

Efecto de la insulina sobre la contractilidad cardíaca

A. Orts *, I. Baltar, J. Castejón, J. L. Martí y J. Esplugues

Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Alicante
(España)

(Recibido el 11 de junio de 1980)

A. ORTS, I. BALTAR, J. CASTEJON, J. L. MARTI and J. ESPLUGUES. *Effect of Insulin on Cardiac Contractility*. Rev. esp. Fisiol., 37, 165-172. 1981.

The effects of insulin on contractile activity of isolated heart muscle have been studied in the rat's right ventricle. The method of the isolated organ bath was used with Tyrode as perfusion liquid with constant carbogen bubbling. The addition of insulin to the bath (0.3 U/ml) increased the contractile power. Contractility increase, induced by adrenaline and CaCl_2 , was reduced by insulin. This decrease of adrenaline activity became clearer after partial blocking of beta-receptors with pindolol. Glucose determinations in the bath also showed an insulin-adrenaline antagonism. Insulin behaved as a partial agonist versus adrenaline at the β -receptors site.

Estudios realizados por FARAH (4) demostraron una acción inotropa de la insulina sobre el corazón de perro, efecto que se atribuyó a la contaminación por glucagón de los preparados de insulina.

Este efecto inotrope positivo de la insulina indujo a SODI-PALLARES *et al.* (19) a la utilización terapéutica del CIK, glucosa e insulina en el infarto de miocardio.

Estudios realizados con músculo papilar de perro y en animal *in vivo* han demostrado un efecto inotrope positivo de la insulina, incluso cuando el miocardio era previamente deprimido por propanolol o por incubación prolongada en condiciones anóxicas (12).

Este efecto puede ser interpretado como una acción antagónica de la insulina fren-

te a la adrenalina (7). Estas observaciones pueden explicar asimismo el efecto antiarrítmico observado con la utilización combinada de glucosa, insulina y potasio (9).

En este trabajo se plantea el estudio del mecanismo de acción de la insulina sobre el miocardio, tratando de evaluar si el efecto inotrope positivo que presenta es consecuencia de una acción directa a nivel de los receptores adrenérgicos o bien indirecta a través de los cambios de glucemia.

Material y métodos

Se han utilizado ventrículos derechos de ratas Wistar de ambos sexos, de peso medio 250 ± 25 g. Tras decapitación de la rata se extrajo rápidamente el corazón y se introdujo en una solución de Tyrode con burbujeo constante de carbógeno.

* Dirección: c/. Churruca, 6. 6.º D. Alicante (Spain).

Del ventrículo derecho se obtuvieron tiras musculares de longitud 3 ± 1 mm y de sección media $1,5 \pm 0,5$ mm².

Las tiras musculares fueron montadas en baño de órganos de 50 ml de capacidad sobre electrodos, bañadas en Tyrode con burbujeo constante de carbógeno y a temperatura de 37° C (5).

El músculo fue sometido a una tensión inicial de 1 g, y estimulado mediante un estimulador Harvard mod. 345 con ondas cuadradas de 1 ms de duración y voltaje supraliminar. La frecuencia de estimulación fue de 30/min.

Cada músculo fue incubado en estas condiciones 45 min antes de comenzar el experimento.

Las contracciones isométricas así como su dp/dt fueron transcritas de forma ininterrumpida a un polígrafo Hewlett Packard mod. 7754 A. La velocidad de registro constante a lo largo de la experiencia fue de 0,25 mm/s, tomando registros rápidos (50 mm/s) intermitentemente.

Se realizaron los siguientes grupos experimentales:

— Grupo 1.° Se utilizaron concentraciones crecientes de insulina (Novo) hasta obtener la menor de ellas que indujera aumentos objetivables de la fuerza contráctil (0,3 UI/ml). El tiempo de incubación de la insulina fue de 5 min. El número de experimentos realizados fue de 8.

