



Instituto de Fisiología

**Alteraciones en la expresión de conexinas y en la actividad eléctrica  
cardíaca en un biomodelo de diabetes y obesidad**

Tesis de Investigación para obtener el título

Maestro en Ciencias Fisiológicas

07/24

Presenta

Erick Enrique Rivas Oliver

Asesor de tesis

José Everardo Avelino Cruz

<b>Resumen</b>	<b>4</b>
<b>Introducción</b>	<b>6</b>
Obesidad	6
Diabetes	11
<b>Antecedentes</b>	<b>15</b>
Antecedentes Generales	15
El corazón	15
Ciclo cardiaco	16
Sistema de conducción cardiaco.	17
Actividad eléctrica del corazón	18
Antecedentes Específicos	21
Acople excitación contracción.	21
Conducción del Potencial de acción cardiaco.	23
Electrocardiograma.	29
<b>Justificación</b>	<b>32</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>33</b>
<b>Objetivo general</b>	<b>33</b>
<b>Objetivos específicos.</b>	<b>33</b>
<b>Material y métodos</b>	<b>34</b>
Modelo animal.	34
Registro de ECG	35
Análisis del ECG.	38
Duración ECG	40
Amplitud ECG	41
Variabilidad de la frecuencia cardiaca	42
Representación orbital del ECG	44
Aislamiento de tejido cardiaco	46
Western Blot	46
Análisis de Resultados	48
<b>Resultados.</b>	<b>49</b>
Modelo Animal:	49
Duración de las ondas e intervalos del ECG	51
Duración de la conducción auricular	52
Duración de la conducción Ventricular	54
Amplitud del ECG	57
Análisis de la Variabilidad de la Frecuencia Cardiaca.	59
Representación orbital del ECG	61
Expresión de Cx43	64
<b>Resumen de Resultados</b>	<b>65</b>
<b>Discusión</b>	<b>66</b>
<b>Conclusión</b>	<b>75</b>

## Resumen

La fibrilación auricular (FA) es el trastorno de ritmo cardiaco más común en adultos y está asociada con un mayor riesgo de eventos cerebrovasculares, insuficiencia y muerte súbita cardiaca. La obesidad y diabetes son enfermedades crónicas metabólicas, consideradas factores de riesgo en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Ambas enfermedades han sido relacionadas de manera independiente con el desarrollo de fibrilación auricular (FA).

Los mecanismos patológicos involucrados en el desarrollo de FA a partir de obesidad y diabetes parecen estar relacionados con un proceso de remodelación anatómica y eléctrica, una desregulación metabólica, inflamación y estrés oxidativo. La conexina 43 es una proteína transmembranal que forma uniones comunicantes de baja resistencia, que permiten la comunicación intercelular en el corazón y son importantes en el mantenimiento del ritmo cardiaco al permitir, junto con otros mecanismos, la propagación el potencial de acción en el sistema de conducción cardiaco.

El correcto funcionamiento de las uniones comunicantes es necesario para la función cardiaca normal, sin embargo, estudios previos han reportado alteraciones en la expresión de Cx43 en patologías cardiovasculares como, cardiomiopatía hipertrófica, insuficiencia cardiaca e isquemia. (Michela et al., 2015) Debido al proceso de remodelación, al cual se ve sometido el corazón en condiciones diabéticas y de obesidad y a estudios preliminares realizados en el laboratorio, nos sugieren que la obesidad y diabetes también alteran la expresión de Cx43 lo que podría alterar la velocidad de propagación eléctrica cardiaca y resultar en el desarrollo de arritmias.

En este estudio, evaluamos los niveles de expresión de la conexina 43 (Cx43) y sus implicaciones en la conducción eléctrica del corazón mediante ensayos de Western Blot, análisis morfológicos y electrocardiográficos en ratas. Utilizamos tres grupos: ratas Lean Zucker Diabetic Fatty (LZDF) como control, ratas Zucker Diabetic Fatty hiperglucémicas (OZDF HG) y ratas Zucker Diabetic Fatty normoglucémicas (OZDF NG). A las ratas, de 13 semanas de edad, se les registró el electrocardiograma tanto bajo anestesia como en estado consciente antes de ser sacrificadas para el análisis del corazón. Los registros electrocardiográficos, con una duración mínima de 1 minuto, fueron procesados para determinar la amplitud, duración de intervalos y segmentos, propagación de la despolarización y variabilidad de la frecuencia cardíaca. Además, se cuantificaron las proteínas Cx43 mediante Western Blot en muestras de corazón completo de los tres grupos.

Encontramos aumentos significativos tanto en el peso como en la circunferencia abdominal en los grupos obesos (OZDF GN y OZDF HG) en comparación con el grupo delgado (LZDF), además de un incremento en el contenido total de grasa. Las pruebas de tolerancia a la glucosa revelaron niveles de glucosa plasmática significativamente más altos en el grupo OZDF HG. La duración de la onda P fue significativamente mayor en el grupo OZDF GN, mientras que la duración del segmento PR fue significativamente mayor en el grupo OZDF HG. No se encontraron diferencias significativas en la duración del complejo QRS entre los grupos. Sin embargo, los intervalos QT y QTc se prolongaron en el grupo OZDF HG bajo anestesia. La variabilidad de la frecuencia cardíaca disminuyó en un 20% en el grupo OZDF GN y en un 56% en el grupo OZDF HG. Las amplitudes de las ondas P y R aumentaron en el grupo OZDF GN y la amplitud de la onda T aumento en los grupos OZDF HG y OZDF GN. Se observó una reducción significativa en la expresión de conexina 43 en el grupo OZDF HG, sugiriendo una posible relación entre la disminución de la expresión de Cx43 y las alteraciones en la actividad eléctrica cardíaca. Estos hallazgos destacan el impacto de la obesidad y la hiperglucemia en la función cardíaca y subrayan la importancia de la conexina 43 en el mantenimiento de una conducción cardíaca normal.

# Introducción

## Obesidad

La obesidad y el sobrepeso son condiciones en las cuales se observa una acumulación excesiva de grasa en el cuerpo. El método diagnóstico más usado es el índice de masa corporal (IMC), definido como el peso de una persona en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura de la persona en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). (OMS, 2010).

$$\frac{\text{Peso Kg}}{\text{Altura m}^2} > 30\text{kg}/\text{m}^2$$

En los adultos, un IMC mayor a 30 es clasificado como obesidad, valores por encima de este son considerados como obesidad severa, siendo valores  $\geq 35 \text{ kg}/\text{m}^2$  obesidad grado 2 y valores  $\geq 40 \text{ kg}/\text{m}^2$  obesidad grado 3. (OMS., 2021).

Los niveles de incidencia global de sobrepeso y obesidad (tabla 1) ( $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) sugieren que más de 4 000 millones de personas podrán verse afectadas en 2035, en comparación con los más de 2 600 millones en 2020. Esto refleja un aumento del 38 % de la población mundial en 2020 a más del 50%. Se prevé que la prevalencia de la obesidad ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) aumente del 14 % al 24 % de la población total durante el mismo período, afectando a casi 2 000 millones de adultos, niños y adolescentes para 2035.(Lobstein et al., 2023)

Tabla 1. **Prevalencia de Obesidad a nivel mundial**, traducida de World Atlas of Obesity 2023.(Lobstein et al., 2023)

Prevalencia de obesidad a nivel mundial	2010		2020		2025		2030	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<b>Mujeres</b>								
Obesidad (clases 1,2 y 3)	14	304m	17	445m	18	512m	20	586m
Obesidad severa (clases 1,2 y 3)	4	100m	6	159m	7	188m	7	219m
Obesidad severa (clases 1,2 y 3)	1	32m	2	54m	2	65m	3	77m
<b>Hombres</b>								
Obesidad (clases 1,2 y 3)	9	207m	13	324m	14	380m	15	439m
Obesidad severa (clases 1,2 y 3)	2	44m	3	79m	3	96m	4	114m
Obesidad severa (clases 1,2 y 3)	0.5	11m	1	22m	1	28m	1	34m
<b>Adultos</b>								
Obesidad (clases 1,2 y 3)	11	511m	15	764m	16	892m	18	1025 m
Obesidad severa (clases 1,2 y 3)	3	143m	5	238m	5	284m	6	333m
Obesidad severa (clases 1,2 y 3)	1	42m	2	77m	2	93m	2	111m

La prevalencia de obesidad en México, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 (Ensanut) es del 36.1%; 40.1% en mujeres y 30.5% en hombres. El

análisis de tendencia de obesidad de los últimos años en México sugiere que incrementó en un 42.2% en el periodo correspondiente del 2000 al 2018, Este aumento en puntos porcentuales es del 2.3%. Entre 2012 y 2018 se observó un incremento pronunciado de 9.8% comparado con un incremento del 6.2% entre 2006 y 2012, lo que sugiere que no se está alcanzando un estado de meseta o equilibrio en la incidencia de obesidad, sino que se encuentra en constante crecimiento. (Barquera et al., 2018)

En México se documentó, que en las últimas dos décadas algunas de las comorbilidades asociadas con la obesidad, como lo son diabetes, e hipertensión, contribuyen en gran parte a la mortalidad, discapacidad y muerte relacionadas con esta patología .(Barquera et al., 2018)

La obesidad por sí sola es un factor de riesgo importante en el desarrollo de diversas enfermedades cardiovasculares, lo que puede resultar en alteraciones tanto estructurales como funcionales. Estas alteraciones pueden afectar diferentes partes del organismo, como el corazón, los vasos sanguíneos y el sistema circulatorio en general. Además, debido a la agrupación de otros factores de riesgo relacionados con la obesidad, esta puede amplificar el riesgo de desarrollar patologías cardiovasculares por mecanismos sinérgicos como, un aumento en la frecuencia cardiaca y volumen sanguíneo, así como un aumento en las presiones diastólica y sistólica. (Aurigemma et al., 2013; Fruh, 2017; Lavie et al., 2009)

Múltiples estudios han demostrado que una remodelación estructural similar a la que ocurre en pacientes con cardiopatía estructural ocurre en el ventrículo izquierdo durante la obesidad. El tejido graso que rodea a los órganos es metabólicamente activo, requiere energía y produce una serie de compuestos que afectan al sistema cardiovascular tanto directa como indirectamente, los altos requerimientos metabólicos tanto de la grasa corporal como de la grasa visceral generan un mayor gasto cardíaco y carga de trabajo, resultante en un aumento en la masa del ventrículo izquierdo. (Aurigemma et al., 2013)

Este aumento en el gasto cardíaco está relacionado con la acumulación tanto de masa libre de grasa como de grasa, y se sostiene por un aumento tanto en el volumen sistólico como en la frecuencia cardíaca. Como consecuencia, los individuos obesos presentan un trabajo sistólico aumentado, atribuible tanto a la sobrecarga de volumen como a la falta de una disminución compensatoria en la resistencia vascular periférica.(Aurigemma et al., 2013).

El aumento en la masa del ventrículo izquierdo corresponde al incremento de tamaño observado tanto en la hipertrofia ventricular izquierda concéntrica como en la excéntrica. En individuos obesos, este fenómeno se asocia con un aumento del trabajo sistólico, que puede atribuirse tanto a la sobrecarga de volumen como a la ausencia de una disminución compensatoria en la resistencia periférica en la presión arterial. Como resultado, la carga de presión en los corazones de personas obesas supera la de aquellas con un peso normal, incluso cuando los valores de presión arterial se encuentran dentro de rangos considerados normales. (Aurigemma et al., 2013; Nalliah et al., 2016)

La remodelación auricular como resultado de la obesidad abarca más que los cambios anatómicos y funcionales descritos anteriormente. Estudios recientes han identificado una significativa remodelación eléctrica auricular. Los pacientes obesos con fibrilación auricular presentan un periodo refractario efectivo auricular y de la vena pulmonar más cortos en comparación con sus contrapartes de peso normal.

En un modelo ovino de obesidad inducida por dieta, se ha demostrado un ralentizamiento de la conducción auricular con una heterogeneidad de conducción aumentada que conduce a una mayor inducción de FA. Además, estos cambios eléctricos se observaron junto con un aumento de la fibrosis intersticial atrial, inflamación y lipidosis miocárdica. (Mandry et al., 2021)

La obesidad está relacionada con una amplia variedad de alteraciones en el registro electrocardiográfico. Se ha encontrado que una mayor adiposidad, medida por el índice de masa corporal, está significativamente asociada con mayores índices de onda P electrocardiográfica, incluyendo duración de la onda P, intervalo PR y fuerza terminal

de la onda P, lo que indica una remodelación electrofisiológica auricular subyacente. (H. Chen et al., 2020; Pathak et al.; Wojcik et al., 2012)

El análisis del electrocardiograma en pacientes obesos revela frecuentemente alteraciones en la conducción, siendo particularmente relevante el estudio del intervalo QT. Este intervalo representa la duración global de la actividad eléctrica del miocardio ventricular. El alargamiento del intervalo QT es un indicador diagnóstico de repolarización anormal, lo cual se asocia con el desarrollo de arritmias y muerte súbita en diversas cardiopatías y en la población general.

La obesidad ha sido asociada con alteraciones estructurales, eléctricas y hemodinámicas en la aurícula. En este contexto, se eleva el interés sobre la obesidad como factor de riesgo en el desarrollo de arritmias y alteraciones en la conducción eléctrica cardíaca. (Hunter et al., 2005; Nalliah et al., 2016)

## Diabetes

La diabetes es definida como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultante de defectos en la secreción de insulina, la acción de ésta o ambas. La hiperglucemia crónica asociada a la diabetes está relacionada con daño y falla a largo plazo de distintos órganos, particularmente ojos, riñón y corazón. (Association, 2014)

Una gran parte de los casos de diabetes caen en una de dos categorías etiopatogénicas: tipo 1, cuya causa se debe a una deficiencia absoluta en la secreción de insulina y tipo 2, cuya causa es una combinación de resistencia a la acción de la insulina y una inadecuada respuesta secretora compensatoria a la previa resistencia. (Association, 2014)

Existen múltiples vías para el diagnóstico efectivo de la diabetes basándose en la medición de glucosa en sangre. (tabla 2) (*Diabetes*, n.d.)

Tabla 2. **Pruebas para el diagnóstico de diabetes mellitus y sus criterios diagnósticos.** (*Diabetes, n.d.*)

Prueba	Criterios diagnósticos		
Hemoglobina glicosilada o A1C	Evalúa el promedio de la glucosa en sangre del individuo en los pasados 2 a 3 meses.		
	Normal ≤ 5.6%	Pre diabetes 5.7% a 6.4%	Diabetes ≥ 6.5%.
Glucosa plasmática en ayuno	Evalúa los niveles de glucosa tras 8 horas de ayuno.		
	Normal < 100 mg/dl	Pre diabetes 100 a 125 mg/dl	Diabetes >126 mg/dl
Prueba de tolerancia oral a la glucosa	Evalúa los niveles de glucosa 2 horas después y antes de la ingesta de una bebida azucarada.		
	Normal < 140 mg/dl	Pre diabetes 140 a 199 mg/dl	Diabetes >200 mg/dl
Prueba casual de glucosa en plasma	Al presentar síntomas severos de diabetes se evalúa a cualquier hora del día con o sin ayuno.		
	Glucosa en plasma ≥ 200 md/dl		

A nivel mundial se estima que 463 millones de personas sufren de diabetes, lo que representa un 9.3% de la población adulta y se espera que la cifra aumente a 578 millones (10.2%) en 2030 y 700 millones (10.9%) en 2045.(Saeedi et al., 2019)

En México, de 2006 a 2016, la diabetes diagnosticada aumentó del 7,3% al 9,5% de la población, mientras que la diabetes no diagnosticada disminuyó del 7,1% al 4,1%, lo que da una prevalencia total de diabetes del 14,4% en 2006 y del 13,7% en 2016. En

contraste, la prevalencia estimada de diabetes para la región de las Américas por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2014 fue del 8,3%, lo que convierte a México en uno de los países más afectados por la diabetes, en la región. (Basto-Abreu et al., 2021) En años más recientes se observó que la prevalencia de diabetes total se ha mantenido relativamente estable entre 2018 y 2020, de 14.4 millones a 15.7; sin embargo, el número de personas que padecieron diabetes incremento de 7,3 a 12.8 millones en 2020.(Basto-Abreu et al., 2021)

El corazón se ve afectado por la diabetes, siendo la enfermedad coronaria y los eventos cardiovasculares los casos más documentados. Sin embargo, también se han observado múltiples cambios significativos en la función y morfología cardíaca debido a procesos de remodelación desencadenados por la hiperglucemia. Entre estos cambios, se destaca la afectación del sistema eléctrico cardíaco. (Fowlkes et al., 2013; Koektuerk et al., 2016)

El sistema eléctrico cardíaco se ve afectado de manera importante, las modificaciones particulares en la estructura, el funcionamiento eléctrico y electromecánico del corazón en pacientes diabéticos podrían establecer una base anatómica para la aparición de la FA. Además, cambios repentinos en los niveles de glucosa, tanto en su déficit como en su exceso, en los niveles de electrolitos o en el equilibrio ácido-base, así como alteraciones en el sistema autónomo, podrían desencadenar la arritmia. (Koektuerk et al., 2016)

Algunas de las alteraciones causadas por un proceso de remodelación asociado a la DM tendrán como resultado múltiples cambios como un aumento en tejido fibroso auricular, aumento en el retardo interauricular electromecánico acompañado de falla en la función diastólica cardíaca. En otros estudios realizados en biomodelos animales se reportó una propagación del impulso miocárdico deteriorada en ratas Zucker Diabetic Fatty (ZDF) así como una disminución en la velocidad de conducción en el tejido cardíaco en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina (STZ). (Axelsen et al., 2015; Koektuerk et al., 2016)

La influencia de la diabetes en los cambios electrofisiológicos del corazón es evidente en el registro electrocardiográfico, puesto que se ha reportado en múltiples estudios prolongación del intervalo QT, cambios en la amplitud de la onda R, disminución en la velocidad de conducción, así como señales de neuropatía autonómica. Otros estudios reportan un intervalo PQ prolongado, así como la presencia de complejos QRS fragmentados, los cuales se asociaron con una función comprometida del ventrículo cardiaco. Algunos autores incluso han propuesto una relación lineal positiva entre la prolongación del intervalo QTc y la neuropatía autonómica cardíaca diabética (DAN). (Grisanti, 2018; Pathak et al.; VanHoose et al., 2010)

Las alteraciones presentes en la diabetes mellitus la convierten en un factor de riesgo independiente para el desarrollo de trastornos del ritmo cardíaco, como la fibrilación auricular (FA), ya que las personas con DM tienen un 40% más de probabilidades de desarrollarlos. (Homan et al., 2019; Koektuerk et al., 2016; Paneni, 2008; Wang et al., 2019)

A nivel molecular, la diabetes afecta la comunicación célula-célula, alterando los niveles de expresión de conexina 43 (Cx43) en diferentes biomodelos diabéticos. En ratas STZ se observó una disminución en la expresión de Cx43 total y fosforilada mientras que otro estudio utilizando el mismo modelo reportó un aumento en la expresión de Cx43 como en un estudio realizado en ratones db/db. Un último estudio realizado en ratas ZDF, no encontró cambios en la expresión de Cx43, sin embargo, se observó una reducción en la velocidad de conducción eléctrica. (Grisanti, 2018; Koektuerk et al., 2016)

Los hallazgos previamente reportados, así como trabajos realizados previamente en el laboratorio, nos llevan a preguntarnos. ¿Cómo se ven afectados la comunicación intracelular y la conducción eléctrica cardíaca en condiciones patológicas como la DM?

# Antecedentes

## Antecedentes Generales

### El corazón

El corazón es un órgano hueco que se encarga de bombear sangre a todo el organismo, distribuyendo así, oxígeno y nutrientes y removiendo productos del metabolismo celular de todo el cuerpo (Barret. , 2021)

El corazón está formado por 2 bombas separadas por un séptum: una bomba derecha que bombea sangre a los pulmones y una bomba izquierda que bombea sangre hacia los órganos periféricos. A su vez, cada una de estas bombas se divide en una cámara superior o aurícula y una inferior o ventrículo. (Hall J. , 2011)

El corazón está formado por tres tipos principales de músculo cardíaco: auricular, ventricular y fibras musculares especializadas de excitación y conducción. Los músculos auriculares y ventriculares son muy similares al músculo esquelético, con un par de diferencias morfológicas y en la duración de sus contracciones. El músculo especializado se contrae débilmente, pues su principal función es la de conducir descargas eléctricas rítmicas en forma de potenciales de acción por todo el corazón, coordinando así la contracción de las cámaras cardíacas durante el ciclo cardíaco. (Hall J. , 2011)

El músculo cardíaco se comporta como un sincitio, es decir, funciona como una sola unidad coordinada gracias a los discos intercalares, los cuales se forman por la unión de células musculares individuales entre sí. En cada uno de estos discos intercalares se encuentran uniones comunicantes o Gap Junctions (GJ, por sus siglas en inglés) que conectan a dos células, permitiendo una rápida propagación del potencial de acción a través de los discos intercalares. Por lo tanto, el músculo cardíaco es un sincitio funcional en el cual múltiples células musculares interconectadas entre sí facilitan la propagación del potencial de acción de célula a célula. Es importante este proceso para

lograr una contracción síncrona y a su vez el bombeo y ciclos cardiacos adecuados. (Hall J. E., 2011)

## Ciclo cardiaco

El ciclo cardíaco se refiere a la serie de procesos que toman lugar al inicio de un latido y terminó al comienzo del siguiente (Figura 1). Este se divide en 4 fases generales, siendo estas las correspondientes a la sístole, la cual se refiere a los eventos asociados con la contracción (fase 2) y eyección ventricular (fase 3), y la diástole refiriéndose al resto del ciclo relajación (fase 4) y llenado ventricular (fase 1) (Klabunde, 2005; Boron, 2012)

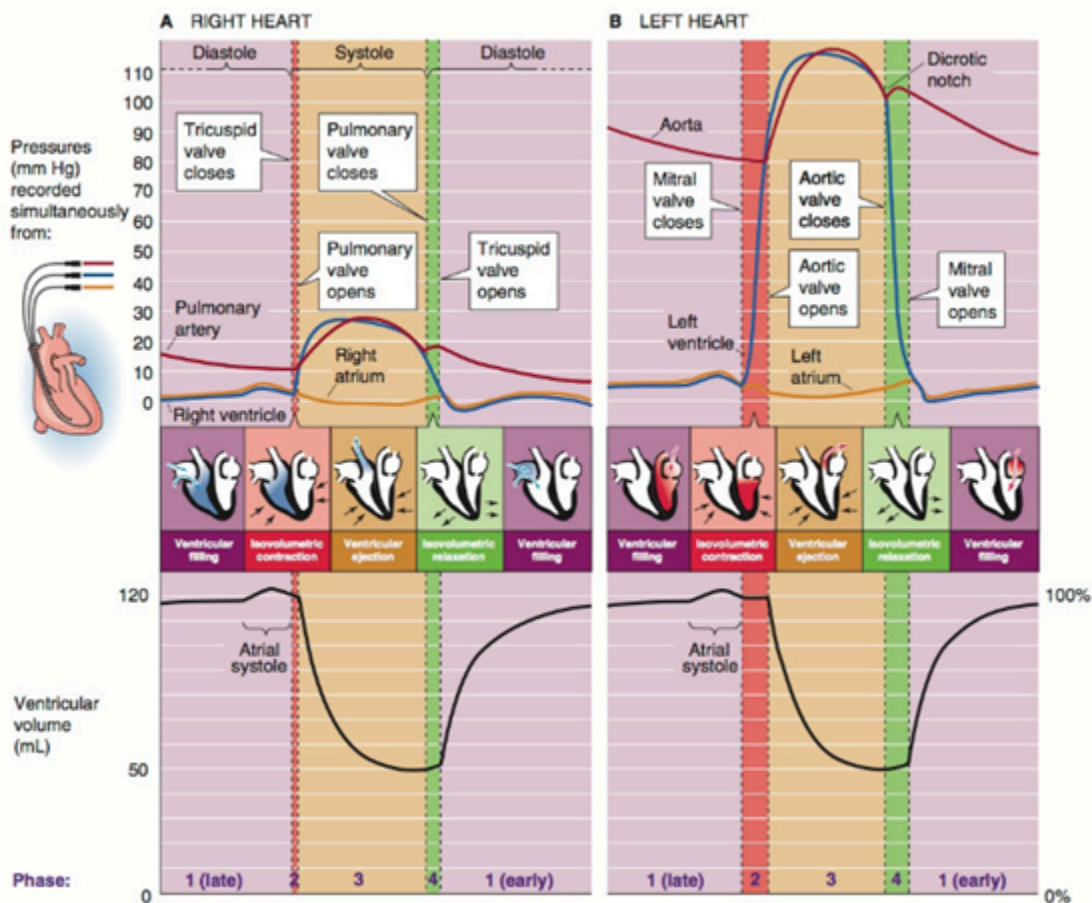


Figura 1. **Ciclo cardíaco.** Se ven representados todos los eventos que ocurren durante las fases de diástole y sístole del ciclo cardíaco, así como las presiones de la arteria pulmonar, aorta y ventrículos derecho e izquierdo.

