



UNIVERSIDAD DEL ZULIA
REVISTA CIENTÍFICA



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

MARACAIBO, ESTADO ZULIA, VENEZUELA



EL RESVERATROL REDUCE LAS CONTRACCIONES ESPONTANEAS DEL DUODENO DE CONEJO

RESVERATROL REDUCES THE SPONTANEOUS CONTRACTIONS OF RABBIT DUODENUM

*Diego Santos-Fagundes**, *Sergio Gonzalo**, *Laura Grasa** y *María Divina Murillo*

*Departamento de Farmacología y Fisiología (Fisiología). Facultad de Veterinaria.
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza (España).*

RESUMEN

El resveratrol, un polifenol natural, es conocido por su acción antioxidante, antiinflamatoria, analgésica, antiviral, cardioprotectora, neuroprotectora y antienvjecimiento. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas del duodeno de conejo (DDC). Segmentos aislados del DDC fueron suspendidos en un baño de órganos. El resveratrol (1 y 10 μM) redujo la amplitud pero no la frecuencia de las contracciones espontáneas en el músculo liso longitudinal del DDC. El Bay K8644 (activador de los canales de Ca^{2+} tipo L) antagonizó la inhibición de la amplitud de las contracciones espontáneas en el músculo liso longitudinal inducidas por el resveratrol. La apamina, la caribdotoxina, la glibenclamida y el tetraetilamonio no modificaron el efecto del resveratrol sobre el músculo duodenal. Se concluye que la disminución de las contracciones espontáneas inducidas por el resveratrol estarían mediadas por canales de Ca^{2+} .

Palabras clave: Resveratrol; duodeno; contracciones espontáneas; canales de Ca^{2+} ; conejo

ABSTRACT

Resveratrol, a natural polyphenol, is known for its antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, antiviral, cardioprotective, neuroprotective and antiageing action. The aim of this study was to investigate the effect of resveratrol on the spontaneous contractions of rabbit duodenum (RD). Isolated segments of RD were suspended in an organ bath. Resveratrol (1 and 10 μM) reduced the amplitude but not the frequency of the spontaneous contractions in the longitudinal smooth muscle of RD. Bay K8644 (L-type Ca^{2+} channel activator) antagonized the inhibition of amplitude of spontaneous contractions induced by resveratrol. Apamin, charybdotoxin, glibenclamide and tetraethylamoniun did not modify the effect of resveratrol on duodenal muscle. It was conclude that the decrease of the spontaneous contractions induced by resveratrol would be mediated by Ca^{2+} channels.

Key words: Resveratrol; duodenum; spontaneous contractions; Ca^{2+} channels; rabbit

INTRODUCCIÓN

El resveratrol (3,4',5 trihidroxiestilbeno) es una fitoalexina natural producida por algunas plantas como la vid (*Vitis vinifera*) en respuesta a una lesión. El resveratrol está presente en la dieta humana en frutas y vino. En concreto, está presente en la piel de las uvas pero no en la pulpa y, además, el vino blanco contiene muy pocas cantidades comparado con el vino tinto [6].

Desde comienzos de los años 90, el resveratrol es popular debido a su posible contribución a la "paradoja francesa", término que se refiere a la tasa relativamente baja de enfermedad cardiovascular en Francia, a pesar de la alta ingesta de grasa saturada diaria [1].

Como compuesto fenólico, el resveratrol es conocido por sus acciones antioxidantes, anti-inflamatorias, analgésicas, antivirales, cardioprotectoras, neuroprotectoras y antienvjecimiento, y ha mostrado tener efectos quimiopreventivos con respecto a varias enfermedades humanas, tales como la enfermedad cardiovascular, osteoporosis y úlceras gástricas [2].

La entrada de Ca^{2+} extracelular o la liberación de Ca^{2+} intracelular, la participación de canales de K^+ , la liberación de óxido nítrico y la adenosina cíclicamonofosfato han sido propuestos como algunos mecanismos de acción del resveratrol. El objetivo de este estudio fue examinar el efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas duodeno del conejo DDC y su mecanismo de acción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Compuestos químicos ensayados: El resveratrol (un polifenol natural), el Bay K8644 (un activador de los canales de Ca^{2+} tipo L), la apamina (un bloqueador de los canales de K^+ activados por Ca^{2+} de pequeña conductancia), la caribdotoxina (un bloqueador selectivo de los canales de K^+ activados por Ca^{2+} de media y alta conductancia), la glibenclamida (un bloqueador de los canales de K^+ sensibles al ATP), y el cloruro

de tetraetilamonio (TEA, un bloqueador no específico de canales de K^+) fueron obtenidos en Sigma-Aldrich (Madrid, España).

