v$ ) en la relajación del producida por el PPB. Los resultados mostraron la destacada participación de  $Na_v$  en la relación producida por el PPB en la aorta de cobayo.

---

## INTRODUCCIÓN

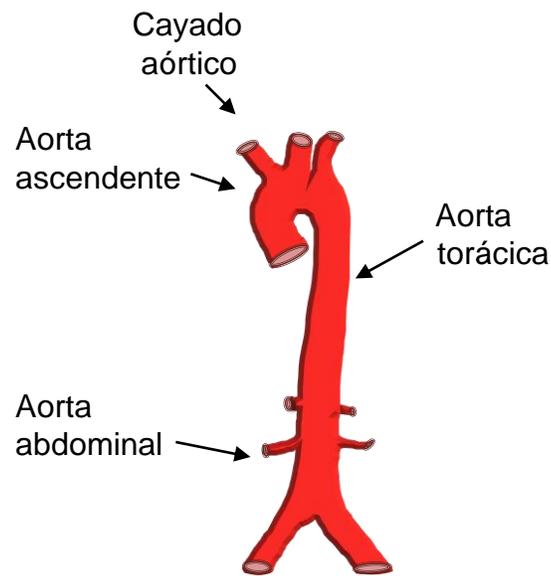
### Músculo Liso Vascular

El sistema cardiovascular tiene como función principal transportar los nutrientes y metabolitos en el organismo. Está conformado por el corazón, arterias, arteriolas, venas, vénulas y capilares (1).

Las arterias son vasos sanguíneos de gran calibre que transportan la sangre del corazón hacia los órganos, siendo la aorta, la arteria principal y de mayor calibre (2, 3).

La aorta tiene origen en la parte superior del ventrículo izquierdo y en su parte distal se convierte en las arterias ilíacas y la arteria sacra (4). De acuerdo a este trayecto, se divide en tres segmentos (**Fig. 1**):

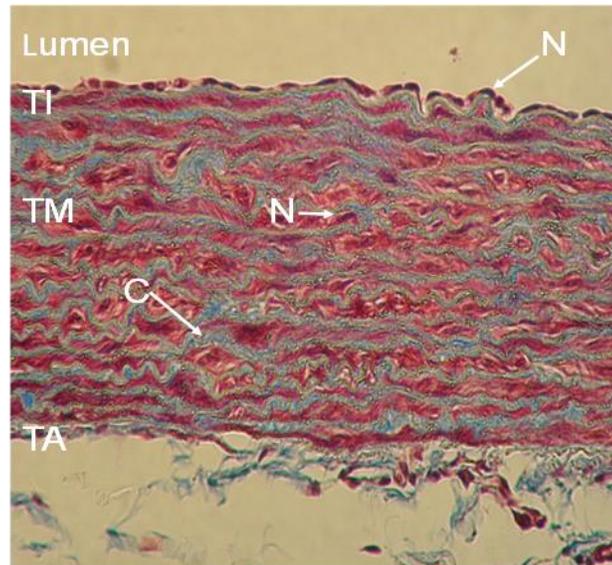
- **Aorta ascendente.** Comienza en la parte superior del ventrículo izquierdo.
  - **Cayado aórtico.** Se encuentra adosado a la cara izquierda de la tráquea y el esófago.
  - **Aorta descendente.** Se subdivide en aorta torácica y abdominal, se extiende desde el hiato aórtico del diafragma hasta su bifurcación terminal en las dos arterias ilíacas (5, 6).
-



**Fig. 1. Anatomía de la aorta.** La aorta se divide en tres segmentos: Arteria Ascendente, Cayado aórtico y Aorta descendente, la cual se subdivide en aorta torácica y aorta abdominal.

La aorta está constituida por tres diferentes capas o tunicas (7) (**Fig. 2**).

- **Capa externa o túnica adventicia.** Formada de tejido conectivo laxo.
- **Capa media o túnica media.** Conformada por músculo liso vascular (MLV), tejido constituido por células fusiformes acopladas entre sí, reforzadas por una red de fibra de colágena (8). El MLV contiene gran cantidad de actina y miosina, necesarias para la regulación del tono vascular mediante mecanismos de contracción y relajación (9). Esta capa es la más gruesa y en las venas aún más en comparativa con las arterias.
- **Capa interna o túnica íntima.** Consta de tres partes: un endotelio, compuesto de epitelio escamoso simple, una membrana basal, capa de glicoproteínas y una capa de fibras elásticas o elastina.



**Fig. 2. Corte histológico de la aorta.** Corte transversal de aorta teñida con técnica Tricrómica de Masson. Se muestran las tres capas histológicas: Túnica íntima (TI), núcleos (N), Túnica media (TM) y Túnica adventicia (TA), fibras de colágena (C) (40 X). Realizada por Aniller Rodríguez Márquez.

### Mecanismo de contracción del músculo liso vascular

La función primaria de las células del MLV es la generación de fuerza, que se lleva a cabo por la interacción de las proteínas actina y miosina y la regulación de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ). En las células del MLV la  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  en estado de reposo es  $\sim 120$  nM, mientras que en el exterior de la célula es de 1-2 mM (10). La respuesta de contracción ocurre por el deslizamiento de actina sobre filamentos de miosina a través del ciclo de los puentes cruzados, acortando las células del MLV (11).

El ciclo de los puentes cruzados comienza cuando la cabeza de la miosina se encuentra unida a los filamentos delgados de la actina, para después unirse una molécula de ATP. La unión de ATP a la cabeza de la miosina produce un cambio

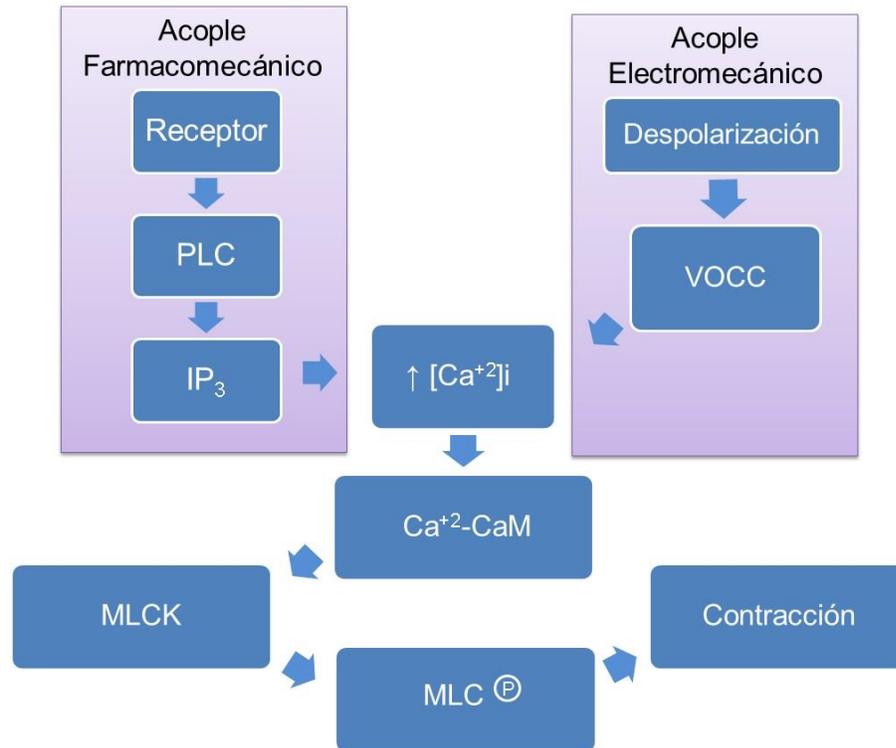
conformacional que provoca la pérdida de afinidad de la miosina por el filamento de actina. El rompimiento del ATP, a través de la ATPasa de la miosina, cambia la estructura de la miosina produciendo un movimiento respecto al filamento de actina. Con la formación de adenosín difosfato (ADP) y la liberación de Pi, la cabeza de la miosina se une nuevamente a la actina en un sitio diferente al primero comenzando el ciclo (12).

De acuerdo con Somlyo y Somlyo (1994), el mecanismo de la contracción del MLV puede ser promovida por dos procesos: el acoplamiento electromecánico y el acoplamiento farmacomecánico (**Fig. 3**) (13). En el acoplamiento electromecánico la contracción es el resultado por un proceso de despolarización; mientras que, en el acoplamiento farmacomecánico es debido a la acción de un agonista y su receptor en ambos casos, existe un incremento de  $[Ca^{2+}]_i$ .

El acople electromecánico involucra cambios en el potencial de la membrana plasmática y la consecuente apertura de los canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje (VOCC, por sus siglas en inglés Voltage Operate Calcium Channels), ingresando  $Ca^{2+}$  desde el medio extracelular, produciendo cambios en los valores del potencial de membrana, afectando la  $[Ca^{2+}]_i$  (14).

El acoplamiento farmacomecánico constituye la estimulación de receptores transmembranales heptahelicales, denominados receptores acoplados a proteínas G (GPCR), los cuales poseen siete hélices antipáticas que atraviesan la membrana celular y actúan como transductores de señales a través de la membrana celular (15).

---



**Fig. 3. Acoplamiento farmacomecánico y electromecánico del MLV.** El acople farmacomecánico explica la contracción mediante receptores acoplados a proteínas G, la participación de la Fosfolipasa C (PLC) y la síntesis de inositol 1,4,5 trifosfato ( $IP_3$ ) mientras que el acople electromecánico nos habla de la despolarización de la membrana y la apertura de los canales de  $Ca^{2+}$  (VOCC). Ambos participan en el aumento de la concentración de  $Ca^{2+}$  intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ). El  $Ca^{2+}$  se une a la calmodulina (CAM) que activa a la cinasa de la cadena ligera de la miosina (MLCK), después de esta fosforilación se generan los puentes cruzados y de esta manera tenga lugar la contracción.

De manera general, las GPCR ejercen su acción mediante la activación de proteínas G que, a su vez, activan una proteína efectora, generalmente una enzima o un canal iónico, lo que produce un cambio rápido en la concentración intracelular de segundos mensajeros como AMPc, diacilglicerol (DAG), inositol 1,4,5 trifosfato ( $IP_3$ ),  $Ca^{2+}$ , entre otros (16).

Las proteínas G, están constituidas por tres subunidades:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  que unidas forman un heterotrímero. La subunidad  $\alpha$  está unida a un sitio de unión al guanósín difosfato (GDP), se encuentra inactiva. La unión de un agonista al GPCR produce el intercambio de GDP por guanósín trifosfato (GTP), este cambio activa la subunidad  $\alpha$  de la proteína G, disociándose de las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$ . La subunidad  $\alpha$  activa la proteína efectora, como la Fosfolipasa C- $\beta$  (PLC- $\beta$ ), mientras el complejo  $\beta\gamma$  activan otras vías de señalización.

Las proteínas G se han clasificado en cuatro subfamilias basadas en la homología estructural y funcional: G<sub>s</sub>, G<sub>i</sub>, G<sub>12/13</sub>, y G<sub>q</sub> (17).

La familia G<sub>s</sub> y G<sub>i</sub> involucran la activación del adenilato ciclasa (AC) y guanilato ciclasa (GC), enzimas que catalizan la producción de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y guanósín monofosfato cíclico (GMPc) y al actuar como segundos mensajeros, activan a la proteína cinasa A (PKA) y a la proteína cinasa G (PKG), respectivamente (18).

Las proteínas G<sub>12/13</sub> activan algunas pequeñas GTPasas y participan a través de la interacción de factores intercambiadores de nucleótidos de guanina Rho (19).

Las proteínas G<sub>q</sub> activan la PLC- $\beta$ , la vía de intercambio de fosfoinositidos/calcio. A través de esta vía de señalización, la estimulación de la PLC- $\beta$  cataliza la formación de segundos mensajeros, y a partir del fosfatidil inositol 4,5, bifosfato (PIP<sub>2</sub>), que al ser hidrolizado constituye al inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) y el diacilglicerol (DAG). El IP<sub>3</sub> se une a su receptor que se encuentra en el retículo sarcoplásmico (RS), permitiendo la liberación

---

de  $\text{Ca}^{2+}$  al citosol. El DG, que se encuentra en la membrana plasmática, activa la PKC la cual fosforila diversas proteínas (15)

Los GPCR son diana de diversas sustancias, como neurotransmisores u hormonas que dan lugar al aumento de  $[\text{Ca}^{+2}]_i$  (16, 20, 21).

Una vez que aumenta la  $[\text{Ca}^{+2}]_i$ , el  $\text{Ca}^{+2}$  se une con la calmodulina, una proteína citoplasmática, formando el complejo  $\text{Ca}^{+2}$ -calmodulina. Este complejo activa la cinasa de la cadena ligera de la miosina (CLMK), enzima que tiene como función la fosforilación de la cadena ligera de la miosina (CLM). Está fosforilación permite la unión con la actina y de esta manera generar los puentes cruzados, que realizan la contracción (22-24).

---

## **Mecanismos de relajación del músculo liso vascular**

La relajación del MLV se produce como resultado de la eliminación del estímulo contráctil o por la acción de una sustancia que inhiba el mecanismo de contracción. Ambos, involucran la disminución de la  $[Ca^{2+}]_i$  y un incremento de la actividad de la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina (MLCP), y en este decremento de la  $[Ca^{2+}]_i$  participan varios mecanismos, que menciono a continuación.

### **Participación de la ATPasa de $Ca^{2+}$ de la membrana plasmática**

Uno de los mecanismos importantes que regulan la  $[Ca^{2+}]_i$  es por la acción de la ATPasa de  $Ca^{2+}$  de la membrana plasmática (PMCA por sus siglas en inglés) y del retículo sarcoendoplásmico (SERCA, por sus siglas en inglés). Dichas enzimas que participan en la hidrólisis de una molécula de ATP para realizar el transporte de iones de  $Ca^{2+}$ , y mantener  $[Ca^{2+}]_i$  (~100 nM) 20,000 veces más bajas que las concentraciones extracelulares (25, 26).

### **Intercambiador $Na^+/Ca^{2+}$**

Otros reguladores de la  $[Ca^{2+}]_i$  son los intercambiadores  $Na^+/Ca^{2+}$  que están ubicados en la membrana plasmática, es un cotransportador el cual mueve 3 iones de  $Na^+$  en intercambio con un ion  $Ca^{2+}$ , sostenido por la ATPasa  $Na^+-K^+$ . Actúa mediante la

---

extracción de  $\text{Ca}^{2+}$  de la célula, a la vez que introduce sodio, también puede actuar en su forma reversa, es decir, sacar  $\text{Na}^+$  e introducir  $\text{Ca}^{2+}$  (27, 28).

