



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores  
Cuautitlán

“EFECTO DE LA TESTOSTERONA EN LAS LESIONES TIPO  
INFARTO DEL MIOCARDIO INDUCIDAS CON ISOPROTERENOL,  
EN RATAS WISTAR”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A

CESAR IVAN MARTINEZ VELASCO

ASESORES:

Q.F.I. GUADALUPE KOIZUMI CASTRO  
DR EN C. GUILLERMO CEBALLOS REYES

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2005

m. 344944



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



VEREDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN**  
**UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR**  
**DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de  
Exámenes Profesionales

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Efecto de la Testosterona en las Lesiones Tipo Infarto del Miocardio Inducidas  
con Isoproterenol en Ratas Wistar".

que presenta el pasante: César Iván Martínez Velasco  
con número de cuenta: 9555735-1 para obtener el título de :  
Químico Farmacéutico biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**A T E N T A M E N T E**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de Octubre de 2004.

PRESIDENTE	M.C. Luisa Martínez Aguilar	
VOCAL	QFB. Martha Patricia Campos Peón	
SECRETARIO	OFI. Ma. Guadalupe Koizumi Castro	
PRIMER SUPLENTE	OFE. Gabriela Escalante Reynoso	
SEGUNDO SUPLENTE	MFC. Cecilia Hernández Barba	

ESTA TESIS SE DESARROLLO EN EL LABORATORIO  
MULTIDISCIPLINARIO, AREA DE BIOQUIMICA  
DE LA SECCION DE GRADUADOS  
DE LA ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA, DEL  
INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
BAJO LA DIRECCION DE:

Q.F.I. GUADALUPE KOIZUMI CASTRO

Y

DR EN C. GUILLERMO MANUEL CEBALLOS REYES

## **Agradecimientos**

A mis padres, ya que sin su apoyo nada de esto hubiera sido posible, por su inmenso cariño y comprensión. Esto en gran parte es su trabajo.

A Vero por todo su apoyo, comprensión y cariño en todos los momentos, por estar siempre conmigo y apoyarme en mis sueños y locuras. GRACIAS por todo este tiempo a mi lado ( y el que falta)..

A mis asesores Q.F.I. Guadalupe Koizumi y Dr. En C. Guillermo Ceballos, por toda su paciencia, apoyo y dedicación que le dedicaron a esta tesis, ya que sin ellos, este trabajo no hubiera sido posible, pero sobre todo por su amistad y apoyo.

A Gustavo, Iván, Ramón, Fer, Gaby, Oskar, Alfredo y muy en especial a la Sra. Maria Elena, por su amistad y por que me hicieron sentir como en casa durante el tiempo que realice la tesis en el laboratorio de graduados del IPN.

Al último y no por ello menos importante a mis compañeros y amigos de la carrera Q.F.B. 22: Alejandro (niño), Yuriko, Oscar, Pepe, Vero, Blanca, Ere, Carlos V., Carlos S., Norita, Cheli, Rosa, Flor, Moy, César, Osvaldo, por todos los grandes momentos que vivimos en la FES-C.

# INDICE

## Paginas

<b>1.- Lista de Abreviaturas</b> .....	1
<b>2.- Resumen</b> .....	2
<b>3.- Introducción</b> .....	4
<b>4.- Generalidades</b> .....	6
4.1.- El Corazón .....	6
4.2.- Enfermedades Cardiovasculares .....	9
4.3.- Hipertensión .....	10
4.4.- Infarto del Miocardio .....	14
4.5.- Isoproterenol .....	16
4.6.- Testosterona .....	22
4.7.- Transaminasas .....	26
4.8.- Fosfatasa alcalina .....	30
4.9.- Proteínas Totales .....	32
4.10.-Catepsina D .....	33
<b>5.- Justificación</b> .....	35
<b>6.- Objetivos</b> .....	37
<b>7.- Hipótesis</b> .....	37
<b>8.- Desarrollo Experimental</b> .....	38
8.1.- Material y Reactivos .....	38
8.2.- Diseño Experimental .....	40
8.2.1.-Prueba de hipótesis sobre el coeficiente de correlación lineal .....	41
8.2.2.- Métodos no paramétricos .....	42
8.2.3.- La prueba H de Kruskal-Wallis .....	44
8.2.4.- Prueba de Bonferroni .....	45
8.3.- Metodología .....	46
8.3.1.-Animales no gonadectomizados (blanco).....	46
8.3.2.- Animales gonadectomizados (blanco).....	48
8.3.3.- Animales no Gonadectomizados (problema).....	50
8.3.4.- Animales Gonadectomizados (problema).....	52
8.3.5.- Extirpación de las gónadas (castración) .....	54

8.3.6.- Preparación de las soluciones de Testosterona.....	56
8.3.7.- Toma de muestra (sangre y corazón).....	57
8.3.8.-Homogeneizado de corazón .....	59
8.3.9.-Actividad de Catepsina D .....	61
8.3.10.-Curva estándar para Proteínas Totales .....	63
8.3.11.-Cuantificación de Proteínas Totales .....	64
8.3.12.-Evaluación de la actividad de AST .....	65
8.3.13.-Evaluación de la actividad de ALT .....	67
8.3.14.-Evaluación de la actividad de Fosfatasa Alcalina .....	68
<b>9.- Resultados .....</b>	<b>69</b>
9.1.1.-Gráfica Catepsina D Fracción Nuclear (Anim. no gonadec.).....	70
9.1.2.-Gráfica Catepsina D Fracción Nuclear (Anim. gonadec.).....	71
9.1.3.-Gráfica Catepsina D Fracción Mitocondrial (Anim. no gonadec.).....	73
9.1.4.-Gráfica Catepsina D Fracción Mitocondrial (Anim. gonadec.).....	74
9.1.5.-Gráfica Catepsina D Fracción Lisosomal (Anim. no gonadec.).....	76
9.1.6.-Gráfica Catepsina D Fracción Lisosomal (Anim. gonadec.).....	77
9.1.7.-Gráfica Catepsina D Fracción Microsomal (Anim. no gonadec.).....	79
9.1.8.-Gráfica Catepsina D Fracción Microsomal (Anim. gonadec.).....	80
9.1.9.- Gráfica Proteínas Totales (comparación).....	82
9.1.10.-Gráfica Proteínas Totales (Animales no gonadectomizados).....	84
9.1.11.-Gráfica Proteínas Totales (Animales gonadectomizados).....	85
9.1.12.- Gráfica AST (Comparación).....	87
9.1.13.-Gráfica AST (Animales no gonadectomizados).....	89
9.1.14.-Gráfica AST (Animales gonadectomizados).....	90
9.1.15.-Gráfica ALT (Animales no gonadectomizados).....	92
9.1.16.-Gráfica ALT (Animales gonadectomizados).....	93
9.1.17.-Gráfica Fosfatasa Alcalina (Animales no gonadectomizados).....	95
9.1.18.-Gráfica Fosfatasa Alcalina (Animales gonadectomizados).....	96
<b>10.- Análisis de resultados.....</b>	<b>98</b>
<b>11.- Conclusiones .....</b>	<b>109</b>
<b>12.- Referencias .....</b>	<b>110</b>

## 1. LISTA DE ABREVIATURAS

◆ adm.	Administración
◆ $\alpha$	Alfa
◆ ALT	Alanino aminotransferasa
◆ AST	Aspartato aminotransferasa
◆ $\beta$	Beta
◆ bco	Blanco
◆ °C	Grados centígrados
◆ dl	Decilitros
◆ g	Gramos
◆ x g	Velocidad de centrifugación
◆ ICSH	Hormona estimulante de las células intersticiales
◆ i.m.	Intramuscular
◆ ISO	Isoproterenol
◆ Kg	Kilogramos
◆ LH	Hormona luteinizante
◆ $\mu$ g	Microgramos
◆ $\mu$ l	Microlitros
◆ $\mu$ mol	Micromoles
◆ mg	Miligramos
◆ ml	Mililitros
◆ min.	Minutos
◆ M	Molar
◆ N <sub>2</sub>	Nitrógeno
◆ NaCl	Cloruro de Sodio
◆ NaOH	Hidróxido de sodio
◆ ng	Nanogramos
◆ nm	Nanómetros
◆ O <sub>2</sub>	Oxígeno
◆ OH	Hidroxilo
◆ pg	Picogramos
◆ rpm	Revoluciones por minuto
◆ SC	Subcutáneo
◆ SHBG	Globulina Fijadora de Hormonas Sexuales
◆ SSF	Solución Salina Fisiológica
◆ Testost	Testosterona



## 2. RESUMEN.

El objetivo de esta investigación fue realizar un análisis de la posible protección que ejerce la **testosterona contra las lesiones tipo infarto del miocardio**, ocasionadas por la administración de isoproterenol por vía subcutánea en ratas Wistar macho, se emplearon diferentes pruebas bioquímicas para cuantificar dicho efecto.

En este trabajo se utilizaron ratas Wistar macho íntegras y gonadectomizadas de peso entre 230 g y 260 g, distribuidos por medio de una curva culebra japonesa en seis lotes, a los cuales se les administró, por vía intramuscular testosterona 1ng/ml [menor a la fisiológica], 10ng/ml [fisiológica] y 100ng/ml [mayor a la fisiológica], además de administrarles isoproterenol por vía subcutánea (120 mg/kg de peso), para inducir las lesiones tipo infarto del miocardio. Para comparar estos resultados se utilizaron dos lotes de animales blanco, y cuatro lotes de animales (gonadectomizados y no gonadectomizados) a los cuales solo se les administró testosterona o isoproterenol, por separado. Para la inducción de lesiones tipo infarto de miocardio se administró isoproterenol (ISO) el cual se disolvió en solución salina fisiológica (3).

Este trabajo se basa en los trabajos de Wexler y Kitinger (3), y Venkataramana y Malarvarnnan (1). Después de la administración de ISO los

animales exhibieron signos de shock, disnea, letargo y postración durante unas cuantas horas (1).

Los parámetros evaluados cuantitativamente fueron actividad de Alanino aminotransferasa (ALT), Aspartato aminotransferasa (AST), Proteínas séricas totales, Fosfatasa alcalina y Catepsina D. Los resultados fueron determinados en comparación a los parámetros que se obtuvieron en animales sin tratamiento.

De los resultados obtenidos al evaluar AST, Proteínas totales y Catepsina D se observó que a mayor concentración de testosterona existe un mayor efecto protector contra las lesiones inducidas por la administración de ISO, esta relación fue directamente proporcional en ambos lotes de ratas (gonadectomizados y no gonadectomizados) siendo más significativo este efecto en animales íntegros, esto debido probablemente a que además de la testosterona administrada de manera exógena cuentan con la que se produce de manera natural en las gónadas de los animales.

En el caso de ALT y Fosfatasa alcalina son pruebas específicas para detectar daño hepático, por lo que estas pruebas nos aseguran que el efecto cuantificado en las demás pruebas bioquímicas es debido tan solo a trastornos cardíacos y no hepáticos, debido a que la prueba de AST también cuantifica daño hepático, además del daño cardíaco.

### 3. INTRODUCCIÓN:

En los países desarrollados, las principales causas de muerte son las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. El infarto agudo es la principal causa de muerte en la mayor parte de los países industrializados, en E.U.A., actualmente más de 1,500,000 personas al año presentan Infarto Agudo de Miocardio(2) (55), de los cuales aproximadamente ocurren 500 mil decesos anuales (2).

En la época actual, la mortalidad intrahospitalaria causada por infarto agudo del Miocardio se debe, casi de manera exclusiva a insuficiencia circulatoria, provocada ya sea por disfunción ventricular izquierda grave o por alguna de las complicaciones mecánicas del infarto del miocardio (29).

Una de las enfermedades cardiovasculares que con más frecuencia es atendida por los médicos en su práctica clínica es la hipertensión arterial. Cerca del 80% de los hipertensos se encuentra entre los 40 y 70 años. Hasta los 40 años, el hombre tiene mayor tendencia que la mujer a padecer de hipertensión. (24) En estudios realizados por varios investigadores se ha detectado que el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, como es el caso del infarto de miocardio, ocurra con más frecuencia en hombres entre los 30 – 40 años (38).

La incidencia del infarto del miocardio es mayor en los individuos del sexo masculino que en las mujeres, las diferencias han sido atribuidas a efectos de las hormonas

sexuales esteroides sobre los diferentes factores de riesgo cardiovascular así como, directamente sobre la función cardiovascular.

En algunos casos de insuficiencia cardiaca se utilizan agentes agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, como el hidroclorehidrato de isoproterenol, sin embargo, varios estudios han mostrado necrosis isquémica en el miocardio por su uso, se ha observado que la necrosis es dependiente de la dosis de isoproterenol utilizada, es decir, a mayores dosis, se produce una mayor necrosis isquémica, pero se desconoce la causa que ocasiona dicho infarto miocárdico (1).

En este proyecto de tesis se indujo una necrosis miocárdica por medio de la administración de 120 mg de ISO/kg por vía subcutánea, esta dosis se utilizó tomando en cuenta los trabajos de Venkataramana y Malavarnnan (1) y Wexler y Kitingner(3), quienes han mostrado que administrando isoproterenol por vía subcutánea induce necrosis del miocardio (1).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la hormona sexual esteroide testosterona sobre actividades enzimáticas consideradas como señales del daño inducido por el ISO (AST, Catepsina D y cuantificación de Proteínas Totales).

## 4. GENERALIDADES.

### 4.1 El corazón.

El corazón es una masa muscular, hueca y de forma semicónica que se haya intercalada, a manera de una bomba aspirante impelente, en el trayecto de la circulación sanguínea. Su tamaño es aproximadamente, el del puño del individuo al que pertenece y consta de dos aurículas y dos ventrículos, estas cavidades a partir del nacimiento del individuo, ofrecen únicamente las siguientes comunicaciones entre sí: la aurícula derecha comunica con el ventrículo derecho y la aurícula izquierda con el ventrículo del mismo lado (4).

Entre las cavidades de las aurículas y los ventrículos se encuentran las válvulas atrioventriculares: a la derecha la válvula tricúspide y a la izquierda la válvula mitral (bicúspide) (5).

El corazón se encuentra situado, asimétricamente, en la zona media de la cavidad torácica, de tal manera, que la mayor parte del órgano queda emplazada en la mitad izquierda del organismo y sólo una pequeña parte en la mitad derecha. La base del corazón, formada por las aurículas, está orientada hacia atrás y algo a la derecha; la punta del corazón, formada únicamente por el ventrículo izquierdo, está dirigida hacia adelante y a la izquierda (4).

En el corazón pueden distinguirse dos caras: una inferior o caudal, ligeramente convexa, que descansa sobre el diafragma y otra anterosuperior o ventrocranial, fuertemente convexa (4).

La actividad contráctil de la musculatura de la pared del corazón impulsa la sangre, por todo el cuerpo, entregando nutrientes y eliminando desechos que produce el organismo. El corazón también transporta a las hormonas, neurotransmisores y otros mensajeros a varias regiones del organismo (5).

El corazón está compuesto por tres tipos principales de músculo: músculo auricular, músculo ventricular y las fibras musculares excitadoras especializadas.

**Fig. 1** Anatomía del corazón (6)

El ciclo cardíaco consta de un período de relajación, denominado diástole, durante el cual el corazón se llena de sangre, seguido de un período de contracción llamado sístole. (6)

La función del corazón está regulada por cuatro determinantes principales:

- El estado de contractilidad del miocardio.
- La precarga del ventrículo (el volumen diastólico final y la longitud resultante de la fibra de los ventrículos antes del inicio de la contracción).
- La poscarga aplicada a los ventrículos (la impedancia a la expulsión ventricular izquierda).
- La frecuencia cardíaca. (9)

La función del corazón puede ser inadecuada como resultado de alteraciones en estas determinantes. En casi todos los casos, el trastorno primario es una depresión de la contractilidad del miocardio por pérdida del músculo funcional (Ej. debida a infarto del miocardio) o por procesos que afectan de manera difusa al miocardio (9).

Muchas de las características del músculo cardíaco, especialmente el diseño molecular de los filamentos de actina y de miosina, así como la naturaleza de sus acciones recíprocas son muy similares a las del músculo esquelético. Sin embargo el músculo del corazón que está siempre activo aunque de un modo cíclico posee un metabolismo completamente aeróbico en los sujetos en reposo o con actividad moderada y solamente utiliza la glucólisis como fuente de energía adicional en

casos de emergencia. Las células del músculo cardíaco son sumamente ricas en mitocondrias, que ocupan por lo menos hasta el 40% de su espacio citoplasmático

## 4.2 Enfermedades Cardiovasculares

En los países desarrollados, las enfermedades cardíacas son la causa más frecuente de muerte natural, en una proporción de las dos quintas partes por lo menos. Las curvas de incidencia y de mortalidad por cardiopatía han ido aumentando de manera constante desde hace ya bastantes años. En parte, este aumento de mortalidad puede explicarse por la elevación del índice de vida media de la población, determinado por el control de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, numerosos estudios estadísticos demuestran un incremento absoluto de las enfermedades cardíacas, particularmente acentuado en el caso de las coronarias. (24)

**Tabla 1,** Incidencia de las formas principales de cardiopatía: (Procedente del libro del Dr. Paul Word (24))

ENFERMEDADES	%
Cardiopatía coronaria	30
Hipertensión arterial	25
Cardiopatía reumática	20
Arritmias primarias	5
Cardiopatía tireotoxía	2
Cardiopatías congénitas	2.5
Endocarditis bacteriana	1
Aortitis sifilítica	1
Pericarditis primaria	1
Aneurisma disecante de la aorta	0.2
Miocardopatías	0.3
Hipertensión pulmonar primitiva	0.2
Misceláneos y dudosos	6.5



La incidencia de enfermedades cardiovasculares difiere significativamente entre el hombre y la mujer, en parte por diferencias en factores de riesgo y hormonas sexuales. Algunos datos sugieren que la acción directa de los estrógenos en vasos sanguíneos contribuyen substancialmente a un efecto protector cardiovascular (30).

### **4.3 Hipertensión**

La hipertensión arterial es un padecimiento vascular multifactorial frecuente, cuya causa se desconoce. La hipótesis más generalizada sostiene que la hipertensión primaria se debe a un desequilibrio en las interacciones entre los mecanismos que controlan el volumen minuto cardíaco, la función renal, la resistencia periférica y la homeostasis del sodio.

La hipertensión arterial genuina es un problema de salud pública de la mayor importancia en el mundo entero (43) (53) (58). La frecuencia de padecer hipertensión aumenta progresivamente con la edad de la población (44); la padecen más de la mitad de todas las personas mayores de 65 años (54).

Aceptar que la hipertensión arterial es una parte, determinada genéticamente, ha dado lugar a estudios que buscan identificar las mutaciones que dan la susceptibilidad a esta enfermedad. Hasta ahora se han demostrado mutaciones en al menos 10 genes capaces de causar alteraciones de la presión arterial (7).

Las mujeres toleran mejor la hipertensión que los hombres, los índices de mortalidad con cualquier valor de hipertensión son más altos en los hombres (56) y la frecuencia de la hipertensión arterial es mayor en la raza negra (58).

Ahora se reconoce que la presión arterial elevada o hipertensión es uno de los factores de riesgo más significativos en el desarrollo y la progresión de las enfermedades cardiovasculares. Dicho padecimiento genera un aumento en la presión de las paredes vasculares, lo que estimula la hiperplasia e hipertrofia de dichas células y conduce a un engrosamiento fibro-muscular, así como a un incremento en la sensibilidad a diferentes agentes vasoactivos.

Así mismo, aumenta la permeabilidad de la capa íntima de las arterias, lo que contribuye a un aumento en el influjo de lipoproteínas y al desarrollo de aterosclerosis.

Por otro lado, el aumento en la poscarga produce a la larga hipertrofia del ventrículo izquierdo, por lo que aumenta la demanda de oxígeno del corazón, mientras que de manera proporcional se reduce el flujo coronario (8).

Los mecanismos por los cuales aumenta la presión arterial son múltiples y a menudo interactúan (11).

La hipertensión se define en términos de severidad, su asociación con las causas subyacentes o las condiciones relacionadas, su asociación con la edad y los grupos raciales y en términos de los posibles mecanismos responsables de su mantenimiento (ver Fig. 2).

La forma más común de hipertensión se denomina hipertensión esencial (11). Por definición la hipertensión esencial es idiopática, pero se cree que está causada por una combinación de factores genéticos y ambientales.

El motivo por el cual la hipertensión no se diagnostica a tiempo obedece a que es una enfermedad típicamente asintomática sobre todo en fases tempranas (58).

La hipertensión arterial es uno de los factores de riesgo más importantes para el infarto del miocardio, ya que entre las enfermedades que sobrecargan al ventrículo izquierdo destaca la hipertensión arterial (44).

La terapéutica estándar de la hipertensión consiste en diuréticos y antihipertensores, bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos, bloqueadores de  $\text{Ca}^{2+}$  y los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (42,53). Se utilizan diversos agentes, solos o combinados, que incluyen los fármacos de acción central, bloqueadores ganglionares, medicamentos con efectos adrenolíticos y simpaticolíticos periféricos y los que actúan en el sistema renina-angiotensina (42).

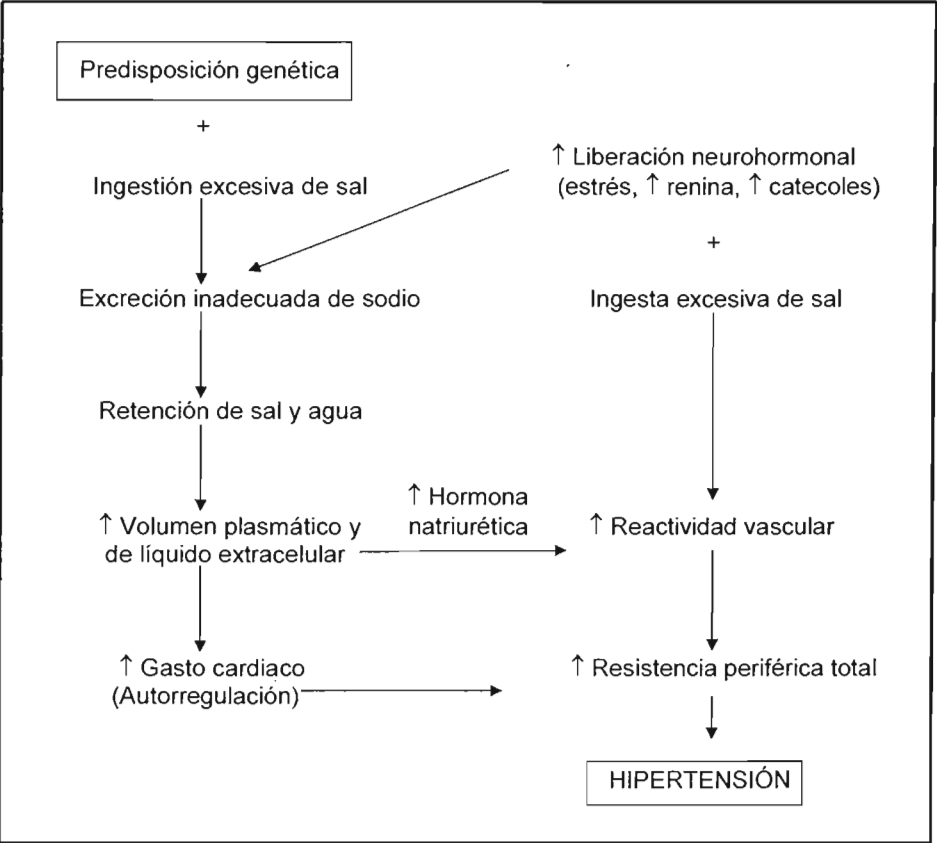


Fig. 2 Fisiopatología de la hipertensión

#### **4.4 Infarto del miocardio.**

El infarto del miocardio, en una patología en la que generalmente se presenta necrosis miocárdica isquémica originada por reducción abrupta del flujo coronario a un segmento del miocardio (10) (57) (58). En el pasado se pensaba que el infarto era precipitado por una trombosis coronaria aguda, pero esto solo ocurre en una minoría de los casos. La trombosis suele ser el resultado del infarto al miocardio y no el proceso iniciador. Por lo tanto se observan trombos en las arterias coronarias aproximadamente en el 25% de los individuos que mueren súbitamente (10).