— Grupo 2.° Obtención de curvas dosis/respuesta con adrenalina (Sigma), de 1×10^{-5} M a 1×10^{-9} M. Posteriormente se introdujo en el baño insulina (0,3 UI/ml) incubándolo 5 min y repitiendo las curvas dosis/respuesta con adrenalina. El número de experimentos realizados fue de 10.

— Grupo 3.° En este grupo experimental se siguió la misma metodología que en el segundo, utilizando en lugar de adrenalina, Cl₂Ca (Merck), de 1×10^{-4} M a 1×10^{-7} M. El número de experimentos realizados fue de 20.

— Grupos 4.° y 5.° Previamente a la obtención de las curvas dosis/respuesta con adrenalina o con Cl₂Ca se introdujo pindolol (Sandoz) en el baño ($1,29 \times 10^{-4}$ M) dejándolo en incubación 5 min. Posteriormente, se repetían dichos experimentos realizados en presencia de insulina. El número de experimentos en cada grupo fue de 10.

En los grupos 2.° y 3.° se determinó la glucosa existente en el baño en condiciones control y al 1, 3 y 5 minutos de la administración de la adrenalina o Cl₂Ca. El método de medición de glucosa fue el de la ortotoluidina.

En todos los grupos se midieron las tensiones máximas desarrolladas en condiciones control (antes de introducir en el baño adrenalina o Cl₂Ca) y a los 1, 3 y 5 min tras su administración, hallándose posteriormente los valores medios y las desviaciones standard en % con respecto a las cifras control.

Para el estudio estadístico de los resultados se empleó el test de la «t» de Student.

Resultados

La insulina (0,3 UI/ml) adicionada al baño indujo ligeros aumentos de la tensión miocárdica, máximo en el minuto 10 del experimento (fig. 1).

En la figura 2 se encuentran los valores medios de las tensiones desarrolladas en el ventrículo derecho inducidas por adrenalina (A) y sus modificaciones en presencia de insulina (B). Se observa una reducción de las tensiones máximas desarrolladas por el miocardio inducidas por adrenalina, cuando previamente se incubaba el músculo con insulina. Esta reducción es máxima a los 3 minutos para todas las concentraciones de adrenalina.

En la figura 3 A se observa una reducción del 35,44, 49,40, 74,83, 87,97 y 93,59 % de la tensión máxima desarrollada en el minuto 3 por la adrenalina en presencia de insulina con respecto a

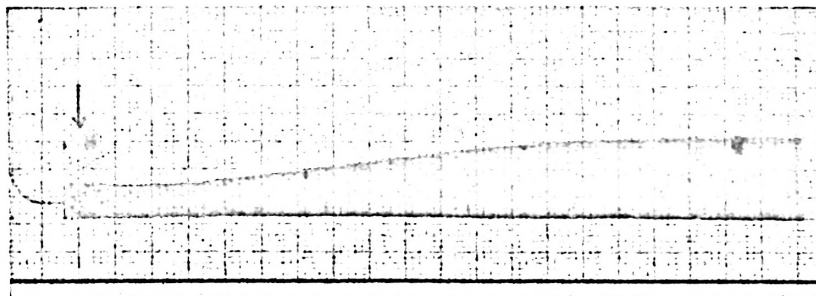


Fig. 1. Tensión desarrollada por el músculo papilar de rata. La flecha indica la introducción de insulina al baño (0,3 UI/ml).