Animales: Se utilizaron conejos (*Oryctolagus cuniculus*) machos de la raza Neozelandesa, con un peso de 2-2,25 kilogramos (kg), que se mantenían con pienso estándar y libre acceso al agua.

Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité Ético de la Universidad de Zaragoza (España), de acuerdo a la normativa de protección animal española (RD53/2013) y la Directiva de la Unión Europea 2010/63/EU.

Preparación de los segmentos intestinales y protocolos experimentales:

Los segmentos del duodeno del conejo (DDC) eran rápidamente extraídos, lavados y disecados del mesenterio y tenían una longitud de 10 milímetros (mm). Se obtuvieron registros isométricos de la motilidad duodenal observada en un baño de órganos, como previamente se ha descrito [4]. Después de un periodo de adaptación, las contracciones espontáneas del duodeno eran registradas en solución Krebs y consideradas como control. Los segmentos duodenales eran incubados con resveratrol (1–10 micromolar (μM)) durante 90 minutos (min). Los inhibidores ensayados se añadían al baño 15 min antes de la administración del resveratrol. Cada protocolo experimental se realizó sistemáticamente en cuatro segmentos de músculo liso longitudinal y circular tomados del mismo conejo y repetidos en tres o cuatro conejos. El efecto *per se* de los inhibidores de los canales de K^+ y el Bay 8644 se ha descrito previamente [5, 10].

Análisis de los datos: La amplitud en milinewton (mN) y la frecuencia en contracciones por minuto (cpm) de las contracciones espontáneas se calcularon como se ha descrito previamente [4]. Los resultados se expresan como la media del porcentaje con respecto al control \pm error estándar medio (SEM). Las comparaciones entre medias se realizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) y los valores de P se determinaron usando el test de Scheffé F [3]. Las diferencias con valores de

TABLA I
EFECTO DE LA INCUBACIÓN DURANTE 90 MIN EN KREBS (K, CONTROL) O RESVERATROL (R, 1-10 μM) SOBRE LA AMPLITUD Y LA FRECUENCIA DE LAS CONTRACCIONES ESPONTÁNEAS DEL MÚSCULO LISO LONGITUDINAL Y CIRCULAR DE DUODENO DE CONEJO

	Músculo longitudinal		músculo circular	
	Amplitud de contracciones	Frecuencia de contracciones	Amplitud de contracciones	Frecuencia de contracciones
Krebs	93,0 \pm 5,8 (8)	96,6 \pm 3,0 (8)	95,6 \pm 4,6 (8)	97,1 \pm 4,6 (8)
R 1 μM	70,8 \pm 6,2 (8)*	110,7 \pm 3,2 (8)	88,1 \pm 17,5 (8)	91,9 \pm 14,0 (8)
R 10 μM	72,1 \pm 6,7 (11)*	103,7 \pm 1,0 (10)	88,5 \pm 15,0 (10)	101,5 \pm 13,0 (11)

Los porcentajes de amplitud y frecuencia de las contracciones espontáneas se expresan como la media \pm S.E.M. El número de segmentos de 4 conejos se indica entre paréntesis. *P<0,05 vs Krebs.