Esta lesión se produce o facilita por factores como el tabaquismo, la hipertensión y la acumulación de lípidos (55).

El infarto al miocardio es, predominantemente, una enfermedad del ventrículo izquierdo, pero el área lesionada puede extenderse al ventrículo derecho o a las aurículas (10). La cantidad de tejido miocárdico infartado depende básicamente de la arteria ocluida.

En las fases iniciales del infarto del miocardio se prolonga el tiempo de relajación ventricular (33).

La capacidad del corazón de seguir funcionando como bomba, guarda probablemente una relación directa con la extensión de la lesión miocárdica (10).

En el infarto de miocardio, el músculo muy isquémico e infartado se contrae y relaja mal o no lo hace; si el infarto es lo suficientemente extenso disminuirá el gasto cardiaco(57).

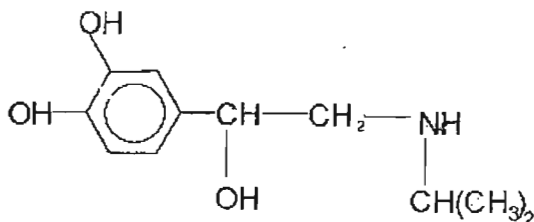
El infarto agudo del miocardio es el resultado final de un fenómeno isquémico ininterrumpido y prolongado. Es producido por el cese total del aporte sanguíneo a un segmento del miocardio y no tiene una relación importante con la demanda de oxígeno (58).

Cuando las células miocárdicas sufren daño irreversible se altera la permeabilidad de la membrana, liberándose a la circulación enzimas cuya actividad en plasma puede ser medida en el laboratorio.

En México el infarto agudo del miocardio, se sitúa en el quinto lugar como causa de muerte en la población general, con una tasa de 20/100,000 habitantes (58).

Cerca de la mitad de los casos de infarto de miocardio, resulta clínicamente silenciosa; es decir ocurre sin síntomas y el paciente no los reconoce (59).

## 4.5 Isoproterenol



El isoproterenol (isopropilarterenol, isopropilnoradrenalina, isoprenalina, di-β-[3,4-dihidroxifenil -α-isopropilaminoetanol), es la más activa de las aminas simpaticomiméticas y actúa casi exclusivamente en los receptores β. Fue estudiada por primera vez en 1940 (12).

### 4.5.1 Relaciones entre estructura química y acción farmacológica.

a) Para que las sustancias posean alta afinidad por los receptores β-adrenérgicos, es necesario que sean aromáticos- con núcleo bencénico o naftaleno y derivados- y que posean una cadena lateral aminica en la cual un átomo de hidrógeno del grupo amino esté sustituido por un radical isopropilo o un grupo semejante(12) (15).

b) Para que un fármaco produzca efectos adrenérgicos β, depende de la presencia de hidroxilos en el núcleo aromático; si los posee y sobre todo en posición orto (isoproterenol), será un potente fármaco adrenérgico (12) (15).

#### 4.5.2 Propiedades

*Descripción:* Polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro o con sabor ligeramente amargo, se oscurece gradualmente por exposición al aire y a la luz, sus soluciones se vuelven de color que va del rosa al rosa-parduzco por exposición al aire y casi inmediatamente se vuelve alcalina.

*Solubilidad:* Muy soluble en agua, poco soluble en etanol y muy poco soluble en etanol deshidratado, insoluble en cloroformo, benceno y éter. Un gramo se disuelve en 3 ml de agua, y en 50 ml de etanol (al 95%)

*Punto de fusión:* 170°C - 171°C.

*Conservación:* En recipientes herméticamente cerrados, protegidos de la luz.

#### 4.5.3. Acciones farmacológicas.

Aumenta el trabajo cardiaco al incrementar la frecuencia cardiaca y la fuerza de la contracción del miocardio (1) (12).

El isoproterenol es activo en los receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$ -adrenérgicos, casi sin actividad en los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos. En los receptores  $\beta_1$ , el ISO es más potente que la adrenalina, la cual presenta una potencia igual o mayor que la noradrenalina. (11)

Tiene acciones cronotrópica (frecuencia a la que late el músculo cardiaco) e inotrópica (fuerza de contracción del músculo cardiaco) positivas; debido a que el isoproterenol activa a los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en forma casi exclusiva, por lo



que es un vasodilatador potente . La activación de los receptores  $\beta$  da por resultado un mayor flujo de entrada de calcio a las células cardiacas, esto tiene consecuencias de tipo eléctrico y efecto cronotrópico (15).

Estas acciones conducen a un aumento notable en el gasto cardiaco relacionado con una disminución en la presión arterial media y diastólica y a una reducción menor o a una ligera elevación de la presión sistólica(15).

Ya que el isoproterenol actúa en los receptores  $\beta$ -adrenérgicos y casi no tiene actividad en los receptores  $\alpha$ , sus acciones principales se verifican en el corazón, el músculo liso de los bronquios, vasos sanguíneos del músculo esquelético y el conducto gastrointestinal (12)(52). Los efectos cardiovasculares del isoproterenol, la adrenalina y el levarterenol en el hombre son parecidos (12).

En el adipocito actúa selectivamente sobre los receptores del subtipo  $\beta_1$  del tejido adiposo y muscular, activando a la adenilciclase, para convertir el trifosfato de adenosina en 3'5' monofosfato de adenosina, induciendo la activación de las lipasas (13).

#### 4.5.3.1 Aparato cardiovascular.

La infusión intravenosa del isoproterenol en el hombre disminuye la resistencia vascular periférica, principalmente en el músculo esquelético, pero también en los lechos vasculares mesentéricos y renal con lo que la presión diastólica disminuye. El gasto cardiaco aumenta por las acciones inotrópica y cronotrópica del fármaco y se combina con un aumento en el retorno venoso del corazón. Con dosis comunes de isoproterenol en el hombre, el aumento del gasto cardiaco basta generalmente para mantener o aumentar la presión sistólica, aunque la presión media es reducida (12).

Dosis mayores a 1µg/Kg causa disminución notable de la presión arterial. El ISO produce excitación central.

#### 4.5.3.2 Musculatura lisa.

El isoproterenol relaja casi todas las variedades de musculatura lisa cuando el tono de éstas es alto, pero su acción es más intensa en la musculatura lisa de los bronquios y del conducto gastrointestinal (12).

#### 4.5.3.3 Acciones metabólicas y en el sistema nervioso central.

En el hombre, el isoproterenol causa menos hiperglucemia que la adrenalina. Las acciones calorígenas del isoproterenol y de la adrenalina son semejantes (12).

#### *4.5.4 Absorción y excreción.*

El isoproterenol se absorbe rápidamente cuando se administra por vía parenteral o en forma de aerosol. El fármaco se metaboliza y se elimina por las mismas vías que la adrenalina y sus efectos son de la misma duración (12).

Palpitaciones, taquicardia y cefalea son frecuentes. Las reacciones cardíacas graves son poco frecuentes, pero la sobredosis puede ir seguida de muerte.

El ISO estimula el corazón y aumenta el gasto cardíaco además de elevar la producción miocárdica de lactato, indicación de que aumenta la hipoxia cardíaca.

#### *4.5.5 Toxicidad y efectos secundarios.*

Disminuye el tono, la motilidad tanto del intestino como del útero. Causa hiperglucemia e incremento de la cantidad circulante de ácidos grasos volátiles libres. Puede además estimular al sistema nervioso central por medio de ansiedad y malestar (13).

La toxicidad aguda del isoproterenol en los animales es mucho menor que la adrenalina. Sin embargo, pueden producirse con facilidad arritmias cardíacas y las dosis grandes o repetidas en los animales pueden producir necrosis miocárdica, como las de la adrenalina, o paro cardíaco si el corazón está sometido a fuerte carga de trabajo (12). La cardiotoxicidad del isoproterenol es dosis-dependiente (1).

Con dos administraciones por vía subcutánea de isoproterenol de 25 - 100 mg/kg de peso se observa necrosis en el miocardio y no se presenta mortalidad para la dosis de 25 y 50 mg/kg de peso, mientras que en la dosis de 100 mg/kg de peso se observa una mortalidad del 16% (1).

A dosis de isoproterenol de 25 mg/kg se observa hemorragia en el miocardio y a dosis de 50 y 100 mg/kg de peso se observa necrosis en el miocardio (1).

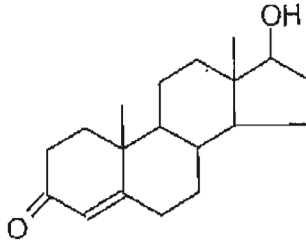
#### *4.5.6 Usos terapéuticos.*

El isoproterenol se emplea en clínica sólo como broncodilatador en los trastornos respiratorios y como estimulante cardíaco en el bloqueo del corazón (12). Se utiliza asociado a otros medicamentos en el shock cardiogénico y en otros tipos de shock; así como en ciertas arritmias cardíacas. (14)

#### *4.5.7 Reacciones adversas.*

Taquicardia, palpitaciones, edema e inflamación bronquiales, rubor en la piel. Con uso prolongado se puede presentar inflamación de la glándula parótida.(14)

## 4.6 Testosterona (Andrógenos)



Los andrógenos u hormonas androgénicas pertenecen al grupo de las hormonas esteroides y tiene como estructura base al ciclopentanoperhidrofenantreno, al igual que los corticosteroides, los estrógenos y otros más con los que están relacionados. Los andrógenos son capaces de inhibir la secreción gonadotrópica de la adenohipófisis, por lo que en animales con insuficiencia gonadal, la producción de gonadotropinas, hormona foliculoestimulante y luteinizante, está aumentada.(16).

Tanto en animales íntegros o castrados, los andrógenos promueven el anabolismo proteico, disminuyendo la creación de  $N_2$  urinario, con balance positivo del mismo, lo que se manifiesta estructuralmente por aumento de peso, en especial en los músculos esqueléticos; aunque dicha acción también se manifiesta en otros órganos como el riñón e hígado (16).

Uno de los principales andrógenos y el más importante en el hombre es la testosterona (1); en la mayor parte de los tejidos blanco, ésta no es la forma activa de la hormona, en los órganos blanco se convierte por medio del esteroide  $5\alpha$ -reductasa en el producto más activo: dihidrotestosterona (12).

La Testosterona (Testost) y la dihidrotestosterona se unen a los receptores androgénicos del citosol, iniciando una serie de fenómenos que llevan al crecimiento, la diferenciación y la síntesis de un gran número de enzimas y otras proteínas funcionales (15). Al igual que otros esteroides, los andrógenos pueden unirse inicialmente a proteínas receptoras específicas en el citosol y este complejo es transportado al núcleo donde interactúan con la cromatina desencadenando la síntesis de RNA, RNA polimerasa y proteínas.

La producción de testosterona es estimulada por una hormona de la adenohipófisis denominada hormona estimulante de la célula intersticial o ICSH (sub-unidad  $\beta$ ) que es idéntica a la hormona luteinizante (LH). El principal lugar de la formación de la Testost es el testículo, los andrógenos se producen en las células intersticiales o de Leydig que se encuentran en los espacios entre los túbulos seminíferos, pero también se produce en pequeñas cantidades en la corteza suprarrenal (18).

La Testosterona es el esteroide androgénico más activo que se ha aislado del testículo (16). Tiene la fórmula  $C_{19}H_{28}O_2$  (17); es el esteroide sexual más importante en el hombre, más del 95% es secretado por las células de Leydig de los testículos y solo 5% por las suprarrenales (15) .

Aproximadamente 7 mg/día de Testost son producidos por los testículos del hombre joven; la tasa de producción de Testost en las mujeres es de 0.3 mg/día. (11) (15).

La Testost es transportada en la sangre unida a las proteínas plasmáticas, circula fuertemente unida a una  $\beta$ -globulina, la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG); débilmente ligada a la albúmina; o como una forma libre (no ligada) (11).

En los hombres, cerca del 3% de la Testost está libre, 67% ligada a la albúmina y el 30% ligada a la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG). En contraste, en las mujeres cerca del 2% de la Testost está libre, 40% ligada a la albúmina y el 58% ligada a la SHBG. Por lo tanto la proporción de Testost disponible para su acción biológica respecto de los tejidos blanco es mucho mayor en los hombres que en las mujeres (11) (15).

Una de las funciones más importantes de la Testost es la de iniciar y mantener la espermatogénesis (11).

La administración exógena de andrógenos no tiene efectos estimulantes sobre las células germinales e inhibe la espermatogénesis y la producción de espermatozoides por una acción de retroalimentación negativa sobre la secreción de LH y la producción intratesticular de Testost (11).

#### *4.6.1 Absorción*

La Testost cuando se administra por vía oral, se absorbe rápidamente, sin embargo la mayor parte se convierte en metabolitos inactivos y solo cerca de una sexta parte de la dosis administrada esta disponible en forma activa (15).

Se absorbe bien aunque lentamente cuando se administra por vía i.m., la esterificación de la Testost, disminuye la velocidad de absorción aumentando la duración de acción y la eficacia de la misma. Una vez absorbida pasa a la sangre, encontrándose una concentración plasmática normal de 0.3 a 1.2 µg/dl en el varón (16).

La secreción testicular de andrógenos está regulada por sus propios valores en sangre y logran una retroalimentación negativa del hipotálamo y de la hipófisis. (19)

La Testost se biotransforma principalmente en el hígado dando como producto la androstendiona, también en estrógenos como el estradiol y la estrona, lo que ocurre en el testículo, piel e hígado, pero las cantidades formadas normalmente son escasas (16).

**Tabla 2.** Concentraciones (pg/ml) en circulación de Testosterona y Dihidrotestosterona en ratas macho normales: (23)

	<i>Testosterona</i>	<i>Dihidrotestosterona</i>
<b>Macho</b>		
<b>Prepubertad</b>	500	50
	950	80
	620	
	950	
<b>Edad Adulta</b>	2600	160
	3060	74
	2150	190
	3701	
	2500	
	2430	



## PRUEBAS BIOQUIMICAS INDICADORAS DE DAÑO

### 4.7 Transaminasas.

Las transaminasas constituyen un grupo de enzimas que catalizan la interconversión de aminoácidos y  $\alpha$  - cetoácidos, por transferencia de grupos aminos. El ácido L-glutámico actúa como el donador de grupo amino en la mayoría de las reacciones de transaminación. Fosfopiridoxal y su análogo amino: fosfopiridoxamina, funcionan como coenzimas en las reacciones de transferencia del grupo amino. Las transaminasas se llaman también aminotransferasas y aminoferasas (20). Son enzimas representadas por proteínas simples conjugadas y sintetizadas por células de diferentes tejidos: hepático, miocardio, renal, nervioso y músculo estriado. (45)

El proceso de transaminación consiste en la transferencia intermolecular de un grupo de un  $\alpha$ -aminoácido dador a un ceto-ácido aceptor, sin formación intermedia de amoníaco, desempeñando un papel clave en el metabolismo intermediario toda vez que interviene en la síntesis y degradación de aminoácidos en las células vivas (22).

En el suero normal abundan más las AST que la ALT (60). Las aminotransferasas contienen fosfato de piridoxal, una coenzima frecuentemente requerida por las enzimas que atacan aminoácidos libres. El piridoxal está fijado a las cadenas polipeptídicas de las aminotransferasas de tal forma que su grupo aldehído queda en la vecindad de una cadena lateral de lisina, con la que reacciona formando una aldimia, que es la estructura reactiva de la enzima (21).

Las transaminasas están distribuidas con amplitud en tejidos animales. Tanto AST (Aspartato Aminotransferasa), como ALT (Alanino aminotransferasa) están presentes normalmente en plasma, bilis, líquido cefalorraquídeo y saliva humanos, pero no en orina, a menos de que exista una lesión renal (20).

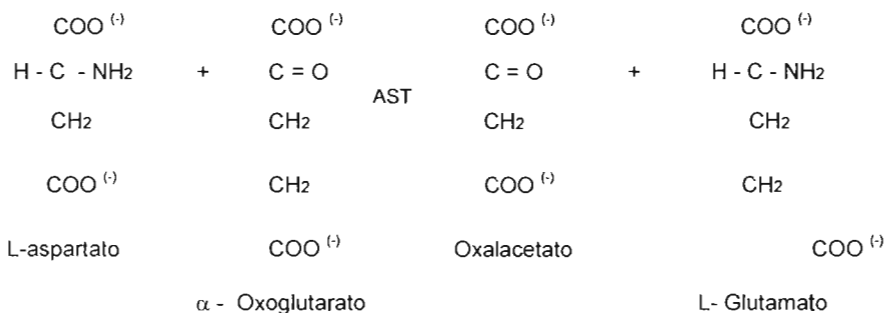
#### 4.7.1 Transaminasa glutámico oxalacético

##### AST (TGO) ASPARTATO AMINOTRANSFERASA

La AST está presente en gran actividad en el corazón, los músculos y el hígado. Es una enzima que se encuentra tanto en el citoplasma del hepatocito como en las mitocondrias.(45)

El aumento en la actividad de AST en el suero se asocia con **infarto del miocardio**, embolia pulmonar, trauma de los músculos esqueléticos, cirrosis alcohólica, hepatitis viral y hepatitis inducida por fármacos (20). Se incrementa de 9 -10 veces más en un infarto agudo del miocardio.

Transaminasa de aspartato, conocida comúnmente como transaminasa glutámico oxalacético (AST) cataliza la siguiente reacción: (20)

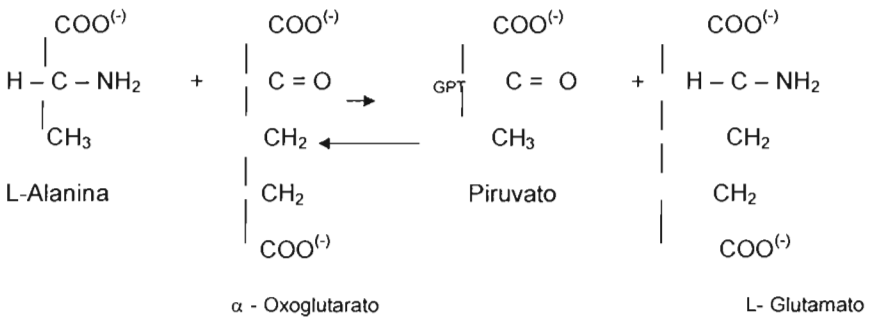


#### 4.7.2 Transaminasa glutámico pirúvico

##### ALT (TGP) ALANINO AMINOTRANSFERASA

Está presente en gran cantidad en el hígado, músculo esquelético, el corazón y el riñón. ALT en el suero aumenta rápidamente en la necrosis de células hepáticas, hepatitis, cirrosis hepática, tumores en el hígado, ictericia opilativa, síndrome de Reye, la miositis y la miocarditis (20).

Transaminasa de alanina, cuyo nombre más común es transaminasa de glutámico pirúvico (ALT) cataliza la reacción análoga siguiente: (20)



Las reacciones son reversibles, pero el equilibrio de ambas reacciones, la catalizada por AST y la catalizada por ALT, favorece la formación de asparato y alanina respectivamente (20).

**Tabla 3.** Actividades de AST y ALT en homogenizados de tejidos humanos. (22)

	<b>AST</b>	<b>ALT</b>
	<b>U. gramo tejido</b>	<b>U. gramo tejido</b>
Corazón	156.00	7.000
Hígado	42.00	144.00

#### 4.7.3 Importancia clínica.

*Se presentan incrementos patológicos de la transaminasa sérica (alanino aminotransferasa AST) en el infarto del miocardio, aun en los inaparentes clínica o electrocardiográficamente y a partir de la 6 primeras horas (60)*

Después de un infarto de miocardio aparece AST en suero con actividad aumentada, como sería de esperar a su concentración relativamente alta en el miocardio (20)(57). Los valores máximos se alcanzan después de 48 a 60 horas y el nivel baja de nuevo al intervalo normal hacia el cuarto o quinto día, siempre que no haya ocurrido un nuevo infarto, lo valores de AST se incrementan de 9 -10 veces más en un infarto agudo del miocardio. Los valores máximos son aproximadamente proporcionales al grado de daño sufrido por el tejido cardiaco. Los niveles de ALT, están dentro de límites normales o solo marginalmente elevados (20).

En hepatitis y otras formas de enfermedad hepática, con necrosis hepática concomitante, estarán elevados los niveles de las dos transaminansas en el suero, aún antes de aparecer los síntomas clínicos de la enfermedad. En la mayoría de los casos, el nivel de ALT es más alto que el de AST y la razón ALT/AST (menor que la unidad normalmente) en casos de infarto de miocardio se hace mayor que 1.0, en

especial en las últimas etapas de la enfermedad y en una fase de restablecimiento (20).

La ALT se identifica en todo proceso inflamatorio necrótico del hígado. Es una enzima citoplasmática del hepatocito, que se libera fácilmente cuando existe alteración celular. (45)

La Alaninoamino transferasa aumenta en suero rápidamente en la necrosis de células hepáticas, y dentro de límites normales o solo ligeramente elevados después de un infarto de miocardio (20)

#### **4.8 Fosfatasa alcalina en suero**

Las fosfatasas alcalinas actúan sobre gran variedad de sustratos fisiológicos y no fisiológicos, aunque se desconocen los sustratos naturales sobre los cuales actúan en el cuerpo (20).

Está presente principalmente, en los huesos, el hígado, el riñón, el intestino, la placenta y los pulmones (20)(45)(60). La fosfatasa alcalina del suero puede ser elevada en el metabolismo óseo acrecentado (47), por ejemplo en adolescentes y durante la curación de un fractura. Las enfermedades hepatobiliares que involucran colestasis, inflamación o cirrosis, aumentan la actividad de la fosfatasa alcalina; **puede aumentar con el infarto** y en ataques renales y en complicaciones del embarazo (20)(47)(50).

Las fosfatasa alcalinas constituyen un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de los fosfomonoésteres, dando lugar a la liberación del fósforo inorgánico y el correspondiente alcohol, fenol o azúcar (22).

Las enzimas de este grupo tienen actividad óptima cuando el pH está en la vecindad de 9.8, pero el pH óptimo observado varía según el sustrato sobre el cual actúan y según la naturaleza del amortiguador presente (20).

La enzima está presente en prácticamente todos los tejidos del cuerpo y ocurre en niveles particularmente altos en el epitelio intestinal, túbulos renales, huesos (osteoblastos), leucocitos, hígado y placenta (20).

Ahora se cree que la enzima en el suero procede del hígado, aunque muchas pruebas apoyan su posible origen en el tejido óseo (20).

La cifra global de la fosfatasa alcalina sérica resulta de la suma de los valores de sus distintas isoenzimas (hígado, hueso, intestino, ciertos tumores) (22).

La fosfatasa alcalina en suero se desnaturaliza rápidamente a 57°C, pero es relativamente estable a temperaturas más bajas. A temperatura ambiente la enzima mantiene su actividad durante 24 horas y en ocasiones se observa un aumento del 10% en su actividad. Si se almacena en el refrigerador, la actividad desciende muy lentamente y en estado de congelación la enzima retiene su plena actividad durante largo tiempo (20).

## 4.9 Proteínas totales

La sangre está constituida por formas celulares, a base de partículas, en suspensión en un medio líquido llamado plasma. Del 92% al 93% de plasma o suero es agua; de 7 a 8 % del total de solutos presentes, las proteínas son las que están en máxima concentración aproximadamente de 6.8 a 8.8 g/100ml de agua de plasma. (20)

La mayor parte de las proteínas del suero son sintetizadas en el hígado, con la excepción de las  $\phi$ -globulinas. Una de las más importantes proteínas del suero producidas en el hígado es la albúmina. La concentración de proteínas en el suero total se puede utilizar para la evaluación del estado alimenticio. Las causas de una concentración elevada de proteína total en el suero, incluyen: la deshidratación, la macroglobulinemia de Waldenström, el mieloma múltiple, enfermedades granulomatosas. La concentración de proteína total aumenta ocasionalmente en las enfermedades del colágeno, el lupus eritematoso y otros casos de infección crónica e inflamación. Las causas de una disminución en la concentración de proteína en el suero, incluyen el embarazo, la cirrosis y otras enfermedades hepáticas, el alcoholismo crónico, **insuficiencia cardíaca**, el síndrome nefrótico, glomerulonefritis, la mala absorción y la desnutrición grave (20).

