



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla



Instituto de Fisiología
Maestría en Ciencias Fisiológicas

“Cuantificación de corrientes repolarizantes de K^+ en ventrículo de rata
con síndrome metabólico.”

Tesis que para obtener el grado de:
Maestro en Ciencias Fisiológicas

Presenta:

LFT. Bernabé Sánchez Daniela Alexandra

Asesor:

D. en C. Julián Torres Jácome

Revisores:

D. en C. Enrique Soto Eguibar

D. en C. José Everardo Avelino Cruz

Noviembre 2019

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se realizó en el Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular del Instituto de Fisiología de la BUAP, bajo la dirección del Dr. Julián Torres Jácome y la Dra. Alondra Albarado Ibañez.

Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión esta tesis dentro del Programa IV. Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrado para lograr su incorporación al Padrón Nacional de Calidad. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2017-2021.

Así como también se agradece el apoyo de los proyectos JTJ-VIEP-BUAP y REAC-VIEP-BUAP y la beca para estudios de maestría otorgada por CONACYT (479041) a Daniela Alexandra Bernabé Sánchez.

DEDICATORIA

A mi mamá por ser mi mayor ejemplo de fortaleza y a mi papá por enseñarme que el trabajo constante es la única manera de alcanzar lo que nos proponemos. Gracias por apoyarme durante este tiempo, aunque eso haya implicado tantas ausencias.

A Claudio Bernabé, por ser ese apoyo incondicional a lo largo de mi vida. Por siempre intentar entenderme antes de juzgarme. Tú sabes que Derek y Daphne son mi mayor motivación para ser mejor profesional y persona todos los días.

A quienes marcaron un antes y un después en mi vida académica y seguramente también en la personal. Las palabras no son suficientes para expresarles mi más grande admiración, cariño y respeto:

- A la Dra. Alondra, por no rendirse con esta causa perdida que soy yo. Gracias por el aprendizaje, los regaños, las risas y la educación integral, así como por intentar que el laboratorio fuera nuestra segunda casa y cuidarnos como si fuéramos esos hijos que nunca la hacen quedar bien. Gracias por enseñarme que a pesar de las adversidades siempre vendrán tiempos mejores.
- Al Dr. Julián, por enseñarme lo bonita que es la investigación cuando se hace de la manera correcta. No pierda ese amor y pasión por la generación de conocimiento, estoy segura de que se la seguirá contagiando a cada alumno que pise el laboratorio. Me da mucho orgullo decir que soy su alumna.
- A la Dra. Rosa Elena, le agradezco la confianza y el que me haya enseñado a tolerar las rachas difíciles de experimentos pensando que la emoción de un buen resultado siempre valdrá la pena.

A mis compañeros de laboratorio, Benjamín, Geovanni, Irvin, Mauricio, Sabino y especialmente a Marissa y a Rommel. Gracias por tantas horas juntos de risas, sufrimientos y canciones. El laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular no hubiera sido un lugar tan entrañable si no lo hubiera compartido con ustedes. Nunca paren de soñar.

A Cristina, Diana, Fania, Karen, Lili, Nelly, Saúl y Teresa; mis amigos de toda la vida que a pesar de la distancia y de no entender porque esto me llena de tantas maneras, siguieron apoyándome incondicionalmente, aunque ello implicara que yo me desapareciera un tiempo de sus vidas. Gracias por nunca dejarme caer y por creer en mí de una manera que yo aún no logro hacer, ni entender.

Índice

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | 6 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 7 |
| 1.1 El corazón como bomba mecánica..... | 7 |
| 1.2 Actividad eléctrica cardíaca | 8 |
| 1.3 Acople excitación-contracción | 9 |
| 1.4 Arritmias..... | 10 |
| 1.5 Potencial de acción..... | 10 |
| 1.6 Canales iónicos..... | 11 |
| 1.7 Corrientes repolarizantes de K^+ | 12 |
| 1.8 Dispersión en la repolarización ventricular | 12 |
| 1.9 Síndrome Metabólico | 13 |
| 2. ANTECEDENTES | 16 |
| 3. JUSTIFICACIÓN..... | 17 |
| 4. HIPÓTESIS | 17 |
| 5. OBJETIVOS..... | 17 |
| 5.1 Objetivo general | 17 |
| 5.2 Objetivos particulares..... | 17 |
| 6. MATERIAL Y MÉTODOS | 18 |
| 6.1 Modelo Animal | 18 |
| 6.2 Registro de electrocardiograma..... | 18 |
| 6.3 Obtención de parámetros morfométricos y metabólicos | 19 |
| 6.4 Perfusión retrógrada en Langendorff y dispersión de miocitos ventriculares | 19 |
| 6.5 Registro electrofisiológico mediante la técnica de fijación de voltaje en su versión de célula completa | 20 |
| 6.6 Medición de capacitancia, potencial de acción y corrientes repolarizantes de K^+ en ventrículo de rata | 21 |
| 7. DIAGRAMA DE TRABAJO | 24 |

| | | |
|-------|---|----|
| 8. | RESULTADOS | 25 |
| 8.1 | Modelo animal con síndrome metabólico | 25 |
| 8.2 | Variabilidad de la frecuencia cardiaca por el síndrome metabólico..... | 26 |
| 8.3 | El síndrome metabólico provoca arritmias ventriculares | 28 |
| 8.4 | El síndrome metabólico provoca síndrome de QT largo..... | 29 |
| 8.5 | Alteraciones en la morfología de los potenciales de acción por el síndrome metabólico. | 30 |
| 8.6 | El síndrome metabólico provoca alteraciones en la densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ ... | 34 |
| 8.6.1 | Densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ en epicardio. | 35 |
| 8.6.2 | Densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ en mediomiocardio..... | 36 |
| 8.6.3 | Densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ en endocardio. | 39 |
| 8.7 | El síndrome metabólico modifica la cinética de la corriente I_{to} | 41 |
| 8.7.1 | Activación e inactivación de la corriente I_{to} en epicardio. | 41 |
| 8.7.2 | Activación e inactivación de la corriente I_{to} en mediomiocardio..... | 42 |
| 8.7.3 | Activación e inactivación de la corriente I_{to} en endocardio..... | 45 |
| 8.7 | EL SÍNDROME METABÓLICO NO MODIFICA LAS TAUS DE ACTIVACIÓN, INACTIVACIÓN Y DESACTIVACIÓN DE LA CORRIENTE I_{to} | 47 |
| 9 | DISCUSIÓN..... | 54 |
| 9.1 | Modelo animal de síndrome metabólico. | 54 |
| 9.2 | Arritmias ventriculares producidas por el síndrome metabólico..... | 54 |
| 9.3 | Síndrome de RT largo producido por el síndrome metabólico. | 55 |
| 9.4 | El síndrome metabólico aumenta la heterogeneidad en la repolarización ventricular de células aisladas. | 56 |
| 9.5 | El síndrome metabólico modifica la densidad y cinética de las corrientes repolarizantes de K^+ | 57 |
| 10 | CONCLUSIONES..... | 59 |
| 11 | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 60 |

RESUMEN

El Síndrome Metabólico (SM) se ha convertido en un problema de salud pública que afecta a la mitad de la población mexicana, siendo un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2. Aunado a este trastorno metabólico se han incrementado las arritmias ventriculares, como el alargamiento del intervalo QT, conocido como síndrome de QT largo (SQTL) este síndrome se debe a alteraciones en la morfología de los potenciales de acción de las distintas regiones ventriculares. El objetivo de este trabajo es identificar el síndrome de QT largo y correlacionarlo con cambios en la densidad de corrientes repolarizantes de K^+ que modifican la duración de la repolarización en el potencial de acción en las diferentes zonas de ambos ventrículos, así como alteraciones en la cinética de los canales, en un modelo de rata con SM. Se utilizaron ratas Wistar macho de 8 semanas de edad y con un peso entre 250-280 g, se les indujo SM agregando 20% de sacarosa en su agua de beber. Al cumplir las 8 semanas de inducción se midieron parámetros metabólicos, morfométricos, se registró el electrocardiograma (ECG) y utilizando la técnica de fijación de voltaje en su versión de célula completa en epicardio, mediomiocardio y endocardio de ventrículo de rata con síndrome metabólico y en rata control se midieron la densidad de corrientes repolarizantes de K^+ , I_{to} , I_k e I_{k1} y se analizó la cinética de la corriente I_{to} . Los animales con SM presentaron alargamiento en el intervalo RT de 9 ms comparado con el control, los cambios se relacionaron con las alteraciones en la morfología de los potenciales de acción derivados de cambios en la densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ (I_{to} , I_k e I_{k1}) en ambos ventrículos. A pesar de no presentar cambios en las constantes de tiempo de activación, inactivación y desactivación de la corriente I_{to} , se confirman desplazamientos en las curvas de activación e inactivación, por lo que el % de canales activos e inactivos se ven modificados por el síndrome metabólico.

Concluimos que a las 8 semanas de inducción del síndrome metabólico se modifican las densidades de las corrientes repolarizantes de K^+ de ambos ventrículos y que estos cambios varían dependiendo la región del corazón, es decir, del lado derecho aumentó la duración del potencial de acción y del lado izquierdo disminuyó, confirmando que la heterogeneidad de la repolarización ventricular se altera, alargando y disminuyendo la duración de los potenciales de acción en las distintas zonas ventriculares a partir de cambios en las corrientes.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El corazón como bomba mecánica

El corazón es un órgano que envía sangre a todo el organismo a través de los vasos sanguíneos. La sangre trasladada por éstos transporta entre otras cosas, nutrientes, hormonas, oxígeno y dióxido de carbono. El flujo sanguíneo también permite el funcionamiento de órganos como el riñón, además de mantener homogénea la temperatura del individuo (1).

Por su función, el corazón se divide en bomba del lado izquierdo, así como bomba del lado derecho. Cada bomba tiene 2 cavidades, una aurícula con un ventrículo.

La aurícula derecha recibe la sangre desoxigenada por las venas cava superior e inferior, pasando a través de la válvula tricúspide hacia el ventrículo derecho en donde es expulsada por la arteria pulmonar hacia los pulmones (circulación pulmonar o menor).

La aurícula izquierda recibe la sangre oxigenada a través de las venas pulmonares, esta sangre pasa a través de la válvula mitral hacia el ventrículo izquierdo en donde es expulsada por la aorta hacia todo el organismo. (circulación sistémica) (1).

Las válvulas se abren o se cierran de acuerdo con la diferencia de presión en las cavidades del corazón. Su función es impedir que la sangre regrese de ventrículo a aurículas, al verse alterada esta función disminuiría el llenado ventricular y se reduciría la eficiencia de la bomba cardiaca. Los ventrículos tienen músculos papilares y cuerdas tendinosas que impiden una apertura retrógrada cuando la presión ventricular aumenta (1).

La función del corazón como bomba en el sistema cardiovascular depende de la relación entre la actividad eléctrica y mecánica de sus células, por lo que es importante describir estas propiedades del miocardio (2).

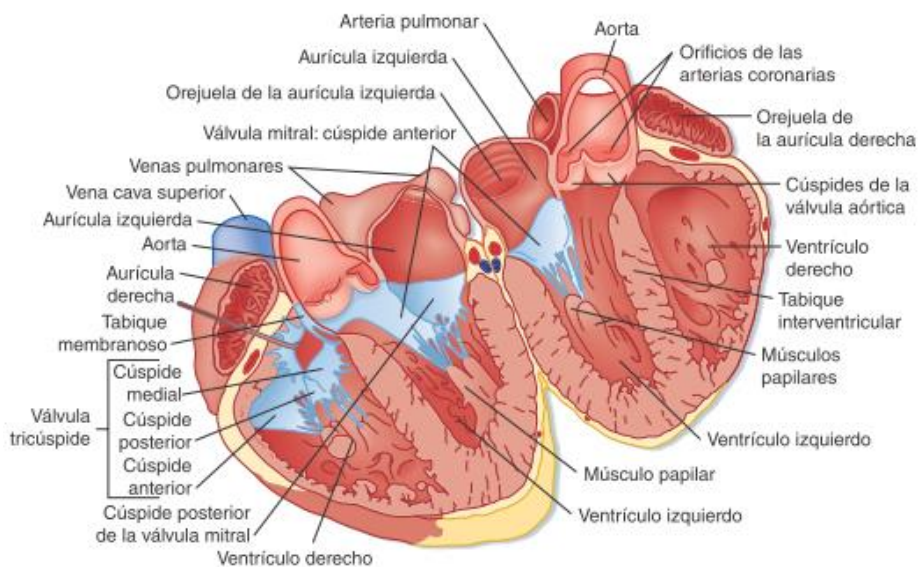


Figura 1. Corte coronal en corazón de mamífero. El corte coronal divide al corazón en cara anterior y posterior, donde se muestran las 4 cavidades con sus válvulas. (Berne y Levi, 2010)

1.2 Actividad eléctrica cardiaca

El electrocardiograma (ECG) es la representación gráfica en el tiempo de la suma espacial de la actividad eléctrica del corazón que nos permite inferir su funcionamiento, alteraciones en la propagación de esta actividad, así como determinar cuál es la región alterada. A la sincronía de la actividad eléctrica aunada a la mecánica del corazón se le conoce como acople excitación-contracción, ya que el potencial de acción (PA) provoca la actividad contráctil de células musculares cardiacas (3).

El ECG consta de ondas, segmentos e intervalos, comenzando con la onda P, que representa el inicio de la excitación y conducción del nodo sinoauricular (NSA), el comienzo de la despolarización auricular, así como la llegada de la onda al nodo auriculoventricular (NAV). Esta actividad eléctrica se propaga a través del tejido auricular provocando su contracción. El impulso eléctrico no pasa directamente de aurículas a ventrículos, sino a través del nodo auriculoventricular (NAV), donde disminuye la velocidad de propagación eléctrica. Al salir del NAV, el impulso se propaga por la rama derecha e izquierda del haz de His para después ser conducido por las fibras de Purkinje (segmento PR), sincronizando la contracción de los ventrículos que va desde el ápex hacia la base de estos. El complejo QRS representa la despolarización ventricular, mientras que la onda T la repolarización ventricular (3).

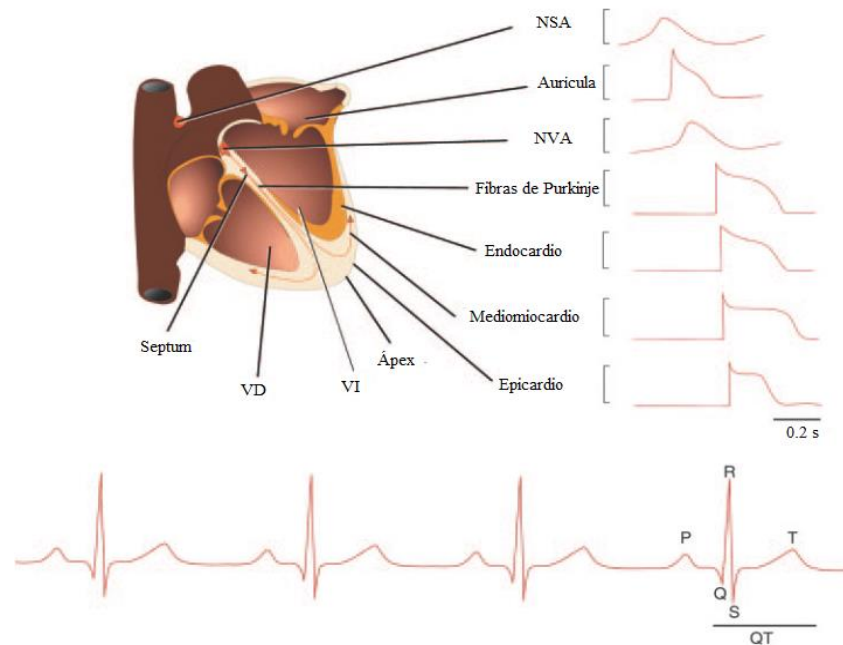


Figura 2. Actividad eléctrica característica de cada región cardiaca. La propagación de la actividad eléctrica se encuentra representada en el electrocardiograma (Modificado de Nerbonne, 2005).

1.3 Acople excitación-contracción

El acople en un cardiomiocito comienza con una onda de excitación que se extiende a lo largo del sarcolema del miocardio de una célula a otra a través de uniones comunicantes, donde la despolarización se propaga hacia los túbulos T. Durante la meseta del potencial de acción, la permeabilidad de Ca^{+2} en el sarcolema aumenta, por lo que entra a la célula a través de los canales dependientes de voltaje presentes en el mismo sarcolema, esta entrada del ion es suficiente para fomentar la liberación de Ca^{+2} del retículo sarcoplásmico. La liberación crea el complejo Ca^{+2} -calmodulina, debido a la unión de calcio con la troponina C donde también se da la interacción con la tropomiosina, esta proteína es responsable de desbloquear los sitios activos entre los filamentos de actina y miosina, lo que permite un deslizamiento entre estas dos proteínas generando un acortamiento en las miofibrillas disminuyendo la longitud de la sarcomera, lo que se conoce como contracción muscular (1).

La relajación o diástole sucede cuando la cabeza de miosina se separa de la actina utilizando ATP, así como cuando la troponina C ocupa los sitios de unión en los filamentos. Esto ocurre mediante la recaptura de Ca^{+2} en el retículo sarcoplásmico, así como su transporte al medio extracelular(1).

Ambas aurículas se contraen simultáneamente y a medida que esto sucede, la presión sanguínea en ellas aumenta, forzando a la sangre a salir hacia los ventrículos(3).

Durante la diástole, las aurículas se llenan de sangre por el retorno venoso proveniente de los tejidos a través de las venas cavas superior e inferior, esto aumenta la presión interauricular progresivamente hasta superar la presión intraventricular. Cuando la presión en el ventrículo izquierdo cae por debajo de la presión de la aurícula izquierda, la válvula mitral se abre comenzando a llenar el ventrículo izquierdo con sangre proveniente de la aurícula izquierda. De la misma forma, cuando la presión del ventrículo derecho cae por debajo de la presión de la aurícula derecha, la válvula tricúspide se abre y el ventrículo derecho se llena de la sangre que se acumulaba en la aurícula ipsilateral (3).

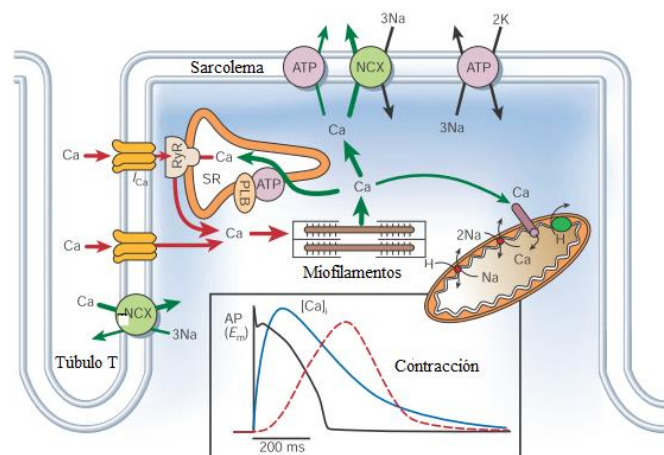


Figura 3. Transporte de Ca^{+2} en miocitos ventriculares. Este transporte se da en el acople excitación-contracción, por lo que se observa un potencial de acción y la fuerza de contracción en la gráfica (Modificado de Bers, 2002).

1.4 Arritmias

A la secuencia de eventos descritos previamente que ocurren desde el inicio del potencial de acción en el NSA y su propagación hasta la contracción ventricular, se le conoce como ritmo cardiaco.

Cualquier alteración en la generación, morfología y/o propagación de la actividad eléctrica en el corazón se le conoce como arritmias cardiacas, que serán vistas y analizadas en un ECG. Las alteraciones en la morfología del PA característico de las distintas zonas del corazón pueden producirse por cambios en las corrientes iónicas (4) o por cambios en las propiedades pasivas de la membrana (5).

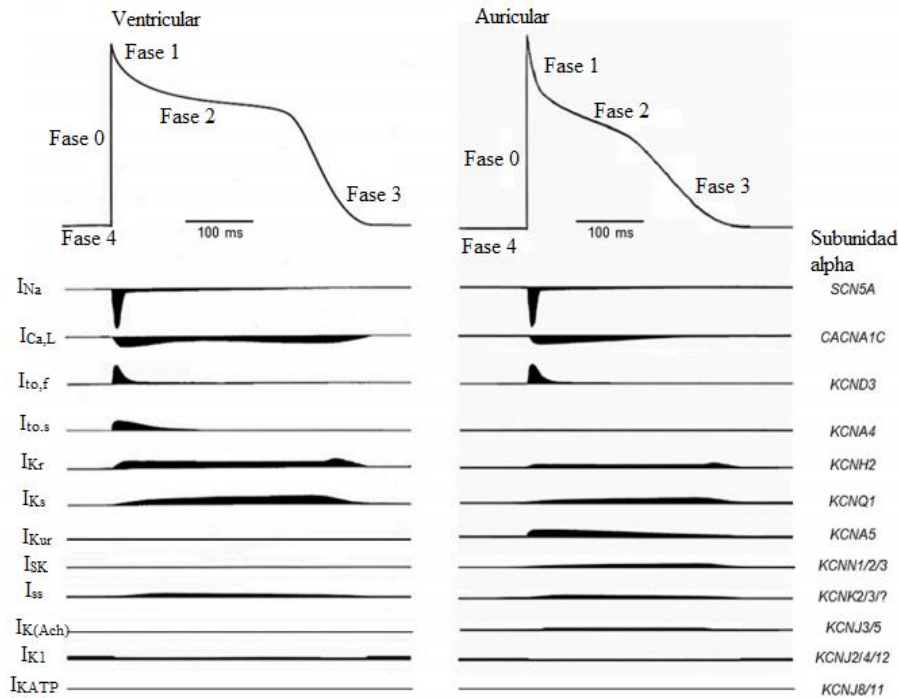


Figura 4. Potencial de acción auricular y ventricular en humano. Se ejemplifican las corrientes iónicas que participan en cada fase del potencial de acción cardiaco en ventrículos y aurículas de humanos. (Modificado de Nerbonne, 2005)

1.5 Potencial de acción

El análisis del potencial de acción ha sido posible gracias a experimentos con la técnica de microelectrodos convencionales y de patch clamp (6).

Para su estudio, el potencial de acción en corazón de mamífero consta de las fases 0 o despolarización, 1 o repolarización temprana, 2 o meseta, 3 o repolarización tardía y 4 o reposo, las cuales se caracterizan por la activación de distintas corrientes asociadas a canales iónicos.

La fase 4 o de reposo en el PA ocurre cuando el potencial de membrana de la célula es similar al potencial de equilibrio de los iones de K^+ (ya que en estas condiciones la permeabilidad de la membrana es principalmente hacia este ion).