### **Mecanismo del Óxido Nítrico en la Relajación del Músculo Liso Vascular**

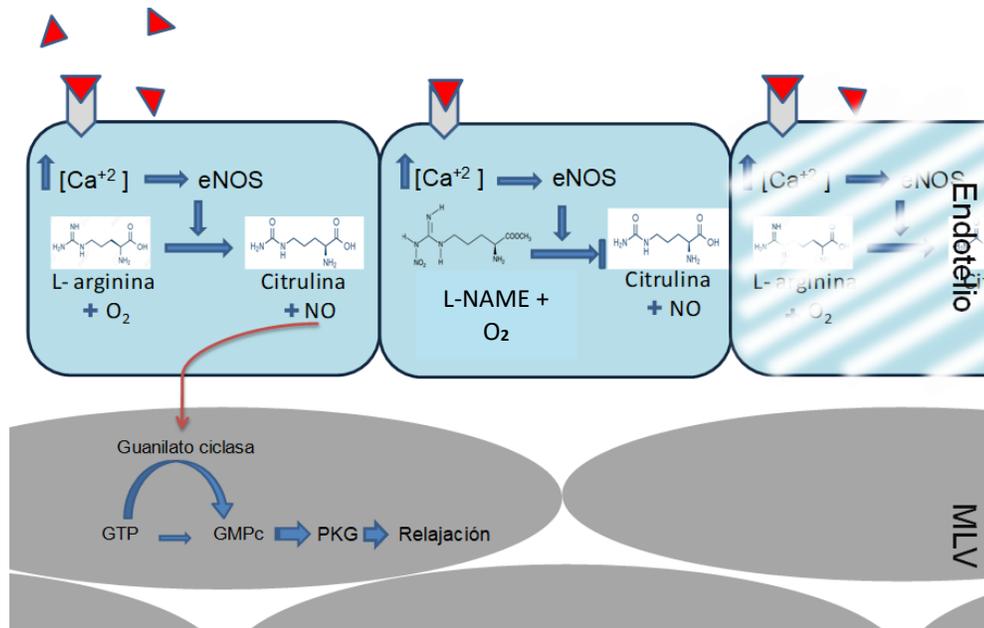
El óxido nítrico (NO) endógeno es ampliamente reconocido como un potente vasodilatador del MLV, y desempeña una amplia variedad de funciones fisiológicas y patológicas. Se han identificado tres isoformas de la sintasa del NO: NOS neuronal (nNOS o  $\text{NOS}_1$ ), NOS inducible (iNOS o  $\text{NOS}_2$ ) y NOS endotelial (eNOS o  $\text{NOS}_3$ ). Los sustratos que son necesarios para la síntesis de NO son L-arginina,  $\text{O}_2$  y dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato (NADPH). La eNOS es la encargada de convertir la L-Arginina en Citrulina y NO. La producción y liberación de NO se da a nivel de endotelio de los vasos sanguíneos. En condiciones normales, el NO activa la guanilato ciclasa soluble (GCs) la cual cataliza la conversión de GTP a GMP. Actuando como un segundo mensajero, GMPc activa la proteína cinasa G (PKG) (29, 30).

La PKG tiene dos efectos principales en el MLV, el decremento de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  y la desensibilización del sistema de contracción de la actina-miosina, que conllevan a la relajación (31). Asimismo, la PKG regula diferentes blancos moleculares incluyendo los canales de  $\text{K}^+$  regulados por  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{K}_{\text{Ca}}$ ) (32).

Se han realizado diferentes estudios experimentales para evaluar la producción de NO. Una estrategia experimental muy utilizada, ha sido antagonizar la NOS con el

---

objetivo de evitar la síntesis del NO, estrategia que utilizamos en nuestros experimentos, o bien se puede recurrir a la remoción del endotelio de los vasos sanguíneos (**Fig. 4**).



**Fig. 4. Producción del óxido nítrico (NO).** El NO se produce y libera del endotelio para difundir al MLV para seguir la vía de la Guanilato ciclasa. El **N( $\omega$ ) nitro-L-arginina metilester (L-NAME)** antagoniza la eNOS impidiendo la liberación del NO. Otra manera de eliminar la síntesis del NO es la remoción del endotelio.

### Participación de los Canales iónicos de la membrana

Los canales iónicos de la membrana plasmática son proteínas de membrana, formadoras de poros, los cuales permiten el flujo de determinados iones ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ) que participan en diversos procesos fisiológicos, como los mecanismos de contracción y relajación (**Fig. 5.**) (33). Los canales de  $K^+$  y los canales de  $Na^+$  son de gran relevancia además de estar relacionados entre sí al abrirse y cerrarse durante el potencial de membrana (34, 35).

---

Los canales de  $K^+$  facilitan el movimiento pasivo de los iones de  $K^+$  a través de la membrana, y la permeabilidad selectiva de iones produce gradientes iónicos en el MLV que contribuyen en la generación del potencial de membrana en reposo y de las corrientes hiperpolarizantes y repolarizantes. Así como, la regulación de la contracción-relajación (36). Los canales de  $K^+$  se subdividen en 4 familias, según sus propiedades estructurales y funcionales (**Ver anexo 1**) (37-39):

- a. Canales de  $K^+$  activados por  $Ca^{2+}$  y  $Na^+$  ( $K_{Ca}$ ,  $K_{Na}$ ).
- b. Rectificación interna de los canales de potasio ( $K_{ir}$ ).
- c. Canales de  $K^+$  de doble dominio P ( $K_{2P}$ ).
- d. Canales de  $K^+$  activados por voltaje ( $K_v$ ).

Los canales de  $K^+$  activados por calcio ( $K_{Ca}$ ), anteriormente denominados BK, Slo1, MaxiK y KCNMA1 son de gran importancia, debido a su gran conductancia (100-300 picosiemens) y abundante expresión en el MLV. Ejemplos de algunos de ellos, los canales  $K_{Ca1.1}$  y  $K_{Ca3.1}$  (40, 41).

La apertura de los canales  $K_{Ca}$  conduce a la salida de iones de  $K^+$  provocando la hiperpolarización de la membrana celular y consecuente relajación del MLV (35, 42).

Varias moléculas endógenas vasodilatadoras, como el NO y ciertos factores liberados de las células endoteliales, ejercen su efecto relajante en el MLV al dirigirse a los canales  $K_{Ca}$  (43, 44). De igual modo, existen compuestos químicos que permiten la apertura del canal  $K_{Ca}$  provocando relajación del MLV (42). Por el contrario, los

---

---

compuestos químicos que inhiben la apertura del canal  $K_{Ca}$ , favorecen la contracción (37, 45)

Los canales  $K_{Ca1.1}$  y  $K_{Ca3.1}$  se pueden evaluar si se bloquean con péptidos como las toxinas; Caribdotoxina (ChTX) e Iberiotoxina (IbTX). La ChTX es extraída del escorpión amarillo (*Leiurus quinquestriatus*) y bloquea principalmente a los canales  $K_{Ca1.1}$  y  $K_{Ca3.1}$  a concentraciones nanomolares (38). La IbTX extraída del escorpión (*Mesobuthus tamulus*) es específica y bloquea únicamente los canales  $K_{Ca1.1}$  a concentraciones nanomolares (46). Por lo tanto, la modulación del canal  $K_{Ca}$  es un mecanismo crítico para regular los mecanismos de contracción y relajación en los vasos sanguíneos.

### **Participación de los Canales de sodio dependientes de voltaje en la relajación del Músculo Liso Vascular**

Los canales de sodio dependientes de voltaje (VGSC por sus siglas en inglés, Voltage Gated Sodium Channel) son glicoproteínas transmembranales distribuidos en las membranas de las células excitables, neuronas y células musculares, los cuales son responsables del transporte de  $Na^+$  a través de la membrana. Son responsables de la iniciación y propagación de la despolarización de la membrana de las células musculares y nerviosas.

La estructura de los canales de  $Na_v$  consiste de varias subunidades, una subunidad  $\alpha$  y una a cuatro subunidades  $\beta$  ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\beta_4$ ), las cuales forman heterodímeros o heterotrímeros (47, 48). Hasta la fecha, se reconoce 10 VGSC denominados  $Na_v1.1$ - $Na_v1.9$  y el  $Na_vX$  de acuerdo con sus diferencias en la subunidad  $\alpha$ . De manera reciente,

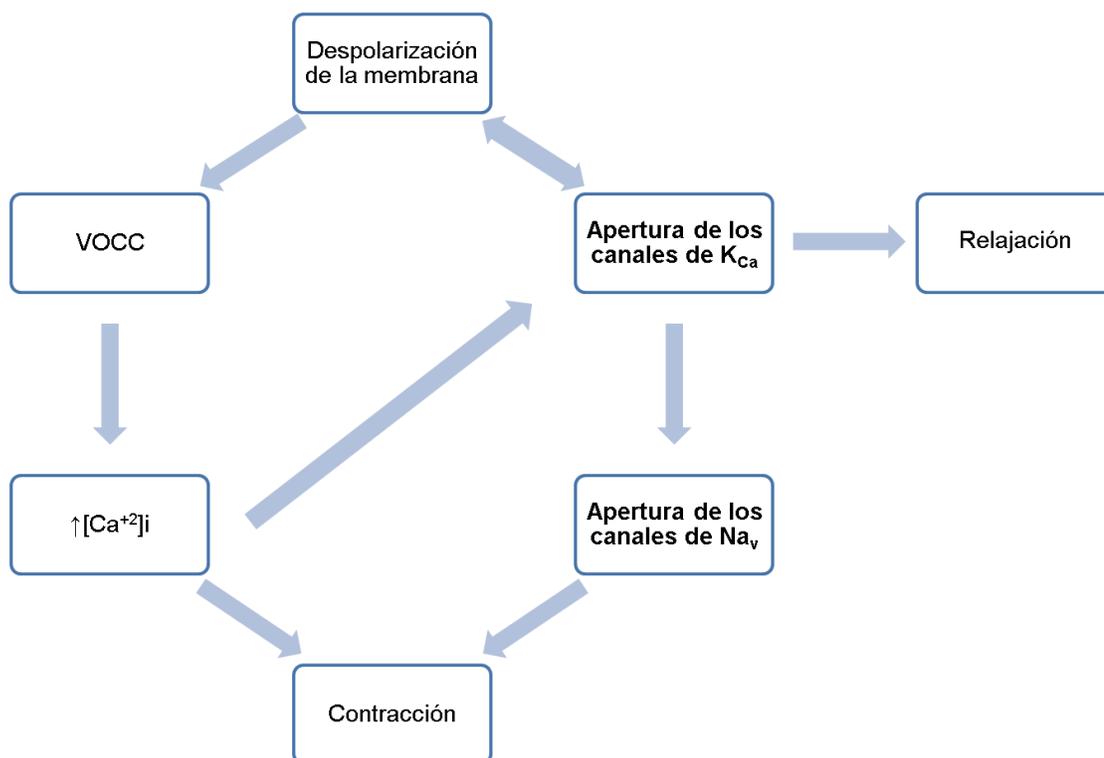
---

se descubrió una nueva familia de los canales Nav2, pero su función no es muy conocida (49). La subunidad  $\alpha$  es la que forma el poro, que atraviesa la membrana con cuatro dominios homólogos. Cada dominio está compuesto de seis segmentos o hélices transmembrana (S1-S6) y un bucle de poro adicional ubicado entre los segmentos S5 y S6. Por su parte, la subunidad beta es la encargada de la cinética y activación del canal (50).

Los canales de Nav son estructuras muy dinámicas. La despolarización de la membrana facilita un cambio conformacional de la subunidad  $\alpha$  lo que resulta un cambio en la corriente de Na<sup>+</sup> interna transitoria que se inactiva rápidamente pasando por tres estados básicos: un estado de reposo, un estado abierto conductor (permeable a Na<sup>+</sup>) y un estado inactivo. Estos últimos estados, no permiten el tránsito al Na<sup>+</sup> (51).

Los Nav son sensibles a la tetrodotoxina (TTX), anestésicos, antiarrítmicos y a algunos fármacos anticonvulsivantes que muestran gran afinidad a ellos, tal es el caso de la Fenitoína (DFH) (52). La DFH es un fármaco sintético anticonvulsivante que bloquea los canales Nav a concentraciones micromolares, mostrando gran afinidad por la sub unidad alfa de los Nav (53, 54).

---



**Fig. 5. Participación de los canales iónicos en los mecanismos de contracción-relajación del MLV.** Los mecanismos de contracción y relajación están regulados por los diferentes canales iónicos como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>. La activación de los canales operados por voltaje (VOCC) producen un incremento de la [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, lo que conlleva a la contracción. Este aumento de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> también modifica la apertura de los canales de K<sup>+</sup> dependientes de Ca<sup>2+</sup> (K<sub>Ca</sub>), los cuales participan en la relajación (Ver texto para mayor información).

## Propilparabeno

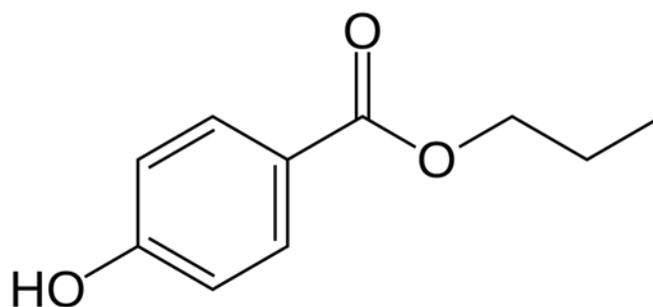
Los parabenos son un grupo de compuestos químicos formados por ésteres del ácido parahidroxibenzoico incluyen al metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno (**Fig. 6**), butilparabeno, heptilparabeno, isopropilparabeno, isobutilparabeno, fenilparabeno, bencilparabeno y pentilparabeno, entre otros (51, 52). Su uso está ampliamente expandido en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria (53, 54).

Desde 1930, el Propilparabeno (PPB) ha sido utilizado como un conservante que inhibe el crecimiento de microorganismos, como bacterias y hongos, y ha sido utilizado para extender la vida útil de diversos productos como: alimentos, bebidas, cosméticos y medicamentos (55, 56).

De manera general, se ha determinado que el PPB es una sustancia no irritante y de baja toxicidad y se ha considerado como un conservante seguro, ya que se absorbe y metaboliza rápidamente en ácido p-hidroxibenzoico (51, 57-59). No obstante, debido a su uso generalizado, se considera que su presencia sea en grandes cantidades en el organismo y pueda producir efectos toxicológicos. Por ello, se han realizado diversos estudios *in vivo* e *in vitro* en animales para evaluar los posibles efectos toxicológicos (59). Estos estudios han demostrado que el PPB no es un compuesto teratogénico, mutagénico o cancerígeno, por lo que no se ha registrado algún tipo de toxicidad en humanos (57).