## 4.10 Catepsina D

Catepsina D es una proteasa lisosomal presente en todas las células y encontrada en dos formas: Forma activa (PM 32000) y la forma inactiva (PM 52000). Catepsina D actúa como una enzima proteolítica que controla la caída de las membranas basales, o como un factor de crecimiento en modo autócrino y parácrino.

Las proteasas lisosomales fueron llamadas catepsinas, este nombre deriva del término griego "digerir". El interior de los lisosomas y de las catepsinas es ácido, todos los lisosomas se encuentran adecuadamente en un pH ácido y exhiben actividad enzimática lítica a pH neutro (35).

Es una endoproteasa aspártica que está implicada en la degradación proteica normal dentro de los lisosomas. Esta proteasa parece ser un marcador utilizable para la identificación de cáncer de mama en paciente con elevado riesgo de enfermedad recurrente.

Es una proteasa ácida lisosomal presente en todas las células y reconocida para ser secretada en el cáncer de mama. Puede ser un buen marcador de predicción y los altos niveles pueden representar un pronóstico pobre.

Catepsina D puede estimular la proliferación de células MCF-7 de modo autócrino y esto resulta en una extensión metastática de la enfermedad.



Catepsina D puede unir a la insulina como un receptor de crecimiento factor II, cuya activación resulta en la estimulación del crecimiento. (37)

Un estudio previo arrojó datos en perros, que indica que la actividad de la fosfatasa ácida y Catepsina D se observaron en la fracción microsomal, la cual está compuesta por retículo sarcoplásmico y ésta activación incidente sobre el retículo sarcoplásmico, fue importante para la evolución de un daño isquémico miocárdial y muerte. Un significativo incremento de catepsina D en el corazón fue observado en ratas que recibieron tratamiento con ISO (32).

## 5. JUSTIFICACIÓN

En México las enfermedades cardiovasculares se han convertido en la principal causa de muerte (26); y de ellas la cardiopatía isquémica ocasionó 44% de las defunciones en 1988, siendo 78% de ellas debido a infarto del miocardio (27). La principal causa después de los 40 años es la cardiopatía aterosclerosa coronaria y se debe directa o indirectamente a un infarto agudo del miocardio (34).

En estudios realizados en la División de Cardiología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional La Raza del I.M.S.S. el infarto del miocardio predominó en varones con una relación de 3 a 1 (58)(28) con respecto a mujeres, en este estudio se determinó que los factores de riesgo son: hipertensión arterial sistémica, Diabetes Mellitus, y el tabaquismo.(28)

En México la mortalidad por infarto agudo del miocardio en el año 2000 fue de 35,453 personas, el 69.9 % son de sexo masculino y el 30.1 de sexo femenino (62).

El infarto al miocardio es una forma muy grave de enfermedad cardíaca isquémica que en muchos casos provoca la muerte (25).

El término infarto del miocardio es sinónimo de ataque cardíaco; éste tipo de infarto es la principal causa de muerte e incapacitación en Estados Unidos. Hasta la fecha todavía no existe un acuerdo en lo que se refiere a los factores que desencadenan

la repentina disminución del riego sanguíneo que es causa de infarto. Se piensa que, en algunos casos, un episodio de isquemia provoca una arritmia mortal, como es la fibrilación ventricular, una condición en la cual los ventrículos se contraen tan rápidamente que ni siquiera bombean sangre (25).

La mortalidad entre los pacientes ingresados en los hospitales por infarto agudo de miocardio es aún muy elevada. Las estadísticas dan cifras de un 30 a un 40%. Honey y Truelove (en 1957) observaron una mortalidad del 36% en 543 casos ingresados. El dato más sobresaliente era que la mayor incidencia de muertes tenía lugar durante el primer día. Yater y colaboradores (1948) encontraron que de 866 casos, un 16% fallecieron en el acto y otro 15% a los 15 minutos. (24)

Estas cifras ponen de manifiesto la necesidad de reexaminar los medios de tratamiento de infarto de miocardio. Es por ello la importancia de elegir este tema como proyecto de tesis, dado que se tienen indicios de una posible protección ejercida por la testosterona al músculo cardíaco contra el infarto miocárdico.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1 General

- ◆ Evaluar con ayuda de pruebas bioquímicas el probable efecto protector de la testosterona en ratas Wistar macho contra lesiones tipo infarto de miocardio, las cuales se provocarán mediante la administración de Isoproterenol por vía subcutánea.

### 6.2 Particulares

- ◆ Mediante la evaluación y cuantificación de pruebas bioquímicas como AST, Catepsina D y Proteínas totales evaluar el probable efecto protector de la testosterona en la prevención de lesiones tipo infarto del miocardio.
- ◆ Con ayuda de las pruebas bioquímicas ALT y Fosfatasa alcalina asegurar que los valores obtenidos de las pruebas AST, Catepsina D y Proteínas Totales se debe de forma exclusiva a lesiones tipo infarto de miocardio y no a otro tipo de padecimientos.
- ◆ Determinar la dosis de testosterona que ofrezca un mejor efecto protector contra las lesiones tipo infarto de miocardio

## 7. HIPOTESIS

Si se producen lesiones tipo infarto del miocardio debido a la administración de isoproterenol en ratas Wistar macho, y se administra un tratamiento de testosterona (vía i.m.), este propiciará un efecto protector contra el Infarto de Miocardio el cual podrá ser evaluado mediante las pruebas bioquímicas AST, Catepsina D y Proteínas Totales.

## 8. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 8.1 Material y Reactivos

- Algodón
- Agujas de 23 x 25 mm
- Balanza analítica
- Balanza granataria con canastilla
- Baño María
- Celdas para espectrofotómetro de 1 cm
- Centrifuga Beckman Avanti® J-25
- Espátula
- Espectrofotómetro Beckman DU® 650
- Estuche de disección
- Gradilla
- Hilo nylon 2.0
- Hilo catgut 2.0
- Jeringas de 1 ml (insulina)
- Jeringas de 10 ml 22x31
- Matraz aforado de 5 ml
- Matraz aforado de 10 ml
- Matraz aforado de 25 ml
- Matraz aforado de 500 ml
- Matraz aforado de 1000 ml
- Microcentrífuga Eppendorf
- Micropipeta de 20  $\mu$ l
- Micropipeta de 200  $\mu$ l
- Micropipeta de 1000  $\mu$ l
- Micropipeta de 5000  $\mu$ l
- Parafilm
- Pipeta de repetición
- Pipeta graduada de 1 ml
- Pipeta graduada de 5 ml
- Pipeta graduada de 10 ml
- Pipetas Pasteur
- Piseta
- Potter Omni 2000
- Propipeta
- Termómetro
- Tubos de ensaye
- Tubos Eppendorf para microcentrífuga
- Tubos para centrifuga Beckman Avanti® J-25
- Vasos de pp de 50 ml
- Vasos de pp de 150 ml
- Vasos de pp de 250 ml
- Vasos de pp de 500 ml

## Material Biológico

- 144 Ratas wistar machos peso aproximadamente de 230 g – 260 g
- Sangre y corazón de ratas wistar macho

## Reactivos

- Ácido cítrico
- Ácido Tricloroacético 10%
- Agua destilada
- Albúmina
- Buffer de citratos pH= 3.1
- Citrato de Sodio
- Hemoglobina 25%
- Hidróxido de Sodio 0.4 M
- Hidróxido de Sodio 0.5 M
- Isoproterenol SIGMA
- Kit de fosfatasa alcalina Hycel
- Kit de AST Merck
- Kit de ALT Merck
- Reactivo de Bradford filtrado
- Reactivo de Folin-Ciocalteus
- Sacarosa 0.25M
- Solución salina fisiológica
- Testosterona SIGMA

## 8.2 Diseño Experimental.

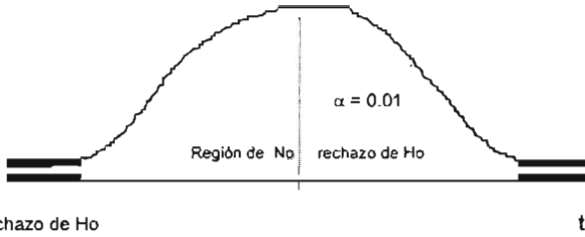
Se trabajaron 12 lotes diferentes, 6 de ellos lotes problema cada uno con 16 ratas y 6 lotes de referencia (blanco), cada uno con 8 ratas, como se muestra a continuación en la siguiente tabla:

**Tabla 4.** Muestra el tamaño y tipo de tratamiento de los lotes utilizados en este trabajo

Lote	Tamaño de Lote	Tratamiento
1) Problema gonadectomizado	16 ratas	Adm. de Test. 1ng/ ml de sangre (tres días) e Iso 120 mg/Kg de peso ( 2 días)
2) Problema gonadectomizado	16 ratas	Adm. de Test. 10 ng/ ml de sangre (tres días) e Iso 120 mg/Kg de peso ( 2 días)
3) Problema gonadectomizado	16 ratas	Adm. de Test. 100 ng/ ml de sangre (tres días) e Iso 120 mg/Kg de peso ( 2 días)
4) Problema no gonadectomizado	16 ratas	Adm. de Test. 1ng/ ml de sangre (tres días) e Iso 120 mg/Kg de peso ( 2 días)
5) Problema no gonadectomizado	16 ratas	Adm. de Test. 10 ng/ ml de sangre (tres días) e Iso 120 mg/Kg de peso ( 2 días)
6) Problema no gonadectomizado	16 ratas	Adm. de Test. 100 ng/ ml de sangre (tres días) e Iso 120 mg/Kg de peso ( 2 días)
7) Blanco gonadectomizado	8 ratas	Adm. de Test. 10 ng/ ml de sangre (tres días)
8) Blanco gonadectomizado	8 ratas	Adm. de Iso 120 mg/Kg de peso (2 días)
9) Blanco gonadectomizado	8 ratas	Sin administración
10) Blanco no gonadectomizado	8 ratas	Adm. de Test. 10 ng/ ml de sangre (tres días)
11) Blanco no gonadectomizado	8 ratas	Adm. de Iso 120 mg/Kg de peso (2 días)
12) Blanco no gonadectomizado	8 ratas	Sin administración







Cuando se rechaza una hipótesis nula, se dice que el coeficiente de correlación lineal "r", es significativo y que las 2 variables bajo estudio están correlacionadas en la población, con  $(1 - \alpha)$  100% de confiabilidad.

### 8.2.2 Metodos no paramétricos

La estadística no paramétrica reúne una serie de métodos descriptivos e inferenciales, las condiciones que requieren se refiere al tipo de variable y al tamaño de la muestra, pero no a la distribución de la variable en la población ni a parámetros poblacionales. Esto es, no es necesario hacer suposiciones, por lo que las conclusiones obtenidas mediante un método no paramétrico no requieren de la advertencia "si las suposiciones hechas son verdaderas,...." Es frecuente que para cada tipo general de problema existan varios métodos aplicables a distintos tipos de variables, o en su caso, a distintos tamaños de muestra. Por ello, cuando se tiene un problema y un conjunto de datos, casi siempre es factible elegir un método no paramétrico que permite analizarlo estadísticamente.

Métodos no paramétricos:

Medidas descriptivas de tendencia central: moda y mediana.

La moda de un conjunto de datos es el valor (o los valores) que se presenta(n) con mayor frecuencia y es una medida de tendencia central aplicable a datos de variables de cualquier tipo.

La mediana de un conjunto de datos es el valor (o los valores) de la variable que ocupa(n) el (los) lugar(es) central(es) cuando se han colocado los datos en orden de magnitud y es una medida de tendencia central aplicable a datos de variables categóricas ordinales o numéricas.

Los conceptos de rango y empate son importantes dentro de la estadística no paramétrica denotando sentido de lugar o jerarquía.

La importancia de la estadística no paramétrica radica, sobre todo, en que proporciona alternativas de gran utilidad para la inferencia estadística, para la comparación de dos poblaciones según si la variable es nominal, ordinal o numérica, si las muestras son muy pequeñas o no y dependiendo también del tipo de hipótesis que se haga acerca de las dos poblaciones.

### 8.2.3 La prueba H de Kruska-Wallis: una alternativa al análisis de varianza para muestras independientes.

La única condición que exige esta prueba es que la variable sea por lo menos ordinal; es decir, que sea categórica ordinal, numérica discreta o numérica continua.

Esta prueba solo indica cuando se rechaza la hipótesis nula, que las tendencias centrales no son iguales, pero no indica si esto es por que todas son distintas, porque sólo una destaca del resto, etc.

Existen pruebas para hacer comparaciones múltiples cuando la prueba H de Kruskal-Wallis indica un rechazo de la hipótesis nula.

Si se tiene  $\kappa$  poblaciones (con  $\kappa \geq 3$ ) cuyos elementos son valores de una variable ordinal o numérica, y si se tiene una hipótesis nula de la forma

$H_0$ = Las tendencias centrales de las  $\kappa$  poblaciones son iguales,

entonces un estadístico de prueba cuando se cuenta con muestras extraídas independientemente de cada población es el de la prueba H de Kruskal-Wallis:

$$H_c = \frac{12/n(n+1) \sum_{j=1}^{\kappa} (R_j^2 / n_j) - 3(n+1)}{1 - E/n^3 - n}$$

donde  $n_j$  y  $R_j$  son el tamaño y la suma de los rangos de la  $j$ -ésima muestra,  $n=n_1 + n_2 + \dots + n_\kappa$  y  $E$  es la corrección por empates calculada como  $E = \sum(e^3 - e)$  cuando  $e$  es

el número de observaciones empatadas en cada empate. Si  $H_0$  es cierta, la distribución de  $H_c$  es la distribución "H de Kruskal-Wallis" para  $\kappa$ .

Para una  $\alpha$  determinada, la regla de decisión está dada por la siguiente región de rechazo de  $H_0$ :

$$[H_{(\kappa)}, \infty >$$

donde  $H_{(\kappa)}$  es el valor en la tabla de distribución "H de Kruskal-Wallis" para  $\alpha$  y  $\kappa$  (si  $\kappa=3$ ,  $H_{(3)}$  es el valor de la distribución de H para  $n_1, n_2,$  y  $n_3$ ).

#### 8.2.4 Prueba de Bonferroni

Esta prueba se realiza cuando no hay homogeneidad de varianza, si la F estadística para datos iguales del análisis de varianza ANOVA es no significativa (este análisis está basado en la suposición que la población de datos tiene aproximadamente iguales desviaciones estándares o iguales varianzas), se debería usar un método multivariante, como es el método de Bonferroni (39).

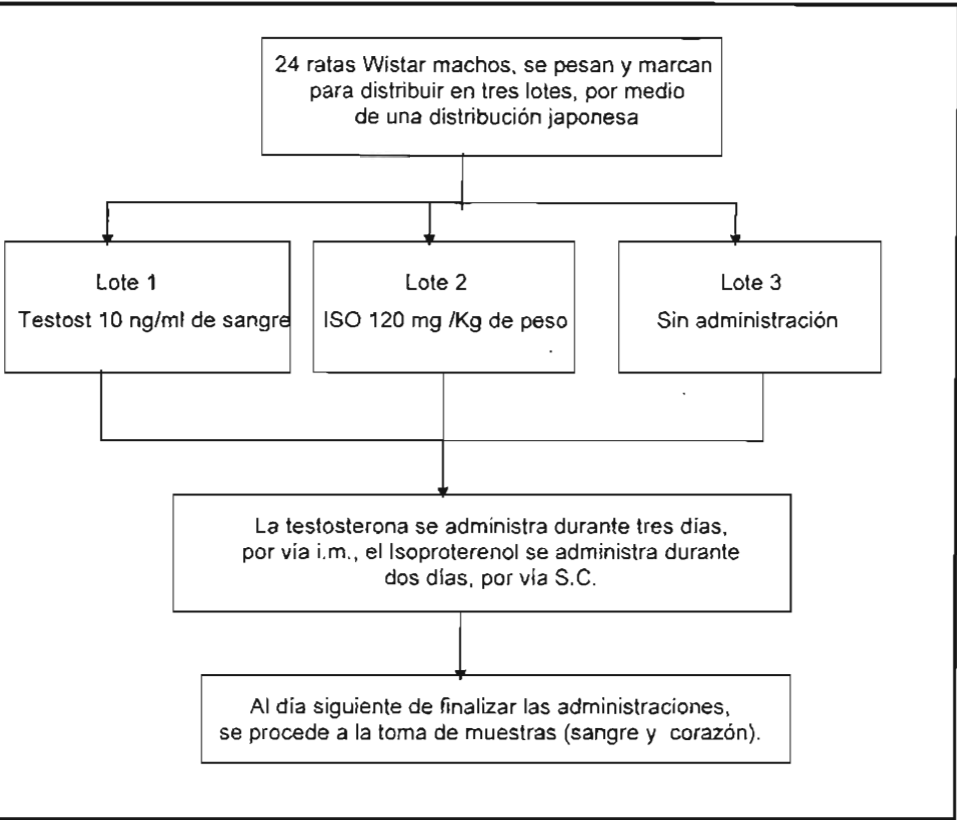
## 8.3 METODOLOGIA

### 8.3.1 Animales no gonadectomizados (BLANCO).

- 1.- Pesar 24 ratas machos Wistar.
- 2.- Con ayuda de ácido plúrico marcar los animales con diferentes combinaciones, cuidando de no repetirlos,
- 3.- Distribuir las ratas en tres grupos o lotes de ocho, por medio de una distribución culebra japonesa.
- 4.- Identificar cada uno de los tres contenedores en donde se resguardarán las ratas, con las siguientes leyendas:
  - Testosterona 10 ng/ml de sangre
  - Isoproterenol 120 mg / Kg de peso
  - Sin administraciónEsto indica la sustancia a administrar y la concentración para cada lote de animales.
- 5.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales del lote 1 para conocer la cantidad de testosterona a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kilogramo de peso se consideran 58 ml de sangre.
- 6.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales del lote 2 para conocer la cantidad de Isoproterenol a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kg de peso se administrarán 120 mg de Isoproterenol.
- 7.- Los animales del lote 3 serán animales blanco y servirán de referencia para comparar los valores de las pruebas bioquímicas de los animales del lote 1 y 2.
- 8.- La administración de la testosterona se realizará durante tres días y la administración del Isoproterenol durante dos días, debiendo iniciar primero la administración de la testosterona y un día después iniciar la administración del Isoproterenol.
- 9.- Administrar por vía intramuscular a los animales del lote 1 la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 5.
- 10.- Administrar a los animales del lote 2 por vía subcutánea la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 6.
- 11.- Un día después de la tercera administración de Testosterona y de la segunda administración de Isoproterenol, sacrificar los animales (esto se realizará dejando los animales en una cámara con Cloroformo, para que por sobredosis muera el animal).
- 12.- Colocar el animal muerto (previamente en la cámara de Cloroformo) en una tabla de sacrificio, con ayuda de una jeringa de 1 ml realizar punzón cardíaca y obtener toda la sangre posible.
- 13.- Con ayuda de un bisturí y tijeras de cirujano proceder a abrir la caja torácica y extraer el corazón, lavar el corazón en solución salina Fisiológica.
- 14.- Cortar el ventrículo izquierdo del corazón y congelar en solución de sacarosa.

**NOTA:** La administración de Testosterona inicia un día antes de la administración de Isoproterenol, con la finalidad de tener una cantidad de testosterona circulando en el organismo, y si se cumple la hipótesis del presente trabajo, tener un efecto protector contra la lesión tipo infarto que se originará por la administración de Isoproterenol.

Diagrama de flujo:

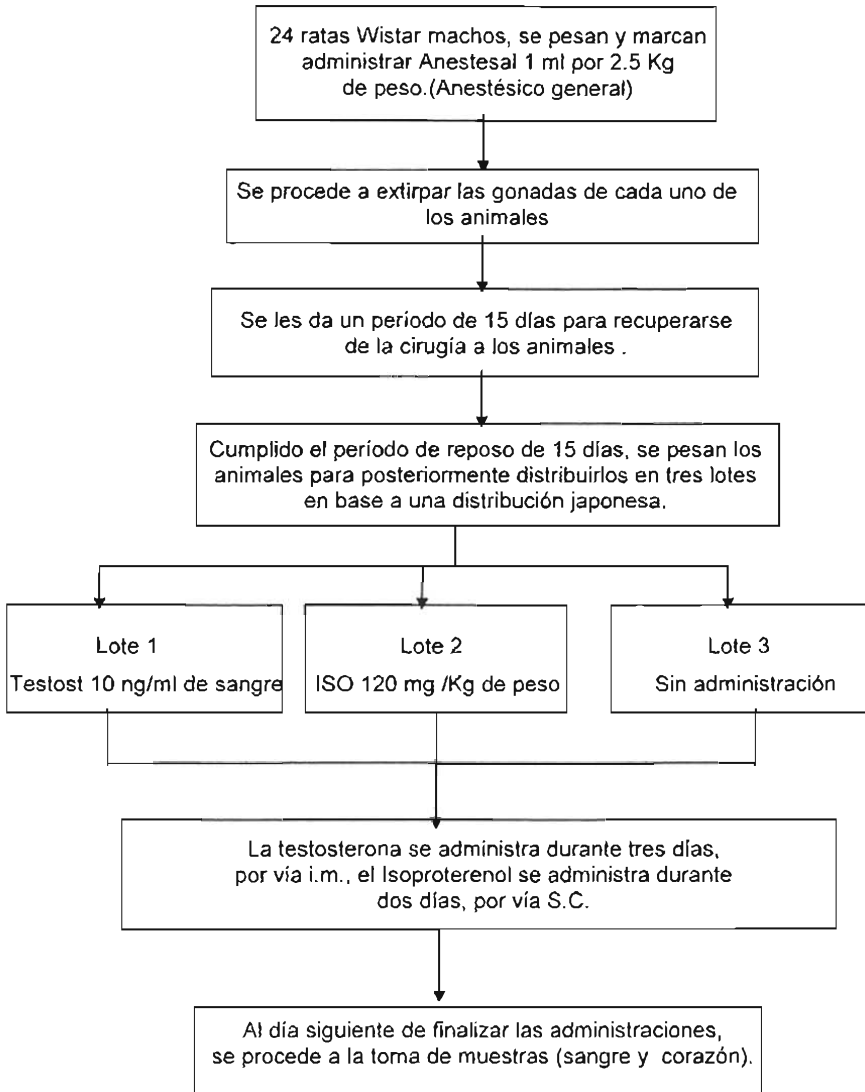


### 8.3.2 Animales gonadectomizados (BLANCO).

- 1.- Pesar 24 ratas machos Wistar.
  - 2.- Con ayuda de ácido plúrico marcar los animales con diferentes combinaciones, cuidando de no repetirlos.
  - 3.- Se administra por vía intra peritoneal el anestésico Anestosal en una dosis de 1 ml por cada 2.5 Kg de peso del animal.
  - 4.- Realizar una incisión y extirpar las gónadas, suturar con hilo cat-gut.
  - 5.- Se da un período de reposo de 15 días calendario y se pesan los animales.
  - 6.- Distribuir las ratas en tres grupos o lotes de ocho, por medio de una distribución culebra japonesa.
  - 7.- Identificar cada uno de los tres contenedores en donde se resguardarán las ratas, con las siguientes leyendas:
    - Testosterona 10 ng/ml de sangre
    - Isoproterenol 120 mg / Kg de peso
    - Sin administración
- Esto indica la sustancia a administrar y la concentración para cada lote de animales.
- 8.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales del lote 1 para conocer la cantidad de testosterona a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kilogramo de peso se consideran 58 ml de sangre.
  - 9.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales del lote 2 para conocer la cantidad de Isoproterenol a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kg de peso se administrarán 120 mg de Isoproterenol.
  - 10.- Los animales del lote 3 serán animales blanco y servirán de referencia para comparar los valores de las pruebas bioquímicas de los animales del lote 1 y 2.
  - 11.- La administración de la testosterona se realizará durante tres días y la administración del Isoproterenol durante dos días, debiendo iniciar primero la administración de la testosterona y un día después iniciar la administración del Isoproterenol.
  - 12.- Administrar por vía intramuscular a los animales del lote 1 la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 5.
  - 13.- Administrar a los animales del lote 2 por vía subcutánea la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 6.
  - 14.- Un día después de la tercera administración de Testosterona y de la segunda administración de Isoproterenol, sacrificar los animales (esto se realizará dejando los animales en una cámara con Cloroformo, para que por sobredosis muera el animal).
  - 15.- Colocar el animal muerto (previamente en la cámara de Cloroformo) en una tabla de sacrificio, con ayuda de una jeringa de 1 ml realizar punzón cardíaca y obtener toda la sangre posible.
  - 16.- Con ayuda de un bisturí y tijeras de cirujano proceder a abrir la caja torácica y extraer el corazón, lavar el corazón en solución salina Fisiológica.
  - 17.- Cortar el ventrículo izquierdo del corazón y congelar en solución de sacarosa.