En la medida que el potencial de membrana se aproxima al umbral (-60 mV) se abren los canales de Na^+ permitiendo el paso de este ion al interior de la membrana generando la despolarización de la célula (fase 0 o despolarización) (2), seguido de la fase 1 o de repolarización temprana por la salida de corriente de K^+ (I_{to}), después se activa la corriente de entrada de calcio (I_{Ca}) provocando la fase 2 o de meseta (7), mientras que la fase 3 o de repolarización tardía en el potencial de acción es ocasionada por las diferentes corrientes de K^+ . Ver figura 4.

1.6 Canales iónicos

Los canales iónicos son proteínas que forman poros en la membrana celular, dependiendo del tipo de canal, puede ser activado por factores como: neurotransmisores u hormonas nombrados canales dependientes de ligando, estímulos mecánicos llamados canales mecano-sensibles, estímulos eléctricos que reciben el nombre de canales dependientes de voltaje.

Los canales dependientes de voltaje se activan con un cambio en el potencial eléctrico de la membrana, lo que permite un flujo entrante o saliente de iones en la célula.

Este flujo se da cuando el poro del canal se encuentra en estado abierto, sin embargo, el canal puede cambiar de conformación y producir una transición a otro estado, como cerrado o inactivo. El paso de un estado a otro en el canal y la velocidad con la que se da el cambio de estado, es llamado cinética del canal (8).

Los procesos en los que puede presentarse un canal iónico son los siguientes:

- **Activación:** Proceso en el cual el canal pasa de un estado en el que no hay flujo de iones (cerrado) a un estado en el que sí hay flujo de iones (abierto).
- **Inactivación:** Proceso en el cual el canal pasa del estado abierto a un estado de no conducción, el canal puede encontrarse abierto, pero una parte de la proteína que lo conforma se mueve y se localiza en la salida del poro impidiendo el flujo de iones a través de él. Existen 2 mecanismos, uno es por el mecanismo de la bola y la cadena donde una parte de la proteína impide el flujo de iones y el otro es el mecanismo es el tipo C, donde involucra cambios conformacionales del canal a nivel intra y extracelular(9).
- **Recuperación de la inactivación:** Proceso en el cual el canal pasa del estado inactivo al abierto. Para ello, la proteína que impedía el paso de iones a través del poro se mueve para permitir el flujo.
- **Desactivación:** Proceso en el cual el canal pasa de un estado en el que sí hay flujo de iones (abierto) a un estado en el que no hay flujo de iones (cerrado) debido al cierre del poro (8).

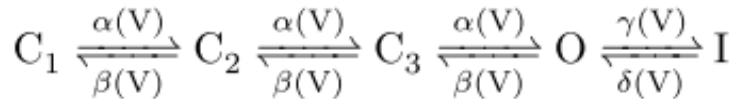


Figura 5. Esquema de la transición de los canales iónicos en los diferentes estados posibles, donde C representa el estado cerrado, O representa el estado abierto e I representa el estado inactivo (Martagón, 2019).

1.7 Corrientes repolarizantes de K⁺

Existen canales de potasio cardiacos, tanto dependientes de voltaje (K_v) como no dependientes de voltaje (K_{IR}) (10).

En los miocitos cardiacos de humanos se distinguen diversos tipos de corrientes de K⁺ dependientes de voltaje:

1. Corrientes transitorias de salida (I_{to}): activadora de la repolarización rápida (fase 1) y se subdivide en:
 - 1.1 I_{to, f} (rápida) tiene rápida recuperación de la inactivación. Es una corriente repolarizante en miocitos ventriculares y auriculares de especies como gato, perro, cobayo, humano, ratón, conejo y rata. Su correlato molecular es KCND3 (2).
 - 1.2 I_{to, s} (lenta) tiene una recuperación lenta de la inactivación. Con correlato molecular KCNA4 presente en miocitos ventriculares de humano, ratón y rata (2).
2. Corriente rectificadora de salida (I_k) determina la última fase de repolarización (fase 3), antes del potencial de membrana en reposo. En cardiomiocitos hay presencia de I_{KUR} (ultra rápida) con correlato molecular KCNA5 presente en aurícula de perro y humano, la cual activa e inactiva rápidamente y muestra rectificación entrante e I
3. (lenta) con correlato molecular KCNQ1 presente en ventrículo de ratón, que activa lentamente y es rectificadora saliente (2).

Los cambios en las densidades, distribución y propiedades de los canales K_v y K_{IR} se manifiestan con enfermedades cardiacas que alteran la duración de la repolarización en el potencial de acción, disminuyendo la velocidad de propagación, lo que modifica el ritmo cardiaco generando arritmias como síndrome de QT largo que se relacionan con la despolarización y repolarización de los ventrículos (11).

1.8 Dispersión en la repolarización ventricular

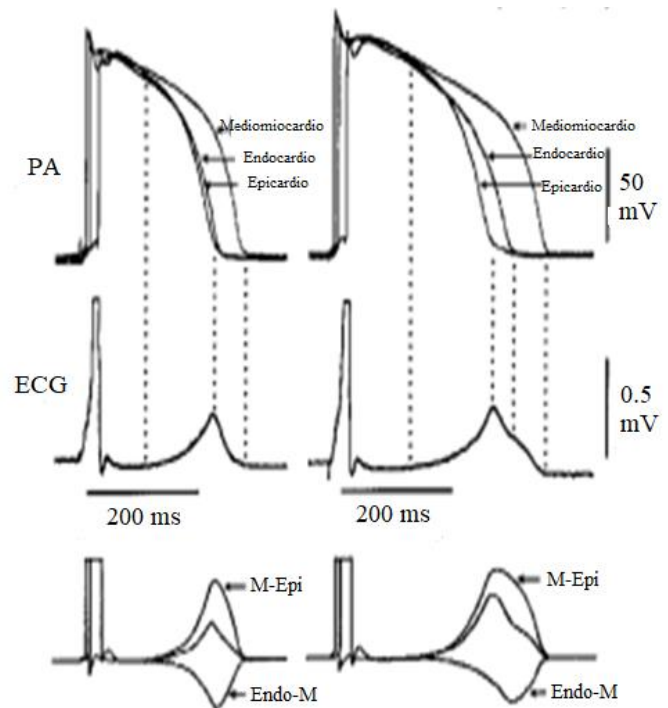
Para el estudio electrofisiológico del miocardio ventricular en mamíferos se han descrito 3 diferentes tipos de células cardiacas: células epicárdicas, de mediomiocardio (células “M”) y endocárdicas, las cuales presentan distintas características de acuerdo con las especies en que se han investigado (12).

La principal característica de las células “M” es que su potencial de acción tiene mayor duración que las del endocardio y epicardio(13), siendo determinantes en la duración de la onda T del electrocardiograma, por lo que se plantean como factores predisponentes a la generación de arritmias (14).

Los potenciales de acción de células “M” y epicárdicas muestran una prominente corriente transitoria de salida (I_{to}) que regula la fase 1, la cual está casi ausente en las células endocárdicas. El final de la repolarización del epicardio coincide con el pico de amplitud de la onda T y el final de la repolarización de la región M coincide con el final de la misma onda (15).

Se ha reportado heterogeneidad en la repolarización de las 3 distintas células ventriculares y que algún cambio en esta heterogeneidad producirá alteraciones en la morfología del potencial de acción (16). Antzelevitch en 2001 también demostró que cuando las 3 regiones tienen el mismo valor de voltaje al inicio de su repolarización se genera una línea isoeletrica en el intervalo QT del ECG (15).

Figura 6. Potenciales de acción de miocitos ventriculares. La heterogeneidad de la repolarización en ventrículo canino se relaciona con el intervalo QT del electrocardiograma mostrando del lado derecho de la imagen aumento en la duración de la repolarización de los 3 tejidos ventriculares, provocando incremento en la amplitud y duración de la onda T. (Modificado de Antzelevitch, 1998)



Han sido reportados cambios tanto en la actividad eléctrica como mecánica debido a patologías de tipo metabólico, como lo es el síndrome metabólico o diabetes mellitus tipo 1 (17) (18) (19).

1.9 Síndrome Metabólico

El síndrome metabólico (SM), llamado Síndrome X en sus inicios, fue reportado en el siglo anterior debido al descubrimiento de la coexistencia clínica de dos de sus componentes: la hipertensión y la hiperglicemia (20).

Este síndrome está definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un conjunto de factores de riesgo que aumenta la probabilidad de tener diabetes y enfermedades cardiovasculares, las cuales son la principal causa tanto de morbilidad como de mortalidad a nivel mundial (21).

Para poder realizar un diagnóstico del síndrome metabólico se utilizan la revisión del US National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) del año 2004 y la definición de la International Diabetes Federation (IDF) del año 2006. La IDF y NCEP ATP III manifiestan diferentes parámetros para realizar el diagnóstico de síndrome metabólico; la IDF requiere la presencia de obesidad central (circunferencia de cintura aumentada) más dos factores de riesgo para que se establezca el diagnóstico, mientras que en lo propuesto por ATP III no es indispensable la presencia de obesidad central, ya que manifestando 3 de los siguientes factores de riesgo puede ser diagnosticado.

Tabla 1. Criterios clínicos para el diagnóstico de síndrome metabólico.

| Factores de riesgo | IDF | NCEP ATP III |
|--|---|---|
| Hipertensión | <ul style="list-style-type: none"> • Presión sistólica mayor o igual a 130 mm Hg. • Presión diastólica mayor o igual a 85 mm Hg. • Actualmente con medicación. | <ul style="list-style-type: none"> • Presión sistólica mayor o igual a 130 mm Hg. • Presión diastólica mayor o igual a 85 mm Hg. • Actualmente con medicación. |
| Dislipidemias 1.- Triglicéridos elevados 2.- HDL-C disminuida | 1.- Mayor o igual a 150 (1.7 mMol/L). 2.- Menor a 40 mg/dl en hombres y menor a 50 mg/ dl en mujeres o actualmente en medicación. | 1.- Mayor o igual a 150 (1.7 mMol/L). 2.- Menor a 40 mg/dl en hombres y menor a 50 mg/ dl en mujeres o actualmente en medicación. |
| Hiperglicemia | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor o igual a 100 mg/dl. • Previo diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2. | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor o igual a 100 mg/dl. • Actualmente con medicación. |
| Circunferencia de cintura aumentada | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor a 90 cm en hombres y 80 cm en mujeres (puede variar por zona geográfica). • IMC mayor a 30. | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor a 90 cm en hombres y 80 cm en mujeres (puede variar por zona geográfica). |

*Datos obtenidos de la IDF (2006) y la NCEP ATP III (2004)

La prevalencia del SM a nivel mundial en la población adulta es de aproximadamente 25%, así como de 49.8% en la población mexicana. Los criterios clínicos para definir al síndrome metabólico conllevan al aumento de la incidencia y prevalencia de enfermedades cardiovasculares (22).

La acumulación excesiva de grasa visceral debido a la obesidad provoca un aumento en la producción de factores proinflamatorios (TNF α y β , 1L-6, 1L-8, leptina y angiotensina II) favoreciendo procesos de inflamación en las células (20). Esta inflamación celular inhibe vías de señalización, como la de la enzima PI3-k encargada de activar receptores de insulina, la inhibición en esta vía de señalización es el principal mecanismo para desarrollar resistencia a la insulina. A su vez, los almacenes de glucosa y triglicéridos se ven afectados ante las alteraciones de la acción de la insulina generando hiperglicemia y dislipidemias (23).

Los criterios clínicos del SM son considerados factores de predisposición para desarrollar fibrilaciones atriales, arritmias ventriculares y supra ventriculares; debidas a cambios en la actividad eléctrica (24) (25).

Para el estudio de los efectos del síndrome metabólico en el corazón, se ha realizado investigación tanto en humanos como en roedores.

En humanos se han reportado disminución en el volumen de eyección y aumento en el intervalo QT sugiriendo la existencia de cambios en la contracción y actividad eléctrica del miocardio ventricular asociados al síndrome metabólico (26).

En trabajos experimentales se utilizan mamíferos de pequeñas especies, ya que cuentan con características similares al corazón humano y con un cuadro clínico parecido ante las alteraciones metabólicas.

En ratas se ha reportado que una dieta rica en grasas y la ingesta del 10-30% de sacarosa en el agua de beber induce resistencia a la insulina (27), mientras que las ratas con un reporte de dieta con alto contenido de carbohidratos y alto contenido de grasas durante 15 semanas empiezan a presentar características del síndrome metabólico como aumento del peso corporal y del contenido de grasa abdominal, hiperglicemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, dislipidemia, así como los marcadores de deterioro de la función del sistema cardiovascular.

Está evidenciado que se puede inducir SM a los animales cambiando su alimentación. Larqué y cols., en el año 2011 indujeron el síndrome a un modelo animal de ratas Wistar, durante 8 semanas colocando 20% de sacarosa en el agua que bebían, después de iniciada la inducción las ratas empezaron a presentar circunferencia abdominal aumentada, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, aumento de presión arterial y resistencia a la insulina (27).

Estos modelos animales dan pauta para estudiar el síndrome metabólico en etapas agudas (8 semanas) con un alto consumo de carbohidratos, asemejándolo a la ingesta diaria de refresco hecha por un humano.

2. ANTECEDENTES

En el caso de la remodelación cardíaca y la arritmogénesis, los modelos animales, particularmente de los roedores han proporcionado información sobre los mecanismos involucrados en alteraciones fisiopatológicas del corazón (28).

Albarado Ibáñez y cols. en 2013 concluyeron que el síndrome metabólico modifica la actividad del NSA debido a cambios en la inervación del sistema simpático, provocando la remodelación eléctrica de las corrientes iónicas, lo que predispone al corazón a sufrir arritmias (19).

En 2012, Eliud Vázquez estudió la morfología del potencial de acción y la fuerza de contracción de papilares de rata con 2 meses de SM, encontrando modificaciones en la duración de la repolarización en tejido ventricular hipotetizando que la posible causa era un cambio en la densidad y cinética de las corrientes repolarizantes de K^+ , dato que no pudo concluirse, ya que sólo se obtuvieron registros multicelulares, con éstos no podían precisar qué tipo de corrientes se ven afectadas debido al síndrome metabólico. Los cambios observados variaron entre el lado derecho e izquierdo, por lo que podemos inferir que sus características estructurales y eléctricas variarán.

En 2018, Brian Ortiz demostró que el síndrome metabólico produce cambios en el acople excitación-contracción de ambos ventrículos en periodos crónicos (6 meses). Así como también, reportó dos tipos de SM de acuerdo con valores morfométricos y metabólicos, observando que el síndrome metabólico puede presentarse en animales con o sin sobrepeso, estos últimos presentan mayor cantidad de grasa visceral, dislipidemia e hiperglicemia comparados con los animales control, así como en los animales que sí presentan aumento en su peso. En ambos casos, se remodeló la actividad eléctrica y mecánica del endocardio ventricular derecho e izquierdo.

3. JUSTIFICACIÓN

El síndrome metabólico se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial aumentando los factores de riesgo para desarrollar diabetes mellitus tipo 2 o enfermedades cardiovasculares. En los últimos años, han aumentado los reportes que relacionan la obesidad y el SM con alteraciones en la morfología del potencial de acción, modificando el ritmo cardiaco que conlleva a la presencia de arritmias ventriculares, las cuales pueden llegar a ser mortales.

La gran mayoría de pacientes con enfermedades metabólicas y/o cardiovasculares son pacientes en plena edad laboral por lo que no sólo afectan de forma directa al individuo, sino a todo su entorno familiar, social y laboral, constituyendo un elevado costo social que va entre los 82 y 98 mil millones de pesos que equivalen a 73% y 87% del gasto programable en salud para el año 2012 (Secretaría de Salud en México, 2012).

La Secretaría de Salud en México señala a las enfermedades del aparato cardiovascular como la principal causa de muerte global en la población mexicana, siendo la enfermedad isquémica del corazón la principal responsable de las muertes de origen cardiaco. Asimismo, el gasto destinado para su diagnóstico/tratamiento impacta de forma trascendental a los sistemas de salud pública y privada.

4. HIPÓTESIS

El síndrome metabólico con 2 meses de inducción produce cambios en las corrientes repolarizantes de K^+ del ventrículo de rata.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- Cuantificar los cambios que produce el síndrome metabólico en las corrientes repolarizantes de K^+ en ventrículos de rata.

5.2 Objetivos particulares

1. Medir la densidad de corrientes repolarizantes de K^+ , I_{to} , I_k e I_{k1} , mediante la técnica de fijación de voltaje en su versión de célula completa en epicardio, mediomiocardio y endocardio de ventrículo de rata con síndrome metabólico y en rata control.
2. Analizar la cinética de los canales de K^+ en ventrículo de rata con síndrome metabólico y compararla con la cinética de las ratas controles.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Modelo Animal

El modelo que se utilizó para el desarrollo de este proyecto fue facilitado por el Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, así como en el Bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se utilizaron ratas Wistar macho de 2 meses de edad con un rango de peso entre 250-280 g., con un ciclo de luz-obscuridad 12:12, las cuales fueron cuidadas durante todo el tiempo de inducción por nuestro laboratorio en las instalaciones del Bioterio “Claude Bernard” en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ambos bioterios cumplen con las características establecidas por la Norma Oficial Mexicana NOM 062-ZOO-1999.

Es importante mencionar que la cepa de ratas Wistar no tiene predisposición a desarrollar obesidad, hipertensión o alguna alteración genética que pueda alterar su metabolismo (27). Los animales fueron divididos en dos grupos, al grupo control se le dio agua para beber libremente y al grupo al que se le indujo síndrome metabólico se le dio una solución de agua con sacarosa al 20% durante 8 semanas, ambos grupos tuvieron libre acceso a pellets Labdiet 5010.

6.2 Registro de electrocardiograma

Cumplido el tiempo de inducción (8 semanas), los animales fueron previamente anestesiados para hacer el registro de electrocardiograma, después ser sacrificados. La anestesia se realizó con pentobarbital sódico administrado por vía intraperitoneal con una dosis de 0.70 mg por cada kg de peso del animal, con una dosis de 0.02 mg de heparina de 5000 UI por cada 100 g de peso de la rata.

Se colocó a la rata en decúbito prono para proseguir con la colocación de los electrodos, los polos positivo y negativo se ubicaron en pliegues de las patas superiores y la tierra en el pliegue de la pata inferior izquierda, esta ubicación corresponde a la derivación I. El registro del electrocardiograma se realizó durante 15 minutos utilizando un electrocardiógrafo elaborado en el Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular de la BUAP, la señal fue visualizada con un osciloscopio y el programa ADQ Sign® a una frecuencia de captura de 10,000 Hz con una amplificación de 700x y un filtro de 60 Hz.

El análisis del registro se realizó midiendo los intervalos RR y QT de 100 eventos tomados al azar de cada uno de los registros utilizando los programas Clampfit 10.2® y Origin Pro9.1®. Además, se calculó el intervalo QT corregido (QTc) utilizando la fórmula modificada de Bazett (29).

$$QTc = \frac{QT}{\sqrt{\frac{RR}{100}}}$$

Para analizar la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC) se construyó un diagrama de Poincaré del intervalo RR y QT del electrocardiograma. Se calcularon valores para SD1, SD2 y su cociente, es decir, el índice SD1/SD2(19).

6.3 Obtención de parámetros morfométricos y metabólicos

Se registró de manera semanal el peso corporal de los grupos control y síndrome metabólico, una semana antes de cumplir los 2 meses de inducción se realizó una curva de tolerancia a la glucosa administrando vía intraperitoneal una solución de glucosa 3 M a una dosis de 2 g/kg de peso tras un ayuno previo de 4 horas (30).

Durante la prueba se tomaron muestras de sangre en la punta de la cola de los animales a los minutos 0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos con un glucómetro Accu-Check performa® de la marca Roche realizando una incisión con una aguja estéril para insulina.

Antes de realizar el sacrificio se midió la longitud nasofaríngea-ano y el perímetro abdominal tomando como referencia la cresta iliaca de la rata con una cinta métrica graduada en centímetros (31), posteriormente se extrajo una muestra sanguínea de la vena cava inferior para medir la concentración de glucosa y después centrifugarla para poder analizar el suero plasmático y obtener los niveles séricos de triglicéridos, colesterol, insulina y c-HDL, esta cuantificación fue realizada por los laboratorios SERVALAB® en Cholula, Puebla. Después del sacrificio también se extrajeron y pesaron las grasas epididimal y peripancreática.

6.4 Perfusión retrógrada en Langendorff y dispersión de miocitos ventriculares

Se extrajo el corazón realizando una toracotomía bilateral, para después canular el corazón mediante la arteria aorta al sistema de perfusión retrógrada Langendorff, el corazón fue perfundido con solución Tyrode para dispersión de miocitos, la cual se compone de los siguientes solutos (mM): 125 NaCl, 5.4 KCl, 1.05 MgCl₂*6H₂O, 24 NaHCO₃, 0.42 Na₂HPO₄*2H₂O, 11 D (+) Glucosa monohidratada y 1.8 CaCl₂*2H₂O. La solución fue burbujeada con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂) para mantener el pH en 7.4 y la temperatura de registro a 36.5 °C.

Se realizó otro registro de ECG en Langendorff por 15 minutos para observar la actividad que pueda presentar el corazón cuando ya no cuenta con la modulación del Sistema Nervioso Autónomo.

Para realizar el registro de corrientes se dispersaron miocitos ventriculares, se perfundió el corazón con solución Tyrode durante 5 minutos, después se continuó con solución Tyrode 0 Ca⁺² para seguir perfundiendo al corazón por un período de 9 minutos, prosiguiendo con un lavado enzimático comenzando con 8 minutos de colagenasa y Tyrode 0 Ca⁺², seguido de 5 minutos de proteasa, por último, las enzimas fueron lavadas perfundiendo el corazón con solución KB durante 5 minutos. Todo el procedimiento se realizó con burbujeo continuo de carbógeno y a una temperatura de 36°C(32).

Se realizó la disección de los ventrículos, donde se extrajo el epicardio, haciendo la disección del tejido más superficial, se utilizó el mediomiocardio con los tejidos de septum y las paredes libres de ambos ventrículos, así como la región de endocardio con los papilares del lado derecho e izquierdo. Los tejidos se colocaron en solución KB y se agitaron con pipetas Pasteur para obtener las células aisladas y almacenarlas a 4°C antes de iniciar el registro de las corrientes iónicas.

6.5 Registro electrofisiológico mediante la técnica de fijación de voltaje en su versión de célula completa

Se colocaron células cardíacas de ventrículo sobre la cámara de perfusión que se encuentra colocada en el microscopio invertido, el cual está conectado a un regulador de temperatura y al doble patch clamp EPC 10 HEKA®, los cuales almacenan datos en una computadora de escritorio que cuenta con el programa Patch Master®.