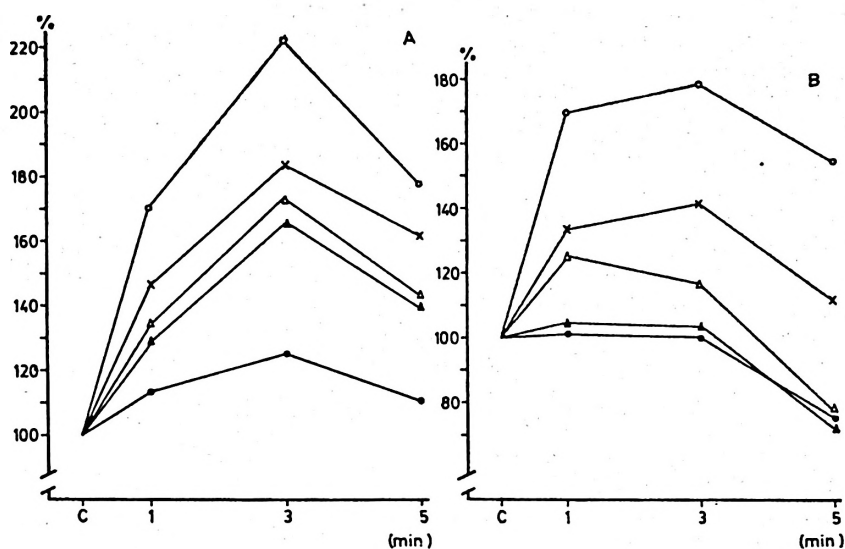


Fig. 2. Tensión (%) desarrollada por el miocardio en presencia de concentraciones crecientes de adrenalina (A) y en presencia de insulina (0,3 UI/ml) (B).

●-● 1×10^{-9} M; ▲-▲ 1×10^{-8} M; △-△ 1×10^{-7} M; ×-× 1×10^{-6} M; ○-○ 1×10^{-5} M.

los aumentos inducidos por adrenalina ($p < 0,05$).

La insulina inhibe igualmente los incrementos de contractilidad provocados por el Cl_2Ca a las concentraciones indicadas (fig. 4). También resultan máximas dichas reducciones a los 3 minutos.

Se observa una reducción del 19,19, 24,79 y 20,10 % de la tensión máxima desarrollada en el minuto 3 por el Cl_2Ca en presencia de insulina, con respecto a

los incrementos inducidos por el Cl_2Ca ($p < 0,05$) (fig. 3 B).

Cuando previamente a la administración de adrenalina se bloquean parcialmente los receptores beta con pindolol ($1,29 \times 10^{-4}$ M) los incrementos de la tensión se muestran irregulares y no significativos con respecto a sus distintas concentraciones (fig. 5).

En estas condiciones la incubación previa con insulina reduce las tensiones má-

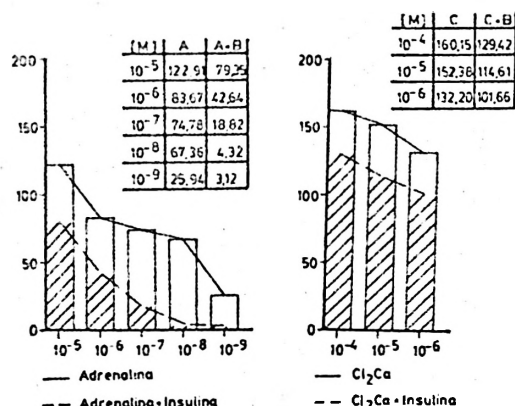


Fig. 3. Valores tensionales máximos desarrollados por el músculo a los 3 minutos de la introducción de la adrenalina en el baño, a distintas concentraciones, sola y en presencia de insulina (A) y en presencia de Cl₂Ca (B).

ximas desarrolladas, que tampoco presentan validez estadística con respecto a las concentraciones de adrenalina utilizadas ($p > 0,05$). Comparando las modifi-

caciones obtenidas para una misma concentración de adrenalina a los minutos 3 y 5 de su administración, la reducción de la tensión en presencia o no de insulina es altamente significativa ($p < 0,01$).

Si previamente a la administración de Cl₂Ca se bloquean parcialmente los receptores beta con pindolol ($1,29 \times 10^{-4}$ M), los incrementos tensionales inducidos por Cl₂Ca son menores que en el tercer grupo, no siendo significativos ($p > 0,05$) con respecto a las distintas concentraciones de Cl₂Ca utilizadas (fig. 6 A).