No obstante, reportes recientes han indicado que la exposición a los parabenos modulan o perturban el sistema endocrino, a través de la unión de los receptores a estrógenos, ejerciendo efectos endocrinos disruptivos (60, 61). Por tal motivo, existe la posibilidad de que existan algunas consecuencias nocivas para la salud humana y animales.

---



**Fig. 6. Fórmula química del propilparabeno (PPB).** El PPB es un éster del ácido *p*-hidroxibenzoico

A pesar de las controversias en los resultados experimentales en animales, en México, el uso del PPB es legislado en el “Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias” publicado en el Diario Oficial de la Federación (62), Así mismo, se encuentra legislado su uso en la “NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba” (63). En Estados Unidos de Norteamérica, los científicos de la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA por sus siglas en inglés) han autorizado su uso en la industria farmacéutica y cosmetológica, pero siguen evaluando experimentalmente los efectos del PPB. En estos estudios experimentales, se determinó que el PPB bloquea los  $N_{av}$  en células piramidales de CA1 y también en cultivos de cardiomiocitos de rata (64, 65).

Del mismo modo, en un modelo de estimulación eléctrica máxima, el PPB inhibe el desarrollo de las crisis tónicas (66). Se ha reportado también que, después de un estado epiléptico, inducido por pilocarpina, existe un incremento en la liberación de glutamato. Por lo que, se ha propuesto que el PPB pueda ser utilizado como un anticonvulsivante y neuroprotector (67, 68).

Así mismo, en otros trabajos de investigación, se ha propuesto que el PPB sea el responsable de la relajación de diferentes tipos de músculos lisos, como la arteria cortical humana, arteria basilar de perro y cobayo, de la tráquea de cobayo (69-71).

Aunque se conoce de manera indirecta la posible participación del PPB en el músculo liso vascular, en este trabajo nos propusimos evaluar farmacológicamente al PPB en la aorta de cobayo, para comprender los posibles mecanismos fisiológicos de participación del PPB.

---

## **JUSTIFICACIÓN.**

El PPB es un compuesto químico ampliamente usado como conservante en la elaboración y fabricación de medicamentos, cosméticos, alimentos y bebidas. A pesar de que se ha propuesto que el PPB participa en la relajación en el MLV por la acción de los  $Na_v$ , los estudios son muy escasos.

De manera específica, el mecanismo de relajación del MLV producido por el PPB ha sido poco estudiado. Es por ello que, nos propusimos evaluar farmacológicamente el mecanismo de relajación del PPB en aorta de cobayo, en un sistema de órganos aislados *in vitro*.

---

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Aunque existen algunos estudios que puedan explicar los efectos del PPB en el MLV, son escasos los trabajos de investigación que describan su posible participación. En este trabajo, evaluamos los posibles mecanismos de relajación en los que pudiera estar participando el PPB en la aorta de cobayo, por lo que nos planteamos la siguiente pregunta:

**¿El mecanismo de relajación inducido por el PPB en la aorta de cobayo es a través de la participación del óxido nítrico (NO) o los canales de sodio ( $Na_v$ ) y/o los canales de potasio ( $K_{Ca}$ )?**

---

## **HIPÓTESIS**

La relajación producida por el Propilparabeno (PPB) en la aorta de cobayo, se lleva a cabo a través de la síntesis del óxido nítrico (NO) o la participación de los canales de sodio ( $Na_v$ ) o los canales de potasio ( $K_{Ca}$ ), evaluados farmacológicamente en un sistema de órganos aislados *in vitro*.

---

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Evaluar farmacológicamente el efecto de relajación del PPB en la aorta de cobayo con sistema de órganos aislados *in vitro*

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar el efecto del PPB sobre la contracción inducida por  $K^+$ , Phe y 5-HT en la aorta de cobayo.
  2. Evaluar la participación de la síntesis del NO en la relajación inducida por PPB en la aorta de cobayo.
  3. Evaluar la participación de los canales de sodio  $Na_v$  en la relajación producida por PPB en la aorta de cobayo.
  4. Evaluar la participación de  $K_{Ca}$  en el efecto inducido por PPB en la aorta de cobayo.
-

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Animales de estudio**

Se utilizaron cobayos machos de la cepa Hartley con un peso de 450 a 600g. Los animales fueron criados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) en condiciones normales de bioterio, (aire acondicionado y filtrado,  $21\pm 1$  °C, con 50 a 70% de humedad, cama estéril) con acceso a agua y alimento *ad libitum* (Teklad Guinea Pig Diet 7006, Harlan Teklan, Madison, WI) y con un ciclo de luz-oscuridad de 12-12 horas. Fueron alojados en grupos de no más de 6 animales por jaula teniendo espacio suficiente de movimiento en estricto apego a la normatividad mexicana "*Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio NOM-062-ZOO-1999*".

Los cobayos fueron sacrificados en las instalaciones de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas (UIMEN) del Centro Médico Nacional, Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

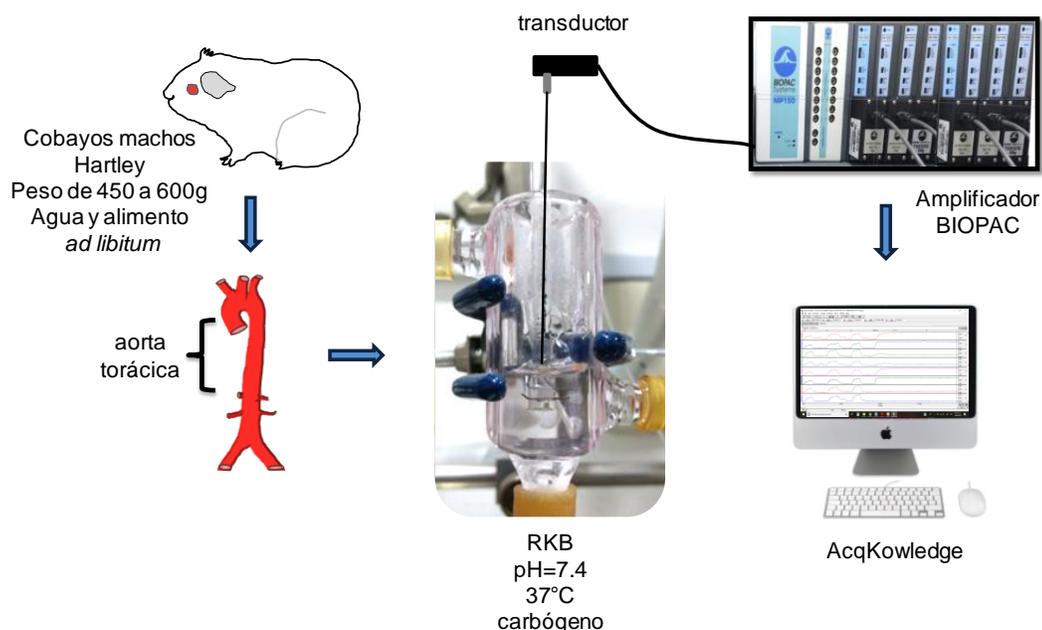
### **Sistema de órganos aislados *in vitro***

Los estudios farmacológicos en el sistema de órganos aislados *in vitro* se realizaron en la UIMEN bajo la supervisión de la Dra. Patricia Campos Bedolla

Cada cobayo fue anestesiado con una dosis de  $30 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  (i.p.) de pentobarbital sódico, solución inyectable (PiSA® Agropecuaria). La eficacia de la anestesia fue comprobada a través de reflejo podal.

---

Se les aplicó exanguinación, mediante un corte en la arteria femoral, posteriormente se abrió la caja torácica y se retiró la tráquea, corazón y pulmones, se extrajo la aorta torácica cuidadosamente (**Fig.7.**) y fue limpiada del tejido conectivo y restos de sangre con ayuda de un estereoscopio (ZEISS Stremi 2000, Graz Austria) e instrumental de microcirugía.



**Fig. 7. Esquema del Sistema de Órganos Aislados in vitro.**

Cada aorta fue seccionada en cuatro anillos de 4 mm aproximadamente. Cada anillo aórtico fue colgado en un vaso de órganos aislados, que contenía 5 ml de una solución Ringer Krebs Bicarbonato (RKB) con la siguiente composición (mM): NaCl 120, KCl 4.77,  $\text{KH}_2\text{PO}_2$  1.2,  $\text{MgSO}_4$  1.2,  $\text{NaHCO}_3$  25,  $\text{CaCl}_2$  2.5 y glucosa 11. La solución se mantuvo a una temperatura de 37°C, aireada con carbógeno (mezcla gaseosa de 95%  $\text{O}_2$  y 5%  $\text{CO}_2$ ) (Bloodgas proSpec Praxair, CDMX. México) manteniendo un pH de 7.4.

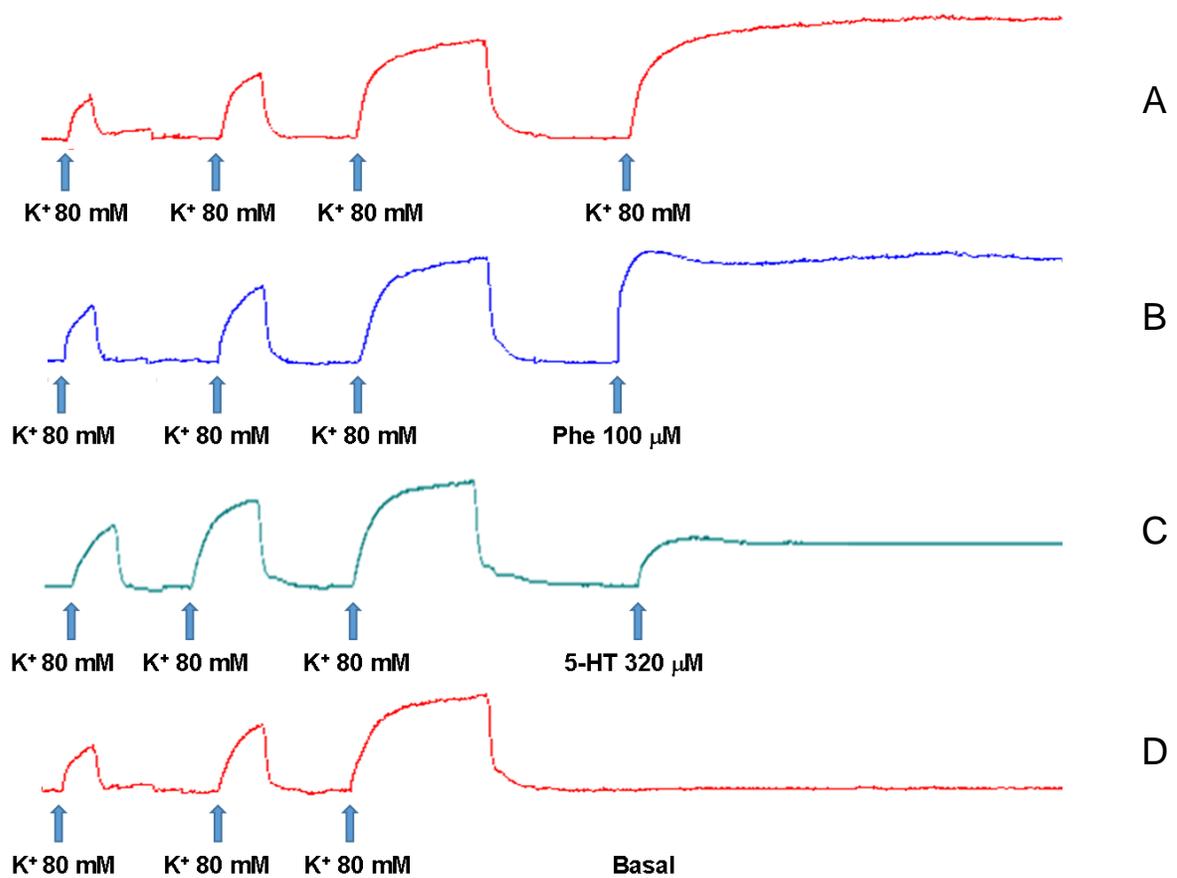
---

Para registrar la tensión isométrica, cada anillo aórtico fue colgado de un extremo a un gancho del vaso y al otro extremo, el tejido fue colgado a un transductor de tensión (modelo HDW100A, Biopac Systems Inc, CA, EUA) Las señales de los transductores fueron digitalizadas con una interfaz (modelo MP150, Biopac) y los cambios en la tensión fueron monitoreados con un software (AcqKnowledge v3.9.1, Biopac).

Los anillos aórticos se mantuvieron a una tensión de 1.5 g por media hora en una solución Ringer Krebs Bicarbonato (RKB), durante este periodo se realizaron lavados de solución RKB en los minutos 15 y 30. La solución RKB tuvo la siguiente composición mM: NaCl 120, KCl 4.77,  $\text{KH}_2\text{PO}_2$  1.2,  $\text{MgSO}_4$  1.2,  $\text{NaHCO}_3$  25,  $\text{CaCl}_2$  2.5 y D-glucosa 11. Se mantuvo a 37°C, con burbujeo constante de carbógeno (95%  $\text{O}_2$  y 5%  $\text{CO}_2$ ) y con un pH 7.4.

Cada segmento de aorta fue sometido a diferentes tratamientos experimentales. De manera inicial, cada anillo fue estimulado tres veces con una solución de KCl (80 mM) para confirmar su viabilidad y optimizar la respuesta máxima de contracción. El último estímulo de contracción fue considerado como el 100% de respuesta de contracción. Posteriormente, se realizaron diferentes estrategias farmacológicas experimentales. Se utilizó una concentración única de  $\text{K}^+$  (80 mM), Phe (100  $\mu\text{M}$ ) y 5-HT (320  $\mu\text{M}$ ) para inducir la contracción de la aorta (**Fig. 8**). Los diferentes antagonistas utilizados (**ver cuadro 1**) fueron preincubados durante 20 min, y posteriormente se adicionó al PPP (100 mM y 0.1  $\mu\text{M}$ ). Se evaluó la respuesta de contracción o relajación cada 2 minutos, durante un periodo de 26 minutos. Todos los fármacos y compuestos químicos se adquirieron de Sigma Chemical Co (St. Louis, MI, USA) (**Cuadro 1**).