**NOTA:** La administración de Testosterona inicia un día antes de la administración de Isoproterenol, con la finalidad de tener una cantidad de testosterona circulando en el organismo, y si se cumple la hipótesis del presente trabajo, tener un efecto protector contra la lesión tipo infarto que se originará por la administración de Isoproterenol.

## Diagrama de flujo



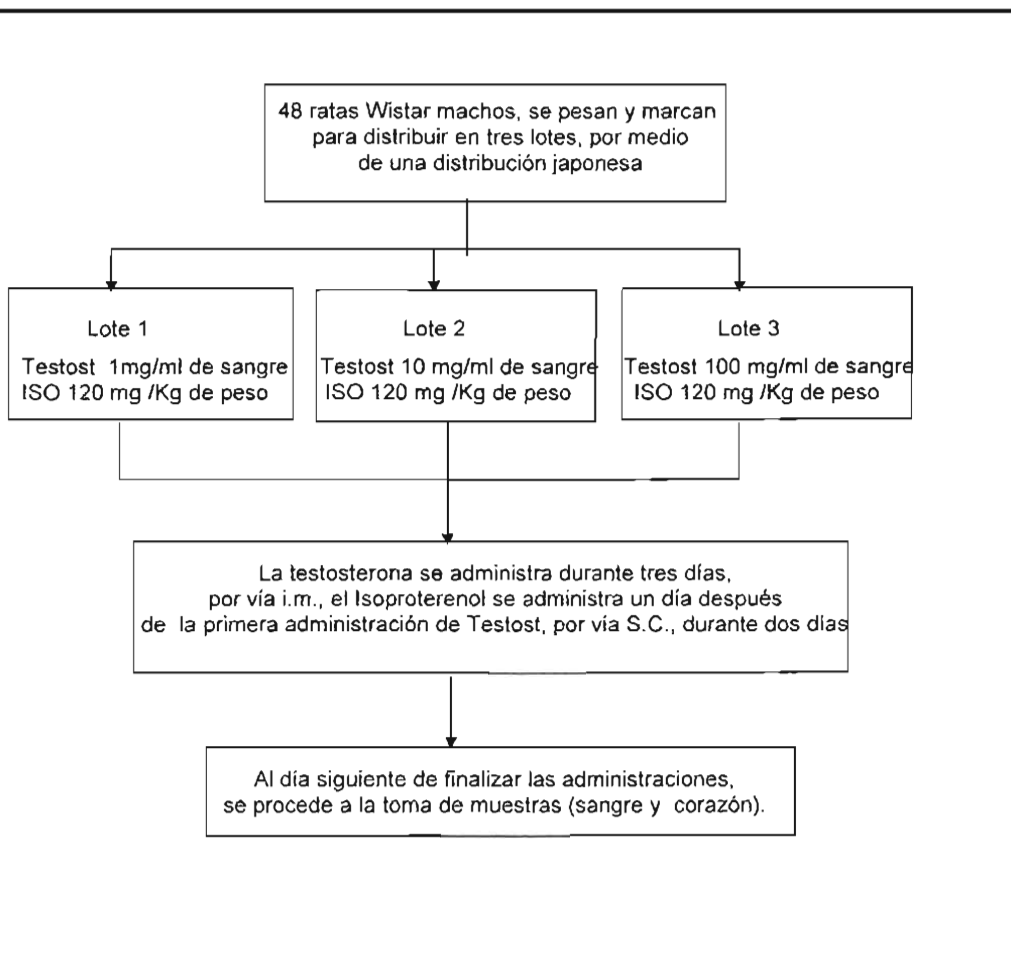


### 8.3.3 Animales no gonadectomizados (PROBLEMA).

- 1.- Pesar 48 ratas machos Wistar.
- 2.- Con ayuda de ácido plúrico marcar los animales con diferentes combinaciones, cuidando de no repetirlos.
- 3.- Distribuir las ratas en tres grupos o lotes de dieciséis, por medio de una distribución culebra japonesa.
- 4.- Identificar cada uno de los tres contenedores en donde se resguardarán las ratas, con las siguientes leyendas:
  - Testosterona 1 ng/ml de sangre e Isoproterenol 120 mg / Kg de peso
  - Testosterona 10 ng/ml de sangre e Isoproterenol 120 mg / Kg de peso
  - Testosterona 100 ng/ml de sangre e Isoproterenol 120 mg / Kg de pesoEsto indica la sustancia a administrar y la concentración para cada lote de animales.
- 5.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales de cada lote para conocer la cantidad de testosterona a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kilogramo de peso se consideran 58 ml de sangre.
- 6.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales de cada lote para conocer la cantidad de Isoproterenol a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kg de peso se administrarán 120 mg de Isoproterenol.
- 7.- La administración de la testosterona se realizará durante tres días y la administración del Isoproterenol durante dos días, debiendo iniciar primero la administración de la testosterona y un día después iniciar la administración del Isoproterenol
- 8.- Administrar por vía intramuscular a los animales de cada lote la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 5.
- 9.- Administrar a los animales del lote 2 por vía subcutánea la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 6.
- 10.- Un día después de la tercera administración de Testosterona y de la segunda administración de Isoproterenol, sacrificar los animales (esto se realizará dejando los animales en una cámara con Cloroformo, para que por sobredosis muera el animal).
- 11.- Colocar el animal muerto (previamente en la cámara de Cloroformo) en una tabla de sacrificio, con ayuda de una jeringa de 1 ml realizar punzón cardíaca y obtener toda la sangre posible.
- 12.- Con ayuda de un bisturí y tijeras de cirujano proceder a abrir la caja torácica y extraer el corazón, lavar el corazón en solución salina Fisiológica.
- 13.- Cortar el ventrículo izquierdo del corazón y congelar en solución de sacarosa.

**NOTA:** La administración de Testosterona inicia un día antes de la administración de Isoproterenol, con la finalidad de tener una cantidad de testosterona circulando en el organismo, y si se cumple la hipótesis del presente trabajo, tener un efecto protector contra la lesión tipo infarto que se originará por la administración de Isoproterenol.

## Diagrama de flujo

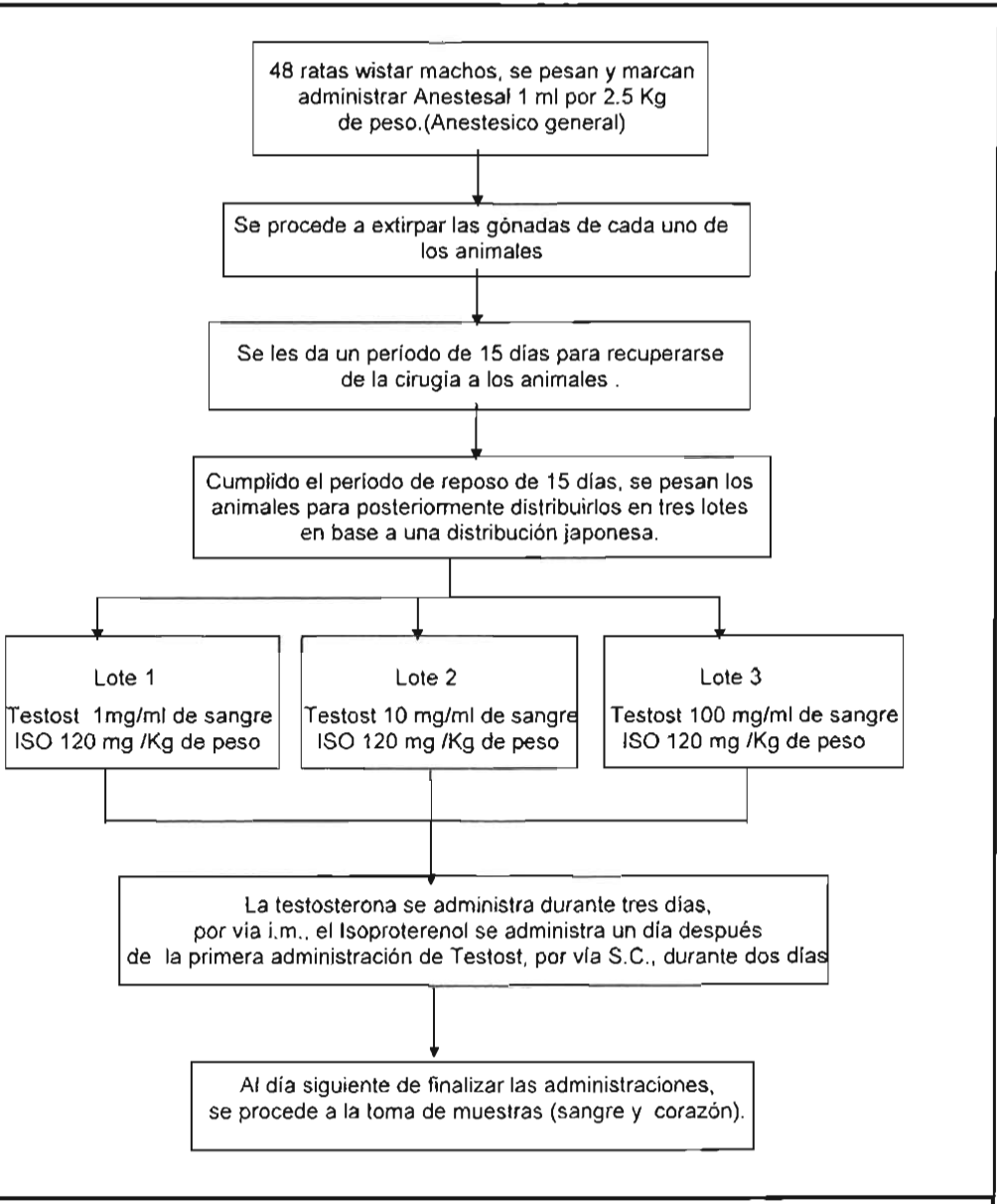


### 8.3.4 Animales gonadectomizados(PROBLEMA).

- 1.- Pesar 48 ratas machos Wistar.
- 2.- Con ayuda de ácido pícrico marcar los animales con diferentes combinaciones, cuidando de no repetirlos.
- 3.- Se administra por vía intra peritoneal el anestésico Anestosal en una dosis de 1 ml por cada 2.5 Kg de peso del animal.
- 4.- Realizar una incisión y extirpar las gónadas, suturar con hilo cat-gut.
- 5.- Se da un período de reposo de 15 días calendario y se pesan los animales.
- 6.- Distribuir las ratas en tres grupos o lotes de dieciséis, por medio de una distribución culebra japonesa.
- 7.- Identificar cada uno de los tres contenedores en donde se resguardarán las ratas, con las siguientes leyendas:
  - Testosterona 1 ng/ml de sangre e Isoproterenol 120 mg / Kg de peso
  - Testosterona 10 ng/ml de sangre e Isoproterenol 120 mg / Kg de peso
  - Testosterona 100 ng/ml de sangre e Isoproterenol 120 mg / Kg de pesoEsto indica la sustancia a administrar y la concentración para cada lote de animales.
- 8.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales de cada lote para conocer la cantidad de testosterona a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kilogramo de peso se consideran 58 ml de sangre.
- 9.- Realizar los cálculos en base al peso de los animales de cada lote para conocer la cantidad de Isoproterenol a administrar, teniendo en cuenta la relación de que por cada Kg de peso se administrarán 120 mg de Isoproterenol.
- 10.- La administración de la testosterona se realizará durante tres días y la administración del Isoproterenol durante dos días, debiendo iniciar primero la administración de la testosterona y un día después iniciar la administración del Isoproterenol
- 11.- Administrar por vía intramuscular a los animales de cada lote la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 8.
- 12.- Administrar a los animales del lote 2 por vía subcutánea la cantidad de testosterona obtenida del cálculo del paso 9.
- 13.- Un día después de la tercera administración de Testosterona y de la segunda administración de Isoproterenol, sacrificar los animales (esto se realizará dejando los animales en una cámara con Cloroformo, para que por sobredosis muera el animal).
- 14.- Colocar el animal muerto (previamente en la cámara de Cloroformo) en una tabla de sacrificio, con ayuda de una jeringa de 1 ml realizar punzón cardíaca y obtener toda la sangre posible.
- 15.- Con ayuda de un bisturí y tijeras de cirujano proceder a abrir la caja torácica y extraer el corazón, lavar el corazón en solución salina Fisiológica.
- 16.- Cortar el ventrículo izquierdo del corazón y congelar en solución de sacarosa.

**NOTA:** La administración de Testosterona inicia un día antes de la administración de Isoproterenol, con la finalidad de tener una cantidad de testosterona circulando en el organismo, y si se cumple la hipótesis del presente trabajo, tener un efecto protector contra la lesión tipo infarto que se originará por la administración de Isoproterenol.

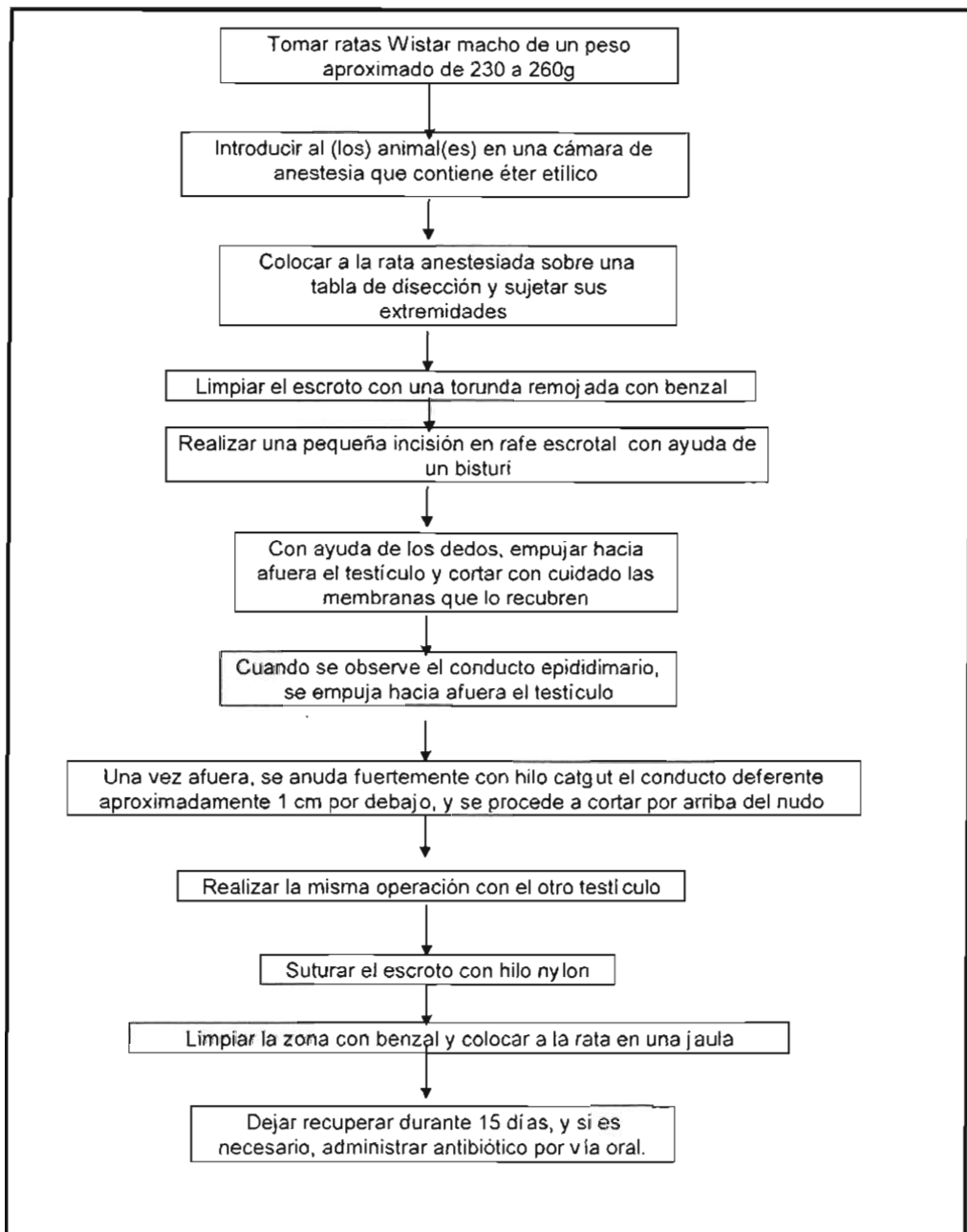
Diagrama de flujo



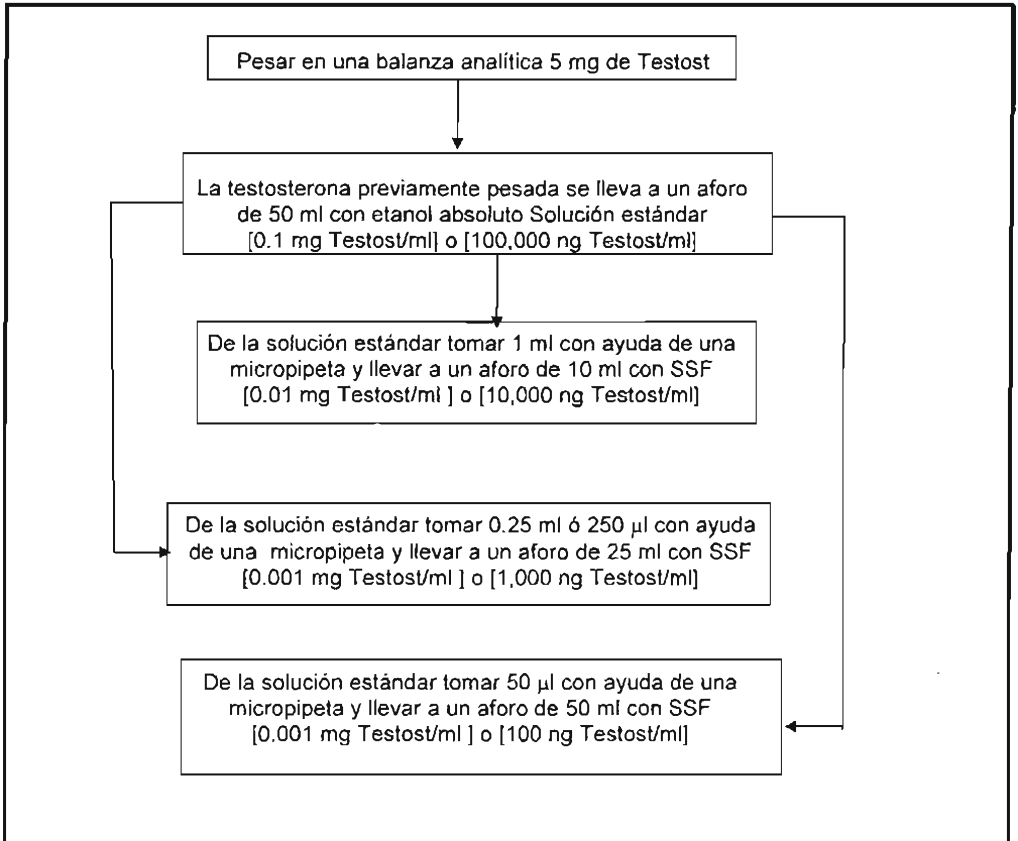
### 8.3.5 Extirpación de gónadas (Castración).

1. Pesar las ratas Wistar Macho que se vayan a utilizar para cada prueba.
2. Todos los animales deben tener un peso aproximado entre 230 g – 260 g, en caso que alguno de los animales pesados no se encuentre dentro de este rango, retirarlo del estudio e incluir un animal con el peso indicado anteriormente.
3. Colocar en una cámara de anestesia una torunda de algodón, impregnada con éter etílico e introducir un animal en la cámara de anestesia.
4. Una vez que el animal este inconsciente, retirarlo de la cámara de anestesia
5. Colocar el animal, sobre una tabla de cirugía y sujetarlo de las extremidades.
6. Limpiar el escroto con ayuda de una torunda de algodón remojada en benzal.
7. Con ayuda de un bisturí, realizar una pequeña incisión en rafe escrotal con ayuda de un bisturí.
8. Empujar con los dedos hacia fuera el testículo y cortar con el bisturí las membranas que lo recubren.
9. Cuando se observe el conducto epididimario se empuja hacia fuera el testículo.
10. Una vez afuera, se anuda fuertemente con hilo catgut el conducto deferente, aproximadamente un cm por debajo y se procede a cortar por arriba del nudo.
11. Repetir los pasos 8 – 10 para extirpar es otro testículo.
12. Suturar el escroto con hilo nylon.
13. Limpiar la zona de la incisión con benzal y colonar el animal en su jaula.
14. Dejar recuperar de la cirugía al animal por un periodo de 15 días. Si es necesario administrar antibiótico por vía oral.

## Diagrama de flujo



### 8.3.6 Preparación de las soluciones de testosterona



ng = nanogramos

µl = microlitros

Testost = Testosterona

ml = mililitros

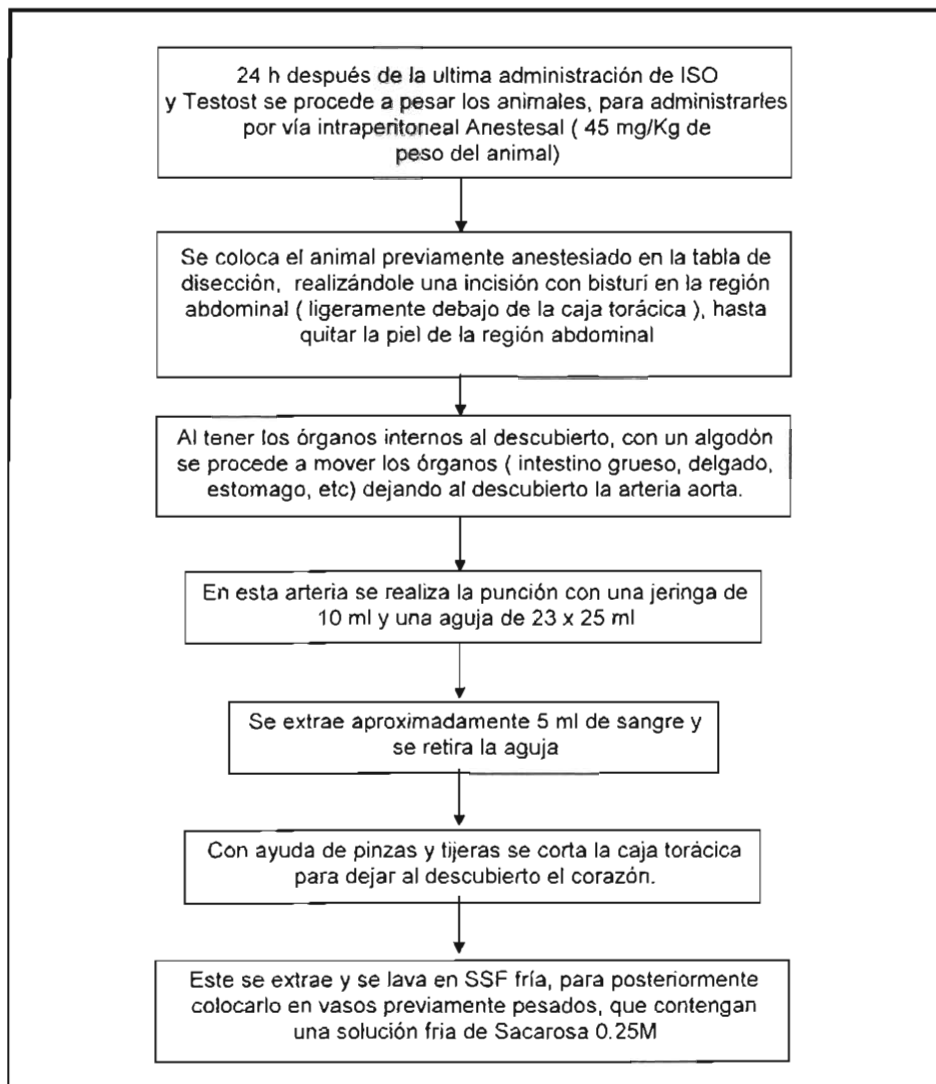
SSF = Solución Salina Fisiológica

### 8.3.7 Toma de muestras (sangre y corazón)

1. Veinticuatro horas posteriores a la administración de Testosterona e Isoproterenol, se pesan los animales.
2. Se realiza el cálculo para administrar por vía intraperitoneal, el anestésico (Anestesal), en una dosis de 1 ml por cada 2.5 Kg de peso del animal.
3. Una vez que se encuentra el animal anestesiado, se coloca en una tabla de disección y se sujeta por las extremidades.
4. Con ayuda de un bisturí realizar una incisión en la región abdominal del animal, esta incisión es ligeramente debajo de la caja torácica, retirar la piel de la región abdominal hasta tener al descubierto los órganos internos.
5. Con un algodón remover los órganos (intestino grueso, intestino delgado, estómago, etc) dejando al descubierto la arteria aorta.
6. Con ayuda de una jeringa de 10 ml y una aguja de 23 x 25 ml realizar una punción en la arteria aorta.
7. Extraer aproximadamente 5 ml de sangre y retirar la aguja de la arteria.
8. A varios vasos de precipitados vaciarles solución fría de Sacarosa al 0.25 M y pesarlos, documentar este valor como peso tara.
9. Con ayuda de pinzas y tijeras se corta la caja torácica, para dejar al descubierto el corazón.
10. Se extrae el corazón y se lava en SSF fría.
11. Una vez lavado el corazón, se coloca este en el vaso de precipitados con sacarosa previamente pesado y por diferencia de pesos se obtiene el peso del corazón extraído.



## Diagrama de flujo



Testost = Testosterona

ml = mililitros

SSF = Solución Salina Fisiológica

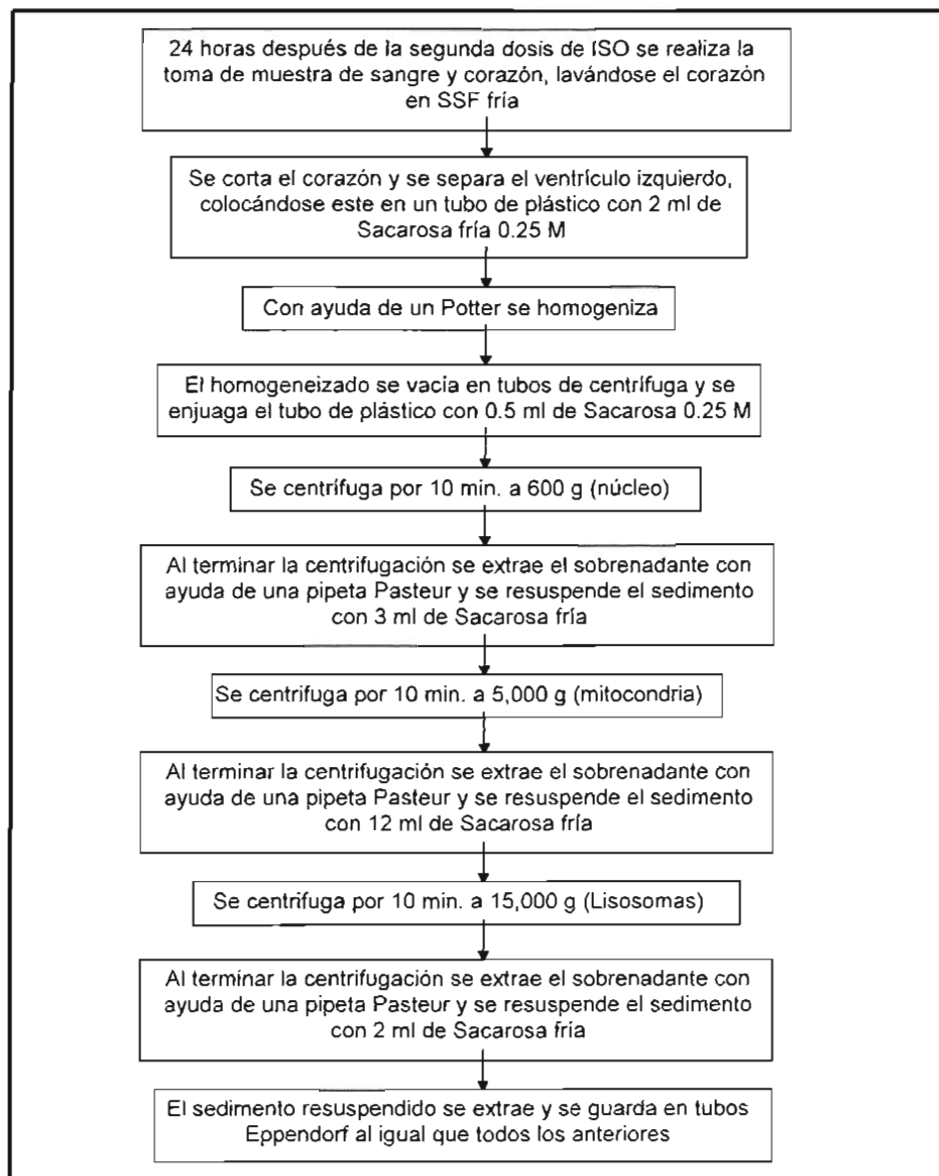
ISO = Isoproterenol

M = molar

### 8.3.8 Homogeneizado de corazón.

1. Veinticuatro horas posteriores a la administración de Testosterona e Isoproterenol, se realiza la toma de sangre y corazón (ver metodología 8.3.7 Toma de muestras).
2. Se coloca el corazón previamente pesado en una caja Petri y con ayuda de unas tijeras y bisturí se separa el ventrículo izquierdo y se coloca en un tubo de plástico con 2 ml de sacarosa fría al 0.25 M.
3. Con ayuda de un Potter se homogeniza el corazón que se encuentra en el tubo de plástico.
4. Una vez homogenizado completamente el ventrículo izquierdo se vacía este en tubos de centrifuga y se enjuaga el tubo de plástico donde se homogeneizó el corazón con 0.5 ml de Sacarosa al 0.25 M y se vierte en los tubos de centrifuga.
5. Se ajustan los pesos de los tubos por parejas para poder centrifugar.
6. Se centrifuga por 10 min. a 600 g
7. Al terminar la centrifugación se extrae el sobrenadante con ayuda de una pipeta Pasteur y se guarda en tubos Eppendorf, el sedimento se resuspende con 3 ml de Sacarosa 0.25 M fría.
8. Se ajustan los pesos de los tubos por parejas para poder centrifugar.
9. Se centrifuga por 10 min. a 5000 g
10. Al terminar la centrifugación se extrae el sobrenadante con ayuda de una pipeta Pasteur y se guarda en tubos eppendorf, el sedimento se resuspende con 12 ml de Sacarosa 0.25 M fría.
11. Se centrifuga por 10 min. a 15000 g
12. Al terminar la centrifugación se extrae el sobrenadante con ayuda de una pipeta Pasteur y se guarda en tubos Eppendorf, el sedimento se resuspende con 2 ml de Sacarosa 0.25 M fría.
13. El sedimento resuspendido se extrae y se guarda en tubos Eppendorf.

## Diagrama de flujo



### 8.3.9 Actividad de Catepsina D

#### Muestra blanco

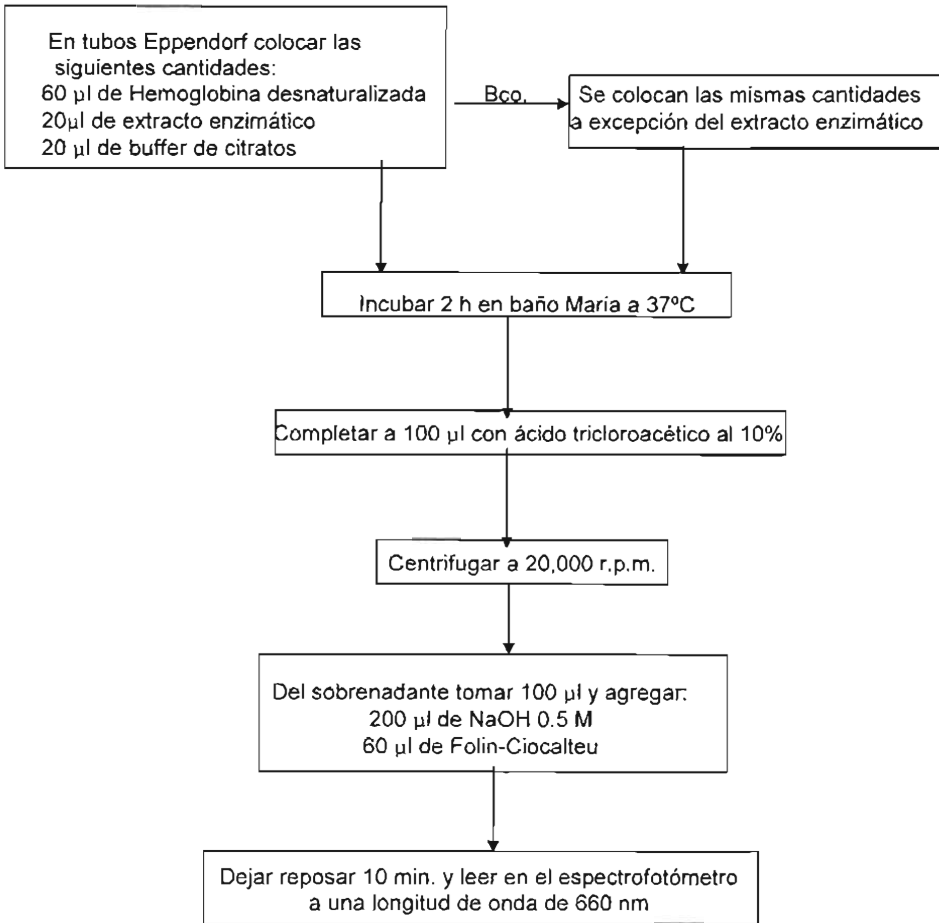
1. Etiquetar un tubo Eppendorf con la leyenda "blanco".
2. Colocar las siguientes cantidades en el tubo Eppendorf:
  - 60  $\mu$ l de Hemoglobina desnaturalizada
  - 20  $\mu$ l de buffer de citratos
3. Incubar en baño maría a 37°C durante 2 horas.
4. Una vez transcurridas las dos horas retirar el tubo Eppendorf del baño maría y colocarlo en una gradilla.
5. Con ayuda de una micropipeta adicionar al tubo Eppendorf 100  $\mu$ l de ácido tricloroacético al 10%.
6. Colocar el tubo Eppendorf en una centrifuga y a 20,000 rpm centrifugar.
7. Del sobrenadante que se genere tomar con ayuda de una micropipeta 100  $\mu$ l y agregar:
  - 200  $\mu$ l de NaOH 0.5 M
  - 60  $\mu$ l de Folin-Ciocalteu
8. Dejar reposar por 10 min. y leer en el espectrofotometro a una longitud de onda de 660 nm, el valor que se obtenga será considerado como cero para la lectura de las muestras problema.

#### Muestra Problema

1. Etiquetar un tubo Eppendorf con la leyenda de la fracción que se vaya a analizar.
2. Colocar las siguientes cantidades en el tubo Eppendorf:
  - 60  $\mu$ l de Hemoglobina desnaturalizada
  - 20  $\mu$ l de buffer de citratos
  - 20  $\mu$ l de extracto enzimático
3. Incubar en baño maría a 37°C durante 2 horas.
4. Una vez transcurridas las dos horas retirar el tubo Eppendorf del baño maría y colocarlo en una gradilla.
5. Con ayuda de una micropipeta adicionar al tubo Eppendorf 100  $\mu$ l de ácido tricloroacético al 10%.
6. Colocar el tubo Eppendorf en una centrifuga y a 20,000 rpm centrifugar.
7. Del sobrenadante que se genere tomar con ayuda de una micropipeta 100  $\mu$ l y agregar:
  - 200  $\mu$ l de NaOH 0.5 M
  - 60  $\mu$ l de Folin-Ciocalteu
8. Dejar reposar por 10 min. y leer en el espectrofotometro a una longitud de onda de 660 nm.

**Nota:** Este procedimiento es el mismo para cualquiera de las cuatro fracciones del ventrículo izquierdo que se obtuvieron por centrifugación.

## Diagrama de flujo



Bco. = Blanco

Nota: Este procedimiento es el mismo para cualquiera de las cuatro fracciones del ventrículo izquierdo que se obtuvieron por centrifugación.

Sapolsky AI, Altman RD and Howell Ds. Fedn Proc 32: 1489 –1493, 1973(31)

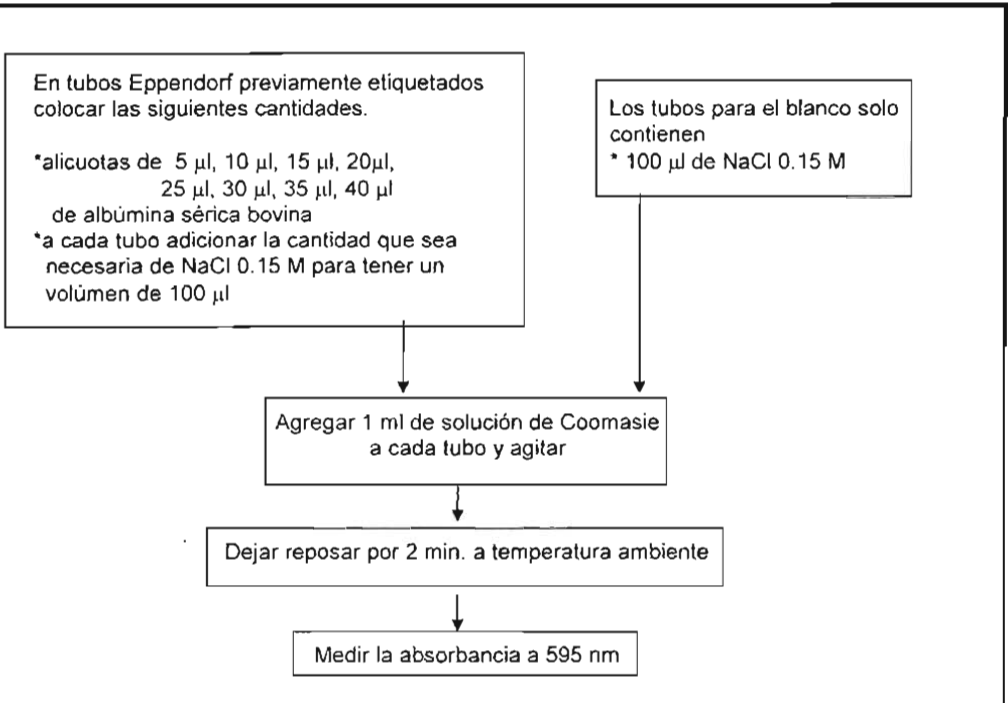
### 8.3.10 Curva estándar para Proteínas

1. En tubos Eppendorf previamente etiquetados colocar las siguientes cantidades

Alicuotas de albúmina sérica bovina	5 $\mu$ l	10 $\mu$ l	15 $\mu$ l	20 $\mu$ l	25 $\mu$ l	30 $\mu$ l	35 $\mu$ l	40 $\mu$ l
NaCl 0.15 M	95 $\mu$ l	90 $\mu$ l	85 $\mu$ l	80 $\mu$ l	75 $\mu$ l	70 $\mu$ l	65 $\mu$ l	60 $\mu$ l

2. Adicionar a un tubo Eppendorf que se utilizará como muestra blanco 100  $\mu$ l de NaCl al 0.15 M, contra este se ajustara a cero el espectofotómetro.
3. A todos los tubos adicionar 1 ml de solución de Coomasie y agitar
4. Dejar reposar por 2 minutos a temperatura ambiente
5. Ajustar el espectofotómetro a cero con la muestra blanco. Determinar la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm.
6. Leer en el espectofotómetro cada una de las muestras.
7. Trazar la curva de calibración.

Diagrama de flujo



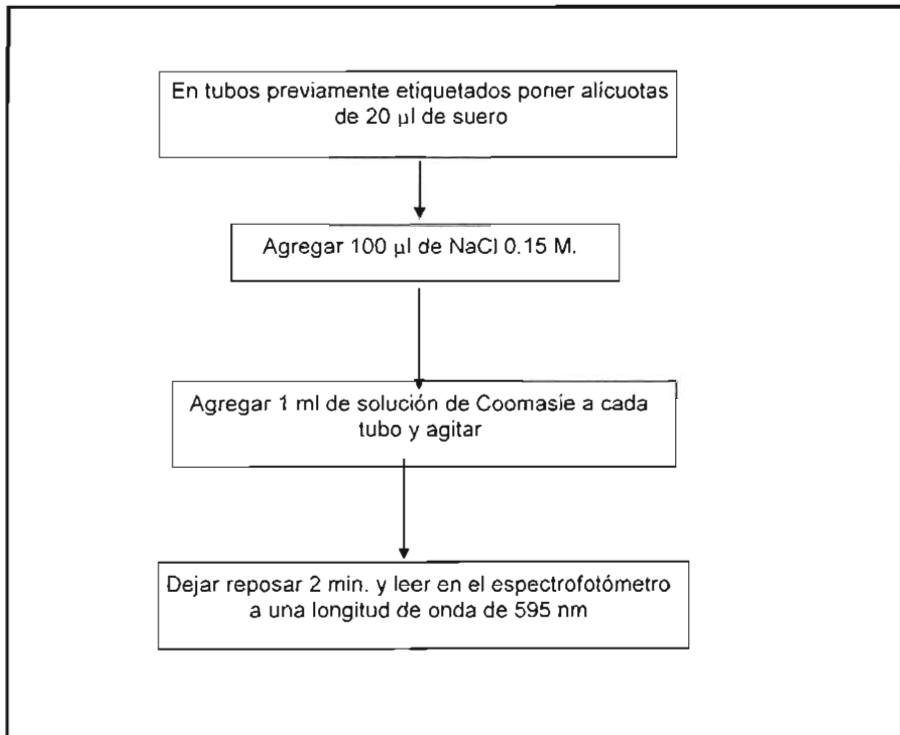
nm = nanómetros  
M = molar

min. = minutos  
 $\mu$ l = microlitros

### 8.3.11 Proteínas Totales

1. Identificar tantos tubos de ensayo como sea necesario para las muestras a cuantificar para proteínas totales.
2. A cada tubo colocarle con ayuda de una micropipeta 20  $\mu$ l de suero.
3. Posteriormente adicionar a cada uno 100  $\mu$ l de NaCl al 0.15 M.
4. Agregar a cada uno 1 ml de solución de Coomassie y agitar.
5. Dejar reposar por 2 min. y leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 595 nm.
6. Interpolar los resultados obtenidos en la curva de calibración, previamente obtenida.

#### Diagrama de flujo



### 8.3.12 Evaluación de Actividad de AST

#### CALIBRACIÓN

1. Preparar una serie de tubos de ensayo, de acuerdo con el siguiente esquema, tanto para la curva de AST como para la de ALT.

Sustancia a adicionar	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Patrón	-----	25 µl	50 µl	75 µl	100 µl
Substrato para AST o para ALT	250 µl	225 µl	200 µl	175 µl	150 µl
Agua destilada	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Reactivo de color	25 µl	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl

2. Mezclar y dejar en reposo a temperatura ambiente por 20 minutos. Luego agregar:

Sustancia a adicionar	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
NaOH	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml

3. Mezclar y dejar en reposo a temperatura ambiente por 5 minutos. El color permanecerá estable durante 60 minutos.
4. Ajustar el espectrofotómetro a cero con agua destilada. Determinar la absorbancia a una longitud de onda de 505 nm.
5. Trazar la curva de calibración, relacionando las lecturas obtenidas con los valores en unidades/ml representados en la siguiente tabla.

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
AST (unidades/ml)	0	24	61	114	190
ALT (unidades/ml)	0	28	57	97	150

#### MUESTRAS

1. Marcar tantos tubos como sea necesario con las letras AST y ALT y adicionar:

	Prueba AST	Prueba ALT
AST (unidades/ml)	125 µl	-----
ALT (unidades/ml)	-----	125 µl

2. Incubar a 37°C durante dos minutos y posteriormente adicionar:

	Prueba AST	Prueba ALT
Muestra	50 µl	50 µl

3. Mezclar e incubar por 30 minutos a 37°C, posteriormente adicionar:

	Prueba AST	Prueba ALT
Reactivo de color	125 µl	125 µl

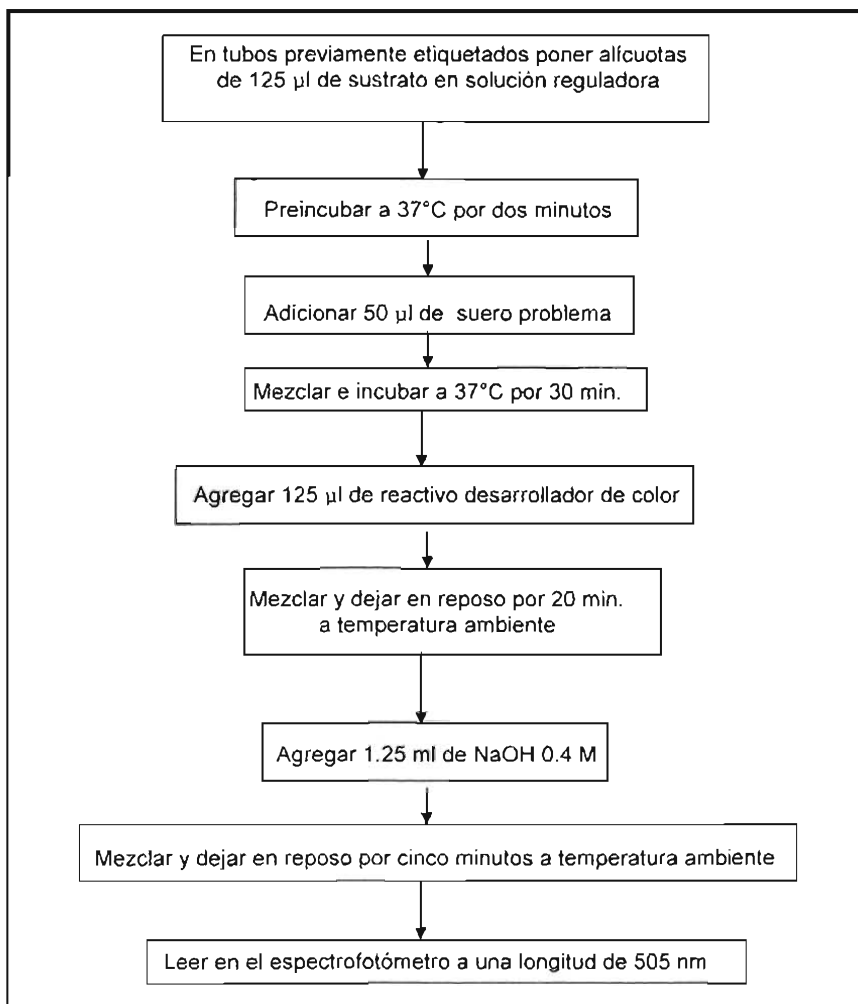
4. Mezclar y dejar en reposo por 20 minutos a temperatura ambiente, posteriormente adicionar:



	Prueba AST	Prueba ALT
NaOH	1.25 ml	1.25 ml

5. Mezclar y dejar en reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente. Medir las absorbancia a 505 nm, igualando a cero con agua destilada.
6. Interpolarias lecturas en la curva de calibración y encontrar los resultados en unidades/ml de AST y ALT

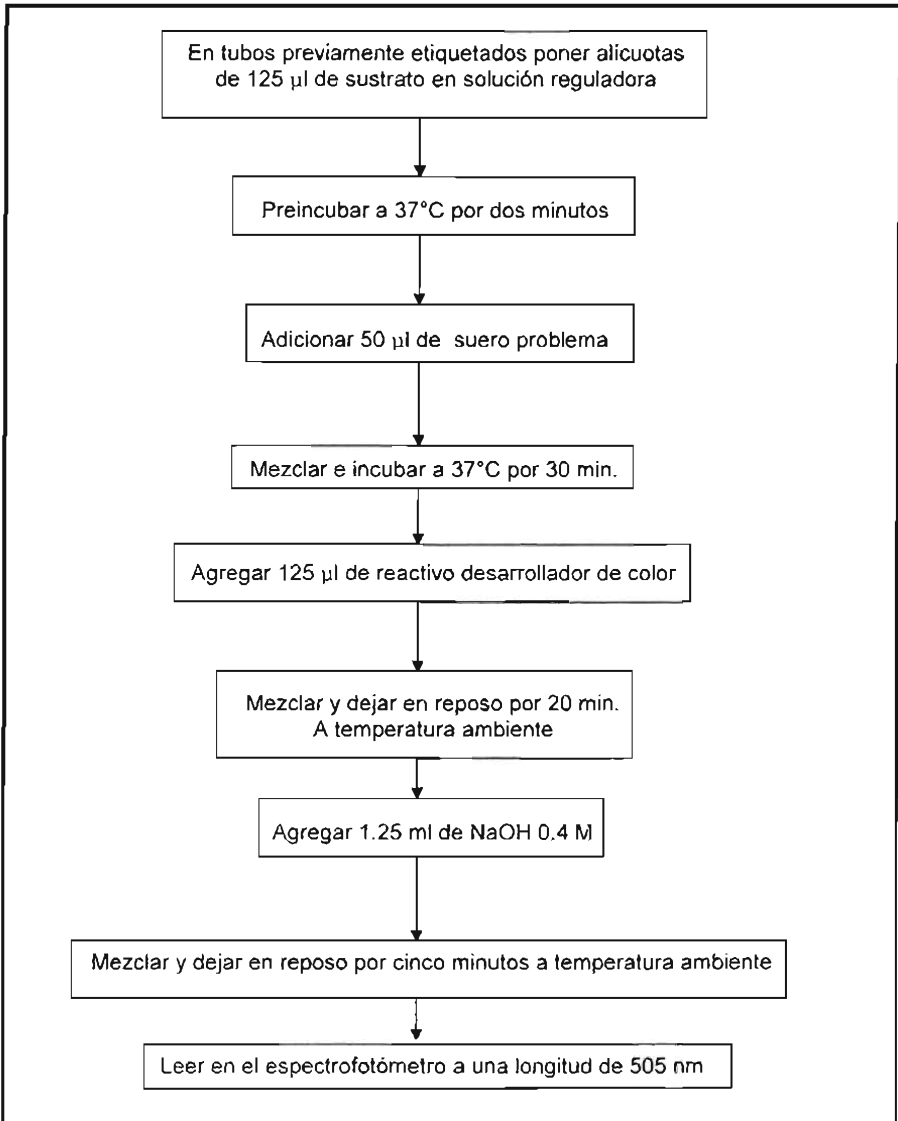
#### Diagrama de flujo AST



Procedimiento indicado en el Kit (inserto)

### 8.3.13 Evaluación de actividad de ALT

#### Diagrama de flujo

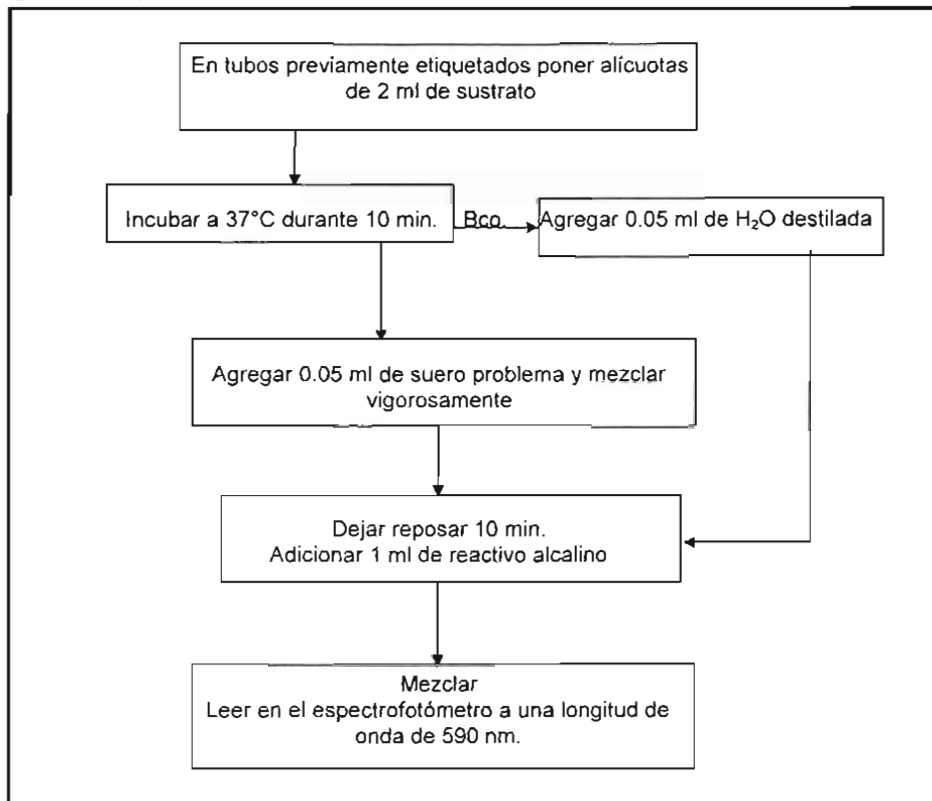


Procedimiento indicado en el Kit (inserto)

### 8.3.14 Evaluación de actividad de Fosfatasa alcalina

1. Marcar tubos de ensaye de la siguiente manera: "Blanco" y "Muestra".
2. A cada tubo poner alícuotas de 2 ml de sustrato para Fosfatasa alcalina.
3. Incubar a 37 °C a baño maria durante 10 minutos.
4. Al tubo identificado como "blanco" adicionar 0.05 ml de agua destilada, mientras que al tubo identificado como "Muestra" adicionar 0.05 ml de suero problema y agitar.
5. Dejar reposar por un intervalo de 10 min. y adicionar a cada tubo 1 ml de reactivo alcalino.
6. Mezclar inmediatamente después de haber agregado el reactivo para asegurar el paro de la reacción (el color desarrollado tiene una estabilidad de aproximadamente 24 h)
7. Leer la absorbancia de cada tubo contra el blanco en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 590 nm.

Diagrama de flujo



nm = nanómetros

ml = mililitro

min = minutos

°C = grados centígrados

Bco. = Blanco

Procedimiento indicado en el Kit (inserto)

## 9. RESULTADOS

**Tabla 5** Catepsina D Animales no Gonadectomizados (Blanco)  
( $\mu\text{mol}$  de tirosina liberada/hr/g corazón)

Grupo	Fración nuclear	Fración Mitocondrial	Fración Lisosomal	Fración Microsomal
Blanco	10.35 *	11.44 **	22.76 ***	3.43 ****
Testost 10 ng	10.61 *	11.11 **	21.73 ***	3.45 ****
ISO	13.18 *	7.07 **	14.21 ***	2.43 ****

\*  $p < 0.001$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\*  $p < 0.001$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\*\*  $p < 0.001$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\*\*\*  $p < 0.05$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

**Nota:** El análisis utilizado para todos los datos fue una prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.

**Tabla 6** Catepsina D Animales Gonadectomizados (Blanco)  
( $\mu\text{mol}$  de tirosina liberada/hr/g corazón)

Grupo	Fración nuclear	Fración Mitocondrial	Fración Lisosomal	Fración Microsomal
Blanco	10.47 *	11.50 **	22.08 ***	3.41 ****
Testost 10 ng	10.34 *	11.30 **	21.69 ***	3.45 ****
ISO	13.39 *	6.80 **	14.03 ***	2.11 ****

\*  $p < 0.001$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\*  $p < 0.001$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

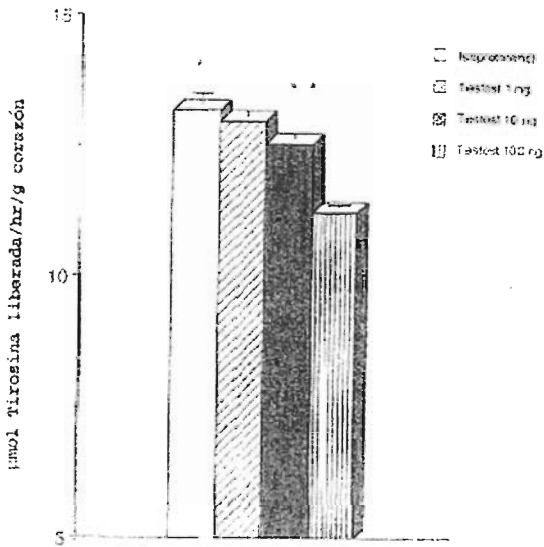
\*\*\*  $p < 0.001$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\*\*\*  $p < 0.001$  solo entre Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

**Nota:** El análisis utilizado para todos los datos fue una prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.

Los resultados de las tablas 5 y 6 son de utilidad para compararlos contra los resultados que se obtuvieron de los animales con tratamiento (testosterona + ISO). Con ayuda de estos datos, se puede observar y conocer el comportamiento de la Catepsina D de forma normal (lote blanco) o de acuerdo a la administración de solo testosterona o ISO.

## Catepsina D Fracción Nuclear (Animales no Gonadectomizados)



**Fig. 5** Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Nuclear del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

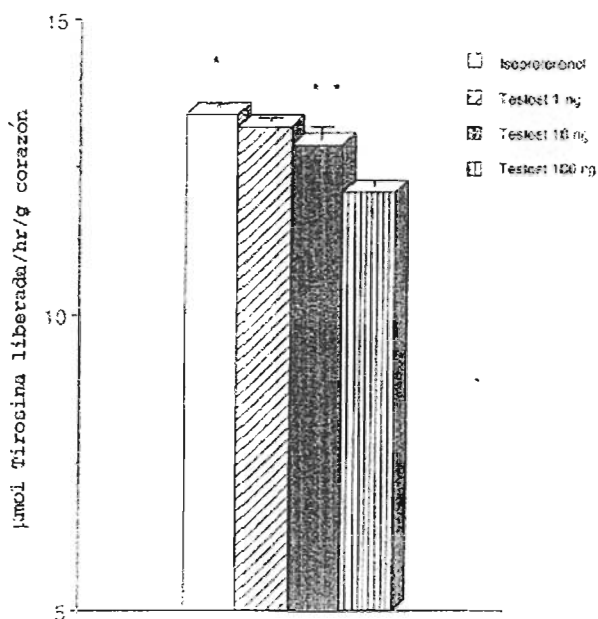
**Tabla 7** Catepsina D Animales no Gonadectomizados (Problema)  
(µmol de tirosina liberada/hr/g corazón)

Grupo	Fracción nuclear
ISO	13.18 *
Testost 1 ng + ISO	12.96 *
Testost 10 ng + ISO	12.54 *
Testost 100 ng + ISO	11.22 *

\* p < 0.05 grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

\* p < 0.05 entre grupos tratados.

## Catepsina D Fracción Nuclear (Animales Gonadectomizados)



**Fig. 6** Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Nuclear del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

**Tabla 8** Catepsina D Animales Gonadectomizados (Problema)  
(µmol de tirosina liberada/hr/g corazón)

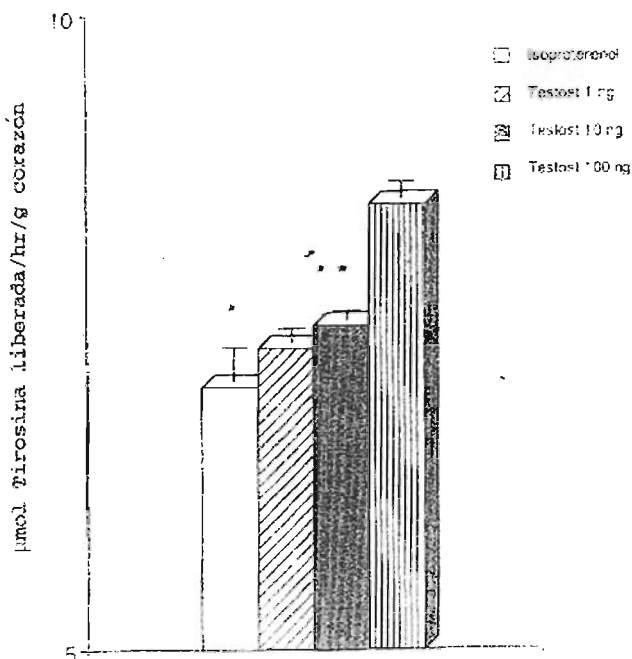
Grupo	Fracción nuclear
ISO	13.39 *
Testost 1 ng + ISO	13.19 *
Testost 10 ng + ISO	12.90 *
Testost 100 ng + ISO	12.09 *

\*  $p < 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

\*  $p < 0.05$  entre grupos tratados.

En el análisis de la actividad enzimática en las diferentes fracciones celulares, el núcleo es el lugar en donde la actividad de Catepsina D es mayor en los lotes de animales gonadectomizados y no gonadectomizados a los que solo se les administró ISO, en comparación con los lotes blanco. Pero en los lotes a los que se les administró tanto ISO como diferentes cantidades de testosterona la actividad de Catepsina D en la fracción nuclear va disminuyendo con respecto a la actividad de los lotes a los que solo se les administró ISO, dependiendo esta disminución de la cantidad de testosterona administrada y también de la testosterona producida de forma normal por las gónadas, ya que como se observa en las tablas 7 y 8 el valor de Catepsina D que se aproxima al valor ideal (lote blanco) es el valor del lote de animales No Gonadectomizados)

## Catepsina D Fracción Mitocondrial (Animales no Gonadectomizados)



**Fig. 7** Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Mitocondrial del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

**Tabla 9** Catepsina D Animales no Gonadectomizados (Problema)  
(µmol de tirošina liberada/hr/g corazón)

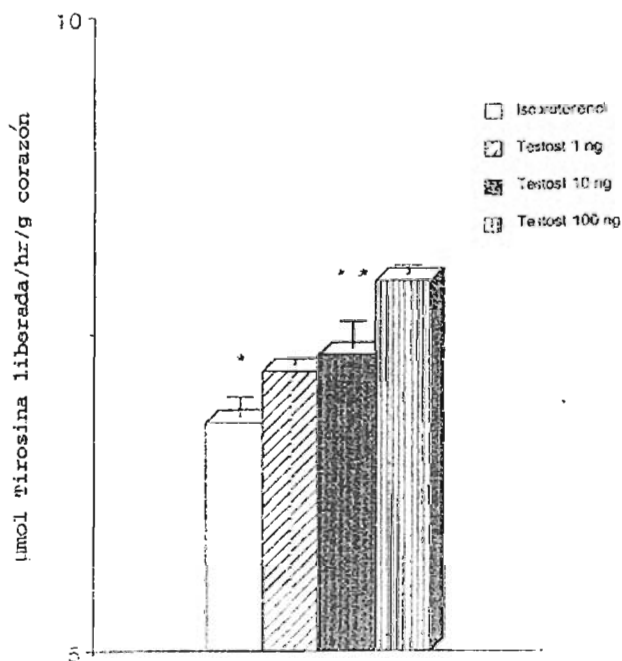
Grupo	Fracción Mitocondrial
ISO	7.07 **
Testost 1 ng + ISO	7.37 **
Testost 10 ng + ISO	7.55 **
Testost 100 ng + ISO	8.52 **

\*\* p < 0.05 grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

\*\* p < 0.001 solo entre los lotes de Testost 1 vs Testost 100 y Testost 10 vs Testost 100.



## Catepsina D Fracción Mitocondrial (Animales Gonadectomizados)



**Fig. 8** Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Mitocondrial del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

**Tabla 10** Catepsina D Animales Gonadectomizados (Problema)  
( $\mu\text{mol}$  de tirosina liberada/hr/g corazón)

Grupo	Fracción Mitocondrial
ISO	6.80 **
Testost 1 ng + ISO	7.21 **
Testost 10 ng + ISO	7.34 **
Testost 100 ng + ISO	7.92 **

\*\*  $p < 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

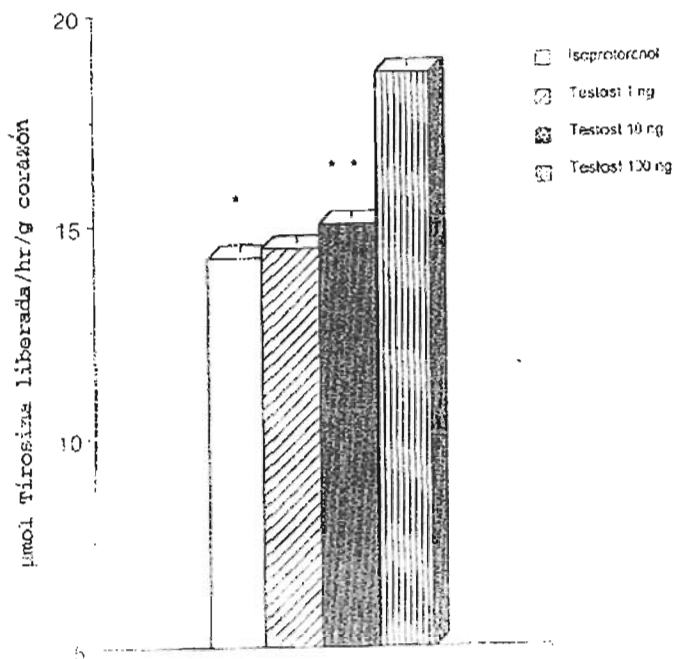
\*\*  $p < 0.001$  solo entre los lotes de Testost 1 vs Testost 100 y Testost 10 vs Testost 100.

En este proyecto de tesis es importante el análisis de la actividad de Catepsina D en la fracción mitocondrial, debido a que las mitocondrias constituyen entre un 25 y 30% de la masa total de las células que se encuentran en o forman el miocardio, además que las mitocondrias contienen todas las enzimas que intervienen en el metabolismo aeróbico completo (49).

Como podemos observar en las tablas 9 y 10 la actividad de Catepsina D en la fracción mitocondrial se ve disminuida en los lotes de animales a los se les administró ISO y se observa que la testosterona revierte esta disminución en forma dosis dependiente y por consiguiente los valores de Catepsina D de los lotes a los que se les administró testosterona 100 ng, son más cercanos a los valores de Catepsina D de los lotes blanco, pero también se ve influenciado si el animal tiene o no gónadas, ya que el valor más próximo de Catepsina D de los lotes problema con respecto al valor del lote blanco es el del lote de Animales no gonadectomizados y que se les administró Testosterona 100 ng.

Este efecto puede interpretarse como una disminución de las lesiones tipo infarto del miocardio que induce el isoproterenol y por lo tanto una disminución de la muerte del miocardio afectado.

### Catepsina D Fracción Lisosomal (Animales no Gonadectomizados)



**Fig. 9** Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Lisosomal del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

**Tabla 11** Catepsina D Animales no Gonadectomizados (Problema)  
(μmol de tirosina liberada/hr/g corazón)

Grupo	Fracción Lisosomal
ISO	14.21 ***
Testost 1 ng + ISO	14.59 ***
Testost 10 ng + ISO	15.00 ***
Testost 100 ng + ISO	18.61 ***

\*\*\* p < 0.05 grupos tratados vs grupo de animales no godadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

\*\*\* p < 0.001 solo entre los lotes de Testost 1 vs Testost 100 y Testost 10 vs Testost 100.

## Catepsina D Fracción Lisosomal (Animales Gonadectomizados)

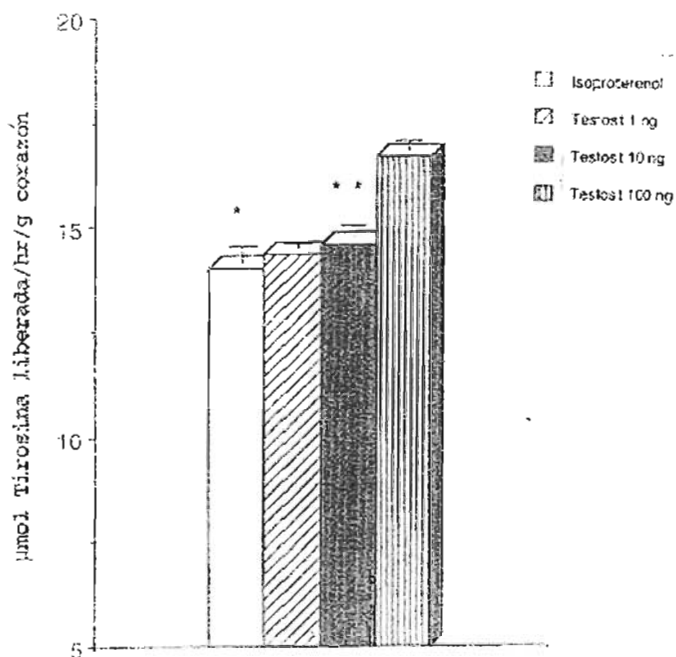


Fig. 10 Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Lisosomal del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

Tabla 12 Catepsina D Animales Gonadectomizados (Problema)  
(μmol de tiroxina liberada/hr/g corazón)

Grupo	Fracción Lisosomal
Iso	14.03 ***
Testost 1 ng + ISO	14.37 ***
Testost 10 ng + ISO	14.58 ***
Testost 100 ng + ISO	16.69 ***

\*\*\* p < 0.05 grupos tratados vs grupo de animales gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

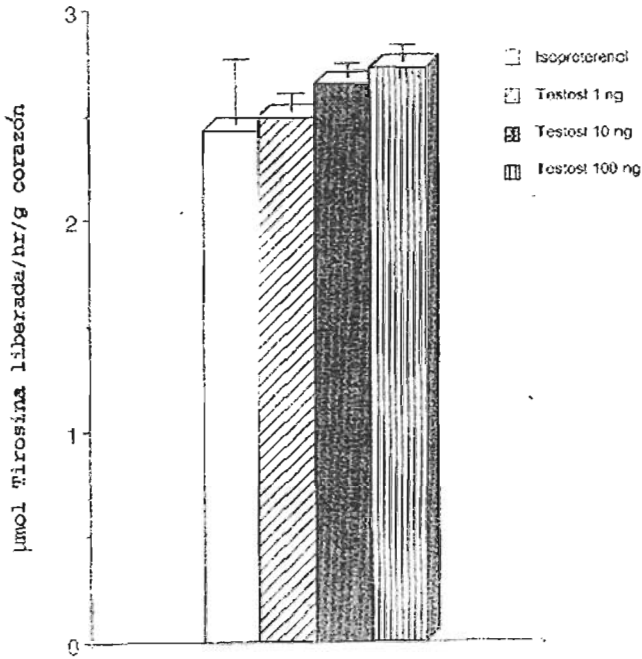
\*\*\* p < 0.001 solo entre los lotes de Testost 1 vs Testost 100 y Testost 10 vs Testost 100.

Los lisosomas presentan propiedades de centrifugación intermedias entre mitocondrias y ribosomas (49) y es en esta fracción en donde se observa la mayor actividad de Catepsina D, en lotes de animales blanco. En esta misma fracción se observa la mayor disminución de la actividad de Catepsina D, en los lotes a los que se les administró ISO, esto debido a que éste provoca lesiones tipo infarto del miocardio y como ya se mencionó anteriormente se provoca la muerte celular, ocasionando la ruptura de lisosomas, trayendo como consecuencia la disminución de la actividad de Catepsina D en esta fracción celular.

Se observa (tablas 11 y 12), que la administración de diferentes cantidades de testosterona, ejerce un efecto protector contra las lesiones tipo infarto del miocardio ocasionadas por la administración de ISO, siendo este factor protector, proporcional a la concentración de testosterona administrada, tanto en animales íntegros como en gonadectomizados, esto debido a que la testosterona ocasiona que se mantenga íntegro el lisosoma, impidiendo o disminuyendo los procesos hidrolíticos, consecuencia de la ruptura membranal de estos organelos.

Como se observa en las figuras 9 y 10, el incremento de la actividad de Catepsina D es mayor en los lotes de animales a los que se les administró 100 ng de Testosterona.

### Catepsina D Fracción Microsomal (Animales no Gonadectomizados)



**Fig. 11** Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Microsomal del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

**Tabla 13** Catepsina D Animales no Gonadectomizados (Problema)  
(μmol de tirosina liberada/hr/g corazón)

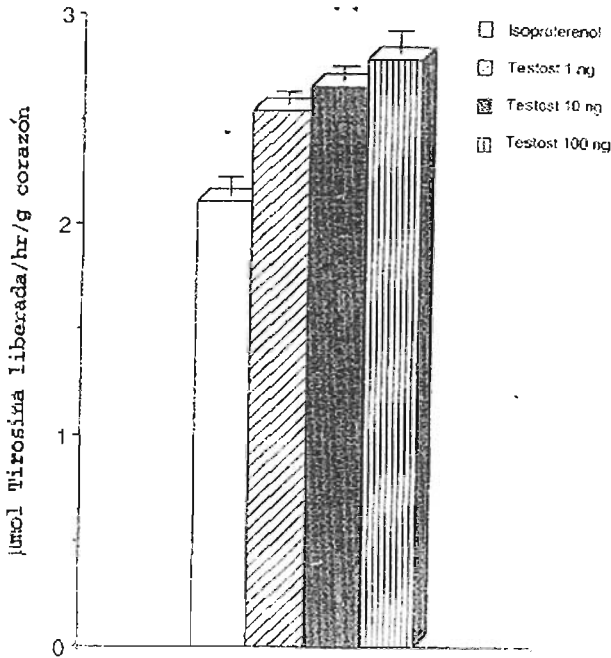
Grupo	Fracción Microsomal
Iso	2.43 ****
Testost 1 ng + ISO	2.49 ****
Testost 10 ng + ISO	2.64 ****
Testost 100 ng + ISO	2.72 ****

\*\*\*\* p > 0.05 grupos tratados vs grupo de animales no godadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

\*\*\*\* p > 0.05 entre grupos tratados, prueba de ANOVA,

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

## Catepsina D Fracción Microsomal (Animales Gonadectomizados)



**Fig. 12** Efecto de la testosterona sobre la actividad de Catepsina D, en la fracción Microsomal del homogenizado de corazón, en un modelo de infarto del miocardio inducido por la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso). n= 16

**Tabla 14** Catepsina D Animales Gonadectomizados (Problema)  
(µmol de tirosoina liberada/hr/g corazón)

Grupo	Fracción Microsomal
Iso	2.11 ****
Testost 1 ng + ISO	2.54 ****
Testost 10 ng + ISO	2.66 ****
Testost 100 ng + ISO	2.79 ****

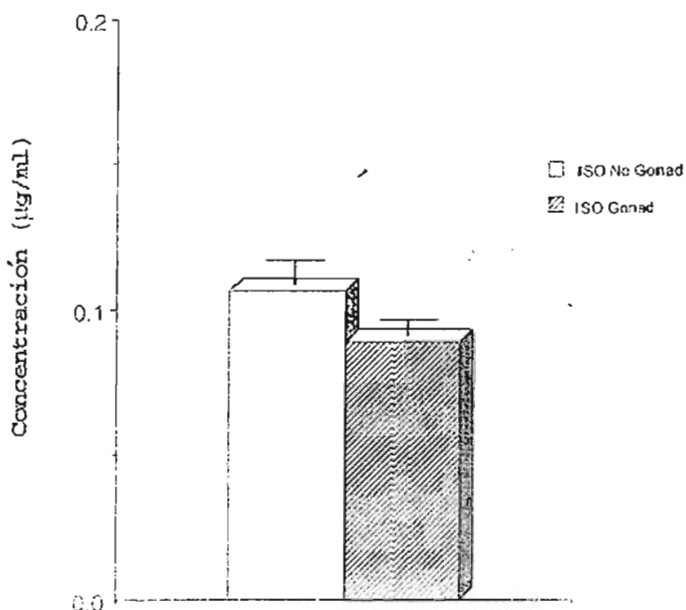
\*\*\*\*  $p > 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

\*\*\*\*  $p > 0.05$  entre grupos tratados, prueba de ANOVA

Como podemos observar en las tablas 13 y 14 la actividad de Catepsina D en la fracción Microsomal se ve disminuida en los lotes de animales a los se les administró ISO y se observa que la testosterona revierte esta disminución en forma dosis dependiente. Y esto se ve reflejado en los resultados de los lotes a los que se les administró 100 ng de testosterona, ya que los resultados de Catepsina D se asemejan más a los obtenidos para los lotes blanco, esto tanto para animales Gonadectomizados, como no gonadectomizados. Siendo esta similitud mayor para el lote de animales No gonadectomizados y con administración de 100 ng.



## Proteínas Totales (Animales no Gonadectomizados y Gonadectomizados)



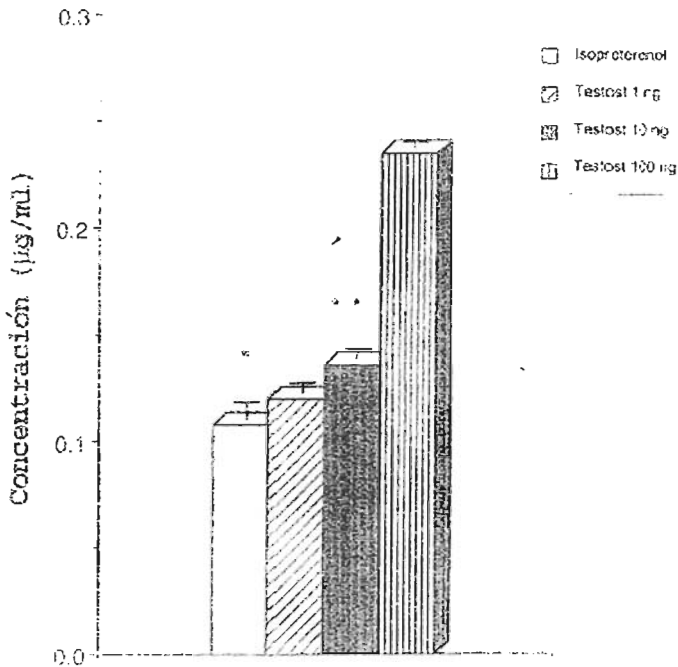
**Fig 13** Cuantificación de Proteínas Totales séricas, comparación de ambos lotes de ratas, como resultado de la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso) n=16

**Tabla 15.** Proteínas Totales Animales no Gonadectomizados y gonadectomizados

Grupo	(µg/ml)
ISO Animales Gonadectomizados	0.0884
ISO Animales no Gonadectomizados	0.10655

En la figura 13 la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, indica que hay diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) entre animales no gonadectomizados y gonadectomizados a los que sólo se les administró ISO, con respecto a la concentración de proteínas en suero, lo que nos indica que la cantidad de testosterona producida por las gónadas es suficiente para ejercer un efecto protector contra el daño producido por el ISO, al menos en la concentración total de proteínas séricas.

## Proteínas Totales (Animales no Gonadectomizados)



**Fig. 14.** Cuantificación de Proteínas Totales sericas, como resultado de la administración de Isoproterenol 120 mg/Kg de peso) y de la administración de diferentes concentraciones de Testosterona (ng/ml de sangre) n=16

**Tabla 16** Proteínas Totales Animales no Gonadectomizados

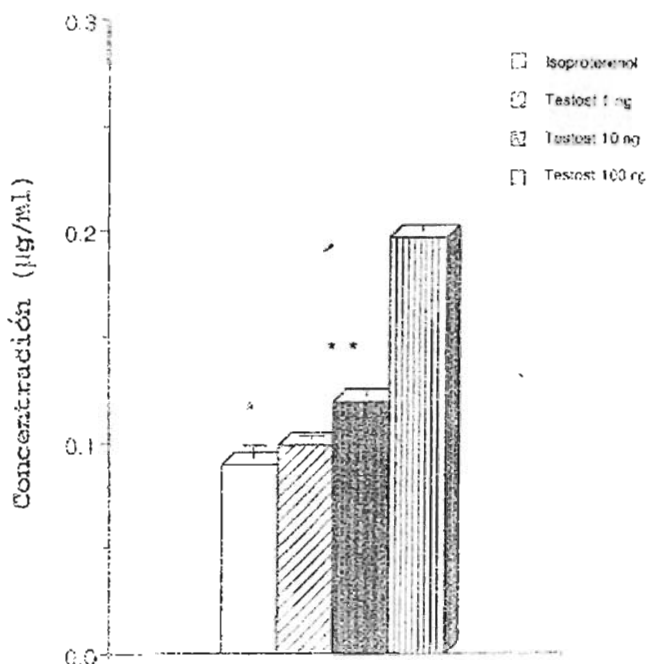
Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	.389325	Testost 1 ng **	.097135
Testost 10 ng *	.389475	Testost 10 ng **	.115578
ISO *	.10655	Testost 100 ng **	.21525

\*  $p < 0.001$  solo entre los lotes Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\*  $p < 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

**Nota:** El análisis utilizado para todos los datos fue una prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.

## Proteínas Totales (Animales Gonadectomizados)



**Fig 15.** Cuantificación de Proteínas Totales sericas, como resultado de la administración de Isoproterenol 120 mg/Kg de peso) y de la administración de diferentes concentraciones de Testosterona (ng/ml de sangre) n=16

**Tabla 17** Proteínas Totales Animales Gonadectomizados

Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	.389163	Testost 1 ng **	.088245
Testost 10 ng *	.38915	Testost 10 ng **	.108517
ISO *	.0884	Testost 100 ng **	.196339

\*  $p < 0.001$  solo entre los lotes Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\*  $p < 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

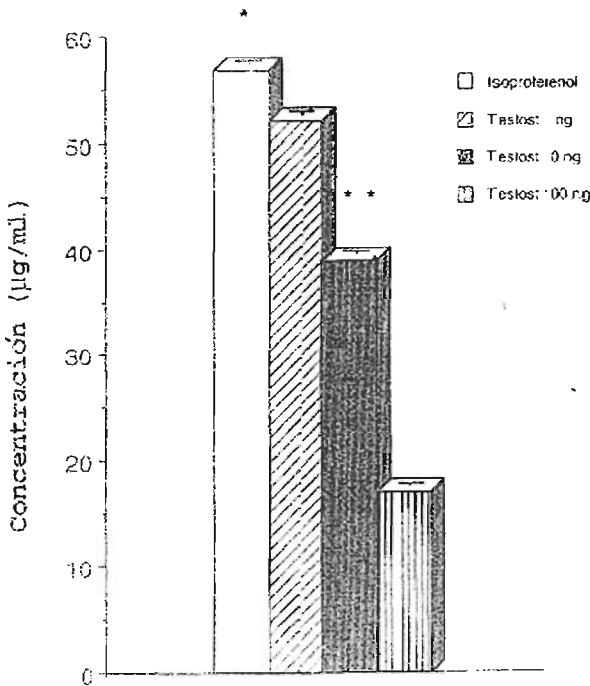
**Nota:** El análisis utilizado para todos los datos fue una prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni

En la figura 14 y 15 el análisis de varianza nos indica que hay diferencia significativa entre los lotes de animales a los que se les administró testosterona (1ng, 10 ng y 100 ng) más ISO, en comparación con el lote al que solo se le administró ISO, esto nos indica que la testosterona, administrada de manera exógena, está ejerciendo un efecto protector contra el infarto del miocardio, lo que se ve reflejado en los niveles de proteínas totales en suero, ya que a niveles mayores de testosterona, es mayor la concentración de proteínas en suero.

El análisis de varianza (ANOVA) también nos indica para las figuras 14 y 15 que hay diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) entre los 3 lotes de diferente concentración de testosterona e ISO, esto nos indica que el aumento en la concentración de proteínas totales en suero es directamente proporcional a la concentración de testosterona administrada de manera exógena, pero la concentración de proteínas en suero es mayor en los animales no gonadectomizados que en los animales gonadectomizados, ya que los animales no gonadectomizados además de la testosterona administrada exógenamente, tienen la producida en las gónadas.

En esta gráfica se observa la comparación de lotes de animales gonadectomizados y no gonadectomizados, a los que sólo se les administró ISO por vía s.c. (120 mg/Kg de peso), de esta gráfica se observa que los animales íntegros mostraron valores de AST menores en suero que los animales gonadectomizados debido a que la testosterona de las gónadas ejercen cierta protección contra el infarto del miocardio. el análisis estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis  $p=0.0550$ , nos indica que no existe diferencia significativa entre ambos lotes.

## AST (Animales no Gonadectomizados)



**Fig 17.** Cuantificación de Aspartato Aminotransferasa (AST) sérica, como resultado de la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso) o de la administración de Testosterona (10 ng/ml de sangre) n=16

**Tabla 19** Actividad de Aspartato Aminotransferasa AST Animales no Gonadectomizados

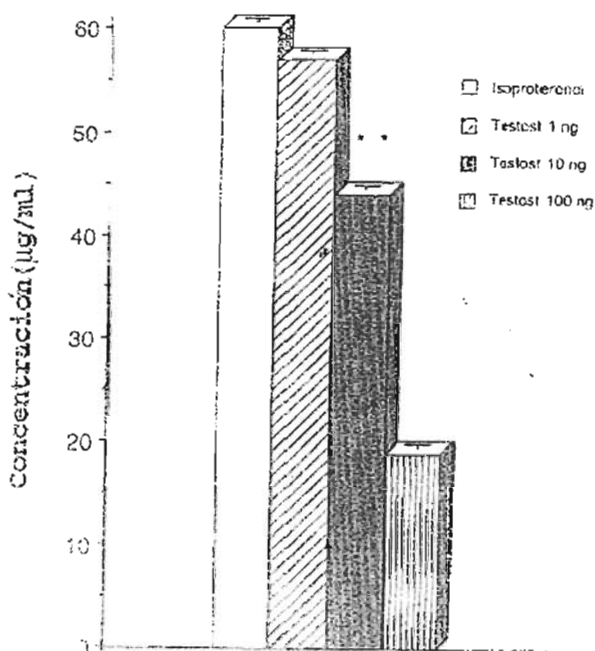
Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	4.90	Testost 1 ng **	56.06
Testost 10 ng *	4.97	Testost 10 ng **	42.84
ISO *	56.74	Testost 100 ng **	17.95

\*  $p < 0.01$  solo entre los lotes Blanco vs ISO y Test 10 vs ISO.

\*\*  $p < 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

**Nota:** El análisis utilizado para todos los datos fue una prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.

## AST (Animales Gonadectomizados)



**Fig 18.** Cuantificación de Aspartato Aminotransferasa (AST) sérica, como resultado de la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso) o de la administración de Testosterona (10 ng/ml de sangre) n=16

**Tabla 20** Actividad de Aspartato Aminotransferasa AST Animales Gonadectomizados

Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	5.40	Testost 1 ng **	58.03
Testost 10 ng *	5.53	Testost 10 ng **	43.96
ISO *	60.21	Testost 100 ng **	18.87

\* p < 0.01 solo entre los lotes Blanco vs ISO y Testost 10 vs ISO.

\*\* p < 0.05 grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO.

**Nota:** El análisis utilizado para todos los datos fue una prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.



En las figuras 17 y 18 podemos observar que existe diferencia significativa entre los lotes a los que se les administraron diferentes concentraciones de Testosterona e ISO 120 mg/Kg de peso y el lote al que solo se le administró ISO 120 mg/Kg de peso, siendo esta diferencia mayor entre los lotes a los que se les administró 10ng indicando esto, que la testosterona ejerce un efecto protector contra el infarto del miocardio y este efecto es directamente proporcional a la cantidad de Testosterona administrada de manera exógena, ya que el aumento de AST en suero es conocida como transaminasemia y es característica de los infartos agudos del miocardio (48) siendo esta protección mayor en animales no gonadectomizados, debido a que al no extirparse las gónadas, éstas producen testosterona, que sumada a la que se administra aumenta el efecto protector, ya que la testosterona producida de manera natural por las gónadas no alcanza a tener por si sola un efecto protector.

## ALT (Animales no Gonadectomizados)

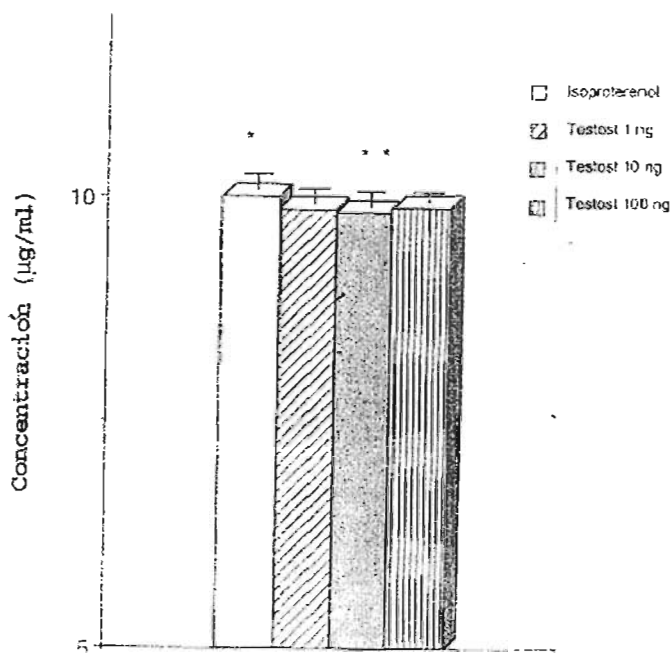


Fig 19. Cuantificación de Alanino Aminotransferasa (ALT) sérica, como resultado de la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso) o de la administración de Testosterona (10 ng/ml de sangre) n=16

**Tabla 21** Actividad de Alanino Aminotransferasa ALT Animales no Gonadectomizados

Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	9.86	Testost 1 ng **	9.85
Testost 10 ng *	9.97	Testost 10 ng **	9.81
ISO *	10.0	Testost 100 ng **	9.86

\*  $p > 0.05$  entre grupos tratados, prueba de ANOVA, con corrección de Bartlett.

\*\*  $p > 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO, prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.

## ALT (Animales Gonadectomizados)

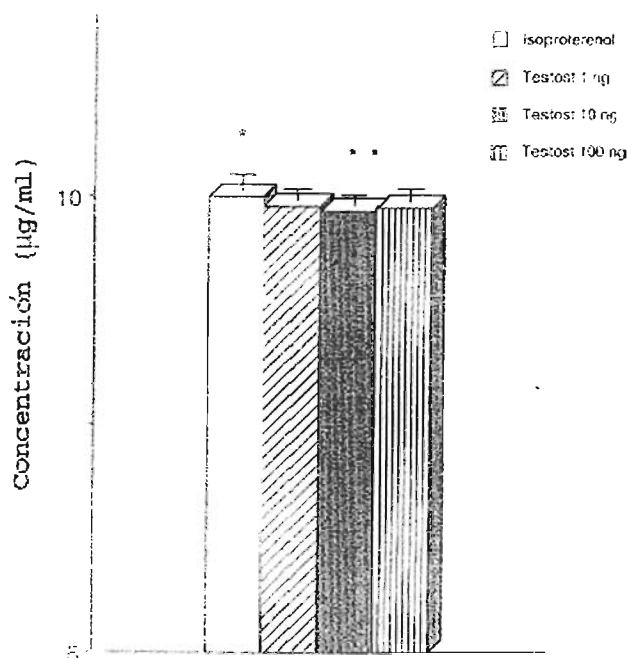


Fig 20 Cuantificación de Alanino Aminotransferasa (ALT) sérica, como resultado de la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso) y de la administración de diferentes concentraciones de Testosterona (ng/ml de sangre) n=16

**Tabla 22** Actividad de Alanino Aminotransferasa ALT Animales Gonadectomizados

Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	10	Testost 1 ng **	9.9
Testost 10 ng *	9.9	Testost 10 ng **	9.85
ISO *	10.01	Testost 100 ng **	9.88

\*  $p > 0.05$  entre grupos tratados, prueba de ANOVA, con corrección de Bartlett.

\*\*  $p > 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO, prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.

En las figuras 19 y 20 no se observó diferencia significativa según la prueba estadística de Bonferroni ( $p>0.05$ ) (Tablas 21 y 22) en animales en tratamiento con diferentes concentraciones de Testosterona, lo cual es indicativo que los valores de ALT se encuentran dentro de los valores normales.

ALT es un aprueba enzimática específica para detectar daño hepático, con esto aseguramos que el daño producido a los animales es exclusivamente a nivel cardíaco y no a nivel hepático.

## Fosfatasa Alcalina (Animales no Gonadectomizados)

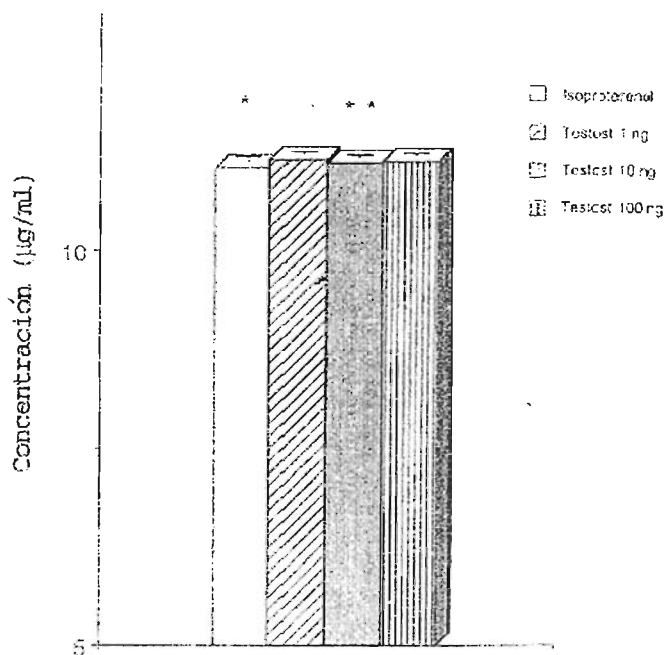


Fig. 21 Cuantificación de Fosfatasa alcalina sérica, como resultado de la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso), y de la administración de diferentes concentraciones de Testosterona. n= 16

Tabla 23 Actividad de Fosfatasa Alcalina Animales no Gonadectomizados

Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	11.14	Testost 1 ng **	11.16
Testost 10 ng *	11.16	Testost 10 ng **	11.12
ISO *	11.16	Testost 100 ng **	11.13

\*  $p > 0.05$  entre grupos tratados, prueba de ANOVA, con corrección de Bartlett.

\*\*  $p > 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO, prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni.

## Fosfatasa Alcalina (Animales Gonadectomizados)

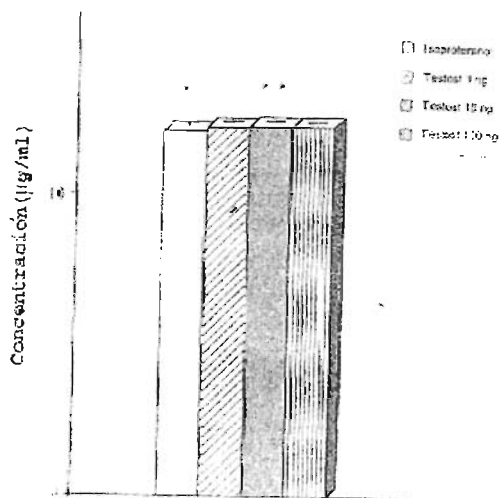


Fig. 22 Cuantificación de Fosfatasa alcalina sérica, como resultado de la administración de Isoproterenol (120 mg/Kg de peso), y de la administración de diferentes concentraciones de Testosterona. n= 16

**Tabla 24** Actividad de Fosfatasa Alcalina Animales Gonadectomizados

Grupo	(µg/ml)	Grupo	(µg/ml)
Blanco *	11.13	Testost 1 ng **	11.12
Testost 10 ng *	11.18	Testost 10 ng **	11.14
ISO *	11.06	Testost 100 ng **	11.13

\*  $p > 0.05$  entre grupos tratados, prueba de ANOVA, con corrección de Bartlett.

\*\*  $p > 0.05$  grupos tratados vs grupo de animales no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO, prueba de ANOVA, con corrección de Bonferroni

El análisis de varianza (ANOVA) con corrección de Bonferroni, nos indica para las figuras 21 y 22 que la diferencia entre tratamientos no es significativa, esto nos indica que la cantidad de fosfatasa alcalina en suero no se ve modificada por la administración de ISO y Testosterona, de manera conjunta o separada (Tablas 23 y 24).

En este proyecto de tesis se realizó la cuantificación de fosfatasa alcalina; para asegurarse que los valores de AST, fueran debidos exclusivamente a la administración de ISO y no a un probable daño hepático, ya que la cifra global de fosfatasa alcalina sérica resulta de los valores de sus distintas isoenzimas en hígado, hueso, intestino, etc.

Como se puede observar con ayuda del análisis de varianza y las figuras 21 y 22, no hay diferencia significativa entre animales con tratamiento o sin tratamiento, lo que indica que los resultados de AST cuantificados, son debidos a la administración de ISO y no a un probable daño hepático.

## 10. ANALISIS DE RESULTADOS

El principal objetivo de este trabajo fue el evaluar los efectos de testosterona sobre las lesiones tipo infarto del miocardio, inducidos por la administración subcutánea de isoproterenol, para lo cual analizamos la actividad de diferentes enzimas marcadoras de daño, así como la cuantificación de proteínas totales séricas, las cuales se describen a continuación.

### CATEPSINA D

Es una endoproteasa que está implicada en la degradación proteica normal dentro de los lisosomas (37).

#### Lotes de referencia

En la comparación entre los lotes a los que solo se les administro Testosterona y lotes blanco (Tablas 5 y 6), el análisis estadístico de los datos obtenidos nos indica que no hay diferencia significativa entre los valores de Catepsina D en las diferentes fracciones (nuclear, mitocondrial, lisosomal) obtenidos de los lotes de animales Blanco y Testosterona 10 ng/ml de sangre de animales gonadectomizados y no gonadectomizados, estos datos sugieren que la administración de testosterona (10 ng) tanto en animales íntegros como en gonadectomizados no modifica los valores de Catepsina D, señalando que no existen efectos dañinos por la sola administración del esteroide.

Mientras que el análisis estadístico nos indica que hay diferencia significativa entre los lotes blanco y los que se les administro Testosterona 10 ng al compararlos contra los



lotes de animales gonadectomizados y no gonadectomizados a los que se les administró solamente Isoproterenol, estos datos muestran que se presenta daño a nivel de las diferentes fracciones, debido a las lesiones tipo infarto de miocardio producidos por la administración de ISO.

### Lotes Problema

En la cuantificación de Catepsina D, en las cuatro fracciones, se observa que los lotes de animales a los que se les administró 100 ng de Testosterona (además del ISO) presentan valores de Catepsina D más cercanos a los valores de los animales blanco (que son los valores normales) mientras que el mayor daño en las diferencias fracciones se observa en los lotes que se les administra solamente ISO. Es importante mencionar que la actividad de Catepsina D se va acercando a los valores normales (lote blanco) dependiendo de la cantidad de Testosterona administrada indicando esto un efecto protector contra lesiones tipo infarto de miocardio.

### Fracción nuclear

Un incremento de la actividad de Catepsina D fue observado en ratas que recibieron tratamiento con ISO (32), se encontraron cambios significativos en la fracción nuclear en ambos lotes de ratas (íntegras y gonadectomizadas). Esto es debido probablemente a que el ISO provoca lesiones tipo infarto del miocardio y por lo tanto ocasiona la muerte celular, con ruptura de membrana, originando esto que al centrifugar para obtener la fracción nuclear obtengamos restos de otras fracciones (mitocondrial y lisosomal)

### Fracción Mitocondrial

El análisis estadístico nos muestra que hay diferencia significativa entre el lote al que solo se le administró ISO y los lotes a los que se les administró testosterona, tanto para animales gonadectomizados como no gonadectomizados.

Adicional a lo anterior, se muestra de forma estadística que no hay diferencia significativa entre los lotes a los que se les administró 1 ng y 10 ng de testosterona, mientras que si hay diferencia significativa de estos dos lotes contra el lote al que se les administró 100 ng de Testosterona , por lo que se puede observar que el efecto protector de la Testosterona contra lesiones tipo infarto de miocardio depende directamente de la cantidad de Testosterona administrada de forma exógena y este efecto se ve incrementado con ayuda de la testosterona producida por las gónadas, como se puede ver en la figura 7 y la tabla 9 ya que el valor de Catepsina D obtenido de estos lotes esta más cercano al valor de los lotes blanco.

Se observa que la protección es mayor en los animales no gonadectomizados que en los gonadectomizados, probablemente debido a que las gónadas producen cierta cantidad de Testosterona, que sumada a la que se administra de manera exógena aumenta el efecto protector contra el infarto al miocardio, esto a diferencia de los animales gonadectomizados que ya no producen testosterona, y el efecto protector está dado solo por la testosterona que se administra de manera exógena.

### Fracción Lisosomal

El análisis estadístico nos muestra que hay diferencia significativa entre el lote al que solo se le administró ISO y los lotes a los que se les administró testosterona, tanto para animales gonadectomizados como no gonadectomizados.

En lo que respecta a los lotes problema (ISO + Testosterona) el análisis estadístico muestra que no hay diferencia significativa entre los lotes a los que se les administró 1 ng y 10 ng de testosterona, mientras que si hay diferencia significativa de estos dos lotes contra el lote al que se les administró 100 ng de Testosterona , por lo que se puede observar que el efecto protector de la Testosterona contra lesiones tipo infarto de miocardio depende directamente de la cantidad de Testosterona administrada de forma exógena y este efecto se ve incrementado con ayuda de la testosterona producida por las gónadas, como se puede ver en la figura 9 y la tabla 11 ya que el valor de Catepsina D obtenido de estos lotes esta más cercano al valor de los lotes blanco.

Se observa que la protección es mayor en los animales no gonadectomizados que en los gonadectomizados, probablemente debido a que las gónadas producen cierta cantidad de Testosterona, que sumada a la que se administra de manera exógena aumenta el efecto protector contra el infarto al miocardio, esto a diferencia de los animales gonadectomizados que ya no producen testosterona, y el efecto protector está dado solo por la testosterona que se administra de manera exógena.

### Fracción Microsomal

El análisis estadístico nos muestra que hay diferencia significativa entre el lote al que solo se le administró ISO y los lotes a los que se les administró testosterona, tanto para animales gonadectomizados como no gonadectomizados.

Y como se mencionó para las otras tres fracciones, el efecto protector de la Testosterona contra las lesiones tipo infarto de miocardio depende directamente de la cantidad de testosterona que se encuentre presente en el organismo, ya sea de forma exógena o la que se produce de forma natural en las gónadas.

## **PROTEÍNAS TOTALES**

La importancia de la cuantificación de proteínas totales en suero, radica en que estas se ven disminuidas en enfermedades hepáticas, insuficiencia cardíaca, etc.(20). Para asegurarnos que solo se debiera a una insuficiencia cardíaca se realizaron las pruebas bioquímicas de ALT y Fosfatasa alcalina, ya que los valores de estas pruebas se verían alterados en comparación de los blancos si los tejidos lesionados fueran diferentes (Ejem. tejidos hepáticos).

La administración de ISO 120mg/Kg de peso disminuye de manera muy significativa la cantidad de Proteínas en suero, probablemente debido a que provoca lesiones similares al infarto del miocardio, mientras que la testosterona *per se* 10 ng no influye en la concentración de proteínas en suero, ya que no existe diferencia significativa según

la prueba estadística de Bonferroni  $p < 0.05$ , mientras que si existe diferencia significativa entre los lotes a los que se les administró 10 ng y 100 ng respecto al lote al que solo se le administró ISO.

El análisis de varianza (ANOVA) también nos indica para las figuras 14 y 15 que hay diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) entre los 3 lotes problema a los que se les administraron diferentes concentraciones de testosterona y el lote al que solo se le administro ISO, esto nos indica que el aumento en la concentración de proteínas totales en suero es directamente proporcional a la concentración de testosterona administrada de manera exógena, pero la concentración de proteínas en suero es mayor en los animales no gonadectomizados que en los animales gonadectomizados, ya que los animales no gonadectomizados además de la testosterona administrada exógenamente, tienen la producida en las gónadas.

## **TRANSAMINASAS**

Las transaminasas AST y ALT son enzimas intracelulares involucrados en el metabolismo de los aminoácidos y los carbohidratos (46). Son enzimas representadas por proteínas simples conjugadas y sintetizadas por células de diferentes tejidos: hepático, miocardio, renal, nervioso y músculo estriado. (45)

## Aspartato aminotransferasa (AST)

Es una enzima que se encuentra tanto en el citoplasma del hepatocito como en las mitocondrias. está presente en el músculo estriado, miocardio, páncreas y riñones.(45)

La importancia de la cuantificación de AST en este proyecto de tesis, radica en el hecho que la actividad de AST en el suero excede los límites normales de 6 a 12 horas después de un infarto del miocardio (47). Los valores elevados son proporcionales al grado de daño sufrido por el tejido cardiaco(20) y alcanzan su máxima actividad entre las 20 y 40 horas. (45).

Las elevaciones máximas superan de 2 a 15 veces los niveles normales (48) y en este proyecto de tesis, los niveles de AST en los lotes de animales a los que solo se les administro ISO son 11 veces mayores que los niveles de AST de los lotes blanco ( Tablas 19 y 20), tanto para animales gonadectomizados como para no gonadectomizados, indicando esto un daño a nivel cardiaco producido por la administración de ISO y el valor de la actividad enzimática sérica anormal guarda relación con el tamaño del infarto (48), mientras que en los lotes de animales a los que se les administraron diferentes cantidades de testosterona, la variación encontrada fue, para la dosis de 1 ng de testosterona/ml de sangre el aumento es de 11 veces, para los lotes de 10 ng de testosterona el aumento es de 8 veces y

para los lotes de 100 ng el aumento es de 4 veces con respecto a los valores de AST de los lotes de animales blanco, (tanto para animales gonadectomizados y no gonadectomizados) la magnitud de tal aumento tiene cierto valor pronostico. Esto nos indica que la administración de testosterona ejerce un efecto protector contra las lesiones tipo infarto, ocasionadas por la administración de ISO, y que este efecto es proporcional a la cantidad de testosterona administrada. No hay aumento en ALT, salvo que el infarto de miocardio se acompañe de insuficiencia cardiaca congestiva y desemboque en complicación hepática (47).

El análisis estadístico de los valores de AST de los lotes de animales blanco y de Testosterona 10 ng de ambos lotes (gonadectomizados y no gonadectomizados) no tienen diferencias significativas (prueba de ANOVA con corrección de Bonferroni), por los que podemos decir que la administración de Testosterona *per se* no modifica los valores normales de AST en suero (Tablas 19 y 20).

En las figuras 17 y 18 se observa la comparación de lotes de animales gonadectomizados y no gonadectomizados, a los que solo se les administró ISO por vía s.c. (120 mg/Kg de peso), esta gráfica nos indica que los animales íntegros mostraron valores de AST menores en suero que los animales gonadectomizados debido a que la testosterona de las gónadas ejercen cierta protección contra el infarto del miocardio, pero el análisis estadístico no

paramétrico de Kruskal-Wallis  $p=0.0550$ , nos indica que no existe diferencia significativa entre ambos lotes.

También podemos observar que existe diferencia significativa entre los lotes a los que se les administraron diferentes concentraciones de Testosterona e ISO 120 mg/Kg de peso y el lote al que solo se le administro ISO 120 mg/Kg de peso, siendo esta diferencia mayor entre los lotes a los que se les administró 10ng indicando esto, que la testosterona ejerce un efecto protector contra el infarto del miocardio y este efecto es directamente proporcional a la cantidad de Testosterona administrada de manera exógena, ya que el aumento de AST en suero es conocida como transaminasemia y es característica de los infartos agudos del miocardio (48) siendo esta protección mayor en animales no gonadectomizados, debido a que al no extirparse las gónadas, estas producen testosterona, que sumada a la que se administra aumenta el efecto protector, ya que la testosterona producida de manera natural por las gónadas no alcanza a tener por si sola un efecto protector.

### **Alaninoaminotransferasa (ALT)**

Se identifica en todo proceso inflamatorio necrótico del hígado. Es una enzima citoplasmática del hepatocito, que se libera fácilmente cuando existe alteración celular. (45)



Alaninoamino transferasa aumenta en suero rápidamente en la necrosis de células hepáticas, y dentro de límites normales o solo ligeramente elevados después de un infarto de miocardio (20)

En las figuras 19 y 20 no se observó diferencia significativa según la prueba estadística de Bonferroni ( $p > 0.05$ ) (Tablas 21 y 22) en animales en tratamiento con diferentes concentraciones de Testosterona, lo cual es indicativo que los valores de ALT se encuentran dentro de los valores normales, ya que para que existieran valores elevados de ALT en este proyecto se necesita de una insuficiencia cardíaca congestiva, que desemboque en una complicación hepática.

ALT es una prueba enzimática específica para detectar daño hepático, con esto aseguramos que el daño producido a los animales es exclusivamente a nivel cardíaco y no a nivel hepático.

## FOSFATASA ALCALINA

Se origina principalmente en los huesos y accesoriamente en el hígado (45) y aumenta en el metabolismo anormal óseo, cirrosis biliar, diabetes, enfermedades del hígado y vías biliares (47) (50).

En este proyecto de tesis se realizó la cuantificación de fosfatasa alcalina; para asegurarse que los valores de AST, fueran debidos exclusivamente a la administración de ISO y no a un probable daño hepático, ya que la cifra global de fosfatasa alcalina sérica resulta de los valores de sus distintas isoenzimas en hígado, hueso, intestino, etc.

## 11. CONCLUSIONES

- ◆ La testosterona ejerce un efecto protector contra las lesiones tipo infarto de miocardio, este efecto protector es dependiente de la cantidad de testosterona en el organismo.
- ◆ La dosis de 100 ng de testosterona ofrece un mejor efecto protector contra las lesiones tipo infarto del miocardio y este se ve incrementado por la testosterona producida de forma natural por el organismo.
- ◆ Las pruebas bioquímicas de AST, Catapsina D y Proteínas totales fueron determinantes, para la evaluación del efecto protector de la testosterona en la prevención de lesiones tipo infarto del miocardio.
- ◆ Los resultados normales de las pruebas bioquímicas de ALT y Fosfatasa alcalina nos indican que los valores obtenidos de las pruebas bioquímicas AST y Proteínas totales, se deben exclusivamente al daño ocasionado por el infarto al miocardio

## 12. REFERENCIAS

- 1) Chintala Venkataramana R. Pannirselvam Malarvannan, et al. Effect of novel tetrapeptide derivated in a mode of isoproterenol induced myocardial necrosis. Molecular and Cellular Biochemistry. 1998. Octubre.
- 2) Statistical Supplement, American Heart Association Heart and Stroke Facts, 1996.
- 3) Wexler BC. Myocardial infarction in young vs. old male rats: Pathophysiologic changes. Am Heart J 96:70-80, 1978.
- 4) Werner Spalteholz. Atlas de Anatomía Humana. Duodécima edición., Edit. Labor. España. 1984. pp 457, 459.
- 5) Arnold M. Katz. Physiology of the Heart. 2a. Edit. Raven Press. U.S.A., 1992. pp 1,2.
- 6) Arthur C. Guyton. Tratado de Fisiología Médica. Edit. Interamericana. 9a. 1997, Méxlco. pp 115.
- 7) Mundo Médico. Factores Determinantes para el Tratamiento Inicial de la Hipertensión. Vol. XXIV # 275, Marzo de 1997, pp 57-60.
- 8) Mundo Médico. Nifedipino con Núcleo recubierto en el tratamiento de la hipertensión arterial. Vol. XXV # 283, Nov. 1997, pp 76-77.
- 9) Lawrence M. T. ; Stephen J.; Maxine A.P. Diagnóstico clínico y tratamiento., Edit. El manual moderno. 34ava edición, 1999. pp 399-405.
- 10) El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica. 10a. 1999. U.S.A.
- 11) Smith. Farmacología. pp 160,161, 649, 650.
- 12) Goodman Gilman. Bases Farmacologicas de la Terapéutica. 9a. Edit. Interamericana. México 1996. pp 213, 214 225 , 1531 Tomo I , Tomo II
- 13) Hector Sumano. Luis Ocampo. Farmacología Veterinaria. 2a. Edit McGraw-Hill Interamericana. México.1997.pp 215, 335-338.
- 14) Suzanne Loebel. George Spratto. Manual de Farmacología. Edit. Limusa. México. 1986.pp 504,505.
- 15) Bertram G. Katzung. Farmacología Básica y Clínica. Edit, El Manual Moderno. 6a edición. México. 1996 pp 151, 153, 154, 156, 762.
- 16) Litter. Farmacología experimental y clínica. Manuel, 7a. Ed. Edit. El Ateneo, 1998, Argentina,pp 1167-1174.
- 17) Salter, William. Tratado de Farmacología aplicada, Edit. Interamericana, Tomo I, 1953 México, pp 1126.

- 18) Bowman, Rand., "Farmacología Bases bioquímicas y patológicas; Aplicaciones Clínicas" Edit. Interamericana, 1985, México, pp 203,204.
- 19) Sumano, Camberos. Farmacología Veterinaria. 2ª Edit. McGraw-Hill interamericana, 1997, pp 542.
- 20) Tietz Nw (ed). Fundamentals of Clinical Chemistry. 3ª Philadelphia 1987.
- 21) McGilvery, G.W. Goldstein. Bioquímica Aplicaciones Clínicas. 2ª Edit. Interamericana, México, 1986.
- 22) Juan Surós B., Antonio Surós B. Semiología Médica y Técnica Exploratoria. 7ª Masson, España, 1997, pp 458.
- 23) Overpeck, Colson, Hohmann, Marshall. Concentration of circulating steroids in normal prepubertal and adult male and female humans, chimpanzees, rhesus, monkeys, rats, mice and hamsters: A literature Survey. Journal of Toxicology and Environmental Health, 1978.
- 24) Fernández-Cruz. Libro de la Salud. 7ª ed. Edit. Danae, Barcelona, 1974, pp 255, 260, 263.
- 25) Ville, Solomon. Biología., 2ª ed. Edit. Interamericana-McGraw Hill., 1992, México, pp 898, 1066.
- 26) Lozco M.A.; Velázquez O.J. Información Epidemiológica para la elaboración del diagnóstico de salud en México 1988. La Mortalidad. Algunos factores condicionantes y determinantes. Bol. Men. Epidemiológico. Sist. Nac. De Salud. 1990; 5(5):69-87
- 27) Secretaría de Salubridad y Asistencia. Mortalidad. México. 1988.
- 28) Humberto Cruz, Juan Carlos Cruz, et al. Infarto del Miocardio. Revisión de 196 autopsias. Rev. Med. I.M.S.S. México, 1994;32;507-511
- 29) Identificación y Tratamiento de las complicaciones del Infarto del Miocardio. Dr. Guy Reeder, Mundo Medico, Vol XXIV, Num 272. Dic 1996
- 30) Michael E. M. Richard H. K. The protective Effects of Estrogen on the Cardiovascular system. The New England Journal of Medicine. Vol. 340, Num.23 1999
- 31) Sapolsky AI, Altman RD, et al. Cathepsin D activity in normal and osteoarthritic human cartilage. Fedn Proc 32: 1489 – 1493, 1973
- 32) Chandrasekar Nirmala, Rengarajulu Puvanakrishnan. Effect of Curcumin on Centrain Lysosomal Hydrolases in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rats. Biochemical Pharmacology, Vol 51, pp 47-51, 1996 .
- 33) Eduardo Meaney M, et al Efecto del metoprolol sobre la relajación ventricular en el infarto del miocardio experimental.. Gaceta Médica de México. Vol. 134 No. 6, 1998. pp 661-667.

- 34) Avances en el Tratamiento del infarto agudo del miocardio. Gaceta Médica de México. Vol. 130. No. 11,1994.
- 35) Zubay Goffrey. Bioquímica. 3ª Edit. Brown Publishers. 1993. pp 860
- 36) Sistema de Educación a Distancia "Introducción a los Métodos Estadísticos" Volumen 3, SEP., 1983. Universidad Pedagógica Nacional, México, pp 91- 107.
- 37) Timothy E. Zhi-Ming S. et al. Cathepsin D as a Prognostic Indicator for Node-negative Breast Cancer Patients Using Both Immunoassays and Enzymatic Assays..Cancer Research.52, 5198-5203, October 1, 1992
- 38) Johansson S, Vedin Wilhelmsson C. Myocardial Infarction in women; Epidemiol Rev. 5:67-95;1983
- 39) Milliken George and Johnson Dallas. Analysis of Messy Data., Volume I: Designed Experiments. Edit. Van Nostrand Reinhold. U.S.A. 1992 pp 31-33
- 40 ) Wayne Daniel. Bioestadística, Base para el análisis de las ciencias de la salud. Edit UTEHA. México. 1994. pp 283-353
- 41) Velasco Alfonso, Lorenzo Pedro. Farmacología. 16ª edición. Edit. Interamericana McGraw-Hill, España 1993.
- 42) Kathleen Mahan, Marian T. Ailin. Nutrición y dietoterapia., 8ª Edición. Edit. Interamericana MCGraw-Hill, México 1995, pp395,
- 43) Ignacio Chávez Rivera. Cardiología. Edit. Panamericana, México 1993, pp 997 – 1010
- 44) Jorge Espino Vela. Introducción a la Cardiología, Edit el Manual Moderno 13ª Edición. México 1997, página 57- 70.
- 45) Jay H. Stein. Medicina Interna. Edit Salvat. 2ª Edición. Barcelona 1989, pp 425, 573
- 46) Henry Brainerd, Sheldon Margen. Diagnostico y Tratamiento. Edit. El Manual Moderno. 3ª Edición. México 1968, pp 95.
- 47) Aldo A. Guerci. Laboratorio métodos de análisis clínicos y su interpretación. Edit El Ateneo. 4ª Edición. Argentina 1988, pp 302, 309,310
- 48) Earl N. Silber, Louis N. Kantz. Enfermedades del corazón. Edit Interamericana. México 1978, pp 827.
- 49) Arthur C. Grese. Fisiología celular. Edit Interamericana. 4ª Edición. México 1975, pp 100 -107
- 50) Meyer Bodansky, Oscar Bodansky. Bioquímica de la enfermedad. Edit. Hispanoamericana. México, pp 253 – 254

- 51) John A. Kolmer. Diagnostico clínico por los análisis de laboratorio. Edit Interamericana. 3ª Edición. México 1981, pp 120-124
- 52) Guía Profesional de Medicamentos. Edit El Manual Moderno 3ª Edición, México 1990, pp 276
- 53) Michele Woodley, Alison Whelan. Manual de Terapéutica Médica. 8ª Salvat. México 1993
- 54) American Heart Journal, 1987, pp 114, 918
- 55) Harrison. Principios de Medicina Interna. Mc Graw-Hill Interamericana, 13ª Edición, España 1994.
- 56) Norman M. Kaplan. Hipertensión Clínica. El Manual Moderno, México 1988, pág 4
- 57) Charles E. Sánchez. Diagnostico y Tratamiento de Urgencias. El Manual Moderno, 3ª Edición, México 1994, pp 507, 508
- 58) Tratado de medicina Interna. 2ª Edición. Panamericana, México 1995, Tomo I y II, pp 291,292, 2240, 2245.
- 59) Emmanuel Rubin, John L. Farber. Patología Fundamentos. Panamericana, México 1992, pp 239, 261, 264 – 266
- 60) Alfonso Balcells Gorina. La clínica y el Laboratorio. Edit. Massan. 16ª Edición México 1993, pp 125
- 61) Lehninger Albert. Bioquímica. Omega, 2ª, Barcelona, 1991, pp 849
- 62) Chávez Domínguez R. et al Arch Cardiol Mex 2003; 73: 105-114