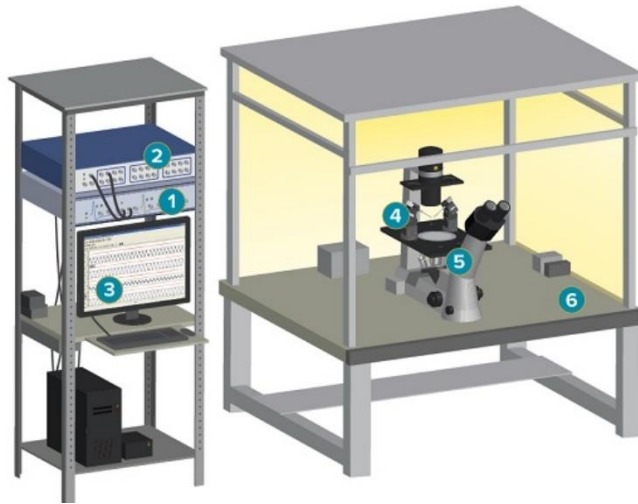


Figura 7. Esquema del set de patch-clamp. Los componentes del set son: 1 y 2) Doble patch clamp EPC 10 HEKA y regulador de temperatura, 3) computadora de escritorio, 4) cámara de perfusión y microelectrodos, 5) microscopio invertido y 6) mesa anti vibratoria (Molecular devices, 2014).

Para realizar el registro se utilizaron micropipetas de borosilicato de vidrio que en su interior contenían solución interna con los siguientes solutos (mM): 80 ácido aspártico, 5 KH_2PO_4 , 1 MgSO_4 , 3 ATP Free, 40 KCl, 10 Hepes Free, 10 EGTA, 0.2 GTP y 5 fosfocreatina.

Para el registro de los potenciales de acción, se utilizó la solución externa normal que contiene los siguientes solutos (mM): 136 NaCl_2 , 4 KCl, 2 MgCl_2 , 11 D (+) glucosa monohidratada, 10 HEPES y 1.8 CaCl_2 ajustado en pH a 7.4 con NaOH. La solución necesaria para el registro de corrientes de K^+ contiene Calcio (0.1 mM) y Cobalto (0.5mM), para bloquear la corriente de Ca^{+2} .

La configuración de célula completa se obtiene bajando la punta de la pipeta sobre la célula de interés utilizando un micromanipulador, seguido de la aplicación de una pequeña cantidad de presión negativa en el interior de la pipeta de registro para crear un gigasello (33).

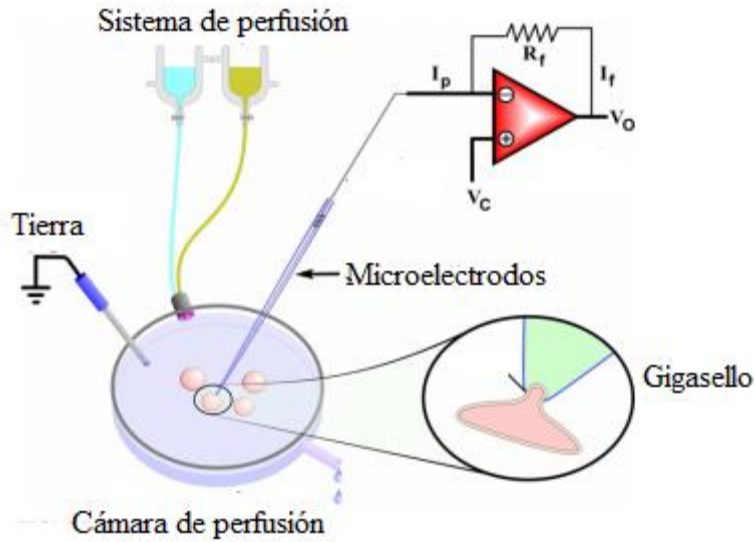


Figura 8. Cámara de perfusión de un set de patch clamp. Se aplica una presión negativa para crear un sello con valores en gigaOhms. (Mansor, 2015)

6.6 Medición de capacitancia, potencial de acción y corrientes repolarizantes de K^+ en ventrículo de rata

- Para medir la capacitancia de las células se aplicó un pulso de -10 mV con una duración de 100 ms, se integró la corriente generada en ese pulso observada como caída y subida exponencial y después se dividió entre 10 mV.
- Para el registro del potencial de acción en miocitos ventriculares, se usó la técnica de fijación de corriente, aplicando un pulso de corriente constante con una duración de 10 ms. Se tomarán 3 registros del PA de una célula después de haberla estimulado, se obtendrá el promedio de los siguientes parámetros: potencial de reposo, amplitud del PA y duración al 10% , 30% y 90% de la repolarización.
- **Corriente de K^+ rectificadora de entrada I_{K1} :** Para este registro, se perfundieron las células con solución externa Ca^{+2} -Co para eliminar la corriente de Ca^{+2} y se aplicó el protocolo a partir de un potencial de mantenimiento de -40 mV, aplicando pulsos de prueba desde -120 mV hasta -30 mV cada 10 mV con una duración de 500 ms. La densidad de la corriente se determinó midiendo la corriente en el estado estable de cada voltaje, estos datos se normalizaron entre la capacitancia de la célula y posteriormente se elaboró la curva corriente (pA/pF) vs voltaje (mV).
- **Corriente rectificadora de salida I_k :** Para este registro, se perfundieron las células con solución externa Ca^{+2} -Co y se aplicó el protocolo a partir de un potencial de mantenimiento de -80 mV, aplicando un pulso de -40 mV durante 20 ms para inactivar la corriente de Na^+ y después se aplicaron pulsos de prueba desde -40 mV hasta 50 mV cada 10 mV con una duración de 3000 ms. La densidad de la corriente se determinó midiendo el valor máximo de la corriente y restándole el valor mínimo en cada voltaje, estos datos se normalizaron

entre la capacitancia de la célula y posteriormente se elaboró la curva corriente (pA/pF) vs voltaje (mV).

- **Corriente transitoria de salida I_{to} :** Para este registro, se perfundieron las células con solución externa Ca^{+2} -Co y se aplicó el protocolo a partir de un potencial de mantenimiento de -80 mV, aplicando un pulso de -40 mV durante 20 ms para inactivar la corriente de Na^+ , después se aplicaron pulsos de prueba desde -30 mV hasta 60 mV cada 10 mV con una duración de 500 ms. La densidad de la corriente se determina midiendo el valor máximo de la corriente y restándole el valor mínimo en cada voltaje, estos datos se normalizaron entre la capacitancia de la célula y posteriormente se elaboró la curva corriente (pA/pF) vs voltaje (mV).

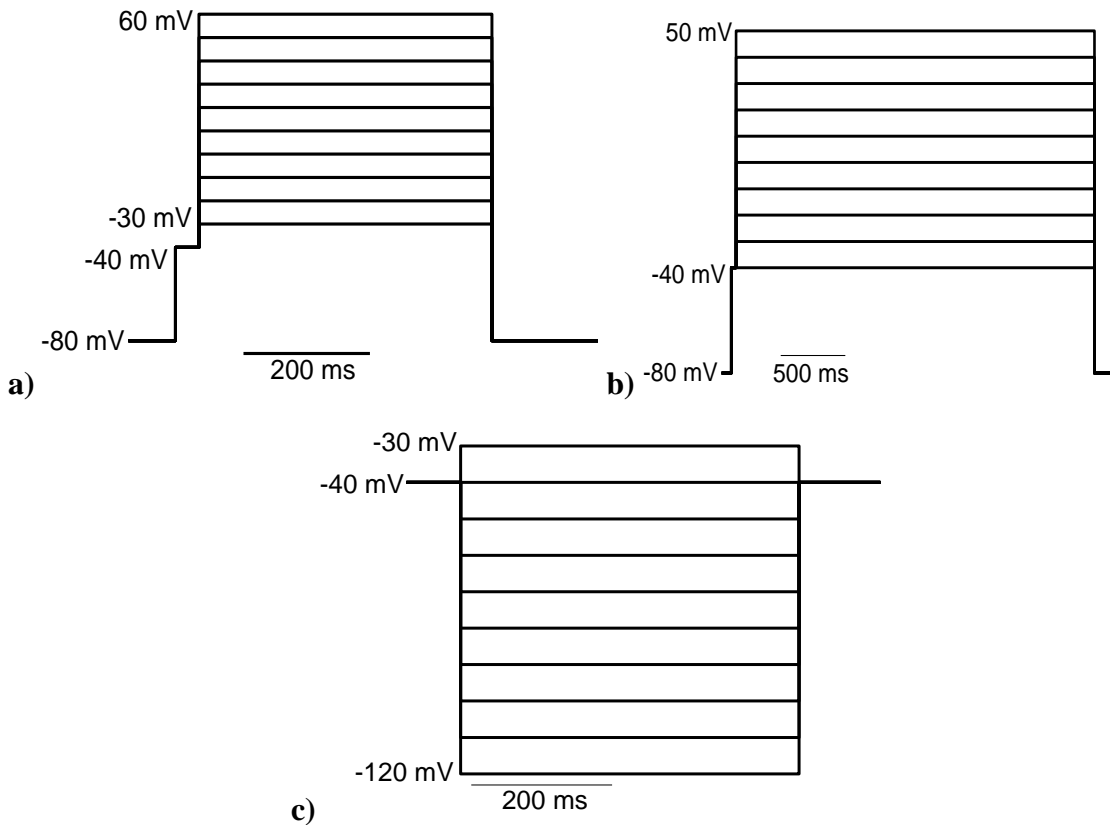


Figura 9. Protocolos de registro para la técnica de fijación de voltaje en la versión de célula completa. a) Protocolo de registro para la corriente I_{to} . b) Protocolo de registro para la corriente I_k . c) Protocolo de registro para la corriente I_{k1} .

También se realizaron curvas de activación e inactivación en estado estable para conocer la disponibilidad de canales para la corriente transitoria de salida I_{to} . La curva de activación se elaboró a partir de los datos obtenidos previamente para la densidad de corriente y con la ecuación de conductancia:

$$g = \frac{I}{V - V_{eq}}$$

Posteriormente a esos datos se les realizó un ajuste de distribución de Boltzmann(34):

$$y = \frac{(A1 - A2)}{(1 + \exp(\frac{x - x0}{dx}))} + A2$$

Para la curva de inactivación en estado estable se realizó un protocolo de dos pulsos, uno condicionante de -80 mV hasta 50 mV cada 10 mV con una duración de 500 ms y un segundo pulso a 50 mV con duración de 500 ms (correspondiente a la corriente de cola). Se midió el pico máximo en la corriente de cola menos su valor mínimo en cada trazo de la corriente (como lo explicado previamente para la densidad de corriente) y los datos se ajustaron a una función de distribución de Boltzmann, anteriormente mostrada.

Ambos protocolos nos arrojan datos como V_m (voltaje medio), que indica el voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos en el caso de la activación y en el caso de la inactivación en estado estable expresa el voltaje al cual el 50% de los canales están disponibles para ser activados. También obtuvimos el valor de la pendiente que expresa el rango de voltaje al cual se da el proceso del cambio de estado (factor pendiente).

Para conocer las constantes de tiempo para el paso de un estado a otro en los canales I_{to} se calcularon las taus de activación e inactivación ajustando cada uno de los pulsos de corriente generados en los distintos voltajes con una ecuación de un producto de exponenciales.

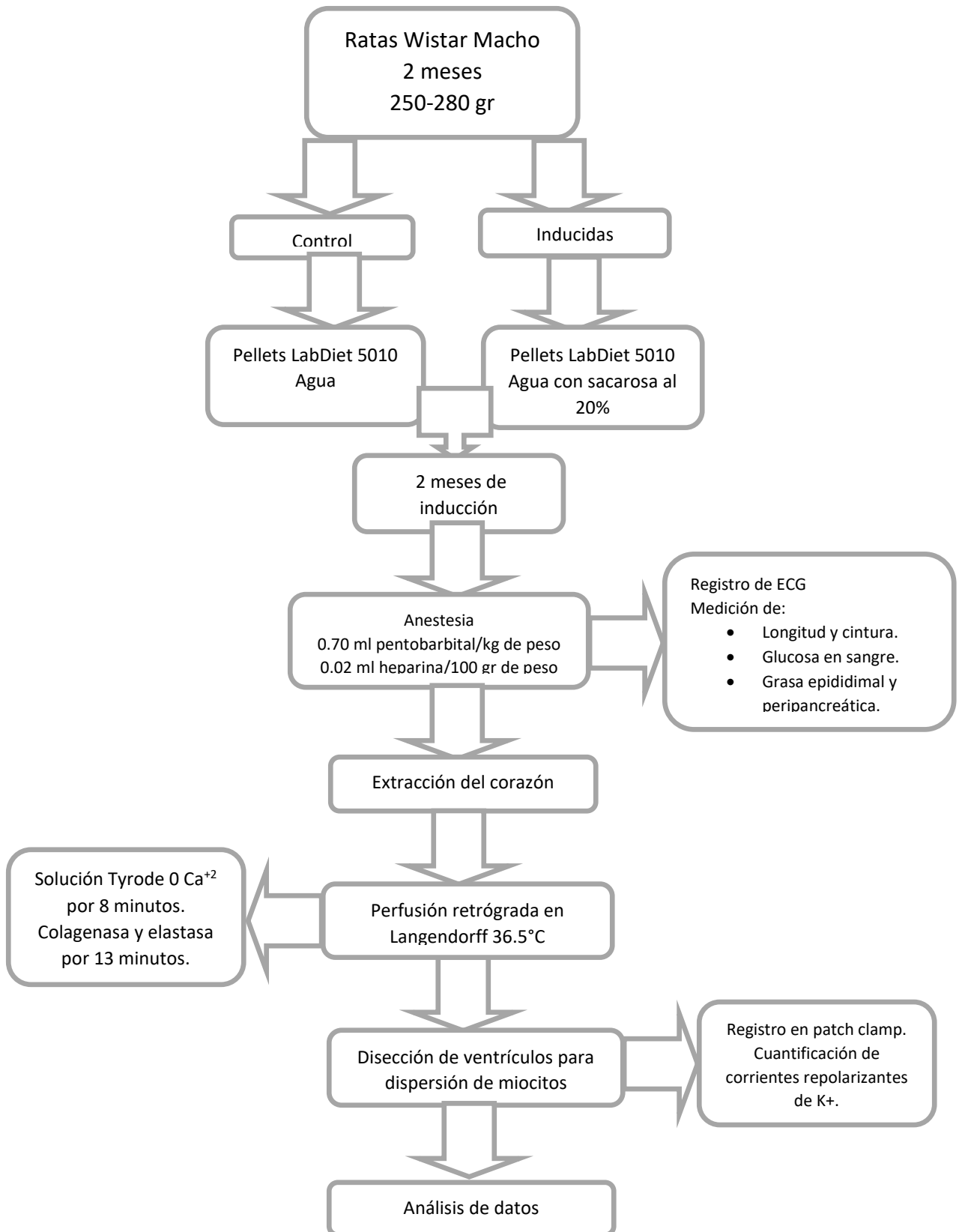
Por otra parte, la tau de desactivación se midió en la corriente de cola ajustando cada uno de los pulsos de corriente generados en los distintos voltajes con una exponencial de decaimiento.

Para seguir con la caracterización de la cinética de la corriente I_{to} se realizó el siguiente protocolo:

- **Recuperación de la inactivación I_{to} :** Se aplicará un protocolo de doble pulso, uno básico y otro de prueba. Cada pulso parte de un voltaje de -80 mV hasta 50 mV con una duración de 500 ms. El intervalo de tiempo entre el pulso básico y el de prueba fue aumentando desde 20 ms hasta 10 segundos. Los parámetros de recuperación de la inactivación de la corriente se determinarán dividiendo la corriente del pulso de prueba entre la corriente del pulso básico.

Los datos fueron colocados con la media \pm error estándar (E.E) y para la comparación de los valores se utilizó la prueba t de Student para datos no pareados. Las diferencias fueron consideradas como significativas con una $p < 0.05$.

7. DIAGRAMA DE TRABAJO



8. RESULTADOS

8.1 Modelo animal con síndrome metabólico

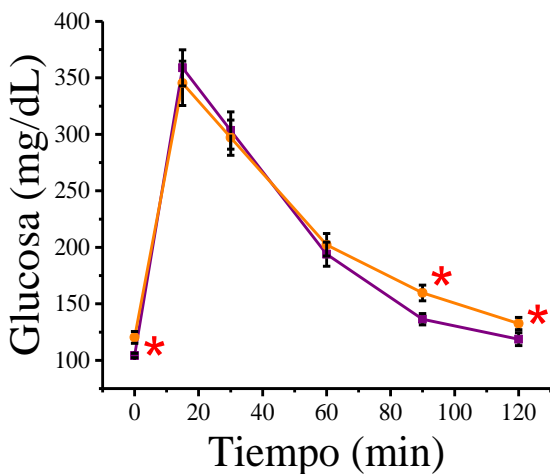
A las ratas Wistar utilizadas en un grupo control (n=15) y el grupo con sacarosa (n=17), se les midieron en suero los siguientes parámetros bioquímicos: glucosa, triglicéridos, colesterol, concentración de HDL, así como morfométricos: peso, longitud, cintura.

| Parámetros | Control (n=15) | SM (n=17) | Valor de p |
|----------------------------------|----------------|-------------|------------|
| Peso (g) | 445.3±9 | 544.6±10* | 4.5E-8 |
| Longitud (cm) | 25±0.4 | 25.2±0.4 | 0.7 |
| Cintura (cm) | 21.6±0.3 | 23.3±0.4* | 0.002 |
| Grasa peripancreática (g) | 0.7±0.1 | 1.8±0.2* | 3.5E-5 |
| Grasa epididimal (g) | 4.7±0.4 | 9.9±0.9* | 6.8E-5 |
| Glucosa en ayuno (mg/dL) | 157.1±9.2 | 181.5±4.3* | 0.02 |
| Triglicéridos (mg/dL) | 68.5±15.7 | 100.1±17.1* | 0.02 |
| Colesterol (mg/dL) | 78.3±7.3 | 75.5±5.8* | 0.08 |
| HDL (mg/dL) | 50.5±5.6 | 64.3±7.8* | 0.02 |

Media±E.E *p ≤ 0.05(estadísticamente significativo)

La sacarosa en el modelo metabólico provocó sobrepeso en un 22%, sin presentar alteraciones en la longitud, además de que el animal con sacarosa tuvo dislipidemias y alteración en la homeostasis de la glucosa, la cual se observó modificada en la curva de tolerancia a la glucosa vía intraperitoneal, aumentando la concentración de glucosa de manera significativa desde el minuto 0 en un 15% (antes de la administración), en el minuto 90 en un 16% y el minuto 120 en un 11%(después de las dos horas de administración).

Tabla 3. Curva de tolerancia a la glucosa vía intraperitoneal



| Tiempo | Control (n=43) | SM (n=45) |
|-------------------|----------------|-------------|
| <i>Minuto 0</i> | 104.2±1.9 | 120.3±5.1 * |
| <i>Minuto 15</i> | 358.9±16 | 345.2±19.6 |
| <i>Minuto 30</i> | 303.4±16.5 | 297.1±15.6 |
| <i>Minuto 60</i> | 193.9±10.6 | 202.3±9.9 |
| <i>Minuto 90</i> | 136.3±5 | 158.6±7 * |
| <i>Minuto 120</i> | 118.7±5.7 | 132.5±5.4 * |

*Figura 10. Curva de tolerancia a la glucosa vía intraperitoneal. La gráfica muestra a ratas Wistar control (morado) y con síndrome metabólico (naranja). Media±E.E * $p \leq 0.05(p=0.09)$*

La curva de tolerancia a la glucosa vía intraperitoneal mostró valores de hiperglicemia basal en la condición de síndrome metabólico con respecto a la condición control. Durante los primeros 30 minutos de la curva, los animales controles presentaron una tendencia a la hiperglicemia que no fue significativa estadísticamente. A partir del minuto 60 y hasta el final de la curva, el grupo con SM manifestó aumento en la concentración de glucosa en sangre, siendo significativa en las últimas dos tomas de la muestra a los 90 y 120 minutos.

8.2 Variabilidad de la frecuencia cardiaca por el síndrome metabólico.

En las ratas del modelo, la variabilidad de la frecuencia cardiaca es medida con los valores del intervalo RR con SD1 y SD2, que en condición control (n=15) fueron de 0.6 y 2.9, mientras que en la condición de SM (n=17) fueron de 0.9 y 3.5, respectivamente. En SD1 hubo un aumento significativo del 50% y en SD2 del 20%. Además, en animales controles el valor del índice SD1/SD2 fue de 0.66 y en animales con SM fue de 0.82, sin presentar diferencia estadísticamente significativa.

La frecuencia cardiaca disminuyó en el SM con un valor de 255.2 lpm comparado con 300.4 lpm de los animales control.

Tabla 4. Variabilidad de la frecuencia cardiaca.

| Intervalo | RR | | | RT | | |
|-----------------------|-------------------|--------------|------------|-------------------|--------------|------------|
| | Control (n=15) | SM (n=17) | Valor de p | Control (n=15) | SM (n=17) | Valor de p |
| SD1 | 0.6±0.1 | 2.9±0.5* | 0.03 | 0.6±0.1 | 0.8±0.1 | 0.02 |
| SD2 | 0.9±0.9 | 3.5±1.9* | 0.02 | 0.4±0.1 | 1±0.5* | 0.03 |
| Índice SD1/SD2 | 0.66 | 0.82 | 0.08 | 1.5 | 0.8* | 0.03 |

Media±E.E *p ≤ 0.05

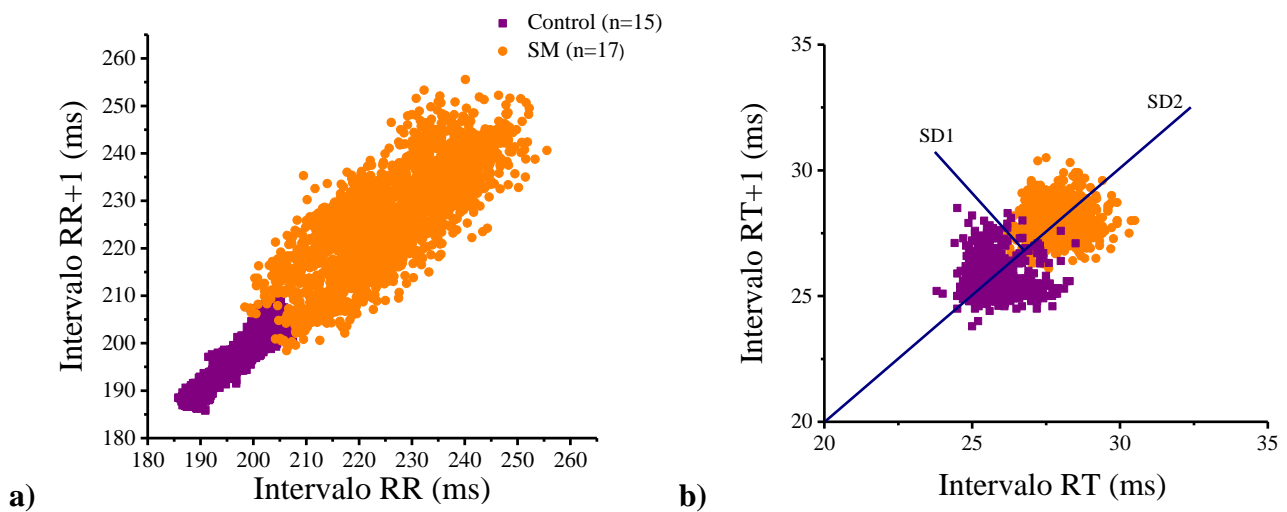


Figura 11. Diagrama de Poincaré. a) Diagrama de Poincaré en el intervalo R-R del ECG. b) Diagrama de Poincaré en el intervalo RT del ECG.

