



**Universidad De Oriente
Núcleo De Bolívar
Escuela De Ciencias De La Salud
“Dr. Francisco Battistini Casalta”
Departamento De Bioanálisis**

**EFFECTO DEL PROPRANOLOL SOBRE AURÍCULAS EXTRAÍDAS
DE RATAS CON INSULINA-RESISTENCIA**

Profesor Asesor:

Lcda. Glacelidys Rodríguez

Trabajo de Grado presentado por las Br.(es):

Lizet Carolina Bonaldy Betanco

C.I. 17.748.420

Neila Rosil Del Valle Contino Ledezma

C.I. 17.383.859

Como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Bioanálisis

Ciudad Bolívar, julio de 2010



DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo primeramente a DIOS, por regalarnos el milagro de la vida y por ser fuente de toda inteligencia y sabiduría.

A nuestras familias, Bonaldy Betanco y Contino Ledezma, especialmente a nuestros padres Julio Contino y Arquímedes Bonaldy, a nuestras mamás Omaira Ledezma y Altagracia Betanco, por todo su amor y ayuda prestada desde la primera etapa de este trabajo, para que hoy sea una realidad. Sin su apoyo incondicional jamás lo habríamos logrado.

A nuestros hermanos, que nos enseñaron a nunca rendirnos a pesar de cualquier circunstancia, además por toda la ayuda y colaboración prestada, sus apoyos fueron de vital importancia.

A nuestros amigos Jeslibeth, Javier, Vicerma, Ronald, Rosibel, Roxana, Marbelys y Leonela, Anais y Nairobi; con ustedes aprendimos el valor de la amistad, viviendo momentos gratos que jamás olvidaremos, forjando en nosotras, constancia y dedicación para finalizar nuestros estudios en esta primera etapa.

“Todo lo puedo en cristo que me fortalece”

Filipenses 4.13



AGRADECIMIENTO

Agradecemos principalmente a DIOS, por ser la luz que ha iluminado nuestros caminos a lo largo de todas nuestras vidas.

Especialmente a la Profesora Glacelidys Rodríguez, mil gracias por brindarnos su tiempo, toda su paciencia, dedicación, apoyo y conocimiento para la realización de este trabajo.

A la Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, nuestra alta casa de estudios, por darnos la oportunidad de culminar nuestros estudios

Al laboratorio de Farmacología Cardiovascular y Neurociencias, por prestar sus instalaciones para la realización de este trabajo.

A la Lcda. Antonella Antonucci por toda la colaboración prestada en la realización de este trabajo.

A todos los que de una u otra manera estuvieron apoyándonos y colaborando.



ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
RESUMEN	v
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	8
OBJETIVOS	9
Objetivo General	9
Objetivos Específicos.....	9
METODOLOGÍA	10
Tipo de Estudio	10
Unidades Experimentales.....	10
Establecimiento de los grupos experimentales	10
Contracción in vitro de las Aurículas.....	11
Análisis de los Datos.....	13
RESULTADOS	14
Tabla 1.....	15
Tabla 2.....	16
Figura 1.	17
Figura 2.	19
Figura 3.	20
DISCUSIÓN	21
CONCLUSIONES	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26



RESUMEN

EFFECTO DEL PROPRANOLOL SOBRE AURÍCULAS EXTRAÍDAS DE RATAS CON INSULINA-RESISTENCIA

Lizet Carolina Bonaldy Betanco y Neila Rosil Del Valle Contino Ledezma
Departamento de Bioanálisis. Escuela de Ciencias de la Salud. Universidad de
Oriente, Núcleo Bolívar

La Insulina-Resistencia (IR) es una deficiencia metabólica asociada con Diabetes tipo 2 y más recientemente a enfermedades cardiovasculares, siendo el factor determinante del síndrome metabólico. Dada la importancia clínica del Propranolol, la investigación pretende conocer el efecto crono e inotrópico de este fármaco sobre aurículas extraídas de ratas IR. Un total de 5 ratas Sprague-Dawley, divididas en dos grupos: Control alimentado *ad libitum* con perrarina, y otro alimentado con perrarina-manteca vegetal, y suministro de agua con Fructosa 40% durante 8 meses. Al finalizar el periodo dietario, se verificó la Insulina-Resistencia y las aurículas extraídas de los animales se mantuvieron en solución Krebs a 37°C, pH 7,4; 95% O₂, 5% CO₂, en un baño de Órganos Aislados marca Letica[®], conectado a un transductor y amplificador dentro del Polígrafo marca Grass[®], registrándose la frecuencia de los latidos y evaluando las diferencias entre las medias poblacionales a través del *t-students*. Se establecieron curvas dosis-respuesta acumulativas (desde 1.10⁻⁹ M hasta 1.10⁻³ M) con Isoproterenol y previa incubación de 15 minutos con Propranolol (1.10⁻⁶ M), el cual generó un efecto cronotrópico negativo en el grupo control mas no así en las ratas IR, en donde el Isoprotenerol desencadenó el efecto agonista sobre los β-receptores, estableciéndose diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de incremento de los latidos/seg. en ambos grupos, bajo el efecto antagonista del Propranolol (Control 58,81±4,08; IR 68,84±4,16; ts 0,16***). La máxima fuerza de contracción auricular alcanzada por el grupo IR (278,47±11,22), previo bloqueo con Propranolol, generó diferencias estadísticamente significativas (ts 0,00***), en comparación con el grupo control (42,60±3,13), evidenciándose que el Propranolol no generó bloqueo sobre los receptores beta-adrenérgicos auriculares de las ratas Insulina-resistentes.

Palabras claves: Receptor Beta adrenérgico, Propranolol, Resistencia a la Insulina, Aurículas.



LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Parámetros de control fisiológico determinados en ambos grupos de estudio (Grupo Control y con Inducción dietaria).....	13
2. Efecto cronotrópico del Propranolol en aurículas extraídas de ambos grupos de estudio (Grupo Control y con Inducción dietaria).....	14



LISTA DE FIGURAS

	Pág.
1. Curva dosis-respuesta acumulativa del efecto del Isoproterenol sobre aurículas extraídas de ratas controles y ratas con resistencia a la insulina por inducción dietaria previa incubación con Propranolol (1.10^{-6} M).....	15
2. Efecto inotrópico del Propranolol en aurículas extraídas de los dos grupos de estudio (Grupo Control y con Inducción dietaria).....	16
3. Curva dosis-respuesta acumulativa del efecto del Isoproterenol sobre aurículas extraídas de ratas controles y ratas con resistencia a la insulina por inducción dietaria.....	17



INTRODUCCIÓN

La resistencia a la insulina es una de las principales deficiencias metabólicas asociadas al desarrollo de Diabetes tipo 2 y más recientemente a enfermedades cardiovasculares (Grima *et al.*, 2005; Schnell *et al.*, 2007), siendo el factor determinante del síndrome metabólico. Al respecto, estudios epidemiológicos señalan una estrecha relación entre hiperinsulinemia, resistencia insulínica e hipertensión arterial (Ford *et al.*, 2002; Sarafidis, 2008).

Por su parte, la hipertensión arterial (HTA) es uno de los problemas de salud cardiovascular más importantes según la magnitud y gravedad de sus consecuencias (Menotti *et al.*, 1996; Rodgers & MacMahon, 1999; Schnell *et al.*, 2007). En América Latina, mueren 800 mil personas al año aproximadamente de enfermedades cardiovasculares, la mayoría asociada a la HTA, cuya prevalencia se ha reportado entre 20 y 30% en la población adulta (Hernández *et al.*, 2004). Asimismo, según las proyecciones de enfermedades crónicas realizadas por Murray & López (1997), en el año 2020 la cardiopatía isquémica continuará siendo la primera causa de muerte en los países industrializados y pasará a ser la tercera en los que actualmente están en vías de desarrollo.

Numerosos estudios epidemiológicos han identificado de forma consistente a la HTA como uno de los factores de riesgo más importantes y prevalentes de enfermedad cardiovascular, considerándose primera causa de muerte en los países desarrollados (Dustan *et al.*, 1996; WHO, 2002), y junto a la resistencia a la insulina, componente determinante del síndrome metabólico.

En el año 2003, investigaciones en Santiago de Chile, indicaron que el problema de hipertensión arterial en Latinoamérica ha obtenido mayor relevancia y fue establecida



como la epidemia del siglo XXI, donde las tasas de mortalidad son altas desde 1990, reportando Argentina 46,6%, Chile 29,4% y Puerto Rico 40,5% (Escobar, 2003).

En lo que respecta a Venezuela, según el informe de la Organización Panamericana de la Salud (2004), las enfermedades cardiovasculares se ubicaron dentro de las veinticinco primeras causas de muerte en ese año, representando una tasa de mortalidad de 26,36%. En este sentido, el Ministerio de Salud y Desarrollo Social (2007), reporta una prevalencia de 20 a 30% en adultos, llegándose a considerar a la HTA como un problema de salud pública.

No obstante, la data epidemiológica correspondiente a los casos de resistencia a la insulina y/o síndrome metabólico en Venezuela, no se ha encontrado disponible en los reportes dados por los entes oficiales correspondientes: Ministerio del Poder Popular para la Salud y la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2003; Ministerio del Poder Popular para la Salud y Desarrollo Social, 2006).

Por otro lado, es necesario mencionar, que la resistencia a la insulina puede definirse como el defecto en la capacidad de la insulina para ejercer sus funciones biológicas, es decir, mediar la disposición de glucosa tanto en el tejido muscular estriado esquelético como en el tejido adiposo (Savage *et al.*, 2005). Esta alteración metabólica es un factor de riesgo obligatorio en la diagnosis del síndrome metabólico y antecede a la condición de *Diabetes mellitus* Tipo 2 (Zimmet *et al.*, 2005).

Una de las primeras descripciones del síndrome metabólico fueron dadas por Avogaro *et al.* (1967), al documentar la aparición simultánea de obesidad, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipertensión. La importancia clínica de este conjunto de entidades fue destacada por Reaven (1988), quien describió la presencia de un grupo de alteraciones metabólicas “Síndrome X”, cuyo rasgo fisiopatológico central es la resistencia a la insulina. Adicionalmente, este investigador en el año 2002, propuso cinco



(5) consecuencias de éste, todas ellas relacionadas con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (Reaven, 2002).

Los componentes originales del Síndrome X descritas por Reaven (1988) fueron:

- Resistencia a la captación de glucosa mediada por insulina
- Intolerancia a la glucosa
- Hiperinsulinemia
- Hipertensión arterial
- Aumento de triglicéridos en las Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)
- Disminución del colesterol de las Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

En 1999, la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso la primera definición unificada de lo que a partir de ese momento se denominaría “Síndrome Metabólico”, cuya presencia puede diagnosticarse si el paciente presenta *Diabetes mellitus* Tipo 2 o Resistencia a la Insulina, junto a dos o más de las siguientes alteraciones metabólicas:

- Hipertensión Arterial mayor o igual a 140/90 mmHg
- Dislipidemia: Hipertrigliceridemia mayor a 150 mg/dl o descenso de cHDL (Hombres: 35 mg/dl; mujeres: 39 mg/dl)
- Obesidad central o visceral (Cociente cintura-cadera mayor a 0,90 cm para hombres y mayor a 0,85cm para mujeres) y/o IMC mayor a 30 Kg/m²
- Microalbuminuria (Excreción urinaria de albúmina mayor a 20 µg/min o cociente albúmina/creatinina mayor a 30 mg/g)

Otra de las definiciones dadas al síndrome metabólico, publicada en el año 2001 por ATP III, *The Third Report National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults*, y aprobada recientemente por la Federación Internacional de Diabetes (Alberti *et al.*, 2005; Zimmet *et*



al., 2005) considera que existe este síndrome cuando el paciente presenta tres (3) o más de las siguientes alteraciones:

- Obesidad abdominal: Diámetro de la cintura mayor a 102 cm en hombres y mayor a 88 cm en mujeres
- Hipertrigliceridemia mayor a 150 mg/dl
- cHDL menor a 40 mg/dl en hombres o menor a 50 mg/dl en mujeres
- Presión arterial mayor a 130/85 mmHg
- Glicemia basal mayor a 110 mg/dl

No obstante, sin importar el criterio utilizado, es indiscutible que la resistencia a la insulina juega un rol primordial en la diagnosis del síndrome, y su presencia desencadena la mayoría de las alteraciones metabólicas que lo definen.

Uno de los factores de riesgo que con mayor incidencia acompaña a la resistencia a la insulina, es la HTA. A partir del momento en el que se establece, el paciente puede permanecer asintomático hasta 15 años o presentar síntomas inespecíficos, como cefalea, fatiga y vértigo, frecuentes en normotensos. Después de este período aparecen complicaciones en diversos órganos: Riñón, corazón, encéfalo y vasos periféricos, es este compromiso secundario el causante de la posible muerte del paciente, alrededor de 20 años después de iniciada la hipertensión, junto con las alteraciones fisiológicas inherentes al establecimiento del síndrome metabólico (Schnell *et al.*, 2007).

El tratamiento no farmacológico es la medida inicial básica en la mayoría de los pacientes insulina resistentes, y se basa en los cambios del estilo de vida y dieta, principalmente en la disminución en la ingesta de grasas y aumento de la ingesta de frutas, verduras, cereales, fibras y legumbres (Singer *et al.*, 1995; Appel *et al.*, 1997; Escobar, 2003).



En casos más severos, estos cambios deben estar asociados al tratamiento farmacológico, que incluye el suministro de hipolipemiantes, así como fármacos que disminuyen la resistencia insulínica (Brunzell & Ayyobi, 2003; Giugliano *et al.*, 2008). Dentro de este último grupo, se han desarrollado una serie de fármacos que actúan a diferentes niveles del sistema Renina-Angiotensina, entre los que se destacan los beta-bloqueantes adrenérgicos (ej, Propranolol) que disminuyen la liberación de renina a partir de las células yuxtglomerulares (Hoffman & Lefkowitz, 1996; Pérez *et al.*, 2004).

Adicionalmente, se emplean anti-hipertensivos, diuréticos, alfa-bloqueantes, bloqueadores de los canales de calcio o calcioantagonistas (Fuchs, 1996), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y antagonistas de los receptores de angiotensina II, que difieren en su mecanismo de acción antihipertensiva (Portaluppi & Smolensky, 2000; Smolensky & Haus, 2001).

Según el VI informe del Comité Nacional Conjunto sobre Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial de los EEUU (Join National Committee, 1997), se concluyó que los diuréticos y los beta-bloqueantes son los fármacos de primera línea durante el tratamiento de la hipertensión arterial en pacientes que no presenten contraindicaciones para su uso.

Específicamente los antagonistas de los receptores β -adrenérgicos son drogas que bloquean competitivamente los receptores beta-adrenérgicos en varios órganos y modulan la actividad del sistema nervioso simpático, actuando sobre los receptores β_1 y β_2 adrenérgicos, produciendo antagonismo de distinta magnitud y tipo, dependiendo del fármaco específico utilizado y del tipo de receptor antagonizado (Velasco *et al.*, 2002). Son considerados fármacos de primera línea, por su efectividad probada en la disminución de los síntomas de angina de pecho, así como reducción de la morbimortalidad posterior a un infarto del miocardio (Phillips *et al.*, 2000; Wright, 2000).



Además de ser hipotensores, los beta-bloqueantes funcionan como anti-isquémicos, anti-arritmicos y anti-renínicos, prolongan el tiempo de llenado diastólico, algunos estimulan la formación de óxido nítrico e inhiben la apoptosis por catecolaminas (Packer, 1998).

Algunos antagonistas son utilizados en la miocardiopatía dilatada para mejorar la función sistólica y revertir el remodelamiento cardíaco, probablemente al influir sobre la expresión de genes involucrados en la hipertrofia ventricular y en los fenómenos contráctiles (Bristow *et al.*, 1998; Lowes *et al.*, 2002).

En el corazón, predominan los receptores β_1 adrenérgicos que tienen efecto cronotrópico e inotrópico positivo, en los vasos sanguíneos que irrigan el músculo esquelético predominan los β_2 adrenérgicos con efecto vasodilatador, y en los bronquios los beta-2 con efecto broncodilatador. Estos fármacos beta-bloqueantes actúan por antagonismo competitivo de los receptores beta-adrenérgicos fundamentalmente en el corazón, algunos producen antagonismo selectivo de los receptores β_1 , en tanto que otros, como el Propranolol, muestran un antagonismo no selectivo, otros producen antagonismo de los receptores alfa y beta como el Labetalol (Velasco *et al.*, 2002).

Varios estudios han informado que los beta-bloqueantes producen una mejoría sintomática en pacientes con insuficiencia cardíaca, incremento de la fracción de eyección, disminución de hospitalizaciones, por descompensación y disminución en la mortalidad de pacientes con insuficiencia cardíaca leve a moderada (Packers *et al.*, 1996; Packers & Cotas, 2001).

Según publicación de Hoffman & Lefkowitz (1996), el Propranolol, ha sido clásicamente empleado en la prevención de eventos cardíacos, es un antagonista beta-adrenérgico no selectivo, altamente lipofílico y de rápida absorción, características que le permiten resaltar como uno de los principales componentes farmacológicos en el



tratamiento de angina de pecho, miocardiopatía hipertrófica, arritmias, taquicardias, entre otras alteraciones relacionadas con el crono e inotropismo coronario (Doi *et al.*, 2002; Di Viniero *et al.*, 2003), inclusive en la prevención de complicaciones coronarias peri- y post-operatorias (Bayliff *et al.*, 1999; Wiesbauer *et al.*, 2007; Biccard *et al.*, 2008).

Estudios sobre las propiedades farmacodinámicas *in vitro* de los antagonistas beta-adrenérgicos, Propranolol y Atenolol en ratas, concluyeron que estos fármacos presentan un efecto cronotrópico negativo (Di Verniero *et al.*, 2003). Otros autores demostraron la actividad de agonismo inverso del Atenolol y el Propranolol sobre el efecto inotrópico en el miocardio de ratas y de seres humanos, demostrando que la actividad de los beta-bloqueantes no era uniforme en todo el corazón observándose mayor actividad en la aurícula derecha (Varman *et al.*, 1999; Maack *et al.*, 2001).

A su vez, investigaciones sobre los efectos hemodinámicos de la supresión del Propranolol en ratas determinó que el tratamiento con este fármaco y su posterior eliminación, ocasionó un aumento significativo de la presión arterial sistólica, presión arterial media, presión circulatoria media y la presión venosa central (Chaple *et al.*, 1995), evidenciándose de forma experimental, la múltiple utilidad de estos fármacos.

Dada la importancia clínica del uso del antagonista β -adrenérgico Propranolol, la presente investigación tiene por objetivo conocer los efectos cronotrópico e inotrópico de este fármaco sobre aurículas extraídas de ratas con resistencia a la insulina.



JUSTIFICACIÓN

Las cardiopatías son unos de los principales cuadros clínicos a los cuales se asocia el síndrome metabólico, cuyo componente determinante es la resistencia a la insulina, puesto que engloba una serie de alteraciones que en sí mismas, representan factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Actualmente, es bien conocido que el control de la resistencia a la insulina, mediante los diferentes tipos de tratamientos farmacológicos o no, persigue en última instancia conseguir la reducción de la morbimortalidad cardiovascular, debido a que los altos niveles de insulina relacionados con esta patología, estimula el sistema nervioso simpático, produciendo retención renal de sodio y relacionándose tanto con los niveles de presión arterial como con los factores que contribuyen al incremento del riesgo de eventos cardiovasculares.

Hoy por hoy, en el mercado farmacológico mundial, destacan los antagonistas β -adrenérgicos que actúan con afinidad selectiva sobre los receptores cardíacos β_1 adrenérgicos. Pocos experimentos involucran estudios en órganos aislados, ya que la mayoría abarcan principalmente niveles sistémicos, de aquí la importancia de conocer la acción de esos antagonistas, a niveles específicos sin la influencia endocrina de otros órganos involucrados.

Debido a su importancia clínica, la presente investigación tiene por objetivo, analizar el efecto del Propranolol como antagonista beta-adrenérgico, sobre el cronotropismo e inotropismo auricular en ratas con resistencia a la insulina.



OBJETIVOS

Objetivo General

Analizar el efecto del bloqueador adrenérgico, Propranolol, sobre las aurículas extraídas de ratas con resistencia a la insulina.

Objetivos Específicos

Demostrar a través de análisis de química sanguínea, la condición de resistencia a la insulina en el grupo de animales con inducción dietaria.

Determinar el efecto cronotrópico del Propranolol en aurículas previamente estimuladas con Isoproterenol, extraídas de los animales en las diferentes condiciones de estudio.

Establecer el efecto inotrópico del Propranolol en aurículas previamente estimuladas con Isoproterenol, extraídas de los animales en las diferentes condiciones de estudio.



METODOLOGÍA

Todos los reactivos empleados en la experimentación fueron de la casa comercial Sigma St. Louis, USA, a excepción de los señalados en el texto.

Tipo de Estudio

La investigación realizada fue de tipo experimental in vitro.

Unidades Experimentales

Para la realización de las diferentes experimentaciones se emplearon un total de 10 ejemplares machos de *Rattus norvegicus*, de la cepa Sprague-Dawley, con un peso comprendido entre 300–450 g, provenientes del Bioterio de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oriente. Núcleo Bolívar.

Los animales fueron mantenidos en jaulas metálicas a temperatura ambiente y luz controlada, en donde el agua y la dieta basal, Perrarina (Alimentos Cargill™, Barquisimeto, Edo. Lara), se les suministró *ad libitum*, durante un periodo de aclimatación de una semana, considerando en todo momento los criterios de bioética para la experimentación con animales de laboratorio (AVECAL, 2008).

Establecimiento de los grupos experimentales

a. Grupo control. Dentro de este grupo se incluyeron un total de cinco (5) ratas machos normotensas, de la cepa Sprague-Dawley mantenidas bajo las mismas condiciones de aclimatación descritas anteriormente.



b. Modelo en Ratas de Resistencia a la Insulina, por Inducción Dietaria. Con el objetivo de inducir alteraciones metabólicas en un grupo de cinco (5) ratas machos, se suministró agua de beber con 40% de Fructosa y una dieta rica en materia grasa, por un periodo dietario de ocho (8) meses.

Al finalizar tal periodo, se realizaron determinaciones de glicemia por medio del método Glucosa-Oxidasa (Kit CHEMROY[®] Proced. No CR165), colesterol total por el método Colesterol Oxidasa (Kit Colestat enzimático AA, Wiener Lab.) y triglicéridos a través del método Glicerolfosfatodeshidrogenasa (Kit CHEMROY[®] Proced. No CR312, CR313).

Una vez detectadas las primeras manifestaciones de alteraciones metabólicas y cambios en la presión arterial, se determinó la insulina plasmática por la aplicación del Kit de ELISA 1,3-Ultrasensitive (ALPCO[®] USA). Para ello se separó el plasma de muestras de sangre de los diferentes ejemplares, extraídos en condiciones de ayuno. Finalmente, se procedió a evidenciar el desarrollo o no de resistencia a la insulina, a través de la ecuación descrita en el método de Homeostatic Model Assesment (HOMA):

$$\text{HOMA IR} = \frac{\text{Insulina plasmática en ayunas } (\mu\text{U/ml}) \times \text{Glucosa plasmática en ayunas (mmol/L)}}{22,5}$$

Los valores normales para las ratas se considerarán según lo establecido por Sharp y La Regina (1998).

Contracción in vitro de las Aurículas

Luego de culminar el periodo dietario de ocho (8) meses con Fructosa 40% y con la finalidad de extraer el órgano a estudiar (aurículas), cada ejemplar de *R. norvegicus* se fijó a una tabla de disección en posición decúbito dorsal, previamente anestesiado con



Pentobarbital Sódico (40 mg / kg de peso corporal) inyectado vía intraperitoneal (i.p.). Seguidamente, se le practicó una incisión anterior amplia en el tórax, se extrajo el corazón y fue colocado en una solución de Krebs a 37 °C y pH 7,4; con un suministro de 95% de Oxígeno y 5% de Dióxido de Carbono. Esta solución, está constituida por: NaCl 118mM; KCl 4,8 mM; KH_2PO_4 1,2 mM; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,2 mM; NaHCO_3 2,5 mM; CaCl_2 2,5 mM y glucosa 0,2 %.

Al corazón previamente extraído y mantenido en solución de Krebs, se le extrajeron las aurículas empleando instrumentos de microcirugía y teniendo sumo cuidado en no dañar el seno venoso, o ninguna otra sección del tejido, que comprometa el ritmo de los latidos o provoque un daño permanente.

Seguidamente, fueron colocados en el baño de órganos aislados con solución de Krebs a 37°C y pH 7,4; con un suministro de 95% de Oxígeno y 5% de Dióxido de Carbono; por medio de un soporte especial, unida a éste por la aurícula izquierda y al transductor de fuerza a través de la aurícula derecha (Anexo 1). Se registró la tensión ejercida por cada latido de las aurículas, monitoreando la contractibilidad a través de un amplificador marca Grass® unido al transductor.

Se estableció una curva dosis-respuesta acumulativa control empleando concentraciones crecientes de Isoproterenol (desde $1 \cdot 10^{-9}$ M hasta $1 \cdot 10^{-3}$ M). Seguidamente, se realizaron gradualmente, lavados con Solución de Krebs modificada hasta alcanzar los valores inotrópicos y cronotrópicos basales. Una vez alcanzada esta condición se adicionaron los microlitros necesarios para obtener una concentración de $1 \cdot 10^{-6}$ M de Propranolol en la copa del baño de órganos aislados, repitiendo luego la curva de dosis-respuesta acumulativa de Isoproterenol, lo que permitió registrar dos (2) curvas dosis-respuesta acumulativas: Control y con Propranolol.



Análisis de los Datos

Los datos fueron expresados como media \pm error estándar. Las diferencias entre las medias fueron evaluadas por medio de un t-Student, a un nivel de confiabilidad del 95%, es decir, una significancia de $P < 0,05$.



RESULTADOS

La administración de fructosa y materia grasa (manteca vegetal) en el grupo problema, permitió establecer la condición de Resistencia a la Insulina, como puede observarse en la Tabla 1, en donde se manifiesta la condición de hiperinsulinemia en el grupo con inducción dietaria arrojando una diferencia altamente significativa (ts 0,00***), lo que se corresponde con los altos niveles de glicemia en este grupo de animales ($110,4 \pm 10,46$ ts 0,017*), así como la condición de resistencia a la insulina, según el índice HOMA, el cual debe corresponder con valores por encima de 2,5 para considerar que se padece de esta condición.

De igual forma, se corroboró la condición de hipertensión arterial, estableciéndose diferencias altamente significativas tanto para la presión sistólica (ts 0,00***) como diastólica (ts 0,00***). En contraste, con los valores de triacilglicéridos plasmáticos, en los cuales no se manifestó una diferencia estadística significativa (0,36 ns) (Tabla 1).

**Tabla 1.**

Parámetros de control fisiológico determinados en ambos grupos de estudio (Grupo Control y con Inducción dietaria)

Parámetros de Control Fisiológico	Grupo Control	Grupo con Inducción dietaria	ts
Presión Sistólica (mmHg)	103,60 ± 1,66	151,00 ± 4,98	0,00***
Presión Diastólica (mmHg)	77,80 ± 3,20	111,00 ± 4,10	0,00***
Colesterol total (mg/dL)	63,70 ± 1,10	56,64 ± 2,40	0,04 *
Triacilglicéridos (mg/dL)	90,84 ± 3,15	99,92 ± 3,15	0,36 ns
Glicemia (mg/dL)	65,10 ± 2,15	110,40 ± 10,46	0,017*
Insulina (μU/ml)	46,37 ± 7,32	120, 20 ± 10,46	0,00***
Índice de HOMA	1,90 ± 0,07	4,63 ± 0,04	0,00***

*Estadísticamente significativo $P < 0,05$ *** Altamente significativo $P < 0,001$ ns No significativo

Por su parte, se logró verificar el efecto cronotrópico positivo del Isoproterenol en ambos grupos experimentales, en los cuales no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores basales (Grupo control, $3,53 \pm 0,29$; Grupo problema $4,48 \pm 0,36$; ts 0,1), mas no así en el porcentaje de incremento de los latidos auriculares/seg. (ts 0,00***), lo que implica que las aurículas de las ratas del grupo control fueron más sensibles al efecto del Isoproterenol, en comparación con el grupo experimental.

Asimismo, el bloqueo con Propranolol fue efectivo sólo en las ratas controles, puesto que se establecieron diferencias estadísticas significativas entre la máxima tasa de latidos/seg (ts 0,04*) y el porcentaje de incremento de latidos auriculares por segundo (ts 0,14***) de ambos grupos experimentales (Tabla 2).



Tabla 2.

Efecto Cronotrópico del Propranolol en aurículas extraídas de ambos grupos de estudio
(Grupo Control y con Inducción dietaria)

	Grupo Control	Grupo con Inducción dietaria	<i>ts</i>
<i>Isoproterenol</i>			
Tasa basal de latidos/seg	3,53 ± 0,29	4,48 ± 0,36	0,1 ns
Máx. tasa de latidos/seg	7,94 ± 0,33	6,27 ± 0,43	0,02 *
% Incremento. Latidos/seg	124,93 ± 4,88	39,96 ± 2,82	0,00***
DE50	1.10 ⁻⁷ M	1.10 ⁻⁷ M	
<i>Antagonismo con Propranolol (1.10⁻⁶ M)</i>			
Tasa basal de latidos/seg	2.56 ± 0,19	2,96 ± 0,38	0,43 ns
Máx. tasa de latidos/seg	3,71 ± 0,06	5,00 ± 0,47	0,04*
% Incremento. Latidos/seg	44,92 ± 4,08	68,92 ± 4,16	0,14***
DE50	1.10 ⁻⁷ M	1.10 ⁻⁷ M	

*Estadísticamente significativo $P > 0,05$ *** Altamente significativo $P > 0,001$ ns No significativo

Tanto en las aurículas del grupo control como las ratas del grupo con resistencia a la insulina por inducción dietaria estimuladas con Isoproterenol, experimentaron un efecto cronotrópico positivo a partir de concentraciones de 1.10⁻⁸ M, teniendo el grupo control un efecto más pronunciado, alcanzando 7,94 ± 0,33 pulsaciones auriculares por segundo, en contraposición con el grupo problema (6,27 ± 0,43 pulsaciones auriculares por segundo) (Figura 1).



Figura 1.

Curva dosis-respuesta acumulativa del efecto del Isoproterenol sobre aurículas extraídas de ratas controles (▲) y ratas con resistencia a la insulina por inducción dietaria (●).

El bloqueo con Propranolol (1.10^{-6} M) de las aurículas del grupo control estimuladas con Isoproterenol, fue efectivo, manteniéndose constante hasta alcanzar una concentración de 1.10^{-5} M de esta droga, en contraste con el grupo de ratas insulina-resistentes en las cuales no se produjo el antagonismo de los beta-receptores generándose el efecto cronotrópico positivo, característico del Isoproterenol (Figura 2).

Por otro lado, la fuerza de contracción auricular fue determinada a través del porcentaje de incremento de la contracción auricular con respecto al valor basal, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control bajo la estimulación con Isoproterenol (ts 0,59 ns). En contraste con la condición de antagonismo con Propranolol (1.10^{-6} M), en la cual se estableció una diferencia altamente significativa (ts 0,00***) entre ambos grupos (Figura 3).

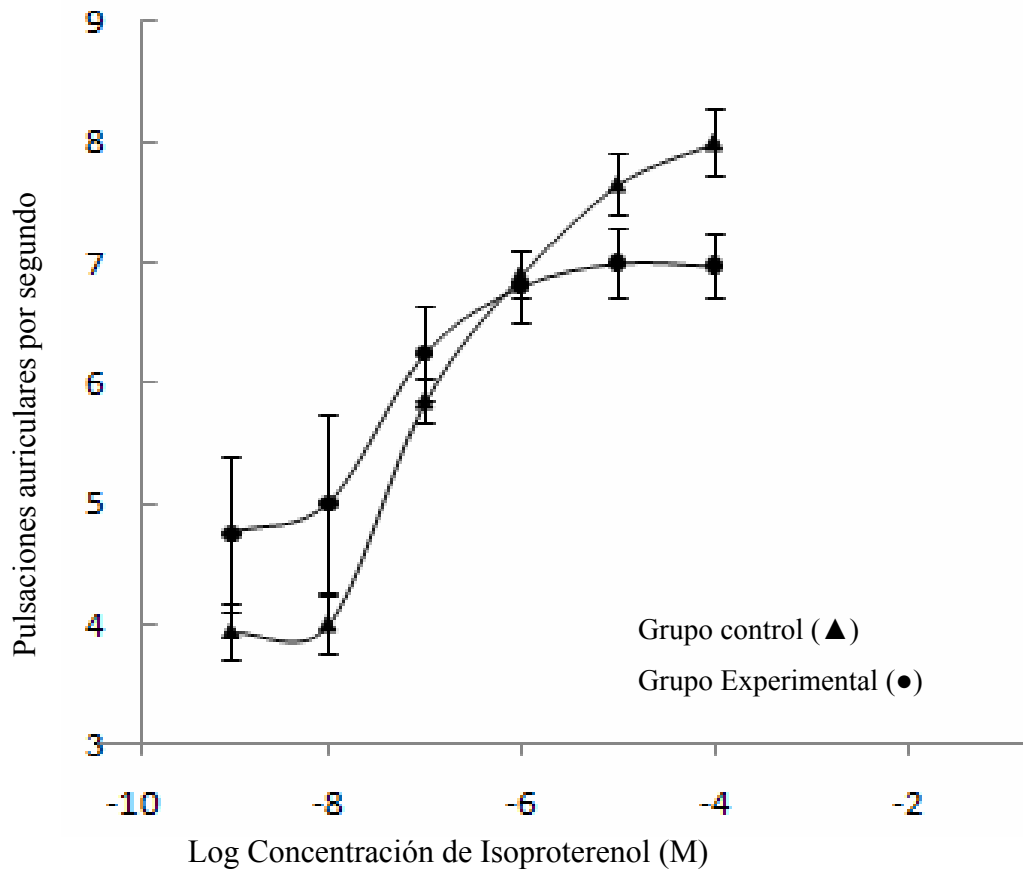


Figura 2.

Curva dosis-respuesta acumulativa del efecto del Isoproterenol sobre aurículas extraídas de ratas controles (\blacktriangle) y ratas con resistencia a la insulina por inducción dietaria (\bullet), previa incubación con Propranolol ($1 \cdot 10^{-6}$ M).

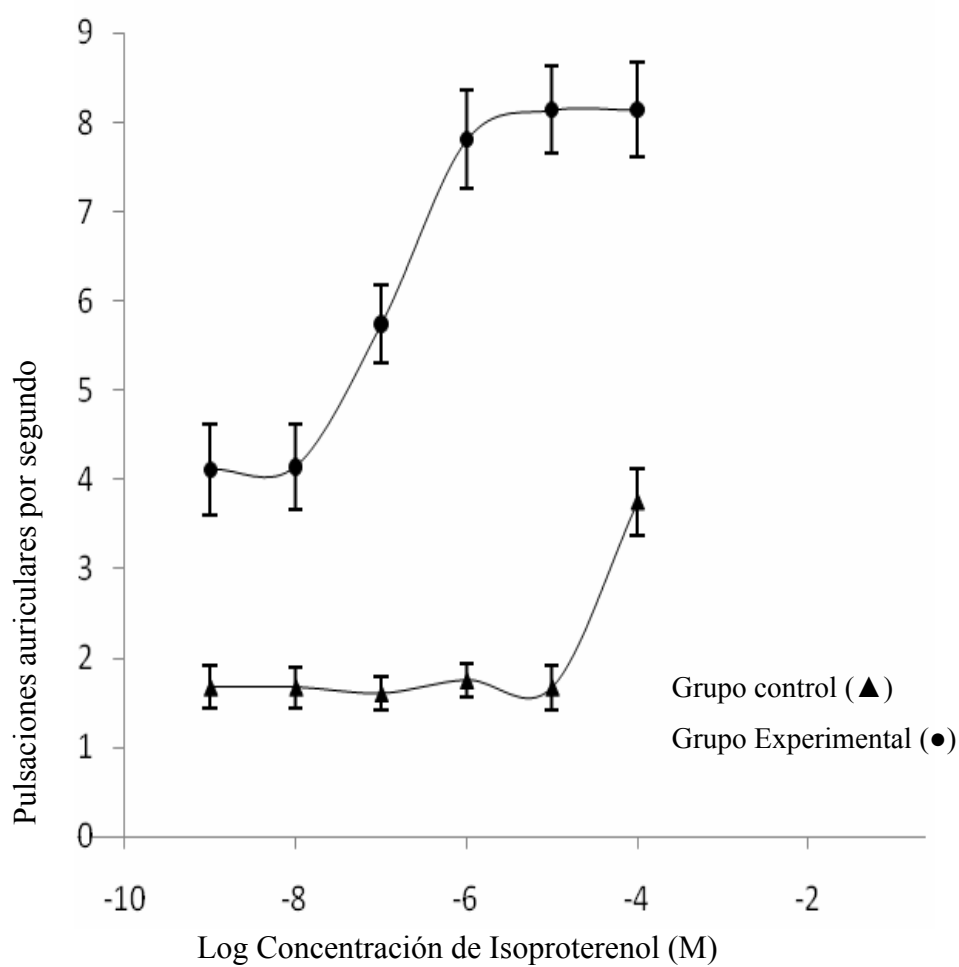
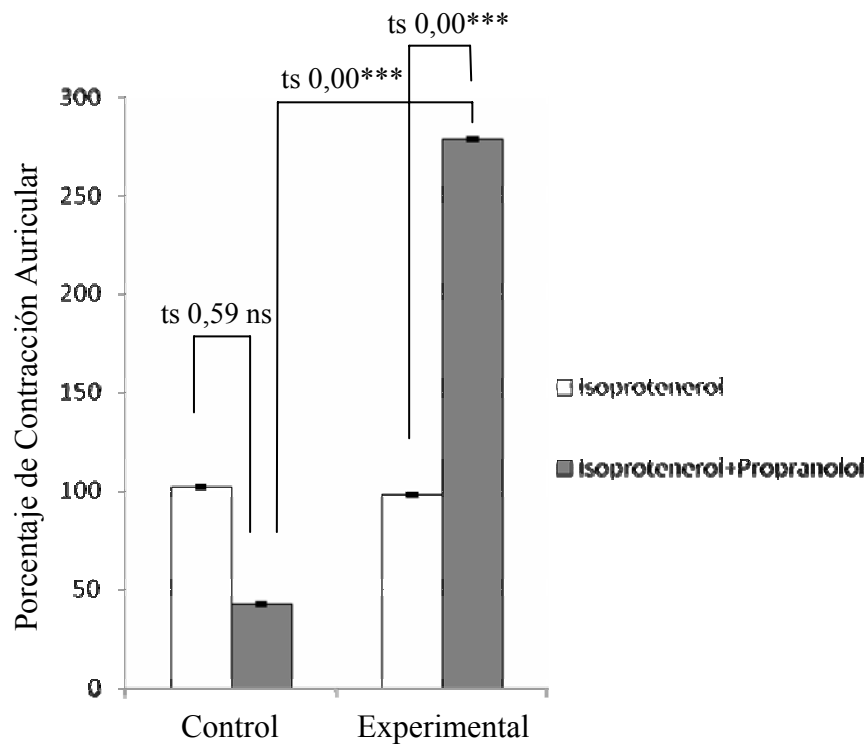


Figura 3.

Efecto inotrópico del Propranolol en aurículas extraídas de ambos grupos de estudio (Grupo Control y con Inducción dietaria).





DISCUSIÓN

El modelo de Resistencia a la Insulina por inducción dietaria ha sido bien establecido experimentalmente a lo largo de los años. En general, consiste en la administración de fructosa en el agua de beber de los animales, lográndose establecer en pocas semanas, la condición de hiperinsulinemia, dislipidemia, obesidad e incremento de la presión arterial sanguínea (Hwang *et al.*, 1987; Elliott *et al.*, 2002; Basciano *et al.*, 2005; Brito *et al.*, 2008; kenndy *et al.*, 2010), condiciones englobadas en el Síndrome metabólico del ser humano (OMS, 1999; ATPIII, 2001).

En contraposición con la presente investigación, diversos estudios han generado diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de triglicéridos de ratas con dieta rica en fructosa y ratas bajo condición control (Hwang *et al.*, 1987; Boreddy & Patil, 2007). Sin embargo, es constante la condición de hiperglicemia, hiperinsulinemia e hipertensión arterial, aspecto común con nuestra data experimental.

Bajo condiciones normales la insulina promueve vasodilatación e incrementa el flujo sanguíneo en el músculo esquelético (Steinberg, & Baron, 2002). Mientras que, en estados de insulina resistencia (IR) así como en la diabetes tipo 2 y obesidad, la vasodilatación endotelio-dependiente mediada por la insulina está seriamente alterada, lo que genera reducción en la asimilación de glucosa por parte del tejido periférico (Schwab *et al.*, 2007).

Además, la hiperinsulinemia en si misma podría ser uno los principales responsables del incremento en la utilización de la glucosa por parte del tejido adiposo blanco, incrementando la síntesis de los lípidos totales con acumulación de grasa en el tejido adiposo e hígado (Cusin *et al.*, 1990; Storlien *et al.*, 2000).



Adicionalmente, el defecto en el metabolismo de la glucosa en la Insulina-Resistencia (IR) y *Diabetes mellitus* tipo 2, está estrechamente asociada con alteraciones en el metabolismo de lípidos, la evidencia experimental indica que uno de los mecanismos más fundamentales en el desarrollo de la IR es el daño en la habilidad del músculo esquelético para oxidar los ácidos grasos como consecuencia de la elevada oxidación de la glucosa bajo las condiciones de hiperglicemia e hiperinsulinemia (Cahova *et al.*, 2007).

En estudios experimentales se ha demostrado, que los trastornos metabólicos asociados a la *Diabetes mellitus*, como el estado de IR, hiperglicemia y alteración del transporte de lípidos, alteran directamente la estructura y función cardíaca que favorecen el desarrollo de la miocardiopatía diabética (Liu *et al.*, 2001; Frye *et al.*, 2009).

Esto reafirma la asociación entre IR, hiperinsulinemia y activación del sistema nervioso simpático, dado que la sobre-estimulación del mismo lleva a un aumento en el número de receptores beta a nivel del miocardio, produciendo hipertrofia del miocito y apoptosis del mismo con fibrosis intersticial y reducción de la función contráctil, lo que sugiere que la exposición crónica a un tono simpático moderadamente elevado condicionaría a través del tiempo, la aparición de los cambios hemodinámicos y/o morfológicos observados en el corazón de los pacientes con IR (Shizukuda, 1998; Remodino, 2003; Colmenares *et al.*, 2006).

Varios estudios han demostrado que los adrenoreceptores β_1 y β_2 coexisten en el tejido coronario humano y su estimulación produce efectos inotrópicos positivos en preparaciones auriculares (Boreddy & Patil, 2007) y ventriculares humanas (Port & Bristow, 2001).

Particularmente, las ratas controles del presente estudio, registraron una mayor respuesta al Isoproterenol, reflejado en un aumento de los latidos auriculares, en comparación con la condición experimental, adicionalmente, el Propranolol no generó un



efecto antagónico parcial o total en este último grupo, lo que se corresponde con varias investigaciones, en las que se sostiene que bajo condiciones de hipertensión, resistencia a la insulina (Yamada *et al.*, 1980) e insuficiencia cardíaca (Tacchi, 2008), el número total de estos receptores están disminuidos y hasta desensibilizados, por ende es lógico esperar una respuesta menos potente en las ratas Insulina-Resistentes.

Diversas investigaciones sostienen que es más relevante la desensibilización de los receptores β -adrenérgicos que la densidad de los mismos, puesto que pareciera implicar alteraciones en la transducción de señales (Michael *et al.*, 1990; Tacchi, 2008). En este sentido, es aceptado que en la insuficiencia cardíaca humana los receptores β 1-adrenérgicos están disminuidos y desacoplados del sistema efector adenil ciclasa; que la cantidad y la actividad de la proteína G_i está aumentada, al igual que la cantidad y actividad de la proteína G acopladas al receptor kinasa (GRK) (Wang & Dhalla, 2000; Port & Bristow, 2001).

Sosteniendo la teoría de que la desensibilización de los receptores β -adrenérgicos es determinante en la disminución del efecto agonista del Isoproterenol en ratas Insulina-Resistentes, es conocido que la insuficiencia cardíaca humana está caracterizada por extensas anormalidades del sistema receptor beta adrenérgico, incluyendo su *down-regulation*, es decir, la reducción del número de estos receptores accesibles a los ligandos o, en otras palabras, la pérdida neta de los receptores desde las células, por una disminución de la síntesis del receptor o un aumento en la degradación del receptor, y la desensibilización de los mismos, lo que se traduce en una respuesta disminuida a la estimulación catecolamínica de los receptores restantes o un estado de sensibilidad reducida a la estimulación de los agonistas, a pesar de que continúa la estimulación de los mismos (Castellano & Michael, 1997; Leineweber *et al.*, 2002; Tacchi, 2008).

En este orden de ideas, en la presente investigación la respuesta inotrópica positiva del Isoproterenol en las ratas IR fue menor que la alcanzada por las ratas bajo condiciones



controles, datos encontrados en investigaciones afines, en las cuales la respuesta cronotrópica mediada por los receptores β_1 -adrenérgicos, principal responsable del efecto cardíaco de las catecolaminas, fue menor en las aurículas extraídas de ratas diabéticas (Altan *et al.*, 2007).

Vale acotar, que en modelos animales, el uso de agonistas que inducen efectos crono e inotrópicos resistentes al antagonismo de adrenorreceptores β_1 y β_2 convencionales, ha sugerido la existencia de un tercer beta-adrenorreceptor, que ha sido designado como beta-adrenorreceptor atípico, una de las investigaciones pioneras que así lo demuestra, fue la realizada por Kaumann (1989). Sin embargo, este agonista parcial no tiene efecto en el inotropismo del corazón humano (Kaumann & Lobnig, 1986; Krief *et al.*, 1993; Berkowitz *et al.*, 1995; Skeberdis *et al.*, 2008).

Esta observación responde al hecho de que la acción de agonista sobre los receptores β_3 , es contraria a los subtipos β_1 y β_2 , puesto que media un efecto inotrópico negativo en el músculo ventricular humano bajo condiciones de diabetes (Altan *et al.*, 2007), así como en falla cardíaca (Gauthier *et al.*, 1996). En la diabetes experimental, los receptores β_3 se encuentran sobre-regulados (Lipworth, 1996; Rozec & Gauthier, 2005; Altan *et al.*, 2007).

Finalmente vale acotar, que estas observaciones abren una brecha para futuras investigaciones que busquen corroborar la acción de los receptores β -adrenérgicos en el tejido cardíaco, como principal consecuencia de su un rol trascendental en las fisiopatología de las enfermedades cardíacas inducidas por la diabetes.



CONCLUSIONES

El grupo de ratas con inducción dietaria estableció la condición de Resistencia a la Insulina, luego de un periodo dietario de 8 meses con Fructosa en la bebida, demostrado bajo las condiciones de hiperinsulinemia, hiperglicemia e hipertensión arterial.

El Propranolol presentó un efecto cronotrópico negativo en el grupo bajo condiciones controles mas no así en las ratas insulina-resistentes, en las cuales el Isoproterenol desencadenó el efecto agonista correspondiente sobre los receptores β -adrenérgicos, estableciéndose diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de incremento de los latidos por segundo de ambos grupos experimentales, bajo el efecto antagonista de esta droga.

La máxima fuerza de contracción auricular alcanzada por el grupo con Insulina-Resistencia, una vez efectuado el antagonismo con Propranolol, generó diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo control, evidenciándose una vez más que el Propranolol no generó un bloqueo sobre los receptores β -adrenérgicos auriculares.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberti, K., Zimney, P. & Shaw, J. 2005. For the IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome a new worldwide definition. *Lancet*. 366: 1059-1062.
- Altan, V., Arioglu, E., Guner, S. & Ozcelikay, A. 2007. The influence of diabetes on cardiac β -adrenoceptor subtypes. *Heart failure reviews*. 12 (1):58-65.
- Appel, L., Moore, T., Obarzanek, E., Vollmer, W., Svetkey, L., Sacks, F. *et al.* 1997. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Study Group. *New Engl. J. Med.* 336: 1117-1124.
- ATP III (Adult Treatment Panel III). 2001. Panel de expertos sobre detección, evaluación, y Tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos. Tercer informe de The National Cholesterol Education Program (NCEP). *JAMA*. 285: 2486-2497.
- AVECAL (Asociación Venezolana para la Ciencia de los Animales de Laboratorio). 2008. Manual para la producción y uso ético de los animales de laboratorio. Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y la Tecnología. Caracas, Venezuela. pp 93.
- Avogaro, P., Crepaldi, G., Enzi, G. & Tiengo, A. 1967. Associazione di iperlipidemia, diabete mellito e obesità di medio grado. *Acta Diabetol. Lat.* 4: 36-41.
- Basciano, H., Federico, L. & Adeli, K. 2005. Fructose, insulina resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism*. 2:1-14. [En línea]. Disponible: <http://www.nutritionandmetabolism.com/content/2/1/5> [Enero, 2010].



- Bayliff, C., Massel, D., Inculet, R., Malthaner, R., Quinton, S., Powell, F. & Kennedy, R. 1999. Propranolol for the prevention of postoperative arrhythmias in general thoracic surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 67(1): 182-186.
- Berkowitz, D., Nardone, N., Smiley, R., Price, D., Kreutter, D., Fremeau, R. *et al.* 1995. Distribution of β_3 -adrenoceptor mRNA in human tissues. *Eur. J. Pharmacol.* 289:223-228.
- Biccard, B., Sear, J. & Foës, P. 2008. Meta.analysis of the effects of heart rate achieved by perioperative beta-adrenergic blockade on cardiovascular outcomes. *Br. J. Anaesth.* 100(1): 23-28.
- Boreddy, T. & Patill, B. 2007. Insulin resistance and changes in chronotropic responses to adrenergic and cholinergic agonists in isolated rat atria. *Indian J. Pharmacol.* 39(2): 80-86.
- Bristow, M., Roden, R., Lowes, B., Gilbert, E. & Eichhorn, E. 1998. The role of third-generation beta-blocking agents in chronic heart failure. *Clin. Cardiol.* 21:13-17.
- Brito, J., Ponciano, K., Figueria, D., Bernardes, N., Sanchez, I. & Irigoyen, M. *et al.* 2008. parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose fed female rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 41: 804-808.
- Brodde, O.1993. β -adrenoceptors in cardiac disease. *Pharmacol. & Ther.* 60:405–430.
- Brunzell, J. & Ayyobi, A. 2003. Dyslipidemia in the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Medicine.* 115(8): s24-s28.



- Castellano, M., & Michael, Bohm. 1997. The cardiac β - adrenoceptor mediated signalling pathway and its alterations in hypertensive heart disease. *Hypertension*. 29:715-722.
- Chaple, M., Gutiérrez, E., Aldama, W., Castillo, J., Fox, M. & Barber, M. 1995. Efectos hemodinámicos de la supresión del propranolol en ratas. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 15(2): 22-28.
- Cohová, M., Vavrinková, H. & Kazdová, L. 2007. Glucose fatty acid interaction in skeletal muscle and adipose tissue in insulin resistance. *Physiol. Res.* 56: 1-15.
- Colmenares, J., Gómez-Pérez, R., Odreman, R., Valeri, L., Villarroel, V., Nuñez, T. *et al.* 2006. Cambios hemodinámicos precoces en pacientes con resistencia insulínica. *Rev. Venez. Endocrinol. Metab.* 4 (2): 22-29.
- Cusin, I., Terrettaz, J., Rohner, Jeanrenaud., F. & Jeanrenaud, B. 1990. Metabolic consequences of hyperinsulinaemia imposed on normal rats on glucose handling by white adipose tissue muscles and liver. *Biochem. J.* 267: 99-103
- Di Viniero, C., Hocht, C., Opezzo J. & Taira, C. 2003. Propiedades farmacodinámicas *in vitro* de los bloqueantes β -adrenérgicos propranolol y atenolol en ratas con coartación aórtica. *Rev. Argent. Cardiol.* 71(1): 339-343.
- Doi, M., Yano, M., Kobayashi, S., Kohno, M., Tokuhisa, T., Okuda, S. *et al.* 2002. Propranolol prevents the development of heart failure by restoring FKBP12.6-mediated stabilization of ryanodine receptor. *Circulation.* 105(1): 1374-1379.
- Dustan, H., Roccella, E. & Garrison, H. 1996. Controlling hypertension: A research success story. *Arch. Intern. Med.* 156(17): 1926-1935.



- Elliott, S., Kein, N., Stern, J., Teff, K. & Havel, P. 2002. Fructose, weight gain and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* 76: 911-912.
- Escobar, E. 2003. Prevención de enfermedades cardiovasculares en Latinoamérica. Departamento de Medicina. Universidad Santiago de Chile. 1: 1-5. [En línea]. Disponible: <http://www.fac.org.ar/scvc/llave/PDF/escobare.PDF> [Noviembre, 2009].
- Ford, E., Giles, W. & Dietz, W. 2002. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 287: 359-369.
- Frye, M., McMurtry, I., Orton, E. & Fagan, K. 2009. Use of Fat-Fed Rats to Study the Metabolic and Vascular Sequelae of Obesity and β -Adrenergic Antagonism. 59(3): 242-248
- Fuchs, J. 1996. Controversias en el uso de los bloqueadores de los canales de calcio en el tratamiento de la hipertensión arterial *Rev. Cost. de Ciencias Médicas.* 17(4): 55 - 58.
- Gauthier, C., Tavernier, G., Charpentier, F., Langin, D., & Le Marec, H. 1996. Functional β 3-Adrenoceptor in the Human Heart. *J. Clin. Invest.* 98(2)556-562
- Giugliano, D., Ceriello, A. & Esposito, K. 2008. Are the specific treatments for the metabolic syndrome?. *Am. J. Clin. Nutr.* 87: 8-11.
- Grima, A., León, M. & Ordoñez, B. 2005. El síndrome metabólico como factor de riesgo cardiovascular. *Rev. Esp. Cardiol. Supl.* 5: 16D-20D.



- Hernández, R., Armas, M., Armas, M., 2004. Prevalencia de la hipertensión en Latinoamérica. *Boletín Médico de Postgrado*. 20(4): 4-5.
- Hoffman, B. & Lefkowitz R. 1996. Catecholamines, sympathomimetic drugs and adrenergic receptor antagonists. In: Hardman J., Limbird L., Molinoff P., Ruddon R. & Goodman A. (editors). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 19th ed. Interamericana Mc Graw-Hill. New York. Chapter 10: 119-248.
- Hwang, S., Ho, H., Hoffman, B. & Reaven, G. 1987. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension. Journal of the American Heart Association*. 7(10): 512-516.
- Joint National Committee. 1997. The sixth Report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch. Intern. Med.* 157(1): 2413-2446.
- Kaumann, A. 1989. Is there a third heart b-adrenoceptor? *Trends. Pharmacol. Sci.* 10:316-320.
- Kaumann, J. & Lobnig, M. 1986. Mode of action of (2) pindolol on feline and human myocardium. *Br. J. Pharmacol.* 89: 207-218.
- Kennedy, A., Ellacott, K., King, V. & Hasty, A. 2010. Mouse models of the metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanism*. 3: 156-166.
- Krief, S., F. Lönnqvist, S. Raimbault, B. Baude, A. Van Spronsen, P. Arner, A.D. Strosberg, D. Ricquier, and L.J. Emorine. 1993. Tissue distribution Of b3-adrenoceptor receptor mrna in man. *J. Clin. Invest.* 91:344-349.



- Leineweber, K., Heinroth-Hoffmann, I., Ponicke, K., Abraham, G., Osten, B. & Brodde, O. 2002. Cardiac β Adrenoceptor Desensitization Due to Increased β Adrenoceptor Kinase Activity in Chronic Uremia. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13: 117-124.
- Liu, J., Palmieri, V., Roman, M., Bella, J., Fabsitz, R. & Howard, B. 2001. The impact of diabetes on left ventricular filling pattern in normotensive and hypertensive adults: the strong heart study. *Journal of the American College of Cardiology.* 37(7): 1943-1949.
- Lipworth, B. 1996. Clinical pharmacology of β_3 -adrenoceptors. *Br j. Clin. Pharmacol.* 42: 291-300.
- Lowes, B., Gilbert, E., Abraham, W., Minobe, W., Larrabee, P., Ferguson, D., *et al.* 2002. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with betablocking agents. *N. Engl. J. Med.* 346: 1357-1365.
- Maack, C., Tyroller, S., Schnabel, P., Cremers, B., Dabew, E., Sudkamp, M. & Böhm, M. 2001. Characterization of beta (1)- selectivity adrenoceptor-G(s)- protein interaction and inverse agonism of nebivolol in human myocardium. *Br. J. Pharmacol.* 132: 1817-1826.
- M., Michel, Brodde, O. & Insel, P. 1990. Peripheral adrenergic receptors in hypertension. *Hypertension.* 16 :107-120.
- Menotti, A., Keys, A., Blackburn, H., Kromhout, D., Karvonen, M., Nissinen, A., *et al.* 1996. Comparison of multivariate predictive power of major risk factors for coronary heart disease in different countries: results from eight nations of the Seven Countries Study, 25 year follow up. *J. Cardiovasc. Risk.* 3(1): 69-75.



- Ministerio del Poder Popular para la Salud y Desarrollo Social. 2006. [En línea]. Información. Estadísticas. Disponible: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Index.htm [Enero, 2010].
- Ministerio del Poder Popular para la Salud y Desarrollo Social. 2007. Guía práctica de salud para Barrio Adentro I. Salud Cardiovascular renal y endocrinología, Caracas. 1(1): 33-44.
- Murray, C. & López, A. 1997. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. Lancet. 349(1):1498-504.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 1999. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report WHO Consultation/NCD/NCS. 2: 31-33.
- Organización Panamericana de Salud. 2004. Informe, Venezuela. pp 10. [En línea]. Disponible: http://www.ops-oms.org/default_spa.htm [Enero, 2010].
- Packers, M., Bristol, M., Cohn, J., Colucci, W., Fowler, M., Gilbert, E. & Shusterman, N. 1996. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. NEJM. 334(1): 1349-1355.
- Packers, M. & Cotas, A. 2001. A trial of the beta-blocker Bucindol in patients with advanced chronic heart failure. 344(1): 1659-1667.
- Packer, M. 1998. Beta-blockade in heart failure. Basic concepts and clinical results. Am. J. Hypertens. 11: 23-37.



- Phillips, K., Shlipak, M., Coxson, P. & Heidenreich, P. 2000. Health and economic benefits of increased beta blockers use following myocardial infarction. *JAMA*. 284(1): 278-2754.
- Pérez, G., García, H., Reyes, L. & LLanes, M. 2004. Nuevas consideraciones sobre aspectos clásicos del uso de los beta- bloqueadores en la hipertensión arterial. *Mapfre Medicina*. 15: 141-147.
- Portaluppi, F. & Smolensky, M. 2000. Circadian rhythm and environmental determinants of blood pressure regulation in normal and hypertensive conditions. En: White WB, ed. *Blood Pressure Monitoring in Cardiovascular Medicine and Therapeutics*. Totowa. NJ: Humana Press. 1(1): 79-118.
- Port, J. & Bristow, M. 2001. Altered Beta-adrenergic Receptor Gene Regulation and Signaling in Chronic Heart Failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 33(5): 887-905.
- Reaven, G. 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 37(12): 1595-1607.
- Reaven, G. 2002. Metabolic syndrome: Pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation*. 106: 286-288.
- Remondino, A., Kwon, S., Communal, C., Pimentel, D., Sawyer, D., Singh, K. *et al.* 2003. β -Adrenergic Receptor–Stimulated Apoptosis in Cardiac Myocytes Is Mediated by Reactive Oxygen Species/c-Jun NH 2-Terminal Kinase–Dependent Activation of the Mitochondrial Pathway. 92:136-138



- Rozec, B. & Chantal, Gauthier. 2006. β 3-Adrenoceptors in the cardiovascular system: Putative roles in human pathologies. *Pharmacology & Therapeutics*. 111(3):652-673.
- Rodgers, A. & MacMahon, S. 1999. Blood pressure and the global burden of cardiovascular disease. *Clin. Exp. Hypertens* 21(1): 543-552.
- Sarafidis, P. 2008. Obesity, insulin resistance and kidney disease risk: Insights into the relationship. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens*. 17: 450-456.
- Schwab, M., Bloch, J., Duplain, H., Sartori, C. & Scherrer. 2007. Defecto en la homeostasis del oxido nítrico. Mecanismo común subyacente de la insulino-resistencia, la hiperactividad simpática y la morbi-mortalidad cardiovascular. *Medicina*. 67: 243 - 250.
- Sharp, P. & La Regina, M. 1998. *The Laboratory rat*. First edition. CRC Press. Washington D.C, United State. PP 204.
- Steinberg, H. & Baron, A. 2002. Vascular function, insulin resistance and fatty acids. *Diabetología*. 45: 623 – 634.
- Savage, D., Petersen, K. & Shulman, G. 2005. Mechanisms of insulin resistance in humans and possible links with inflammation. *Hypertension*. 45: 828-833.
- Schnell, M., Dominguez, Z. & Carrera, C. 2007. Aspectos genéticos, clínicos y fisiopatológicos del Síndrome Metabólico. *An. Venez. Nutr.* 20(2): 92-98.



- Shizukuda, Y., Buttrick, P., Geenen, D., Borczuk, A., Kitsis, R. & Sonnenblick, E. 1998. β -Adrenergic stimulation causes cardiocyte apoptosis: influence of tachycardia and hypertrophy. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 275: 961-968.
- Singer, D., Markandu, N., Cappuccio, F., Miller, M., Sagnella, G. & MacGregor, G. 1995. Reduction of salt intake during converting enzyme inhibitor treatment compared with addition of a thiazide Hypertension. 25(1): 1042-1044.
- Skeberdis, A., Gendvilienė V., Zablockaitė, D., Treinys, R., Mačianskienė, R., Bogdelis, A., Jurevičius, J. & Fischmeister, R. 2008. β_3 -adrenergic receptor activation increases human atrial tissue contractility and stimulates the L-type Ca^{2+} current. *Clin. Invest.* 118(9): 3219–3227.
- Smolensky, M. & Haus, E. 2001. Circadian rhythms in clinical medicine with applications to hyper-tension. *Am. J. Hypertens.* 14: s280-s290.
- Steinberg, H. & Baron, A. 2002. Vascular function insulin resistance and fatty acids. *Diabetologia.* 45:623–634.
- Storlien, L., Higgins, J., Thomas, T., Brown, M., Wang, H., Huang, X. & Else, P. 2000. Diet composition and insulin action in animal models. *British Journal of Nutrition.* 83(1): S85-S90.
- Tacchi, H. 2008. Receptores beta adrenérgicos e insuficiencia cardíaca. *Ciencias Básicas en Insuficiencia Cardíaca.* 3 (2):96-99.
- Takayama, S., Furukawa, Y., Ren, L., Inoue, Y., Sawaki, S. & Chiba, S. 1993. Positive chronotropic and inotropic responses to BRL 37344, a β_3 -adrenoceptor agonist in isolated, blood-perfused dog atria. *Eur. J. Pharmacol.* 231:315–321



- Tavernier, G., Galitzky, J., Bousquet-Melou, A., Montastruc, J. & Berlan, M. 1992. The positive chronotropic effect induced by BRL 37344 and CGP12177, two beta-3 adrenoceptor agonists, does not involve cardiac beta adrenoceptors but baroreflex mechanisms. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 263:1083–1090.
- Varman, D., Shen, H., Deng, X., Peri, K., Chemtob, S. & Mulay, S. 1999. Inverse agonist activities of β - adrenoceptor antagonists in rat myocardium. *Br. J. Pharmacol.* 127: 895-902.
- Velasco, M., Romero, B., Betancourt, M., Suarez, N. & Contreras, F. 2002. Uso de los Antagonistas Beta-Adrenérgicos en la Hipertensión Arterial. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica.* 21(2): 1-5.
- Wang, X. & Dhalla, N. 2000. Modification of β -adrenoceptor signal transduction pathway by genetic manipulation and heart failure. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 214(1):331-155.
- Wheeldon, N., McDevitt. D., Lipworth., B. 1993. Investigation of putative cardiac β_3 adrenoceptors in man. *Q. J. Med.* 86:255–261.
- Wheeldon, N., McDevitt. D., Lipworth., 1994. Cardiac effects of the β_3 -adrenoceptor agonist BRL 35135 in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 37:363–369.
- Wiesbauer, F., Schlager O., Domanovits, H., Wildner B., Maurer G., Muellner M., Blessberger, H. & Schillinger, M. 2007. Perioperative β -blockers for preventing surgery-mortality and morbidity: A systemic review and meta-analysis. *Anesthesia & Analgesia.* 101(1): 27-41.



WHO (World Health Organization). 2002. Reducing risks, promoting healthy life. Geneva World Health Organization. The World Health Report. pp 58.

WHO (World Health Organization). 2003. WHO Global InfoBase. Venezuela (Bolivarian Republic of). [En línea]. Disponible: <https://apps.who.int/infobase/report.aspx?rid=111&iso=VEN> [Enero, 2010].

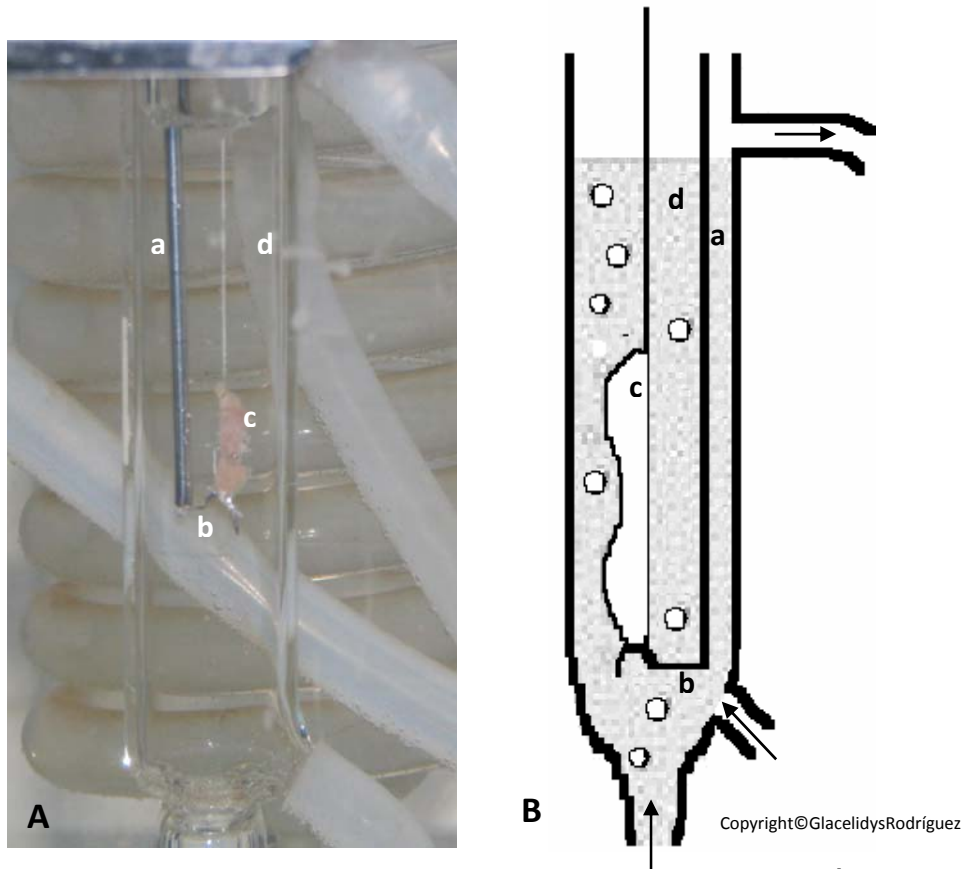
Wright, J. 2000. Choosing a first-line drug in the management of elevated blood pressure: What is the evidence? 2: β -Blockers. CMAJ. 163(2): 188-192.

Yamada, S., Yamamura, H., & Roeske, W. 1980. Alterations in central and peripheral adrenergic receptor in deoxycorticosterone salt hypertensive rats. Life Sci. 27: 2405-2416.

Zimmet, P., Alberti, G. & Serrano, M. 2005. Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: fundamento y resultados. Rev Esp Cardiol. 58(12): 1371-1376.



ANEXOS



Anexo 1. Montaje de las aurículas de *R. norvegicus* dentro del Baño de Órganos Aislados LETICA® *in situ* (A) y esquematizado (B). a. Varilla de sujeción. b. Gancho de la varilla de sujeción a la cual va unida la aurícula izquierda. c. Aurícula derecha unida al transductor de señal a su vez conectado al Polígrafo Grass®. d. Copa de tejido con solución de Krebs.



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	Efecto del propranolol sobre aurículas extraídas de ratas con insulina-resistencia
SUBTÍTULO	

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CULAC / E MAIL
Bonaldy B., Lizet C.	CVLAC: 17.748.420 E MAIL: lizetbonaldy@hotmail.com
Contino L., Neila D.	CVLAC: 17.383.859 E MAIL: ney7859@hotmail.com
	CVLAC: E MAIL:
	CVLAC: E MAIL:

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Receptor Beta adrenérgico, Propranolol, Resistencia a la Insulina, Aurículas.



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÁREA	SUBÁREA
Ciencias Fisiológicas	Farmacología

RESUMEN (ABSTRACT):

La Insulina-Resistencia (IR) es una deficiencia metabólica asociada con Diabetes tipo 2 y más recientemente a enfermedades cardiovasculares, siendo el factor determinante del síndrome metabólico. Dada la importancia clínica del Propranolol, la investigación pretende conocer el efecto crono e inotrópico de este fármaco sobre aurículas extraídas de ratas IR. Un total de 5 ratas Sprague-Dawley, divididas en dos grupos: Control alimentado ad libitum con perrarina, y otro alimentado con perrarina-manteca vegetal, y suministro de agua con Fructosa 40% durante 8 meses. Al finalizar el periodo dietario, se verificó la Insulina-Resistencia y las aurículas extraídas de los animales se mantuvieron en solución Krebs a 37°C, pH 7,4; 95% O₂, 5% CO₂, en un baño de Órganos Aislados marca Letica®, conectado a un transductor y amplificador dentro del Polígrafo marca Grass®, registrándose la frecuencia de los latidos y evaluando las diferencias entre las medias poblacionales a través del t-students. Se establecieron curvas dosis-respuesta acumulativas (desde 1.10-9 M hasta 1.10-3 M) con Isoproterenol y previa incubación de 15 minutos con Propranolol (1.10-6 M), el cual generó un efecto cronotrópico negativo en el grupo control mas no así en las ratas IR, en donde el Isoprotenerol desencadenó el efecto agonista sobre los β-receptores, estableciéndose diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de incremento de los latidos/seg. en ambos grupos, bajo el efecto antagonista del Propranolol (Control 58,81±4,08; IR 68,84±4,16; ts 0,16***). La máxima fuerza de contracción auricular alcanzada por el grupo IR (278,47±11,22), previo bloqueo con Propranolol, generó diferencias estadísticamente significativas (ts 0,00***), en comparación con el grupo control (42,60±3,13), evidenciándose que el Propranolol no generó bloqueo sobre los receptores beta-adrenérgicos auriculares de las ratas Insulina-resistentes.



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU X	JU
Glacelidys, Rodriguez	ROL	CA	AS	TU X	JU
	CVLAC:	14.285.138			
	E_MAIL	glacelidys@gmail.com			
	E_MAIL				
Centeno, Israel	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	8.640.461			
	E_MAIL	israel.centeno@gmail.com			
	E_MAIL				
Gonzalvez, Marisa	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	4.986.528			
	E_MAIL	marisaucho@hotmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

AÑO	MES	DÍA
2010	07	27

LENGUAJE. SPA



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis Efecto del propranolol sobre aurículas extraídas de ratas con insulina-resistencia.doc	MS.word

ALCANCE

ESPACIAL: Laboratorio de Farmacología y Neurociencias Cardiovascular
Escuela Ciencias de la Salud – Ciudad Bolívar

TEMPORAL: 10 años

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Licenciatura en Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO:

Ciencias Fisiológicas

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

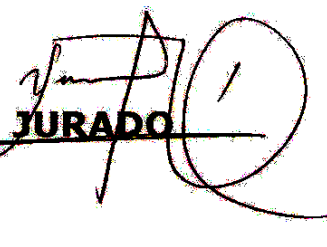
De acuerdo al artículo 44 del reglamento de trabajos de grados.
“Los trabajos de grados son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizados a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participara al consejo universitario”.


AUTOR


AUTOR


TUTOR


JURADO


JURADO

POR LA SUBCOMISION DE TESIS