Cada ciclo es iniciado por la generación espontánea de un potencial de acción en el nódulo sinusal, el potencial de acción viaja desde aquí por ambas aurículas hacia los ventrículos pasando por el nodo auriculoventricular el cual retrasa el impulso cardiaco. Esto permite que las aurículas se contraigan antes de la contracción ventricular, bombeando de esta manera sangre hacia los ventrículos antes de que comience la contracción ventricular. (Hall J., 2011)

### Sistema de conducción cardiaco.

La actividad eléctrica del corazón se origina en el nodo sinoauricular (NSA), un grupo de células ubicadas en la aurícula derecha que se despolarizan espontáneamente, generando un potencial de acción (PA). Este PA se propaga a través de las células cardíacas mediante las uniones gap (GJ), recorriendo todo el corazón (Figura 2).

Las células cardíacas son excitables y presentan una actividad eléctrica característica, manifestada como el potencial de acción, una despolarización transitoria del potencial de membrana generada por cambios en la conductancia iónica transmembranal (Boron, 2012).

El PA generado en el NSA se propaga a través de la aurícula izquierda a una velocidad de conducción de 0.5 m/s, siguiendo los tractos internodales y despolarizando las aurículas hasta llegar al nodo auriculoventricular (NAV) (ubicado en la región posterior inferior del tabique interauricular) el cual reduce la velocidad de conducción del impulso a aproximadamente 0.05 m/s, una décima parte de la velocidad en el resto del tejido. (Klabunde, 2005; Zipes & Jalife, 2004, Klabunde, 2005).

Los potenciales de acción que salen del nódulo AV entran en la base del ventrículo en el haz de his y luego siguen las ramificaciones izquierda y derecha a través del tabique interventricular, en el cual se observa una velocidad de conducción de 2 m/s. Por último, el sistema de his se dividirá en fibras de Purkinje, las cuales conducen a una

velocidad de 4 m/s a través de los ventrículos. Las células de las fibras de Purkinje se conectan con los miocitos ventriculares, que se convierten en la vía final para la conducción de célula a célula dentro de los ventrículos. (Klabunde, 2005).

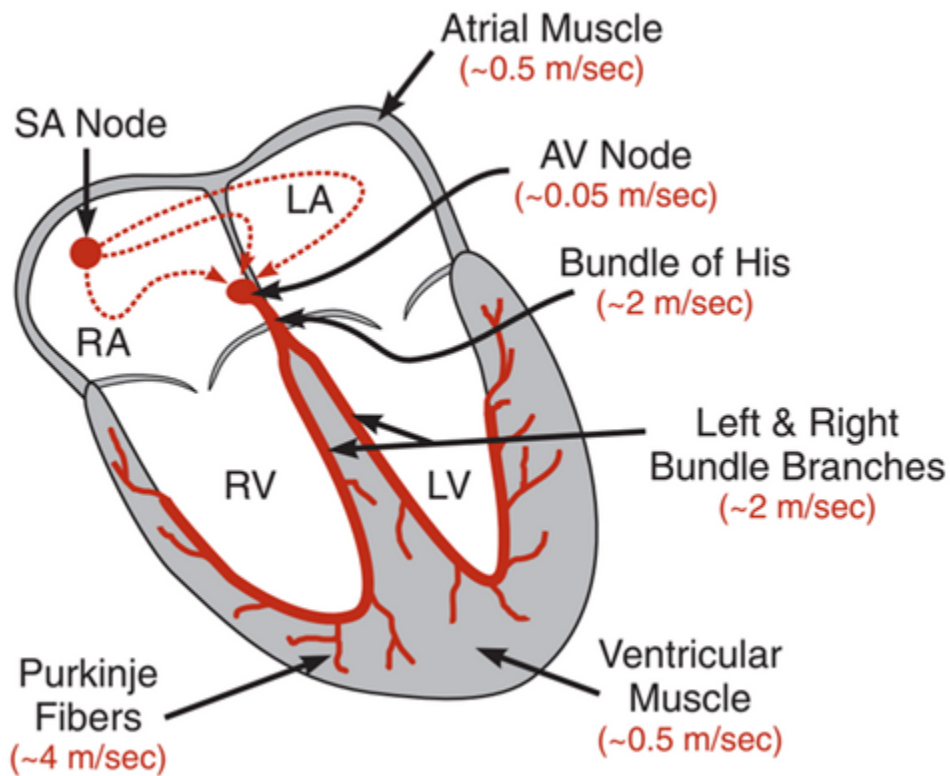


Figura 2. **Sistema de conducción cardíaco.** En el esquema se ve representado en rojo el sistema de conducción cardíaco, así como sus correspondientes velocidades de conducción en las distintas regiones del corazón. (Klabunde2005)

### Actividad eléctrica del corazón

Los canales iónicos son proteínas de membrana integral expresadas de manera ubicua en el cuerpo, que controlan el paso de varios iones ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) a través de las membranas celulares. La dirección del transporte iónico a través de un canal iónico abierto se deberá al gradiente electroquímico del ion en cuestión. En células excitables como los cardiomiocitos, la actividad de canales iónicos distintos establece el potencial

de membrana en reposo y genera potenciales de acción que controlan el proceso de contracción cardíaco.(Subramanyam & Colecraft, 2015)

La forma y duración del potencial de acción cardíaco será diferente entre los diferentes tipos de células cardíacas, como las células marcapasos del NSA y las células musculares tanto ventriculares como auriculares. Las diferencias específicas en los tipos de canales iónicos y los genes controladores que codifican su estructura son responsables de las diferencias en el potencial de acción cardíaco entre diferentes tipos de células cardíacas. (Boron, 2012)

El potencial de acción cardíaco se divide en cinco fases (0-4) (tabla 3), cada una de las cuales se caracteriza por la apertura y el cierre de canales iónicos específicos. Estas se deberán principalmente a 4 corrientes iónicas:

1. Corriente de Sodio ( $I_{Na}$ ): responsable de la fase de despolarización rápida del potencial de acción en aurícula, ventrículo y fibras de Purkinje.
2. Corriente de Calcio ( $I_{Ca}$ ): Responsable de la fase de despolarización rápida del potencial de acción en los nodos SA y AV.
3. Corriente de Potasio ( $I_K$ ): Responsable de la fase de repolarización del potencial de acción en todos los cardiomiocitos.
4. Corriente Marcapasos ( $I_f$ ): Responsable de la actividad marcapasos de los nodos SA y AV así como de las fibras de Purkinje.

Tabla 3: **Fases del potencial de acción cardíaco y sus componentes iónicos.** (Mangoni et al., 2008; Nerbonne & Kass, 2005)

Fase	Descripción
Fase 0	Fase de subida del potencial de acción. Generado por corrientes entrantes $I_{Ca}$ e $I_{Na}$
Fase 1	Fase de repolarización rápida del potencial de acción. Corresponde a una repolarización inicial rápida que está dada predominantemente por una corriente saliente de $K^+$ ( $I_{to}$ ) y por la inactivación casi total de $I_{Ca}$ e $I_{Na}$ .
Fase 2	Fase de meseta del potencial de acción. Generada por la corriente entrante tipo L de $Ca^{+2}$ ( $I_{Ca-L}$ ) y a las corrientes rectificantes rápida y lenta de $K^+$ ( $I_{Kr}$ e $I_{Ks}$ )
Fase 3	Fase de repolarización del potencial de acción, dada por la inactivación de los canales de $Ca^{+2}$ y el incremento de las corrientes de $K^{+2}$
Fase 4	Fase diastólica eléctrica del potencial de acción. (Voltaje de membrana durante la fase 4 se denomina Potencial Diastólico)  En los nodos, cambios en las corrientes de $I_K$ , $I_{Ca}$ , e $I_f$ <i>generarán</i> la actividad marcapasos en la fase 4.

El potencial de acción de las células marcapasos es diferente al de las células contráctiles y es responsable de la generación espontánea del potencial de acción cardíaco, se describen 2 tipos de potenciales de acción cardiacos, tipo 1 de respuesta rápida (miocitos ventriculares, auriculares y fibras de Purkinje) y el tipo 2 o de respuesta lenta, (Nodos sinoauricular y auriculoventricular) (Pappano & Wier, 2012).

El potencial de acción cardíaco en células marcapasos se caracteriza por una fase de despolarización lenta o tipo 2 (fase 4), seguida por una fase de despolarización rápida (fase 0), una breve fase de repolarización (fase 1), una fase de meseta (fase 2) y una fase final de repolarización (fase 3) (Figura 3). El potencial de acción cardíaco en células contráctiles se caracteriza por una fase de despolarización rápida (fase 0), una

breve fase de repolarización (fase 1), una fase de meseta (fase 2) y una fase final de repolarización (fase 3). (Pappano & Wier, 2012)

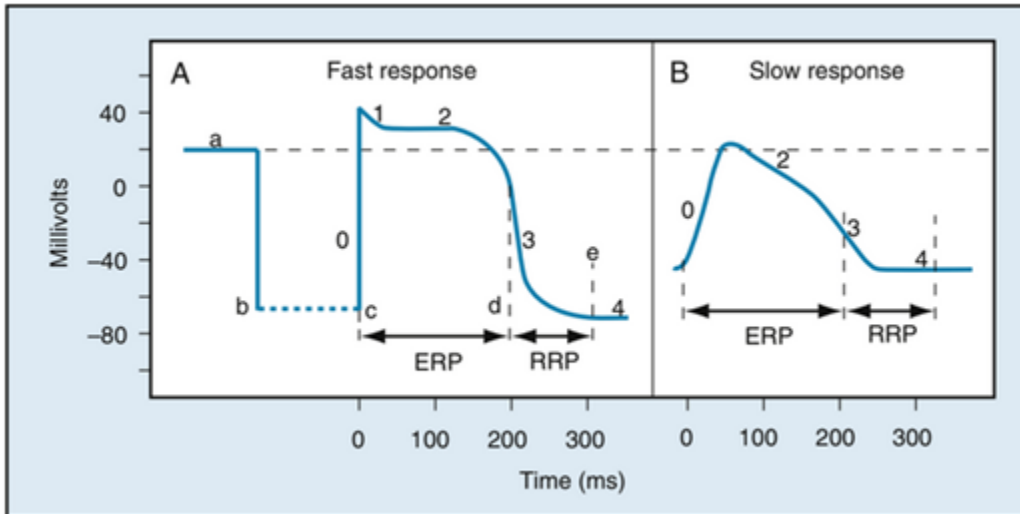


Figura. 3. **Potenciales de acción de respuesta rápida y lenta.** En el esquema se observan registros tomados en tejido cardiaco aislado. Se observan los periodos refractario efectivo (ERP) y el periodo refractario relativo (RRP).

Un sistema de conducción sano y una correcta actividad y propagación eléctrica cardiacos son de vital importancia, puesto que permiten la despolarización rápida, organizada y continúa originando la contracción de los cardiomiocitos. Si el sistema de conducción se presentase una función alterada como sucede en condiciones patológicas, puede verse reflejado en una alteración en las derivaciones del ECG así como de la velocidad de conducción cardiaca que podría tener como consecuencia desde arritmias e hipertrofias hasta insuficiencia cardiaca. (Klabunde, 2005)

## Antecedentes Específicos

Acople excitación contracción.

El acople excitación contracción es el proceso mediante el cual el potencial de acción genera la contracción del miocito cardiaco. Este proceso es posible debido a las características de la célula y dependerá de la asociación entre el retículo sarcoplásmico

y la membrana de los túbulos t, puesto que estos permiten la transmisión del potencial de acción al interior del miocito iniciando así el acople excitación, contracción de manera coordinada en toda la célula muscular. (Manfra et al., 2017)

Cuando un potencial de acción se genera sobre la membrana del músculo cardiaco, este se propaga a través de la red de túbulos t gracias a la activación secuencial de diferentes canales iónicos (Figura 4). La activación de canales de calcio dependientes de voltaje tipo L permite la entrada de  $Ca^{2+}$  y la apertura de la isoforma 2 del receptor de rianodina (RyR2) estos se encuentran localizados en proximidad (15 nm) formando un sitio de acople funcional entre el túbulo t y la cisterna terminal del retículo sarcoplasmático llamado “coplón”. (Eisner et al., 2017)

En los RyR2 se reúnen proteínas regulatorias (calmodulina, proteína de anclaje FK-506, PKA, sorcina, fosfatasas 1 y 2 ) que participan en el proceso de liberación de calcio del retículo sarcoplásmico, así elevando la  $[Ca^{2+}]_i$ . A este proceso se le conoce como liberación de calcio inducida por calcio o CICR, por sus siglas en inglés. Al aumentar la  $[Ca^{2+}]_i$  permitiéndole a este unirse a la proteína troponina C, la cual forma parte de la maquinaria contráctil comenzando el proceso de contracción muscular. (Bers, 2002; Boron & Boulpaep, 2012; Hall J. , 2011)

El proceso de relajación se lleva a cabo por la reducción en la concentración de  $[Ca^{2+}]_i$  la cual ocurre a través de 3 mecanismos principales: La recaptura de  $Ca^{2+}$  mediante calcio ATPasa del retículo sarcoplasmático o SERCA, la salida de  $Ca^{2+}$  a través del intercambiador Na/Ca tipo 2 (NCX) y por la calcio ATPasa de la membrana plasmática (PMCA).

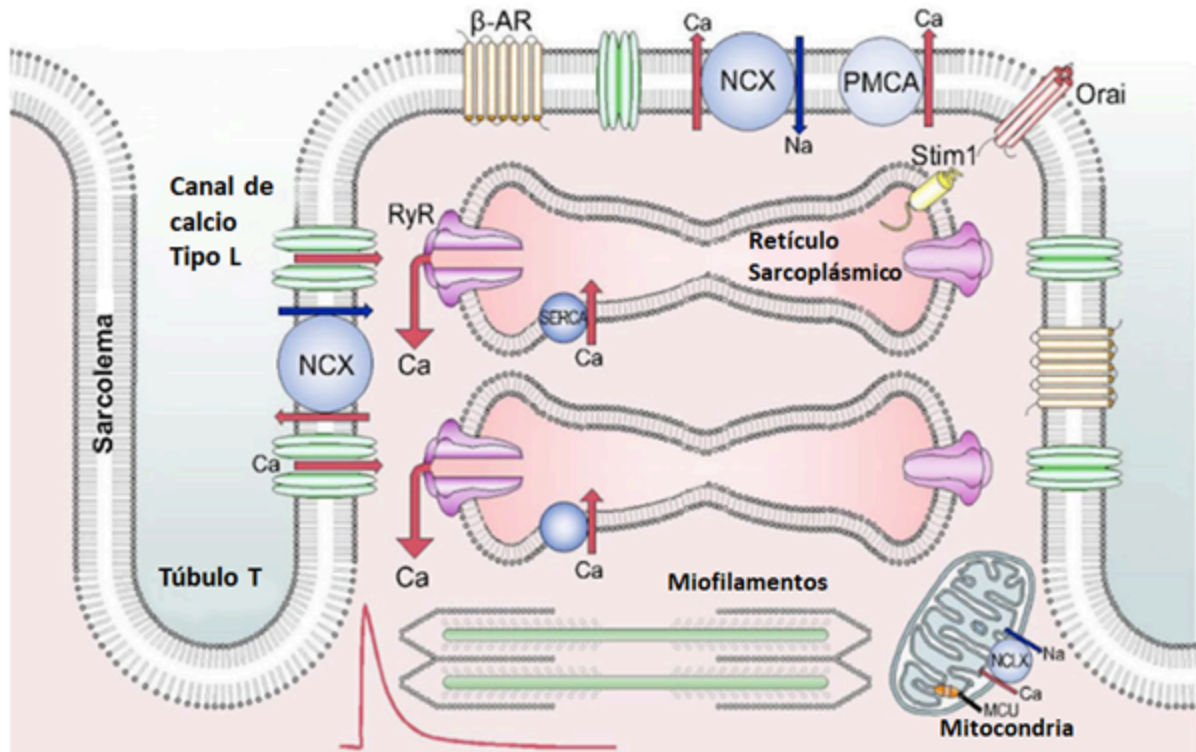


Figura. 4. **Componentes involucrados en el acople excitación contracción.** En el esquema se observan las estructuras involucradas en la regulación de calcio durante el acople excitación contracción.

### Conducción del Potencial de acción cardíaco.

Las uniones comunicantes o gap junctions (Gj) son canales intercelulares especializados que permiten la transferencia directa de iones y pequeñas moléculas entre células adyacentes. Varios compuestos con una masa de hasta 1000 Da pueden cruzar a través de una Gj por difusión pasiva., es decir, moléculas pequeñas como iones, aminoácidos, nucleótidos, segundos mensajeros (Ca<sup>2+</sup>, cAMP ,cGMP , IP3), y otros metabolitos como ADP, glucosa y glutamato, así como los gradientes eléctricos generados por lo iones, permitiendo que se difundan de célula a célula y generando así la actividad eléctrica coordinada en el corazón.(Jongsma & Wilders, 2000; Verheule & Kaese, 2013)

Cada G<sub>j</sub> está formada por el acoplamiento cabeza con cabeza de dos hemicanales o conexones, cada uno formado por seis moléculas transmembranales llamadas conexina (Cx) dispuestas hexagonalmente alrededor de un poro acuoso (Rodríguez-Sinovas et al., 2021). Los hemicanales son los componentes de las uniones comunicantes y son activos por sí mismos, permitiendo el intercambio de iones y pequeñas moléculas entre la célula y el medio extracelular (Batra et al., 2012).

Las conexinas son una familia de proteínas que forman las subunidades de los hemicanales y G<sub>j</sub>. En el corazón, se expresan diferentes tipos de conexinas en diferentes tipos de células, como la conexina 43 en los miocitos ventriculares y la conexina 40 en los miocitos auriculares. Hay al menos 21 genes codificantes diferentes de conexina en humanos, y cada proteína de conexina tiene un patrón de distribución único y propiedades funcionales, sin embargo, en el corazón solo algunas han sido descritas como capaces de formar canales Gap y su distribución no es uniforme (Verheule & Kaese, 2013).

En humanos las isoformas expresadas son: Cx43, Cx40, Cx45, Cx46, Cx37, Cx35 y Cx30, de las cuales las principalmente expresadas son Cx40, Cx43, Cx35, Cx30.2. En biomodelos animales se han encontrado tanto similitudes como diferencias importantes en el tipo de isoformas expresadas. (Desplantez, 2017; Verheule & Kaese, 2013; Zipes & Jalife, 2004).

Cx45 es la primera conexina expresada durante el desarrollo embriológico con la aparición de las primeras contracciones cardíacas y se expresa de manera ubicua en el tejido cardíaco adulto. Otras proteínas se expresarán conforme madure el tejido, como la Cx30.2 específica del sistema de conducción, mientras que Cx43 se expresa principalmente en miocitos auriculares y ventriculares y se expresa en menor medida en el sistema de conducción, como las fibras de Purkinje (Desplantez, 2017).

El aumento progresivo y cronológico de la expresión de Cx43 y Cx40 se conjuga con la disminución del nivel de expresión de Cx45 la cual en el corazón adulto se expresa en niveles significativamente más bajos que otras conexinas.

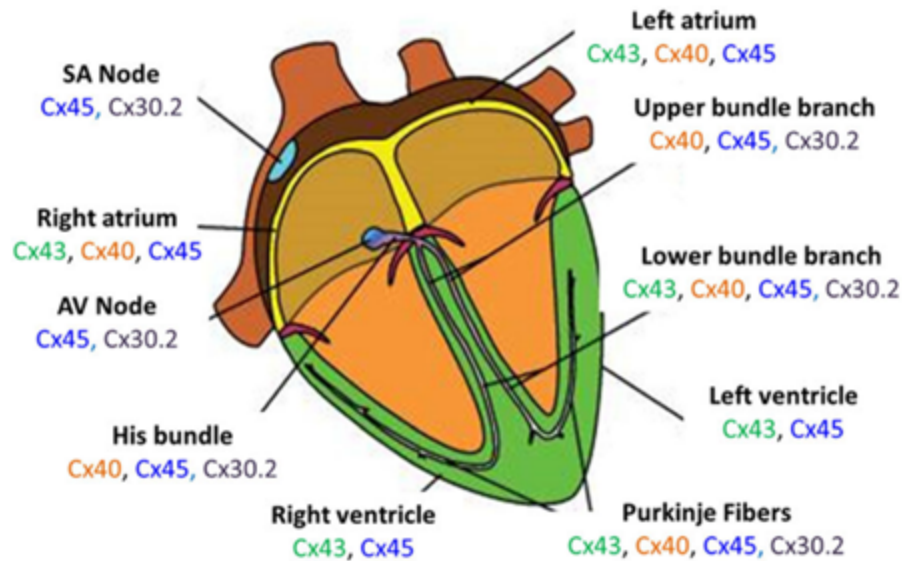


Figura. 5. **Expresión de las distintas isoformas de Cx en el tejido cardiaco.** Tomada de (Desplantez, 2017).