En cuanto al intervalo RT, los valores de SD1 fueron de 0.6 en controles y de 0.8 en SM, aumentando de manera estadísticamente significativa un 33%. Los valores de SD2 fueron de 0.8 en condición control y de 1 en condición de síndrome metabólico, lo que representa un aumento del 25% y el índice SD1/SD2 disminuyó un 53% con respecto al control, 1.5 vs 0.8 respectivamente.

8.3 El síndrome metabólico provoca arritmias ventriculares

Un 87.5% de las ratas del modelo animal con SM presentaron arritmias ventriculares, alteraciones en la amplitud y duración de la onda R en un 88%, inversión de ondas R y T (bloqueo de rama izquierda en humano) en un 63% y extrasístoles ventriculares con una frecuencia del 38%, las cuales han sido previamente reportadas en humanos.

Cabe resaltar que en condiciones control la presencia de arritmias ventriculares encontradas tuvieron una frecuencia de 28%.

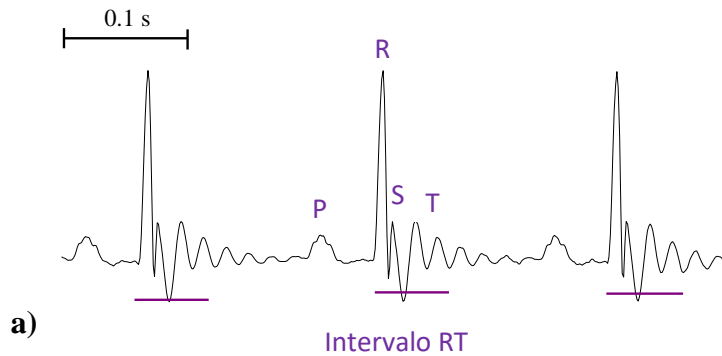
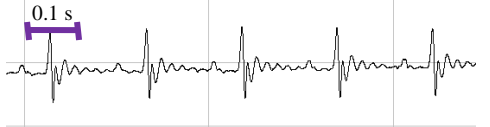
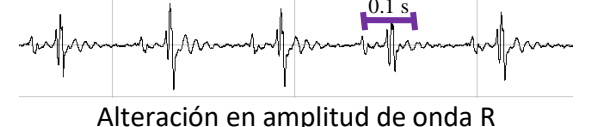
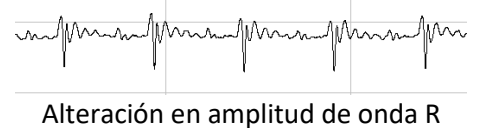
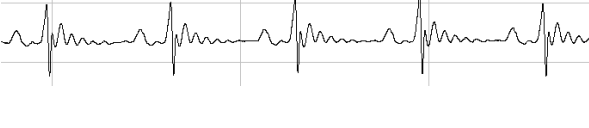
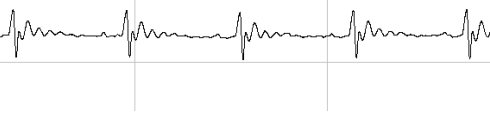

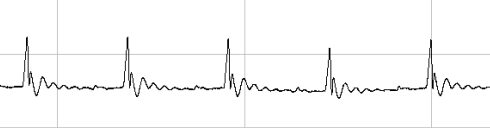

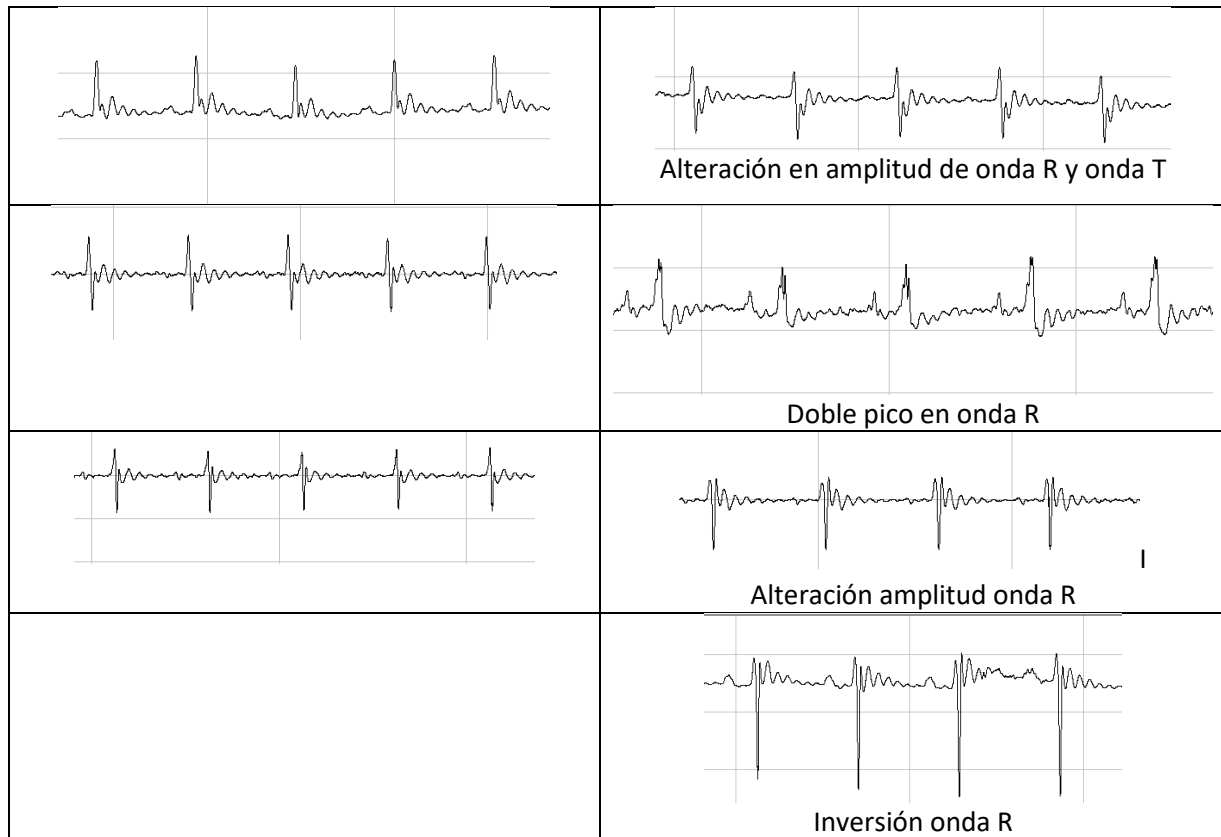


Figura 12. Arritmias ventriculares. Se observa un ECG característico de rata Wistar.

| Tabla 5. Electrocardiograma en ratas control y con síndrome metabólico | |
|---|--|
| Ratas control | Ratas tratadas |
|  |  Alteración en amplitud de onda R |
|  |  |
|  |  Extrasístole ventricular |
|  |  Alargamiento entre cada evento, alteración en amplitud de onda R |



8.4 El síndrome metabólico provoca síndrome de QT largo.

Otra alteración registrada fue el alargamiento en el intervalo QT, conocido como síndrome de QT largo, este ha sido reportado como una arritmia mortal. Cabe mencionar que en rata no es perceptible la onda Q (35), por lo que, a partir de este apartado, el intervalo RT en rata Wistar será reportada como el equivalente al intervalo QT en humano.

En este trabajo se analizó el intervalo RT, el cual comienza en la onda R y termina al finalizar la onda T, este parámetro indica el tiempo de despolarización y repolarización de los ventrículos en rata.

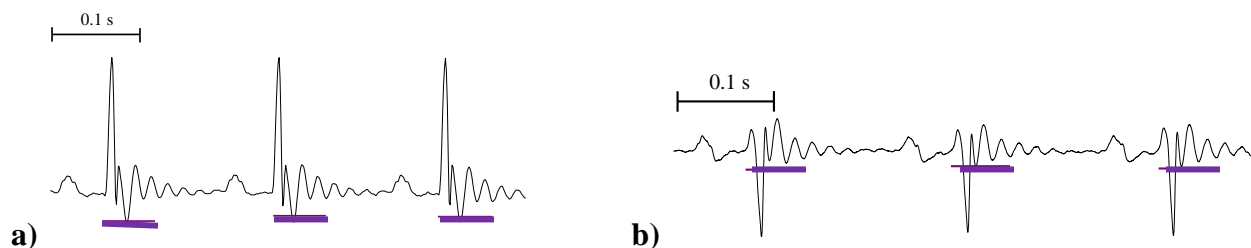


Figura 13. Electrocardiograma representativo de ratas Wistar control y con síndrome metabólico. **a)** ECG de rata control indicando sus intervalos RT. **b)** ECG de rata con síndrome metabólico indicando sus intervalos RT.

Tabla 6. Valores del intervalo RT corregido de acuerdo con la fórmula de Bazzet corregida.

| Condición | Intervalo RTc (ms) | Valor de p |
|-----------------------|--------------------|------------|
| <i>Control (n=15)</i> | 61±0.4 | 0.004 |
| <i>SM (n=17)</i> | 73±0.4* | |

Media±E.E *p ≤ 0.05

8.5 Alteraciones en la morfología de los potenciales de acción por el síndrome metabólico.

De acuerdo con el trabajo propuesto por Antzelevitch en 1998, se propone registrar distintas zonas del ventrículo para cuantificar y la repolarización y despolarización ventricular en el modelo con sacarosa y control. Las zonas analizadas fueron:

- Células epicárdicas registrando el epicardio
- Células “m” registrando septum y las paredes libres de ambos ventrículos.
- Células endocárdicas registrando papilares de ambos ventrículos.

En los potenciales de acción representativos de la zona epicárdica se muestra que la duración de la repolarización del potencial de acción al 10 y 30% disminuyó significativamente un 53% y un 51% comparado con la condición control. Lo anterior indica que las corrientes que participan en esas fases del PA se verán afectadas, I_{to} e I_k , infiriendo que su densidad de corriente se verá aumentada y observando disminución en la duración del potencial de acción por el SM. Ver figura 14.

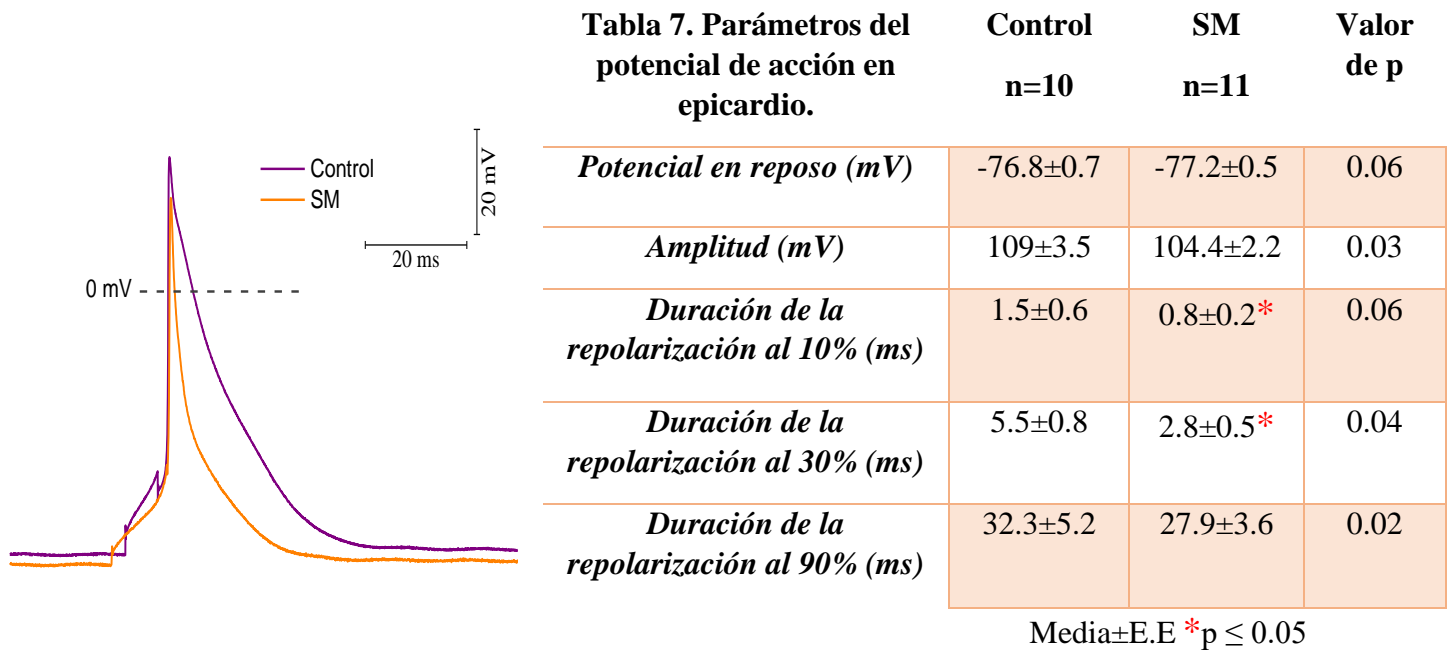


Figura 14. Trazos promedio de potenciales de acción de células epicárdicas de ratas control y con síndrome metabólico.

La duración al 30% de la repolarización disminuyó debido al SM en la pared libre del ventrículo izquierdo, en la región del septum la repolarización al 90% disminuyó 77%, mientras que en la pared libre del ventrículo derecho aumentaron de manera significativa el 30 y 90% de la repolarización en el ventrículo, un 42 y 8% respectivamente. Ver figura 15.

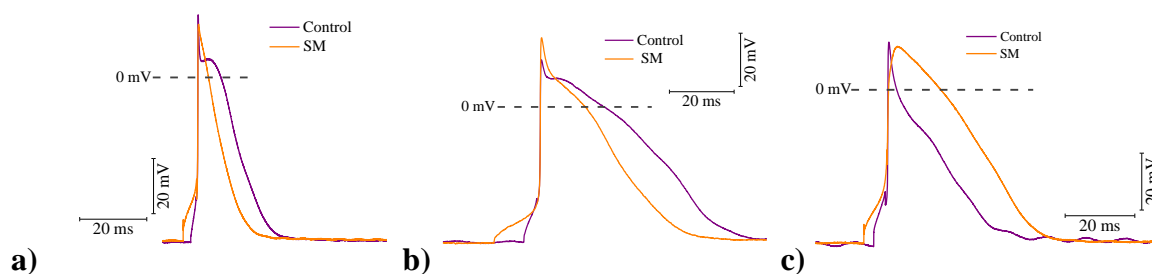


Figura 15. Potenciales de acción de células "m" de ratas control y con síndrome metabólico. a) PA de pared libre del ventrículo izquierdo. b) PA de septum. c) PA en pared libre del ventrículo derecho.

Tabla 8. Parámetros del potencial de acción en mediomiocardio.

| | PLVI | | Septum | | PLVD | | Valor de p |
|--|-----------------|------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| | Control n=10 | SM n=12 | Control n=10 | SM n=13 | Control n=8 | SM n=7 | |
| <i>Potencial en reposo (mV)</i> | -78.1±0.7 | -78.2±0.6 | -76.8±1.5 | -77.5±0.6 | -75.6±0.3 | -70.6±2.3* | 0.08 |
| <i>Amplitud (mV)</i> | 107.6±2 | 106±2.5 | 102.5±5.8 | 107.2±2.1 * | 105.1±1.8 | 108.1±1.9 * | 0.06 |
| <i>Duración de la repolarización al 10% (ms)</i> | 3.8±1.1 | 3.5±0.4 | 2.5±0.4 | 2.8±0.4 | 6.2±1.5 | 1.3±0.5* | 0.07 |
| <i>Duración de la repolarización al 30% (ms)</i> | 14.2±2.4 | 11.5±0.5* | 9±1.1 | 10.7±1.8 | 12±3.4 | 17.1±3* | 0.03 |
| <i>Duración de la repolarización al 90% (ms)</i> | 48.4±4.7 | 40±1.4 | 45.5±3.8 | 35.1±5.3* | 47.6±4.9 | 51.7±3.1* | 0.002 |

Media±E.E *p ≤ 0.05

Se muestran los potenciales de acción representativos de las células endocárdicas en condición control comparado con la de síndrome metabólico. En el papilar izquierdo la duración al 10 y 30% de la repolarización aumentó un 13 y 19%, mientras que disminuyó 8 ms al 90% debido al SM. En la región del papilar derecho la repolarización al 30 y 90% aumentó 35 y 70%, por lo que se puede inferir que en todo el endocardio las corrientes repolarizantes de K^+ tendrán modificaciones. Ver figura 16.

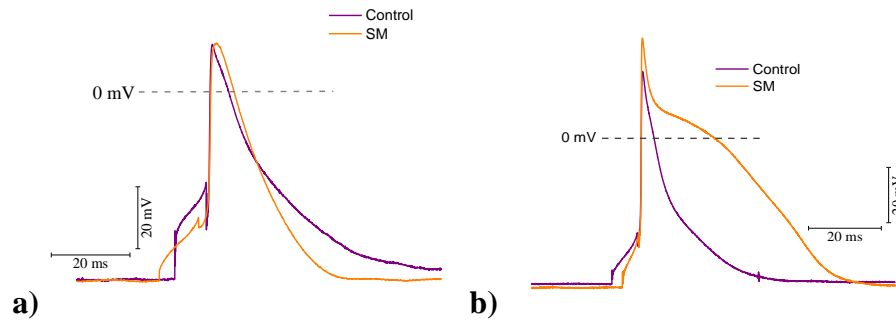


Figura 16. Potenciales de acción de células endocárdicas de ratas control y con síndrome metabólico. a) PA de papilar izquierdo. b) PA de papilar derecho.

Tabla 9. Parámetros del potencial de acción en endocardio.

| | Papilar izquierdo (PI) | | Papilar derecho (PD) | | Valor de p |
|--|------------------------|-----------|----------------------|------------|------------|
| | Control n=8 | SM n=9 | Control n=7 | SM n=9 | |
| Potencial en reposo (mV) | -75.9±1.5 | -75.7±1.7 | -74.8±0.7 | -76.2±1* | 0.02 |
| Amplitud (mV) | 99.9±4.8 | 103.6±3.5 | 100.3±2.8 | 114.3±3.8* | 0.008 |
| Duración de la repolarización al 10% (ms) | 3.8±0.4 | 4.3±0.7* | 2.1±0.5 | 2.2±0.9 | 0.01 |
| Duración de la repolarización al 30% (ms) | 10.1±1 | 12.1±1.7* | 6±1 | 8.1±1.5* | 0.01 |
| Duración de la repolarización al 90% (ms) | 42.4±1.8 | 34.9±1.8* | 24.7±0.7 | 42.1±4.8* | 0.007 |

Media±E.E *p ≤ 0.0

8.6 El síndrome metabólico provoca alteraciones en la densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ .

Al encontrar cambios a distintos porcentajes en la duración de la repolarización de los potenciales de acción registrados en los ventrículos de rata Wistar con 2 meses de síndrome metabólico comparado con la condición control, se infirió que habría cambios en la densidad de las corrientes que participan en la fase de repolarización, por lo que se realizaron registros de las corrientes, para medir la densidad de corriente total se utiliza la capacitancia de membrana de las células y después se construyeron las curva corriente vs voltaje.

Estos son los diferentes registros de las corrientes repolarizantes de K^+ en cardiomiocitos ventriculares aislados de ratas controles.

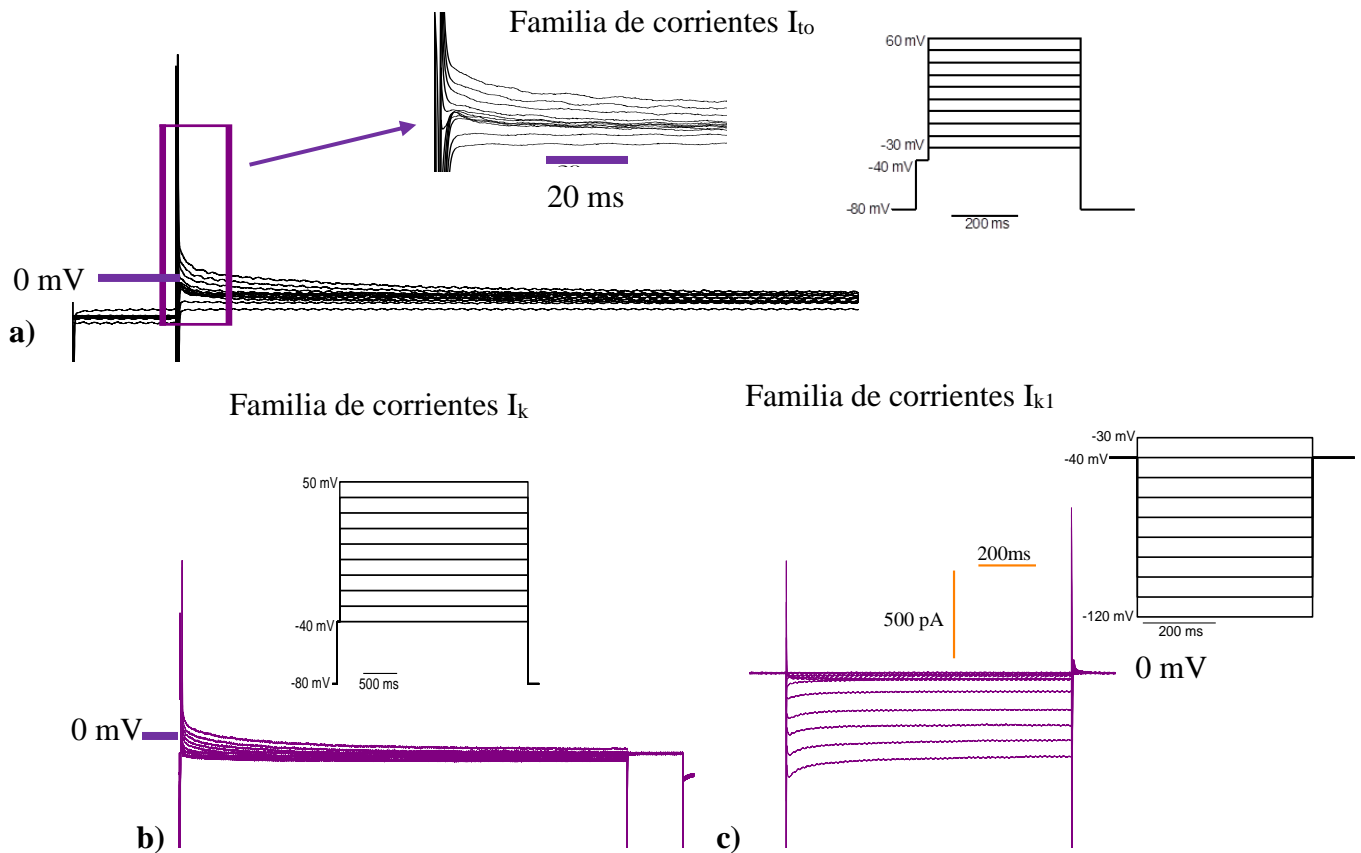


Figura 17. Familias de corrientes repolarizantes de K^+ de mediomiocardio en animales control. **a)** Registro de la corriente I_{to} con su protocolo. **b)** Registro de la corriente I_k con su protocolo. **c)** Registro de la corriente I_{k1} con su protocolo.

En este apartado se muestran los diferentes registros de las corrientes repolarizantes de K^+ en miocitos aislados de ventrículo de ratas con síndrome metabólico observando que los trazos muestran cambios en la densidad comparados con los de la figura anterior.

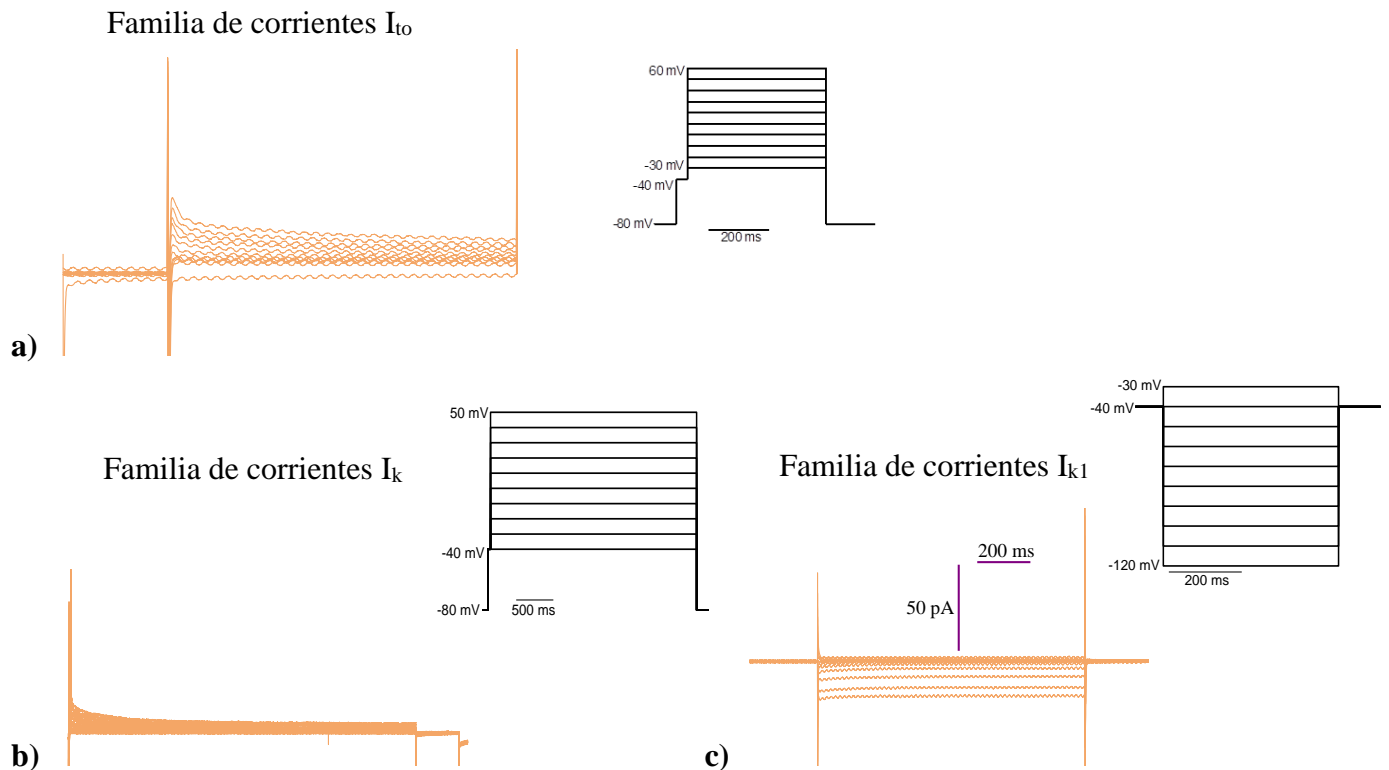


Figura 18. Familias de corrientes repolarizantes de K^+ de mediomiocardio en animales con síndrome metabólico. **a)** Registro de la corriente I_{to} con su protocolo. **b)** Registro de la corriente I_k con su protocolo. **c)** Registro de la corriente I_{k1} con su protocolo.

8.6.1 Densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ en epicardio.

Las células epicárdicas control tuvieron una capacitancia de 274.6 ± 28.4 pF, en las células epicárdicas de los animales con síndrome metabólico fue de 291.5 ± 19.2 pF, el tamaño de las células en este tejido no se vio alterado. Se observó que el síndrome metabólico aumentó la densidad de corriente I_k , la cual está implicada en la duración de la repolarización ventricular al 30%. La corriente I_k al pico aumentó un 28% comparada con la condición control. La corriente I_{to} también tuvo un aumento significativo en su densidad de corriente al pico, donde se observa un aumento del 22% comparado con los controles, esta corriente participa en la duración de la repolarización ventricular al 10%.

Curva corriente vs voltaje de I_{to} , I_k e I_{k1} en epicardio

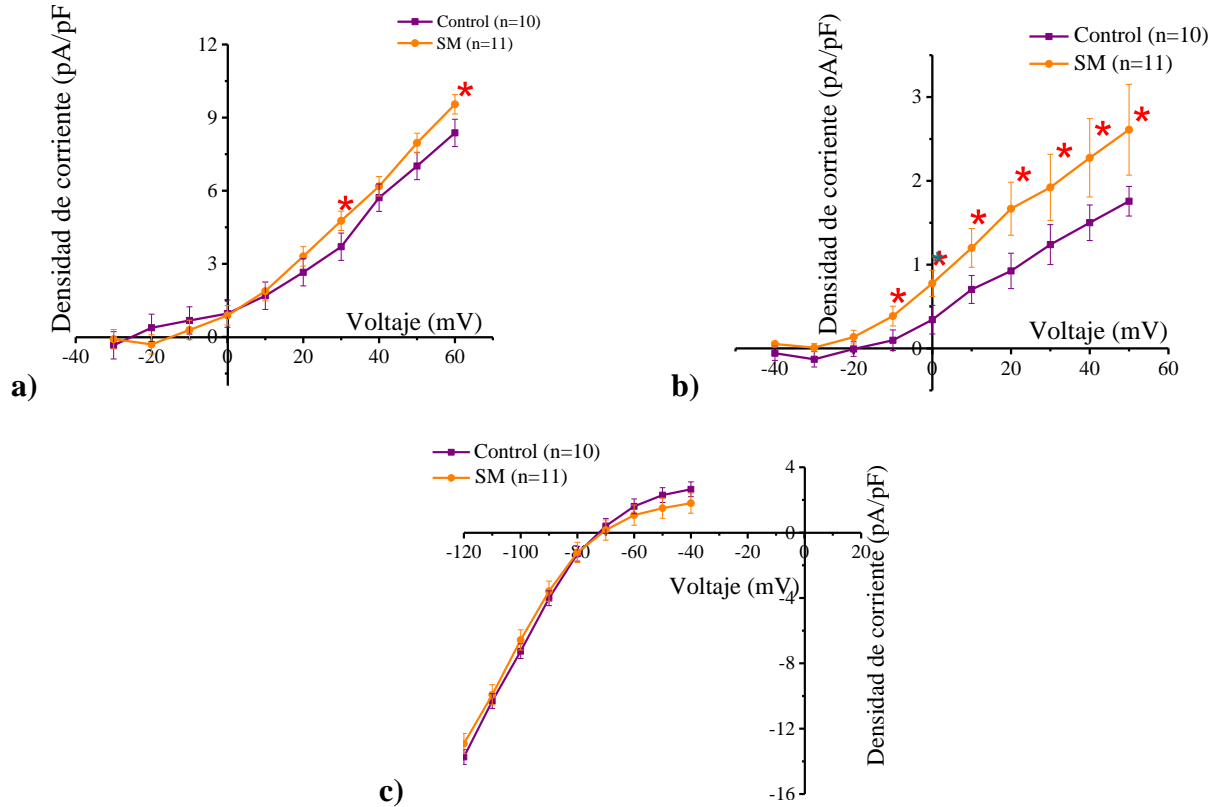


Figura 19. Curva corriente vs voltaje de células epicárdicas de ratas control y con síndrome metabólico. **a)** Densidad de corriente de I_{to} $p:0.008$. **b)** Densidad de corriente de I_k $p:0.002$. **c)** Densidad de corriente de I_{k1} $p:0.009$. Media \pm E.E * $p \leq 0.05$

8.6.2 Densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ en mediomiocardio.

En animales control, las células de la pared libre del ventrículo izquierdo tuvieron una capacitancia de membrana de 307.6 ± 28.5 pF y en células de animales con síndrome metabólico fue de 264.5 ± 21.1 pF, por lo que el tamaño de las células en este tejido disminuyó por el síndrome metabólico.

El síndrome metabólico disminuyó las densidades de las corrientes I_{to} , I_k e I_{k1} en la pared libre del ventrículo izquierdo modificando la duración de la repolarización ventricular. La corriente I_k a 60 mV se vio disminuida en un 38% comparada con la condición control. Las corrientes I_{to} e I_{k1} también tuvieron una disminución significativa en su densidad de corriente al pico, donde disminuyeron 25 y 22% respectivamente, comparado con los controles. Ver figura 20.

Curva corriente vs voltaje de I_{to} , I_k e I_{k1} en pared libre del ventrículo izquierdo.

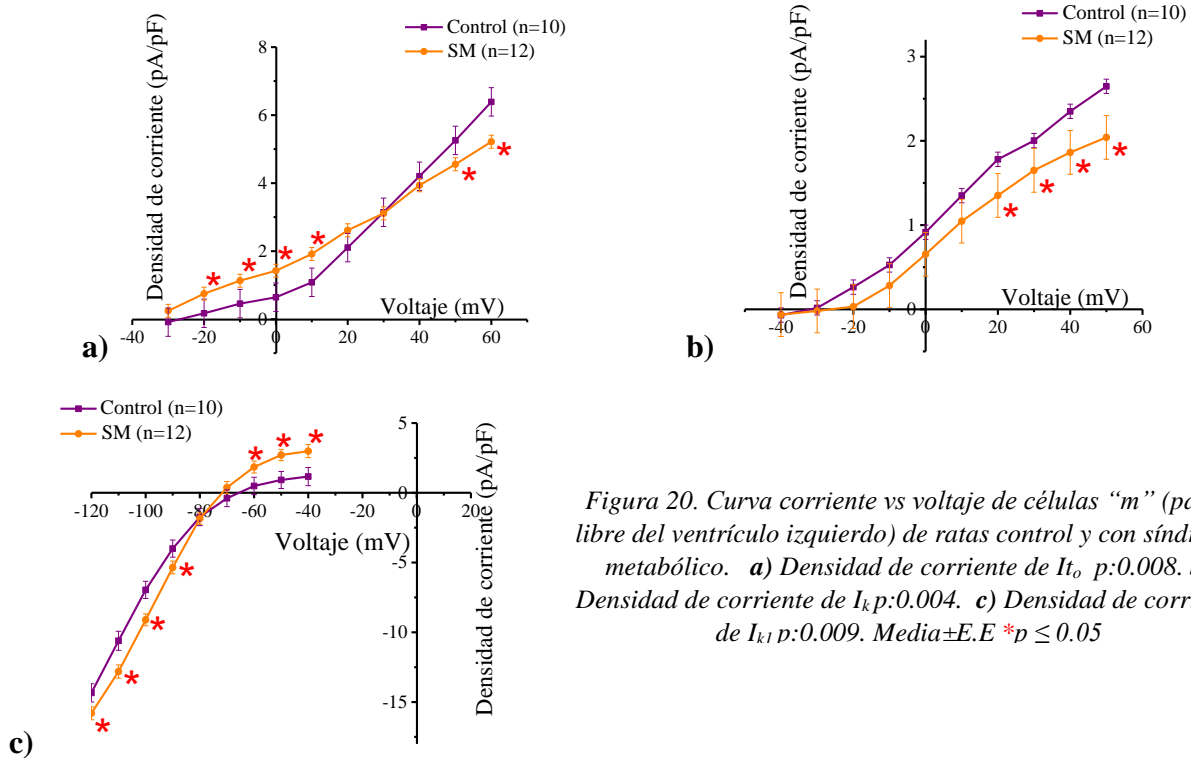


Figura 20. Curva corriente vs voltaje de células "m" (pared libre del ventrículo izquierdo) de ratas control y con síndrome metabólico. **a)** Densidad de corriente de I_{to} $p:0.008$. **b)** Densidad de corriente de I_k $p:0.004$. **c)** Densidad de corriente de I_{k1} $p:0.009$. Media \pm E.E * $p \leq 0.05$

Las células del septum en animales control tuvieron una capacitancia de membrana de 287.3 ± 28 pF, en las células del septum con síndrome metabólico fue de 274.2 ± 19.8 pF, por lo que el tamaño de las células en este tejido no se vio alterado.

El síndrome metabólico disminuyó la densidad de la corriente I_{to} y aumentó las densidades de I_k e I_{k1} en el septum alterando la duración de la repolarización ventricular. La corriente I_{to} en voltajes menores a 0 mV se vio disminuida en un 67% comparada con la condición control. La corriente I_k aumentó en su densidad de corriente a 60 mV un 88% y la corriente I_{k1} a voltajes por debajo de los -90 mV aumentó 80%, comparados con los controles. Ver figura 21.

Curva corriente vs voltaje de I_{to} , I_k e I_{k1} en septum.

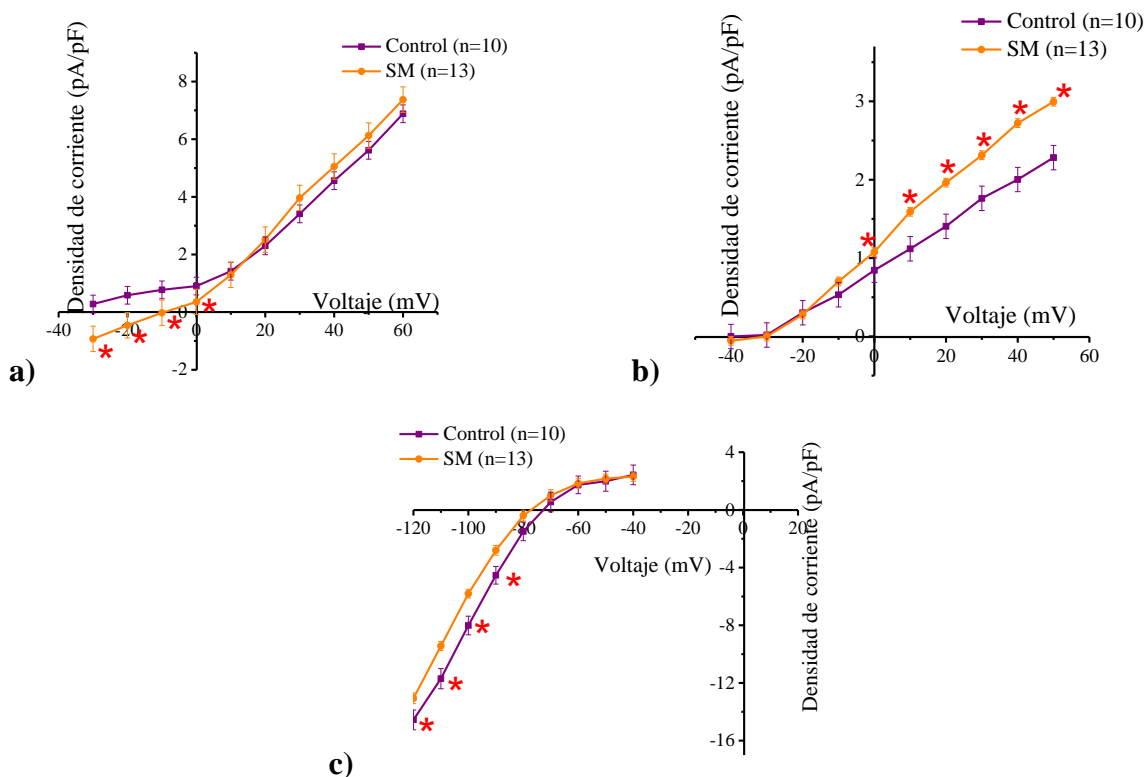


Figura 21. Curva corriente vs voltaje de células “m” (septum) de ratas control y con síndrome metabólico. **a)** Densidad de corriente de I_{to} $p:0.009$. **b)** Densidad de corriente de I_k $p:0.004$. **c)** Densidad de corriente de I_{k1} $p:0.009$. Media \pm E.E * $p \leq 0.05$

Las células de la pared libre del ventrículo derecho en animales control tuvieron una capacitancia de membrana de 233.8 ± 20 pF, mientras que la capacitancia de las células del mismo tejido en animales con síndrome metabólico fue de 347.2 ± 25.9 pF, por lo que el tamaño de las células en este tejido aumentó de manera significativa por el síndrome metabólico.

El síndrome metabólico disminuyó la densidad de la corriente I_k y aumentó significativamente las densidades de I_{to} e I_{k1} en la pared libre del ventrículo derecho modificando la duración de la repolarización ventricular. La corriente I_k a 60 mV disminuyó un 40% comparada con la condición control. La corriente I_{to} aumentó el doble en la densidad de corriente a 60 mV y la corriente I_{k1} a voltajes por debajo de los -70 mV aumentó 37%, comparados con los controles. Ver figura 22.

Curva corriente vs voltaje de I_{to} , I_k e I_{k1} en pared libre del ventrículo derecho.

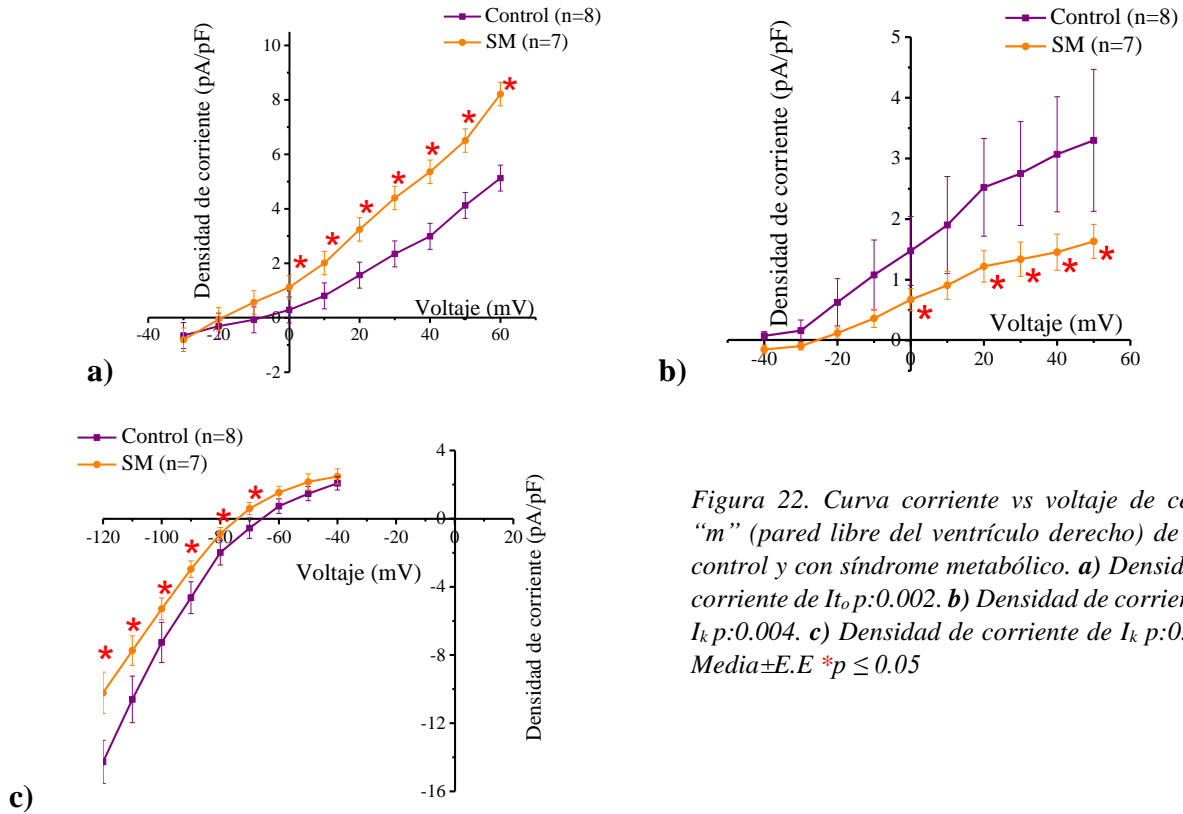


Figura 22. Curva corriente vs voltaje de células “m” (pared libre del ventrículo derecho) de ratas control y con síndrome metabólico. **a)** Densidad de corriente de I_{to} $p:0.002$. **b)** Densidad de corriente de I_k $p:0.004$. **c)** Densidad de corriente de I_{k1} $p:0.009$. Media \pm E.E * $p \leq 0.05$

8.6.3 Densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ en endocardio.

En animales control, las células del papilar izquierdo tuvieron una capacitancia de membrana de 241.6 ± 18.9 pF, la capacitancia de las células del mismo tejido en animales con síndrome metabólico fue de 277.8 ± 24.7 pF, lo que significa que el tamaño de las células en este tejido aumentó por el síndrome metabólico.

Durante el síndrome metabólico aumentó la densidad de la corriente I_k en papilar del ventrículo izquierdo modificando el 30% de la duración de la repolarización ventricular. La corriente I_k a 60 mV aumentó el doble comparada con la condición control. Ver figura 23.

Curva corriente vs voltaje de I_{to} , I_k e I_{k1} en papilar izquierdo.

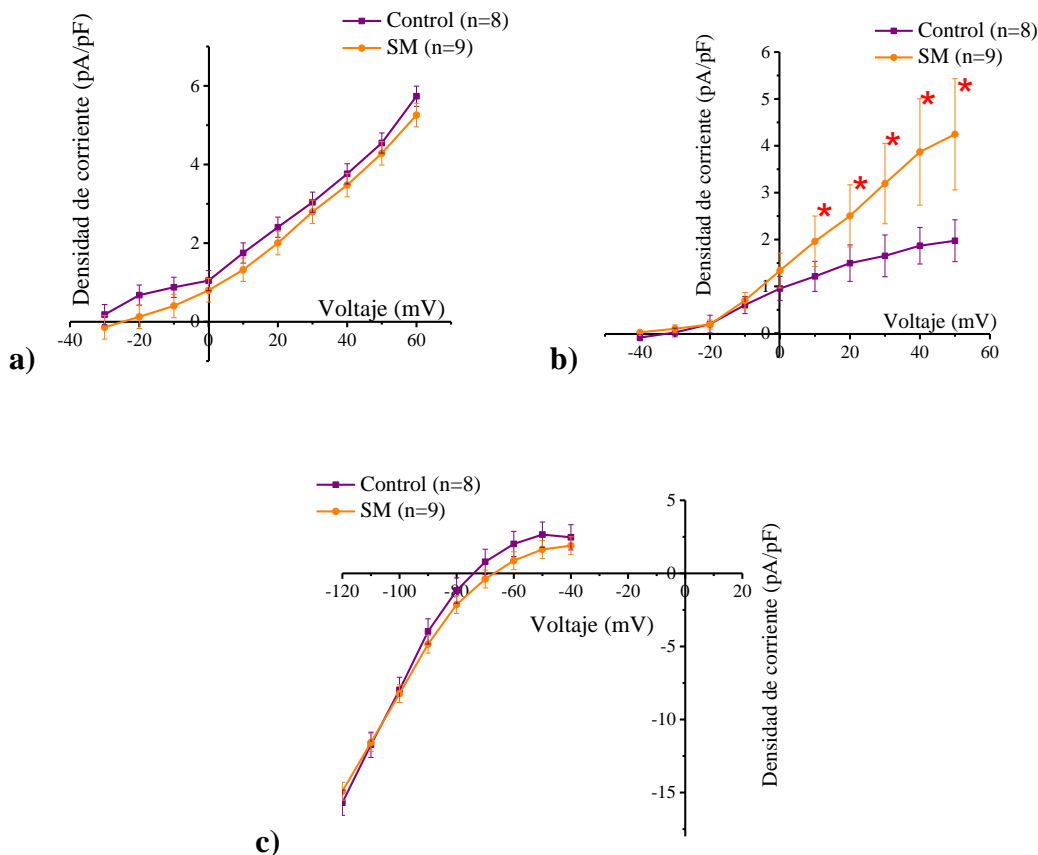


Figura 23. Curva corriente vs voltaje de células endocárdicas de ratas control y con síndrome metabólico. **a)** Densidad de corriente de I_{to} $p:0.006$. **b)** Densidad de corriente de I_k $p:0.001$. **c)** Densidad de corriente de I_{k1} $p:0.009$. Media \pm E.E * $p \leq 0.05$

Las células del papilar derecho en animales control tuvieron una capacitancia de membrana de 248.2 ± 14.7 pF y la capacitancia en células del papilar derecho de los animales con síndrome metabólico fue de 301.1 ± 33.4 pF, observando que el tamaño de las células en este tejido aumentó por el síndrome metabólico.

En los animales que consumieron sacarosa disminuyó la densidad de la corriente I_{to} , I_k e I_{k1} en papilar del ventrículo derecho alterando la duración de la repolarización ventricular. Las corrientes I_{to} e I_k a 60 mV disminuyeron 60 y 56% respectivamente, comparada con la condición control. Mientras que la corriente I_{k1} disminuyó en voltajes por debajo de los -60 mV un 28% comparado con los controles. Ver figura 24.

Curva corriente vs voltaje de I_{to} , I_k e I_{kl} en papilar derecho

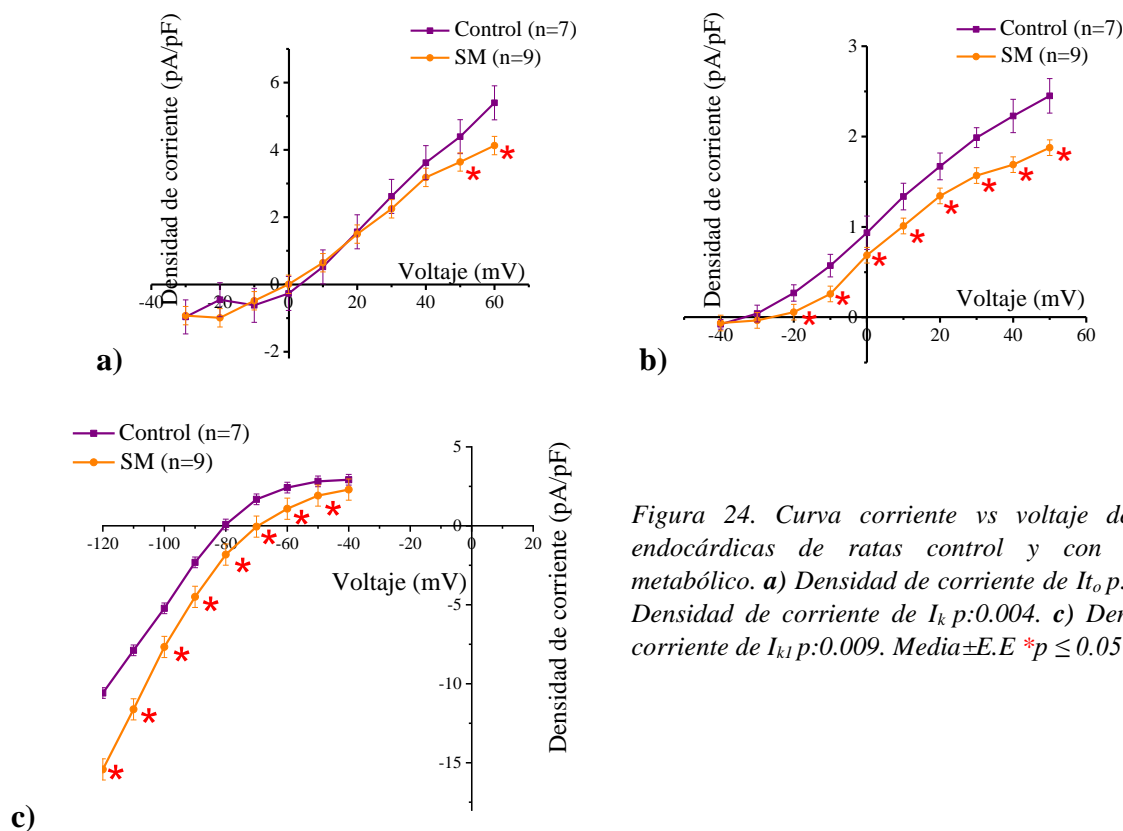


Figura 24. Curva corriente vs voltaje de células endocárdicas de ratas control y con síndrome metabólico. **a)** Densidad de corriente de I_{to} $p:0.007$. **b)** Densidad de corriente de I_k $p:0.004$. **c)** Densidad de corriente de I_{kl} $p:0.009$. Media \pm E.E * $p \leq 0.05$

8.7 El síndrome metabólico modifica la cinética de la corriente I_{to} .

A continuación, se presentan las curvas de activación e inactivación de la corriente I_{to} en las distintas zonas registradas en el ventrículo, tanto en ratas control como con 2 meses de síndrome metabólico.

En cuanto a la cinética obtuvimos datos como V_m (voltaje medio), indicando el voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos en el caso de la activación y en el caso de la inactivación en estado estable expresa el voltaje al cual el 50% de los canales están disponibles para ser activados. También obtuvimos el valor de la pendiente que expresa el rango de voltaje al cual se da el proceso del cambio de estado (factor pendiente).

8.7.1 Activación e inactivación de la corriente I_{to} en epicardio.

En la región de epicardio en condiciones control el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 8.3 ± 3 mV y el factor pendiente de 5.7 ± 0.9 mV. Y en el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 1.2 ± 0.7 mV y el factor

pendiente de 8.1 ± 1.3 mV. El valor del voltaje medio disminuyó y la pendiente aumentó, representando una disminución del 14% con un aumento del 42%, respectivamente. Ver figura 25.

En condiciones control el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 18.9 ± 4.4 mV y el factor pendiente de 14.2 ± 1.2 mV. En el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 25 ± 4.8 mV y el factor pendiente de 16.5 ± 2.1 mV. Los datos del voltaje medio presentaron un aumento de manera significativa, representando un incremento del 32%.

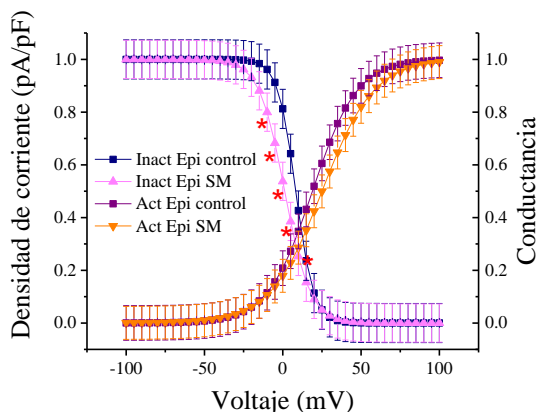


Figura 25. Curvas de activación e inactivación en epicardio.

Tabla 10. Cinética de la corriente I_{to} en epicardio.

| | Activación | | | Inactivación | | |
|------------------------------|----------------|----------------|------------|----------------|-----------------|------------|
| | Control (n=10) | SM (n=11) | Valor de p | Control (n=10) | SM (n=11) | Valor de p |
| Voltaje medio (mV) | 18.9 ± 4.4 | $25 \pm 4.8^*$ | 0.1 | 8.3 ± 3 | $1.2 \pm 0.7^*$ | 0.06 |
| Factor pendiente (mV) | 14.2 ± 1.2 | 16.5 ± 2.1 | 0.1 | 5.7 ± 0.9 | $8.1 \pm 1.3^*$ | 0.04 |

Media \pm E.E *p \leq 0.05

8.7.2 Activación e inactivación de la corriente I_{to} en mediomiocardio.

En condiciones control de la pared libre del ventrículo izquierdo, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de -4.7 ± 1.8 mV, el factor pendiente de 7.7 ± 1.2 mV. Y en el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 2.9 ± 0.1 mV, el factor pendiente de 9.2 ± 2.3 mV. El valor del voltaje medio aumentó de manera significativa, representando un incremento del 61%.

En condiciones control de la pared libre del ventrículo izquierdo, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 20.4 ± 3.7 mV, el factor pendiente de 13.6 ± 5.8 mV. En el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 9.7 ± 2.9 mV y el factor pendiente de 15.3 ± 3 mV. Los datos del voltaje medio presentaron una disminución de manera significativa, representando 47%. Ver figura 26.

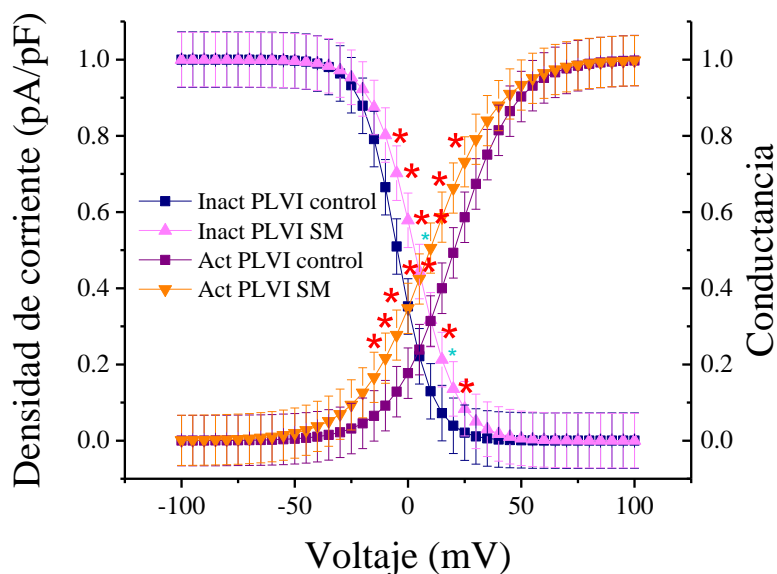


Figura 26. Curvas de activación e inactivación en mediomiocardio, pared libre del ventrículo izquierdo.

Tabla 11. Cinética de la corriente I_{to} en pared libre del ventrículo izquierdo.

| | Activación | | | Inactivación | | |
|------------------------------|----------------|-----------------|------------|----------------|-----------------|------------|
| | Control (n=10) | SM (n=12) | Valor de p | Control (n=10) | SM (n=12) | Valor de p |
| Voltaje medio (mV) | 20.4 ± 3.7 | $9.7 \pm 2.9^*$ | $p:0.02$ | -4.7 ± 1.8 | $2.9 \pm 0.1^*$ | $p:0.006$ |
| Factor pendiente (mV) | 13.6 ± 5.8 | 15.3 ± 3 | $p:0.04$ | 7.7 ± 1.2 | 9.2 ± 2.3 | $p:0.1$ |

Media±E.E * $p \leq 0.05$

En condiciones control del septum, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 12 ± 3.6 mV, el factor pendiente de 7.4 ± 1.5 mV. Durante el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 0.7 ± 0.4 mV y el factor pendiente de 8.6 ± 1.5 mV. El valor del voltaje medio disminuyó de manera significativa, representando el 58%. Ver figura 27.

En condiciones control del septum, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 12 ± 1.2 mV, el factor pendiente de 14.5 ± 1.8 mV. En el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 12.6 ± 5.3 mV y el factor pendiente de 16.6 ± 1.6 mV. Los datos no mostraron diferencia estadísticamente significativa.

Figura 27. Curvas de activación e inactivación en mediomiocardio, septum.

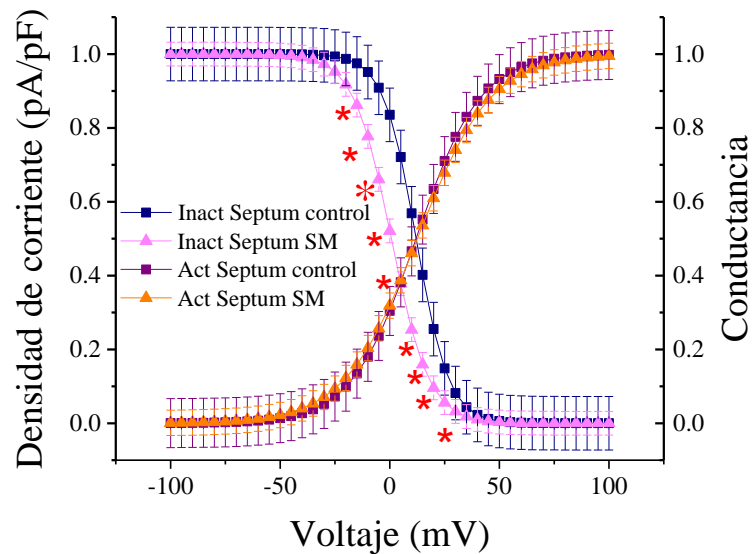


Tabla 12. Cinética de la corriente I_{to} en septum.

| | Activación | | | Inactivación | | |
|------------------------------|----------------|----------------|------------|----------------|-----------------|------------|
| | Control (n=10) | SM (n=13) | Valor de p | Control (n=10) | SM (n=13) | Valor de p |
| Voltaje medio (mV) | 12 ± 1.2 | 12.6 ± 5.3 | $p:0.04$ | 12 ± 3.6 | $0.7 \pm 0.4^*$ | $p:0.005$ |
| Factor pendiente (mV) | 14.5 ± 1.8 | 16.6 ± 1.6 | $p:0.002$ | 7.4 ± 1.5 | 8.6 ± 1.5 | $p:0.1$ |

Media±E.E *p ≤ 0.05

En condición control de la pared libre del ventrículo derecho, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 4.2 ± 1.9 mV y el factor pendiente de 7.2 ± 2.2 mV. En el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de -4.9 ± 0.8 mV y el factor pendiente de 6.9 ± 1 mV. El valor del voltaje medio disminuyó de manera significativa, representando una disminución del 66%. Ver figura 28.

En condiciones control de la pared libre del ventrículo derecho, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 23.1 ± 4.6 mV y el factor pendiente de 19.2 ± 2.9 mV. Durante el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 9.2 ± 1.3 mV y el factor pendiente de 17.1 ± 2.9 mV. Los datos del voltaje medio disminuyeron significativamente 40%.

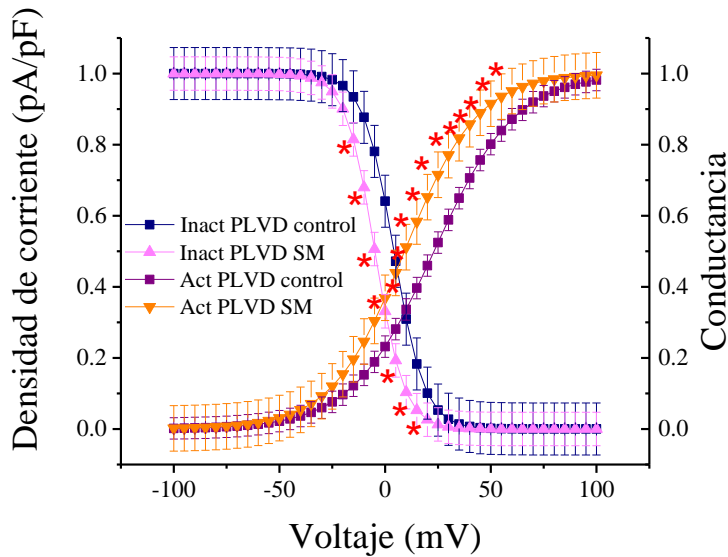


Figura 28. Curvas de activación e inactivación en mediomiocardio, pared libre ventrículo derecho.

Tabla 13. Cinética de la corriente I_{to} en pared libre del ventrículo derecho.

| | Activación | | | Inactivación | | |
|------------------------------|----------------|-----------------|-----------|---------------|------------------|-----------|
| | Control (n=8) | SM (n=7) | | Control (n=8) | SM (n=7) | |
| Voltaje medio (mV) | 23.1 ± 4.6 | $9.2 \pm 1.3^*$ | $p:0.1$ | 4.2 ± 1.9 | $-4.9 \pm 0.8^*$ | $p:0.004$ |
| Factor pendiente (mV) | 19.2 ± 2.9 | 17.1 ± 2.9 | $p:0.002$ | 7.2 ± 2.2 | 6.9 ± 1 | $p:0.008$ |

Media±E.E * $p \leq 0.05$

8.7.3 Activación e inactivación de la corriente I_{to} en endocardio.

Durante condiciones control de papilar del ventrículo izquierdo, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 8.5 ± 0.2 mV y el factor pendiente de 8.4 ± 1.3 mV. En el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 17.2 ± 0.6 mV y el factor pendiente de 8.3 ± 1.7 mV. El valor del voltaje medio aumentó de manera significativa, representando un incremento del 23%.

En condiciones control de papilar del ventrículo izquierdo, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 19.6 ± 4 mV y el factor pendiente de 11.2 ± 3 mV. Y en el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 17.7 ± 1.6 mV y el factor pendiente de 10.6 ± 3.9 mV. Los datos no mostraron diferencia estadísticamente significativa.

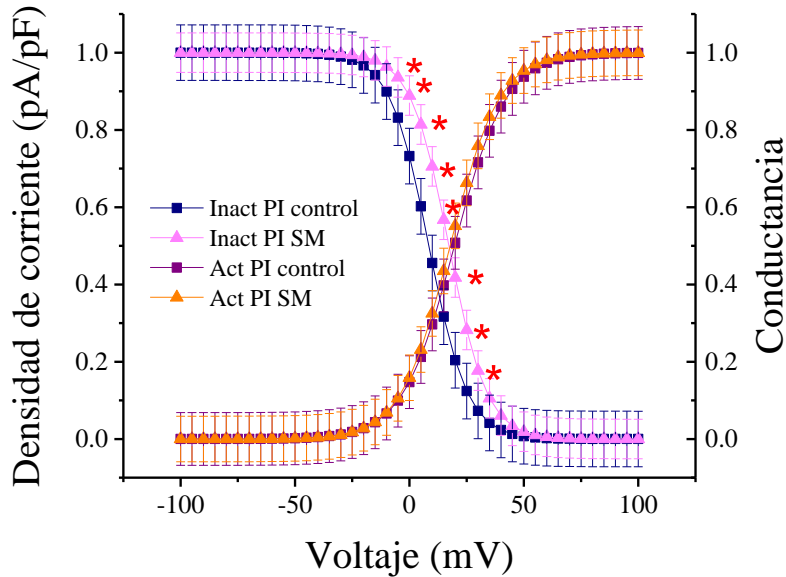


Figura 29. Curvas de activación e inactivación en endocardio, papilar izquierdo.

Tabla 14. Cinética de la corriente I_{to} en papilar izquierdo.

| | Activación | | Valor de p | Inactivación | | Valor de p |
|------------------------------|---------------|----------------|------------|---------------|------------------|------------|
| | Control (n=8) | SM (n=9) | | Control (n=8) | SM (n=9) | |
| Voltaje medio (mV) | 19.6 ± 4 | 17.7 ± 1.6 | $p:0.04$ | 8.5 ± 0.2 | $17.2 \pm 0.6^*$ | $p:0.1$ |
| Factor pendiente (mV) | 11.2 ± 3 | 10.6 ± 3.9 | $p:0.064$ | 8.4 ± 1.3 | 8.3 ± 1.7 | $p:0.06$ |

Media±E.E * $p \leq 0.05$

En la figura 30 se observa que en condiciones control de papilar del ventrículo derecho, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 3.4 ± 0.8 mV, mientras que el factor pendiente de 4.7 ± 0.1 mV. En el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están activos fue de 7.4 ± 1.6 mV, el factor pendiente de 7 ± 1.6 mV. El valor del voltaje medio y el factor pendiente aumentaron un 67 y 48%, respectivamente.

En condiciones control de papilar del ventrículo derecho, el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 14.1 ± 5.7 mV y el factor pendiente de 15.7 ± 3 mV. En el síndrome metabólico el valor del voltaje al cual el 50% de los canales están inactivos fue de 17.8 ± 1.6 mV y el factor pendiente de 10.6 ± 4.5 mV.

Figura 30. Curvas de activación e inactivación en endocardio, papilar derecho.

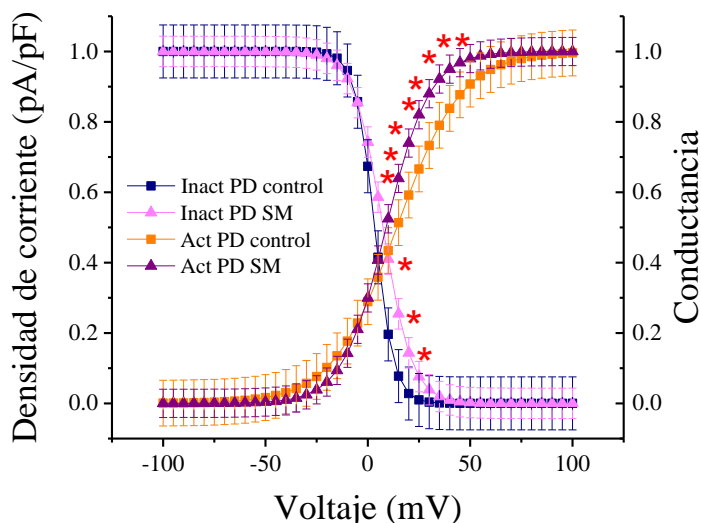


Tabla 15. Cinética de la corriente I_{to} en papilar derecho.

| | Activación | | Valor de p | Inactivación | | Valor de p |
|------------------------------|----------------|------------------|------------|---------------|-----------------|------------|
| | Control (n=7) | SM (n=9) | | Control (n=7) | SM (n=9) | |
| Voltaje medio (mV) | 14.1 ± 5.7 | 17.8 ± 1.6 | $p:0.04$ | 3.4 ± 0.8 | $7.4 \pm 1.6^*$ | $P: 0.04$ |
| Factor pendiente (mV) | 15.7 ± 3 | $10.6 \pm 4.5^*$ | $p:0.1$ | 4.7 ± 0.1 | $7 \pm 1.6^*$ | $p:0.002$ |

Media±E.E *p ≤ 0.05

8.7 EL SÍNDROME METABÓLICO NO MODIFICA LAS TAUS DE ACTIVACIÓN, INACTIVACIÓN Y DESACTIVACIÓN DE LA CORRIENTE I_{to} .

Las taus de activación, inactivación y desactivación ajustadas a una ecuación de dos exponenciales no mostraron diferencia significativa en ninguno de los tejidos ventriculares.

Taus de activación, inactivación y desactivación de I_{to} en epicardio.

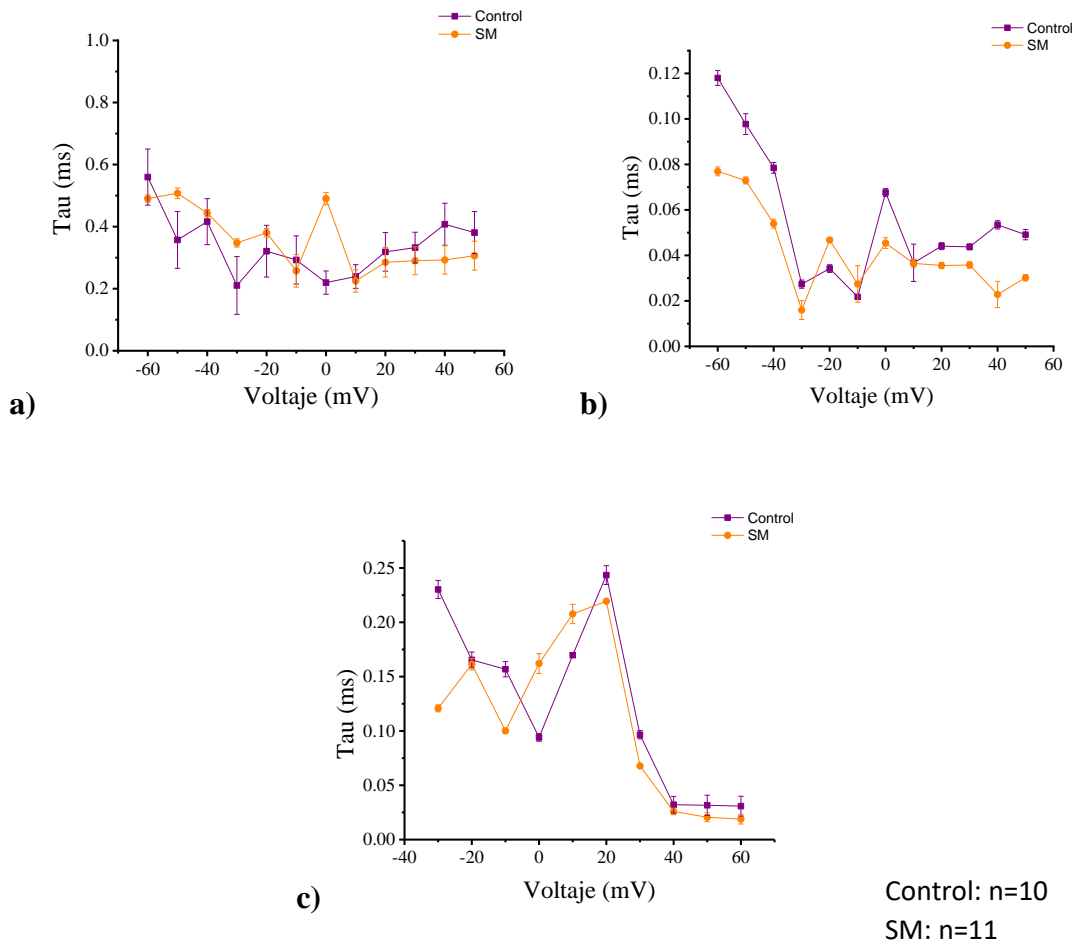


Figura 31. Taus de la corriente I_{to} en epicardio. **a)** Tau de activación. **b)** Tau de inactivación. **c)** Tau de desactivación.

Taus de activación, inactivación y desactivación de I_{to} en pared libre del ventrículo izquierdo.

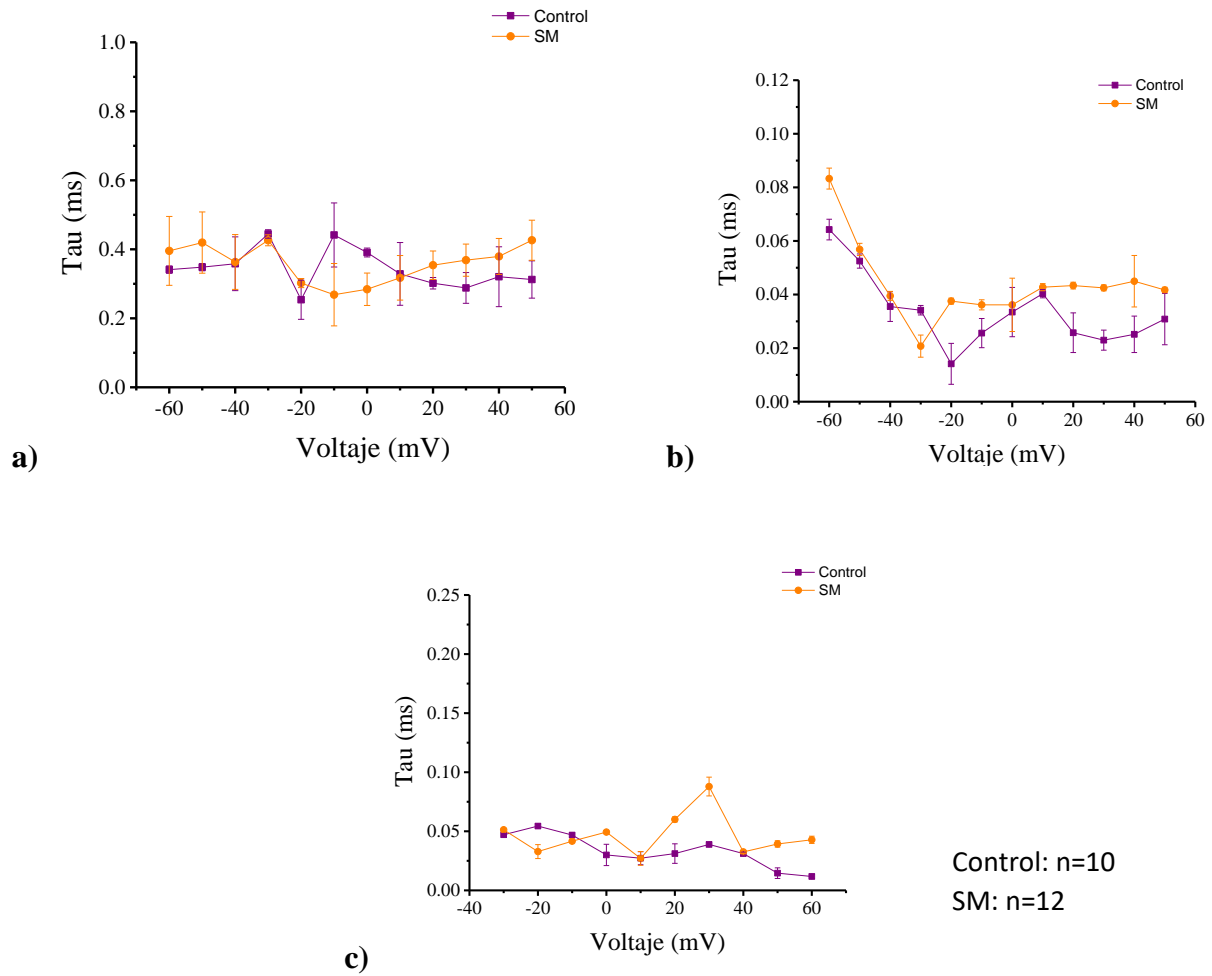


Figura 32. Taus de la corriente I_{to} en mediomiocardio. **a)** Tau de activación. **b)** Tau de inactivación. **c)** Tau de desactivación.

Taus de activación, inactivación y desactivación de I_{to} en septum.

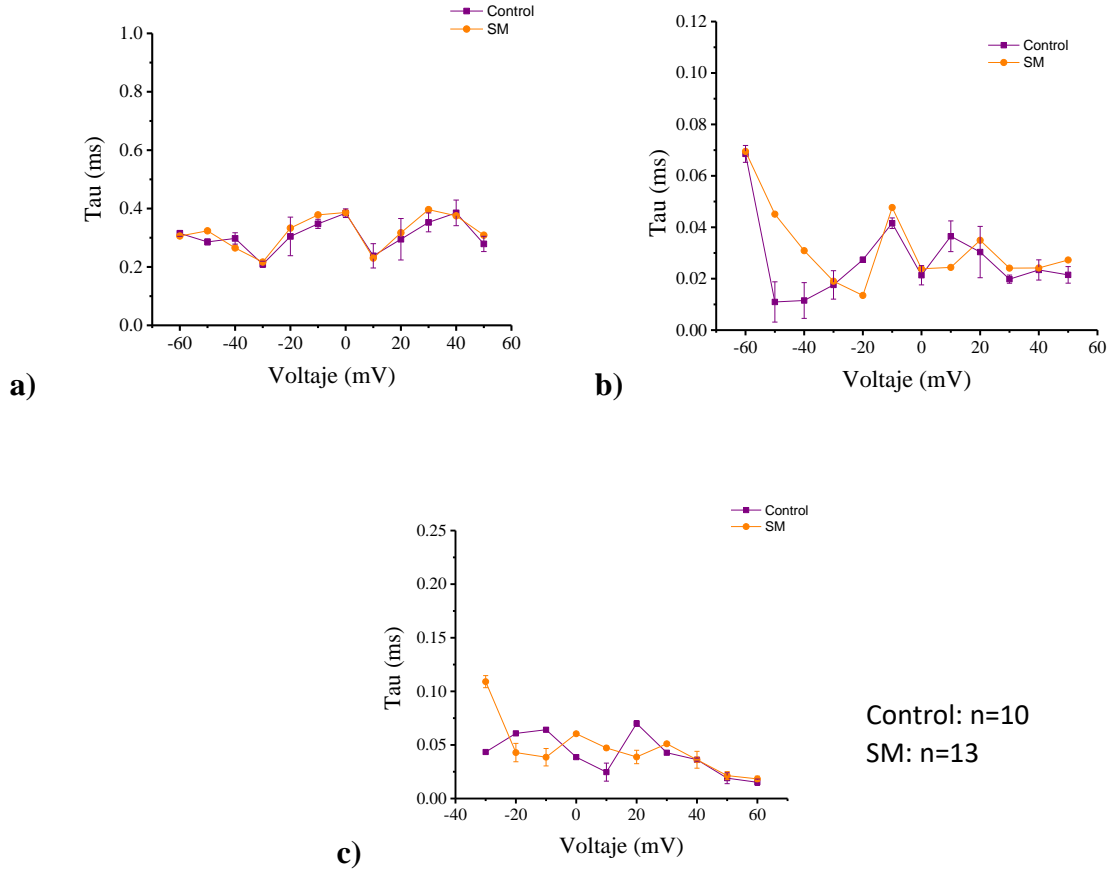


Figura 33. Taus de la corriente I_{to} en mediomiocardio. a) Tau de activación. b) Tau de inactivación. c) Tau de desactivación.

Taus de activación, inactivación y desactivación de I_{to} en pared libre del ventrículo derecho.

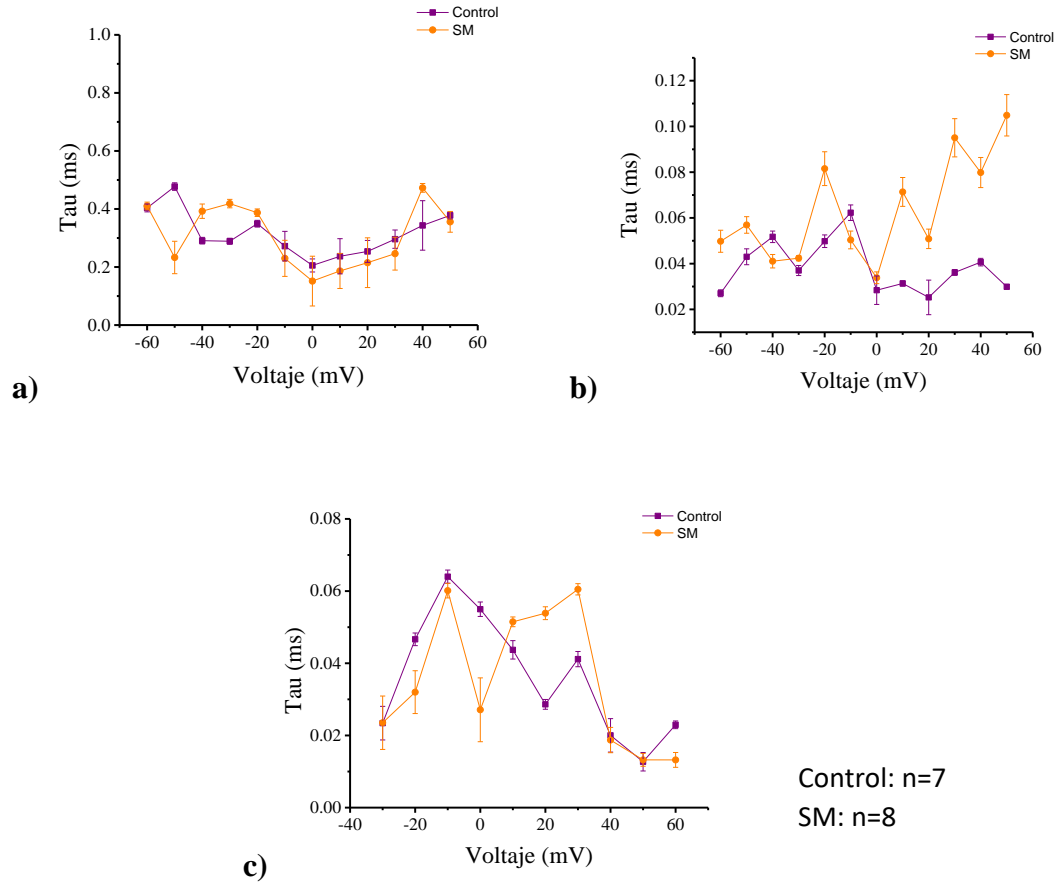


Figura 34. Taus de la corriente I_{to} en mediomiocardio. a) Tau de activación. b) Tau de inactivación. c) Tau de desactivación.

Taus de activación, inactivación y desactivación de I_{to} en papilar izquierdo.

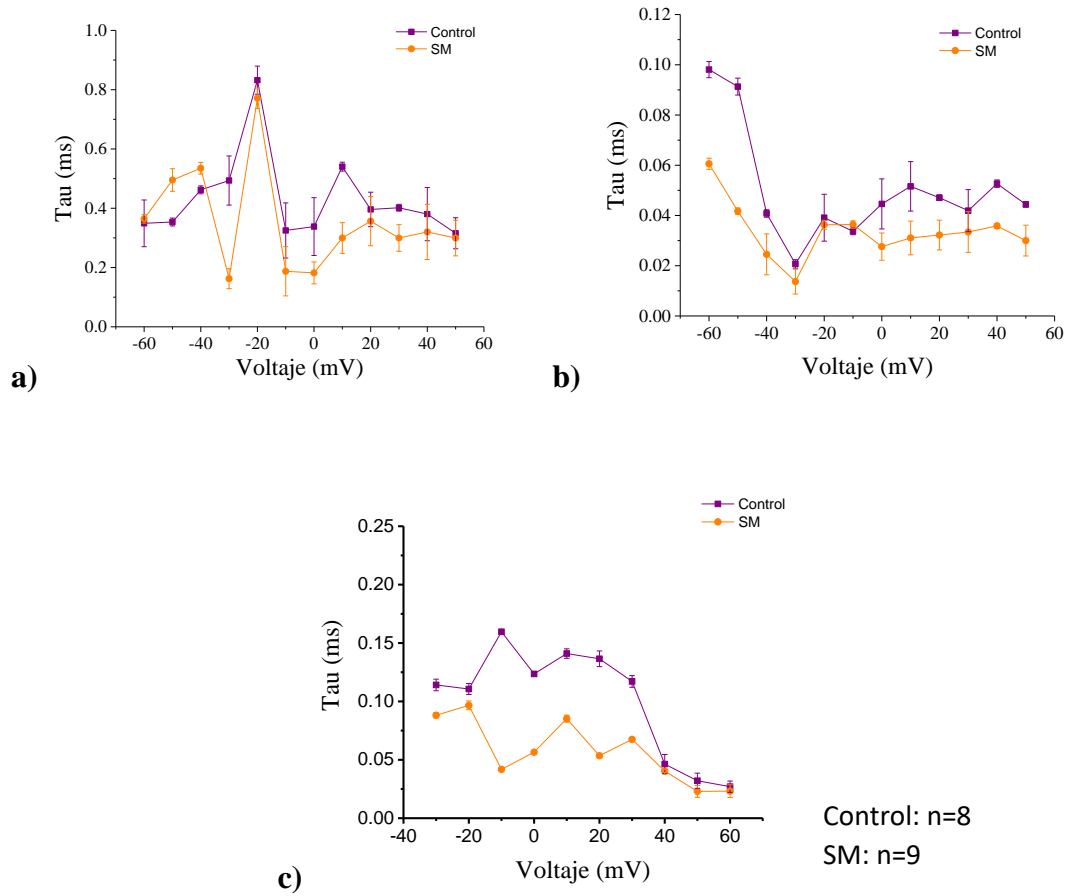


Figura 35. Taus de la corriente I_{to} en endocardio. a) Tau de activación. b) Tau de inactivación. c) Tau de desactivación.

Taus de activación, inactivación y desactivación de I_{to} en papilar derecho.

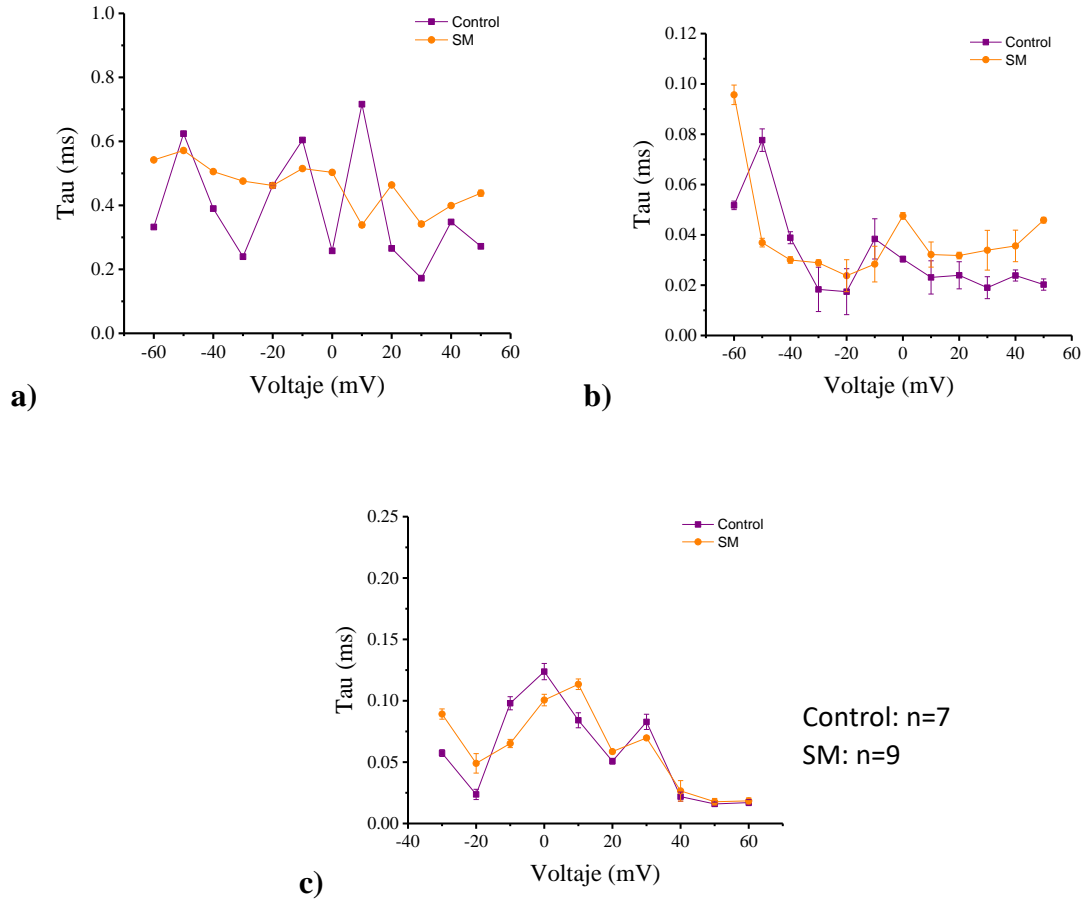


Figura 36. Taus de la corriente I_{to} en endocardio. a) Tau de activación. b) Tau de inactivación. c) Tau de desactivación.

9 DISCUSIÓN

9.1 Modelo animal de síndrome metabólico.

Se ha reportado que en las ratas Wistar con 8 semanas de inducción con sacarosa se produce alteración en el metabolismo de la glucosa, aumento de grasa corporal, dislipidemias e hiperinsulinemia (27). Una ventaja del modelo animal con ratas Wistar es que no tienen predisposición genética a desarrollar diabetes, por lo que un tratamiento de sacarosa al 20% en el agua que beben durante el tiempo previamente establecido es suficiente para que presenten SM semejante al de los humanos (ver tabla 2 y figura 10).

Las dislipidemias reportadas aumentan la posibilidad de sufrir obstrucciones en la circulación coronaria resultando en isquemia del tejido cardíaco. Sin embargo, los cambios eléctricos reportados no diagnostican isquemias, a pesar de reportar concentraciones elevadas de triglicéridos se encontraron valores normales de colesterol (ver tabla 2). Al no presentar uno de los factores de riesgo para la formación de ateromas, no se observaron dichas alteraciones. (36).

La remodelación cardíaca por alteraciones metabólicas involucra a los fibroblastos, colágeno, vasos sanguíneos y cardiomiocitos (37). La alteración en el colágeno puede comprometer la integridad de la matriz extracelular, lo que sería un factor de riesgo que conlleva a la dilatación de las cámaras, como la hipertrofia ventricular. La remodelación cardíaca puede ser tanto estructural como eléctrica (11).

9.2 Arritmias ventriculares producidas por el síndrome metabólico.

La determinación de la remodelación eléctrica de manera macroscópica es mediante el uso de diagramas de Poincaré (18), es decir, si se realiza el diagrama de intervalos RR y determinamos la variabilidad del gráfico, no sólo se pueden determinar alteraciones en la frecuencia cardíaca sino en la interacción entre el sistema simpático y parasimpático en el corazón (17).

Los resultados señalan que la frecuencia cardíaca disminuye, así como también la interacción simpático-parasimpático disminuye y tiene como consecuencia un mayor índice de variabilidad, lo que se relaciona con una mayor probabilidad de presentar arritmias cardíacas.

Al analizar el intervalo RT, se observan alteraciones en la interacción del simpático y parasimpático (SD1/SD2) en el corazón con SM, dato que no se aprecia en el RR, por lo que se propone que el RT del diagrama de Poincaré proporciona más información; confirmando lo propuesto por Albarado y cols., donde encontraron con tinciones que aumenta la innervación en el NSA con SM (38).

Una manera de cuantificar la variabilidad de la frecuencia cardíaca es mediante el diagrama de Poincaré, donde el SD1 determina la variabilidad a corto plazo involucrando la regulación del sistema nervioso simpático, el SD2 determina la variabilidad a largo plazo con la modulación del sistema nervioso parasimpático y el índice SD1/SD2 cuantifica la relación de la variabilidad a corto y largo plazo(17), esta manera de cuantificar la variabilidad de la frecuencia cardíaca se considera una herramienta no invasiva que nos ayuda a cuantificar las alteraciones causadas por la edad, progresión de la enfermedad, y otros cambios fisiopatológicos.

Estas alteraciones influyen en los sistemas osciladores y en la manera en que se acoplan, como la modulación simpática y parasimpática de los latidos cardiacos, además de las propiedades intrínsecas del corazón que dependen de la matriz extracelular, composición del sarcolema (densidad y cinética de canales iónicos, densidad de uniones comunicantes, composición lipídica), tamaño del miocito y distribución de fibroblastos y adipocitos. La etiología de estas alteraciones se relaciona con enfermedades metabólicas (39).

En el análisis del ECG, 87.5% de los animales con síndrome metabólico presentaron arritmias ventriculares. En trabajos previos con un tratamiento de 8 semanas, como el utilizado en este proyecto, también se observaron arritmias supraventriculares, lo que apoya la hipótesis de que existen arritmias que se generan desde el nodo sinoauricular y se propagan hasta el ventrículo (19).

Una de las arritmias encontradas en el síndrome metabólico fueron extrasístoles ventriculares como el bloqueo de rama izquierda, ya que el 30% presentó onda R mellada e inversión de la onda T (ver tabla 5), esta extrasístole es considerada un factor de riesgo para desencadenar fibrilación ventricular (39).

Cabe mencionar que el 28% de los animales en condición control también presentaron arritmias ventriculares esto podría deberse de manera fisiológica al envejecimiento, sin embargo, el porcentaje de arritmias ventriculares es casi 3 veces mayor cuando se indujo la inducción al síndrome metabólico con sacarosa.

9.3 Síndrome de RT largo producido por el síndrome metabólico.

Como se sabe el alargamiento en el intervalo QT está relacionado con la heterogeneidad de la actividad eléctrica ventricular, por lo que al revisar este intervalo se encontraron alteraciones que relacionamos con modificaciones en las corrientes iónicas, pero no se encontró evidencia suficiente en las corrientes totales. Sin embargo, observamos que en la cinética de la corriente I_{to} del modelo con sacarosa hubo cambios en el canal para pasar de un estado a otro.

En ratas ha sido previamente reportado que la despolarización de las 3 distintas regiones ventriculares ocurre a diferentes tiempos, lo que hace imperceptible la deflexión negativa característica de la onda Q (35). Es por ello que para este trabajo se midió el intervalo desde el comienzo de la onda R hasta el final de la onda T (ver figura 13).

Bazzet demostró que el intervalo QT depende de la frecuencia cardiaca, debido a esta relación se debe aplicar una corrección para que este intervalo sea independiente del intervalo RR y para poder detectar algún cambio en la duración del potencial de acción ventricular independientemente de la frecuencia cardiaca. Esta fórmula ha sido utilizada en humanos y para roedores se ha hecho una modificación de esa fórmula para poder tener una mayor precisión (29).

En el humano, el intervalo QT corregido (QTc) tiene una duración entre 0.36 a 0.43 s, un aumento de 5 ms ya es considerado como alargamiento del intervalo (39). En las ratas utilizadas para este proyecto encontramos un alargamiento de 12 ms en el intervalo RT corregido (RTc) producido por

el síndrome metabólico, lo que representa 76% de aumento en la duración del intervalo (ver tabla 6).

Las alteraciones encontradas en la morfología de los potenciales de acción en epicardio, mediomiocardio y endocardio ventriculares (16) pueden explicar esta arritmia (ver figuras 14,15,16 y tablas 7,8,9), por lo que esta tesis propone que las enfermedades metabólicas modifican las duraciones de los potenciales de acción debido a cambios en las corrientes repolarizantes que actúan en estos (40).

9.4 El síndrome metabólico aumenta la heterogeneidad en la repolarización ventricular de células aisladas.

De acuerdo con el trabajo propuesto por Antzelevitch en 2001 se registraron epicardio, septum, pared libre del ventrículo derecho e izquierdo, así como papilar derecho e izquierdo. En este trabajo fueron registradas ambas cámaras ventriculares, ya que en trabajos previos del laboratorio se encontraron diferencias en la repolarización ventricular del endocardio utilizando el registro multicelular de papilar derecho e izquierdo con la técnica de microelectrodos.

El intervalo RT indica la despolarización y repolarización en el potencial de acción de los ventrículos, los gradientes de voltaje de las 3 regiones ventriculares determinan la amplitud y duración de las ondas R y T del ECG, es decir, Antzelevitch en 2004 demostró que el tejido epicárdico es el primero en repolarizar y coincide con el pico de la onda T (amplitud) y el mediomiocardio es el último tejido en repolarizar por lo que se le atribuye la duración de la onda T en perro. (14) (ver figura 6).

En los registros de las células epicárdicas, se corrobora lo propuesto por Antzelevitch, ya que la duración al 90% de la repolarización resultó 2 veces menor comparada con las células del mediomiocardio y endocardio tanto en condición control como en síndrome metabólico, por lo que inferimos que es el primer tejido en terminar la repolarización coincidiendo con el pico de la onda T. En la duración al 10% de la repolarización encontramos valores hasta 50% más bajos en condiciones control y 65% más bajos en el SM comparado con mediomiocardio y endocardio (figura 14), determinando que el potencial de acción en el epicardio cuenta con una corriente prominente de I_{to} en ratas controles (16) y que esta corriente aumenta ante las alteraciones metabólicas.

En el mediomiocardio se realizaron registros en 3 zonas: septum y pared libre de ventrículo derecho e izquierdo para corroborar las diferencias regionales que se presentan en condición control y determinar si estas diferencias se ven alteradas debido al síndrome metabólico. Los valores de la duración de la repolarización al 90% en estas 3 zonas fueron mayores en un 40% comparado con el epicardio y el endocardio en animales control, por lo que confirmamos que las células “m” son las últimas en repolarizar y coinciden como determinantes de la duración de la onda T del ECG. Los efectos producidos sobre miocitos aislados de la pared libre del ventrículo derecho en rata por el SM fueron un aumento de 32% en la duración al 90% de la repolarización, mientras que del lado izquierdo disminuyó 28% (figura15).

Los registros de endocardio se obtuvieron a partir de las células aisladas del papilar derecho e izquierdo determinando las diferencias presentes en cada cámara ventricular. Los valores de la duración de la repolarización al 90% del endocardio derecho con síndrome metabólico aumentaron el doble comparado con los controles y en el endocardio izquierdo con síndrome metabólico disminuyó 30% su duración comparada con los animales en condición control. Mientras que la repolarización al 10% en endocardio izquierdo presentó los valores más elevados en su duración infiriendo que la corriente I_{to} tiene menor densidad en este tejido comparado con epicardio y mediomiocardio (figura 16 y tabla 9).

En el 2005, Nerbonne propone que en cada fase del potencial de acción ventricular participan distintas corrientes iónicas, al haber encontrado alargamiento en el intervalo RT y alteraciones en la morfología del potencial de acción inferimos que la repolarización ventricular ha sido modificada. Para investigar el posible mecanismo por el que las corrientes se alteran se realizaron experimentos para determinar las propiedades de las corrientes repolarizantes de K^+ .

9.5 El síndrome metabólico modifica la densidad y cinética de las corrientes repolarizantes de K^+ .

Los registros de las corrientes se normalizaron con la capacitancia para controlar las diferencias que por el tamaño celular pudieran presentarse en células de un mismo tejido (6). Tanto en endocardio derecho como izquierdo, encontramos un aumento en la capacitancia de la membrana, lo que significa que el tamaño de la membrana celular aumentó. A diferencia del mediomiocardio, donde hubo un aumento en la capacitancia de la membrana en el lado derecho, pero sucedió lo contrario en el mediomiocardio del lado izquierdo, donde disminuyó la capacitancia. La corriente I_{to} tuvo valores más grandes en las células epicárdicas comparadas con el tejido en mediomiocardio y endocardio, como ha sido reportado (32) (figura 20a). En las células “m” hubo diferencias regionales en la corriente I_{to} , ya que en el lado derecho la densidad de corriente aumentó mientras que del lado izquierdo disminuyó a causa del síndrome metabólico (figura 21a y 22a).

La corriente I_k también presentó diferencias regionales, en endocardio izquierdo aumentó la densidad de corriente mientras que en endocardio derecho disminuyó (figura 23a y 24a).

En cuanto a la corriente I_{k1} se observaron valores parecidos en los 3 tejidos en condición control comparado con síndrome metabólico, aunque la duración de la repolarización al 90% de los potenciales de acción sí se modificó.

Aunado a los cambios en las densidades de las corrientes repolarizantes de K^+ en los tejidos ventriculares, también se analizaron las propiedades biofísicas de los canales para determinar si éstos también fueron alterados.

El síndrome metabólico provocó un aumento del 20% de canales que se encuentran activos comparados con la condición control, esto sucedió en epicardio, mediomiocardio y endocardio del lado izquierdo, donde se pueden observar desplazamientos en sus curvas de inactivación (figuras 25,26,27,29). Por el contrario, en mediomiocardio y endocardio del lado derecho se presentó un aumento significativo del 15 y 5% de canales en estado inactivo comparado con la condición

control, respectivamente. Esto se muestra en las figuras 28 y 30, observando desplazamientos en las curvas de activación de manera significativa.

En cuanto a los valores de las taus no se observan cambios, en el único voltaje donde existe una diferencia visible es a 0 mV, por lo que se propone agregar datos experimentales para poder explicar el corrimiento que se presenta en las curvas de inactivación y activación presentadas.

Sin embargo, se propone que el síndrome metabólico a pesar de no alterar las taus de activación, inactivación y desactivación en la corriente I_{to} , sí provoca modificaciones en las corrientes repolarizantes que actúan en el potencial de acción ventricular, así como desplazamientos en las curvas de activación e inactivación generando cambios en la cinética del canal, las alteraciones varían de acuerdo a la región del corazón que se registre, por lo que los cambios electrofisiológicos debido al síndrome metabólico que se reportan en esta tesis están divididos según la zona ventricular.

Cabe mencionar que el exceso de nutrientes como carbohidratos y ácidos grasos en este modelo animal pueden inhibir la señalización a través del fosfolípido PIP_2 , lo que inhibiría la corriente I_{K1} (41), proponiendo que la modulación de la función de la proteína de membrana y excitabilidad celular podrían deberse a cambios en las propiedades biofísicas de la membrana, pero aún no se tiene una clara explicación a nivel cardiaco. Así como también, las alteraciones encontradas en la cámara derecha del corazón están relacionadas con la apnea de sueño, es decir, proponemos que también se está afectando el sistema respiratorio.

10 CONCLUSIONES

- ✓ El síndrome metabólico agudo provoca arritmias ventriculares, como el alargamiento en el intervalo RT, conocido como síndrome de QT largo en humano, lo que puede relacionarse con remodelación por compensación, ya que la densidad de corrientes se ve modificada.
- ✓ La interacción entre sistemas simpático-parasimpático disminuye y tiene como consecuencia un mayor índice de variabilidad, lo que se relaciona con una mayor probabilidad de presentar arritmias cardiacas.
- ✓ Se confirma que el síndrome metabólico altera la heterogeneidad de la repolarización ventricular.
- ✓ El síndrome metabólico modifica las corrientes repolarizantes de K^+ dependiendo la región del corazón, es decir, el aumento del lado derecho y la disminución del lado izquierdo en la duración del potencial de acción.
- ✓ Se confirman desplazamientos en las curvas de activación e inactivación, por lo que el % de canales activos e inactivos se ven modificados por el síndrome metabólico.
- ✓ Se infiere que si las alteraciones en las densidades de corriente no son precisamente por modificaciones en la cinética de los canales, podría estar relacionado con disminución o aumento en la expresión de proteínas.

11 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Berne RM, Koeppen BM, Stanton BA. Berne & Levy physiology. 6th ed., updated ed. ed. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier; 2010.
2. Nerbonne JM, Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol Rev.* 2005 Oct;85(4):1205-53.
3. Roberts AM. The complete human body : the definitive visual guide. London: Dorling Kindersley; 2010.
4. Nass RD, Aiba T, Tomaselli GF, Akar FG. Mechanisms of disease: ion channel remodeling in the failing ventricle. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2008 Apr;5(4):196-207.
5. Mendez C, Mueller WJ, Merideth J, Moe GK. Interaction of transmembrane potentials in canine Purkinje fibers and at Purkinje fiber-muscle junctions. *Circ Res.* 1969 Mar;24(3):361-72.
6. Kornreich BG. The patch clamp technique: principles and technical considerations. *J Vet Cardiol.* 2007 May;9(1):25-37.
7. Beeler GW, Reuter H. Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres. *J Physiol.* 1977 Jun;268(1):177-210.
8. Hille B. Ionic channels of excitable membranes. 2nd ed. ed. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates; 1992.
9. Bett GC, Dinga-Madou I, Zhou Q, Bondarenko VE, Rasmusson RL. A model of the interaction between N-type and C-type inactivation in Kv1.4 channels. *Biophys J.* 2011 Jan 5;100(1):11-21.
10. Litovsky SH, Antzelevitch C. Transient outward current prominent in canine ventricular epicardium but not endocardium. *Circ Res.* 1988 Jan;62(1):116-26.
11. Aroundas AA, Wu R, Juang G, Marban E, Tomaselli GF. Electrical and structural remodeling of the failing ventricle. *Pharmacol Ther.* 2001 Nov-Dec;92(2-3):213-30.
12. Anyukhovskiy EP, Sosunov EA, Rosen MR. Regional differences in electrophysiological properties of epicardium, midmyocardium, and endocardium. In vitro and in vivo correlations. *Circulation.* 1996 Oct 15;94(8):1981-8.
13. Antzelevitch C, Fish J. Electrical heterogeneity within the ventricular wall. *Basic Res Cardiol.* 2001 Nov;96(6):517-27.
14. Antzelevitch C. Ion channels and ventricular arrhythmias: cellular and ionic mechanisms underlying the Brugada syndrome. *Curr Opin Cardiol.* 1999 May;14(3):274-9.
15. Antzelevitch C. Are M cells present in the ventricular myocardium of the pig? A question of maturity. *Cardiovasc Res.* 1997 Oct;36(1):127-8.
16. Antzelevitch C. Transmural dispersion of repolarization and the T wave. *Cardiovasc Res.* 2001 Jun;50(3):426-31.
17. Albarado-Ibanez A, Arroyo-Carmona RE, Sanchez-Hernandez R, Ramos-Ortiz G, Frank A, Garcia-Gudino D, et al. The Role of the Autonomic Nervous System on Cardiac Rhythm during the Evolution of Diabetes Mellitus Using Heart Rate Variability as a Biomarker. *J Diabetes Res.* 2019;2019:5157024.
18. Arroyo-Carmona RE, Lopez-Serrano AL, Albarado-Ibanez A, Mendoza-Lucero FM, Medel-Cajica D, Lopez-Mayorga RM, et al. Heart Rate Variability as Early Biomarker for the Evaluation of Diabetes Mellitus Progress. *J Diabetes Res.* 2016;2016:8483537.
19. Albarado-Ibanez A, Avelino-Cruz JE, Velasco M, Torres-Jacome J, Hiriart M. Metabolic syndrome remodels electrical activity of the sinoatrial node and produces arrhythmias in rats. *PLoS One.* 2013;8(11):e76534.
20. Al Hussein Alawamlh O, Al Hussein Al Awamlh B, Lee RK. Metabolic syndrome and voiding dysfunction. *Curr Opin Urol.* 2017 Sep;27(5):403-8.
21. Lemche E, Chaban OS, Lemche AV. Neuroendocrine and Epigenetic Mechanisms Subservicing Autonomic Imbalance and HPA Dysfunction in the Metabolic Syndrome. *Front Neurosci.* 2016;10:142.

22. Aguilar M, Bhuket T, Torres S, Liu B, Wong RJ. Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA*. 2015 May 19;313(19):1973-4.
23. Mancia G, Bombelli M, Facchetti R, Madotto F, Corrao G, Trevano FQ, et al. Long-term risk of diabetes, hypertension and left ventricular hypertrophy associated with the metabolic syndrome in a general population. *J Hypertens*. 2008 Aug;26(8):1602-11.
24. Moreira GC, Cipullo JP, Ciorlia LA, Cesarino CB, Vilela-Martin JF. Prevalence of metabolic syndrome: association with risk factors and cardiovascular complications in an urban population. *PLoS One*. 2014;9(9):e105056.
25. Aromolaran AS, Boutjdir M. Cardiac Ion Channel Regulation in Obesity and the Metabolic Syndrome: Relevance to Long QT Syndrome and Atrial Fibrillation. *Front Physiol*. 2017;8:431.
26. Hayat SA, Patel B, Khatrar RS, Malik RA. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms, diagnosis and treatment. *Clin Sci (Lond)*. 2004 Dec;107(6):539-57.
27. Larque C, Velasco M, Navarro-Tableros V, Duhne M, Aguirre J, Gutierrez-Reyes G, et al. Early endocrine and molecular changes in metabolic syndrome models. *IUBMB Life*. 2011 Oct;63(10):831-9.
28. Derkach KV, Bondareva VM, Trashkov AP, Chistyakova OV, Verlov NA, Shpakov AO. [Metabolic and hormonal indices in rats with prolonged model of metabolic syndrome induced by high-carbohydrate and high-fat diet]. *Adv Gerontol*. 2017;30(1):31-8.
29. Roussel J, Champeroux P, Roy J, Richard S, Fauconnier J, Le Guennec JY, et al. The Complex QT/RR Relationship in Mice. *Sci Rep*. 2016 May 3;6:25388.
30. Zucker LM, Antoniades HN. Insulin and obesity in the Zucker genetically obese rat "fatty". *Endocrinology*. 1972 May;90(5):1320-30.
31. Ghezzi AC, Cambri LT, Botezelli JD, Ribeiro C, Dalia RA, de Mello MA. Metabolic syndrome markers in wistar rats of different ages. *Diabetol Metab Syndr*. 2012 Apr 27;4(1):16.
32. Casis O, Iriarte M, Gallego M, Sanchez-Chapula JA. Differences in regional distribution of K⁺ current densities in rat ventricle. *Life Sci*. 1998;63(5):391-400.
33. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch*. 1981 Aug;391(2):85-100.
34. Latorre Rn, Sae\z JC. From ion channels to cell-to-cell conversations. New York ; London: Plenum Press; 1997.
35. Konopelski P, Ufnal M. Electrocardiography in rats: a comparison to human. *Physiol Res*. 2016 Nov 23;65(5):717-25.
36. Valensi P, Avignon A, Sultan A, Chanu B, Nguyen MT, Cosson E. Atherogenic dyslipidemia and risk of silent coronary artery disease in asymptomatic patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *Cardiovasc Diabetol*. 2016 Jul 22;15(1):104.
37. Wilson PW, Grundy SM. The metabolic syndrome: practical guide to origins and treatment: Part I. *Circulation*. 2003 Sep 23;108(12):1422-4.
38. Stein PK, Barzilay JI, Domitrovich PP, Chaves PM, Gottdiener JS, Heckbert SR, et al. The relationship of heart rate and heart rate variability to non-diabetic fasting glucose levels and the metabolic syndrome: the Cardiovascular Health Study. *Diabet Med*. 2007 Aug;24(8):855-63.
39. Pardee HEB. Clinical aspects of the electrocardiogram including the cardiac arrhythmias. 4th rev. edition. ed. [S.l.]: Lewis; 1942.
40. Veglio M, Bruno G, Borra M, Macchia G, Barger G, D'Errico N, et al. Prevalence of increased QT interval duration and dispersion in type 2 diabetic patients and its relationship with coronary heart disease: a population-based cohort. *J Intern Med*. 2002 Apr;251(4):317-24.

41. Lopez-Izquierdo A, Ponce-Balbuena D, Moreno-Galindo EG, Arechiga-Figueroa IA, Rodriguez-Martinez M, Ferrer T, et al. The antimalarial drug mefloquine inhibits cardiac inward rectifier K⁺ channels: evidence for interference in PIP₂-channel interaction. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2011 Apr;57(4):407-15.
42. Martagón Domínguez, J.M. (2019). Modelo de la cinética de canales iónicos dependientes de voltaje basado en la ley de acción de masas. Tesis de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
43. Vázquez Pérez, E. M. (2012). Alteraciones de la fuerza de contracción y del potencial de acción de los músculos papilares de rata con síndrome metabólico. Tesis de Químico Farmacobiólogo, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
44. Ortiz Fuentes, B. S. (2018). El síndrome metabólico y el acople excitación-contracción en corazón de rata. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.