---



**Fig.8. Registro de contracción de los agonistas utilizados en el sistema de órganos aislados *in vitro*.** Los primeros tres registros corresponden a la estimulación de  $K^+$  80 mM, donde el último estímulo es considerado el 100 % de respuesta. **A.** Contracción inducida por  $K^+$  80 mM. **B.** Contracción inducida por fenilefrina (Phe, 100  $\mu$ M). **C.** contracción inducida por serotonina (5-HT, 320  $\mu$ M). **D.** Respuesta basal.

**Cuadro 1. Compuestos químicos**

Nombre	Función	Concentración	Referencia
N( $\omega$ ) nitro-L-arginina metilester (L-NAME)	Inhibidor de la sintasa de óxido nítrico	100 $\mu$ M	(31)
Clorhidrato de Fenilefrina (Phe)	Agonista adrenérgico	100 $\mu$ M	(71)
Clorhidrato de Serotonina (5-HT)	Agonista serotoninérgico	320 $\mu$ M	(20)
Cloruro de potasio ( $K^+$ )	Compuesto químico formado por cloro y potasio	80 mM	(69)
Propilparabeno sódico (PPB)	Conservante antimicrobiano	100 $\mu$ M 1 mM	(65, 67)
Caribdotoxina (ChTX)	Antagonista del canal de $K^+$ activado por $Ca^{2+}$	0.1 $\mu$ M	(72)
Iberiotoxina (IbTX)	Antagonista selectivo de los canales de $K^+$ activados por $Ca^{2+}$ de alta conductancia	0.1 $\mu$ M	(73)
Difenilhidantoina (DFH)	Antagonista de los canales de sodio ( $Na_v$ )	100 $\mu$ M	(74)

## **Análisis estadístico**

Los resultados se presentan como porcentaje de contracción en relación con la respuesta máxima de  $K^+$  80mM que representa el 100% de la respuesta de contracción. Así mismo, se obtuvo el área bajo la curva mediante el método de integración trapezoidal, presentada en unidades arbitrarias ( $u^2$ ).

Los datos están expresados como la media  $\pm$  EE (error estándar). Los valores de la  $n=4-8$ . Para conocer las posibles diferencias en la relajación de los anillos aórticos de aorta torácica inducida por PPB, se utilizó la prueba estadística denominada ANOVA de una vía (95% CI) seguido de una prueba de Dunnet *post hoc*. El análisis estadístico de los resultados se realizó con el software INERSTAT-a v2.0 diseñado por el Dr. Mario H. Vargas y GraphPad Prisma 7.00.

---

## RESULTADOS

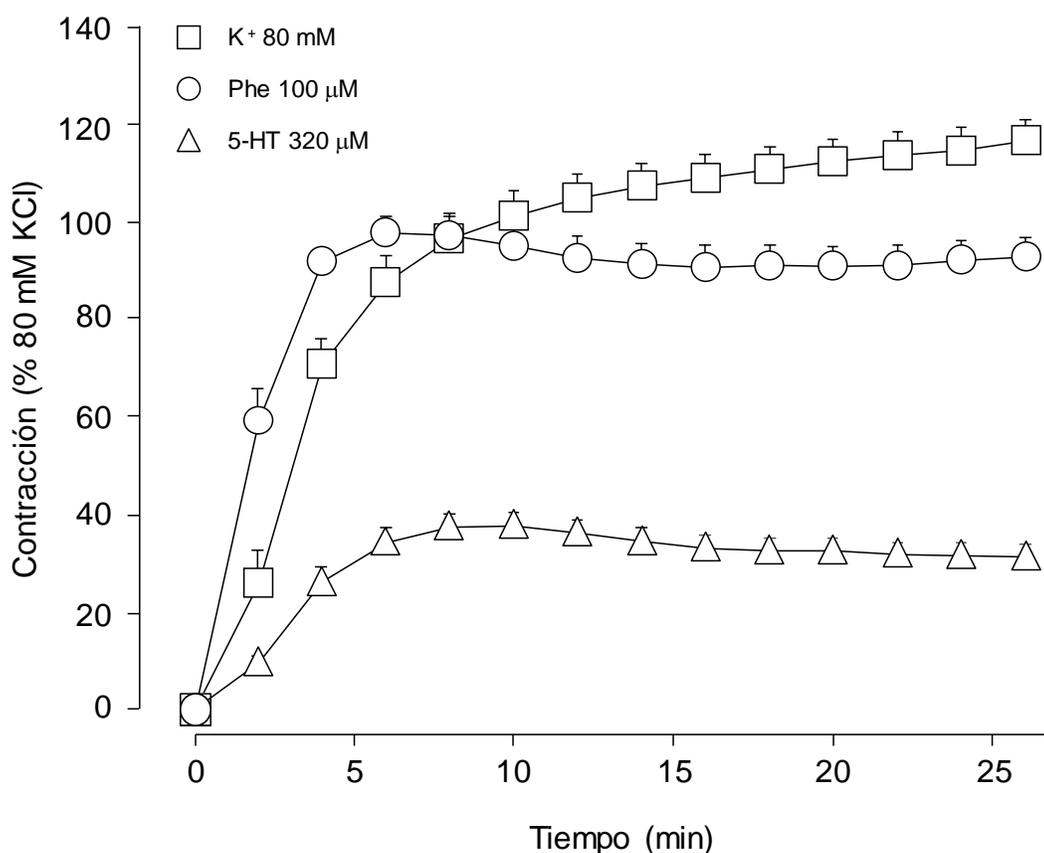
A continuación, se muestran los resultados obtenidos en los estudios *in vitro* en la evaluación farmacológica del propilparabeno (PPB) y posible su participación en los mecanismos de relajación en la aorta de cobayo.

### Contracción de aorta de cobayo inducido por K<sup>+</sup>, Phe y 5-HT

En este trabajo, evaluamos dos concentraciones 100  $\mu$ M y 1 mM del PPB, para conocer su posible participación en la contracción de importantes reguladores de la actividad del músculo liso vascular: K<sup>+</sup> (80 mM), Phe (100  $\mu$ M) y 5-HT (320  $\mu$ M) en la aorta de cobayo.

De manera inicial, se obtuvo el porcentaje de respuesta máxima de contracción para K<sup>+</sup> (80 mM) de 116% $\pm$ 4.44, para Phe (100  $\mu$ M) 92% $\pm$ 4.12 y para 5-HT (320  $\mu$ M) de 31.31% $\pm$ 2.49 (**Fig. 9**). Estos valores máximos de contracción fueron considerados el 100% de la respuesta. Es decir, la máxima contracción obtenida por cada uno de los agonistas durante 26 minutos.

---

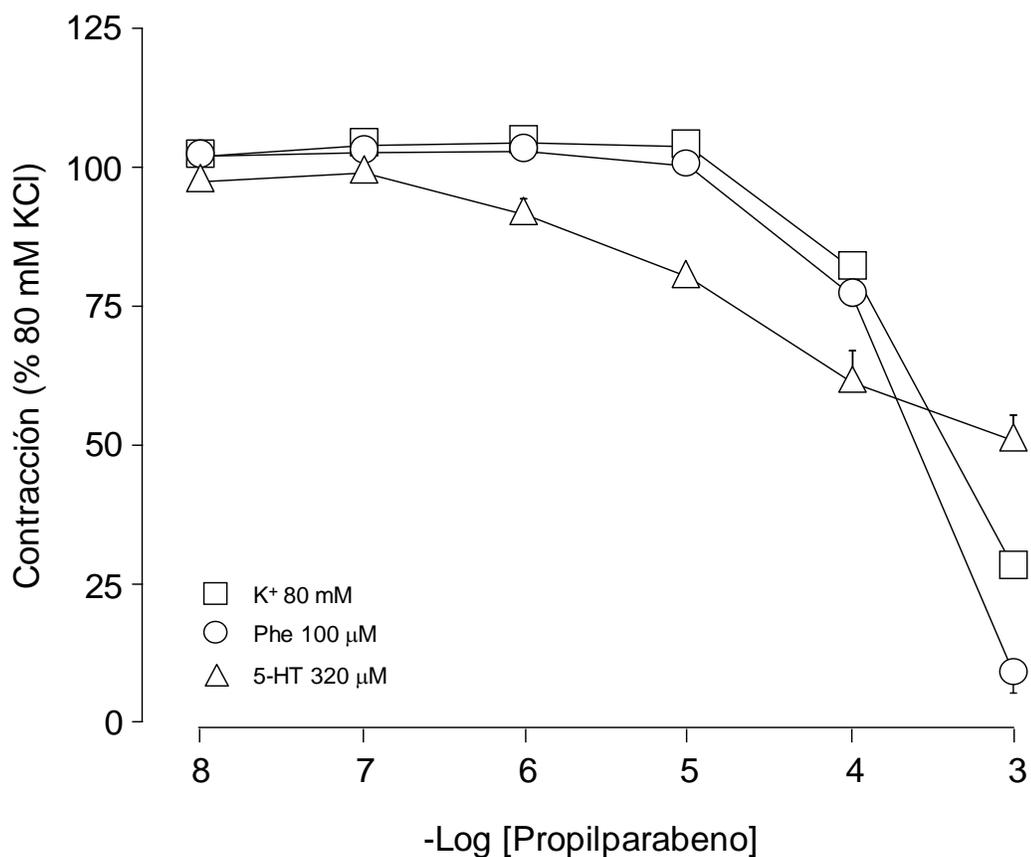


**Fig. 9. Respuesta de contracción a la concentración única de los diferentes agonistas: K<sup>+</sup> (80 mM), Phe (100 μM) y 5-HT (320 μM).** Los símbolos representan la media ± E.E. n=8

### Efecto de relajación del Propilparabeno en el músculo liso vascular

Para evaluar el efecto del PPB, se realizó una curva acumulativa de 0.01 μM hasta 1 mM (1000 μM) sobre la respuesta de máxima de contracción inducida por K<sup>+</sup> (80 mM), Phe (100 μM) y 5-HT (320 μM) (**Fig. 10**). En esta gráfica, se observa que el PPB produce un efecto de relajación dependiente de la concentración sobre las contracciones máximas de cada agonista utilizado.

Asimismo, se decidió evaluar la concentración de 100  $\mu\text{M}$  y 1 mM de PPB para los experimentos subsiguientes, debido a los resultados observados en la **Fig. 10**.



**Fig.10. Curva acumulativa del Propilparabeno (PPB).** Efecto del PPB desde de 0.01  $\mu\text{M}$  hasta 1 mM sobre la respuesta máxima de contracción de la concentración única de  $\text{K}^+$  (80 mM), Phe (100  $\mu\text{M}$ ) y 5-HT (320  $\mu\text{M}$ ), los símbolos representan la media  $\pm$  E.E.  $n=8$ .

---

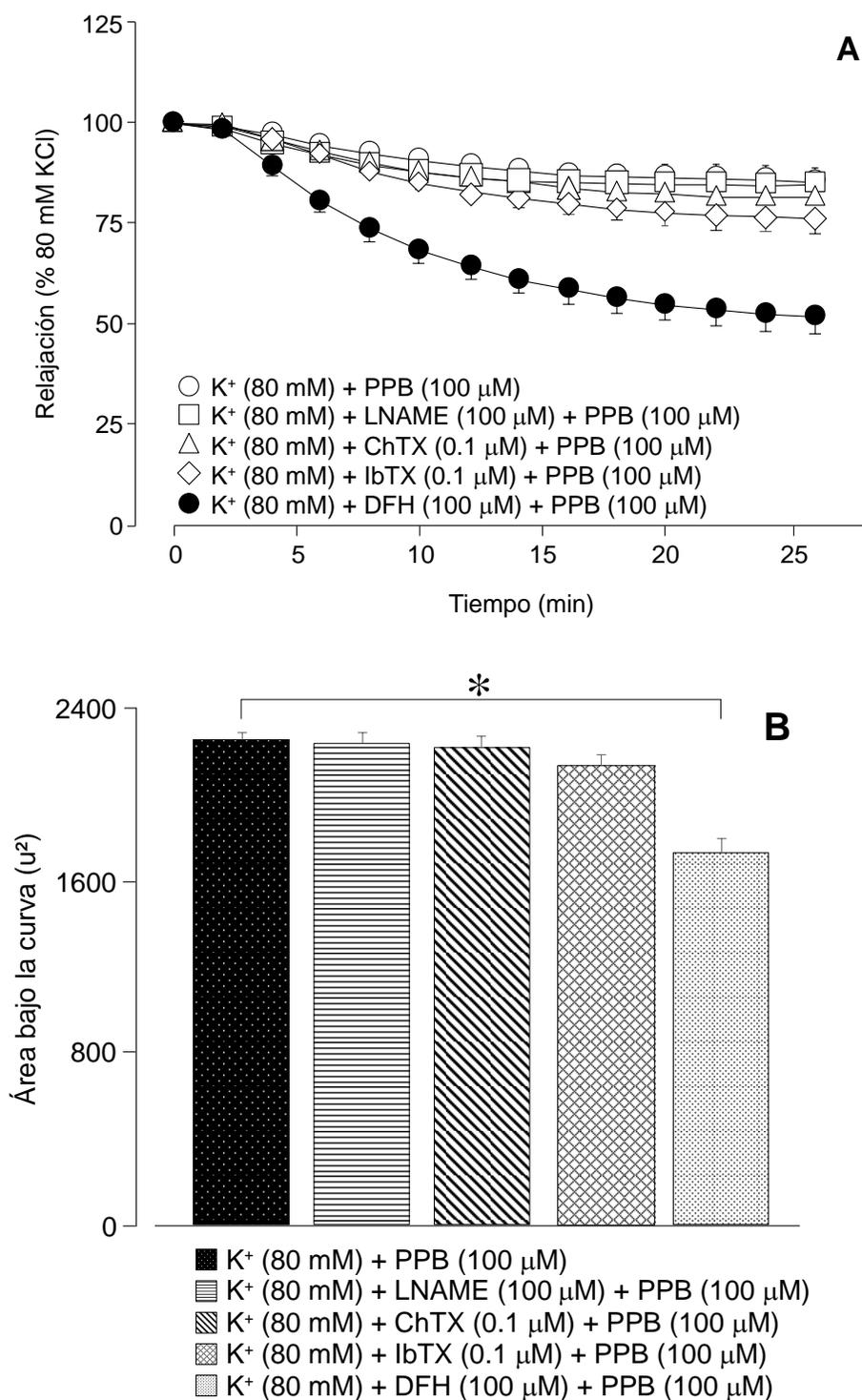
---

## Evaluación farmacológica del PPB (100 $\mu$ M)

Debido a los resultados de los experimentos previos, decidimos determinar los posibles mecanismos de acción del PPB en la relajación. Por este motivo, se evaluó la acción del NO, utilizando un antagonista de la sintasa del NO (NOS) denominado L-NAME (100  $\mu$ M). Así también, evaluamos la participación de los canales de  $K^+$  activados por  $Ca^{2+}$  de alta conductancia y los canales de  $K^+$  activados por voltaje ( $K_{Ca}$ ,  $K_V$  respectivamente) y los canales de  $Na^+$  dependientes de voltaje ( $Na_V$ ), a través de la acción de la Caribdotoxina (ChTX, 0.1  $\mu$ M), Iberiotoxina (IbTX, 0.1  $\mu$ M) y la difenilhidantoina (DFH, 100  $\mu$ M). En los cuadros siguientes se resumen los valores del área bajo la curva obtenidos de los diferentes grupos experimentales.