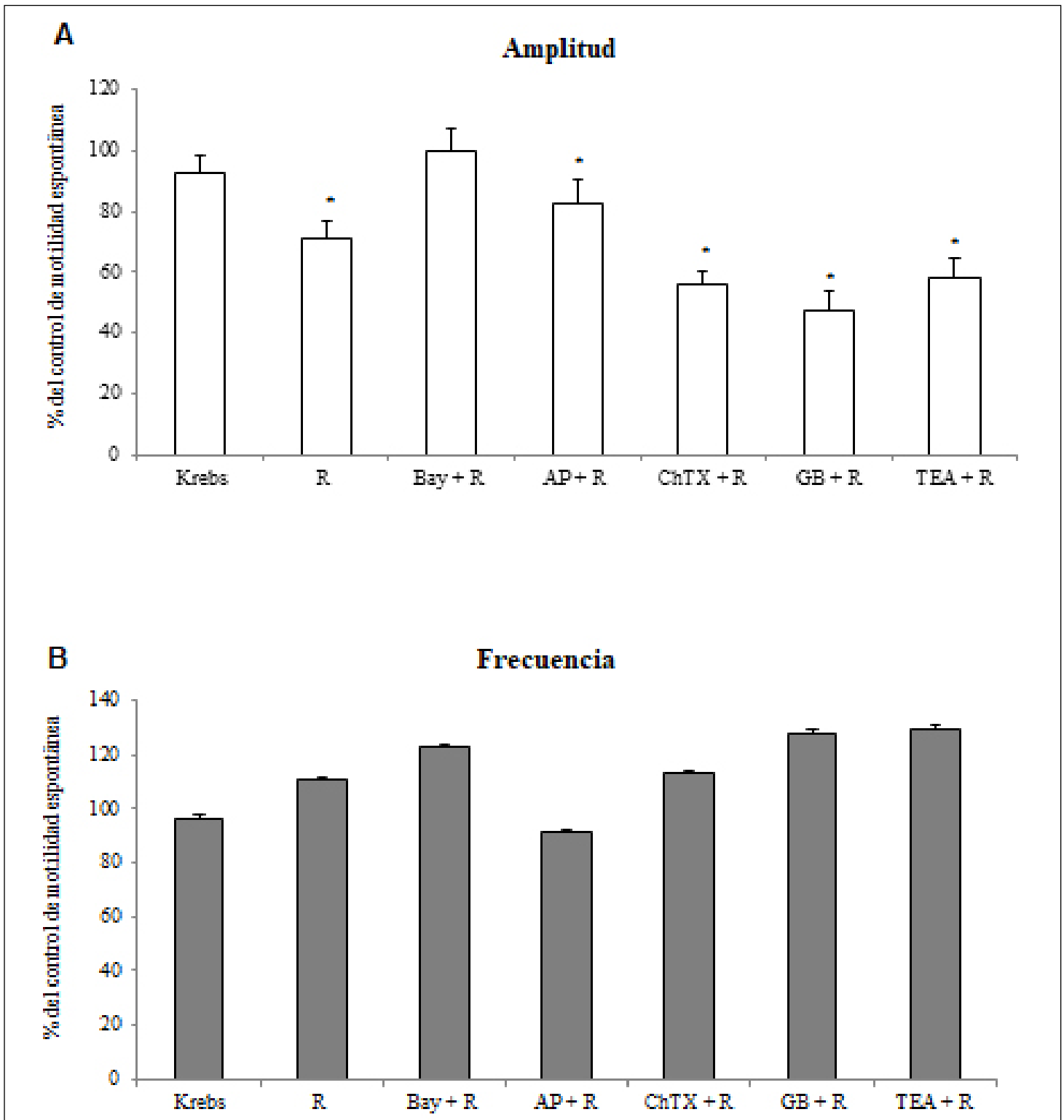


FIGURA I. EFECTO DE LA INCUBACIÓN DE 90 MIN CON KREBS (CONTROL) O RESVERATROL (R, 1 μ M), SOBRE LA AMPLITUD Y LA FRECUENCIA DE LAS CONTRACCIONES ESPONTÁNEAS DEL MÚSCULO LISO LONGITUDINAL DE DUODENO DE CONEJO. Efecto del Bay K8644 (Bay, 0,1 μ M), la apamina (AP, 1 μ M) caribdotoxina (ChTX, 0,01 μ M), glibenclamida (GB, 0,1 μ M) y tetraetilamonio (TEA, 5 mM) añadido 15 min antes del resveratrol (R, 1 μ M) sobre la amplitud y frecuencia de las contracciones espontáneas. Las columnas representan los valores medios de porcentaje en Krebs (control), y las barras verticales indican el SEM. El número de segmentos tomados de cuatro conejos. *P < 0,05 vs. Krebs.

$P < 0,05$ se consideraron como estadísticamente significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas: El resveratrol (1 y 10 μM) disminuyó la amplitud pero no la frecuencia de las contracciones espontáneas del músculo liso longitudinal del DDC (TABLA I).

El efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas no era concentración dependiente. El efecto del resveratrol (1 μM) sobre la amplitud de las contracciones espontáneas del músculo liso longitudinal de duodeno fue antagonizado por Bay K8644 (0,1 μM) (FIG. 1). Sin embargo, la apamina (1 μM), caribdotoxina (0,01 μM), glibenclamida (0,1 μM) y TEA (5 mM) no modificaron el efecto del resveratrol sobre la amplitud y la frecuencia de las contracciones espontáneas del duodeno (FIG. 1).

El músculo liso del intestino exhibe dos tipos distintos de contracciones: tónicas y fásicas rítmicas, las cuales causan movimientos de mezcla y propulsión [9]. Los segmentos longitudinales y circulares del DDC muestran contracciones espontáneas fásicas rítmicas [8]. En este estudio, el resveratrol disminuyó solamente la amplitud de las contracciones espontáneas del músculo liso longitudinal del DDC, pero no alteró la frecuencia de las contracciones espontáneas. Los resultados obtenidos están de acuerdo con otro estudio que muestra, que el resveratrol disminuye la tensión en reposo y también reduce la media de la amplitud de la contracción del músculo liso gastrointestinal [17]. Además, el grupo del trabajo ha descrito previamente como otros compuestos fenólicos como la genisteína y quercetina también inhiben la amplitud de las contracciones del músculo liso longitudinal del DDC [12]. Sin embargo, el mecanismo de acción de estos polifenoles parece ser diferente. Mientras los efectos de la genisteína son mediados por los canales de Ca^{2+} y K^+ , el efecto de la quercetina está mediado por adenosin monofosfato cíclico (AMPc) y la proteinquinasa A. Estos resultados están de acuerdo con resultados previos del grupo sobre el efecto de la melatonina y el trolox, también antioxidantes, en la contractilidad del DDC [3]. Por lo tanto, se ha observado como numerosos compuestos naturales pueden modular las contracciones espontáneas del intestino.

Se ha descrito que el resveratrol inhibe las contracciones espontáneas rítmicas y fásicas del útero aislado de Rata Wistar [11] y la actividad contráctil de músculo aislado de la vesícula biliar [16], relaja el músculo liso gastrointestinal de rata [17] y de la arteria mesentérica de rata [7] y previene las contracciones inducidas de bradiquinina en el músculo de la vejiga de la orina aislada de rata [15].

Aunque el resveratrol ha generado interés como un suplemento alimenticio adecuado y barato con beneficios potenciales para la salud en varios campos en los últimos años, se necesita más investigación adicional con el fin de establecer conclusiones

claras. Específicamente, hay muy pocos estudios acerca de los efectos del resveratrol en el sistema gastrointestinal. Recientemente, se ha visto que en pacientes con diabetes tipo 2 con dieta controlada, un suplemento de resveratrol de 500 miligramos (mg), durante 5 semanas (sem) dos veces al día (d), no tuvo efecto sobre el vaciamiento gástrico o peso corporal [13].

También, se ha descrito que el resveratrol produce relajación del fondo del estómago del cobaya, dicho efecto mediado por óxido nítrico y canales de K^+ mediados por ATP [14]. Dichos autores sugieren que el resveratrol podría ser utilizado para aliviar la dispepsias gastrointestinales. El efecto del resveratrol en el estómago de cobaya es similar al obtenido por nosotros en el duodeno de conejo.

CONCLUSIONES

En la presente investigación se concluye que el resveratrol disminuye las contracciones espontáneas duodenales y que están mediadas por canales de Ca^{2+} . El resveratrol podría utilizarse para reducir el aumento de la motilidad intestinal en los animales.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió por el Gobierno de Aragón, España (B61/2011) y el Fondo Social Europeo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] CATALGOL, B.; BATIREL, S.; TAGA, Y.; OZER, N.K. Resveratrol: French paradox revisited. **Front. Pharmacol.** 3: 141. 2012.
- [2] DOBRZYNSKA, M.M. Resveratrol as promising natural radioprotector. A review. **Rocz Panstw Zakl Hig.** 64(4): 255-62. 2013.
- [3] FAGUNDES, D.S.; GONZALO, S.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Melatonin and Trolox ameliorate duodenal LPS-induced disturbances and oxidative stress. **Dig. Liver Dis.** 42(1): 40-4. 2010.
- [4] FAGUNDES, D.S.; GONZALO, S.; GRASA, L.; CASTRO, M.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Trolox reduces the effect of ethanol on acetylcholine-induced contractions and oxidative stress in the isolated rabbit duodenum. **Rev. Esp. Enferm. Dig.** 103(8): 396-401. 2011.
- [5] FAGUNDES, D.S.; GRASA, L.; GONZALO, S.; MARTINEZ DE S.F.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Mechanism of action of Trolox on duodenal contractility. **J. Physiol. Pharmacol.** 64(6): 705-10. 2013.