La presencia de insulina provoca una intensa reducción de la contractilidad, que es máxima en el minuto 1 del experimento (fig. 6 B). Las reducciones no resultan significativas cuando se comparan entre sí, pero son altamente significativas ($p < 0,01$ en el minuto 1; $p < 0,05$ en los minutos 3 y 5) cuando se comparan la tensión desarrollada por el músculo, inducida por una determinada concentración de Cl₂Ca en presencia o no de insulina.

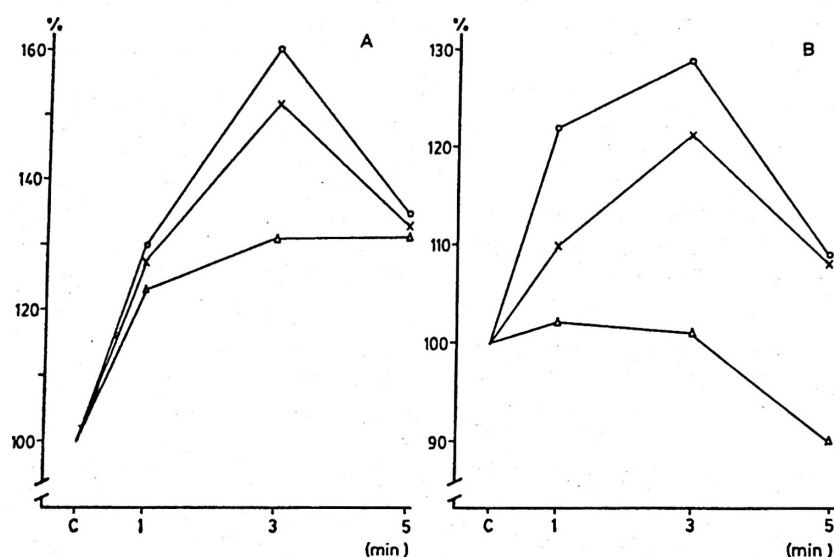


Fig. 4. Tensión (%) desarrollada por el miocardio en presencia de concentraciones crecientes de Cl₂Ca (A) y en presencia de insulina (0,3 UI/ml) (B).

Δ-Δ 1×10^{-6} M; x-x 1×10^{-5} M; O-O 1×10^{-4} M.

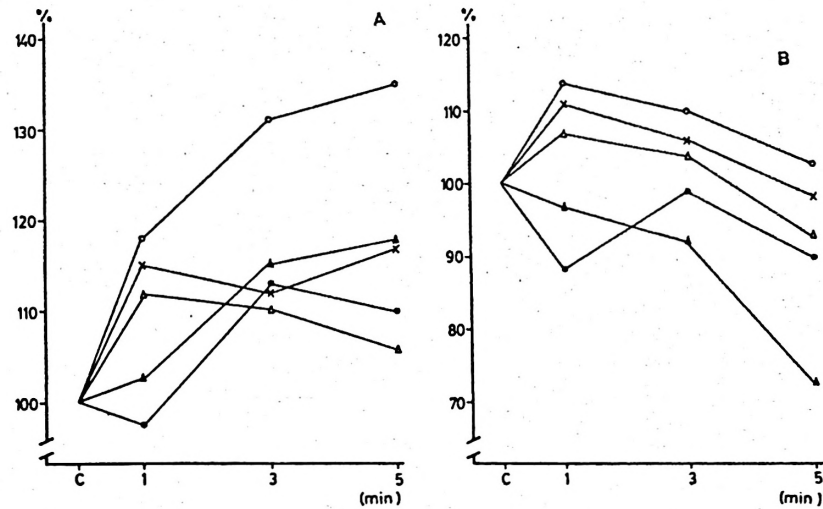


Fig. 5. Tensión (%) previo bloqueo beta con pindolol ($1,29 \times 10^{-4}$ M) con concentraciones crecientes de adrenalina (A) y en presencia de Insulina (0,3 UI/ml) (B).
 ●---● 1×10^{-9} M; ▲---▲ 1×10^{-8} M; △---△ 1×10^{-7} M; ×---× 1×10^{-6} M; ○---○ 1×10^{-5} M.