En la **Fig. 11A**, se observa el efecto de relajación producido por el PPB sobre la contracción de  $K^+$  (80 mM), y una evidente mayor relajación con la preincubación de la DFH (bloqueador de los canales de  $Na^+$  dependientes de voltaje ( $Na_V$ )). Al comparar el área bajo la curva de estas curvas, se observan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el control ( $2330.27 \pm 26.76 u^2$ ) y el valor de PPB+DBH ( $1777.72 \pm 74.48 u^2$ ). Un decremento de la relajación de un  $\sim 22.79\%$ , (**Fig. 11B, Cuadro 2**). Los valores del área bajo la curva con la preincubación de L-NAME, ChTX e IbTX son  $2302.36 u^2 \pm 51.47$ ,  $2282.61 u^2 \pm 56.94$  y  $2205.02 u^2 \pm 47.72$ , correspondientemente, los cuales no mostraron diferencias significativas. Los valores de la  $n=4-8$  (**Cuadro 2**).

---

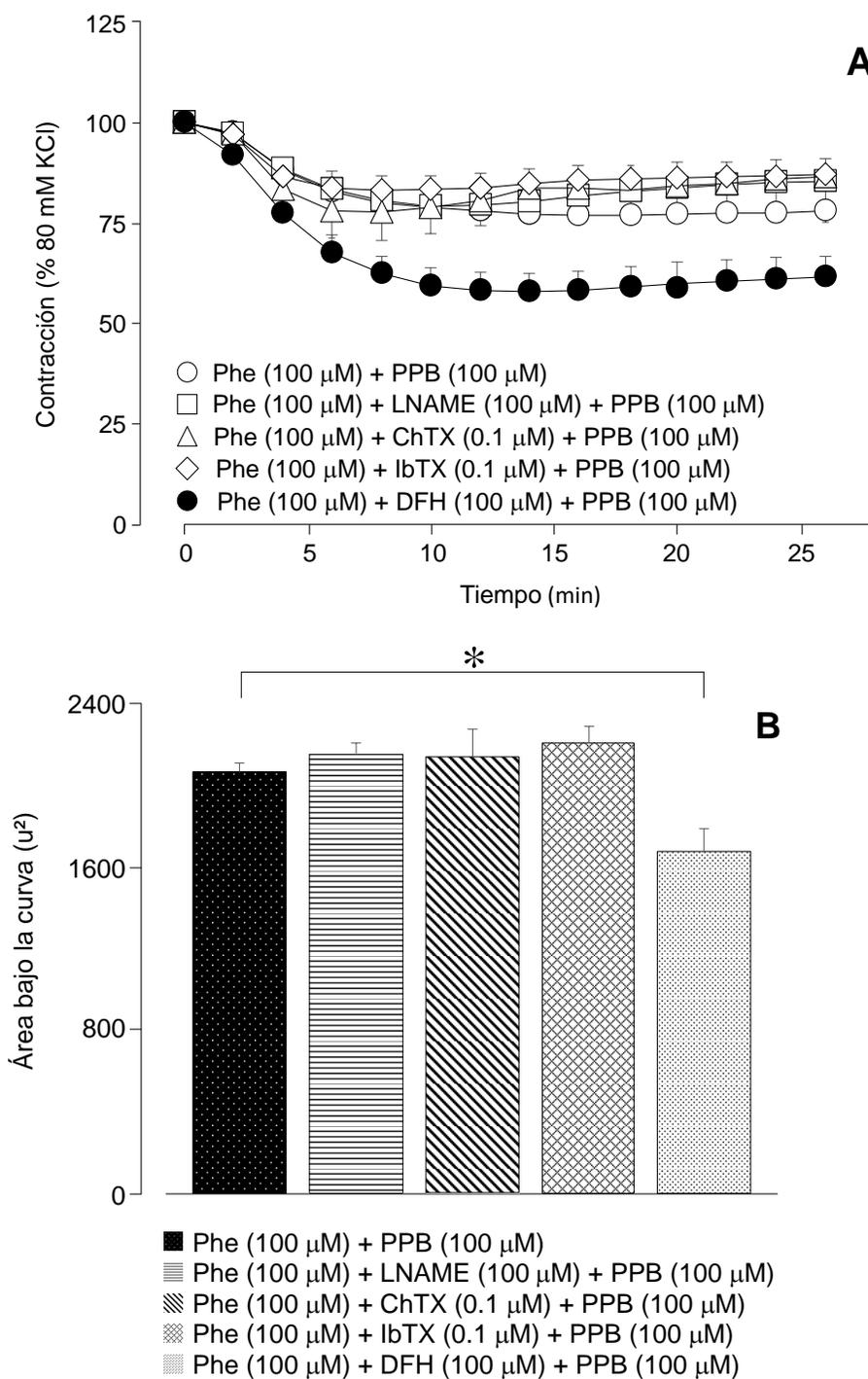


**Fig.11. Efecto del PPB (100 μM) sobre el 100% de respuesta de K<sup>+</sup> (80 mM) con L-NAME (100 μM), ChTX (0.1 μM), IbTX (0.1 μM) y DFH (100 μM) en la aorta de cobayo. A. Curva de relajación por PPB (100 μM) con respecto al tiempo. B. Área bajo curva de la relajación del PPB (100 μM). los símbolos representan la media ± E.E. n=4-8, \*p<0.05.**

**Cuadro 2. Efecto del PPB (100  $\mu$ M) en la contracción de K<sup>+</sup> (80 mM). Valores promedio del área bajo la curva ( $u^2$ ).**

Grupos experimentales	n=número de experimentos	Promedio del área bajo la curva $\pm$ error estándar
K <sup>+</sup> 80 mM + PPB (100 $\mu$ M)	8	2330.27 $\pm$ 26.76
K <sup>+</sup> 80 mM +PPB (100 $\mu$ M) +L-NAME (100 $\mu$ M)	8	2302.36 $\pm$ 51.47
K <sup>+</sup> 80 mM +PPB (100 $\mu$ M) +ChTX (0.1 $\mu$ M)	4	2282.61 $\pm$ 56.93
K <sup>+</sup> 80 mM +PPB (100 $\mu$ M) +IbTX (0.1 $\mu$ M)	6	2205.02 $\pm$ 47.72
K <sup>+</sup> 80 mM +PPB (100 $\mu$ M) + DFH (100 $\mu$ M)	7	1777.72 $\pm$ 74.48

En otro grupo de experimentos, se evaluó el efecto del PPB (100  $\mu$ M) en la máxima contracción producida por Phe (100  $\mu$ M). Inicialmente, observamos en la **Fig. 12A**, que al preincubar con 100  $\mu$ M de PPB+DFH se produce la mayor relajación de la aorta. Al comparar el área bajo la curva del control (2113.19 $\pm$ 33.82  $u^2$ ) con los grupos experimentales, encontramos diferencias significativas con el grupo de PPB+DFH (1710.30 $\pm$ 112.85  $u^2$ ,  $p < 0.05$ ) (**Fig. 12B, Cuadro 3**). Es decir, con PPB + IbTX se produjo un incremento ~19.06% más de relajación. Cabe aclarar que la DFH, por sí sola, no presenta efecto sobre la contracción de Phe (100  $\mu$ M).



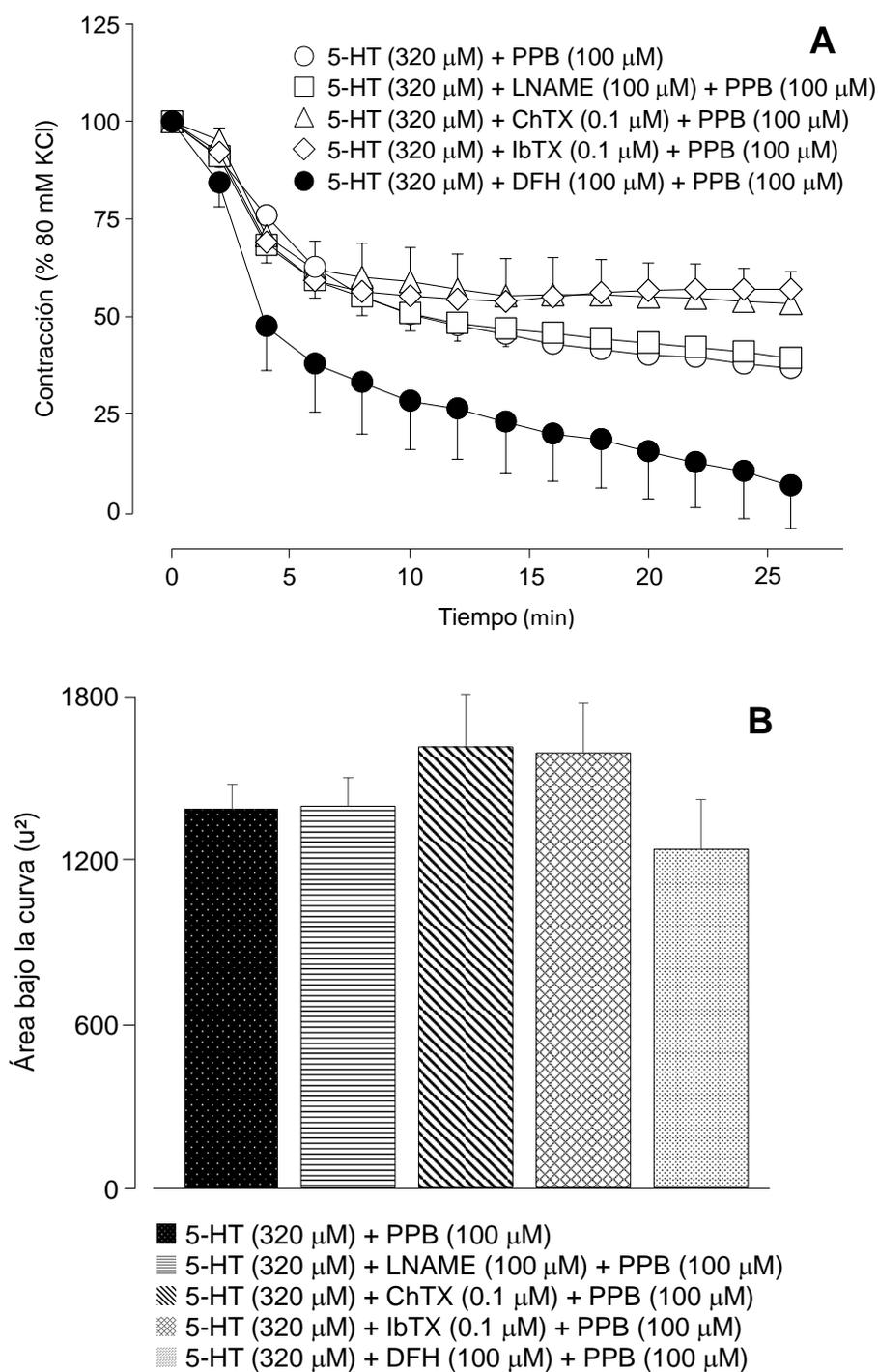
**Fig. 12. Efecto del PPB (100  $\mu$ M) sobre el 100% de respuesta de Phe (100  $\mu$ M) con L-NAME (100  $\mu$ M), ChTX (0.1  $\mu$ M), IbTX (0.1  $\mu$ M) y DFH (100  $\mu$ M) en la aorta de cobayo. A. Curva de relajación por PPB (100  $\mu$ M) con respecto al tiempo. B. Área bajo curva de la relajación del PPB (100  $\mu$ M). los símbolos representan la media  $\pm$  E.E.  $n=4-8$ ,  $*p<0.05$ .**

**Cuadro 3. Efecto del PPB (100  $\mu\text{M}$ ) en la contracción de Phe (100  $\mu\text{M}$ ). Valores promedio del área bajo la curva ( $\text{u}^2$ ).**

Grupos experimentales	n=número de experimentos	Promedio del área bajo la curva $\pm$ error estándar
Phe + PPB (100 $\mu\text{M}$ )	8	2113.19 $\pm$ 33.82
Phe + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) +L-NAME (100 $\mu\text{M}$ )	8	2195.80 $\pm$ 63.70
Phe + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) +ChTX (0.1 $\mu\text{M}$ )	4	2187.89 $\pm$ 281.96
Phe + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) +IbTX (0.1 $\mu\text{M}$ )	6	2251.19 $\pm$ 88.39
Phe + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) + DFH (100 $\mu\text{M}$ )	8	1710.30 $\pm$ 112.85

El efecto de PPB (100  $\mu\text{M}$ ) en la contracción inducida por la 5-HT (320  $\mu\text{M}$ ), y la pre-incubación de L-NAME (100  $\mu\text{M}$ ), CTX (0.1  $\mu\text{M}$ ) y DFH (100  $\mu\text{M}$ ), se observa en la **Fig. 13A**. En esta figura, se observa una evidente relajación de la respuesta de la 5-HT al pre-incubar con el PPB y DFH.

De mismo modo, se obtuvieron las áreas bajo la curva de estas curvas mencionadas. Aunque, se observe cierta tendencia en el proceso de relajación producido por la pre-incubación de PPB+DFH, no existen diferencias significativas (**Fig. 13B**).



**Fig.13. Efecto del PPB (100  $\mu$ M) sobre el 100% de respuesta la concentración única de 5-HT (320  $\mu$ M) con L-NAME (100  $\mu$ M), ChTX (0.1  $\mu$ M), IbTX (0.1  $\mu$ M) y DFH (100  $\mu$ M) en aorta de cobayo. A. Curva de relajación por PPB (100  $\mu$ M) con respecto al tiempo. B. Área bajo curva de la relajación del PPB (100  $\mu$ M). los símbolos representan la media  $\pm$  E.E. n=7-8.**

En el siguiente cuadro (**cuadro 4**) se muestran los valores del área bajo la curva de los diferentes experimentos en que se evalúa el efecto del PPB (100  $\mu\text{M}$ ) en la contracción de 5-HT (320  $\mu\text{M}$ ). Si bien, se muestra que el efecto de la PPB+CTX induce un incremento de  $\sim 16.17\%$  de contracción y con PPB+IbTX de un  $\sim 14.67\%$ , y un decremento de la contracción  $\sim 11.00\%$ , no se observaron diferencias significativas entre los grupos.