:La expresión de distintas isoformas de conexinas entre miocitos tiene el potencial de generar uniones Gap. Se describen tres tipos de Gj (Figura 6):

**Homoméricas:** Gap junctions formadas por 2 conexones idénticos compuestos del mismo tipo de conexinas.

**Heterotípico:** Gap junctions formadas por 2 conexones **homoméricos**, compuestos por distintos tipos de conexinas.

**Heteromérico:** Gap junctions formadas por 2 conexones compuestos de distintos tipos de conexinas.

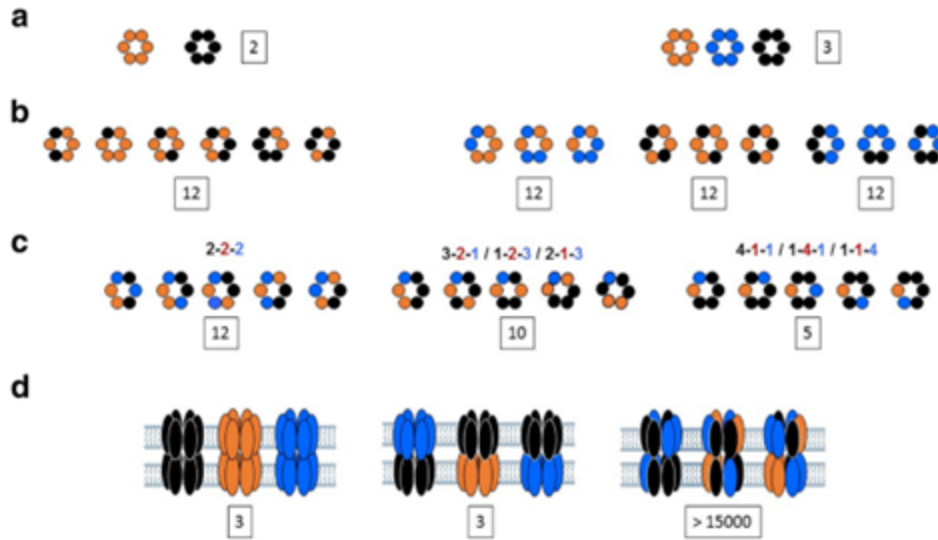


Figura. 6. **Posibles conformaciones de conexinas formadoras de uniones comunicantes.** A) composición homomérica de conexones, coexpresando 2 Cxs (Izquierda), y 3 Cxs (derecha). B) Composición heteromérica de conexones formados por 2 isoformas, coexpresando 2 Cxs (izquierda) y 3 Cxs (derecha). C) Composiciones heteroméricas de conexones formados por 3 isoformas, los números representan la cantidad relativa de isoformas de Cxs. D) diversos tipos de G<sub>j</sub> para una triple coexpresión de Cxs: homotípica (izquierda), heterotípica (medio) y heteromérica (derecha). Los números en marcos indican la cantidad total estadística de cada configuración.

Las diferentes G<sub>j</sub> tendrán propiedades biofísicas diferentes, dependiendo del tipo de conexinas que las conformen, dada su arquitectura, los canales de unión gap están sujetos a la influencia de dos tipos de voltaje, entre el interior de ambas células adyacentes al cual se le denomina voltaje de unión o transjuncional (V<sub>j</sub>), y entre el interior y el exterior o potencial de membrana (V<sub>m</sub>), que puede diferir entre las células, por lo tanto, a lo largo de la luz del canal que conecta las células. Muchas uniones gap son sensibles a V<sub>j</sub> con poco efecto de V<sub>m</sub>, mientras que otras muestran una dependencia combinada de V<sub>j</sub> y V<sub>m</sub>. (Revilla et al., 2000; Zipes & Jalife, 2004)

Estudios electrofisiológicos de Cx43, Cx40 y Cx45 permitieron determinar características de estas como la conductancia unitaria (γ<sub>j</sub>) (tabla 4.) y sus 2 mecanismos de compuerta sensible al voltaje (lento y rápido). El mecanismo rápido se

caracteriza por una transición rápida del estado abierto al estado residual o cerrado, mientras que el mecanismo lento se manifiesta en una serie de estados subconductivos que transicionan de estado abierto a cerrado. (Zipes & Jalife, 2004)

Las distintas propiedades eléctricas de las conexinas nos permiten conocer los voltajes de unión y las conductancias de las distintas conformaciones de G<sub>j</sub>.

Tabla 4. Voltajes de membrana y conductancia unitaria de diferentes tipos de canales G<sub>j</sub>. (Zipes & Jalife, 2004)

Tipo de canal	V <sub>j</sub> (mV)	Y <sub>j</sub> (pS)	Tipo de canal	V <sub>j</sub> (mV)	Y <sub>j</sub> (pS)
Homotípico			Heterotípico		
Cx43	±60	55	Cx40-Cx43	-80/>100	60/100
Cx40	±48	125	Cx40-Cx45	n.d./14	40
Cx45	±20	25	Cx43-Cx45	-100/12	40
Cx46	±42	128	Cx37-Cx43	-70/>100	50/175
Cx37	±25	350			

Esta observación nos sugiere que uniones comunicantes heterotípica tienen un mecanismo de compuerta y sensibilidad de voltaje alterados con respecto a sus contrapartes homotípica. (Zipes & Jalife, 2004)

En condiciones de laboratorio se estudió el rol de las gap junctions en la velocidad de conducción; al reducir la expresión de gap junctions se observó una reducción en la velocidad de conducción, terminando en un bloqueo completo. Caso contrario, al aumentar la expresión se observó un aumento en la velocidad de conducción (Zipes & Jalife, 2004).

En los corazones en condiciones patológicas, incluyendo insuficiencia cardiaca, hipertrofia ventricular e infarto, se han observado cambios en la localización y expresión de conexinas, así como cambios en las uniones gap, incluidos, pero no

limitados a, reducción en el tamaño de las placas y número de gap junctions por unidad en los discos intercalados (Severs et al., 2008.)

En el contexto de la obesidad, se ha observado que el tejido adiposo contribuye al proceso de remodelación, con aumentos registrados en la fibrosis y la infiltración grasa. Además, el depósito de grasa en las capas pericárdica y epicárdica conduce a una conducción alterada, lo que provoca una remodelación estructural y eléctrica de las aurículas, induciendo así la fibrilación auricular (FA). (Lucero et al., 2020) mientras que las arritmias sinusales en la diabetes mellitus pueden deberse a una alteración intrínseca de la función del NSA. Los corazones humanos que presentan insuficiencia cardíaca, exhiben marcados aumentos en la expresión de Cx45 y disminuciones en la expresión de la Cx43 y cada uno de estos eventos da como resultado una reducción del acoplamiento de la unión gap, que a su vez puede resultar en la propagación anormal del impulso y la generación de arritmias ventriculares (Howarth et al., 2007).

## Electrocardiograma.

El electrocardiograma (ECG) es una herramienta rápida, útil, no invasiva de gran importancia en la práctica clínica, puesto que provee información relevante en el diagnóstico de problemas cardíacos, así como alteraciones en el ritmo, cambios en la conducción eléctrica y variabilidad de la frecuencia cardíaca que pueden estar relacionados con los niveles expresión de Cx43. (Elhaj et al., 2016; Kaplan Berkaya et al., 2018)

A medida que las células cardíacas se despolarizan y repolarizan, las corrientes eléctricas se propagan por todo el corazón, pues los tejidos que lo rodean conducirán las corrientes eléctricas generadas por este. Cuando estas corrientes eléctricas se miden mediante una red de electrodos colocados en ubicaciones específicas en la superficie del cuerpo, el trazo registrado se denominará electrocardiograma o ECG (Figura 7). (Zipes & Jalife, 2004)

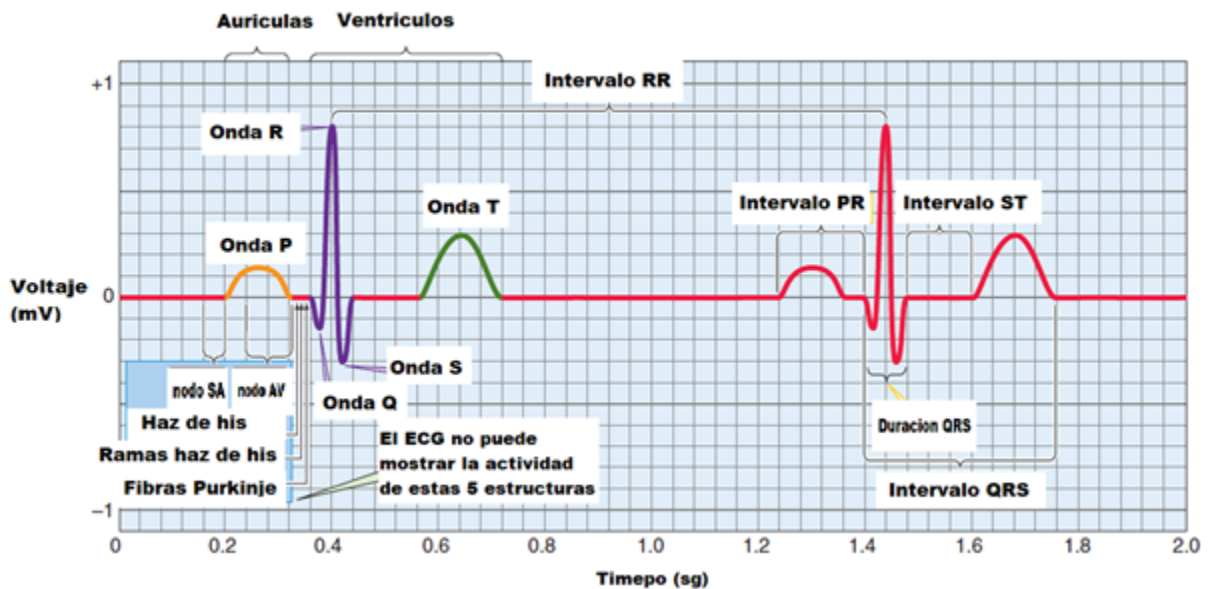


Figura 7. Componentes de un registro electrocardiograma.

Un ECG estándar de 12 derivaciones se obtiene de la siguiente manera: se colocarán 2 electrodos en las extremidades superiores y 2 en las extremidades inferiores, seguidos de 6 electrodos colocados en el pecho en ubicaciones estandarizadas. Una derivación

corresponderá a un par de electrodos en la cual uno actuará como positivo y otro como negativo, la derivación registrará el cambio en el voltaje entre los electrodos positivo y negativo.(Jevon, 2013)

Los cambios en el voltaje serán registrados por cada una de las derivaciones, estos cambios recibirán el nombre de ondas las cuales representan la despolarización y repolarización de distintas partes del tejido cardiaco (tabla 5). La onda P reflejará la despolarización de las aurículas. El complejo QRS representará la despolarización del músculo ventricular. La onda T representa la repolarización de ambos ventrículos. Finalmente, la onda U reflejará la repolarización del músculo papilar, sin embargo, esta onda rara vez se encuentra en el ECG. Como el movimiento de cargas se mueve a través del corazón, este tendrá dirección y magnitud, por lo que las señales medidas en el ECG son vectores.

Tabla 5. **Actividad y duración de los componentes responsables del registro electrocardiográfico en humano.**(Zipes & Jalife, 2004)

ECG	Representa	Duración Normal
Onda P	Despolarización auricular	0.08-0.10 s
Complejo QRS	Despolarización ventrículos	0.06-0.10 s
Onda T	Repolarización ventrículos	
Intervalo PR	Despolarización auricular y Retraso nodo AV	0.12-0.20 s
Intervalo ST	Periodo de despolarización isoeleétrica Ventricular	
Intervalo QT	Duración del potencial de acción	0.20-0.40 s

Por las características físicas que componen al electrocardiograma, este se posiciona como una herramienta crucial en el diagnóstico de enfermedades cardiovasculares, pues este nos ofrece información esencial de la conducción eléctrica cardiaca y la salud general del corazón, su salud en general. No solo permite detectar problemas en el ritmo cardíaco y anomalías en los patrones de ondas, sino que también proporciona datos detallados sobre la duración y amplitud de las ondas cardíacas, lo que puede

indicar cambios en la estructura y función del corazón. El ECG ofrece la oportunidad de analizar la variabilidad de la frecuencia cardíaca (HRV), que refleja el equilibrio entre el sistema nervioso simpático y parasimpático. Por último, el análisis de las curvas de señal del ECG, especialmente de pendientes (slopes), aporta una perspectiva adicional sobre el funcionamiento eléctrico del corazón. En conjunto, estos aspectos nos permiten obtener un perfil completo del funcionamiento cardíaco, resaltando así la importancia del ECG en la evaluación integral del estado cardiovascular.

Como se ha mencionado previamente, las alteraciones de conducción a las cuales se ve sujeto el corazón en condiciones patológicas como lo son la diabetes y la obesidad, son observables en el ECG, cambios en la morfología de este están asociados directamente con alteraciones en la conducción o morfología de los PA del tejido cardíaco. Cambios en la expresión de Conexina 43 podrían afectar la velocidad de propagación eléctrica cardíaca y aumentar el riesgo de desarrollar arritmias y FA. (Sultan et al., 2021)

# Justificación

La obesidad y diabetes son enfermedades metabólicas crónicas, consideradas uno de los factores de riesgo más comunes en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, incluida la fibrilación auricular, siendo este el trastorno de ritmo cardíaco más común en adultos.

En México, la prevalencia de diabetes (15.7%) y obesidad (36.1%) continúan en constante aumento y ambas han sido relacionadas de manera individual con como un proceso de remodelación estructural y funcional que puede causar alteraciones en la actividad eléctrica, cardíaca.

Las uniones comunicantes y los niveles de expresión y localización de conexina son cruciales para mantener la actividad eléctrica del corazón. Cualquier cambio en la expresión o localización de la conexina puede interrumpir la señalización eléctrica y promover la generación de arritmias. Si la comunicación intercelular se ve comprometida, la función normal del tejido no puede ser mantenida, lo que puede desencadenar un proceso patológico.

En este trabajo evaluamos la alteración en la expresión de conexinas y su efecto en la actividad eléctrica cardíaca en condiciones de obesidad y diabetes, esperando contribuir a la comprensión del papel de las conexinas en la fisiología y fisiopatología cardíaca, y sus implicaciones para el desarrollo de nuevos tratamientos de las arritmias.

# Hipótesis

La diabetes y obesidad alteran la expresión de conexinas cardíacas, disminuyendo la conectividad intracelular y alterando la velocidad de conducción en el tejido cardíaco.

## Objetivo general

Determinar si en un biomodelo de obesidad y diabetes tipo 2, existen cambios en la actividad eléctrica cardíaca y si estos se deben a cambios en la expresión de conexina 43.

## Objetivos específicos.

- Registrar ECG de biomodelos animales delgados, obesos y diabéticos:
  - Medir duración de la onda P, intervalo PR, intervalo RR, complejo QRS, intervalo Qt y Qtc.
  - Medir amplitud de las ondas P, R, T.
  - Analizar la variabilidad de la frecuencia cardíaca.
  - Análisis de fase de la despolarización cardíaca.
- Cuantificar mediante Western Blot (WB) la expresión de Cx43.
- Determinar la influencia de la expresión de Cx43 en la conducción eléctrica cardíaca.

# Material y métodos

## Modelo animal.

Utilizamos como modelo animal de diabetes mellitus tipo 2 a la rata Zucker Diabetic Fatty (ZDF), un modelo de rata desarrollado a partir de ratas Zucker Fatty (ZF), el cual contiene una mutación sin sentido (fatty/fa) en el gen que codifica para el receptor de leptina (Lepr), desarrollando obesidad sin diabetes (Yokoi et al.,2013).

Las ratas ZDF exhiben obesidad y diabetes y presentan la mutación puntual autosómica recesiva del gen codificante para el receptor de leptina (fa/fa). La mutación en el gen favorece el desarrollo de resistencia a la leptina y está a su vez inhibe la percepción de saciedad del roedor, así como su capacidad para censar la ingesta calórica.

Se estableció como control a las ratas Lean Zucker Diabetic Fatty (LZDF) las cuales son el fenotipo delgado y no diabético de camada de las ZDF, estas no expresan la mutación en el receptor de leptina, sin embargo, son portadoras del alelo recesivo (fa) (Heo et al., 2002) y como grupos problema a las ratas OZDF HG y OZDF NG, las cuales son ratas obesas zucker diabetic fatty hiperglicémicas y normoglicémicas, respectivamente; este modelo ha sido descrito previamente en el laboratorio así como por Wang y colaboradores (Wang et al., 2014)

En este trabajo, utilizamos 88 ratas, las cuales fueron obtenidas y criadas en el Bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, acorde a los criterios de calidad establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM 062-ZOO-1999, para el cuidado y manejo de animales de laboratorio. Las ratas, de los 3 grupos, fueron sometidas a una dieta alta en grasas (LabDiet 5008), durante un periodo de 3 meses y ambos grupos tuvieron libre acceso a agua potable normal.

Previo al experimento se comprobó que las ratas cumplen con las características que definen a su modelo, a través de mediciones morfológicas realizadas antes del sacrificio del animal. Se midió la circunferencia abdominal, longitud hocico-ano y peso,

además de un registro ECG y mediciones de glucosa plasmática basal, glucosa plasmática en ayuno y curva de tolerancia a la glucosa para comprobar su estado hiperglucémico.

Previo a la prueba de tolerancia de glucosa, se tomó un registro plasmático basal, mediante extracción de sangre, aproximadamente 50 µl, por punción en la vena caudal ventral de la cola de la rata y posteriormente se les retiró el alimento por un periodo de 6 horas, manteniendo libre acceso a agua potable normal. Se consideró que los periodos de ayuno fueran lo más aproximado a los periodos de descanso dentro de los ciclos circadianos de las ratas. A las 6 horas de ayuno se les administró una dosis intraperitoneal de glucosa a 2 g/kg (Guy B. Mulder, 2010) y se hizo el registro de glucosa plasmática, a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración. Todas las lecturas de glucosa plasmática se realizaron con el sistema Contour™ TS Bayer.

Los 3 grupos fueron seleccionados bajo los siguientes criterios:

Tabla 6. **Criterios de selección de los grupos a evaluar.**

	LZDF	OZDF HG	OZDF NG
Peso	< 300g	>300g	> 300g
CTG	< 199mg/dl	> 199mg/dl	< 199mg/dl

## Registro de ECG

Se realizaron registros electrocardiográficos de los tres grupos a evaluar previos al aislamiento y sacrificio del animal. Los registros fueron tomados con una matriz bipolar de registro desarrollada en el laboratorio. La matriz está compuesta de 4 placas de

cobre sobre la cual la rata postrara sus extremidades. Utilizamos gel conductor para mejorar el registro de la señal eléctrica (Figura 8b).

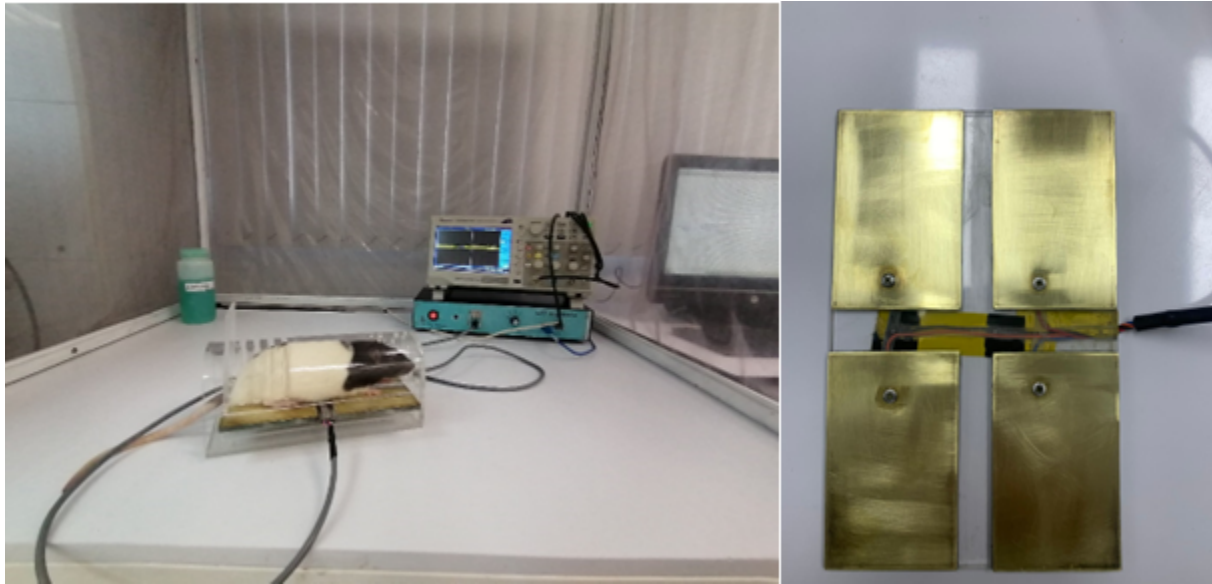


Figura 8. **Prueba de registro de electrocardiograma en rata:** a) se observa la interfaz de registro del ECG, amplificador, osciloscopio, terminal de registro (PC), gel conductor. B) matriz de registro.

Al abrir cada archivo de ECG, se configuró la ventana emergente para calcular el intervalo de muestreo por señal, utilizando como unidad de medida el kiloHertz (kHz) en cantidad de muestras por segundo (M/s). El intervalo de muestreo equivale al período, expresado en segundos, en el que se toman las muestras. Se determinó que, para una frecuencia de muestreo de la señal de ECG, se registraron 525 muestras por segundo (mps). Se tomaron dos registros por rata, uno en vivo y otro bajo los efectos de la anestesia. Para la anestesia, se utilizó isoflurano inhalado al 5%, siguiendo los protocolos de registro establecidos (tabla 7).