- [6] FREMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life Sci.** 66(8): 663-73. 2000.
- [7] GOJKOVIC-BUKARICA, L.; NOVAKOVIC, A.; KANJUJ, V.; BUMBASIREVIC, M.; LESIC, A.; HEINLE, H. A role of ion channels in the endothelium-independent relaxation of rat mesenteric artery induced by resveratrol. **J. Pharmacol. Sci.** 108(1): 124-30. 2008.
- [8] GRASA, L.; REBOLLAR, E.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. The role of Ca²⁺ in the contractility of rabbit small intestine in vitro. **J. Physiol. Pharmacol.** 55(3): 639-50. 2004.
- [9] HANSEN, M.B. Neurohumoral control of gastrointestinal motility. **Physiol. Res.** 52(1): p. 1-30. 2003.
- [10] LAMARCA, V.; GRASA, L.; FAGUNDES, D.S.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. K⁺ channels involved in contractility of rabbit small intestine. **J. Physiol. Biochem.** 62(4): 227-36. 2006.
- [11] NOVAKOVIC, R.; ILIC, B.; BELESLIN-COKIC, B.; RADUNOVIC, N.; HEINLE, H.; SCEPANOVIC, R.; GOJKOVIC-BUKARICA, L. The effect of resveratrol on contractility of non-pregnant rat uterus: the contribution of K⁽⁺⁾ channels. **J. Physiol. Pharmacol.** 64(6): 795-805. 2013.
- [12] SANTOS-FAGUNDES, D.; GRASA, L.; GONZALO, S.; VALERO, M.S.; CASTRO, M.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Different mechanisms of actions of genistein, quercetin on spontaneous contractions of rabbit duodenum. **Rev. Esp. Enferm. Dig.** 107(7): 413-6. 2015.
- [13] THAZHATH, S.S.; WU, T.; BOUND, M.J.; CHECKLIN, H.L.; STANDFIELD, S.; JONES, K.L.; HOROWITZ, M.; RAYNER, C.K. Administration of resveratrol for 5 wk has no effect on glucagon-like peptide 1 secretion, gastric emptying, or glycemic control in type 2 diabetes: a randomized controlled trial. **Am. J. Clin. Nutr.** 103(1): 66-70. 2016.
- [14] TSAI, C.C.; TEY, S.L.; LEE, M.C.; LIU, C.W.; SU, Y.T.; HUANG, S.C. Mechanism of resveratrol-induced relaxation of the guinea pig fundus. **Phytomed.** 43: 55-59- 2018
- [15] TSUDA, Y.; NAKAHARA, T.; MORI, A.; SAKAMOTO, K.; ISHII, K. Resveratrol prevents bradykinin-induced contraction of rat urinary bladders by decreasing prostaglandin production and calcium influx. **Eur. J. Pharmacol.** 666(1-3): 189-95. 2011.
- [16] WANG, L.D.; QIU, X.Q.; TIAN, Z.F.; ZHANG, Y.F.; LI, H.F. Inhibitory effects of genistein and resveratrol on guinea pig gallbladder contractility in vitro. **World J. Gastroenterol.** 14(31): 4955-60. 2008.
- [17] ZHANG, L.X.; LI, H.F.; WANG, L.D.; JIN, S.; DOU, X.C.; TIAN, Z.F.; MA, Q. Resveratrol and genistein inhibition of rat isolated gastrointestinal contractions and related mechanisms. **World J. Gastroenterol.** 20(41): 15335-42. 2014.



REVISTA CIENTÍFICA

Vol, XXIX, N° 4

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en
Diciembre 2019, por La Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve