

FACULTAD DE MEDICINA

LICENCIATURA EN BIOMEDICINA

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

**BENEMÉRITA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---



**FACULTAD DE MEDICINA**

**Efecto de la diabetes mellitus tipo II sobre la  
actividad eléctrica del corazón**

**TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOMEDICINA**

**PRESENTA**

**Ricardo Antonio Corro Hernández**

**Eje Terminal Fisiología**

**Laboratorio de Fisiología Cardiovascular  
de la FACMED-BUAP**

**Director Experto:**

**Dr. Roberto Berra Romani**

**Director Metodológico:**

**Dr. Julian Torres Jacome**

**OCTUBRE 2015, PUEBLA, PUE.**

## **Agradecimientos**

*A mi Madre, a mi hermano y a toda mi familia a quienes les debo todo, sin ellos nada de esto podría ser posible.*

*A mi tutor que me permitió aprender de él, que me tuvo mucha paciencia y que me brindó su amistad.*

*A mis profesores (los de verdad), que me inspiraron a continuar aprendiendo y a buscar siempre ser mejor.*

*A mis amigos y compañeros de la escuela, del laboratorio, de la vida y más, por la dicha de toparnos y la esperanza de volvernos a encontrar.*

*Pido disculpas por omitir los nombres, pero espero que si leen esto, cada uno sepa lo importante que ha sido para mi y se sienta aludido con estas palabras.*

# Índice

Abreviaturas.....	3
Resumen .....	4
I. Introducción .....	5
II. Antecedentes .....	7
<b>2.1 Sistema cardiovascular: anatomía y función.....</b>	<b>7</b>
2.1.1 Sangre.....	7
2.1.2 Sistema circulatorio .....	7
2.1.3 Corazón.....	8
2.1.4 Ciclo cardiaco.....	10
2.1.5 Sistema de conducción del corazón .....	11
2.1.6 Actividad eléctrica del corazón.....	12
2.1.7 Acople excitación-contracción .....	15
2.1.8 Electrocardiograma .....	16
<b>2.2 Diabetes Mellitus .....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Clasificación de la diabetes mellitus .....	18
2.2.2 Diagnóstico de la diabetes mellitus.....	20
2.2.3 Complicaciones de la diabetes mellitus.....	21
2.2.4 Modelo experimental de la diabetes mellitus tipo 2.....	22
III. Pregunta de investigación .....	25
IV. Hipótesis.....	25
V. Objetivo general .....	25
VI. Objetivos particulares .....	25
VII. Metodología.....	26
<b>7.1 Obtención del corazón .....</b>	<b>26</b>
<b>7.2 Disección del ventrículo .....</b>	<b>27</b>
<b>7.3 Registro de potenciales de acción .....</b>	<b>27</b>
<b>7.4 Sistema de captura .....</b>	<b>27</b>
<b>7.5 Análisis de potenciales de acción .....</b>	<b>27</b>
<b>7.6 Análisis de resultados .....</b>	<b>28</b>
VIII. Resultados .....	29
<b>8.1 Parámetros morfométricos.....</b>	<b>29</b>
8.1.1 Peso corporal.....	29
8.1.2 Largo.....	29
8.1.3 Cintura .....	29
8.1.4 Grasa epididimal.....	29
<b>8.2 Cambios morfológicos del PA .....</b>	<b>31</b>
8.2.1 Potencial acción a 5Hz .....	31
8.2.2 Potencial acción a 4Hz .....	33
8.2.3 Potencial acción a 3Hz .....	35
8.2.4 Potencial acción a 2Hz .....	37
8.2.4 Potencial acción a 1Hz .....	39
IX. Discusión .....	41

<b>9.1 Cambios en las características morfológicas.....</b>	<b>41</b>
<b>9.2 Cambios en la morfología del PA .....</b>	<b>41</b>
9.2.1 Cambios en el PMR .....	41
9.2.2 Cambios en la fase 0 y 1 del PA .....	42
9.2.3 Cambios en el tiempo en repolarizar la amplitud del PA .....	43
X. Conclusiones .....	45
XI. Bibliografía.....	46

## Abreviaturas

DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
AD	Aurícula derecha
AI	Aurícula izquierda
VD	Ventrículo derecho
VI	Ventrículo izquierdo
CG	Circulación gastrointestinal
SA	Nodo senoauricular
AV	Nodo auriculoventricular
PA	Potencial de acción
PAs	Potenciales de acción
PM	Potencial de membrana
PMR	Potencial de membrana en reposo
I	Corriente
$I_K$	Corriente de potasio
$I_{Na}$	Corriente de sodio
$I_{Ca}$	Corriente de calcio
NCX	Intercambiador sodio-calcio
ECG	Electrocardiograma
ZDF	Zucker diabetic fatty
OZDF	Zucker diabetic fatty, obesa
LZDF	Zucker diabetic fatty, delgada
LE	Long-Evans
Pmr	Potencial de membrana en reposo
Amp	Amplitud
Sob	Sobretiro
Umb	Umbral
IDO	Intervalo D-O
R10%	Tiempo en repolarizar 10% de la amplitud
R30%	Tiempo en repolarizar 30% de la amplitud
R60%	Tiempo en repolarizar 60% de la amplitud
R90%	Tiempo en repolarizar 90% de la amplitud

## Resumen

La diabetes mellitus (DM) es definida por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizado por hiperglicemia resultado de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambas, que en el peor de los casos puede conducir a la muerte. A nivel mundial es considerada una pandemia que va en aumento, se calcula que para el 2030 la población de personas diabéticas se habrá duplicado en todo el mundo (Shaw, Sicree, & Zimmet, 2010). En México la DM es la segunda causa de muerte, superada únicamente por las enfermedades del corazón. Se sabe que la DM aumenta el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (Siwy et al., 2012). La DM se clasifica en DM tipo 1 (DM1), DM tipo 2 (DM2), otros tipos y gestacional. Sin embargo la DM2 representa el 85% de los diabéticos (Forbes & Cooper, 2013).

*Metodología:* En el presente trabajo es un estudio experimental en el que se evaluó el efecto de la DM2 sobre la morfología del papilio accionador (PA) utilizando la técnica de registro intracelular comparando la morfología de los PAs de ratas de la cepa de rata *Zucker diabetic fatty* (ZDF): su fenotipo obeso (OZDF) contra su fenotipo delgado (LZDF), adicionalmente se usó otra cepa de ratas control sano llamada cepa Long Evans (LE) usada universalmente.

*Conclusiones:* Encontramos que la DM2 provoca un alargamiento en la duración de los PAs del ventrículo derecho en el corazón de rata. Sin embargo también encontramos que la rata control LZDF presenta alteraciones en comparación a la rata sana LE, por lo que no puede ser considerada un control sano.

## I. Introducción

La Diabetes Mellitus (DM) como todas las enfermedades es un problema con múltiples facetas (Asociación Americana de la Diabetes, 2013). Las personas con DM se enfrentan a problemas que no sólo comprenden el aspecto médico, sino también de psicológico, económico e incluso político cuando las instituciones de salud públicas no tienen la capacidad de brindarles atención adecuada a los pacientes (Cruz Martínez, 2014), en particular en México esta deficiencia en las instituciones de salud pudieran deberse principalmente a la corrupción imperante en el Estado (Transparencia Mexicana, 2014). Así mismo los diabéticos enfrentan el hecho que aún hay muchas interrogantes sin responder sobre la diabetes, por esta razón la investigación científica en este campo se hace indispensable para conseguir respuestas y así poder mejorar en el tratamiento, diagnóstico y prevención de la DM.

Actualmente en México la segunda causa de muerte después de las enfermedades del corazón, es la DM. Tan sólo en el 2011 fue la responsable de 80,788 muertes en nuestro país (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2013). En este mismo año nuestras instituciones de salud (IMSS, SSA e ISSSTE) gastaron directamente por la DM un total de \$3,425,994,541 USD (Arredondo & Reyes, 2013) lo que en el 2011 equivalían a \$42,638,900,258.92 MXN (Secretaría de Economía, 2014). Pero la DM no es un problema exclusivo de México. En el 2012 la diabetes fue la causa directa de 1.5 millones de muertes en todo el mundo. Se sabe que a nivel mundial hay 347 millones personas que tienen diabetes (World Health Organization, 2014), además se estima que para el 2030 el número de diabéticos se duplicará (Shaw et al., 2010) (Home, Baik, Gálvez, Malek, & Nikolajsen, 2014). México ocupa el 9<sup>a</sup> lugar a nivel mundial en diabetes y se calcula que para el 2025 estará en el 6<sup>o</sup> lugar (Arredondo & Reyes, 2013).

Las personas con diabetes tienen mayor riesgo de sufrir una enfermedad del sistema cardiovascular o un derrame cerebral y casi dos terceras partes de la población con diabetes mueren de insuficiencia cardiaca (Baynes & Murray, 2009) (Asociación Americana de la Diabetes, 2014). Existen cuatro tipos de DM (Maraschin, Murussi,

Witter, & Silveiro, 2009) (Asociación Americana de la Diabetes, 2013) de los cuales en individuos con DM tipo 1 (DM1) se ha descubierto que aumenta la duración del intervalo QT del electrocardiograma con respecto a individuos sanos (VanHoose et al., 2010) (Casis, Gallego, Iriarte, & Sánchez-Chapula, 2000) (Vaykshnorayte, Ovechkin, & Azarov, 2012), esto nos hace pensar que la DM podría afectar la actividad eléctrica (potencial de acción) del corazón, lo que podría estar asociado con la predisposición de las personas con DM a sufrir de enfermedades cardiacas. El alargamiento del intervalo QT y QTc se considera un indicador fiables de enfermedad cardiaca y arritmias ventriculares (VanHoose et al., 2010). Otra de las alteraciones que se ha observado es un alargamiento en la duración del tiempo de relajación diastólica (Letonja, 2014). Sin embargo a la fecha no se han descrito los mecanismos molecular por los cuales, en particular la DM tipo 2 (DM2), afecta la actividad eléctrica cardiaca, la más frecuente en humanos (Hage Hassan, Bourron, & Hajduch, 2014). Este trabajo tiene el objetivo de evaluar las alteraciones que causa la DM2 sobre la función eléctrica de las células cardiacas.

## II. Antecedentes

### 2.1 Sistema cardiovascular: anatomía y función

El sistema cardiovascular tiene múltiples funciones: es el responsable de transportar los nutrientes y elementos que los tejidos del organismo necesitan para desempeñar sus funciones y también transporta los desechos del metabolismo celular. Por otro lado, también participa en la regulación de la temperatura corporal y en la distribución de hormonas y otros mensajeros que regulan la función de las células. Este sistema está constituido por la sangre, los vasos sanguíneos (las arterias, venas y capilares) y el corazón (Guyton & Hall, 2006)(Klabunde, 2005)(Barret, Barman, Boitano, & Brooks, 2010).

#### 2.1.1 Sangre

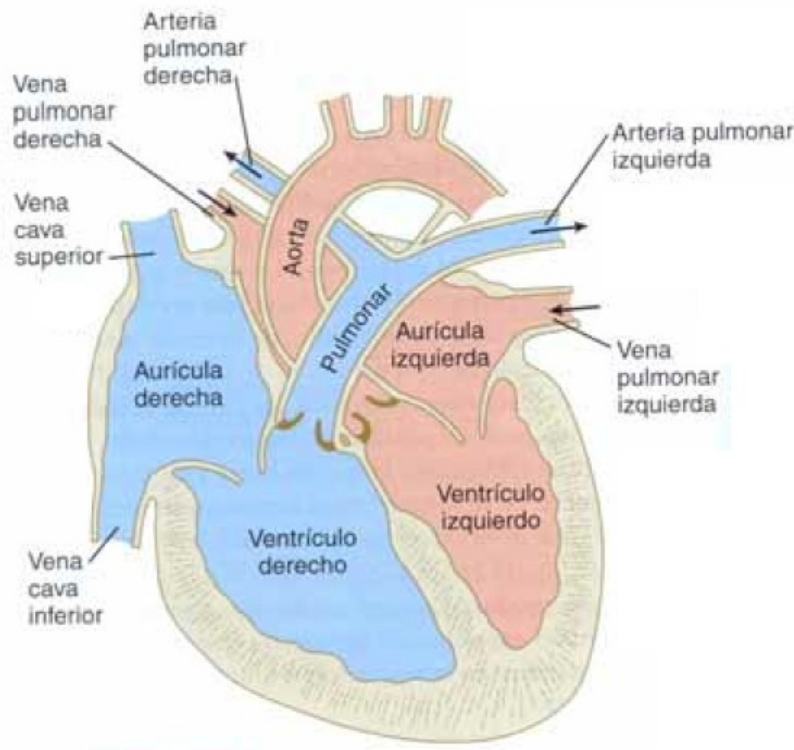
La sangre es un tejido conectivo especializado compuesto de elementos formes: glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas, suspendidos en un componente líquido que se conoce como plasma. La sangre es líquida y tiene un pH de 7.4. Tiene un volumen promedio aproximado de 5L en un hombre adulto promedio y 4L en una mujer adulta promedio. La función principal de este tejido es la de transportar los nutrientes que se obtienen a través de la alimentación hacia los diferentes tejidos del cuerpo, así como de transportar el O<sub>2</sub> de los pulmones al organismo y el CO<sub>2</sub> de los tejidos a los pulmones, esto gracias a la proteína “hemoglobina”, presente en el interior de los eritrocito. Otra de las principales funciones de la sangre es fungir como un medio de comunicación entre los diversos tejidos, permitiendo enviar mensajeros químicos entre tejidos, como es el caso de la secreción hormonal. Para esto, la sangre viaja a través de un sistema de conductos conocido como sistema circulatorio (Gartner & Hiatt, 2002).

#### 2.1.2 Sistema circulatorio

Los vasos son conductos constituidos por músculo liso, tejido conjuntivo y el endotelio (monocapa de células epiteliales) por los que fluye la sangre y que además tiene otras funciones como regular la presión arterial, regular la presión de sangre dentro de los órganos y distribuir el volumen de sangre en el cuerpo, todo esto mediante su contracción o relajación dependiendo de las necesidades del momento (Guyton & Hall, 2006) (Klabunde, 2005).

### 2.1.3 Corazón

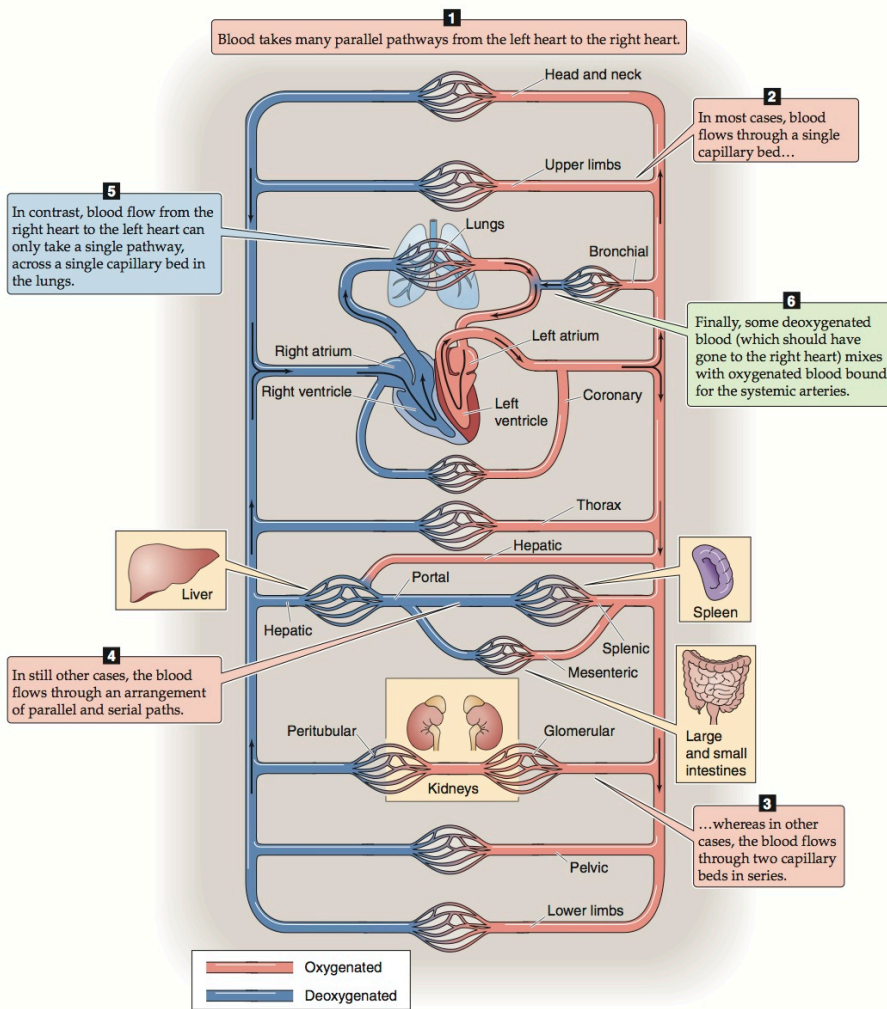
El corazón es un órgano hueco ubicado en el mediastino, sus paredes están formadas por tres capas: epicardio, miocardio y endocardio. El epicardio es la capa más externa de la pared del corazón, está compuesta por un epitelio escamoso simple conocido como mesotelio. El miocardio es la capa media y más gruesa de las tres capas, está compuesta por células de músculo cardíaco. El endocardio se compone de un endotelio que consiste en un epitelio escamoso simple y una capa subyacente de tejido conectivo que recubre la luz del corazón (Gartner & Hiatt, 2002).



**Figura 1. Esquema de las cavidades dentro de un corazón.** En esta figura se ilustra de manera esquemática las cuatro cavidades que componen el corazón (en azul AD y VD, en rojo AI y VI), así mismo, también se muestran la arteria y venas que confluyen en estas. Imagen tomada y modificada de (Carlson, 2005).

La función del corazón es contraerse y relajarse funcionando como una bomba que impulsa la sangre a todo nuestro organismo, esto adecuándose a las necesidades del cuerpo (enviando más o menos sangre); ya sea para trabajar, dormir o hacer ejercicio (Gallego, Alday, Alonso, & Casis, 2014). Su capacidad contráctil es autónoma ya que el sistema nervioso modula su actividad, pero puede funcionar de manera independiente. El corazón está formado por cuatro cavidades; aurícula derecha (AD), aurícula izquierda (AI), ventrículo derecho (VD) y ventrículo izquierdo (VI) (ver **Figura 1**). Estas cavidades están conectadas a dos tipos de circulación, una llamada circulación pulmonar y la otra llamada circulación sistémica. Los ventrículos tienen el papel de transmitir la fuerza para que la sangre que contengan en su interior sea

expulsada y viaje a su circulación correspondiente, y las aurículas son bombas de cebado que ayudan a llenar los ventrículos (Guyton & Hall, 2006) (Klabunde, 2005).



**Figura 2. Esquema de la circulación.** En el siguiente esquema podemos ver en azul el recorrido de la sangre desoxigenada y en rojo el de la sangre oxigenada. El circuito que va del corazón a los pulmones y de regreso, es la circulación pulmonar, el resto nos ilustra la circulación sistémica. Otra cosa que se puede observar en este esquema, es la circulación portal, que es la que se establece entre la circulación gastrointestinal (CG) y el hígado, donde venas provenientes del CG llegan al hígado y forman capilares, siendo esta una de las únicas dos circulaciones de este tipo en el cuerpo, la otra se da en el cerebro en una parte llamada adenohipófisis. El corazón bombea de 4 a 6 litros cuando la persona está en reposo, pero puede aumentar hasta de 4 a 7 veces, esto modulado por el sistema nervioso (Guyton & Hall, 2006). Tomada de (Boron & Boulpaep, 2012).

El corazón funciona como si fuera dos bombas coordinadas, una encargada de enviar sangre sin oxígeno a los pulmones (circulación pulmonar); en donde ocurre un proceso conocido como intercambio gaseoso en el que la sangre adquiere  $O_2$  y pierde  $CO_2$ , y la otra encargada de que esa sangre ya oxigenada viaje del corazón hacia todo el cuerpo (ver **Figura 2**). Este trabajo se realiza de manera cíclica. Una y otra vez, ambas bombas deben contraerse y enviar la sangre a donde se necesite. En el corazón esto se conoce como latido y en una persona sana se dan 70 latidos cada minuto en promedio (Guyton & Hall, 2006) (Klabunde, 2005).

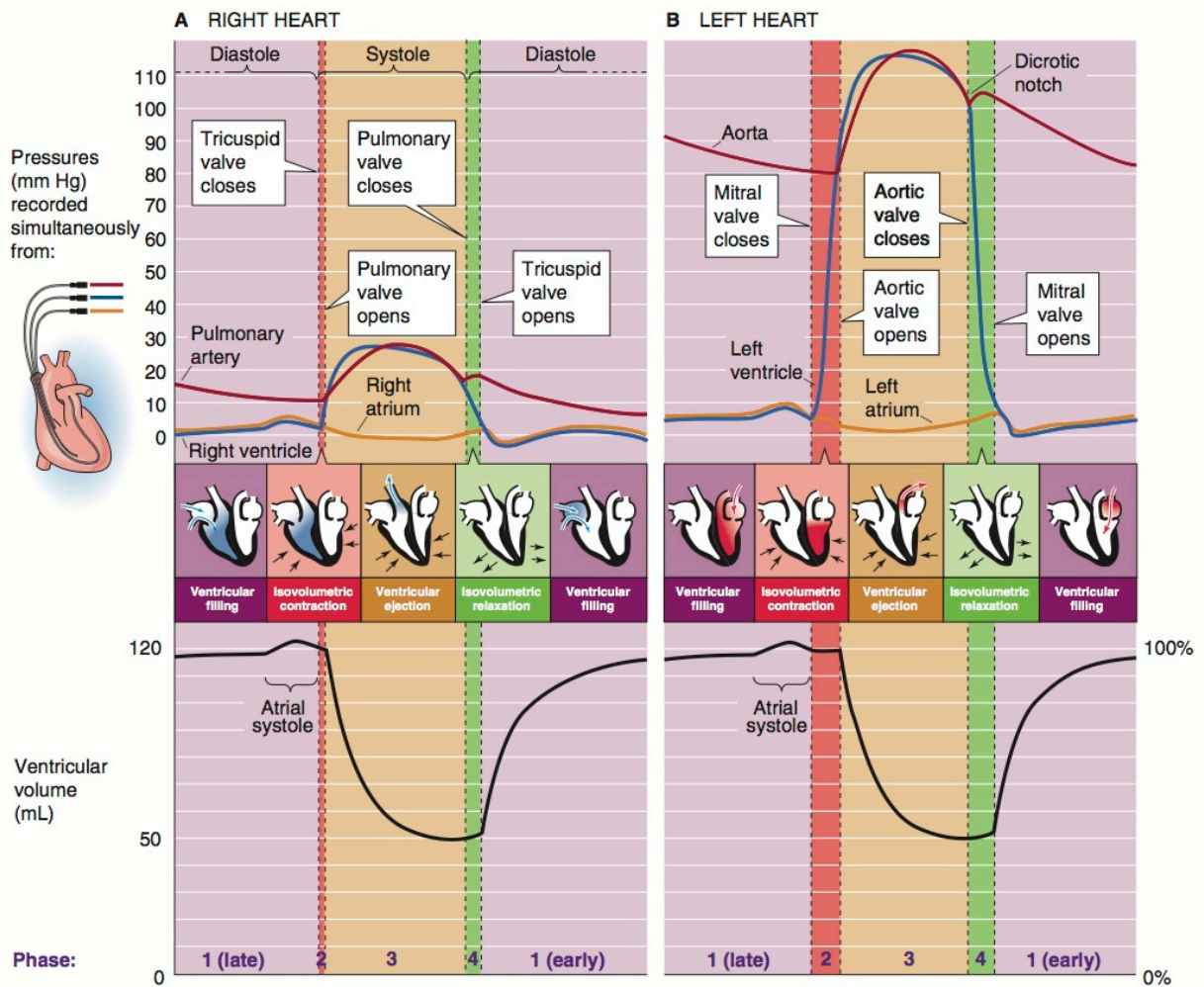
Entre cada latido la sangre venosa (con baja concentración de oxígeno) llega a la AD a través de la vena cava inferior y superior, pero inmediatamente se filtra hacia el VD esto es debido a que la válvula (tricúspide) que los separa se encuentra abierta durante el periodo de relajación del corazón (diástole). Al mismo tiempo la vena pulmonar transporta sangre oxigenada de los alveolos pulmonares (estructuras encargadas del intercambio gaseoso en los pulmones) hacia la AI y al igual que del lado derecho, la sangre fluye de la aurícula hacia el VI ya que la válvula (mitral) que separa la AI del VI también está abierta en este período. Después del cierto tiempo de llenado ventricular, las aurículas se contraen expulsando la sangre en su interior hacia los ventrículos, esta sangre corresponde al 20% del total de la sangre que llega a los ventrículos (es por ello que se dice que las aurículas son bombas de cebado). Inmediatamente de esto los ventrículos se contraen, con esto el VD impulsa su contenido de sangre hacia los pulmones y el VI envía la sangre al resto de órganos. Posterior a esto los ventrículos comienzan a relajarse y el ciclo vuelve a empezar, esto es a lo que se le conoce como “ciclo cardiaco” (Klabunde, 2005) (Guyton & Hall, 2006).

#### 2.1.4 Ciclo cardiaco

Durante el ciclo cardiaco ocurren varios eventos (ver **Figura 5**), por lo que resulta conveniente dividir este ciclo en fases para su mejor entendimiento:

- **Fase 1 o de llenado:** Se abren las válvulas aurículo-ventriculares y empieza el llenado de los ventrículos.
- **Fase 2 o de contracción isovolumétrica:** En esta fase las válvulas están cerradas y no hay flujo de sangre. En esta fase se empieza a dar un aumento de la presión intraventricular, pero no hay un aumento en su volumen.
- **Fase 3 o de expulsión rápida:** Las válvulas semilunares están abiertas y las aurículo ventriculares están cerradas. Se contraen las paredes ventriculares provocando la expulsión de la sangre hacia el sistema de circulación pulmonar y sistémica.
- **Fase 4 o de relajación isovolumétrica:** En esta fase existe una reducción en presión dentro de los ventrículos pero aún no hay cambios en el volumen de los mismos.

La sístole que sucede cuando el corazón se contrae, comprende la fase 2 y 3, y la diástole que es cuando el corazón se relaja, comprende la 1 y la 4 del ciclo cardiaco (Mohrman & Heller, 2007)(Boron & Boulpaep, 2012).

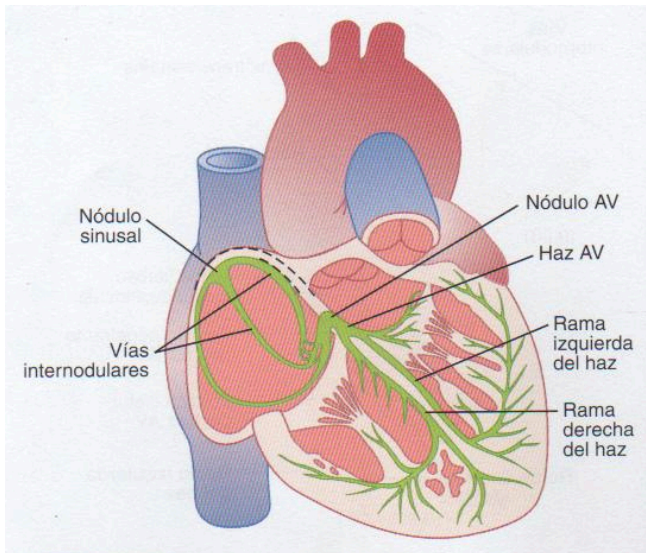


**Figura 5. Esquema del ciclo cardíaco.** En esta figura se esquematizan las diferentes etapas del ciclo cardíaco en cada lado del corazón. También están representadas con líneas los cambios de presión a lo largo del ciclo en la arteria pulmonar, la aorta, las aurículas y los ventrículos, así también se representan los cambios en volumen ventricular. Imagen tomada de (Boron & Boulpaep, 2012).

### 1.1.5 Sistema de conducción del corazón

Para poder llevar a cabo el ciclo cardíaco es necesario que el corazón se contraiga y relaje de manera coordinada, pues de no hacerlo podría provocar la muerte de la persona, para ello cuenta con una estructura llamada nodo sinoauricular (SA) que generará impulsos eléctricos excitatorios, los cuales se transmiten a otra estructura llamada nodo aurículo-ventricular (AV), el cual retransmite el impulso eléctrico por el tejido de conducción (ver **Figura 4**) hacia el resto del corazón. Este estímulo es transmitido a todos los miocitos cardíacos debido a que estas células se encuentran

eléctricamente acopladas entre sí a través de uniones comunicantes (gap junctions). Estos impulsos eléctricos generados por el SA son conocidos como potenciales de acción (PA) los cuales se describen con más detalle en el siguiente apartado (Klabunde, 2005) (Guyton & Hall, 2006) (Mohrman & Heller, 2007)(Blaustein, Kao, & Matteson, 2004).



**Figura 4. Esquema de lo nodo SA el nodo AV y del sistema de conducción.**

En esta figura podemos ver en verde el sistema de conducción y señalados tanto el nodo SA como el nodo AV. En el ciclo cardíaco las aurículas se contraen antes que los ventrículos, esto es porque cuando el estímulo llega al nodo AV ocurre un pequeño retraso, que permite que las aurículas se contraigan y terminen de llenar a los ventrículos para que entonces si se produzca la contracción ventricular. Imagen tomada de (Guyton & Hall, 2006).

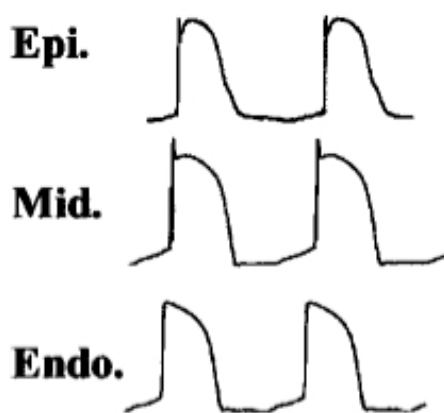
#### 2.1.6 Actividad eléctrica del corazón

Todas las células en nuestro organismo tienen potencial de membrana (PM) (Guyton & Hall, 2006). El PM se define como una diferencia de potencial eléctrico entre el interior de la célula (medio intracelular) y el exterior de la misma (medio extracelular). Esta diferencia de potencial es debida principalmente a la permeabilidad que presenta la membrana celular al ion  $K^+$  debido a la presencia de canales de fuga (Blaustein et al., 2004)(Wright, 2004).

El PM de las células se puede modificar alterando el movimiento de los iones a través de la membrana, este movimiento de iones de un lugar a otro se le llama corriente iónica (I). Una corriente puede ser despolarizante o hiperpolarizante dependiendo de cómo altere el Pm, por ejemplo una corriente saliente de  $K^+$  sería una corriente hiperpolarizante por qué movería el Pm de su valor a uno negativo y una corriente saliente de  $Cl^-$  sería una corriente despolarizante porque movería el Pm a valores positivos. Estas corrientes son debidas a la presencia de proteínas que permiten el paso de iones de un lado de la membrana al otro. Estas proteínas son conocidas como

canales y se pueden clasificar por su selectividad (que sólo permite el paso de un ion determinado) o su modo de apertura (que se activan por voltaje, por ligando, por presión, etc.).

Las “células excitables” presentan una actividad eléctrica particular que las caracteriza, los PAs. Un PA es una despolarización transitoria del PM que implica cambios en la conductancia iónica de la membrana (Blaustein et al., 2004) (Boron & Boulpaep, 2012). Se debe de despolarización rápida que se produce cuando mueren las células y pierden su potencial de membrana. En el corazón existen múltiples formas del PA, los ventriculares son distintos a los auriculares y estos también se diferencian de los que se encuentran en los nodos o en el tejido de conducción (Nerbonne & Kass, 2005). Así mismo, cada capa del corazón también presenta una actividad diferente (ver **Fig. 5**), por lo cual es necesario estudiar cada una de las mismas para comprender de manera más completa el funcionamiento del corazón.



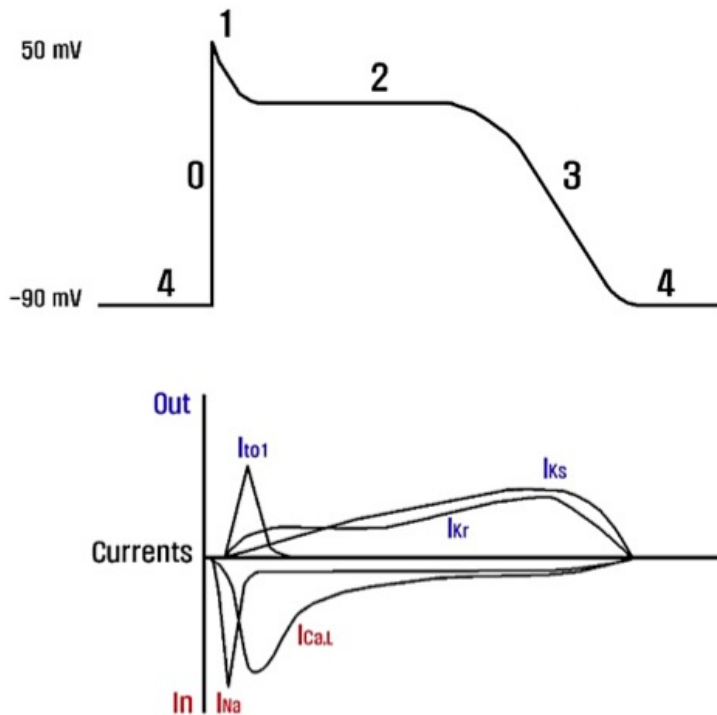
**Figura 5.** PAs de epicardio (Epi.), miocardio (Mid.) y endocardio (Endo). En esta imagen se muestran PAs de ventrículo izquierdo de corazón de cerdo. Aquí podemos ver como cada una de las capas que conforman el corazón tiene una actividad eléctrica diferente. Esta figura fue tomada y modificada de (Zhou, Huang, & Ideker, 2002).

Para su estudio el potencial de acción (PA) cardiaco se ha dividido en 5 fases (Moreno & Clancy, 2012). La fase 0 corresponde a una despolarización rápida del Pm se debe principalmente a una corriente entrante de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ). La fase 1 corresponde a una repolarización inicial rápida que está dada predominantemente por una corriente saliente de  $\text{K}^+$  ( $I_{\text{to}}$ ). La fase 2 o una meseta se debe a la corriente entrante tipo L de  $\text{Ca}^{+2}$  ( $I_{\text{Ca-L}}$ ) y a las corrientes rectificantes rápida y lenta de  $\text{K}^+$  ( $I_{\text{Kr}}$  y  $I_{\text{Ks}}$ ). La fase 3 representa la repolarización del PM hacia sus valores basales y es dada por la inactivación de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  y el incremento de las corrientes de  $\text{K}^+$ . La fase 4 o potencial de membrana en reposo (PMR) que es mantenido principalmente por la

corriente rectificante  $I_{K1}$  (ver **Figura 6**)(Gallego et al., 2014)(Maier & Sossalla, 2013) (Moreno & Clancy, 2012).

La corriente de  $Na^+$  que da origen a la fase 0 del PA se inactiva rápidamente y presenta dos componentes conocidos  $I_{Na,peak}$  y la  $I_{Na,late}$  esta última es de menor amplitud e inactivan más lentamente, pero puede persistir por cientos de milisegundos en comparación con la primera (Maier & Sossalla, 2013).

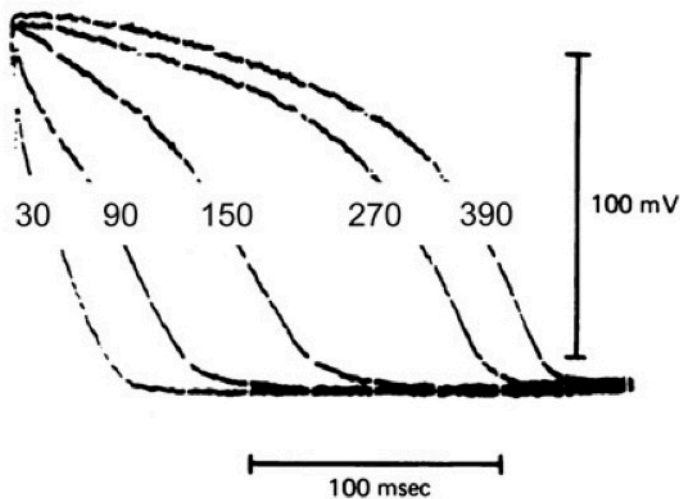
La corriente  $I_{to}$  se activa e inactiva rápidamente y es responsable de la fase 1 durante el potencial de acción cardiaco. Existen al menos dos fenotipos de  $I_{to}$  en el corazón de mamíferos y se distinguen por su velocidad de recuperación de la inactivación  $I_{to,fast}$  ( $I_{to,f}$ ) recupera a los 70ms aproximadamente y la  $I_{to,slow}$  ( $I_{to,s}$ ) recupera en 1s (Gallego et al., 2014). En cardiomiocitos de conejo y humano, los responsables de la  $I_{to,f}$  son los canales de  $K^+$  voltaje-dependientes  $Kv4.2$ . Mientras que en ventrículo de rata son los  $Kv4.3$  quienes dan la corriente saliente de  $K^+$  (Gallego et al., 2014).



**Figura 6. Esquema del PA.** Aquí podemos ver la participación de las distintas corrientes en las diferentes fases del PA. En rojo se observan las corrientes de salida y en azul las corrientes de entrada. Esta imagen fue tomada y modificada de (J.-B. Kim, 2004) .

La morfología del PA no sólo dependerá de la región o capa que se esté registrando, sino que también dependerá de la frecuencia a la que se está estimulando el tejido

(ver **Fig. 7**). El corazón de humano tiene una frecuencia promedio en un adulto sano de 1.17Hz, pero si modificamos esa frecuencia, ya sea realizando alguna actividad física o por efecto de algún fármaco, la morfología del PA se verá alterada, provocando por ejemplo en el caso de un aumento de la frecuencia, una reducción de la duración del PA (Eisner, Dibb, & Trafford, 2009), esto dependiendo de la zona del corazón que se esté observando, así como la especie de la que provenga el corazón.

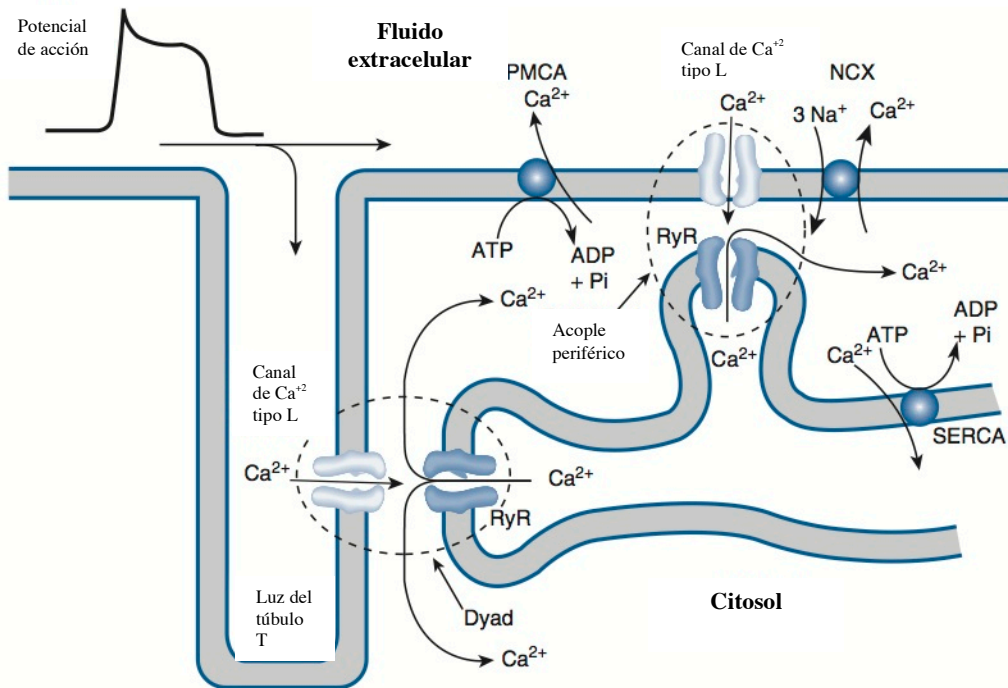


**Figura 7. Efecto del cambio de frecuencia en los PA.** En esta imagen se muestran PAs de músculo papilar de cobayo en el que se fue reduciendo la frecuencia de estimulación 0.5Hz. Se observa que la duración del PA va aumentando conforme se reduce la frecuencia de estimulación (indicado en ms). Esta figura fue tomada y modificad de (Eisner et al., 2009).

### 2.1.7 Acople excitación-contracción

La despolarización causada por un PA en los miocitos cardiacos abre canales de calcio voltaje dependientes presentes en la membrana plasmática conocidos como canales de calcio tipo L. Estos canales permiten la entrada de  $Ca^{+2}$  del medio extracelular al citoplasma, el calcio entrante aumenta la probabilidad de apertura de los canales rianodínicos presentes en la membrana del retículo endoplásmico (RE) dando como resultado la libera el calcio del lumen del RE hacia el citoplasma, a este proceso se le conoce como “Liberación de calcio mediada por calcio”. El  $Ca^{+2}$  liberado del RE

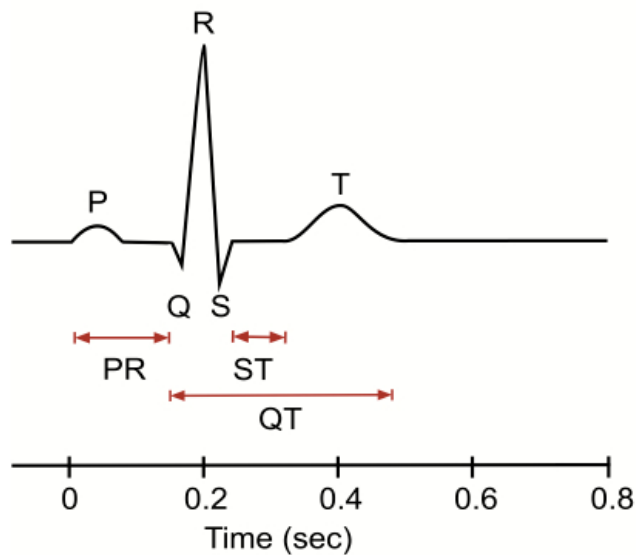
Es el responsable de la activación de los filamentos contráctiles que conlleva a la contracción muscular. El proceso de relajación se lleva a cabo por una reducción en la concentración del  $Ca^{+2}$  citoplasmático a través de tres principales mecanismos: la recaptura hacia el RE mediada por la “calcio-ATPasa del retículo sarcoplásmico” (SERCA), la salida a través intercambiador  $Na^{+}-Ca^{+2}$  (NCX) y por la “calcio ATPasa de la membrana plasmática” (PMCA) (véase **Fig. 8**) (Blaustein et al., 2004) (Klabunde, 2005).



**Figura 8. Esquema del acople-excitación.** En este esquema de plasman los mecanismo de regulación de  $\text{Ca}^{2+}$  que están involucrados en el mecanismo de contracción del músculo cardiaco. Esta figura fue tomada y modificada de (Blaustein et al., 2004).

### 2.1.8 Electrocardiograma

El electrocardiograma (ECG) es un registro temporal de los cambios eléctricos en todo el corazón durante cada latido. En el ECG podemos encontrar la onda P, el complejo QRS y la onda T (ver **Figura 9**), cada una de estas nos da información acerca de la función cardiaca, por ejemplo la onda P corresponde a la despolarización auricular, el complejo QRS se debe a la despolarización ventricular, la onda T representa la repolarización ventricular. El segmento que va desde el inicio de la onda Q al final de la onda T (Intervalo QT) en el electrocardiograma corresponde con la duración del PA ventricular (Farraj, Hazari, & Cascio, 2011) (Klabunde, 2005) (Boron & Boulpaep, 2012). Cambios en la morfología del EC se asocian directamente con cambios en la conducción o la morfología de los PA del tejido cardiaco.



**Figura 9. Esquema del ECG.** En esta imagen se puede apreciar los distintos segmentos y ondas que conforman el ECG. Esta figura fue tomada de (Klabunde, 2005).

## 2.2 Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus (DM) es definida por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizado por hiperglicemia resultado de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambas (Asociación Americana de la Diabetes, 2003). De acuerdo con esta definición, la DM no es sólo una, sino varias condiciones en las que el cuerpo pierde la capacidad de utilizar la glucosa procedente de la alimentación y dando como resultando en un aumento crónica de la concentración del glucosa en sangre (superior a 126mg/dl en ayuno), condición conocida como “hiperglucemia” (Galadari, Rahman, Pallichankandy, Galadari, & Thayyullathil, 2013) (Asociación Americana de la Diabetes, 2014) (World Healt Organization, 2014) (Forbes & Cooper, 2013). Esta incapacidad para utilizar la glucosa es debida a una alteración en la hormona responsable de mantener bajos los niveles de glucosa en sangre, la insulina. La insulina es secretada por las células beta que encontramos en islotes en el páncreas (islotes de Langerhans), en respuesta a un aumento en la concentración de glucosa en sangre (Komatsu, Takei, Ishii, & Sato, 2013) (Hage Hassan et al., 2014). Esta desregulación es de gran importancia debido a que la glucosa es una de las principales fuentes de energía de nuestro cuerpo, nos permite movernos, pensar y funcionar adecuadamente. La glucosa se obtiene principalmente de la ingesta de comida, siendo en los alimentos dulces donde principalmente la encontramos. Cuando la consumimos es transportada a nuestro

sangre, esto ocasiona que se active la liberación de insulina lo que a su vez provoca que nuestras células puedan interiorizar (meter dentro de ellas) la glucosa y así utilizarla como fuente de energía. En las personas con DM al no tener producción de insulina o a un mal funcionamiento de la misma no pueden hacer que las células interioricen la glucosa por lo que se acumula en el torrente sanguíneo. La célula cuenta con otros mecanismos para producir energía como son la “beta oxidación de ácidos grasos” en el que la células obtienen energía a partir de los lípidos (grasas, aceites, ceras, fosfolípidos, glucolípidos, etc.), el uso de las pentosas (utiliza los ácidos nucleicos) o la degradación de proteínas. El problema es que la glucosa también es necesaria para que a partir de ella se produzcan sustancias que participan en estos otros mecanismos de obtención de energía, por ejemplo el oxalato que es producido durante el ciclo de Krebs que es uno de los pasos en el metabolismo de carbohidratos por la vía aeróbica. Además que se producen intermediarios químicos o sustancias de desecho que se acumulan y pueden dañar al organismo, pudiendo llevar a las personas a la muerte (Letonja, 2014) (Galadari et al., 2013).

### **2.2.1 Clasificación de la diabetes mellitus**

La DM se clasifica en diabetes tipo 1 (A y B), tipo 2, otros tipos y gestacional (ver **Tabla 1**) (Maraschin et al., 2009) (Asociación Americana de la Diabetes, 2013).

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) antes era conocida como diabetes insulino dependiente, juvenil o de inicio en la infancia, ya que generalmente se le diagnostica a niños y adultos jóvenes. Los pacientes con DM1 presentan una deficiente producción de insulina y esto es debido a que las células beta del páncreas, fueron destruidas. Debido a esto las personas con esta enfermedad requieren administrarse esta hormona diariamente. La DM1 se subdivide según su etiopatología en “DM1 A” y “DM1 B.” Sabemos que en la DM1 A es el propio sistema inmunológico quien destruye las células beta del páncreas, mientras que en la DM1 B o idiopática se desconocen los mecanismos por los cuales fueron destruidas las células beta del páncreas. En ambos tipos de DM1 (A y B) a la fecha se desconocen las causas que conllevan a desarrollar esta enfermedad, por lo que no se pueden establecer medidas para su prevención. Entre los síntomas que provoca este padecimiento se encuentra la poliuria (excesivas

excreción de orina), polidipsia (sed inusual), constante hambre, pérdida de peso, cambios de visión y fatiga (Asociación Americana de la Diabetes, 2014) (World Health Organization, 2014) (Maraschin et al., 2009).

<b>Clasificación Etiológica de la Diabetes Mellitus</b>	
I. Diabetes tipo 1	
A. Mediada inmunológicamente	
B. Idiopática	
II. Diabetes tipo 2	
III. Otros tipos	
Trastornos genéticos de la función de las células beta (MODY, ADN mitocondrial)	
Trastornos genéticos en la acción de la insulina (diabetes lipoatrófica)	
Enfermedad exocrina del páncreas (pancreatitis, hemocromatosis)	
Endocrinopatías (acromegalia, síndrome de Cushing)	
Inducida por drogas (glucocorticoides, tiazidas)	
Infecciones (citomegalovirus, rubeola congénita)	
Formas inmunológicas poco comunes (anticuerpos contra receptores de insulina)	
Otros síndromes genéticos (síndrome de Down, síndrome de Turner, síndrome de Prader-Willi)	
IV. Diabetes gestacional	

**Tabla 1. Clasificación Etiológica de la Diabetes Mellitus.** Esta tabla fue tomada y modificada de (Maraschin et al., 2009) donde se muestra como se clasifican los distintos tipos de diabetes.

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es el tipo más común de diabetes, el 85% de las personas diabéticas en el mundo tienen de este tipo, siendo este uno de los motivos por los que en este trabajo estudiaremos este tipo de DM. Se caracteriza por la ineficiencia del cuerpo para utilizar insulina (resistencia a la insulina), esto hace que el cuerpo responda produciendo un gran cantidad de insulina (hiperinsulinemia), para compensar su ineficiencia al usarla, sin embargo esto puede posteriormente originar la disminución de la función secretora de los islotes pancreáticos (estructuras dentro del páncreas donde se encuentran las células beta) y por lo tanto provocar una insulinodeficiencia (poca producción de insulina) (Forbes & Cooper, 2013) (Montessuit & Lerch, 2013). El sobrepeso y la poca actividad física son factores de riesgo para sufrir esta enfermedad, las personas con DM2 presentan niveles elevados de triglicéridos y bajos de HDL (lipoproteínas de alta densidad), así también hay

factores genéticos implicados en que una persona desarrolle o no este padecimiento. Los síntomas de este tipo de diabetes son similares a los de la DM1, pero además infecciones frecuentes, heridas que tardan en sanar, hormigueo o entumecimiento en las manos o pies, se recomienda de manera genérica que las personas que presenten alguno de estos síntomas consulten a su médico de inmediato (Forbes & Cooper, 2013) (Asociación Americana de la Diabetes, 2014) (World Health Organization, 2014).

La diabetes “otros tipos” comprende un grupo de condiciones en la que las personas desarrollan diabetes de manera distintas a las de la DM1, DM2 y gestacional, por ejemplo como resultado de alguna enfermedad genéticas (fibrosis quística), la generadas por el uso de algunos fármacos (tratamiento contra VIH/SIDA), como resultado de procesos infecciosos (citomegalovirus), etc (Maraschin et al., 2009) (Nelson & Reusch, 2014).

La diabetes gestacional es un estado en el que las mujeres embarazadas presentan defectos en la secreción de insulina, debido a la demanda metabólica de su embarazo, por lo que presentan intolerancia a la glucosa, lo que significa que los niveles de glucosa en sangre se encuentran por encima de lo normal, pero no tanto como para ser considerados diabetes, este estado lo presentan varias mujeres embarazadas que no han sido diagnosticadas con diabetes previamente. La diabetes gestacional se puede presentar alrededor de la semana 24. Se desconocen las causas de este padecimiento, sin embargo se piensa que las hormonas de la placenta podrían estar provocando resistencia a la insulina en el cuerpo de la madre y esto ocasione la hiperglucemia. Las mujeres con diabetes gestacional tiene un mayor riesgo de presentar complicaciones durante el embarazo y durante el parto (Asociación Americana de la Diabetes, 2014) (World Health Organization, 2014) (C. Kim, 2014).

### 2.2.2 Diagnóstico de la diabetes mellitus

Para diagnosticar la DM existen varias pruebas:

- La **prueba A1C** es una prueba que mide la concentración de hemoglobina unida a glucosa (hemoglobina glucosilada) reportado en porcentaje. Si la

prueba da igual o mayor a 6.5% de hemoglobina glucosilada la persona es considerada diabética.

- La **prueba de glucosa plasmática** consiste en la medición de la concentración de glucosa en sangre generalmente en la mañana antes de haber ingerido cualquier alimento (ayuno). Si la prueba da igual o mayor a 126 mg/dl la persona es considerada diabética..
- La **prueba de tolerancia a la glucosa oral** consiste en evaluar el nivel de glucosa en sangre antes y después dos horas después de haber ingerido y una bebida con 75 gramos regularmente, si la prueba da igual o mayor a 200 mg/dl el paciente es diagnosticado diabético. Esta prueba evalúa la capacidad del organismo para restaurar los niveles de glucosa en sangre a sus valores basales (70 a 130 mg/dl) en estas condiciones.
- La **prueba aleatoria de glucosa plasmática** es un análisis donde se cuantifica los niveles de glucosa en sangre en cualquier momento del día e independiente de la ingesta de alimentos. Si la prueba da igual o mayor a 200 mg/dl la persona es considerada diabética.

Estas pruebas suelen realizarse más de una vez para corroborar los resultados (Asociación Americana de la Diabetes, 2014) (Louise & Smith, 2014).

### 2.2.3 Complicaciones de la diabetes mellitus

La DM con el tiempo puede complicarse provocando el desarrollo de otras patologías como son las enfermedades cardiacas, retinopatías, nefropatías, pie diabético, neuropatías y/o enfermedad vascular periférica (Pascale, Vitale, Zeppa, Russo, & Esposito, 2012) (Barquera et al., 2013) (World Health Organization, 2014) (Letonja, 2014).

Entre las alteraciones en el sistema cardiovascular a causa de la DM se encuentran:

- Incremento en la incidencia de aterosclerosis cardiovascular y vascular periférica (Asociación Americana de la Diabetes, 2013).
- Enfermedad cerebro vascular. (Asociación Americana de la Diabetes, 2003).
- Hipertensión (Asociación Americana de la Diabetes, 2013).

- Enfermedad coronaria (Asociación Americana de la Diabetes, 2013).
- Infarto al miocardio (Forbes & Cooper, 2013).
- Cardiomiopatía diabética (Bando & Murohara, 2014).
- Microvasculopatía (Bando & Murohara, 2014).

Viendo esto nos damos cuenta del impacto que tiene la DM sobre el organismo de los enfermos. Para conocer con mayor detalle como se generan las alteraciones vasculares antes mencionadas por la diabetes se han realizado numeroso experimentos utilizando modelos experimentales no humanos.

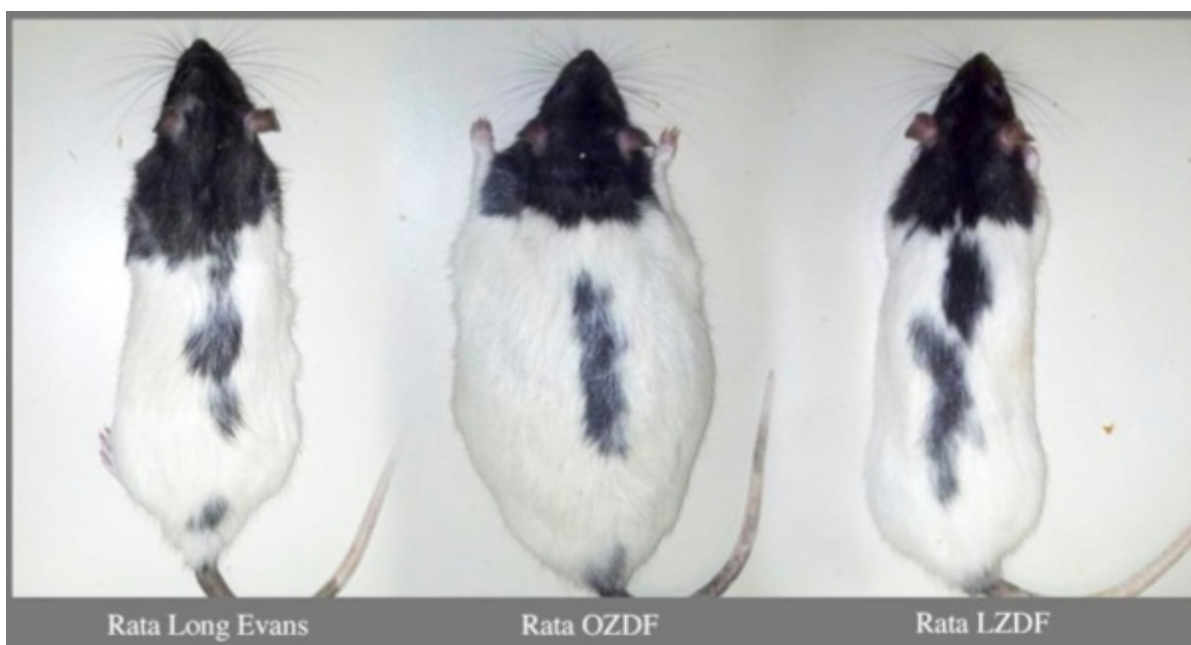
#### **2.2.4 Modelo experimental de la diabetes mellitus tipo 2**

La necesidad de modelos experimentales no humanos radica en principios éticos y legales que nos impiden realizar experimentos que pudieran dañar o poner en riesgo la salud de un ser humano. Actualmente los estudios en animales se realizan bajo lineamientos de cuidado y manejo de animales de laboratorio.

Existen varios modelos de DM2 que se han usado para el estudio de múltiples aspectos de este padecimiento, incluyendo el genético, fisiológico, bioquímico, las complicaciones del desarrollo, la prevención y los ensayos clínicos de nuevas terapias. Algunos ejemplos de animales usados para este tipo de estudios son las de la cepa de rata Goto-Kakizaki (GK), la cepa de rata Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF), la cepa de rata Spontaneously Diabetic Torii (SDT), la cepa de rata SDT fatty, la cepa de rata Wistar fatty, la cepa de ratón db/db, la cepa de ratón KK-Ay, la cepa de ratón Nagoya Shibata Yasuda (NSY), la cepa de ratón New Zealand obese (NZO), la cepa de ratón TallyHo (TH), la cepa de ratón Tsumura Suzuki obese diabetic (TSOD) entre otras (Yokoi et al., 2013)(Katsuda, Ohta, & Miyajima, 2014), cada uno con características particulares que lo diferencian de los demás modelos. En el laboratorio en el que se realizó este trabajo se tiene acceso a la cepa de rata Zucker diabetic fatty (ZDF) la cual es un modelo experimental de DM2. La ZDF presenta dos fenotipos: ZDF obesa (OZDF) y ZDF delgada (LZDF). Las OZDF son homocigotas (*fa/fa*) que expresan una mutación (recesiva) en el gen que codifica para el receptor de leptina, por lo cual son insensibles a la leptina que es una hormona que entre otras cosas, es responsable

de dar la sensación de saciedad, por lo que estas ratas presentan de hiperfagia debido a que no pueden sentir saciedad, lo que las conduce a desarrollar obesidad. Otra de las características de este fenotipo es que presentan resistencia a la insulina, hiperlipidemias e hiperglicemia (**Tabla 2**). Las LZDF son heterocigotas (*fa/+*) y se consideran el grupo control de la ZDF, por que tiene la mutación, pero no la expresa (Baynes & Murray, 2009) (Siwy et al., 2012) (Van den Brom et al., 2010) (Srinivasan & Ramarao, 2007) (Panchal & Brown, 2011).

La cepa de ratas ZDF es usada ampliamente en estudios relacionados con la función cardiovascular, sin embargo se ha reportado que la LZDF presenta alteraciones en cuanto al su función renal, así como algunos cambios en su función cardiaca (Marsh, Powell, Agarwal, Dell'Italia, & Chatham, 2007), esto representa un gran problema, pues la LZDF es la rata control de la OZDF, si la rata control presenta alteraciones en cuanto a su función cardiaca, no podremos diferenciar si los cambios observados o no, en la OZDF se deben a la DM2 o son efecto de alteraciones propias de la cepa ZDF. Es por este motivo que nos fue necesario implementar el uso adicional de otro modelo de rata como control sano. Para ello utilizamos la cepa de rata Long Evans (LE) que es una rata como sana utilizada en diversas investigaciones (ver **Figura 10**).



**Figura 10. Fotografías de las ratas de las cepas ZDF y LE.** Aquí podemos distinguir claramente la rata OZDF (centro) por ser la se ve más ancha. Por otro lado también podemos apreciar que LE (izquierda) y LZDF (derecha) no son fáciles de distinguir una de otra. Esta fotografía fue tomada de (Guzmán Silva et al., 2014).

<b>Parámetros Bioquímicos</b>	<b>LE</b>	<b>LZDF</b>	<b>OZDF</b>
<b>Glucosa Basal (mg/dl)</b>	210.4 ± 46.29	254.8 ± 25.48	407.6 ± 35.94 <sup>a,b</sup>
<b>Glucosa 2h (mg/dl)</b>	64.60 ± 4.675	123.4 ± 23.07	256.9 ± 31.11 <sup>a,b</sup>
<b>Colesterol (mg/dl)</b>	77.8 ± 2.746	90.83 ± 12.22	133 ± 11.82 <sup>a,b</sup>
<b>HDL (mg/dl)</b>	54.46 ± 1.362	61.6 ± 3.016	72.06 ± 8.217
<b>LDL (mg/dl)</b>	19.33 ± 4.802	26.48 ± 12.09	35.64 ± 13.26
<b>VLDL (mg/dl)</b>	12.04 ± 3.709	11.53 ± 3.619	34.53 ± 3.948 <sup>a,b</sup>
<b>Triglicéridos (mg/dl)</b>	44.2 ± 8.57	42 ± 10.35	186.1 ± 23.04 <sup>a,b</sup>

**Tabla 2. Parámetros bioquímicos de ratas LE y ZDF.** Las metodologías utilizadas para la determinación de los parámetros fueron: Glucosa basal, Hexoquinasa; tolerancia a glucosa (2 h) Accucheck® ROCHE; Colesterol total, HDL, LDL, VLDL y Triglicéridos, GOD-PAP. En esta tabla se muestran los valores de media ± error estándar de los parámetros bioquímicos medidos. a (OZDF vs LE), b (OZDF vs LZDF) =P≤0.05. Esta tabla fue tomada y modificada de (Guzmán Silva et al., 2014).

### **III. Pregunta de investigación**

¿La DM2 modifica la morfología del potencial de acción del endocardio del ventrículo derecho de corazón?

### **IV. Hipótesis**

La DM2 modifica la morfología del PA del endocardio de VD de corazón.

### **V. Objetivo general**

Determinar el efecto de la DM2 sobre la actividad eléctrica de los miocitos del endocardio del ventrículo derecho de corazón de rata de la cepa ZDF.

### **VI. Objetivos particulares**

Caracterizar la morfología del PA del ventrículo derecho en endocardio de corazón obtenido de ratas OZDF, LZDF y Long Evans estimulado a las frecuencias de 5, 4, 3, 2 y 1Hz.

Comparar la morfología del PA del ventrículo derecho del corazón de ratas OZDF, LZDF y LE a las frecuencias 5Hz, 4Hz, 3Hz, 2Hz y 1Hz.

## VII. Metodología

Para este estudio se utilizarán ratas macho de 3 a 4 meses de edad de la cepa Long Evans (LE) utilizadas como ratas sanas control y Zucker Diabetic Fatty (ZDF) en sus dos fenotipos; OZDF (Obese Zucker Diabetic Fatty) y LZDF (Lean Zucker Diabetic Fatty). Antes de su sacrificio se usó una cinta métrica convencional para medirles el largo (distancia ano-hocico), y la circunferencia de la parte media del abdomen, además se tomó el peso corporal usando una balanza granataria.

Todas las ratas usadas para el presente estudio fueron proporcionadas por el Bioterio "Claude Bernard" de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El manejo, mantenimiento y sacrificio de los animales se realizó en apego a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Las ratas fueron mantenidas en ciclo luz-oscuridad de 12hrs con acceso libre a comida y agua. Fueron anestesiadas con éter etílico administrado de forma inhalada. Una vez concluidos los experimentos los cadáveres fueron manejados por personal del bioterio.

### 7.1 Obtención del corazón

Una vez anestesiadas las ratas, se les practicó una toracotomía anterior para poner al descubierto el corazón. Con unas pinzas se sujetó el pulmón derecho y se desplazó hacia la izquierda para localizar el cayado aórtico. Cortando por arriba del cayado aórtico en dirección a la zona abdominal, se separó el corazón, pulmones y tejido conectivo e inmediatamente se colocaron en una caja Petri con solución fisiológica conocida como Tyrode (NaCl 110mM, KCl 5.4mM, MgCl 1.05mM, NaHCO<sub>3</sub> 24mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.42mM, D(+)-Glucosa 11mM, CaCl<sub>2</sub> 1.8mM) a 4°C gaseada con carbógeno (95% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub>). Se procedió a quitar el tejido conjuntivo y se insertó una cánula en la aorta con la que se irrigó la circulación coronaria con solución Tyrode a 37°C gaseada con carbógeno, en un sistema Langendorf modificado para perfusión de corazón aislado. Una vez extraído el corazón se abrió la cavidad abdominal y se extrajo la grasa epididimal.

## **7.2 Disección del ventrículo**

Una vez que el corazón fue perfundido, se colocó en una cámara de acrílico cuyo fondo está recubierto con silgar, en la que circulaba solución Tyrode a 37°C gaseada con carbógeno. En esta cámara con ayuda de un estereoscopio se cortaron las aurículas, se localizó el ventrículo derecho y separó del septum. El ventrículo obtenido fue fijado a la cámara exponiendo el endocardio.

## **7.3 Registro de potenciales de acción**

Se utilizó la técnica de registro intracelular. Los PAs fueron registrado con microelectrodos de brosilicato con resistencias entre 10mΩ a 80mΩ los cuales fueron rellenados con una solución saturada de KCl a 2M. Se aplicó estimulación de campo con electrodos de platino utilizando un estimulador GRASS SD9 a las frecuencias de 5Hz, 4Hz, 3Hz, 2Hz y 1Hz.

## **7.4 Sistema de captura**

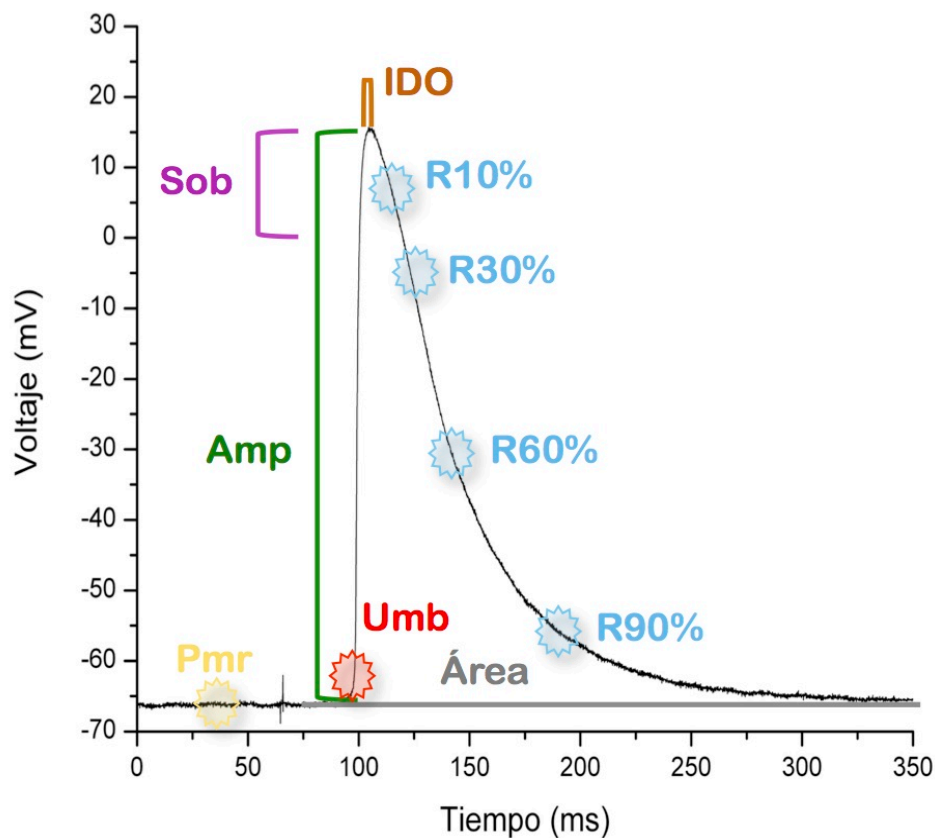
La señal fue amplificada con un amplificador World Precision Instruments, modelo intra 767 y la señal fue observada en un osciloscopio de la marca TEKTRONIX. Utilizando un conversor analógico digital marca National Instruments modelo USB-6009 la señal fue capturada a una velocidad de 10kHz en una computadora.

## **7.5 Análisis de potenciales de acción**

Para el estudio de la morfología de los PA se midió el potencial de membrana en reposo, la amplitud, derivada máxima que nos indica la velocidad con que se genera la fase 0, voltaje umbral que se mide tomando en el registro del PA tomando como referencia al tiempo en el que se genera la fase de ascenso en la gráfica de la derivada máxima, y el tiempo que tarda en repolarizar el 10%, 30%, 60% y 90% de la amplitud a las frecuencias en que fue estimulado el tejido. Además se calculó el intervalo D-O que es el tiempo entre la derivada máxima y el voltaje máximo.

## 7.6 Análisis de resultados

Los datos obtenidos fueron analizados con los programas Clampfit 9.2, Origin Pro 8 y GraphPad Prism 5. Se utilizó la prueba estadística “ANOVA” para comparar los datos correspondientes. Los resultados obtenidos representan la media  $\pm$  error estándar de al menos 6 ratas por frecuencia (n=6).



**Figura 11. Mediciones hechas en los PAs.** Aquí se muestra un PA en el que se ilustran los diferentes parámetros medidos en este trabajo. Exceptuando la derivada máxima que se calcula utilizando el programa Pclamp 9.2. En amarillo se señala el PMR, en verde se muestra la amplitud (Amp), en rojo se señala el lugar aproximado donde se mide el voltaje umbral (Umb), en morado el sobretiro (Sob), en café el intervalo D-O (IDO), en azul se señala los puntos aproximados donde se mide el tipo en repolarizar el 10 (R10%), 30 (R30%), 60 (R60%) y 90% (R90%) y con gris de delimita hasta donde se midió el área.

## VIII. Resultados

### 8.1 Parámetros morfométricos

#### 8.1.1 Peso corporal

En la figura 12A se muestra la media  $\pm$  el error estándar del peso corporal medido en los tres grupos de ratas LE, LZDF y OZDF. Se puede observar que las ratas OZDF presentaron un peso corporal medio de  $506.3 \pm 66.89$ gr (barra roja,  $n=18$ ) el cual es estadísticamente mayor al peso medido en las ratas LZDF y LE que fue de  $334.7 \pm 48.42$ gr (barra azul,  $n=14$ ) y  $339.4 \pm 50.42$ gr (barra negra,  $n=10$ ) respectivamente.

#### 8.1.2 Largo

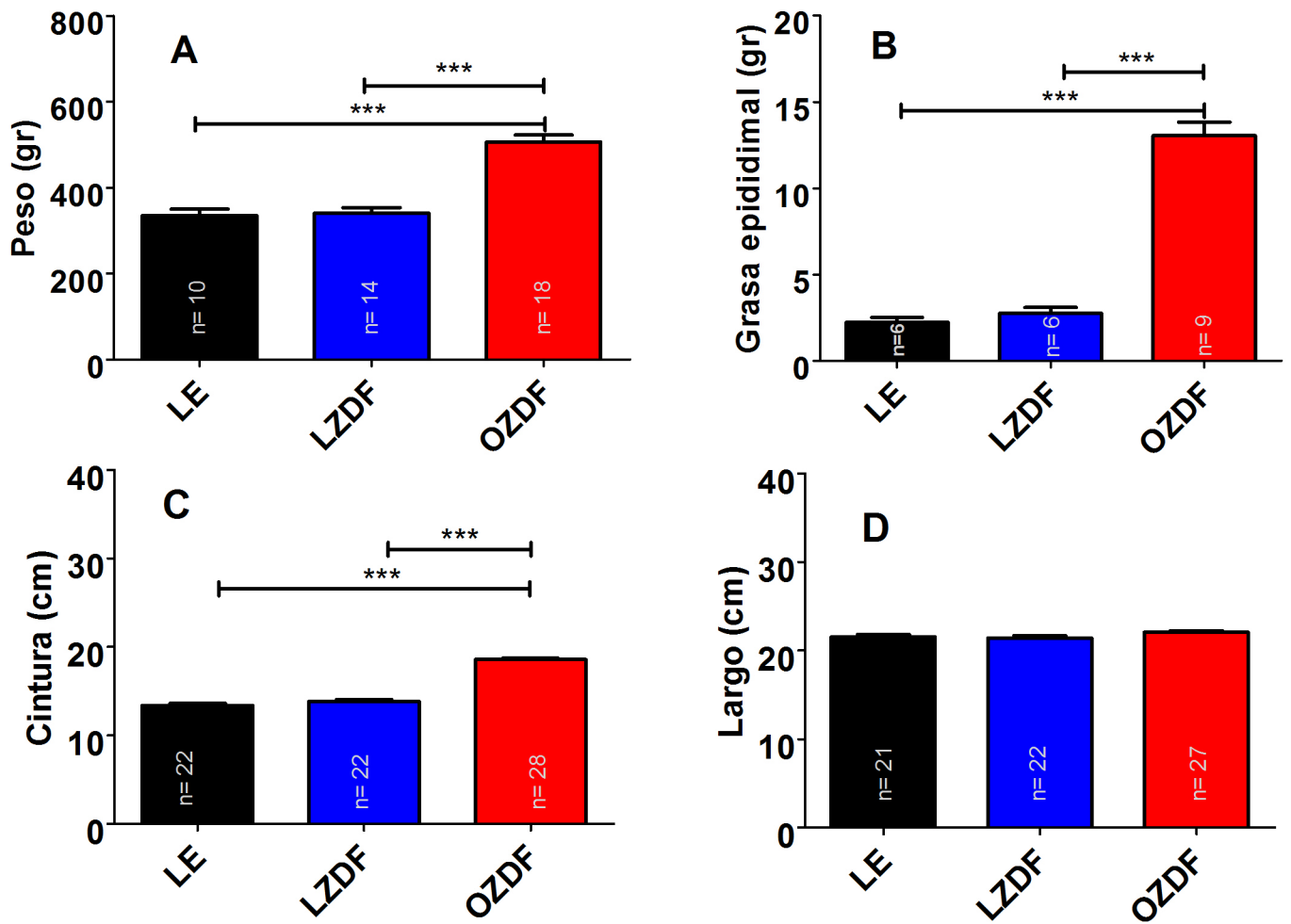
Como se puede observar en la figura 12D, el aumento en el peso de las ratas OZDF, no fue debido a un aumento en el tamaño corporal de este grupo experimental ya que al medir la longitud hocico-ano de los tres grupos de animales no encontramos diferencias estadísticamente significativas.

#### 8.1.3 Cintura

El aumento en el peso de las ratas OZDF fue debido a que presentan obesidad que se puede observar a simple vista a nivel abdominal como se muestra en la fotografía de la Figura 10. En efecto, al medir la circunferencia de la cintura de las ratas OZDF presentaron un valor de  $18 \pm 1.06$ cm que fue estadísticamente superior al de las ratas LZDF y LE que presentaron una circunferencia de la cintura de  $13 \pm 0.70$ cm y  $13.5$ cm respectivamente (Fig. 12C).

#### 9.1.4 Grasa epididimal

La obesidad abdominal en las ratas OZDF fue corroborada al medir la grasa epididimal como indicador de grasa corporal. Las ratas OZDF presentaron mayor cantidad de grasa epididimal ( $13.05 \pm 2.35$ gr) en comparación con la obtenida de ratas LE ( $2.185 \pm 0.90$ gr) y LZDF ( $3.05 \pm 0.81$ gr) (Fig. 12C).

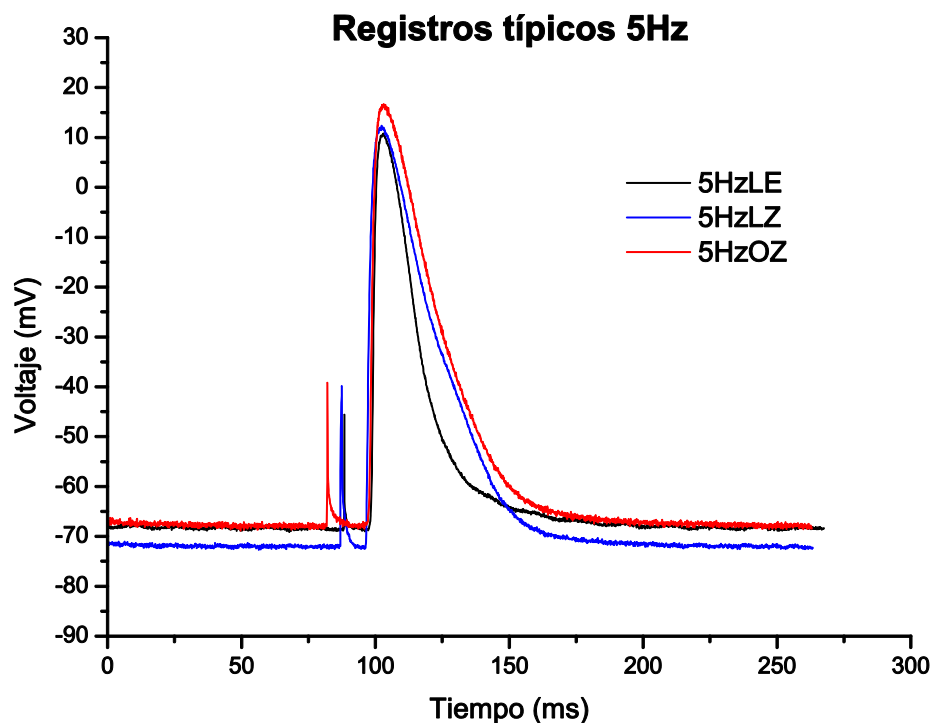


**Figura 12. Datos morfométricos.** Las barras representan la media  $\pm$  error estándar del peso (A), distancia hocico-ano (B), cintura (C) y grasa epididimal (D) obtenidos de ratas LE (barras negras), LZDF (barras azules) y OZDF (barras rojas). Los datos fueron analizados con la prueba estadística Anova.  $*=P \leq 0.05$ . El número de animales estudiados en cada grupo se muestra al interno de las barras (n=5-18).

## 8.2 Cambios morfológicos del PA

### 8.2.1 Potencial acción a 5Hz

En la figura 13 se muestran los registros típicos de PA obtenido de ventrículo derecho de corazón de ratas LE (trazo negro), LZDF (trazo azul) y OZDF (trazo rojo) estimulado a una frecuencia de 5Hz. En la tabla 3 se presentan los parámetros medidos en los PA registrados de los tres grupos de ratas utilizados para este estudio al ser estimulados a una frecuencia de 5Hz. Los PA registrados en ventrículo obtenido de ratas LZDF presentaron un PMR y un voltaje umbral hiperpolarizado al compararlo con el obtenido en ventrículo de ratas LE. En adición, la duración del intervalo D-O fue mayor en ventrículo de ratas LZDF en comparación con el obtenido de ratas LE. Por otro lado, los PA de las ratas OZDF presentan parámetros que representan un punto intermedio al no diferenciarse estadísticamente de ninguno de los otros dos grupos experimentales. En la figura 14 se puede observar que en los PA de las ratas OZDF aumenta el tiempo en que repolariza el 90% de su amplitud en comparación con los valores de las ratas LE. Las ratas LZDF en este parámetro se comportan como intermedios al no diferenciarse estadísticamente de las ratas OZDF ni de las ratas LE en este parámetro.

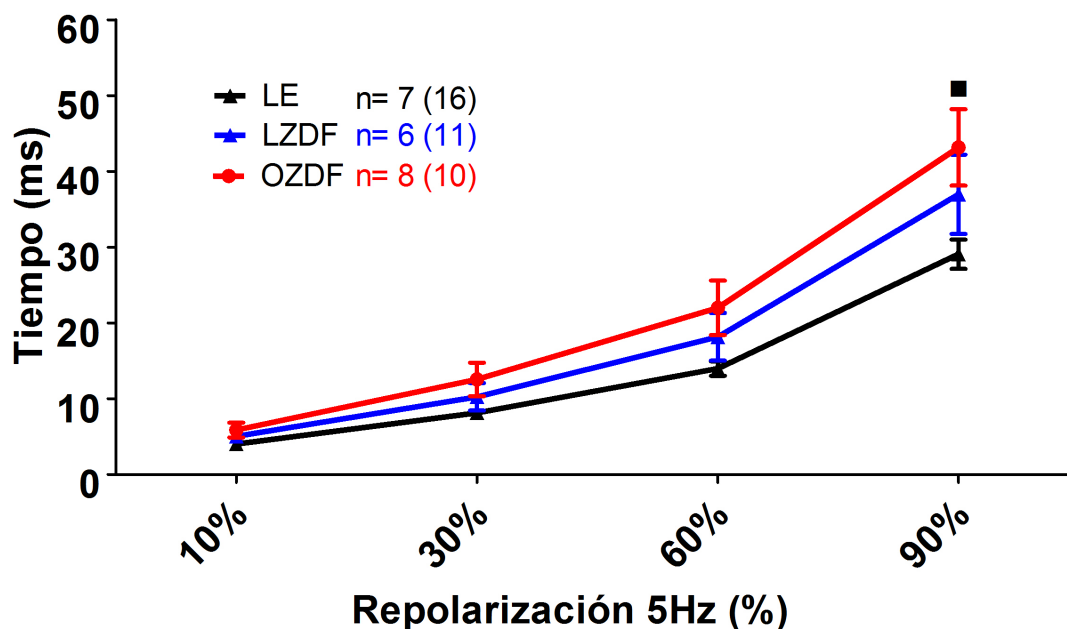


**Figura 13. Registro típico de los PA a 5Hz.** En esta figura se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 5Hz de corazón de ratas LE (trazado negro), LZDF (trazado azul) y OZDF (trazado rojo).

5Hz	LE	LZDF	OZDF
<b>Sobretiro (mV)</b>	<b>13,13±3,76</b> n=7 (16)	<b>12,89±7,76</b> n=6 (11)	<b>14,55±4,73</b> n=8 (10)
<b>PMR (mV)</b>	<b>-67,55±2,62</b> n=7 (16)	<b>-73,29±5,21<math>\Delta</math></b> n=6 (11)	<b>-70,75±3,45</b> n=8 (10)
<b>Amplitud (mV)</b>	<b>80,68±4,89</b> n=7 (16)	<b>86,18±9,44</b> n=6 (11)	<b>85,30±5,79</b> n=8 (10)
<b>Umbral (mV)</b>	<b>-64,85±3,03</b> n=7 (16)	<b>-69,99±5,50 <math>\Delta\Delta</math></b> n=6 (11)	<b>-66,28±3,606</b> n=8 (10)
<b>Dev. Max. (mV/ms)</b>	<b>62,41±11,57</b> n=7 (16)	<b>54,19±15,75</b> n=6 (11)	<b>61,35±16,16</b> n=8 (10)
<b>Inter. D-O (ms)</b>	<b>3,769±0,7087</b> n=7 (16)	<b>5,151±2,104<math>\Delta</math></b> n=6 (11)	<b>4,870±1,317</b> n=8 (10)
<b>Área (mV*ms)</b>	<b>1565±397,2</b> n=7 (16)	<b>2148±1194</b> n=6 (11)	<b>2354±1027</b> n=8 (10)

**Tabla 3. Características morfológicas del PA a 5Hz.** Media  $\pm$  desviación de los parámetros medidos en el PA indicados en la tabla y obtenidos de ventrículo derecho de corazón de ratas LE, LZDF y OZDF estimulados a 5Hz. Entre paréntesis se muestra el número de registros.

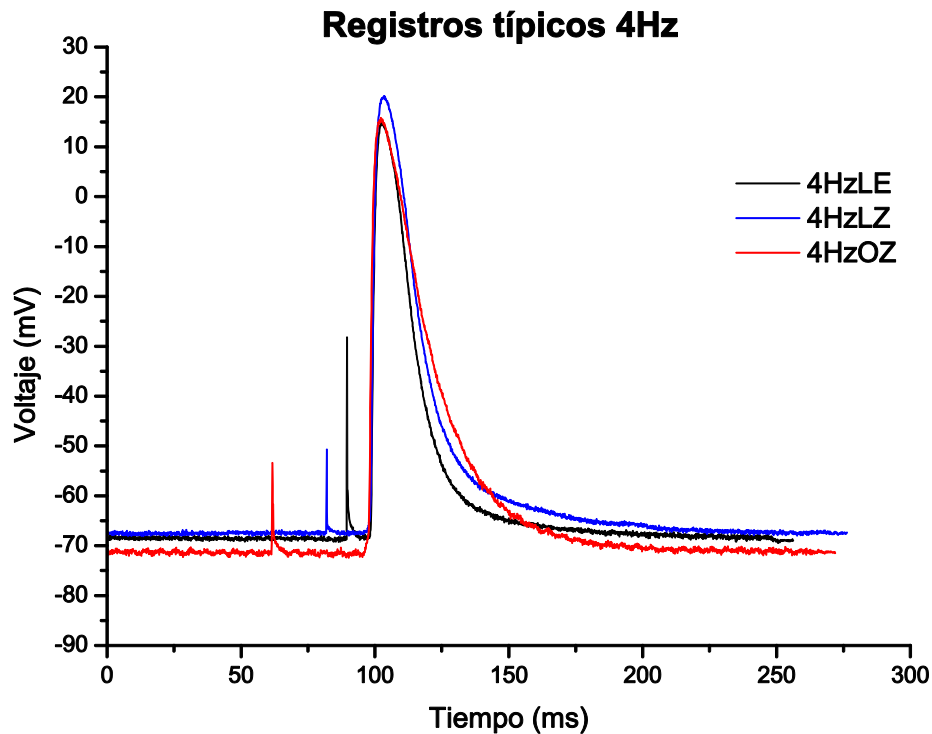
\* (OZDF vs LZDF),  $\square$  (OZDF vs LE) y  $\Delta$  (LZDF vs LE) =  $P \leq 0.05$ .



**Figura 14. Tiempo de repolarización a 5Hz.** En esta gráfica se muestran los valores de media  $\pm$  error estándar del tiempo en repolarizar el 10, 30, 60 y 90% de la amplitud del PA de LE (triángulos negros), LZDF (triángulos azules) y OZDF (círculos rojos). \* (OZDF vs LZDF),  $\square$  (OZDF vs LE) y  $\Delta$  (LZDF vs LE) =  $P \leq 0.05$ .

### 8.2.2 Potencial acción a 4Hz

En la figura 15 se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 4Hz de corazón de ratas LE, LZDF y OZDF. En la tabla 4 y en la figura 16 observamos que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de ratas que usamos para este estudio en los parámetros medidos del PA, sin embargo se observa una tendencia hacia un aumento en la duración del PA de las ratas OZDF y LZDF con respecto a las ratas LE.

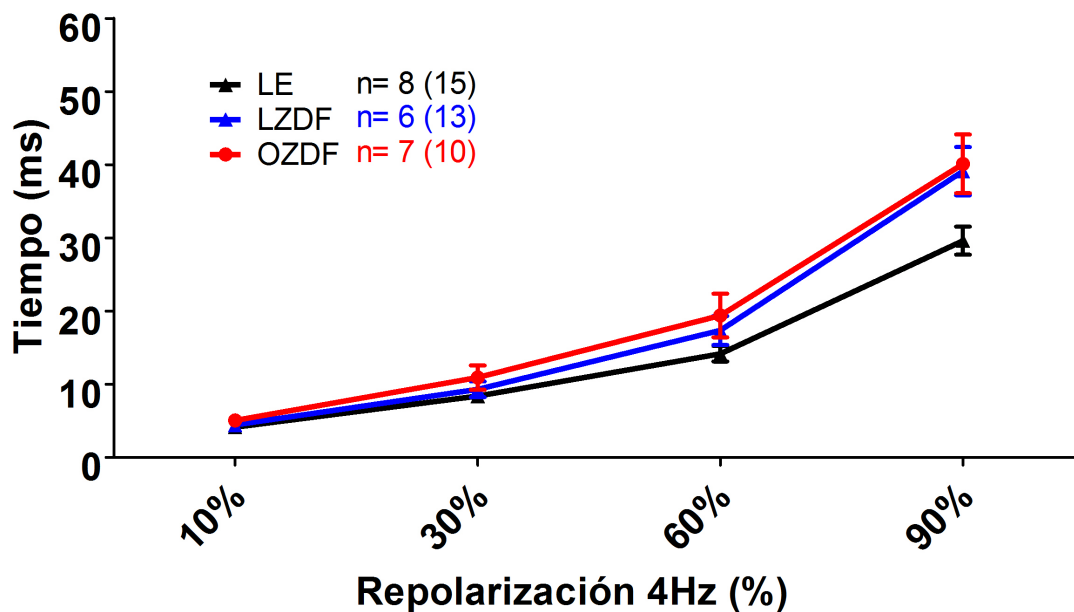


**Figura 15. Registro típico de los PA a 4Hz.** En esta figura se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 4Hz de corazón de ratas LE (trazado negro), LZDF (trazado azul) y OZDF (trazado rojo).

4Hz	LE	LZDF	OZDF
<b>Sobretiro (mV)</b>	<b>14,99±5,10</b> n=8 (15)	<b>14,50±4,90</b> n=6 (13)	<b>13,85±3,22</b> n=7 (10)
<b>PMR (mV)</b>	<b>-66,85±4,05</b> n=8 (15)	<b>-70,23±3,98</b> n=6 (13)	<b>-70,27±3,20</b> n=7 (10)
<b>Amplitud (mV)</b>	<b>81,83±6,78</b> n=8 (15)	<b>84,73±7,37</b> n=6 (13)	<b>84,12±5,50</b> n=7 (10)
<b>Umbral (mV)</b>	<b>-64,54±4,23</b> n=8 (15)	<b>-66,77±4,76</b> n=6 (13)	<b>-66,03±5,044</b> n=7 (10)
<b>Dev. Max. (mV/ms)</b>	<b>64,32±9,70</b> n=8 (15)	<b>61,45±14,85</b> n=6 (13)	<b>65,47±17,05</b> n=7 (10)
<b>Inter. D-O (ms)</b>	<b>3,480±0,8082</b> n=8 (15)	<b>4,221±1,541</b> n=6 (13)	<b>3,920±0,5287</b> n=7 (10)
<b>Área (mV*ms)</b>	<b>1607±460,6</b> n=8 (15)	<b>2029±787,3</b> n=6 (13)	<b>2107±745,9</b> n=7 (10)

**Tabla 4. Características morfológicas del PA a 4Hz.** Media  $\pm$  desviación de los parámetros medidos en el PA indicados en la tabla y obtenidos de ventrículo derecho de corazón de ratas LE, LZDF y OZDF estimulados a 4Hz. Entre paréntesis se muestra el número de registros.

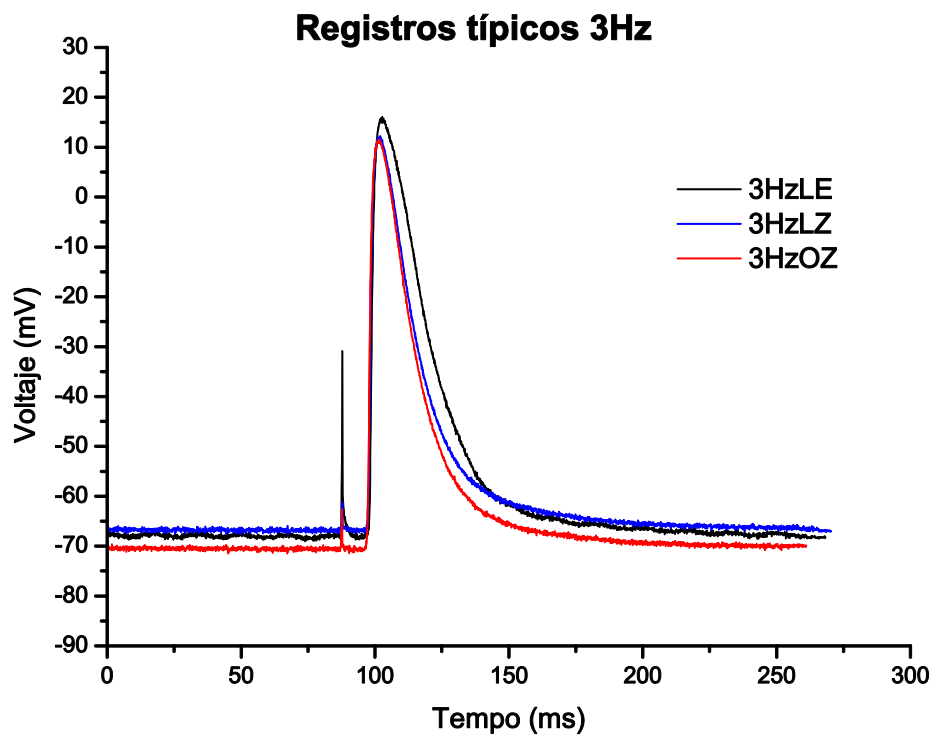
\* (OZDF vs LZDF),  $\square$  (OZDF vs LE) y  $\Delta$  (LZDF vs LE) =  $P \leq 0.05$ .



**Figura 16. Tiempo de repolarización a 4Hz.** En esta gráfica se muestran los valores de media  $\pm$  error estándar del tiempo en repolarizar el 10, 30, 60 y 90% de la amplitud del PA de LE (triángulos negros), LZDF (triángulos azules) y OZDF (círculos rojos). \* (OZDF vs LZDF),  $\square$  (OZDF vs LE) y  $\Delta$  (LZDF vs LE) =  $P \leq 0.05$ .

### 8.2.3 Potencial acción a 3Hz

En la figura 17 se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 3Hz de corazón de ratas LE, LZDF y OZDF. En la tabla 5 podemos notar que a 3Hz sólo el voltaje umbral del PA de las ratas OZDF se diferencia estadísticamente del de las ratas LE. En la figura 18 notamos que no existen diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de repolarización entre los tres grupos de ratas y la tendencia que se observaba en 4Hz desaparece por completo a esta frecuencia.

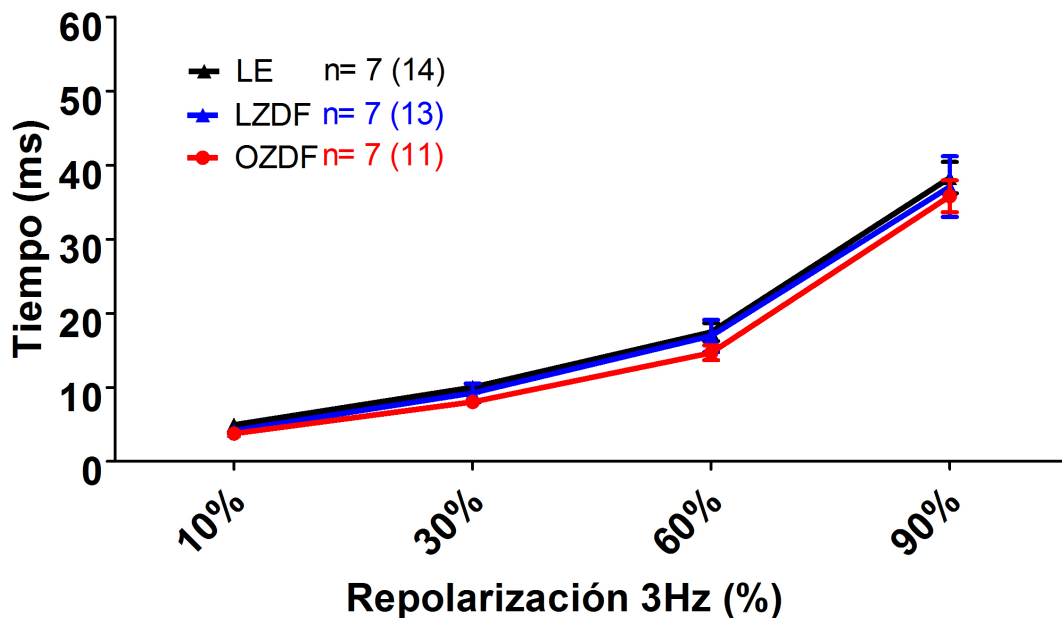


**Figura 17. Registro típico de los PA a 3Hz.** En esta figura se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 3Hz de corazón de ratas LE (trazado negro), LZDF (trazado azul) y OZDF (trazado rojo).

3Hz	LE	LZDF	OZDF
<b>Sobretiro (mV)</b>	<b>14,38±3,071</b> n=7 (14)	<b>13,83±3,71</b> n=7 (13)	<b>12,76±1,96</b> n=7 (11)
<b>PMR (mV)</b>	<b>-70,41±3,03</b> n=7 (14)	<b>-68,04±2,68</b> n=7 (13)	<b>-68,50±3,60</b> n=7 (11)
<b>Amplitud (mV)</b>	<b>84,79±4,65</b> n=7 (14)	<b>81,87±4,34</b> n=7 (13)	<b>81,26±4,62</b> n=7 (11)
<b>Umbral (mV)</b>	<b>-67,58±3,07</b> n=7 (14)	<b>-64,25±3,22</b> n=7 (13)	<b>-61,82±6,357</b> □ □ n=7 (11)
<b>Dev. Max. (mV/ms)</b>	<b>59,31±10,38</b> n=7 (14)	<b>57,45±13,00</b> n=7 (13)	<b>60,83±11,37</b> n=7 (11)
<b>Inter. D-O (ms)</b>	<b>4,364±1,187</b> n=7 (14)	<b>3,518±1,081</b> n=7 (13)	<b>3,873±1,012</b> n=7 (11)
<b>Área (mV*ms)</b>	<b>2056±417,2</b> n=7 (14)	<b>1881±713,8</b> n=7 (13)	<b>1771±276,1</b> n=7 (11)

**Tabla 5. Características morfológicas del PA a 3Hz.** Media ± desviación de los parámetros medidos en el PA indicados en la tabla y obtenidos de ventrículo derecho de corazón de ratas LE, LZDF y OZDF estimulados a 3Hz. Entre paréntesis se muestra el número de registros.

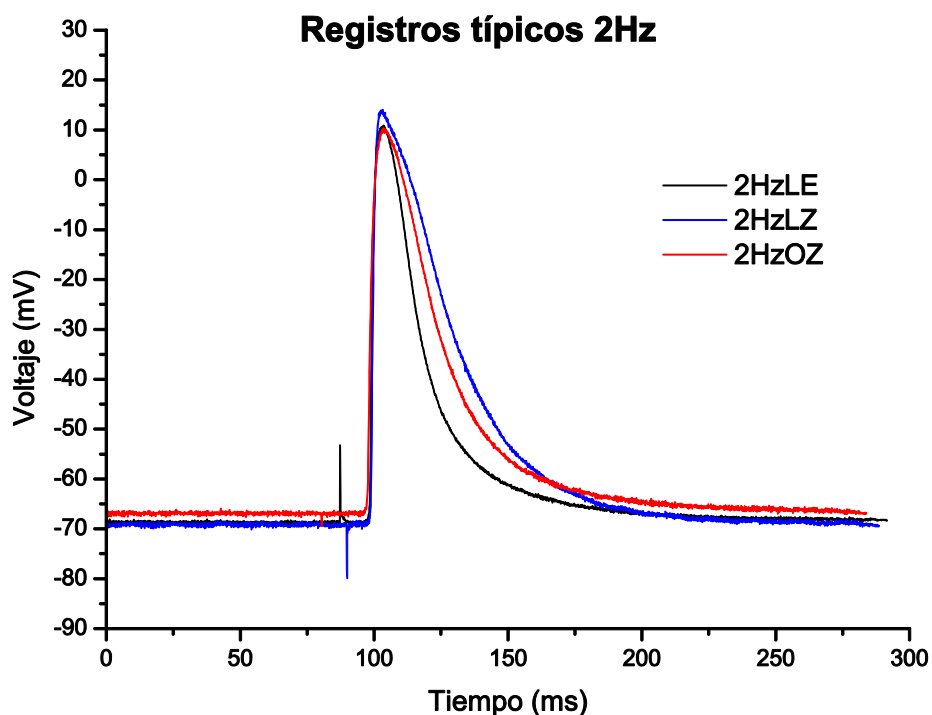
\* (OZDF vs LZDF), □ (OZDF vs LE) y Δ (LZDF vs LE) =P≤0.05.



**Figura 18. Tiempo de repolarización a 3Hz.** En esta gráfica se muestran los valores de media ± error estándar del tiempo en repolarizar el 10, 30, 60 y 90% de la amplitud del PA de LE (triángulos negros), LZDF (triángulos azules) y OZDF (círculos rojos). \* (OZDF vs LZDF), □ (OZDF vs LE) y Δ (LZDF vs LE) =P≤0.05.

#### 8.2.4 Potencial acción a 2Hz

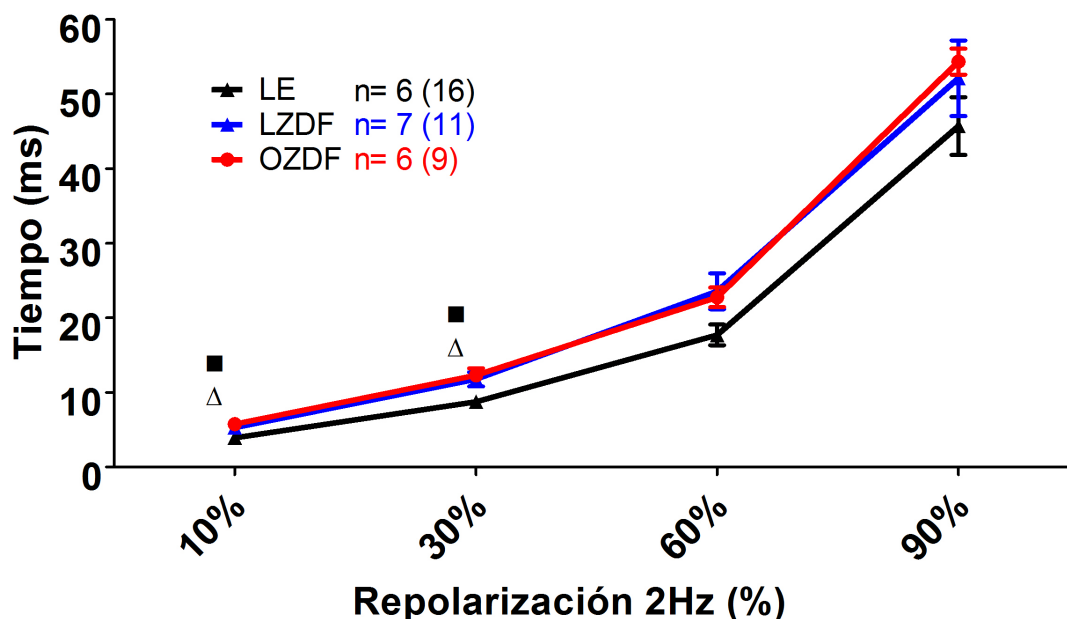
Los registros típicos del PA de ventrículo derecho de corazón estimulado a 2Hz de ratas LE, LZDF y OZDF se pueden observar en la figura 19. Como vemos en la tabla 6 al comparar los PA de nuestro tres grupos de ratas, encontramos que la velocidad con que se genera la fase 0 está aumentada en las ratas LZDF en comparación a las ratas OZDF. También podemos notar que la duración del intervalo D-O en las ratas LZDF está aumentado con respecto al de las ratas LE y OZDF. En la figura 20 podemos notar que el PA de las ratas OZDF y LZDF repolariza de manera más lenta el 10 y 30% de su amplitud que el PA de las ratas LE, este retraso deja de ser estadísticamente significativo cuando se repolariza el 60 y 90% de la amplitud.



**Figura 19. Registro típico de los PA a 2Hz.** En esta figura se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 2Hz de corazón de ratas LE (trazado negro), LZDF (trazado azul) y OZDF (trazado rojo).

2Hz	LE	LZDF	OZDF
<b>Sobretiro (mV)</b>	<b>11,86±3,57</b> n=6 (16)	<b>10,44±5,79</b> n=7 (11)	<b>13,22±6,43</b> n=6 (9)
<b>PMR (mV)</b>	<b>-68,50±3,92</b> n=6 (16)	<b>-72,28±3,31</b> n=7 (11)	<b>-68,06±5,30</b> n=6 (9)
<b>Amplitud (mV)</b>	<b>80,36±3,70</b> n=6 (16)	<b>82,73±6,03</b> n=7 (11)	<b>81,28±7,24</b> n=6 (9)
<b>Umbral (mV)</b>	<b>-65,27±4,06</b> n=6 (16)	<b>-67,93±2,92</b> n=7 (11)	<b>-64,27±5,453</b> n=6 (9)
<b>Dev. Max. (mV/ms)</b>	<b>59,28±12,78</b> n=6 (16)	<b>66,78±11,44</b> n=7 (11)	<b>51,32±5,30*</b> n=6 (9)
<b>Inter. D-O (ms)</b>	<b>3,625±1,073</b> n=6 (16)	<b>3,524±0,8998</b> n=7 (11)	<b>4,656±0,6366*□</b> n=6 (9)
<b>Área (mV*ms)</b>	<b>2031±562,4</b> n=6 (16)	<b>2417±487,4</b> n=7 (11)	<b>2487±462,4</b> n=6 (9)

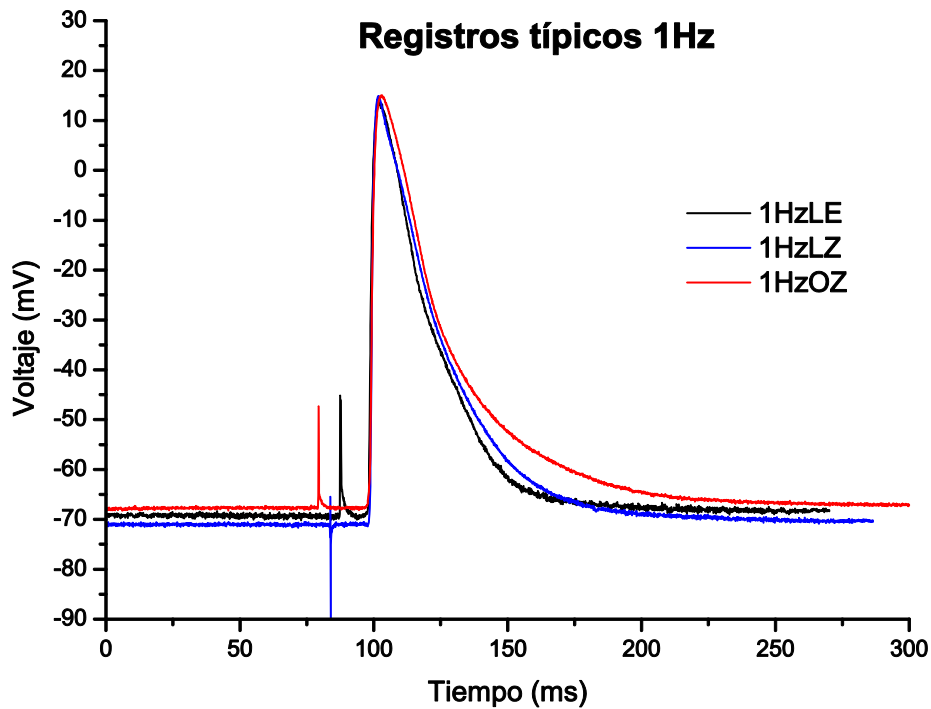
**Tabla 6. Características morfológicas del PA a 2Hz.** Media ± desviación de los parámetros medidos en el PA indicados en la tabla y obtenidos de ventrículo derecho de corazón de ratas LE, LZDF y OZDF estimulados a 2Hz. Entre paréntesis se muestra el número de registros.  
\* (OZDF vs LZDF), □ (OZDF vs LE) y Δ (LZDF vs LE) =P≤0.05.



**Figura 20 Tiempo de repolarización a 2Hz.** En esta gráfica se muestran los valores de media ± error estándar del tiempo en repolarizar el 10, 30, 60 y 90% de la amplitud del PA de LE (triángulos negros), LZDF (triángulos azules) y OZDF (círculos rojos). \* (OZDF vs LZDF), □ (OZDF vs LE) y Δ (LZDF vs LE) =P≤0.05.

#### 8.2.4 Potencial acción a 1Hz

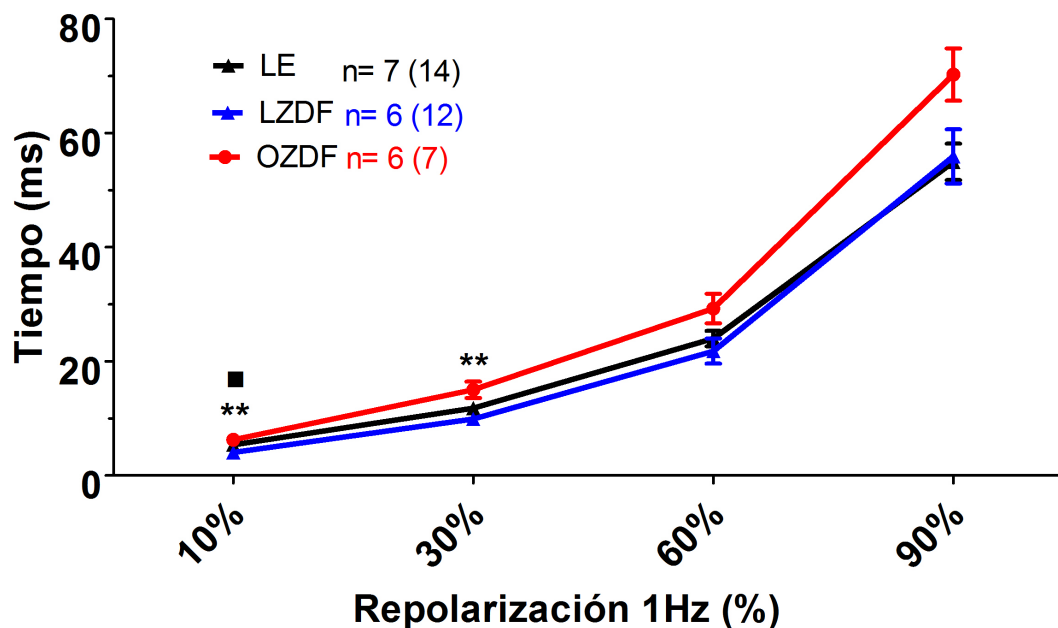
En la figura 17 se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 1Hz de corazón de rata LE, LZDF y OZDF. En la tabla 7 se muestran los valores medios y los errores estándares de los parámetros medidos en los PA de los tres grupos de ratas. Se puede observar que las ratas LZDF tienen un PMR más hiperpolarizado que las el de las ratas LE. También notamos que los PA de las ratas LZDF tienen aumentada la velocidad con que se genera la fase 0 del PA y disminuida la duración del intervalo D-O en comparación al PA de las ratas LE y OZDF. En la figura 22 podemos notar que el PA de las ratas OZDF y LZDF repolarizan de manera más lenta el 10 y 30% de la amplitud de su PA que las ratas LE, este retraso deja de ser estadísticamente significativo al repolarizar el 60 y 90% de la amplitud.



**Figura 21. Registro típico de los PA a 1Hz.** En esta figura se muestran los registros típicos del PA de ventrículo derecho estimulado a 1Hz de corazón de ratas LE (trazado negro), LZDF (trazado azul) y OZDF (trazado rojo).

1Hz	LE	LZDF	OZDF
<b>Sobretiro (mV)</b>	14,95±3,60 n=7 (14)	13,88±5,07 n=6 (12)	13,63±5,56 n=6 (7)
<b>PMR (mV)</b>	-67,99±2,20 n=7 (14)	-71,57±3,64Δ n=6 (12)	-69,39±3,18 n=6 (7)
<b>Amplitud (mV)</b>	82,94±3,59 n=7 (14)	85,45±5,49 n=6 (12)	83,01±4,71 n=6 (7)
<b>Umbral (mV)</b>	-64,22±3,17 n=7 (14)	-68,40±5,71 n=6 (12)	-63,46±3,954 n=6 (7)
<b>Dev. Max. (mV/ms)</b>	55,26±10,24 n=7 (14)	72,71±11,28 ΔΔΔ n=6 (12)	50,01±6,72**** n=6 (7)
<b>Inter. D-O (ms)</b>	4,321±1,188 n=7 (14)	2,792±0,6372ΔΔ n=6 (12)	4,743±0,9676**** n=6 (7)
<b>Área (mV*ms)</b>	2556±527,6 n=7 (14)	2420±655,3 n=6 (12)	3112±429,2* n=6 (7)

**Tabla 7. Características morfológicas del PA a 1Hz.** Media ± desviación de los parámetros medidos en el PA indicados en la tabla y obtenidos de ventrículo derecho de corazón de ratas LE, LZDF y OZDF estimulados a 5Hz. Entre paréntesis se muestra el número de registros.  
\* (OZDF vs LZDF), □ (OZDF vs LE) y Δ (LZDF vs LE) =P≤0.05.



**Figura 22. Tiempo de repolarización a 1Hz.** En esta gráfica se muestran los valores de media ± error estándar del tiempo en repolarizar el 10, 30, 60 y 90% de la amplitud del PA de LE (triángulos negros), LZDF (triángulos azules) y OZDF (círculos rojos). \* (OZDF vs LZDF), □ (OZDF vs LE) y Δ (LZDF vs LE) =P≤0.05.

## IX. Discusión

### 9.1 Cambios en las características morfológicas

Los resultados de peso corporal, cintura, largo y grasa (**Figura 12**), nos permiten ver que la rata OZDF son más pesadas y su cintura es de mayor tamaño debido a que desarrollan mayor grasa corporal que las LE y la LZDF. Estos resultados corresponden a lo reportado en otros trabajos (Wang & Chatham, 2004)(Siwy et al., 2012)(Olsen et al., 2013)(Marsh et al., 2007), por lo que podemos confiar en que nuestros resultados no se verán afectados por variables que sean productos de un manejo diferente de la cepa, en cuanto a su cuidado y a alimentación. Por consiguiente los resultados que observamos en el PA corresponden únicamente a los efectos de la DM2 en el caso de OZDF contra LZDF y/o a la mutación *fa/+* en el caso de LZDF vs LE (VanHoose et al., 2010) (Sárközy et al., 2013).

### 9.2 Cambios en la morfología del PA

De manera general con los resultados que obtuvimos podemos notar que la rata LZDF es la que presenta el mayor número de alteraciones al ser comparada con la rata sana LE. Dado esto, podemos afirmar que la rata LZDF no debe ser considerada una rata control para la rata OZDF, pues cualquier resultado que utilice la rata LZDF como referencia de organismo saludable estará incurriendo en un error al interpretar sus resultados, pues nuestros resultados sugieren que las ratas LZDF presentan alteraciones en varios de los parámetros medidos en el presente proyecto.

#### 9.2.1 Cambios en el PMR

La hiperpolarización que observamos en el PMR podría ser producida que de modificó la relación de la concentración de  $K^+$  dentro y fuera de los miocitos cardiacos aumentando el gradiente del mismo provocando un aumento en la salida de este ión. También puede deberse a una alteración en la corriente  $I_{K1}$  y/o en la bomba ATPasa de  $Na^+-K^+$  que está implicados en el PMR (Mohrman & Heller, 2007) (Eisner et al., 2009). En ratas ZDF se encontró disminuida la expresión de la bomba  $Na^+-K^+$  ATPasa,

y aumentada la expresión de la bomba  $H^+/K^+$  ATPasa, esto se ha asociado a la DM2 o al síndrome metabólico (Sárközy et al., 2013). Sin embargo, ya que en dichos trabajos no se ha agregado un tercer grupo sano para constatar el origen de los cambios en la expresión genética, existe aún la duda si esos cambios son efecto del padecimiento de la DMII o a la mutación de estas ratas. Y no sólo eso, tampoco podemos asegurar que en realidad la expresión de la bomba  $Na^+-K^+$  ATPasa está regulada hacia abajo en OZDF, pues en nuestros resultados encontramos que el PMR de las LZDF se encuentra hiperpolarizado (5Hz y 1Hz), por lo que implicaría que en realidad en LZDF están reguladas hacia arriba dichas proteínas, lo cual es todo lo contrario a lo que suponen los autores (Sárközy et al., 2013).

Los resultados en cuanto a PMR dan a entender que las ratas LZDF, las que son consideradas “sanas”, presentan una alteración independiente que probablemente son debidas a la mutación que preseta esta cepa, pero que de alguna forma en las ratas OZDF se está compensado. En otros trabajos ya se han reportado cambios independientes a la DM2 en esta cepa como los reportados por March y col., donde encuentran que las ratas LZDF desarrollan hidronefrosis (Marsh et al., 2007), por lo que estos resultados sólo enfatizan que se debe tener al usar esta cepa.

### 9.2.2 Cambios en la fase 0 y 1 del PA

En cuanto a la fase 0 encontramos información contradictoria. Por un lado vemos que no hay diferencias en sobretiro ni en amplitud, lo que nos hace suponer que no existen cambios en la  $I_{Na}$  o en la  $I_{to}$ , sin embargo al revisar nuestros resultados en la derivada máxima a bajas frecuencias (2Hz y 1Hz) vemos que en las ratas LZDF la  $I_{Na}$  o en la  $I_{to}$  deben estar modificadas. De manera similar al analizar el intervalo D-O de la rata LZDF vemos que conforme se va disminuyendo la frecuencia se va disminuyendo este parámetro. Ambos parámetros se relacionan entre sí, pues el intervalo D-O está determinado en parte por la velocidad de la fase 0, si esta aumenta, este intervalo se reducirá. Previamente en un estudio realizado en nuestro laboratorio se encontró que la concentración de calcio basal en células endoteliales in situ de aorta de ratas ZDF está aumentada, lo que implica un desajuste en la homeostasis del calcio (Guzmán Silva, Berra Romani, & Aguilar Alosa, 2014). Si existe un aumento similar en la

concentración de calcio en los mocitos cardiacos de las ratas ZDF, podríamos sugerir que este desajuste podría estar siendo el responsable de los cambios en la  $I_{Na}$ , ya que N. Chiamvimonvat y cols. demostraron que cambios en la concentración intracelular de  $Ca^{+2}$  producen alteraciones en la biosíntesis de los canales de  $Na^{+}$  (Chiamvimonvat, Kargacin, Clark, & Duff, 1995). Por otro lado también encontramos que el tiempo en que repolarizó el 10% y 30% de la amplitud de encuentra aumentado 2Hz y 1Hz, esto sumado a los cambios en derivada e intervalo D-O nos hacen suponer que además de tener alterada la  $I_{Na}$ , también existe una disminución de la  $I_{to}$  de estas células. Los cambios pequeños en la estabilidad de la corriente de sodio pueden tener grandes efectos en la duración del potencial de acción (Maier & Sossalla, 2013). Estos cambios en la corriente de  $Na^{+}$  se ha asociado el alargamiento del intervalo QT y a otras patología como son la hipoxia, isquemia, infarto al miocardio y la insuficiencia cardiaca en que se ha visto una elevación en  $I_{Na,late}$  (Moreno & Clancy, 2012).

Los cambios observados a 5Hz en el voltaje umbral de las LZDF podrían ser debidos a un mecanismo compensatorio que disminuyera su sensibilidad al voltaje para que la fase 0 se retrase más y así evitar que el aumento en  $I_{Na}$  y la disminución  $I_{to}$  afecte el funcionamiento del corazón, esto considerando que esta frecuencia es la más cercana a la fisiológica en rata. Posiblemente al disminuir de la frecuencia fisiológica se pierde o enmascara esta compensación. Ahora bien los cambios en 3Hz de la rata OZDF en este parámetro no parecen cumplir con un mecanismo similar y debido a que es él único parámetro alterado a esa frecuencia no está claro el papel que juega este cambio en el funcionamiento de estas células.

### **9.2.3 Cambios en el tiempo en repolarizar la amplitud del PA**

A las frecuencias de 1Hz y 2Hz notamos que la LZDF presenta un aumento en la duración al repolarizar el 10% y el 30% de su PA, esto es posible como ya lo mencionamos puede que se deba a una disminución en la corriente  $I_{to}$  y esta a su vez podría estar afectando también la entrada de calcio (Cordeiro et al., 2012), de acuerdo a lo encontrado en simulaciones computacionales al disminuir la  $I_{to}$  se disminuye la amplitud de la  $I_{Ca}$ , pero aumenta la duración de esta corriente (Sah, 2001), lo que también contribuiría a aumentar la duración del PA.

Como ya mencionamos a 5Hz el PA de la rata OZDF presentan una alargamiento el tiempo que tardan en repolarizar el 90% de su amplitud en comparación con el PA de la rata LE. Es posible que este aumento en la duración del PA se debido a la DM2, ya que esta produce una gran desregulación de todos los sistemas a nivel celular, se sabe provoca un aumento de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, esto lleva a un aumenta rápidamente la concentración intracelular de  $\text{Na}^+$  por acción de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE) (Letonja, 2014)(Moreno & Clancy, 2012). La acumulación de especies reactivas provoca estrés en las células (Letonja, 2014). Este estrés oxidativo producido en el interior de la células cardiacas conduce a una desregulación del calcio, provocando una sobrecarga del mismo en el citosol, lo que provocado por la liberación de calcio del retículo endoplásmico (Letonja, 2014). Pero no hay que olvidar que ya que encontramos que la ZDF presenta alteraciones independientes de la DM2, por lo que no podemos afirmar con toda certeza que efectivamente es la DM2 la cauda de nuestras alteraciones.

Otra posible causa de los cambios en esta frecuencia puede ser la acumulan metabolitos como palmitoil-L-carnitina, lisofosatidilcolina. Dichos metabolitos ocasionan que aumente la  $I_{\text{Na,late}}$  que a su vez aumentan la concentraciones de  $\text{Na}^+$  y esta repercute sobre el intercambiador Na-Ca (NCX) (Maier & Sossalla, 2013).

Otro de los mecanismos que pudiera estar contribuyendo es a través de los ácidos grasos. Se ha demostrado que los ácidos grasos pueden inhibir la oxidación del piruvato, lo que a su vez resulta en la generación de lactato y protones, lo cual puede provocar la entrada de calcio por efecto del intercambiador sodio-protones ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ) y después el intercambiador sodio-calcio (NCX) (Montessuit & Lerch, 2013).

Sin embargo la duración del PA depende principalmente de las corrientes de  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{+2}$ . En el artículo del 2000 Casis y cols. al estudiar los cambios morfológicos del PA de ratas diabéticas (DM1) contra ratas control, encuentra claras diferencias en cuanto a la duración y además demuestran una menor densidad de corriente  $I_{\text{to}}$  y  $I_{\text{K}}$ , lo que

podría estar pasando también en nuestras ratas ya que al igual que ellos observamos un aumento en la duración del PA de los animales diabéticos (Casis et al., 2000).

Así podemos seguir acumulamos muchas posibles explicaciones de nuestros resultados, sin embargo hará falta realizar las pruebas correspondientes para determinar cuál o cuales de la explicaciones que aquí se sugieren es la responsable de manera más precisa de estos cambios. Otro aspecto importante que hay que tener en cuenta es que trabajamos con ratas de 3 a 4 meses, por lo que es posible que algunas de las alteraciones producidas por la DMII en este periodo aún no sean evidentes.

Estos resultados se suman a los presentado por otros investigadores (Griffen, Wang, & German, 2001)(Marsh et al., 2007) en los que al final también se llega a la conclusión de que la rata LZDF presenta alteraciones independientes de la DM2 e incluso de su propia mutación. Por lo que sería necesario revisar y cuestionar toda la literatura existente de la ZDF que utilice la LZDF como control de la OZDF, sin agregar un control sano que permita realmente corroborar que los cambios o no observados son debidos a la DM2 y no a alteraciones propias de la cepa ZDF.

## X. Conclusiones

- La rata OZDF presenta un aumento en la duración de su PA.
- La rata LZDF presenta cambios su PMR, fase 0, voltaje umbral y en la fase 1 y 2 de su PA.
- La ratas LZDF no puede ser considerada un control sano de la rata OZDF, para estudios de la actividad eléctrica de corazón.
- La cepa de rata ZDF presenta alteraciones en la actividad eléctrica, independientes de la DM2.
- Es necesario revisar y cuestionar la literatura que existe sobre la cepa ZDF ya que podría estar incurriendo en errores de interpretación.

## XI. Bibliografía

- Arredondo, A., & Reyes, G. (2013). Health disparities from economic burden of diabetes in middle-income countries: evidence from México. *PloS One*, 8(7), e68443. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0068443>
- Asociación Americana de la Diabetes. (2003). Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 26, 5–20.
- Asociación Americana de la Diabetes. (2013). Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes Care*, 36 Suppl 1(October 2012), S11–66. <http://doi.org/10.2337/dc13-S011>
- Asociación Americana de la Diabetes. (2014). American Diabetes Association. Retrieved December 28, 2014, from <http://www.diabetes.org>
- Bando, Y. K., & Murohara, T. (2014). Diabetes-Related Heart Failure. *Circulation Journal*, 78(3), 576–583. <http://doi.org/10.1253/circj.CJ-13-1564>
- Barquera, S., Campos-Nonato, I., Aguilar-Salinas, C., Lopez-Ridaura, R., Arredondo, A., & Rivera-Dommarco, J. (2013). Diabetes in Mexico: cost and management of diabetes and its complications and challenges for health policy. *Globalization and Health*, 9(1), 3. <http://doi.org/10.1186/1744-8603-9-3>
- Barret, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., & Brooks, H. L. (2010). *Fisiología Médica Ganong* (23rd ed., pp. 509 – 550). Mc Graw Hill.
- Baynes, J., & Murray, D. B. (2009). Cardiac and renal function are progressively impaired with aging in Zucker diabetic fatty type II diabetic rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 328–34. <http://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9831>
- Blaustein, M. P., Kao, J. P. Y., & Matteson, D. R. (2004). *Cellular Physiology and Neurophysiology* (2º ed., pp. 33–45). ELSEVIER Mosby.
- Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2012). *Medical Physiology* (Updated Ed, pp. 429 – 553). SAUNDERS ELSEVIER.
- Carlson, B. M. (2005). *Embriología humana y biología del desarrollo* (3º ed., p. 461). ELSEVIER.
- Casis, O., Gallego, M., Iriarte, M., & Sánchez-Chapula, J. a. (2000). Effects of diabetic cardiomyopathy on regional electrophysiologic characteristics of rat ventricle. *Diabetologia*, 43(1), 101–9. <http://doi.org/10.1007/s001250050013>
- Chiamvimonvat, N., Kargacin, M. E., Clark, R. B., & Duff, H. J. (1995). Effects of intracellular calcium on sodium current density in cultured neonatal rat cardiac

- myocytes. *The Journal of Physiology*, 483(2), 307–318.  
<http://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020587>
- Cordeiro, J. M., Calloe, K., Moise, N. S., Kornreich, B., Giannandrea, D., Di Diego, J. M., ... Antzelevitch, C. (2012). Physiological consequences of transient outward K<sup>+</sup> current activation during heart failure in the canine left ventricle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 52(6), 1291–8.  
<http://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.03.001>
- Cruz Martínez, Á. (2014, December 27). Organizan trabajadores de la salud una movilización nacional. *La Jornada*. México, DF. Retrieved from  
<http://www.jornada.unam.mx/2014/12/27/sociedad/030n1soc>
- Eisner, D. a, Dibb, K. M., & Trafford, a W. (2009). The mechanism and significance of the slow changes of ventricular action potential duration following a change of heart rate. *Experimental Physiology*, 94(5), 520–8.  
<http://doi.org/10.1113/expphysiol.2008.044008>
- Farraj, A. K., Hazari, M. S., & Cascio, W. E. (2011). The utility of the small rodent electrocardiogram in toxicology. *Toxicological Sciences*, 121(1), 33, 44, 73–82.  
<http://doi.org/10.1093/toxsci/kfr021>
- Forbes, J. M., & Cooper, M. E. (2013). Mechanisms of diabetic complications. *Physiological Reviews*, 93(1), 137–88.  
<http://doi.org/10.1152/physrev.00045.2011>
- Galadari, S., Rahman, A., Pallichankandy, S., Galadari, A., & Thayyullathil, F. (2013). Role of ceramide in diabetes mellitus: evidence and mechanisms. *Lipids in Health and Disease*, 12(1), 98. <http://doi.org/10.1186/1476-511X-12-98>
- Gallego, M., Alday, A., Alonso, H., & Casis, O. (2014). Adrenergic regulation of cardiac ionic channels: Role of membrane microdomains in the regulation of kv4 channels. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1838(2), 692–699.  
<http://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.06.025>
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2002). *Texto y Atlas de Histología* (2<sup>o</sup> ed., pp. 213 – 260). McGraw-Hill.
- Griffen, S. C., Wang, J., & German, M. S. (2001). A Genetic Defect in  $\beta$ -Cell Gene Expression Segregates Independently From the fa Locus in the ZDF Rat. *Diabetes*, 63–68.
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). *Tratado de Fisiología Médica*. (ELSEVIER, Ed.) (11th ed., pp. 103–180). ELSEVIER.
- Guzmán Silva, A., Berra Romani, R., & Aguilar Alosa, P. (2014). *Efecto de la Diabetes Mellitus tipo II sobre la regulación del Ca<sup>2+</sup> intracelular en células endoteliales in situ de aorta de rata*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

- Hage Hassan, R., Bourron, O., & Hajduch, E. (2014). Defect of insulin signal in peripheral tissues: Important role of ceramide. *World Journal of Diabetes*, 5(3), 244–57. <http://doi.org/10.4239/wjd.v5.i3.244>
- Home, P., Baik, S. H., Gálvez, G. G., Malek, R., & Nikolajsen, A. (2014). An analysis of the cost-effectiveness of starting insulin detemir in insulin-naïve people with type 2 diabetes. *Journal of Medical Economics*, 1–11. <http://doi.org/10.3111/13696998.2014.985788>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2013). *Boletín de estadísticas vitales 2011* (INEGI (Méx.). INEGI (México).
- Katsuda, Y., Ohta, T., & Miyajima, K. (2014). Diabetic complications in obese type 2 diabetic rat models. *Experimental ...*, 63(October 2013), 121–132. Retrieved from <http://jlc.jst.go.jp/DN/JALC/10033742310?from=Google>
- Kim, C. (2014). Gestational diabetes mellitus in korean women: similarities and differences from other racial/ethnic groups. *Diabetes & Metabolism Journal*, 38(1), 1–12. <http://doi.org/10.4093/dmj.2014.38.1.1>
- Kim, J.-B. (2004). Channelopathies. *Korea Journal Pediatrics*, 1–18.
- Klabunde, R. E. (2005). *Cardiovascular Physiology Concepts* (1<sup>o</sup> ed., pp. 1–90). Lippincott Williams & Wilkins.
- Komatsu, M., Takei, M., Ishii, H., & Sato, Y. (2013). Glucose-stimulated insulin secretion: A newer perspective. *Journal of Diabetes Investigation*, 4(6), 511–6. <http://doi.org/10.1111/jdi.12094>
- Letonja, M. (2014). Is diabetic cardiomyopathy a specific entity? *World Journal of Cardiology*, 6(1), 8–13. <http://doi.org/10.4330/wjc.v6.i1.8>
- Louise, C., & Smith, H. W. (2014). Significance of HbA 1c and its measurement in the diagnosis of diabetes mellitus : US experience, 487–494.
- Maier, L. S., & Sossalla, S. (2013). The late Na current as a therapeutic target: where are we? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 61, 44–50. <http://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.03.001>
- Maraschin, J. D. F., Murussi, N., Witter, V., & Silveiro, S. P. (2009). Diabetes Mellitus Classification. *Clinical Update*, 40–47.
- Marsh, S. a, Powell, P. C., Agarwal, A., Dell'Italia, L. J., & Chatham, J. C. (2007). Cardiovascular dysfunction in Zucker obese and Zucker diabetic fatty rats: role of hydronephrosis. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 293(1), H292–8. <http://doi.org/10.1152/ajpheart.01362.2006>

- Mohrman, D. E., & Heller, L. J. (2007). *Fisiología Cardiovascular*. (McGraw-Hill interamericana, Ed.) (6° ed., pp. 4,9,10,20–33,48–55,71–74). McGraw-Hill.
- Montessuit, C., & Lerch, R. (2013). Regulation and dysregulation of glucose transport in cardiomyocytes ☆. *BBA - Molecular Cell Research*, 1833(4), 848–856. <http://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2012.08.009>
- Moreno, J. D., & Clancy, C. E. (2012). Pathophysiology of the cardiac late Na Current and its potential as a drug target. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 52(3). <http://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.12.003>. Pathophysiology
- Nelson, R. W., & Reusch, C. E. (2014). Animal models of disease: classification and etiology of diabetes in dogs and cats. *The Journal of Endocrinology*, 222(3), T1–9. <http://doi.org/10.1530/JOE-14-0202>
- Nerbonne, J. M., & Kass, R. S. (2005). Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiological Reviews*, 85(4), 1205–53. <http://doi.org/10.1152/physrev.00002.2005>
- Olsen, K. B., Axelsen, L. N., Braunstein, T. H., Sørensen, C. M., Andersen, C. B., Ploug, T., ... Nielsen, M. S. (2013). Myocardial impulse propagation is impaired in right ventricular tissue of Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. *Cardiovascular Diabetology*, 12, 19. <http://doi.org/10.1186/1475-2840-12-19>
- Panchal, S. K., & Brown, L. (2011). Rodent models for metabolic syndrome research. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2011, 351982. <http://doi.org/10.1155/2011/351982>
- Pascale, R., Vitale, M., Zeppa, P., Russo, E., & Esposito, S. (2012). Il piede diabetico : definizioni. *Le Infezioni in Medicina*, 5–7.
- Sah, R. (2001). Modulation of Ca<sup>2+</sup> Release in Cardiac Myocytes by Changes in Repolarization Rate: Role of Phase-1 Action Potential Repolarization in Excitation-Contraction Coupling. *Circulation Research*, 90(2), 165–173. <http://doi.org/10.1161/hh0202.103315>
- Sárközy, M., Zvara, A., Gyémánt, N., Fekete, V., Kocsis, G. F., Pipis, J., ... Csont, T. (2013). Metabolic syndrome influences cardiac gene expression pattern at the transcript level in male ZDF rats. *Cardiovascular Diabetology*, 12, 16. <http://doi.org/10.1186/1475-2840-12-16>
- Secretaría de Economía. (2014). Tipo de Cambio de venta: Peso Mexicano - US Dólar (MXN-USD). Retrieved December 31, 2014, from <http://portalweb.sgm.gob.mx/economia/es/tipos-de-cambio/449-tablas-peso-mexicano-us-dolar.html>

- Shaw, J. E., Sicree, R. a, & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87(1), 4–14. <http://doi.org/10.1016/j.diabres.2009.10.007>
- Siwy, J., Zoja, C., Klein, J., Benigni, A., Mullen, W., Mayer, B., ... Bahlmann, F. H. (2012). Evaluation of the Zucker diabetic fatty (ZDF) rat as a model for human disease based on urinary peptidomic profiles. *PloS One*, 7(12), e51334. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0051334>
- Srinivasan, K., & Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research : An overview. *Indian Journal of Medical Research*, (March), 451–472.
- Trasparencia Mexicana. (2014). ¿Dónde se encuentra México en el Índice de Percepción de la Corrupción 2014?
- Van den Brom, C. E., Bosmans, J. W. a M., Vlasblom, R., Handoko, L. M., Huisman, M. C., Lubberink, M., ... Boer, C. (2010). Diabetic cardiomyopathy in Zucker diabetic fatty rats: the forgotten right ventricle. *Cardiovascular Diabetology*, 9, 25. <http://doi.org/10.1186/1475-2840-9-25>
- VanHoose, L., Sawers, Y., Loganathan, R., Vacek, J. L., Stehno-Bittel, L., Novikova, L., ... Smirnova, I. V. (2010). 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. <http://doi.org/10.1186/1475-2840-9-56>
- Vaykshnorayte, M. A., Ovechkin, A. O., & Azarov, J. E. (2012). The Effect of Diabetes Mellitus on the Ventricular Epicardial Activation and Repolarization in Mice. *Physiological Research*, 8408, 363–370.
- Wang, P., & Chatham, J. C. (2004). Onset of diabetes in Zucker diabetic fatty ( ZDF ) rats leads to improved recovery of function after ischemia in the isolated perfused heart, 0005, 725–736.
- World Health Organization. (2014). Diabetes. Retrieved December 28, 2014, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>
- Wright, S. H. (2004). Generation of resting membrane potential. *Advances in Physiology Education*, 28(1-4), 139–42. <http://doi.org/10.1152/advan.00029.2004>
- Yokoi, N., Hoshino, M., Hidaka, S., Yoshida, E., Beppu, M., Hoshikawa, R., ... Seino, S. (2013). A Novel Rat Model of Type 2 Diabetes: The Zucker Fatty Diabetes Mellitus ZFDM Rat. *Journal of Diabetes Research*, 2013, 103731. <http://doi.org/10.1155/2013/103731>
- Zhou, X., Huang, J., & Ideker, R. E. (2002). Transmural recording of monophasic action potentials, 0019, 855–861.