Tabla 7. **Protocolos para el registro del electrocardiograma.**

<b>Criterios</b>	<b>Tiempo de registro</b>	<b>Ganancia</b>	<b>Intervalo de muestreo (kHz)</b>	<b>Derivación</b>
<b>Sin Anestesia</b>	10 min	50	525 mps	DII
<b>Con Anestesia</b>	3 min	50	525 mps	DII

Las ratas sin anestesia fueron introducidas en la caja de registro orientadas de modo que colocaran sus extremidades en la configuración correspondiente a la derivación II (electrodo positivo en la extremidad superior derecha y electrodo negativo en la extremidad inferior izquierda), las ratas anestesiadas fueron colocadas en la matriz de registro lubricando sus extremidades con gel conductor con el objetivo de mejorar el registro de la señal, los registros tuvieron una duración mínima de 60s y máxima de 3-10 minutos dependiendo la condición de registro. La señal pasó por un amplificador (SIDES tecnología), y fue visualizada utilizando un osciloscopio digital, (Tektronix, TBS 1052b-EDU) (Figura 8a).

Los registros tomados fueron almacenados en una computadora personal para su posterior análisis usando los software ClampFit 10.6 y Origin Lab 2018.

## Análisis del ECG.

Un total de 176 registros electrocardiográficos fueron analizados, con ayuda del software ClampFit 10.6, se tomaron las señales registradas previamente y fueron sometidas a un proceso de corrección para su análisis (Figura 9).

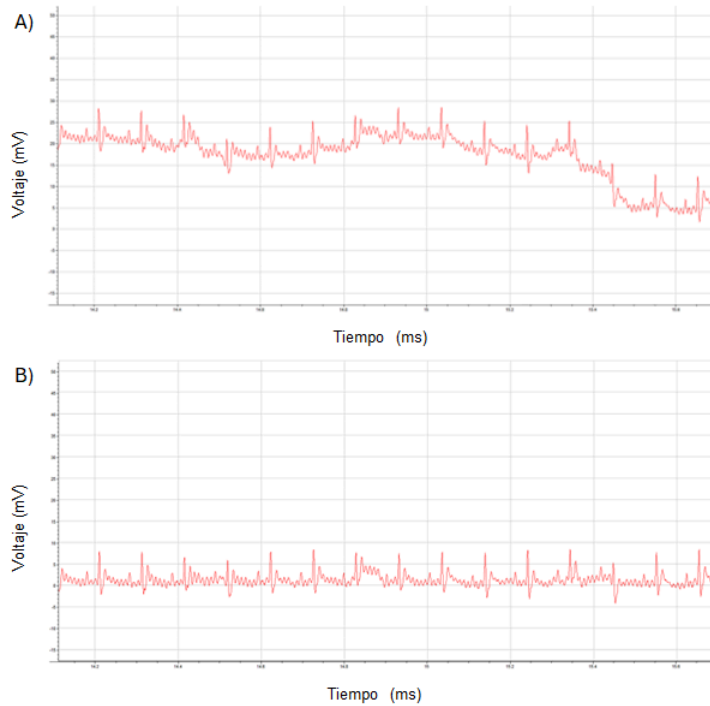


Figura 9. **Proceso de ajuste de la línea basal del registro electrocardiográfico.** A) registro sin ajuste de la línea basal. B) Registro procesado con ajuste de la línea basal realizado en el software clampfit.

Una vez ajustada la línea basal del registro, se procedió a realizar una selección que cubriera al menos un segmento RR, en el cual se realizaran las mediciones de duración y amplitud de los componentes del ECG (Figura 10).

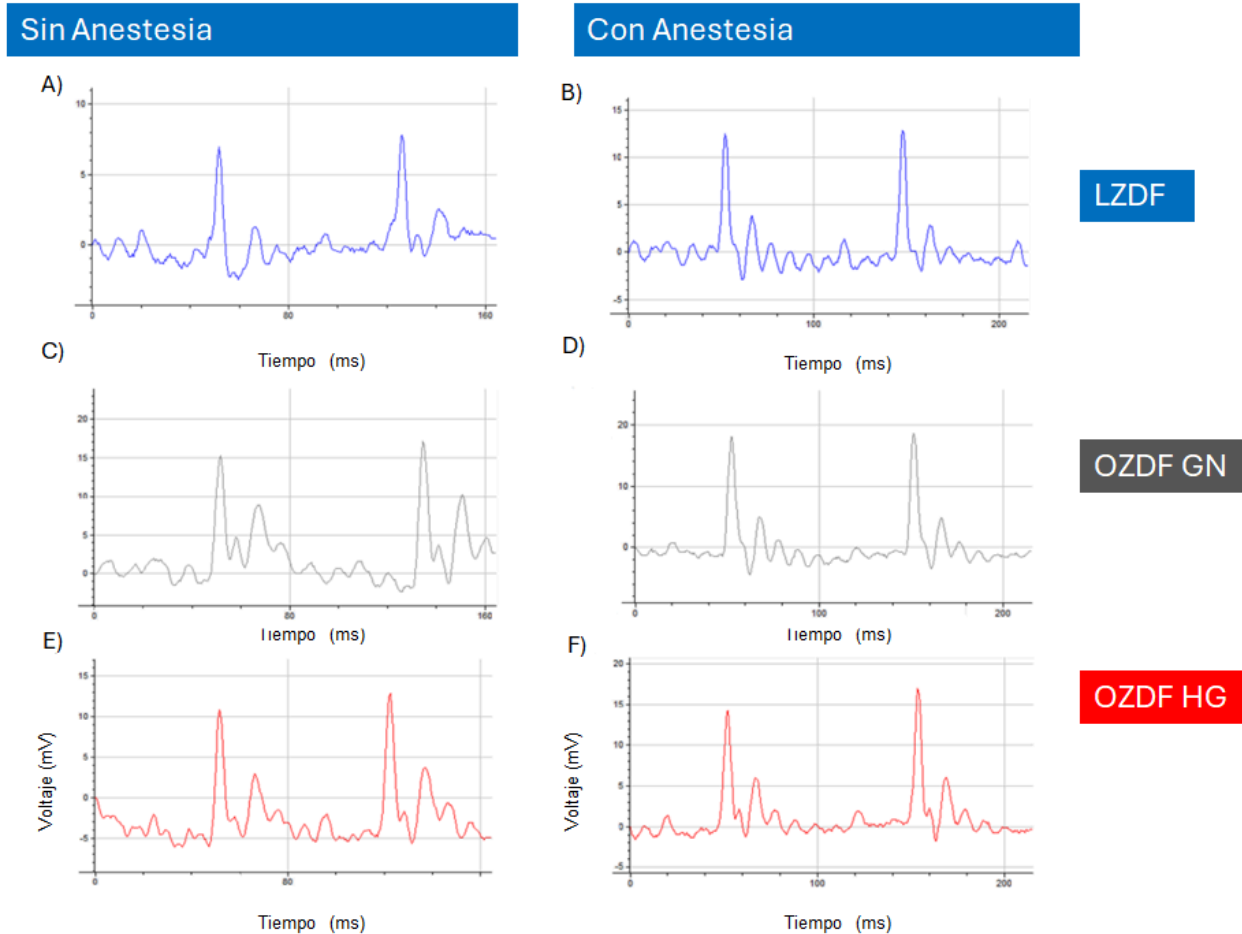


Figura 10. **Registros de electrocardiograma representativos de cada grupo experimental.** Se observan en A, los registros electrocardiográficos sin anestesia de los grupos LZDF, fenotipo delgado y normoglucémico (azul), en C los registros sin anestesia del fenotipo obeso normoglucémico (Gris) y en E los registros del grupo obeso hiperglucémico (rojo). En la columna derecha se observan en B, D y F los registros correspondientes a los grupos LZDF, OZDF NG y OZDF HG bajo condiciones de anestesia.

## Duración ECG

Se llevó a cabo un análisis exhaustivo de varios segmentos del electrocardiograma (ECG) con el objetivo de profundizar en la comprensión de la función cardíaca y detectar posibles indicadores de enfermedades cardiovasculares. Se realizaron mediciones de la duración de la onda P y el intervalo PR para evaluar la propagación del potencial de acción a través de las aurículas. Asimismo, se analizó el complejo QRS para obtener información acerca del estado de la contracción ventricular, una medida clave para evaluar la función cardíaca. Además, se midió el intervalo RR para determinar la frecuencia cardíaca, lo que permitió calcular el intervalo QT y su corrección (Qtc), importantes indicadores de la salud cardiovascular.

Es crucial tener en cuenta el QTc, ya que la diferencia en la frecuencia cardíaca puede causar errores en la medición del intervalo QT. A medida que la frecuencia cardíaca aumenta, el intervalo QT tiende a disminuir, mientras que, al disminuir la frecuencia cardíaca, este intervalo tiende a aumentar. La correcta determinación del intervalo QT ha llevado al desarrollo de fórmulas de corrección que son esenciales en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades cardiovasculares. Estas correcciones son cruciales para una evaluación más precisa de la salud cardiovascular.

Comúnmente se utiliza la fórmula de Bazett para la corrección del ECG; sin embargo, decidimos utilizar la fórmula propuesta por Cobos et al. (Cobos Gil & Cobos Gil, 2017)

$$\text{Bazett: } Qtc = QT / \sqrt{RR}$$

$$\text{Cobos: } Qtc = QT / (1 + RR) / 2$$

Esta fórmula proporciona una corrección precisa del intervalo QT, así como permite diagnosticar de manera rápida el alargamiento del QT.

## Amplitud ECG

Utilizando los mismos registros se midió la amplitud en mV de las ondas P, R y T. de los registros electrocardiográficos. Este análisis de la amplitud es fundamental para evaluar la actividad eléctrica del corazón y su función cardíaca. La amplitud de la onda P refleja la despolarización auricular, lo que puede indicar un incremento en la masa auricular o mayor actividad eléctrica en esta región. La amplitud de la onda R está relacionada con la despolarización ventricular, reflejando la activación eléctrica de los ventrículos durante la sístole. Por último, la amplitud de la onda T, asociada con la repolarización ventricular, puede ser indicativa de trastornos en esta fase del ciclo cardíaco, como isquemia cardíaca, trastornos electrolíticos o la prolongación del intervalo QT. El análisis de la amplitud de estas ondas proporciona información crucial para la detección de anomalías en la actividad eléctrica del corazón.

## Variabilidad de la frecuencia cardiaca

Se evaluaron la variabilidad de la frecuencia y el ritmo cardiacos utilizando los registros electrocardiográficos para construir gráficas de Poincaré.

Las gráficas de Poincaré se construyen utilizando el intervalo RR, el cual es trazado en el eje horizontal (X) y es función del intervalo RR siguiente en el eje vertical (Y). Así, cada par de intervalos construirán un punto en la gráfica. (Figura 11) Agrupamientos de estos puntos y la forma de estos, así como su posición, pueden proporcionar información sobre la variabilidad de la frecuencia cardíaca y el ritmo cardíaco.

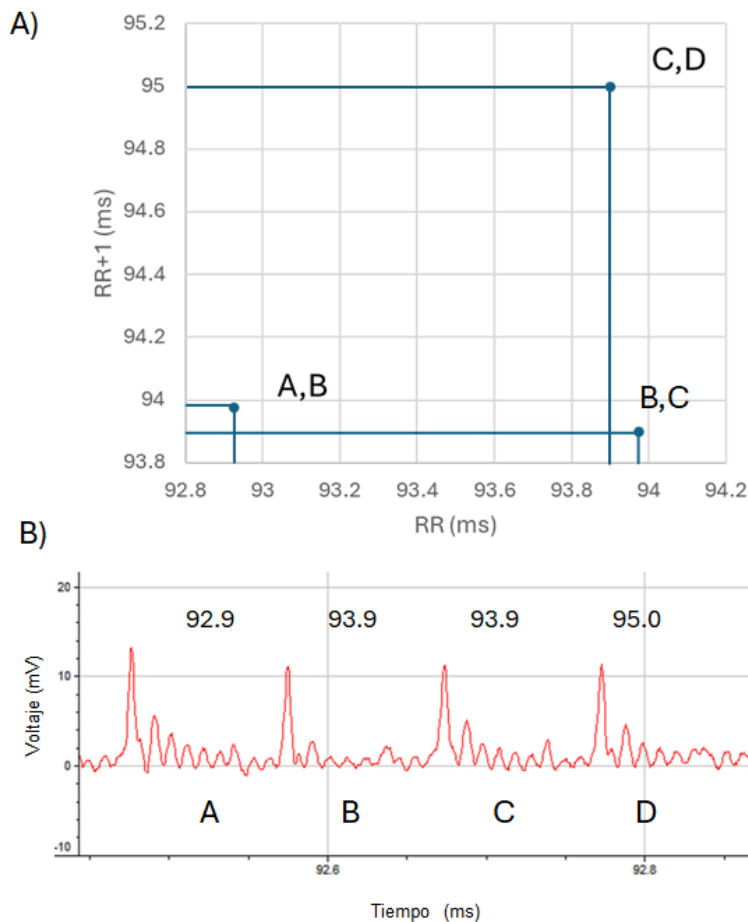


Figura 11. **Elaboración del gráfico de Poincaré.** A) Gráfico de Poincaré: Se observa un registro electrocardiográfico compuesto de 4 intervalos RR consecutivos con sus duraciones correspondientes. Cada par de intervalos RR y RR+1 formarán un punto coordinada en la gráfica superior. AB, BC y CD.

Realizamos una gráfica de Poincaré por cada registro ECG, en total, 176 fueron obtenidas, así como 3 gráficas globales más por cada condición analizada. Se tomaron en consideración las siguientes medidas y criterios para el análisis de las gráficas.

El largo y ancho del agrupamiento principal, estos se miden de manera cuantitativa a través de los descriptores SD1 y SD2 los cuales corresponden a la desviación estándar de la dispersión de puntos en dirección perpendicular a la línea de identidad (SD1) y a la dispersión a lo largo de la línea de identidad (SD2).(Karmakar et al., 2009)

La relación SD1/SD2 es conocida como índice de equilibrio simpato-vagal, Esta relación refleja el equilibrio entre las influencias simpáticas y parasimpáticas en la VFC mientras más grande sea el agrupamiento de coordenadas mayores serán los efectos de la contribución de componentes no respiratorios en la VFC.. El ancho del agrupamiento muestra como la arritmia respiratoria contribuye en la VFC total. Mientras más ancho sea el agrupamiento mayor será el efecto de la arritmia respiratoria en el total de la VFC. (BTL CardioPoint, 2014; Karmakar et al., 2009)

Posición del agrupamiento principal. Dónde se encuentra el grupo principal con respecto a la línea de identidad puede indicar qué sistema nervioso tiene una mayor influencia en la frecuencia cardíaca de los pacientes, el simpático o el parasimpático. Si la ubicación está en la parte inferior, el simpático prevalece y se observarán taquicardias. Si el agrupamiento se encuentra en la parte superior, es evidencia de una prevalencia de componentes parasimpáticos en la VFC, se pueden observar bradicardias. (BTL CardioPoint, 2014)

La simetría a lo largo de la línea de identidad, es el último factor a considerar. Si la agrupación principal tiene una forma asimétrica, se puede presumir la presencia de desórdenes de ritmo. Se utilizó el programa Origin Lab 2018 para realizar las gráficas de Poincaré y el cálculo de los descriptores SD1 y SD2 con ayuda del plug-in: Poincaré Plot.opx obtenido del repositorio de extensiones de Origin Lab.

## **Representación orbital del ECG**

La representación orbital del ECG es una técnica analítica que nos permite analizar el registro del electrocardiograma en el espacio, tiempo, señal y la primera derivada de la señal (Figura 12). Este método nos permite calcular cambios en los complejos QRS, y la forma de las ondas P y T a lo largo del tiempo, la representación orbital aporta una perspectiva adicional sobre el funcionamiento eléctrico del corazón.

Se procesaron los registros electrocardiográficos tomados de los 3 grupos a evaluar, esta vez asegurándonos de obtener un evento de interés que tuviera al menos 3 intervalos RR. (Jiménez et al., 2014)

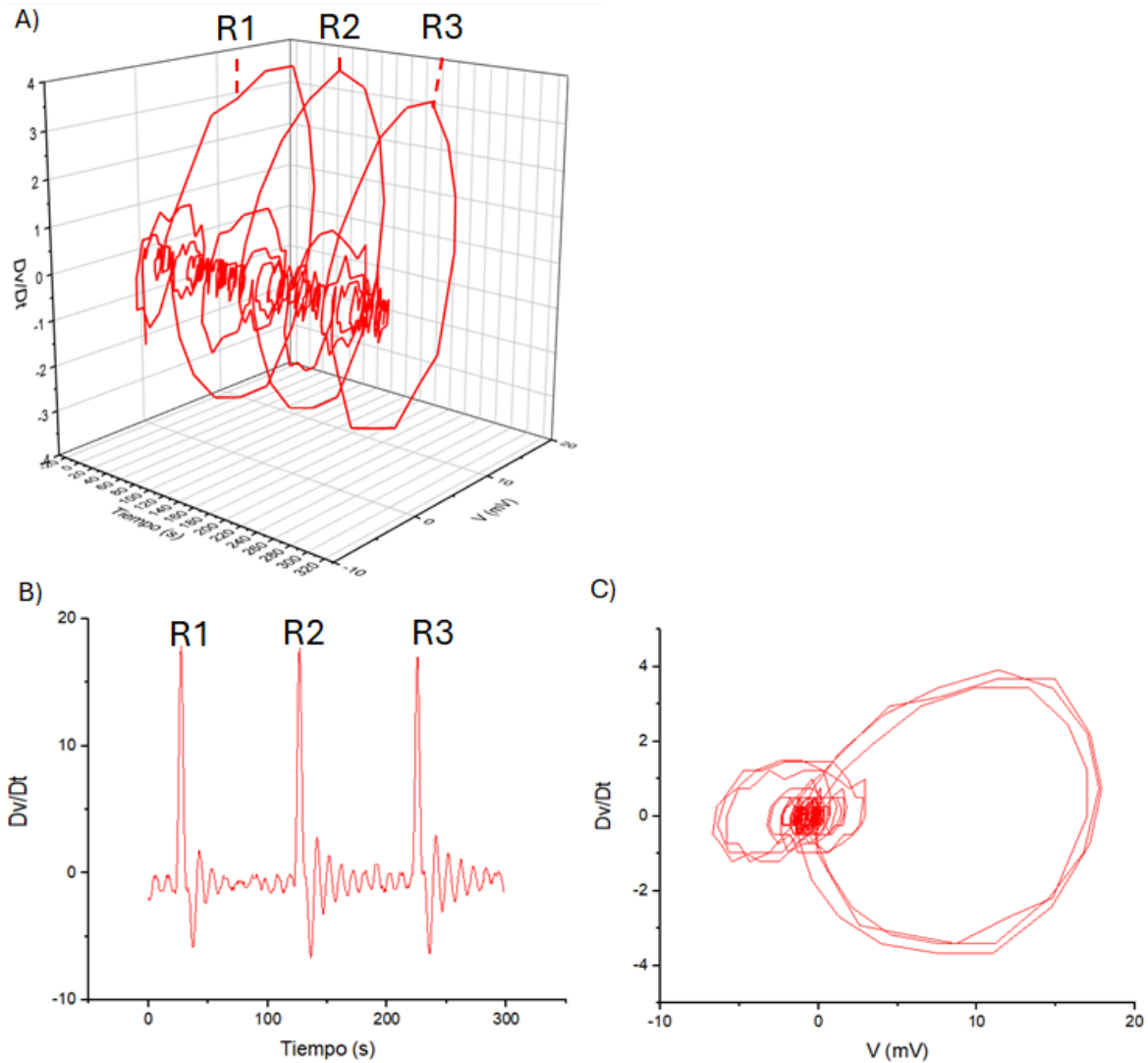


Figura 12. **Registro electrocardiográfico y su representación orbital.** En la imagen se observa un registro ECG, de 3 ciclos (B), una gráfica del plano tiempo en el eje X contra primer derivada del voltaje en el eje Y (C) y una representación orbital del ECG y sus componentes representativos en el ECG, tiempo, voltaje y primera derivada.(A).

Se utilizó el programa Origin Lab 2018 para realizar los análisis de fase  $Dv/Dt$  y la representación orbital del ECG.

## Aislamiento de tejido cardiaco

Tras el registro morfológico y del ECG, las ratas fueron sacrificadas al cumplir las 13 semanas de edad. Estas fueron anestesiadas con isoflurano (5%) y se les administró heparina (200 UI/Kg) vía intraperitoneal. Para asegurarnos que el animal estaba correctamente anestesiado, se comprobaron los reflejos palpebrales y patelares, posteriormente se realizó una toracotomía anterior y se extrajo el corazón.

Una vez extraído el corazón se sumergió en solución tirode fría ( $14 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), en la cual se retiraron los restos de tejido no deseados como pulmones y tejido adiposo, se realizó un corte ascendente transversal en la aorta para separarla del resto del vaso y canularlo. El corazón fue montado en un sistema de perfusión Langendorff, sujetando el corazón a una cánula insertada en la aorta.

Una vez montado el corazón es perfundido con solución tirode (NaCl 140mM, KCl 5.4mM,  $\text{MgCl}^2$  1mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1 mM, HEPES 10 mM, Glucosa 10mM,  $\text{CaCl}^2$  1 mM y ajustada a un pH 7.38 con NaOH) por 5 minutos lavándolo hasta quedar limpio de sangre. Una vez limpio el corazón se retiró y disecciono separando ventrículos de aurículas. Las secciones de tejido cardiaco serán congeladas inmediatamente al sumergirse en nitrógeno líquido durante 30 segundos en un criovial para su almacenaje a  $-80^{\circ}\text{C}$  para su futuro uso.

## Western Blot

Se realizó un ensayo de Western Blot para evaluar los niveles de expresión de Cx43.

Extracción de proteínas: Muestras de corazón completo fueron homogeneizadas y lisadas por congelamiento y posterior incubación en el buffer Ripa (Tx100). Posteriormente, el homogenado se centrifugó a 13,500 rpm durante 30 min a  $4^{\circ}\text{C}$ , se recuperó el sobrenadante y se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$ , la cuantificación de proteínas se determinó a través de un kit de ensayo BCA (Pierce BCA protein assay kit).

Preparación de las muestras: Las muestras proteicas se mezclaron con tampón de carga Laemmli y se fueron reducidas con DTT 3M. Posteriormente, las muestras fueron

calentadas en un baño María a 94°C durante 9.5 minutos. Para la carga en el gel 4-12% de bis-tris acrilamida, se utilizó la misma cantidad de proteínas (40 µg) en cada carril. Además, se cargó un marcador de peso molecular (BLUeye Prestained Protein Ladder, Sigma) para referencia. El gel estaba compuesto por SDS 10% (2%) , TEMED(.05%), APS (4.5%), Separating gel Buffer (66.45%) y Acrilamida 40%(27%).

Electroforesis: Los geles de acrilamida cargados con la muestra fueron sometidos a electroforesis utilizando la cámara Xcell sure lock (Invitrogen). La electroforesis se realizó en 2 pasos, el primero con una duración de 20 min a 90v constantes, con el objetivo de que el frente de corrida baje de manera uniforme. El segundo paso tuvo una duración de 2 h 35 min o hasta que el frente de corrida llegase al final del casete a 110v constantes. Los geles corrieron en buffer Tris- glicina suplementado con SDS. El procedimiento se llevó en frío.

Transferencia de proteínas: Tras el término de la electroforesis, las muestras fueron transferidas a membranas PVDF utilizando la cámara de transferencia húmeda Xcell sure lock, a 30v corriente, 170 mA constante durante 2 h 30 min, en frío. Se utilizó buffer de transferencia Tris-Glicina (tris 0.5%, glicina 1.8%, SDS 10% .4% metanol 10%, antioxidante .10% Agua desionizada 84.9%) en frío. La correcta transferencia fue comprobada con tiñendo la membrana con Rojo de Ponceau al 0.01%.

Inmunodetección: La membrana fue bloqueada con TBST 5% non-fat milk por 1 hora a temperatura ambiente. El anticuerpo primario anti Cx43 (abcam, ab11370) fue incubado overnight durante 14 horas a 4 °C en una dilución 1:8000 en TBST milk al 2%. Tras la incubación se procedió a lavar 3 veces por 6 minutos la membrana con TBST. El anticuerpo secundario goat anti rabbit (abcam, ab6721) fue incubado a temperatura ambiente durante 2 horas en una dilución 1:3000 en TBST.

Detección proteica: las bandas proteicas fueron identificadas usando tetrametilbenzidina (TMB), se incubó con 1 ml TMB durante 5 min o hasta que las bandas de interés estuviesen tenidas. Se capturaron imágenes utilizando un fotodocumentador para su análisis. Las imágenes fueron analizadas usando el software

Image J, la expresión relativa de proteínas fue normalizada de acuerdo con una imagen control de la membrana teñida con rojo Ponceau.

## Análisis de Resultados

Los resultados obtenidos serán expresados como la media aritmética  $\pm$  el error estándar asociado a la media (SEM), y serán sometidos a una prueba Shapiro–Wilk para determinar si estos siguen una distribución normal.

Una vez aplicada esta prueba se procederá a comparar los datos con una prueba Anova de 1 vía paramétrica o no paramétrica, dependiendo de los resultados de la prueba Shapiro–Wilk.

Los datos obtenidos fueron analizados con los software, Clampfit 10.1, Fiji y Graphpad prism8 y Origin Lab 2018.

# Resultados.

## Modelo Animal:

Se obtuvieron datos morfométricos, así como los niveles de glucosa en sangre en cada animal utilizado en el proyecto (tabla 8). Es de nuestro particular interés realizar estos análisis con el objetivo de confirmar el estado hiperglucémico de nuestro grupo problema, las ratas OZDF HG, y el estado obeso no hiperglucémico de la cepa OZDF NG previamente descrita en nuestro laboratorio.

Tabla 8. **Resultados de las medidas morfométricas del Biomodelo experimental.** Los valores presentados son la media  $\pm$  el error estándar de la media. (\* $p < .05$ ; \*\* $p < .01$ ; \*\*\*  $p < .001$  vs Lean)

	<b>LZDF N=32</b>	<b>OZDF NG N=36</b>	<b>OZDF HG N=20</b>
<b>Parámetro</b>	<b>Media + EEM</b>	<b>Media + EEM</b>	<b>Media + EEM</b>
<b>Perímetro Abdominal (cm)</b>	15.82 $\pm$ 0.41	19.50 $\pm$ 1.30**	21.40 $\pm$ 0.67***
<b>Peso (g)</b>	277.6 $\pm$ 8.81	409.6 $\pm$ 34.81***	424.5 $\pm$ 34.63***
<b>Grasa Epididimal (g)</b>	2.02 $\pm$ 0.30	7.80 $\pm$ 1.19*	8.69 $\pm$ 1.22***
<b>Grasa Retro-peritoneal (g)</b>	1.23 $\pm$ 0.23	9.91 $\pm$ 3.58***	11.19 $\pm$ 1.16***
<b>Grasa Peri-pancreática (g)</b>	0.48 $\pm$ 0.09	1.82 $\pm$ 0.36**	2.03 $\pm$ 0.23***
<b>Grasas Totales (g)</b>	3.70 $\pm$ 0.53	19.55 $\pm$ 3.27*	21.92 $\pm$ 2.56***

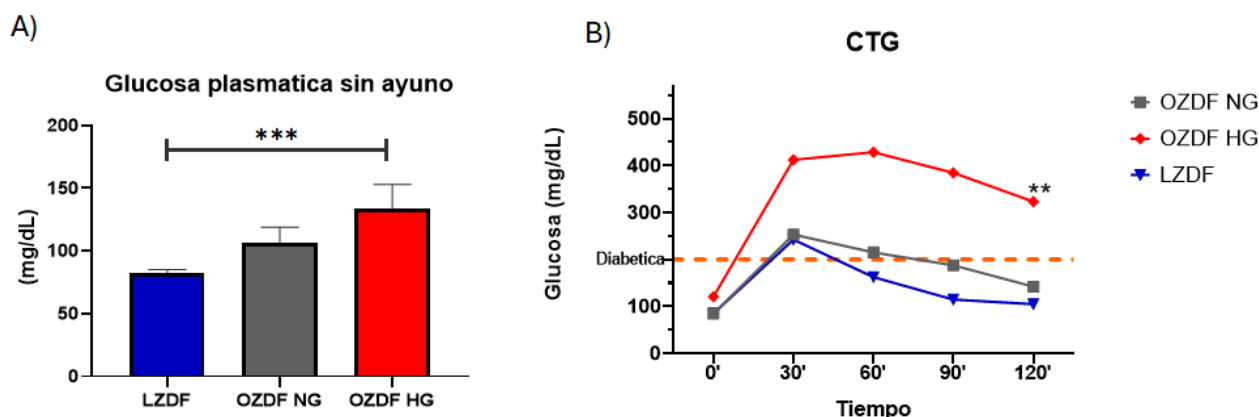


Figura 13. **Curva de tolerancia a la glucosa.** En A se observan los niveles de glucosa plasmática basal, en el cual se observa un aumento significativo del grupo obeso hiperglucémico comparado con los grupos normoglicémicos. En B se observan las CTG de los 3 grupos a evaluar, LZDF (n= 32, Azul), OZDF HG (n = 20, Rojo), OZDF NG (n = 36 Gris). La línea punteada a 200 mg/dL, indica el valor de corte para indicar si las ratas OZDF se clasifican como normoglicémicas o hiperglicémicas. Los animales cuya valor final en la curva termine sobre dicha línea fueron consideradas hiperglicémicas. (\*\*p<0.05 \*\*\*p<0.0001)

En relación con las medidas morfológicas, se observaron varios efectos significativos. Se encontró un aumento del 23.26% en el perímetro abdominal en el grupo OZDF NG y un 35.27% en el grupo OZDF en comparación con el grupo control Lean. Además, se registró un aumento del 52.9% en el peso corporal en el grupo OZDF y un 47.5% en el grupo OZDF GN en comparación con el grupo Lean. En cuanto a la grasa epididimal, se reportó un incremento del 329% en el grupo OZDF HG y un 285% en el grupo OZDF NG con respecto al grupo Lean. De manera similar, se observó un aumento significativo en la grasa retroperitoneal, con un incremento de 8 veces en el grupo OZDF HG y 7 veces en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo Lean. Además, se registró un aumento sustancial en la grasa peripancreática, con un aumento del 315% en el grupo OZDF HG y un 273% en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo Lean. En términos de grasa total, se observó un aumento del 491.31% en el grupo OZDF HG y un 427.38% en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo Lean. Estos hallazgos indican cambios significativos en la morfología corporal de los grupos OZDF

HG y OZDF NG en comparación con el grupo control. También, se pueden observar las diferencias claras que existen entre las curvas de tolerancia a la glucosa, en la cual, las ratas OZDF HG, muestran un aumento significativo del 127% superior a su contraparte obesa normoglucémica y del 208% contra el grupo control. Todos estos datos nos permiten evidenciar las características de nuestro modelo experimental, en este protocolo de investigación.

## Duración de las ondas e intervalos del ECG

Se evaluó la duración de los componentes clave del electrocardiograma. Cada uno de estos componentes desempeña un papel esencial en la evaluación de la función cardíaca y proporciona una visión integral del estado eléctrico del corazón. La onda P, que representa la despolarización auricular, es crucial para evaluar la actividad eléctrica en las aurículas. El segmento PR indica la conducción del impulso desde las aurículas hasta los ventrículos, siendo fundamental para el correcto funcionamiento del sistema de conducción cardíaca. El complejo QRS, reflejo de la despolarización ventricular, revela información importante sobre la sincronización de la actividad eléctrica en los ventrículos. Por otro lado, el intervalo RR ofrece datos sobre la frecuencia cardíaca, mientras que los intervalos QT y QTc son indicadores cruciales del tiempo de repolarización ventricular e índices diagnósticos del desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

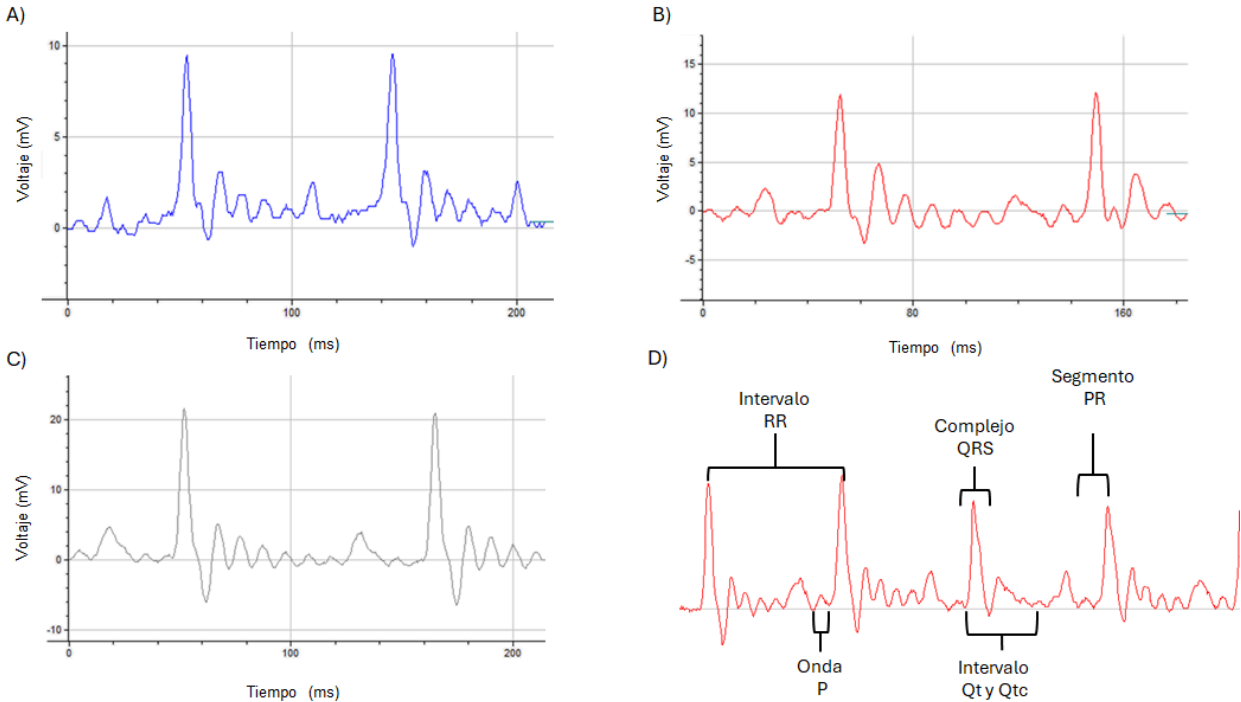


Figura 14. **Criterios de evaluación de la duración de los componentes del electrocardiograma.** Se observan en A , B y C los trazos representativos electrocardiográficos de los grupos LZDF, OZDF HG y OZDF GN respectivamente. En D se observan los segmentos e intervalos evaluados en los distintos registros electrocardiográficos.

## Duración de la conducción auricular

Al medir la duración de la onda P, se observó un aumento notable en el grupo OZDF NG con respecto a Lean, con un incremento del 13%, y OZDF HG con un aumento del 11%. Sin embargo, bajo condiciones de anestesia, no se observaron diferencias significativas entre los grupos. En cuanto a la duración del segmento PR, se detectó un incremento significativo en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo Lean, con un aumento del 16%. Estos resultados sugieren una posible influencia de la diabetes y la obesidad en la conducción eléctrica auricular y en la transmisión del impulso desde las aurículas hacia los ventrículos.

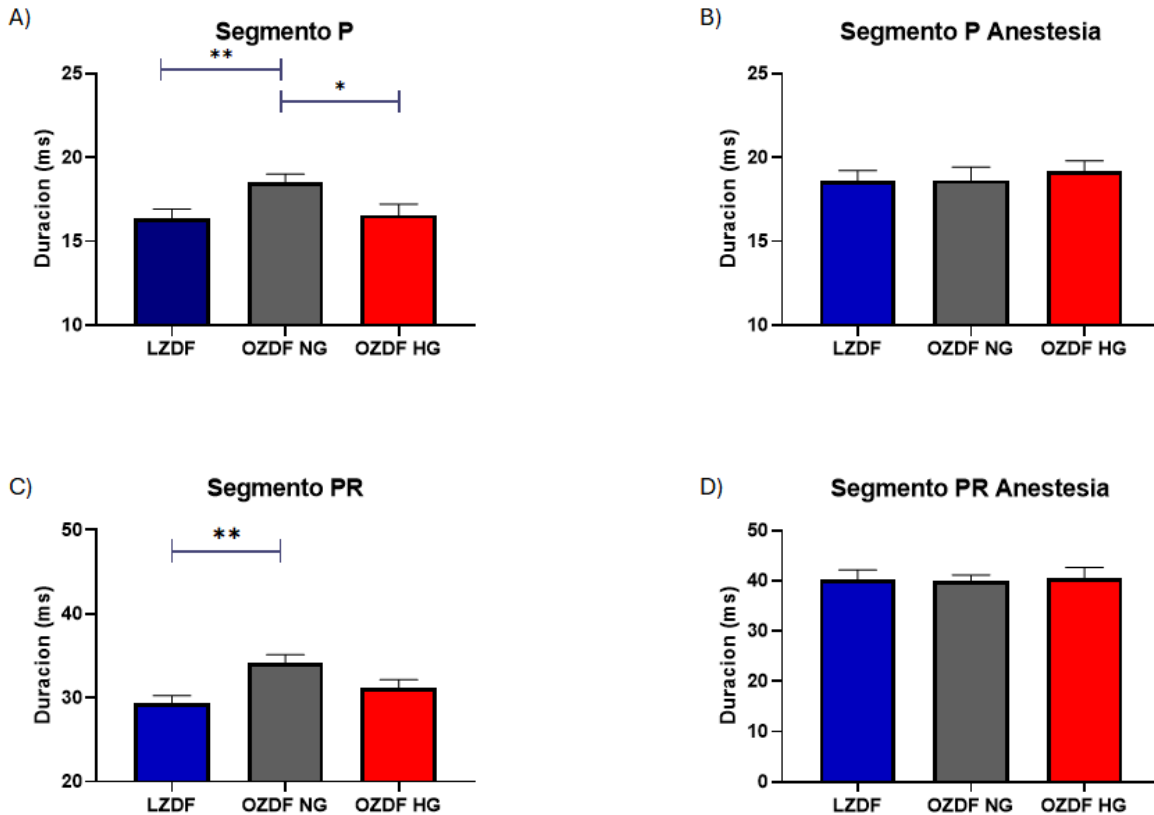


Figura 15. **Resultados de la evaluación de la onda P y el segmento PR.** Se evaluó la duración de la onda P y el segmento PR de los grupos LZDF (n=32), OZDF NG (n = 36) OZDF HG (n =20). En A se observa la duración en ms de la onda P registrada sin anestesia y bajo anestesia en B. Se observó un incremento significativo en la duración de la onda P del grupo OZDF NG con respecto a OZDF HG y LZDF, sin anestesia. No se observan diferencias significativas en los registros con anestesia. En C se observa la duración del segmento PR registrado sin anestesia y con anestesia en D. Se observó un incremento significativo en la duración del segmento PR en el grupo OZDF GN contra el grupo Lean. (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

## Duración de la conducción Ventricular

En la medición de los componentes involucrados en la conducción ventricular. Se observó un aumento en la duración del intervalo RR en condiciones sin anestesia, tanto en el grupo OZDF NG (8.7%) como en el grupo OZDF HG (9.6%), en comparación con el grupo Lean. Bajo anestesia, solo se encontró un incremento significativo en la duración del intervalo RR en el grupo OZDF HG (7.5%) en comparación con el grupo Lean. No se detectaron diferencias significativas en la duración del intervalo QT ni QTc bajo condiciones sin anestesia. Sin embargo, bajo anestesia, se observó un aumento tanto en el intervalo QT como en el intervalo QTc en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo Lean. Estos resultados sugieren una posible influencia de la obesidad y la diabetes sobre la propagación de la actividad eléctrica cardiaca. Es importante considerar que el uso de anestesia puede haber contribuido al aumento en la duración de estos intervalos, especialmente en el caso del intervalo QT, donde los efectos de algunos anestésicos pueden prolongar la repolarización ventricular.

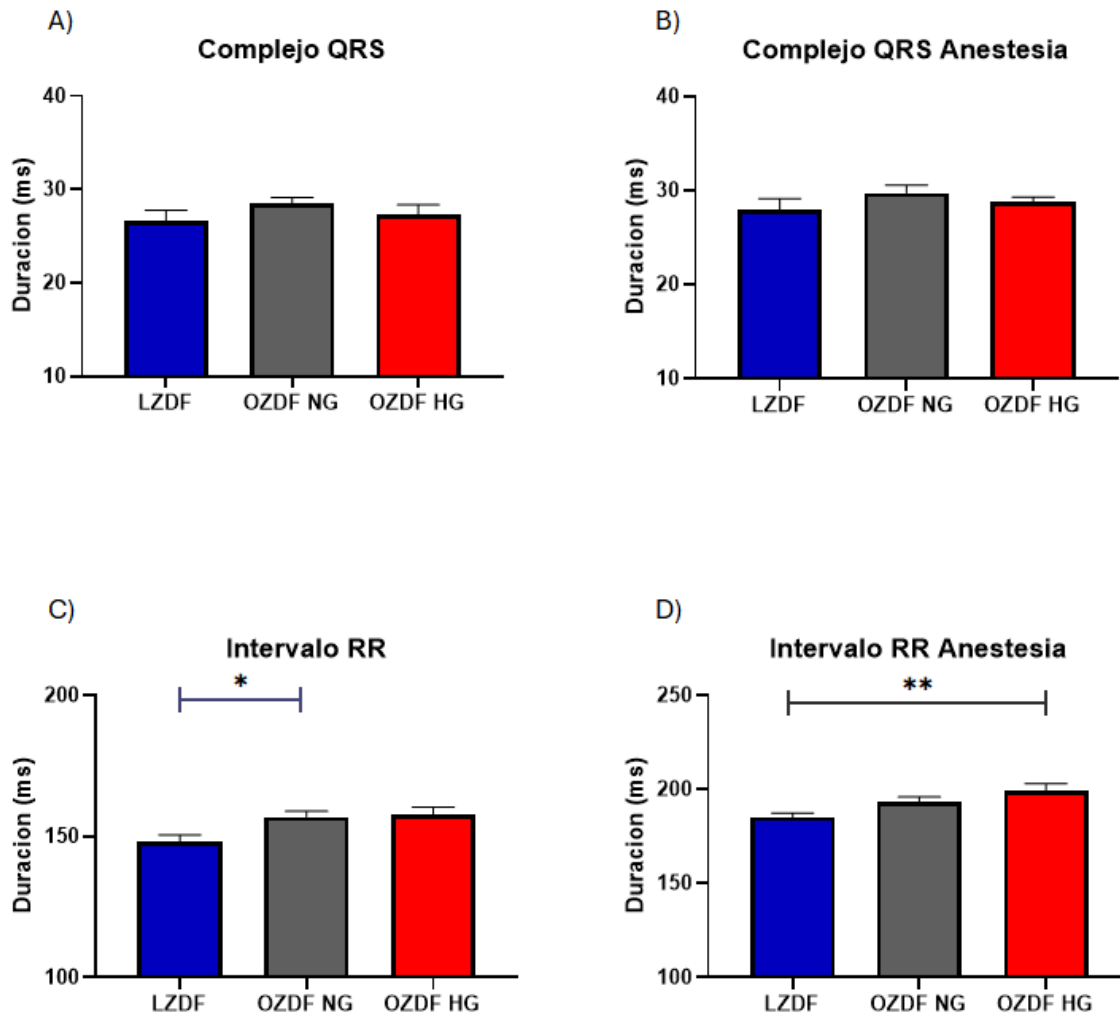


Figura 16. **Resultados en la evaluación de la duración del complejo QRS y el intervalo RR.** Se evaluó la duración del complejo QRS y el intervalo RR de los grupos LZDF (n=32), OZDF NG (n = 36) OZDF HG (n =20). Se observa en A, la duración en ms del complejo QRS registrada sin anestesia y bajo anestesia en B. En C se observa la duración del intervalo RR sin anestesia y con anestesia en D. Se encontró un aumento en la duración del intervalo RR en el grupo OZDF NG comparado con Lean sin anestesia y un aumento significativo en la duración del grupo OZDF HG comparado con Lean con anestesia. (\*p<.05 \*\*p<.001).

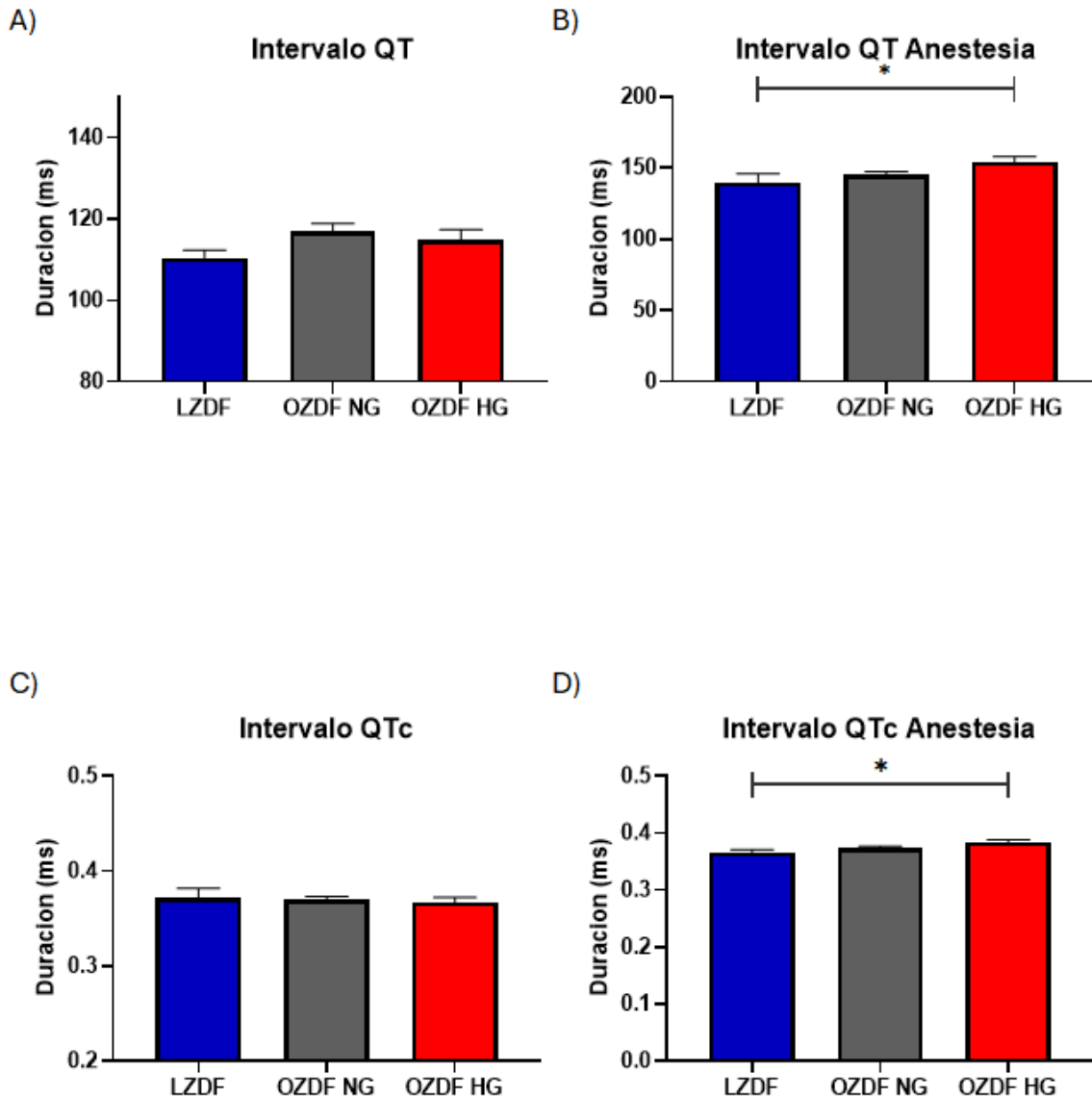


Figura 17. **Resultados obtenidos en la evaluación de la duración del intervalo QT y QTc.** Se evaluó la duración del intervalo QT y QTc de los grupos LZDF (n=32), OZDF NG (n = 36) OZDF HG (n =20). En A y B se observan la duración de los intervalos QT sin anestesia y bajo anestesia, respectivamente. En C y D se observa la duración del intervalo QT corregido, también sin anestesia y bajo anestesia. No se observaron cambios significativos en la duración del intervalo sin anestesia, sin embargo, bajo anestesia se observó un aumento en la duración del intervalo QT del grupo OZDF HG comparado con LZDF. (\*p<.05)

## Amplitud del ECG

Se midió la amplitud de onda de 3 componentes clave del ECG. Se evaluaron los cambios en la amplitud de la onda P, la onda R y la onda T en los tres grupos de estudio. El estudio de estos componentes del ECG tiene una gran importancia fisiológica y nos da más información del comportamiento eléctrico cardiaco. La onda P representa la despolarización auricular, reflejando la actividad eléctrica en las aurículas y proporcionando información sobre la función auricular. La onda R refleja la despolarización ventricular inicial y es crucial para evaluar la actividad eléctrica en los ventrículos, mientras que la onda T representa la repolarización ventricular, indicando el restablecimiento del potencial de membrana en los ventrículos y desempeñando un papel fundamental en la preparación para el próximo ciclo cardíaco. La amplitud de estos componentes puede variar en respuesta a cambios en la actividad eléctrica cardiaca y es indicativa de alteraciones en la función cardiaca.

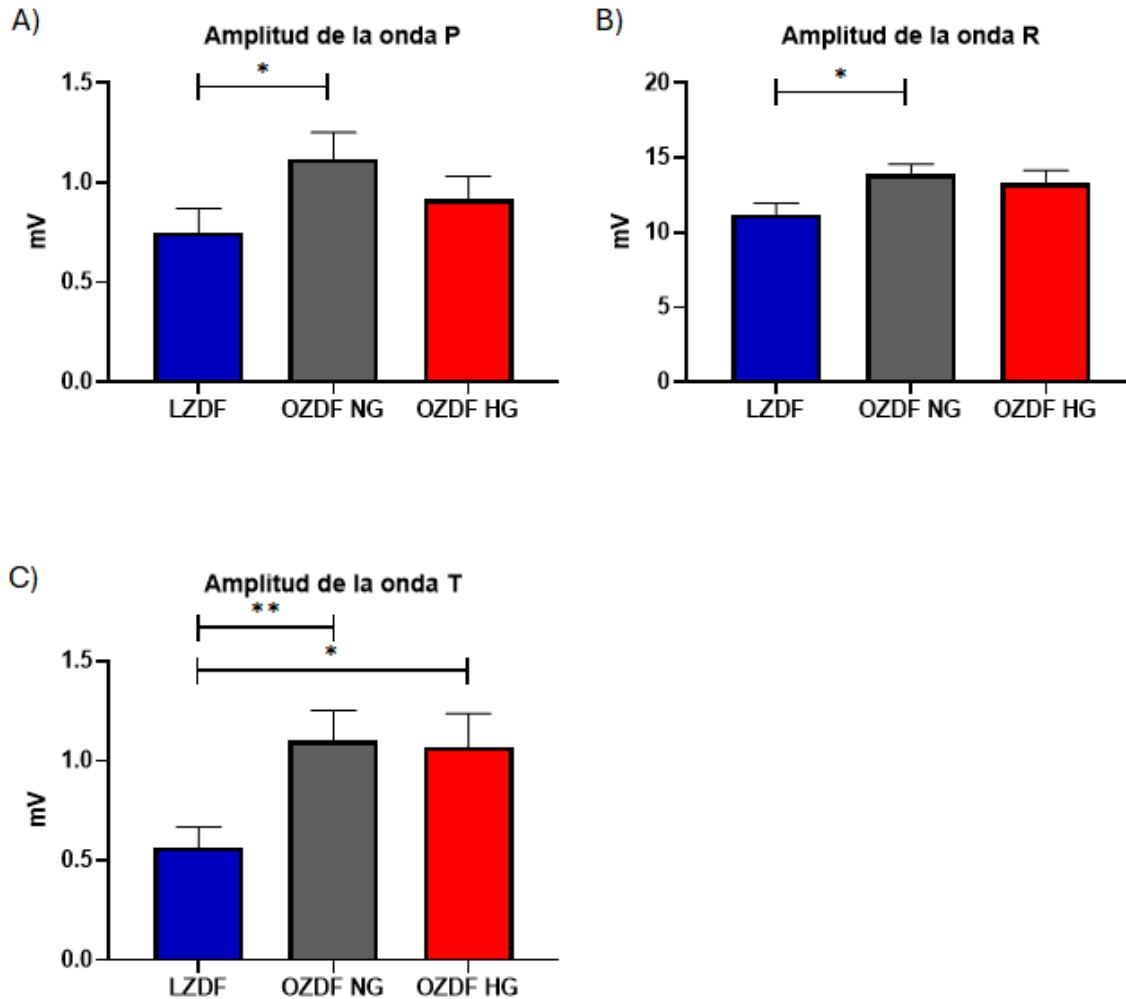


Figura 18. **Evaluación de la amplitud de las Ondas P, R y T del electrocardiograma.** Se evaluó la amplitud total de las ondas P, R y T de los grupos LZDF (n=32), OZDF NG (n = 36) OZDF HG (n =20). Se midió la amplitud de la onda P (A), onda R (B) y onda T (C) en registros ECG. Se observó un aumento significativo en la amplitud de onda P y R del grupo OZDF NG comparado con Lean. Así como un aumento en las amplitudes de la onda T, tanto del grupo OZDF HG como del grupo OZDF NG comparado con Lean. (\*p<.05 \*\*p<.001).

En la evaluación de la amplitud de las ondas del ECG, se observaron resultados significativos (Figura 18). En primer lugar, se registró un aumento notable en la amplitud de la onda P en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo Lean (48%, \*p<0.05). Este hallazgo podría indicar una mayor sincronización de la actividad eléctrica auricular en las ratas normoglucémicas o bien un aumento en la masa auricular.

Asimismo, se observó un incremento en la amplitud de la onda R en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo Lean (23% \* $p < 0.05$ ), sugiriendo una posible hipertrofia ventricular en respuesta a la obesidad y la diabetes. Por último, se detectó un aumento en la amplitud de la onda T tanto en los grupos OZDF HG (88%, \* $p < 0.05$ ) como OZDF NG (94%, \*\* $p < 0.001$ ) en comparación con el grupo Lean. Este resultado podría estar relacionado con alteraciones en la repolarización ventricular, posiblemente debido a cambios en la estructura y función del miocardio en condiciones patológicas, estos hallazgos podrían ser el resultado de adaptaciones cardíacas compensatorias frente al estrés metabólico y hemodinámico asociado con la obesidad y la diabetes.

## Análisis de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca.

Se analizó la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca (VFC). Se calculó el índice de equilibrio simpato-vagal SD1/SD2 (IESV), el cual proporciona información crucial sobre el equilibrio autonómico del corazón. Los resultados obtenidos revelaron alteraciones en el IESV entre los tres grupos evaluados. Se observó una disminución del 56.5% en el grupo OZDF HG (0.100) y del 20.9% en el grupo OZDF NG (.182) en comparación con el grupo Lean (.230). La disminución del IESV en los grupos OZDF HG y OZDF NG, respaldan la importancia de la VFC como un marcador de la función autonómica cardíaca y su asociación con estados fisiopatológicos como la obesidad y la hiperglucemia.

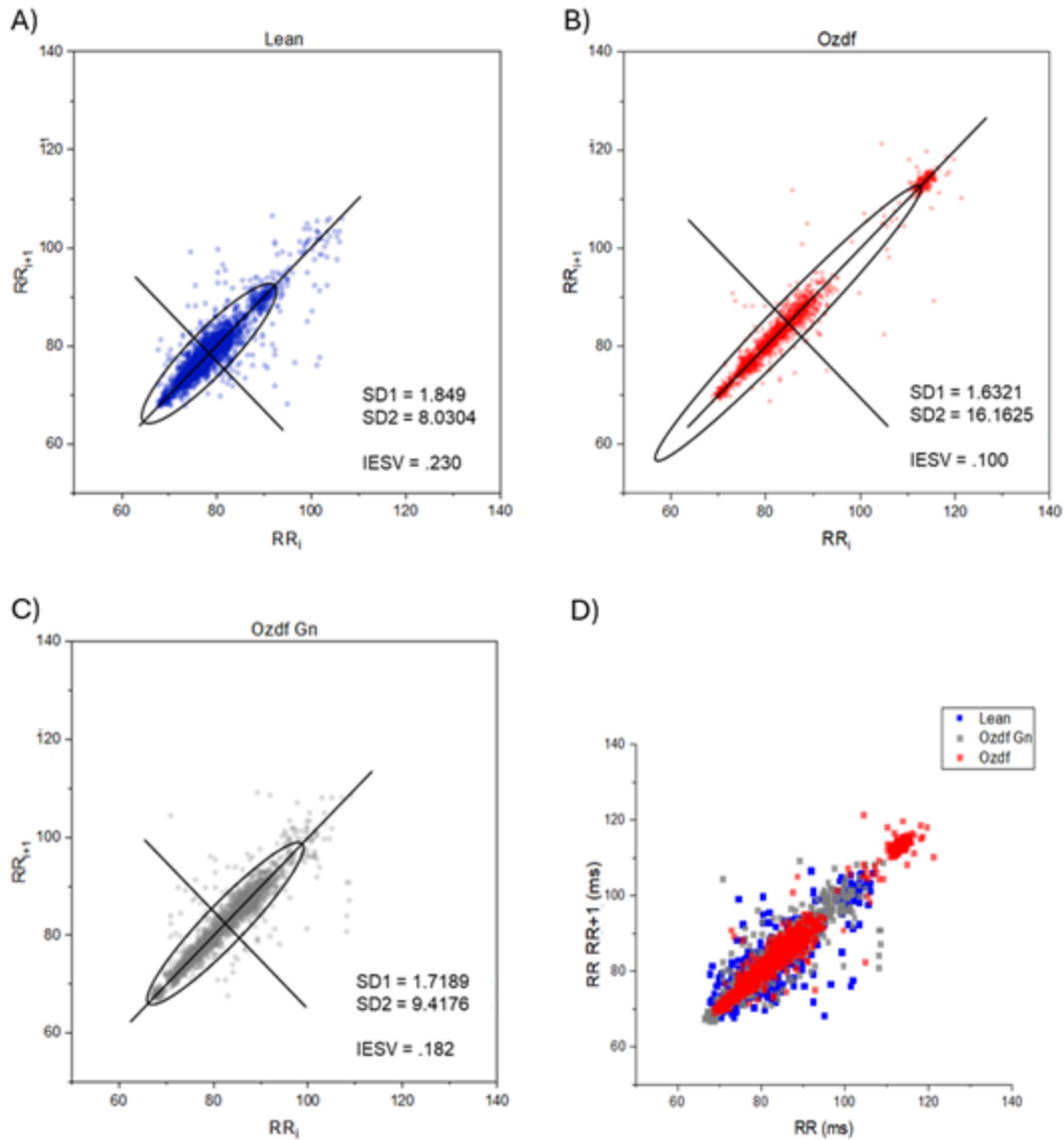


Figura 19. **Análisis de la variabilidad de la frecuencia cardiaca a través de gráficas de Poincaré.** Se evaluó la VFC de los grupos LZDF (n=32), OZDF NG (n = 36) OZDF HG (n =20). Se observan en A las gráficas correspondientes al grupo LZDF, en B el grupo OZDF HG y en C el grupo OZDF NG, en estas se observan las desviaciones estándar de estas e índice de equilibrio simpato vagal, se observa en D las gráficas de Poincaré sobrepuestas en la cual se facilita observar las diferencias entre los grupos.

## Representación orbital del ECG

Se llevó a cabo una representación orbital del ECG utilizando una metodología desarrollada por Jimenes y colaboradores (Jiménez et al., 2014). Esta técnica nos permite analizar el registro electrocardiográfico en el espacio: tiempo, voltaje y la primera derivada del voltaje sobre el tiempo. Específicamente, técnica nos brinda la capacidad de visualizar y calcular los cambios en la forma del complejo QRS, permitiéndonos conocer la derivada en cada punto del ECG y cuantificarlos en unidades de mV/s (milivoltios divididos por segundos).

Se obtiene el plano tiempo vs voltaje ( $t, V$ ), donde se puede observar el ECG habitual. Posteriormente, se realizó una medición en el plano ( $V, dV/dt$ ), lo que nos permitió observar las órbitas asociadas al complejo QRS. En este análisis, calculamos la variación de las pendientes máximas positivas y negativas del complejo QRS, así como la variación de los valores máximos de la onda R.

Finalmente, se llevó a cabo una representación Orbital, donde ahora podemos distinguir tres ejes: el tiempo, medido en segundos correspondientes al eje X; el voltaje, medido en mV correspondientes al eje Y; y la derivada del voltaje, medida en mV/s correspondientes al eje Z.

La representación orbital del ECG nos permite evaluar no solo la forma del complejo QRS, sino también su dinámica temporal y la velocidad de cambio de voltaje en cada punto. Estos datos son cruciales para entender la función cardíaca y pueden revelar anomalías sutiles que podrían no ser evidentes en un análisis convencional del ECG. Además, al cuantificar las variaciones en las características del complejo QRS y en la actividad eléctrica del corazón, podemos identificar patrones distintivos asociados con diversas enfermedades cardiovasculares, como la cardiopatía isquémica, la hipertrofia ventricular y los trastornos del ritmo cardíaco

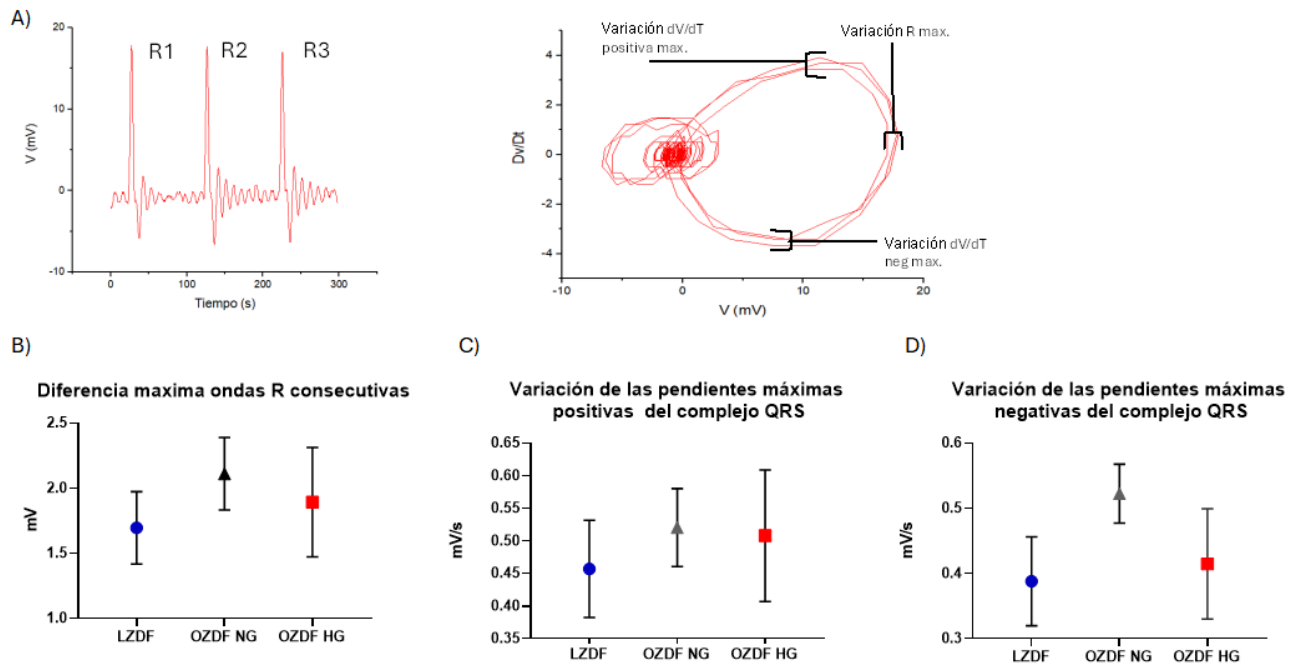


Figura 20. **Evaluación de la variabilidad del complejo QRS.** Se evaluaron la variabilidad de los complejos QRS en los grupos LZDF (n=32), OZDF NG (n = 36) OZDF HG (n =20). Gráficas representativas de la variación máxima de la amplitud de la onda R (A) en los grupos Lean, OZDF HG, OZDF NG. Gráficas representando la variación de las pendientes máximas positivas (B) y negativas (C) del complejo QRS. En las 3 gráficas se observa un aumento en la variación de las pendientes positiva, negativa y la amplitud de la onda R máximas, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas.

Se observó una tendencia al aumento en la variabilidad de las pendientes máximas positivas y negativas del complejo QRS, así como en la variación de los valores máximos de la onda R en los grupos OZDF HG y OZDF NG comparado con el control. Sin embargo, estos aumentos no fueron estadísticamente significativos.

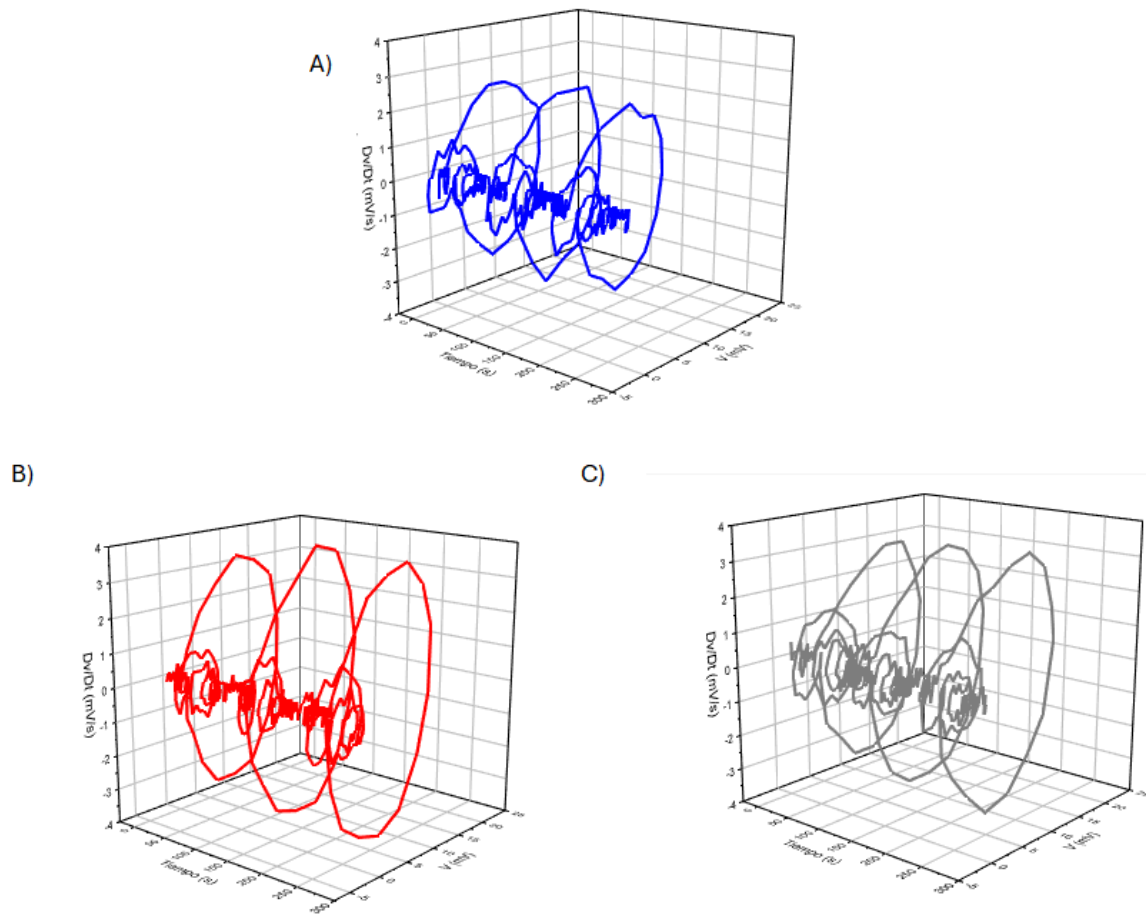


Figura 21. **Representación orbital del ECG.** Se observa graficada una representación espacial de lo ECG promediados de LZDF ( $n = 32$ ) en A , OZDF HG ( $n = 20$ ) en B, OZDF NG ( $n=36$ ) en C, compuestas de tres ejes: tiempo, medido en segundos correspondientes al eje X; voltaje, medido en mV correspondientes al eje Y; y la derivada del voltaje, medida en mV/s correspondientes al eje Z.

## Expresión de Cx43

Se llevó a cabo un ensayo de western blot para cuantificar la expresión de Cx43 en los 3 grupos. Se observó una reducción significativa en los niveles de expresión en los grupos OZDF HG y una tendencia a la disminución en el grupo OZDF NG en comparación con el grupo control LZDF. Específicamente, se encontró una disminución del 20.48% en el grupo OZDF HG y del 7.68% en el grupo OZDF NG con respecto al grupo Lean.

Cx43 desempeña un papel crucial en la comunicación intercelular en el corazón, y su reducción podría contribuir a la disminución en la variabilidad de la frecuencia cardíaca observada en los grupos obesos en comparación con el grupo control Lean.

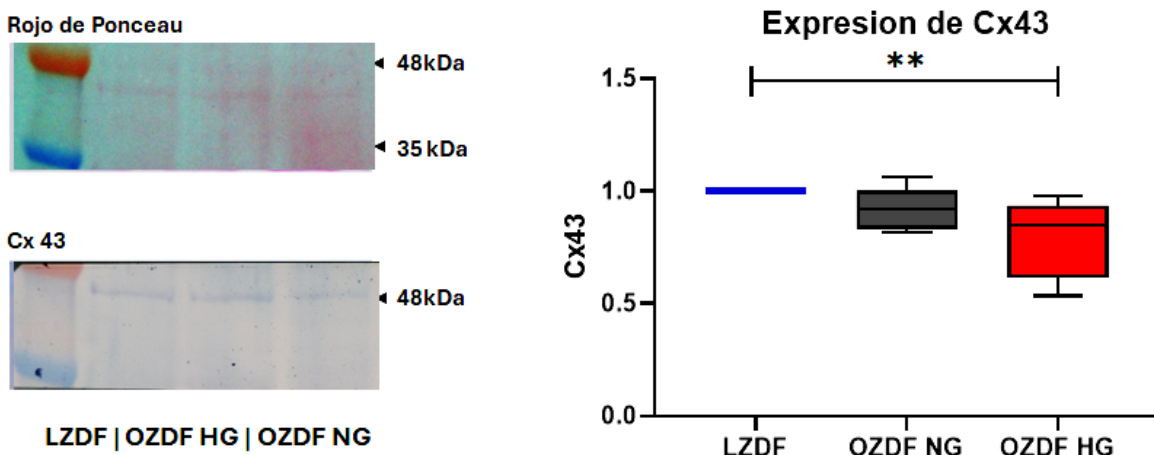


Figura 22. **Evaluación en los niveles de expresión de Cx43.** Se evaluó la expresión relativa de Cx43 en los grupos LZDF (n=7), OZDF NG (n=7) OZDF HG (n=7). Se observa A un recorte de la membrana de PVDF en la parte inferior y un recorte de la membrana en tinción de rojo ponceau como referencia. En B se observa la gráfica de la cuantificación de la Cx43, en la cual se observa una disminución significativa en los niveles de expresión de Cx43 del grupo OZDF HG comparado con LZDF, así como una tendencia a la disminución en la expresión de OZDF NG. ( $p^{**} < .005$ )

# Resumen de Resultados

Tabla 9. **Tabla de resultados.** En la tabla se muestran flechas mostrando cambios significativos en los análisis realizados. En azul las diferencias significativas con respecto al grupo LZDF, en gris diferencias significativas con respecto a OZDF GN y en rojo las diferencias significativas con respecto a OZDF HG. Las letras SA y CA en la tabla hacen referencia a las condiciones sin anestesia y con anestesia, respectivamente

<b>Morfométricos</b>	<b>LZDF</b>		<b>OZDF GN</b>		<b>OZDF HG</b>	
Talla (perímetro y peso)			↑		↑	
Grasas totales			↑		↑	
CTG					↑↑	
<b>Duración de la conducción auricular</b>	<b>SA</b>	<b>CA</b>	<b>SA</b>	<b>CA</b>	<b>SA</b>	<b>CA</b>
Onda P			↑↑			
Segmento PR			↑			
<b>Duración de la conducción ventricular</b>	<b>SA</b>	<b>CA</b>	<b>SA</b>	<b>CA</b>	<b>SA</b>	<b>CA</b>
Complejo QRS						
Intervalo RR			↑			↑
QT						↑
QTc						↑
<b>Amplitud de las ondas del ECG</b>						
Onda P			↑			
Onda R			↑			
Onda T			↑		↑	
<b>Análisis de la VFC</b>			↓		↓	
<b>Representación orbital del ECG</b>						
Diferencia máxima ondas R consecutivas			↑		↑	
Variación de las pendientes máximas positivas del complejo QRS			↑		↑	
Variación de las pendientes máximas negativas del complejo QRS			↑		↑	
<b>Expresión de Cx43</b>					↓	

## Discusión

La fibrilación auricular (FA) es el tipo de arritmia cardíaca más común en humanos, afectando la conducción eléctrica de las cámaras superiores del corazón y resultando en una actividad eléctrica caótica que provoca latidos irregulares e ineficientes. Esta condición crónica y progresiva incrementa el riesgo de eventos cardiovasculares adversos como el desarrollo de coágulos sanguíneos, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia cardíaca, infarto, muerte súbita cardíaca y un alto índice de morbilidad y mortalidad. En México, la FA afecta aproximadamente al 5.7% de la población, con una prevalencia mayor en hombres. El riesgo de padecer FA aumenta con la edad y está asociado con múltiples comorbilidades, incluyendo hipertensión arterial, dislipidemia, accidentes cerebrovasculares, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia e isquemia cardíacas, diabetes y obesidad (Grisanti, 2018; Homan et al., 2019; Nalliah et al., 2016; Rodríguez-Reyes et al., 2022; Sultan et al., 2021; Gupta et al., 2022; Sultan et al., 2020; Wang et al., 2019).

La obesidad y la diabetes son factores de riesgo bien establecidos para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Ambas condiciones están relacionadas con el desarrollo de FA, lo que, junto con el aumento de la prevalencia global y nacional de estas enfermedades, convierte a la FA y a su fisiopatología en un objetivo crucial de investigación. En este estudio empleamos el modelo Zucker Diabetic Fatty (ZDF) el cual es ampliamente utilizado en investigaciones sobre diabetes y obesidad debido a su predisposición genética para desarrollar estas condiciones metabólicas. Las ratas ZDF presentan una mutación en el gen receptor de leptina (*fa/fa*), lo que resulta en una disfunción en la regulación del apetito y, consecuentemente, en obesidad severa y diabetes tipo 2. Este modelo es particularmente valioso para estudiar la fisiopatología de la diabetes y la obesidad, así como sus complicaciones asociadas, ya que refleja las características de estas enfermedades en humanos. Es crucial realizar mediciones morfológicas a fin de confirmar el estado de obesidad e hiperglucemia en estos animales. (Grisanti, 2018; Homan et al., 2019; Pathak et al.; Wang et al., 2019)

Reportamos un aumento significativo tanto en el peso ( $p < .0001$ ) como en el perímetro abdominal ( $p < .0001$ ) de los grupos obeso normoglucémico y obeso hiperglucémico comparado con el grupo delgado normoglucémico. Aunado a esto, al realizar las curvas de tolerancia a la glucosa observamos un incremento ( $*p < 0.005$ ) de la glucosa plasmática para la condición obeso hiperglucémico. Estos resultados nos permiten establecer que la expresión de hiperglucemia y obesidad constatadas en nuestro modelo coinciden con las características descritas para el establecimiento de diabetes mellitus tipo 2 en otros trabajos, en donde se consideran estas alteraciones como trastornos propios de la progresión de la enfermedad tanto en humanos como en modelos animales semejantes o con la misma cepa (Leonard, et al., 2005). Al cumplir con estos criterios experimentales, se valida nuestro modelo animal y se asegura una interpretación correcta de los resultados en el contexto de la obesidad y la diabetes.

Los mecanismos fisiopatológicos que vinculan la obesidad y la diabetes con el desarrollo de FA no están del todo descritos y se han reportado la participación de distintos mecanismos de acción en el desarrollo de arritmias, particularmente se ha identificado un proceso de remodelación estructural similar a los cambios estructurales y eléctricos característicos en pacientes con enfermedad estructural cardíaca, la cual es un proceso complejo que implica el desarrollo de hipertrofia, fibrosis, muerte celular, y alteraciones en la conducción eléctrica, entre otros cambios. Estos procesos fisiopatológicos conducen a una disfunción cardíaca progresiva y son clave para el desarrollo de la insuficiencia cardíaca y las arritmias. (Nalliah et al., 2016; von Jeinsen et al., 2020)

Esta remodelación estructural, especialmente en la miocardiopatía diabética, implica cambios arquitectónicos, incluyendo fibrosis y alteraciones en la longitud de los miocitos debido a la dilatación cardíaca. Sin embargo, estos cambios no se limitan a aspectos estructurales, sino que también modifican la composición mecánico-eléctrica y química del corazón, exacerbando la disfunción de la conducción, lo que es común en

pacientes con obesidad y diabetes. La fibrosis en el contexto de la diabetes y la obesidad puede atribuirse a diversos factores, como el estrés oxidativo, la inflamación y el aumento en la expresión del factor de crecimiento transformante beta. Aunque se requieren más investigaciones para determinar su contribución relativa a la patofisiología de la FA en estos trastornos metabólicos (Nalliah et al., 2016; Sultan et al., 2020; von Jeinsen et al., 2020; Wang et al., 2019; Grisanti, 2018; Nygren et al., 2007).

A pesar de la amplia evidencia en la literatura sobre el rol de la obesidad y la diabetes en el desarrollo patológico de la FA y otras alteraciones del ritmo cardíaco, no se han descrito por completo los mecanismos que propician estas alteraciones. En este proyecto de investigación nos hemos propuesto ofrecer una comprensión más clara del desarrollo fisiopatológico de los trastornos del ritmo a través del análisis del electrocardiograma y la evaluación de la expresión de Cx43 en ratas ZDF. Como se ha explicado previamente en este trabajo, utilizamos ratas de la cepa ZDF, la cual desarrolla hiperglicemia e hiperlipidemia en su octava semana de edad y diabetes en la decimosegunda. Este modelo es usado ampliamente en el estudio y prevención de diabetes, sin embargo, la evidencia de alteraciones en el corazón diabético, incluyendo el estudio del ECG en este, es escasa. (VanHoose et al., 2010b)

Debido a la escasa evidencia de alteraciones en el registro electrocardiográfico este se utilizó como herramienta no invasiva permitiéndonos registrar y analizar la actividad eléctrica del corazón, proporcionando información valiosa sobre la conducción cardíaca, la repolarización y la estructura del miocardio. Evaluamos cambios específicos en los intervalos PR, QRS y RR, así como cambios en la duración y amplitud de las ondas P, R y T, que son indicativos de remodelación estructural y eléctrica y pueden reflejar la influencia de la obesidad e hiperglucemia en la función cardíaca.

Decidimos segmentar los resultados del análisis de ECG según las cámaras cardíacas, siguiendo el sistema de conducción eléctrica cardíaca. En cuanto la conducción auricular, se observó un aumento significativo en la duración de la onda P del ECG en

el grupo obeso normoglucémico en comparación con los grupos obeso hiperglucémico y delgado normoglucémico. Este incremento sugiere una ralentización en la velocidad de conducción auricular en el grupo obeso normoglucémico. Además, se registró un aumento significativo en la duración del segmento PR en el grupo obeso hiperglucémico en comparación con el grupo delgado normoglucémico, lo que indica un retraso en la conducción auriculoventricular.

En cuanto a la conducción ventricular, no se observaron diferencias significativas en la duración del complejo QRS entre los grupos obesos normoglucémico e hiperglucémico y el grupo delgado normoglucémico, sugiriendo que no hay cambios sustanciales en la velocidad de conducción intraventricular. Sin embargo, se reportó un aumento significativo en los intervalos QT y QTc en el grupo obeso hiperglucémico comparado con el control bajo condiciones de anestesia. Esta prolongación del intervalo QT, que refleja el tiempo total de despolarización y repolarización ventricular, indica una repolarización ventricular retardada.

Nuestros resultados concuerdan con un análisis del monitoreo ambulatorio del ECG realizado en pacientes obesos y diabéticos, el cual reveló alteraciones en la conducción eléctrica cardíaca y la variabilidad de la frecuencia cardíaca. En individuos obesos, se observó un aumento en la frecuencia de aparición de intervalos QT largos, mientras que en pacientes diabéticos se evidenció una velocidad de conducción reducida y una mayor prevalencia del síndrome de QT prolongado. Estos cambios en los intervalos QT y QTc reflejaron modificaciones en la arquitectura cardíaca y estuvieron relacionados con un mayor riesgo cardiovascular en ambas poblaciones (Homan et al., 2019; Sultan et al., 2021b; VanHoose et al., 2010b).

En otro trabajo, pacientes diabéticos presentaron una mayor incidencia de intervalos QT prolongados, lo cual está en línea con nuestros resultados, esto se puede relacionar con una mayor mortalidad cardíaca súbita. Contrastando con nuestros resultados en otros estudios se observaron prolongaciones en el complejo QRS; sin embargo, en cuanto a la disminución en la velocidad de conducción y una mayor propensión a la fibrilación ventricular, junto con una disminución en la variabilidad de la frecuencia

cardíaca sus resultados concuerdan con los nuestros, indicando un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y mortalidad en esta población (Grisanti, 2018; Homan et al., Pathak et al, 2019; Sultan et al., 2021b; Nygren et al., 2007).

En relación con la variabilidad de la frecuencia cardíaca, se evidenció un aumento significativo en la duración del intervalo RR en el grupo obeso normo glucémico en condiciones sin anestesia, así como en el grupo obeso hiperglucémico bajo anestesia, en comparación con el grupo control. Este aumento en el intervalo RR, que representa el tiempo entre dos contracciones ventriculares consecutivas, podría reflejar bradicardia o variabilidad en la frecuencia cardíaca, en la cual se observó una disminución del 20% en el grupo obeso normo glucémico y del 56% en el grupo obeso hiperglucémico en comparación con el grupo delgado normo glucémico. La razón SD1/SD2, que evalúa el equilibrio autonómico cardíaco, reveló valores más bajos en los grupos obesos, indicando una posible dominancia simpática o reducción del tono parasimpático, especialmente pronunciada en el grupo obeso hiperglucémico en comparación con el grupo control. Estos hallazgos representan un mayor riesgo cardiovascular en estos grupos, relacionado con su condición obesa e hiperglucémica, sugiriendo que tanto la obesidad como la hiperglucemia afectan la regulación del ritmo cardíaco.

En cuanto a los resultados obtenidos del análisis de la amplitud de las ondas del ECG, se observó un aumento significativo en la amplitud de la onda P en el grupo obeso normo glicémico en comparación con el grupo delgado normo glicémico. La onda P representa la despolarización auricular, y su aumento en amplitud sugiere una mayor masa muscular auricular o una mayor carga de trabajo en las aurículas en individuos obesos normoglicémicos. Este hallazgo puede estar relacionado con la hipertrofia auricular, una condición común en personas con obesidad debido a la sobrecarga de volumen y presión.

Además, se registró un aumento significativo en la amplitud de la onda R en el grupo obeso normo glicémico en comparación con el grupo delgado normo glicémico. La onda R refleja la despolarización del ventrículo izquierdo, y su aumento en amplitud reitera la posible hipertrofia ventricular izquierda, una adaptación del corazón al

aumento de la demanda hemodinámica en la obesidad. Estos resultados concuerdan con la hipertrofia ventricular izquierda, reportada en un estudio la cual se manifestó por un aumento en la amplitud de la onda R en el ECG, junto con el prolongamiento de los intervalos QT y QTc, que actuaron como señales tempranas de enfermedad cardiovascular en desarrollo. Además, la prolongación del intervalo QTc se asoció con la gravedad de la neuropatía autónoma cardíaca en pacientes diabéticos, sugiriendo un vínculo entre estas manifestaciones electrocardiográficas y la neuropatía autonómica (Homan et al., 2019; Sultan et al., 2020; VanHoose et al., 2010b).

Por último, se observó un aumento significativo en la amplitud de la onda T en los grupos obeso hiperglucémico y obeso normo glicémico en comparación con el grupo control. La onda T representa la repolarización ventricular, y su aumento en amplitud puede indicar cambios en el entorno eléctrico del corazón, tales como alteraciones en la conducción de iones o en el metabolismo energético celular.

Nuestros resultados están en línea con múltiples trabajos los cuales evidencian es proceso de remodelación estructural cardíaca, como lo es un estudio en humanos que empleó mediciones ecocardiográficas para evaluar el ventrículo izquierdo, encontrando un aumento en su masa, carga global longitudinal y pico sistólico auricular en pacientes obesos y diabéticos en comparación con los controles. La remodelación estructural, característica de la obesidad, se manifiesta en un aumento del tamaño, masa y presión auriculares, junto con períodos refractarios prolongados de la aurícula izquierda concordando lo que concuerda con nuestros resultados; este proceso hipertrofico altera la hemodinámica cardíaca y provoca un estado inflamatorio crónico que se relaciona con la FA y la fibrosis, también observada en pacientes diabéticos, siendo indicativa de FA relacionada con la diabetes (Grisanti, 2018; Gupta et al., 2022; Homan et al., 2019; Nalliah et al., 2016; von Jeinsen et al., 2020; Wang et al., 2019).

El potencial arritmogénico de la FA podría deberse a otras influencias en la remodelación estructural y alteraciones en el metabolismo cardíaco, como el estrés oxidativo y el daño mitocondrial en los miocitos auriculares. En este sentido, reportamos un aumento significativo (\*\*\*)  $p < .0001$ ) en las cantidades de grasa total en

los grupos obesos en comparación con el grupo delgado, lo que puede contribuir a la inflamación y fibrosis cardíaca, generando insuficiencia cardíaca y otras complicaciones (Grisanti, 2018; Gupta et al., 2022; Homan et al., 2019).

En conjunto, estos resultados sugieren que tanto la obesidad como la hiperglucemia están asociadas con cambios significativos en la función eléctrica del corazón, manifestados a través de alteraciones en la amplitud y duración de las ondas del ECG. Estos hallazgos son indicativos de remodelación estructural cardíaca y disfunción eléctrica, en línea con un proceso hipertrófico y profibrotico, aspectos que son cruciales para la comprensión del riesgo aumentado de enfermedades cardiovasculares en individuos obesos y diabéticos.

Al realizar la representación orbital del ECG medimos la diferencia máxima de las ondas R consecutivas, la variación de las pendientes máximas positivas del complejo QRS y la variación de las pendientes máximas negativas del complejo QRS. No reportamos diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, observamos una tendencia al aumento en los grupos obesos en comparación con el control. La diferencia máxima de las ondas R consecutivas, que evalúa la variabilidad entre las amplitudes de las ondas R en ciclos cardíacos sucesivos, podría indicar una mayor irregularidad en la contracción ventricular en los individuos obesos. La variación de las pendientes máximas positivas y negativas del complejo QRS, que refleja cambios en la rapidez y consistencia de la despolarización y repolarización ventricular, sugiere una posible alteración estructural o funcional en el corazón debido a la obesidad. A pesar de estas tendencias, la falta de significancia estadística implica que no se puede afirmar con certeza que estas diferencias sean directamente atribuibles a la obesidad sin considerar otros factores o con un mayor tamaño de muestra en futuros estudios.

Los cambios en la actividad eléctrica cardíaca pueden atribuirse a alteraciones en la comunicación celular, particularmente a través de la conexina-43 (Cx43), una proteína esencial en las uniones comunicantes del corazón. La disminución en la expresión de Cx43 y el desacoplamiento célula a célula generan inestabilidad eléctrica y heterogeneidades electrofisiológicas, promoviendo arritmias malignas. Estos efectos se

han observado en corazones fibrosos e hipertrofiados, que presentan una conducción eléctrica alterada (Egan Benova et al., 2019; González-Casanova et al., 2021).

Se ha demostrado en modelos experimentales de obesidad y diabetes una repolarización ventricular retrasada y alteraciones en Cx43, incluyendo cambios en su nivel total y distribución. En la diabetes inducida por estreptozotocina, se observaron alteraciones en los niveles de Cx43, tanto fosforilada como sin fosforilar, y una disminución en la velocidad de conducción cardíaca. Se evidencia un marcado remodelamiento de Cx43 en el corazón diabético a través de la función de la unión de hendidura y hemicanal de Cx43, deprimida por condiciones hiperglucémicas. En modelos de obesidad, los marcadores inflamatorios aumentaron la susceptibilidad a la fibrilación auricular, así como la acumulación lipídica, fibrosis e inflamación auricular, contribuyendo a la disfunción eléctrica (Billur et al., 2022; Grisanti, 2018; Gupta et al., 2022). Estos estudios concuerdan con lo observado en este trabajo en donde observamos una disminución significativa en la expresión de Cx43 en el grupo obeso hiperglucémico en comparación con el grupo control.

Finalmente, es importante mencionar estudios realizados en otros biomodelos animales en los cuales se han demostrado alteraciones en la conducción eléctrica y la expresión de conexinas en condiciones diabéticas y de obesidad. Modelos de diabetes tipo 2, ratas Goto-Kakizaki mostraron mayor arritmogenicidad auricular y fibrosis en comparación con su grupo control. Conejos diabéticos presentaron fibrosis intersticial auricular aumentada, un tiempo de conducción interauricular prolongado y un período refractario efectivo auricular aumentado en línea con nuestros resultados. Además, en ratas diabéticas, el estrés oxidativo y la inflamación promovieron la expresión del factor de crecimiento transformador beta y la señalización profibrótica, desencadenando una respuesta profibrótica en el miocardio auricular.

En modelos de diabetes inducida por estreptozotocina, se observaron niveles elevados de conexina-43 y cambios en su distribución, aunque no se encontraron alteraciones en la duración del potencial de acción, pero sí una reducción en la velocidad de conducción. En ratas diabéticas tipo 1 inducidas por estreptozotocina, también se

encontró una disminución en la velocidad de conducción en condiciones basales. En modelos de obesidad, los marcadores inflamatorios incrementaron la susceptibilidad a la fibrilación auricular y causaron acumulación lipídica, fibrosis e inflamación auricular.

Sin embargo, existen trabajos que contrastaron con nuestros resultados, incluso utilizando en mismo Biomodelo, Zucker Diabetic Fatty, la velocidad de conducción fue más lenta en ratas diabéticas sin cambios en los niveles de conexina-43. Estos resultados contradictorios a los nuestros sugieren que otras conexinas, como CX40, 43 y 45, pueden contribuir a la patogénesis de la arritmia cardíaca en pacientes con diabetes.

Es importante darle seguimiento a esta línea de investigación, pues aún hay múltiples variables a considerar, desde la localización de la expresión de Cx43, realizar estudios clínicos longitudinales para evaluar la progresión de las alteraciones cardíacas en pacientes obesos y diabéticos a lo largo del tiempo. Esto ayudaría a establecer correlaciones más precisas entre los cambios electrofisiológicos y estructurales observados en modelos animales y los hallazgos clínicos en humanos.

# Conclusión

## Modelo animal:

Se observaron aumentos significativos en los parámetros de peso y perímetro abdominal en los grupos obesos comparados con el grupo control, lo que se relaciona con un aumento significativo en la grasa total en estos grupos. Además, únicamente el grupo obeso hiperglucémico presentó altos niveles de glucosa.

## Duración de los componentes del electrocardiograma:

Se observó un aumento significativo en la duración de la onda P en el grupo obeso normoglucémico en comparación con los grupos obeso hiperglucémico y delgado normoglucémico, indicando una alteración en la conducción auricular o una posible hipertrofia. Asimismo, se encontró un aumento significativo en la duración del segmento PR en el grupo obeso hiperglucémico, reflejando un retraso en la conducción aurículo-ventricular. De igual modo, se reportó un aumento significativo en los intervalos QT en el grupo obeso hiperglucémico, lo que sugiere una repolarización ventricular retardada.

## Variabilidad de la frecuencia cardíaca:

Se evidenció una disminución de la frecuencia cardíaca, así como la variabilidad de la frecuencia cardíaca en los grupos obesos comparados con el grupo delgado normoglucémico.

## Amplitud de las ondas del electrocardiograma:

En el análisis de la amplitud de las ondas del ECG, se observó un aumento significativo en las amplitudes de las ondas P y R en el grupo obeso normoglucémico así como un aumento significativo en la amplitud de la onda T en los grupos obesos normoglucémico e hiperglucémico comparado con el grupo control, lo que podría estar relacionado con un proceso de hipertrofia cardíaca.

## Niveles de expresión de conexina 43:

Se encontró una disminución significativa en la expresión de Cx43 en el grupo obeso hiperglucémico comparado con el grupo control, sugiriendo una correlación con el aumento en la duración del intervalo QT en el mismo grupo.

De manera general, podemos concluir que la obesidad y la hiperglucemia inducen cambios significativos en la actividad eléctrica cardíaca, probablemente mediados por la alteración en la expresión de conexina 43. Estos hallazgos subrayan la importancia de la regulación de Cx43 en el mantenimiento de la función cardíaca normal y sugieren que las intervenciones dirigidas a corregir estas alteraciones podrían ser benéficas para prevenir arritmias en individuos obesos y diabéticos.

## Bibliografía

- Association, A. D. (2014). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 37(Supplement 1), S81–S90. <https://doi.org/10.2337/DC14-S081>
- Aurigemma, G. P., De Simone, G., & Fitzgibbons, T. P. (2013). Cardiac remodeling in obesity. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 6(1), 142–152. <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.111.964627>
- Axelsen, L. N., Calloe, K., Braunstein, T. H., Riemann, M., Hofgaard, J. P., Liang, B., Jensen, C. F., Olsen, K. B., Bartels, E. D., Baandrup, U., Jespersen, T., Nielsen, L. B., Holstein-Rathlou, N. H., & Nielsen, M. S. (2015). Diet-induced pre-diabetes slows cardiac conductance and promotes arrhythmogenesis. *Cardiovascular Diabetology*, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12933-015-0246-8/FIGURES/8>
- Barquera, S., Hernández-Barrera, L., Trejo-Valdivia, B., Shamah, T., Campos-Nonato, I., & Rivera-Dommarco, J. (2018). Obesity in Mexico, prevalence and trends in adults. *Salud Publica Mex*, 62, 682–692. <https://doi.org/10.21149/11630>
- Barret k. (n.d). ganong medical physiology. Mc-Graw Hill. accesado el 2, 5, 2021
- Basto-Abreu, A., López-Olmedo, N., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., de la Cruz-Góngora, V., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Romero-Martínez, M., Barquera, S., Villalpando, S., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2021). Prevalence of diabetes and glycemic control in Mexico: national results from 2018 and 2020. *Salud Pública de México*, 63(6, Nov-Dic), 725–733. <https://doi.org/10.21149/12842>
- Batra, N., Kar, R., & Jiang, J. X. (2012). Gap junctions and hemichannels in signal transmission, function and development of bone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1818(8), 1909–1918. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMEM.2011.09.018>
- Bers, D. M. (2002). Cardiac excitation-contraction coupling. In *Nature* (Vol. 415, Issue 6868, pp. 198–205). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/415198a>
- Billur, D., Olgar, Y., & Turan, B. (2022). Intracellular Redistribution of Left Ventricular Connexin 43 Contributes to the Remodeling of Electrical Properties of the Heart in Insulin-resistant Elderly Rats. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 70(6), 447–462. [https://doi.org/10.1369/00221554221101661/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1369\\_00221554221101661-FIG7.JPEG](https://doi.org/10.1369/00221554221101661/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1369_00221554221101661-FIG7.JPEG)
- Boron, W., & Boulpaep, E. (2012). *Medical Physiology Boron*. Elsevier Health Sciences. Recuperado el 2 18, 2021

- BTL CardioPoint. (2014). Poincaré graph Complete ECG record in one sight BTL CardioPoint. Poincaré Graph 2 Motivation.
- Chen, H., Wang, X., Xiong, C., & Zou, H. (2020). The negative effects of obesity on heart, especially the electrophysiology of the heart. *https://doi.org/10.1080/21691401.2020.1770269*, 48(1), 1055–1062. <https://doi.org/10.1080/21691401.2020.1770269>
- Cobos Gil, M. Á., & Cobos Gil, M. Á. (2017). Validación clínica de una nueva fórmula para el cálculo del intervalo QT corregido. *Validación Clínica de Una Nueva Fórmula Para El Cálculo Del Intervalo QT Corregido*.
- Desplantez, T. (2017). Cardiac Cx43, Cx40 and Cx45 co-assembling: Involvement of connexins epitopes in formation of hemichannels and Gap junction channels. *BMC Cell Biology*, 18(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12860-016-0118-4/FIGURES/3>
- Diabetes. (n.d.). Retrieved April 26, 203, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Egan Benova, T., Viczenczova, C., Szeiffova Bacova, B., Knezl, V., Dosenko, V., Rauchova, H., Zeman, M., Reiter, R. J., & Tribulova, N. (2019). Obesity-associated alterations in cardiac connexin-43 and PKC signaling are attenuated by melatonin and omega-3 fatty acids in female rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 454(1–2), 191–202. <https://doi.org/10.1007/S11010-018-3463-0/FIGURES/7>
- Eisner, D. A., Caldwell, J. L., Kistamás, K., & Trafford, A. W. (2017). Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. In *Circulation Research* (Vol. 121, Issue 2, pp. 181–195). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.310230>
- Elhaj, F. A., Salim, N., Harris, A. R., Swee, T. T., & Ahmed, T. (2016). Arrhythmia recognition and classification using combined linear and nonlinear features of ECG signals. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 127, 52–63. <https://doi.org/10.1016/J.CMPB.2015.12.024>
- Fowlkes, V., Clark, J., Fix, C., Law, B. A., Morales, M. O., Qiao, X., Ako-Asare, K., Goldsmith, J. G., Carver, W., Murray, D. B., & Goldsmith, E. C. (2013). Type II diabetes promotes a myofibroblast phenotype in cardiac fibroblasts. *Life Sciences*, 92(11), 669–676. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.01.003>
- Fruh, S. M. (2017). Obesity: Risk factors, complications, and strategies for sustainable long-term weight management. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners*, 29(Suppl 1), S3. <https://doi.org/10.1002/2327-6924.12510>
- González-Casanova, J. E., Durán-Agüero, S., Caro-Fuentes, N. J., Gamboa-Arancibia, M. E., Bruna, T., Bermúdez, V., & Rojas-Gómez, D. M. (2021). New insights on the role of connexins and gap junctions channels in

adipose tissue and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22).  
<https://doi.org/10.3390/ijms222212145>

- Grisanti, L. A. (2018). Diabetes and Arrhythmias: Pathophysiology, Mechanisms and Therapeutic Outcomes. *Frontiers in Physiology*, 9, 1669.  
<https://doi.org/10.3389/FPHYS.2018.01669/BIBTEX>
- Gupta, V., Munjal, J. S., Jhaji, P., Jhaji, S., & Jain, R. (2022). Obesity and Atrial Fibrillation: A Narrative Review. <https://doi.org/10.7759/cureus.31205>
- Hall, J.E.(2011).Guyton & Hall textbook of Medical Physiology. Elsevier. Accesado 2 17, 2021 from <https://www.inkling.com/read/guyton-hall-textbook-of-medical-physiology-12th/ed>
- Homan, E. A., Reyes, M. V., Hickey, K. T., & Morrow, J. P. (2019). Clinical overview of obesity and diabetes mellitus as risk factors for atrial fibrillation and sudden cardiac death. *Frontiers in Physiology*, 10(JAN), 1847.  
<https://doi.org/10.3389/FPHYS.2018.01847/BIBTEX>
- Howarth, F. C., Nowotny, N., Zilahi, E., El Haj, M. A., & Lei, M. (2007). Altered expression of gap junction connexin proteins may partly underlie heart rhythm disturbances in the streptozotocin-induced diabetic rat heart. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 305(1–2), 145–151.  
<https://doi.org/10.1007/S11010-007-9537-Z/FIGURES/2>
- Hsu, C. H., Tsai, M. Y., Huang, G. S., Lin, T. C., Chen, K. P., Ho, S. T., Shyu, L. Y., & Li, C. Y. (2012). Poincaré plot indexes of heart rate variability detect dynamic autonomic modulation during general anesthesia induction. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica: Official Journal of the Taiwan Society of Anesthesiologists*, 50(1), 12–1
- Hunter, A. W., Barker, R. J., Zhu, C., & Gourdie, R. G. (2005). Zonula occludens-1 alters connexin43 gap junction size and organization by influencing channel accretion. *Molecular Biology of the Cell*, 16(12), 5686–5698.  
<https://doi.org/10.1091/MBC.E05-08-0737/ASSET/IMAGES/LARGE/ZMK0120574110009.JPEG>
- Jevon, P. (2013). Procedure for recording a standard 12 lead electrocardiogram. <https://doi.org/10.12968/BJON.2010.19.10.48204>, 19(10), 649–651.  
<https://doi.org/10.12968/BJON.2010.19.10.48204>
- Jiménez, R. F., Lecannelier, E., Jiménez, C., & Dinamarca, G. (2014). ECG 3D - Study of the electric behavior of the heart through a curve in space. *Research*, 1.  
<https://doi.org/10.13070/RS.EN.1.1163>
- Jongsma, H. J., & Wilders, R. (2000). Gap Junctions in Cardiovascular Disease. *Circulation Research*, 86(12), 1193–1197.  
<https://doi.org/10.1161/01.RES.86.12.1193>
- Kaplan Berkaya, S., Uysal, A. K., Sora Gunal, E., Ergin, S., Gunal, S., & Gulmezoglu, M. B. (2018). A survey on ECG analysis. *Biomedical Signal*

Processing and Control, 43, 216–235.  
<https://doi.org/10.1016/J.BSPC.2018.03.003>

- Karmakar, C. K., Khandoker, A. H., Gubbi, J., & Palaniswami, M. (2009). Complex correlation measure: a novel descriptor for Poincaré plot. *Biomedical Engineering Online*, 8, 17. <https://doi.org/10.1186/1475-925X-8-17>
- Klabunde, R. (2005). *Cardiovascular Physiology Concepts*. Lippincott Williams & Wilkins. Recuperado el 2 17, 2021
- Koektuerk, B., Aksoy, M., Horlitz, M., Bozdog-Turan, I., & Turan, R. G. (2016). Role of diabetes in heart rhythm disorders. *World Journal of Diabetes*, 7(3), 45. <https://doi.org/10.4239/WJD.V7.I3.45>
- Lavie, C. J., Milani, R. V., & Ventura, H. O. (2009). Obesity and Cardiovascular Disease. Risk Factor, Paradox, and Impact of Weight Loss. In *Journal of the American College of Cardiology* (Vol. 53, Issue 21, pp. 1925–1932). J Am Coll Cardiol. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.12.068>
- Leonard, B. L., Watson, R. N., Loomes, K. M., Phillips, A. R., & Cooper, G. J. (2005). Insulin resistance in the Zucker diabetic fatty rat: a metabolic characterisation of obese and lean phenotypes. *Acta Diabetol*, 42(4), 162-170. doi: 10.1007/s00592-005-0197-8
- Lobstein, T., Jackson-Leach, R., Powis, J., Brinsden, H., & Gray, M. (2023). *World obesity atlas 2023*. World Obesity Federation. [www.johnclarksondesign.co.uk](http://www.johnclarksondesign.co.uk)
- Lucero, C. M., Andrade, D. C., Toledo, C., Díaz, H. S., Pereyra, K. V., Diaz-Jara, E., Schwarz, K. G., Marcus, N. J., Retamal, M. A., Quintanilla, R. A., & Del Rio, R. (2020). Cardiac remodeling and arrhythmogenesis are ameliorated by administration of Cx43 mimetic peptide Gap27 in heart failure rats. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63336-6>
- Mandry, D., Girerd, N., Lamiral, Z., Huttin, O., Filippetti, L., Micard, E., Ncho Mottoh, M.-P. B., Böhme, P., Chemla, D., Zannad, F., Rossignol, P., & Marie, P.-Y. (2021). Arterial and Cardiac Remodeling Associated With Extra Weight Gain in an Isolated Abdominal Obesity Cohort. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8, 1589. <https://doi.org/10.3389/FCVM.2021.771022>
- Manfra, O., Frisk, M., & Louch, W. E. (2017). Regulation of Cardiomyocyte T-Tubular Structure: Opportunities for Therapy. In *Current Heart Failure Reports* (Vol. 14, Issue 3, pp. 167–178). Current Science Inc. <https://doi.org/10.1007/s11897-017-0329-9>
- Mangoni, M. E., Joe, J., & Nargeot, J. (2008). Genesis and Regulation of the Heart Automaticity. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2007>
- Michela, P., Velia, V., Aldo, P., & Ada, P. (2015). Role of connexin 43 in cardiovascular diseases. *European Journal of Pharmacology*, 768, 71–76. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2015.10.030>

- Nalliah, C. J., Sanders, P., Kottkamp, H., & Kalman, J. M. (2016). The role of obesity in atrial fibrillation. *European Heart Journal*, 37(20), 1565–1572. <https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/EHV486>
- Nerbonne, J. M., & Kass, R. S. (2005). Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiological Reviews*, 85(4), 1205–1253. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00002.2005>
- Nygren, A., Olson, M. L., Chen, K. Y., Emmett, T., Kargacin, G., & Shimoni, Y. (2007). Propagation of the cardiac impulse in the diabetic rat heart: reduced conduction reserve. *The Journal of Physiology*, 580(2), 543–560. <https://doi.org/10.1113/JPHYSIOL.2006.123729>
- OMS. (2010, May 6). A healthy lifestyle - WHO recommendations. <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations>
- Paneni, F. (2008). The Pathophysiology of Cardiovascular Disease and Diabetes: Beyond Blood Pressure and Lipids. *Diabetes Spectrum*, 21(3), 160–165. <https://doi.org/10.2337/diaspect.21.3.160>
- Pappano, A. J., & Wier, W. G. (2012). *Cardiovascular Physiology*, Tenth Edition. In *Cardiovascular Physiology*, Tenth Edition. Elsevier Inc. <http://www.sciencedirect.com:5070/book/9780323086974/cardiovascular-physiology>
- Pathak, R. K., Mahajan, R., Lau, D. H., & Sanders, P. The Implications of Obesity for Cardiac Arrhythmia Mechanisms and Management. *Canadian Journal of Cardiology*, 31(2), 203–210. <https://doi.org/10.1016/J.CJCA.2014.10.027>
- Revilla, A., Bennett, M. V. L., & Barrio, L. C. (2000). Molecular determinants of membrane potential dependence in vertebrate gap junction channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(26), 14760–14765. [https://doi.org/10.1073/PNAS.97.26.14760/SUPPL\\_FILE/4758SUPPLTEXT.HTML](https://doi.org/10.1073/PNAS.97.26.14760/SUPPL_FILE/4758SUPPLTEXT.HTML)
- Rodríguez-Reyes, H., Laguna-Muñoz, C. I., Gallegos-De Luna, C. F., De-Los-ríos-ibarra, M. O., Salas-Pacheco, J. L., Leyva-Pons, J. L., Muñoz-Gutiérrez, L. M., Vargas-Hernandez, A., Rodríguez-Muñoz, K. M., Barragán-Luna, J., Alcocer-Gamba, M. A., Cortez-Lawrenz, J., & Farjat-Ruiz, J. (2022). Fibrilación auricular en población mexicana: Diferencias en presentación, comorbilidades y factores de riesgo entre hombres y mujeres. *Archivos de Cardiología de México*, 92(3), 349. <https://doi.org/10.24875/ACM.21000120>
- Rodríguez-Sinovas, A., Sánchez, J. A., Valls-Lacalle, L., Consegal, M., & Ferreira-González, I. (2021). Connexins in the Heart: Regulation, Function and Involvement in Cardiac Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4413. <https://doi.org/10.3390/IJMS22094413>

- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A. A., Ogurtsova, K., Shaw, J. E., Bright, D., & Williams, R. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157, 107843. <https://doi.org/10.1016/J.DIABRES.2019.107843>
- Severs, N. J., Bruce, A. F., Dupont, E., & Rothery, S. (n.d.). Remodelling of gap junctions and connexin expression in diseased myocardium. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn133>
- Subramanyam, P., & Colecraft, H. M. (2015). Ion Channel Engineering: Perspectives and Strategies. *Journal of Molecular Biology*, 427(1), 190. <https://doi.org/10.1016/J.JMB.2014.09.001>
- an, A., Jacobson, M., Adeghate, E., Oulhaj, A., Shafiullah, M., Qureshi, A., & Howarth, F. C. (2021a). Effects of obesity and diabetes on heart rhythm in the Zucker rat. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 48(5), 735–747. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13473>
- Sultan, A., Jacobson, M., Adeghate, E., Oulhaj, A., Shafiullah, M., Qureshi, A., & Howarth, F. C. (2021b). Effects of obesity and diabetes on heart rhythm in the Zucker rat. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 48(5), 735–747. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13473>
- Sultan, A., Singh, J., & Howarth, F. C. (2020). Mechanisms underlying electro-mechanical dysfunction in the Zucker diabetic fatty rat heart: a model of obesity and type 2 diabetes. *Heart Failure Reviews*, 25(5), 873–886. <https://doi.org/10.1007/S10741-019-09872-4/FIGURES/6>
- VanHoose, L., Sawers, Y., Loganathan, R., Vacek, J. L., Stehno-Bittel, L., Novikova, L., Al-Jarrah, M., & Smirnova, I. V. (2010a). Electrocardiographic changes with the onset of diabetes and the impact of aerobic exercise training in the Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rat. *Cardiovascular Diabetology*, 9, 56. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-9-56>
- VanHoose, L., Sawers, Y., Loganathan, R., Vacek, J. L., Stehno-Bittel, L., Novikova, L., Al-Jarrah, M., & Smirnova, I. V. (2010b). Electrocardiographic changes with the onset of diabetes and the impact of aerobic exercise training in the Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rat. *Cardiovascular Diabetology*, 9, 56. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-9-56>
- Verheule, S., & Kaese, S. (2013). Connexin diversity in the heart: Insights from transgenic mouse models. *Frontiers in Pharmacology*, 4 JUN, 81. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2013.00081/BIBTEX>
- von Jeinsen, B., Vasan, R. S., McManus, D. D., Mitchell, G. F., Cheng, S., & Xanthakis, V. (2020). Joint influences of obesity, diabetes, and hypertension on indices of ventricular remodeling: Findings from the community-based

Framingham Heart Study. PLOS ONE, 15(12), e0243199.  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0243199>

- Wang, A., Green, J. B., Halperin, J. L., & Piccini, J. P. (2019). Atrial Fibrillation and Diabetes Mellitus: JACC Review Topic of the Week. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(8), 1107–1115.  
<https://doi.org/10.1016/J.JACC.2019.07.020>
- Wojcik, M., Kuniss, M., Berkowitsch, A., & Neumann, T. (2012). Fuerza terminal de la onda P y fibrilación auricular, una enseñanza de los viejos maestros. *Revista Española de Cardiología*, 65(6), 584–585.  
<https://doi.org/10.1016/J.RECESP.2012.01.015>
- Yokoi, N., Hoshino, M., Hidaka, S., Yoshida, E., Beppu, M., Hoshikawa, R., Sudo, K., Kawada, A., Takagi, S., & Seino, S. (2013). A Novel Rat Model of Type 2 Diabetes: The Zucker Fatty Diabetes Mellitus ZFDM Rat. *Journal of Diabetes Research*, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/103731>
- Zipes, D. P., & Jalife, J. (2004). Cardiac electrophysiology: From cell to bedside. In *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside*.  
<https://doi.org/10.1016/B0-7216-0323-8/X5001-5>.