**Cuadro 4. Efecto del PPB (100  $\mu\text{M}$ ) en la contracción de 5-HT (320  $\mu\text{M}$ ) Valores promedio del área bajo la curva ( $\mu^2$ )**

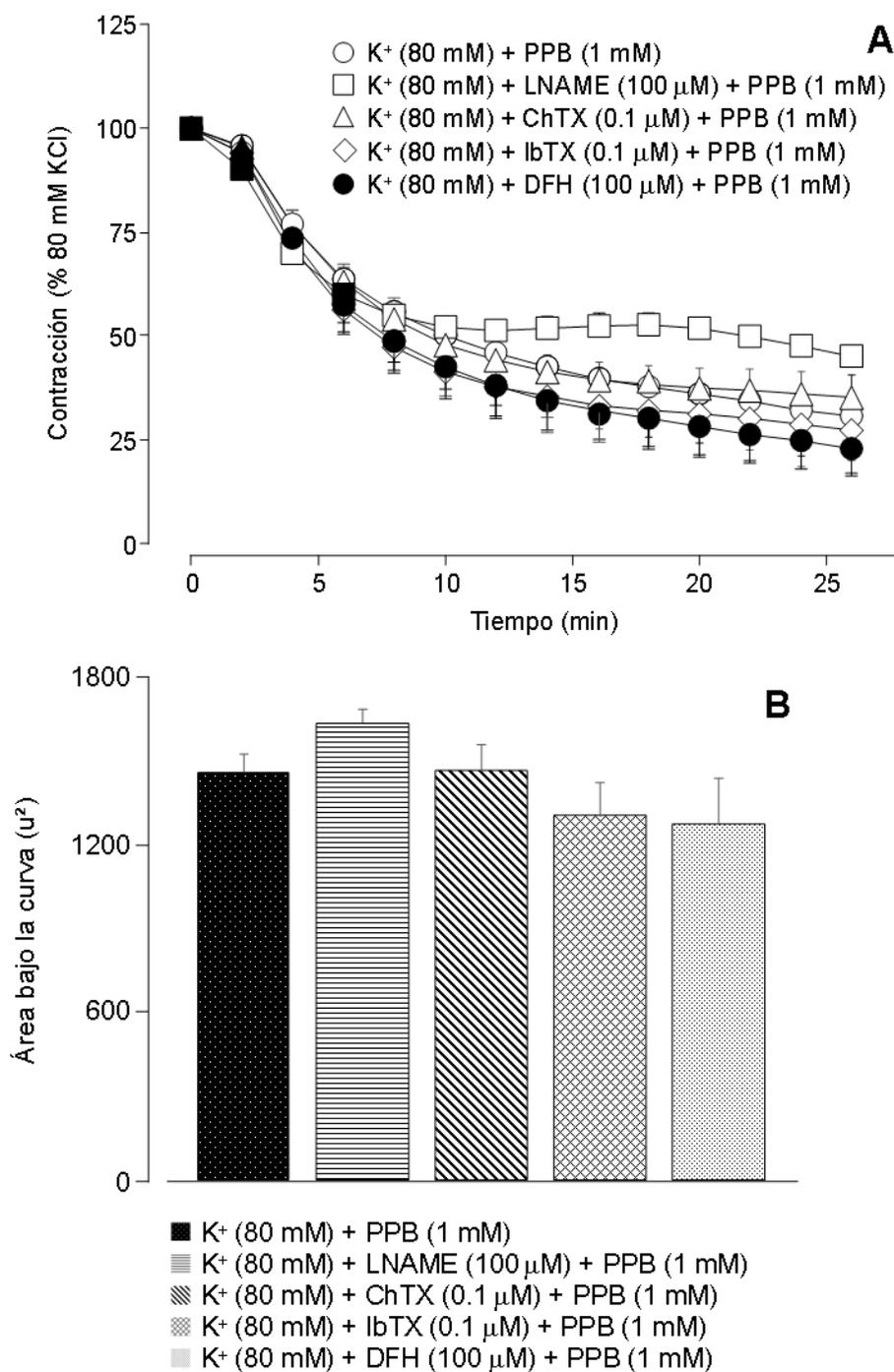
Grupos experimentales	n=número de experimentos	Promedio del área bajo la curva $\pm$ error estándar
5-HT (320 $\mu\text{M}$ ) + PPB (100 $\mu\text{M}$ )	8	1396.22 $\pm$ 92.60
5-HT (320 $\mu\text{M}$ ) + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) + L-NAME (100 $\mu\text{M}$ )	8	1410.86 $\pm$ 100.98
5-HT (320 $\mu\text{M}$ ) + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) + ChTX (0.1 $\mu\text{M}$ )	7	1622.06 $\pm$ 196.78
5-HT (320 $\mu\text{M}$ ) + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) + IbTX (0.1 $\mu\text{M}$ )	7	1601.12 $\pm$ 182.29
5-HT (320 $\mu\text{M}$ ) + PPB (100 $\mu\text{M}$ ) + DFH (100 $\mu\text{M}$ )	8	1242.77 $\pm$ 184.95

## Evaluación farmacológica del PPB (1 mM)

Con la finalidad de evaluar de manera más amplia el efecto del PPB, se evaluó en la aorta aislada de cobayo, una mayor concentración de PPB (1 mM).

En la **Fig. 14A**, se observa el efecto del PPB (1 mM) en la contracción de  $K^+$  80 mM y la pre-incubación de L-NAME, CTX, IbTX y DFH. En esta figura, se observa el efecto de relajación producido por el PPB (1 mM) en la máxima contracción de  $K^+$  80 mM. Así como, la evaluación de los posibles mecanismos que pudieran estar participando, la vía de la producción del NO, los canales  $K_v$ , los canales de  $K_{Ca}$  y los canales de Nav. Del mismo modo, se obtuvieron las áreas bajo la curva (**Fig. 14B**). Como lo muestra el análisis estadístico de estos datos, no existen diferencias significativas en el área bajo la curva de los diferentes grupos de tratamientos (**Cuadro 5**).

---

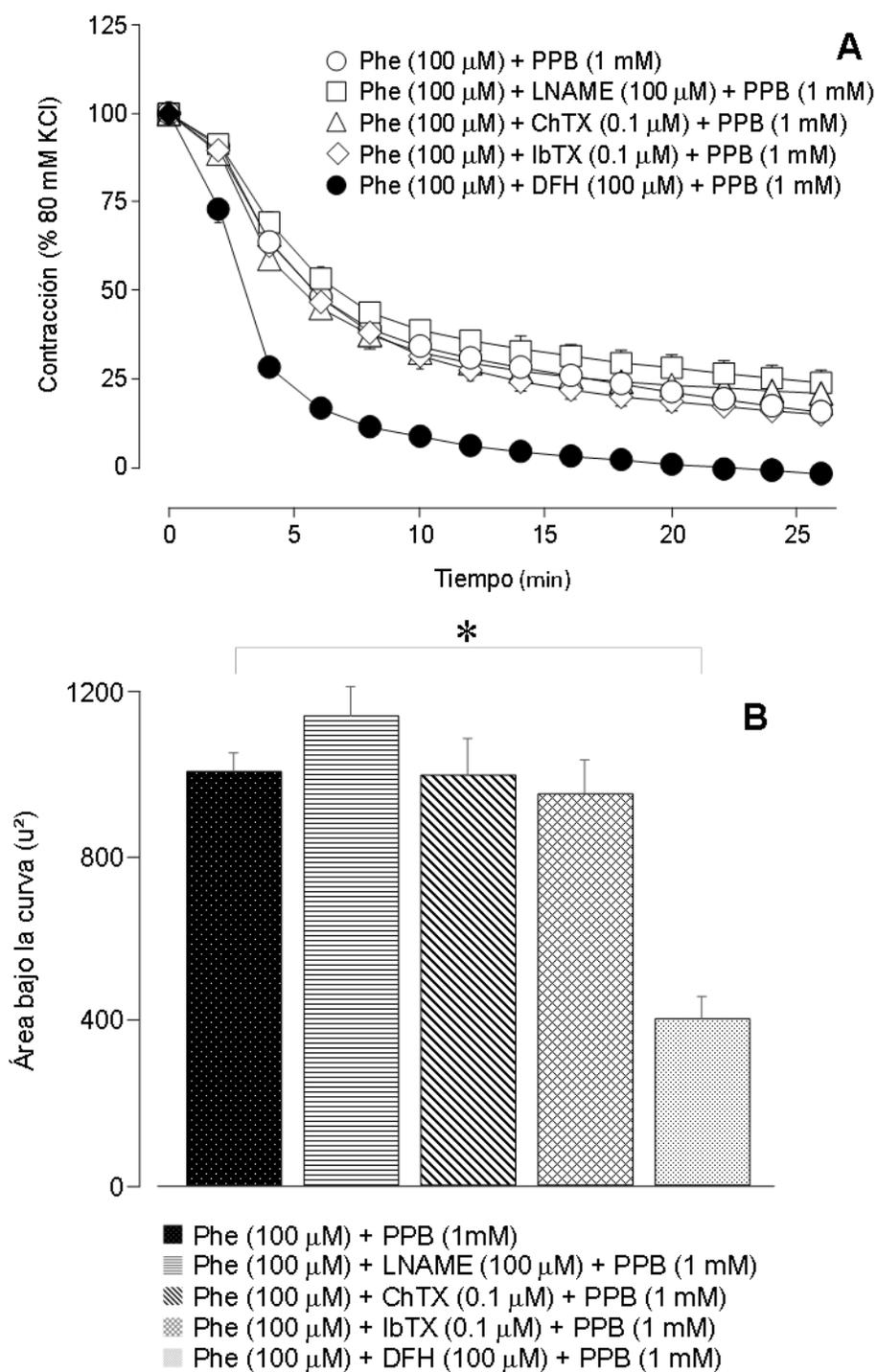


**Fig.14. Efecto del PPB (1 mM) sobre el 100% de respuesta de K<sup>+</sup> (80 mM) con L-NAME (100 μM), ChTX (0.1 μM), IbTX (0.1 μM) y DFH (100 μM) en la aorta de cobayo. A. Curva de relajación por PPB (1 mM) con respecto al tiempo. B. Área bajo curva de la relajación del PPB (1 mM). los símbolos representan la media ± E.E. n=5-8.**

**Cuadro 5. Efecto del PPB (1 mM) en la contracción de K<sup>+</sup> (80 mM). Valores promedio del área bajo la curva (u<sup>2</sup>).**

Grupos experimentales	n=número de experimentos	Promedio del área bajo la curva ± error estándar
K <sup>+</sup> 80 mM + PPB (1 mM)	8	1351.69±58.78
K <sup>+</sup> 80 mM + PPB (1 mM) +L-NAME (100 μM)	8	1514.27±48.54
K <sup>+</sup> 80 mM + PPB (1 mM) +ChTX (0.1 μM)	8	1356.82±84.98
K <sup>+</sup> 80 mM + PPB (1 mM) +IbTX (0.1 μM)	5	1205.97±109.33
K <sup>+</sup> 80 mM + PPB (1 mM) + DFH (1 mM)	7	1182.17±150.34

En la **Fig. 15A**, se observa el efecto del PPB (1 mM) en la respuesta máxima de Phe (100 μM) y en la evaluación de los distintos mecanismos de relajación, mencionados previamente. En estas gráficas, se aprecia una mayor relajación al preincubar con DFH, un antagonista de los canales de Na<sup>+</sup> dependientes del voltaje, encontrando diferencias significativas entre el área bajo la curva control ( $1002.72u^2 \pm 45.02$ ) y el efecto del PPB y DFH ( $409.71u^2 \pm 49.49$ ),  $p < 0.05$  (**Fig. 15B, cuadro 6**).

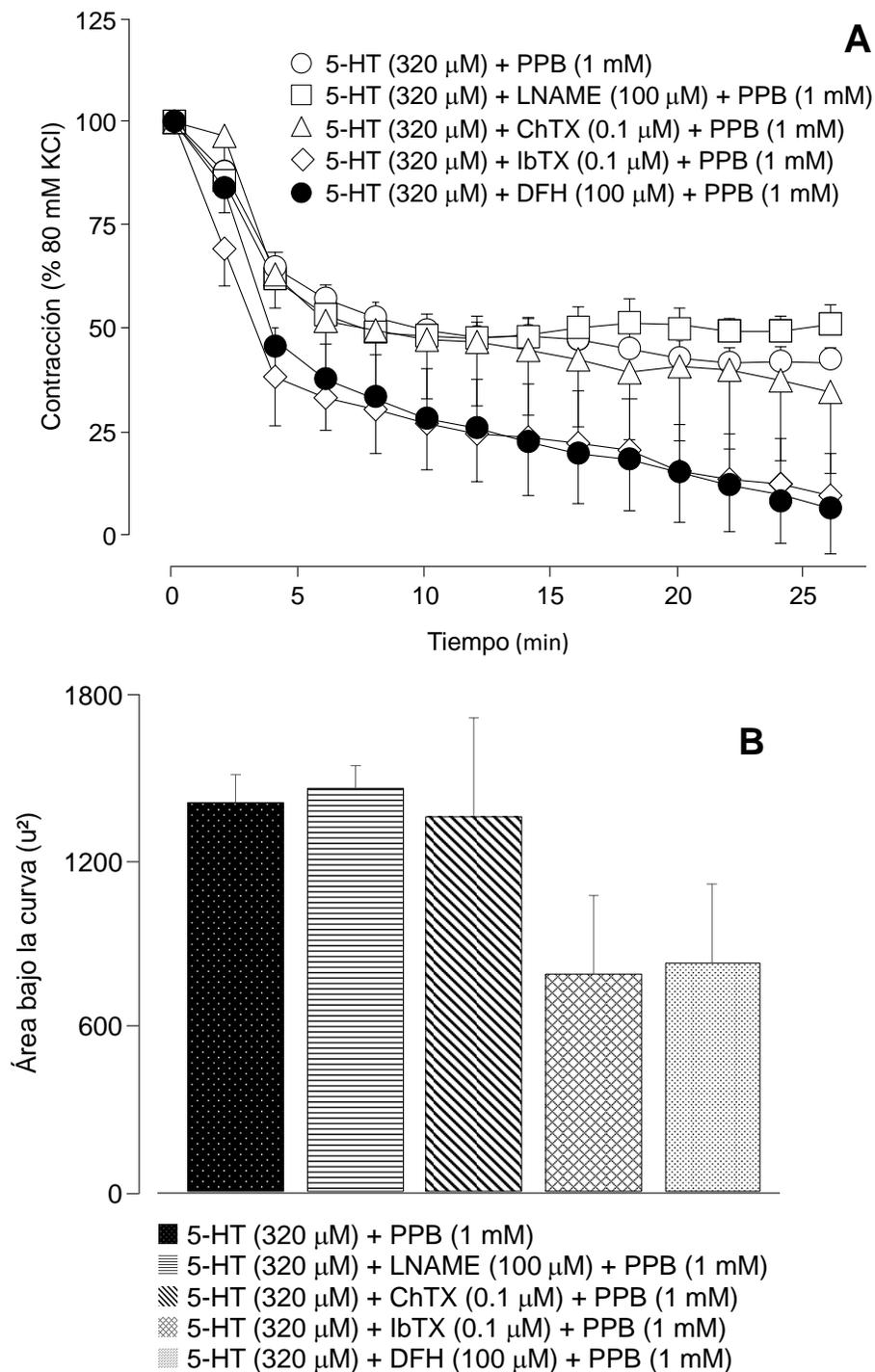


**Fig.15. Efecto del PPB (1 mM) sobre el 100% de respuesta de Phe (100  $\mu$ M) con L-NAME (100  $\mu$ M), ChTX (0.1  $\mu$ M), IbTX (0.1  $\mu$ M) y DFH (100  $\mu$ M) en la aorta de cobayo. A. Curva de relajación por PPB (100  $\mu$ M) con respecto al tiempo. B. Área bajo curva de la relajación del PPB (1 mM). los símbolos representan la media  $\pm$  E.E.  $n=6-8$ ,  $*p<0.05$ .**

**Cuadro 6. Efecto del PPB (1 mM) en la contracción de Phe (100  $\mu$ M) Valores promedio del área bajo la curva ( $u^2$ )**

Grupos experimentales	n=número de experimentos	Promedio del área bajo la curva $\pm$ error estándar
Phe (100 $\mu$ M) + PPB (1 mM)	8	1002.72 $\pm$ 45.02
Phe (100 $\mu$ M) + PPB (1 mM) +L-NAME (100 $\mu$ M)	8	1139.16 $\pm$ 72.36
Phe (100 $\mu$ M) + PPB (1 mM) +ChTX (0.1 $\mu$ M)	6	996.89 $\pm$ 84.96
Phe (100 $\mu$ M) + PPB (1 mM) +IbTX (0.1 $\mu$ M)	6	950.04 $\pm$ 77.59
Phe (100 $\mu$ M) + PPB (1 mM) + DFH (1 mM)	8	409.70 $\pm$ 49.49

La evaluación del efecto del PPB (1 mM) en la máxima contracción de 5-HT y la evaluación de los diferentes mecanismos de relajación se muestran en la **Fig. 16**. En la **Fig. 16A**, se observa en la contracción de 5-HT (320  $\mu$ M) el efecto de relajación más evidente por PPB (1 mM) en la pre-incubación IbTX y DFH. Se observa una tendencia a aumentar la relajación del PPB cuando se bloquean los canales de  $K^+$  ( $K_{Ca}$ ) y los canales de  $Na^+$  ( $Na_v$ ). En la **Fig. 16B**, se observa el área bajo la curva, donde existe una mayor relajación de 5-HT (320  $\mu$ M) por la acción del PPB (1 mM) e IbTX (0.1  $\mu$ M), con un valor de  $776.06 u^2 \pm 289.22$  y por la acción del PPB (1 mM) y DFH (100  $\mu$ M) obteniéndose un valor  $819.96 \pm 286.43$ , comparado con la respuesta de 5-HT+PPB ( $1400.14 u^2 \pm 92.75$ ).



**Fig.16. Efecto del PPB (1 mM) sobre el 100% de respuesta la concentración única de 5-HT (320  $\mu$ M) con L-NAME (100  $\mu$ M), ChTX (0.1  $\mu$ M), IbTX (0.1  $\mu$ M) y DFH (100  $\mu$ M) en aorta de cobayo. A. Curva de relajación por PPB (100  $\mu$ M) con respecto al tiempo. B. Área bajo curva de la relajación del PPB (100  $\mu$ M). los símbolos representan la media  $\pm$  E.E. n=5-8**

**Cuadro 7. Efecto del PPB (1 mM) en la contracción de 5-HT (320  $\mu$ M) Valores promedio del área bajo la curva ( $u^2$ )**

Grupos experimentales	n=número de experimentos	Promedio del área bajo la curva $\pm$ error estándar
5-HT (320 $\mu$ M) + PPB (1 mM)	8	1400.14 $\pm$ 92.75
5-HT (320 $\mu$ M) + PPB (1 mM) +L-NAME (100 $\mu$ M)	8	1445.07 $\pm$ 82.18
5-HT (320 $\mu$ M) + PPB (1 mM) +ChTX (0.1 $\mu$ M)	5	1341.60 $\pm$ 358.86
5-HT (320 $\mu$ M) + PPB (1 mM) +IbTX (0.1 $\mu$ M)	7	776.07 $\pm$ 289.23
5-HT (320 $\mu$ M) + PPB (1 mM) + DFH (1 mM)	8	819.96 $\pm$ 286.43

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo evaluamos farmacológicamente los efectos de relajación del propilparabeno (PPB), un antimicrobiano y conservante común, en aorta de cobayo en un sistema de órganos aislados *in vitro*. Asimismo, indagamos los mecanismos de relajación que el PPB pudiera estar participando en el músculo liso vascular (MLV), como la contribución de la sintasa del óxido nítrico (NO), los canales de potasio activados por  $Ca^{2+}$ ( $K_{Ca}$ ) y los canales de sodio dependientes de voltaje ( $Na_v$ ).

En estudios previos, se ha descrito que el PPB induce relajación en las arterias cerebrales (70). En ese trabajo, describieron que la naloxona, antagonista de los receptores opioides, tiene un potente efecto relajante en arterias cerebrales de humanos. Este efecto se atribuyó a la acción de los vehículos conservantes del metil y propilparabeno (70). Estos autores concluyeron que la acción de estos conservantes eran los que presentaban el potente efecto relajante, independientemente del modo de vasoconstricción.

En otro tipo de trabajos, Ji y col. (2004) propusieron que el PPB tiene un efecto cardioprotector posterior a un daño isquémico producido por la reperfusión en ratas (65). Así mismo, se ha descrito que el PPB tiene una actividad anticonvulsivante, ya que inhibe la liberación de glutamato, y la consiguiente hiperexcitabilidad neuronal debido a la inhibición de los canales de  $Na^+$ , en un modelo de convulsiones por un electrochoque máximo en ratones (75).

---

Otros trabajos más recientes mostraron que el PPB disminuyó la excitabilidad *in vitro*, como inhibidor de los canales de Nav, en rebanadas de cerebro de rata (68).

No existen muchos estudios que hayan evaluado la participación del PPB en el MLV. En este trabajo, determinamos que la relajación de la aorta depende de la concentración de PPB utilizada, a una mayor concentración el efecto de relajación es más eficaz. Esta respuesta de relajación inducida por el PPB, se ve exacerbada por la acción de la DFH, en todas las respuestas de contracción evaluadas (K<sup>+</sup>, Phe y 5-HT).

La DFH es un fármaco que se utiliza de manera muy amplia en el tratamiento de la actividad epiléptica, como un anticonvulsivante y también, es utilizado como un antiarrítmico. Se ha descrito que el principal mecanismo de acción de la DFH es a través de la inhibición de los canales de Nav; así como los canales de calcio tipo L y en el Receptor GABA-A (76). En este sentido, la DFH tiene una amplia zona de acción y que pueda actuar en más de un mecanismo de acción.

Por tanto, la DFH es más que un bloqueador de los canales Nav, lo que podría tener una participación más amplia en este proceso de relajación. Es entonces, que observamos una mayor respuesta de relajación por PPB y que este potenciada por el DFH.

Por otro lado, si bien, no existían antecedentes de la participación del PPB en la relajación del MLV por la acción del NO, decidimos evaluar la inhibición de la sintasa del NO. Una propuesta inicial era que en parte la relajación producida por el PPB fuera por

---

la acción del NO. No obstante, confirmamos que el NO no participa en la relajación del PPB.

Los canales de  $K_{Ca}$  se encuentran ampliamente distribuidos en el MLV, los cuales participan en la repolarización del potencial de membrana, y por consiguiente en el proceso de la relajación. En este trabajo, la evaluación del PPB a través de la participación de los canales de  $K_{Ca}$ , también fue evaluada. No obstante, pudimos determinar que el proceso de relajación no fue inducido por la activación de los canales de  $K_{Ca}$  en ninguna condición.

Hasta donde sabemos, la relajación producida por el PPB en la contracción por  $K^+$ , Phe y 5-HT no ha sido descrita anteriormente, así como tampoco la actividad sinérgica del DFH en los procesos de relajación. Por lo tanto, aún queda esclarecer el papel potencial de esta actividad sinérgica en el MLV.

---

## CONCLUSIONES

1. La relajación inducida por PPB en la contracción por  $K^+$ , Phe, 5-HT, es dependiente de la concentración.
  2. La relajación producida por PPB no depende del mecanismo de la síntesis del NO, ni tampoco por la acción de los canales de  $K_{Ca}$ .
  3. La relajación producida por PPB depende de la participación de los canales de  $Nav$  a través de la acción de DFH.
-

## **PERSPECTIVAS**

Comprobamos que la relajación producida por PPB es potenciada por DFH. Sin embargo, no fueron otros posibles mecanismos fisiológicos y farmacológicos en los que pudieran estar relacionados la acción de la DFH. En este sentido, sería importante evaluar la participación de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L, los cuales han sido vinculados con la actividad de la DFH.

Del mismo modo, sería muy interesante que en otros experimentos posteriores remover el endotelio para confirmar que el NO, formado en el endotelio, no participa o evaluar cualquier otro mecanismo presente en el endotelio que pudiera estar modulando la relajación.

Con este trabajo, hemos aportado información al conocimiento sobre la acción de los PPB en el MLV, y reflexionar sobre los efectos de estos compuestos químicos, considerados inocuos en los sistemas biológicos y en el ser humano.

---

---

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tortora GJ, Derrickson, B. Principios de Anatomía y Fisiología. 13° ed. Panamericana, editor2013.
  2. Bestetti RB, Restini CB, Couto LB. Development of anatomophysiological knowledge regarding the cardiovascular system: from Egyptians to Harvey. *Arq Bras Cardiol.* 2014;103(6):538-45.
  3. Fox S. Músculo. Mecanismos de contracción y control neural. *Fisiología Humana.* 12 ed2011. p. 357-95.
  4. Akutsu K. Etiology of aortic dissection. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2019;67(3):271-6.
  5. Murillo H, Lane MJ, Punn R, Fleischmann D, Restrepo CS. Imaging of the aorta: embryology and anatomy. *Semin Ultrasound CT MR.* 2012;33(3):169-90.
  6. Momma K, Ito T, Ando M. In situ morphology of the aorta and common iliac artery in the fetal and neonatal rat. *Pediatr Res.* 1993;33(3):302-6.
  7. Welsch U, Sobotta J. *Histología: Ed. Médica Panamericana; 2008.*
  8. Tonar Z, Kubíková T, Prior C, Demjén E, Liška V, Králíčková M, et al. Segmental and age differences in the elastin network, collagen, and smooth muscle phenotype in the tunica media of the porcine aorta. *Ann Anat.* 2015;201:79-90.
  9. Webb RC. Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances in physiology education.* 2003;27(4):201-6.
  10. Laporte R, Hui A, Laher I. Pharmacological modulation of sarcoplasmic reticulum function in smooth muscle. *Pharmacol Rev.* 2004;56(4):439-513.
  11. Clinton RW. Smooth muscle contraction and relaxation. *ADVANCES IN PHYSIOLOGY EDUCATION* 2003;27:201-6.
  12. Walklate J, Ujfalusi Z, Geeves MA. Myosin isoforms and the mechanochemical cross-bridge cycle. *J Exp Biol.* 2016;219(Pt 2):168-74.
  13. Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature.* 1994;372(6503):231-6.
  14. Kanagy NL, Watts SW. *Vascular Smooth Muscle Contraction.* 2007.
  15. Syrovatkina V, Alegre KO, Dey R, Huang XY. Regulation, Signaling, and Physiological Functions of G-Proteins. *J Mol Biol.* 2016;428(19):3850-68.
  16. Pande J, Grover, A. K. Plasma membrane calcium pumps in smooth muscle: from fictional molecules to novel inhibitors. *Can J Physiol Pharmacol.* 2005;83:743-54.
  17. Yim YY, Zurawski Z, Hamm H. GPCR regulation of secretion. *Pharmacol Ther.* 2018;192:124-40.
  18. Afzal MS. G proteins: binary switches in health and disease. *Cent Eur J Immunol.* 2020;45(3):364-7.
  19. Neves SR, Ram PT, Iyengar R. G protein pathways. *Science.* 2002;296(5573):1636-9.
  20. Torrejón González E. Evaluación farmacológica de los receptores 5-HT, involucrados en la actividad de contracción de la aorta de cobayo en un modelo experimental de asma
-

- alérgica. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México; 2018.
21. Ramage AG, Villalón CM. 5-hydroxytryptamine and cardiovascular regulation. *Trends Pharmacol Sci.* 2008 Sep;29(9):472-81. doi: 10.1016/j.tips.2008.06.009. PMID: 19086344.
  22. Campos Bedolla P. Caracterización farmacológica de los receptores serotoninérgicos involucrados en la contracción y relajación del músculo liso de las vías aéreas de cobayo. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.
  23. Kim HR, Appel, S., Vetterkind, S., Gangopadhyay, S. S, Morgan, K. G. Smooth muscle signalling pathways in health and disease. *J Cell Mol Med.* 2008;12:2165-80.
  24. Chen J, Zhou Y, Liu S, Li C. Biomechanical signal communication in vascular smooth muscle cells. *J Cell Commun Signal.* 2020;14(4):357-76.
  25. Brini M, Carafoli E. Calcium pumps in health and disease. *Physiol Rev.* 2009;89(4):1341-78.
  26. Gagnon KB, Delpire E. Sodium Transporters in Human Health and Disease. *Front Physiol.* 2020;11:588664.
  27. Blaustein MP, Lederer WJ. Sodium/calcium exchange: its physiological implications. *Physiol Rev.* 1999;79(3):763-854.
  28. Hirota S, Pertens E, Janssen LJ. The reverse mode of the Na(+)/Ca(2+) exchanger provides a source of Ca(2+) for store refilling following agonist-induced Ca(2+) mobilization. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007;292(2):L438-47.
  29. Zhao Y, Vanhoutte, P. M. and Leung, S. W. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences.* 2015;129:83-94.
  30. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.* 2012;33(7):829-37, 37a-37d.
  31. Vanhoutte PM, Zhao Y, Xu A, Leung SW. Thirty years of saying NO: sources, fate, actions, and misfortunes of the endothelium-derived vasodilator mediator. *Circulation research.* 2016;119(2):375-96.
  32. Yang J, Clark JW, Bryan RM, Robertson CS. Mathematical modeling of the nitric oxide/cGMP pathway in the vascular smooth muscle cell. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;289(2):H886-97.
  33. Tykocki NR, Boerman EM, Jackson WF. Smooth Muscle Ion Channels and Regulation of Vascular Tone in Resistance Arteries and Arterioles. *Compr Physiol.* 2017;7(2):485-581.
  34. Hille B. Ionic channels: molecular pores of excitable membranes. *Harvey Lect.* 1986;82:47-69.
  35. Mughal A, Sun C, O'Rourke ST. Apelin Does Not Impair Coronary Artery Relaxation Mediated by Nitric Oxide-Induced Activation of BK(Ca) Channels. *Front Pharmacol.* 2021;12:679005.
  36. Pelaia G, Gallelli L, Vatrella A, Grembiale RD, Maselli R, De Sarro GB, et al. Potential role of potassium channel openers in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Life Sci.* 2002;70(9):977-90.
-

- 
37. Dogan MF, Yildiz O, Arslan SO, Ulusoy KG. Potassium channels in vascular smooth muscle: a pathophysiological and pharmacological perspective. *Fundam Clin Pharmacol.* 2019;33(5):504-23.
  38. Potassium channels. Accessed on 30/05/2022. IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY, <http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=133>.
  39. Pipatpolkai T, Quetschlich D, Stansfeld PJ. From Bench to Biomolecular Simulation: Phospholipid Modulation of Potassium Channels. *J Mol Biol.* 2021:167105.
  40. Contreras GF, Castillo K, Enrique N, Carrasquel-Ursulaez W, Castillo JP, Milesi V, et al. A BK (Slo1) channel journey from molecule to physiology. *Channels.* 2013;7(6):442-58.
  41. Jackson WF. K(V) channels and the regulation of vascular smooth muscle tone. *Microcirculation.* 2018;25(1).
  42. Jackson WF. Potassium Channels in Regulation of Vascular Smooth Muscle Contraction and Growth. *Adv Pharmacol.* 2017;78:89-144.
  43. Mistry DK, Garland CJ. Nitric oxide (NO)-induced activation of large conductance Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels (BK(Ca)) in smooth muscle cells isolated from the rat mesenteric artery. *Br J Pharmacol.* 1998;124(6):1131-40.
  44. Zhang DX, Borbouse L, Gebremedhin D, Mendoza SA, Zinkevich NS, Li R, et al. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced dilation in human coronary arterioles: role of protein kinase G dimerization and large-conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channel activation. *Circ Res.* 2012;110(3):471-80.
  45. Tang X, Qian LL, Wang RX, Yao Y, Dang SP, Wu Y, et al. Regulation of Coronary Arterial Large Conductance Ca<sup>2+</sup>-Activated K<sup>+</sup> Channel Protein Expression and Function by n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Diabetic Rats. *J Vasc Res.* 2017;54(6):329-43.
  46. Wang B, Jaffe DB, Brenner R. Current understanding of iberiotoxin-resistant BK channels in the nervous system. *Front Physiol.* 2014;5:382.
  47. Wang J, Ou SW, Wang YJ. Distribution and function of voltage-gated sodium channels in the nervous system. *Channels (Austin).* 2017;11(6):534-54.
  48. Kruger LC, Isom LL. Voltage-Gated Na<sup>+</sup> Channels: Not Just for Conduction. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(6).
  49. de Lera Ruiz M, Kraus RL. Voltage-Gated Sodium Channels: Structure, Function, Pharmacology, and Clinical Indications. *J Med Chem.* 2015;58(18):7093-118.
  50. Catterall WA, Goldin AL, Waxman SG. - Voltage-gated sodium channels (version 2019.4) in the IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology Database.
  51. Vandenberg LN, Bugos J. Assessing the Public Health Implications of the Food Preservative Propylparaben: Has This Chemical Been Safely Used for Decades. *Curr Environ Health Rep.* 2021;8(1):54-70.
  52. Dodge LE, Kelley KE, Williams PL, Williams MA, Hernández-Díaz S, Missmer SA, et al. Medications as a source of paraben exposure. *Reprod Toxicol.* 2015;52:93-100.
  53. Soni MG, Burdock GA, Taylor SL, Greenberg NA. Safety assessment of propyl paraben: a review of the published literature. *Food Chem Toxicol.* 2001;39(6):513-32.
  54. Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products. *Int J Toxicol.* 2008;27 Suppl 4:1-82.
-

- 
55. Nesci A, Rodriguez M, Etcheverry M. Control of *Aspergillus* growth and aflatoxin production using antioxidants at different conditions of water activity and pH. *J Appl Microbiol.* 2003;95(2):279-87.
  56. Sabalitschka T, Scholz U. [Effect of p-hydroxybenzoates ingested with preserved food substances on normal intestinal flora]. *Arch Hyg Bakteriol.* 1957;141(7):551-6.
  57. Petric Z, Ružić J, Žuntar I. The controversies of parabens - an overview nowadays. *Acta Pharm.* 2021;71(1):17-32.
  58. Fransway AF, Fransway PJ, Belsito DV, Warshaw EM, Sasseville D, Fowler Jr JF, et al. Parabens. *Dermatitis.* 2019;30(1):3-31.
  59. Soni MG, Carabin IG, Burdock GA. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food Chem Toxicol.* 2005;43(7):985-1015.
  60. Tavares RS, Martins FC, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J, Peixoto FP. Parabens in male infertility-is there a mitochondrial connection? *Reprod Toxicol.* 2009;27(1):1-7.
  61. Chen J, Ahn KC, Gee NA, Gee SJ, Hammock BD, Lasley BL. Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007;221(3):278-84.
  62. SALUD SD. Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias (Continúa en la Cuarta Sección), SECRETARIA DE SALUD, Estados Unidos Mexicanos; DOF, 16 de julio 2012, [citado el 05-07-2021]; Disponible en versión HTML en internet: <http://sidof.segob.gob.mx/notas/5259470>. 2012.
  63. Salud EUM-Sd. NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. [citado 05-07-2021] Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/318308/247-ssa1.pdf>. 2009.
  64. FDA. Parabenos en Cosmética, Estados Unidos de Norte America. 2018, [citado 07-07-2021]; Disponible en <https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetic-ingredients/parabens-cosmetics>. 2018.
  65. Ji X, Xu Z, Criswell HE, Boysen PG. Propyl paraben inhibits voltage-dependent sodium channels and protects cardiomyocytes from ischemia-reperfusion injury. *Life Sci.* 2004;74(24):3043-52.
  66. Talevi A, Bellera CL, Castro EA, Bruno-Blanch LE. A successful virtual screening application: prediction of anticonvulsant activity in MES test of widely used pharmaceutical and food preservatives methylparaben and propylparaben. *J Comput Aided Mol Des.* 2007;21(9):527-38.
  67. Santana-Gómez CE, Orozco-Suárez SA, Talevi A, Bruno-Blanch L, Magdaleno-Madrigal VM, Fernández-Mas R, et al. Propylparaben applied after pilocarpine-induced status epilepticus modifies hippocampal excitability and glutamate release in rats. *Neurotoxicology.* 2017;59:110-20.
  68. Lara-Valderrabano L, Rocha L, Galvan EJ. Propylparaben reduces the excitability of hippocampal neurons by blocking sodium channels. *Neurotoxicology.* 2016;57:183-93.
-

- 
69. Hamilton JT, Zhou Y, Gelb AW. Paraben preservatives but not succinylcholine are cerebral vasodilators in vitro. *Anesthesiology*. 1990;73(6):1252-7.
  70. Brandt L, Andersson KE, Hindfelt B, Ljunggren B, Pickard JD. Are the vascular effects of naloxone attributable to the preservatives methyl- and propylparaben? *J Cereb Blood Flow Metab*. 1983;3(3):395-8.
  71. Geddes BA, Lefcoe NM. Respiratory Smooth Muscle Relaxing Effect of Commercial Steroid Preparations. *American Review of Respiratory Disease*. 1973;107(3):395-9.
  72. Jensen BS, Strobaek D, Christophersen P, Jorgensen TD, Hansen C, Silahtaroglu A, et al. Characterization of the cloned human intermediate-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$  channel. *Am J Physiol*. 1998;275(3):C848-56.
  73. Löhn M, Lauterbach B, Haller H, Pongs O, Luft FC, Gollasch M. beta(1)-Subunit of BK channels regulates arterial wall  $[Ca^{2+}]$  and diameter in mouse cerebral arteries. *J Appl Physiol* (1985). 2001;91(3):1350-4.
  74. Cestèle S, Catterall WA. Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. *Biochimie*. 2000;82(9-10):883-92.
  75. Talevi A, Bellera, C.L., Castro, E.A., Bruno-Blanch, L.E . A successful virtual screening application: prediction of anticonvulsant activity in MES test of widely used pharmaceutical and food preservatives methylparaben and propylparaben. *J Comput Aided Mol Des* 2007;21:527–38.
  76. Terragni B SP, Colombo E, Franceschetti S, Mantegazza M. Ranolazine vs phenytoin: greater effect of ranolazine on the transient  $Na^{+}$  current than on the persistent  $Na^{+}$  current in central neurons. *Neuropharmacology*. 2016;110:223-36.
-

## ANEXO

Tipos de				
Tipos de	Nomenclatura	Antagonista	Nomenclatura	Antagonista
Canales de Potasio				
Canales de K <sup>+</sup> activados por calcio y sodio	K <sub>Ca</sub> 1.1	Caribdotoxina, Iberiotoxina,	K <sub>Ca</sub> 3.1	Caribdotoxina
	K <sub>Ca</sub> 2.1	tetraetilamonio	K <sub>Na</sub> 1.1	Quinidina
	K <sub>Ca</sub> 2.2	Tetraetilamonio	K <sub>Na</sub> 1.2	Quinidina
	K <sub>Ca</sub> 2.3	Tetraetilamonio	K <sub>Ca</sub> 5.1	Quinidina
Rectificación interna de los canales de K <sup>+</sup>	K <sub>ir</sub> 1.1	Tertiapina-Q	K <sub>ir</sub> 3.4	Tertiapina-Q
	K <sub>ir</sub> 2.1	Bario, Cesio	K <sub>ir</sub> 4.1	Bario, Cesio
	K <sub>ir</sub> 2.2	Bario, Cesio	K <sub>ir</sub> 4.2	Bario, Cesio
	K <sub>ir</sub> 2.3	Bario, Cesio	K <sub>ir</sub> 5.1	Bario
	K <sub>ir</sub> 2.4	Bario, Cesio	K <sub>ir</sub> 6.1	Glibenclamida,
	K <sub>ir</sub> 3.1	Bario, Tertiapina-Q	K <sub>ir</sub> 6.2	Tolbutamida
	K <sub>ir</sub> 3.2	Desipramina	K <sub>ir</sub> 7.1	Glibenclamida,
K <sub>ir</sub> 3.3	Desconocido		Tolbutamida	
Canales de K <sup>+</sup> del dominio 2P	K <sub>2P</sub> 1.1	pH<6.7 (inhibidor)	K <sub>2P</sub> 10.1	-
	K <sub>2P</sub> 2.1	Norfluoxetina	K <sub>2P</sub> 12.1	-
	K <sub>2P</sub> 3.1	(inhibidor)	K <sub>2P</sub> 13.1	Halotano (inhibidor)
	K <sub>2P</sub> 4.1	Anandamida	K <sub>2P</sub> 15.1	-
	K <sub>2P</sub> 5.1	-	K <sub>2P</sub> 16.1	-
	K <sub>2P</sub> 6.1	-	K <sub>2P</sub> 17.1	-
	K <sub>2P</sub> 7.1	-	K <sub>2P</sub> 18.1	Acido araquidónico (inhibidor)
	K <sub>2P</sub> 9.1	Anandamida, Metanandamida		
	Canales de K <sup>+</sup> activados por voltaje	K <sub>v</sub> 1.1	Tetraetilamonio, α-dendrotoxina,	K <sub>v</sub> 5.1
K <sub>v</sub> 1.2		Margatoxina	K <sub>v</sub> 6.1, K <sub>v</sub> 6.2	-
K <sub>v</sub> 1.3		Noxiustoxina,	K <sub>v</sub> 6.3, K <sub>v</sub> 6.4	-
K <sub>v</sub> 1.4		Caribdotoxina	K <sub>v</sub> 7.1	XE991, Linopirdine (inhibidores)
K <sub>v</sub> 1.5		Correolide,	K <sub>v</sub> 7.2	Tetraetilamonio
K <sub>v</sub> 1.6		Caribdotoxina	K <sub>v</sub> 7.3	Linopirdine (inhibidor)
K <sub>v</sub> 1.7		Fampridina	K <sub>v</sub> 7.4	Tetraetilamonio
		Fampridina	K <sub>v</sub> 7.5	Linopirdine (inhibidor)
K <sub>v</sub> 1.8		α-dendrotoxina,	K <sub>v</sub> 8.1, K <sub>v</sub> 8.2	-
K <sub>v</sub> 2.1		Caribdotoxina	K <sub>v</sub> 9.1, K <sub>v</sub> 9.2	-
K <sub>v</sub> 2.2		Tetraetilamonio,	K <sub>v</sub> 9.3	-
K <sub>v</sub> 3.1		Fampridina,	K <sub>v</sub> 10.1	-
K <sub>v</sub> 3.2		Caribdotoxina	K <sub>v</sub> 10.2	-
K <sub>v</sub> 3.3	Fampridina	K <sub>v</sub> 11.1	-	
		K <sub>v</sub> 11.2	Dofetilida, Ibutilida	

---

---

Kv3.4	Tetraetilamonio	Kv11.3	-
Kv4.1	Fampridina,	Kv12.1	-
Kv4.2	Tetraetilamonio	Kv12.2	-
Kv4.3	Tetraetilamonio,	Kv12.3	-
	Fampridine		
	Fampridina,		
	Tetraetilamonio		
	Tetraetilamonio		
	Toxina de		
	anemona de mar		
	BDS-I		
	Fampridina		
	Desconocido		
	Desconocido		

---

---