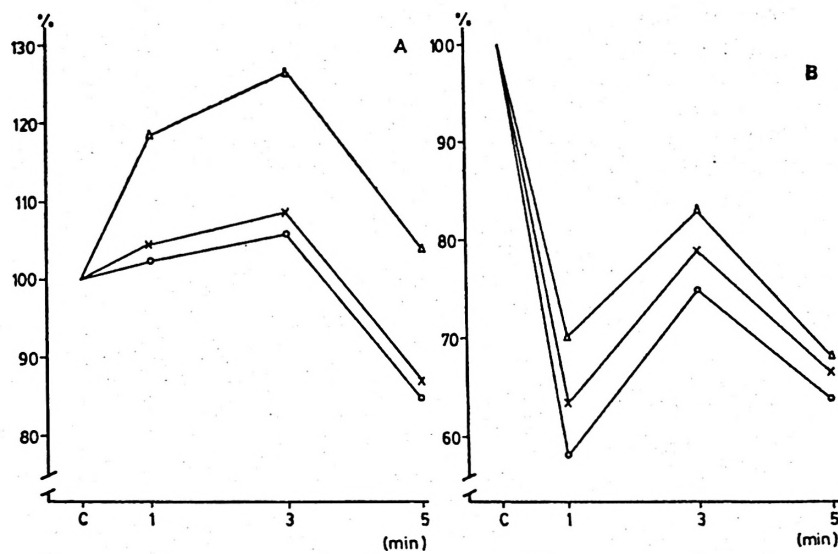


Fig. 6. Tensión (%) desarrollada por el miocardio previo bloqueo beta con pindolol ($1,29 \times 10^{-4}$ M) con concentraciones crecientes de Cl_2Ca (A) y en presencia de insulina (0,3 UI/ml) (B).

△---△ 1×10^{-6} M; ×---× 1×10^{-5} M; ○---○ 1×10^{-4} M.

Tabla I. *Variaciones de concentración de glucosa en el líquido nutricio por acción de la adrenalina, insulina y Cl_2Ca .*

Valores medios de glucosa (mg/ml) y desviación estándar. Grupos experimentales 2.º y 3.º.
La concentración de glucosa en condiciones control: 100 mg/ml.

Glucosa (M)	Tiempo (min)					
	1	3	5	1	3	5
			Adrenalina	Adrenalina + insulina		
1×10^{-7}	100 $\pm$ 2,62	98,51 $\pm$ 3,27	91,88 $\pm$ 0,35	82,16 $\pm$ 0,35	70,78 $\pm$ 1,31	72,06 $\pm$ 0,88
1×10^{-6}	96,20 $\pm$ 0,20	93,00 $\pm$ 2,50	90,04 $\pm$ 0,48	84,32 $\pm$ 2,93	74,30 $\pm$ 2,61	73,55 $\pm$ 1,36
1×10^{-5}	98,00 $\pm$ 1,97	95,11 $\pm$ 2,31	89,64 $\pm$ 1,13	83,00 $\pm$ 1,32	69,79 $\pm$ 6,20	66,67 $\pm$ 0,32
1×10^{-4}	99,74 $\pm$ 1,92	99,44 $\pm$ 3,10	95,00 $\pm$ 0,79	79,77 $\pm$ 5,40	72,15 $\pm$ 8,60	70,96 $\pm$ 3,53
			Cl_2Ca	Cl_2Ca + insulina		
1×10^{-7}	100,65 $\pm$ 0,69	80,51 $\pm$ 2,76	78,59 $\pm$ 0,97	79,88 $\pm$ 3,20	60,55 $\pm$ 0,85	52,55 $\pm$ 0,12
1×10^{-6}	97,26 $\pm$ 2,12	85,62 $\pm$ 0,07	77,13 $\pm$ 2,33	77,17 $\pm$ 1,23	66,41 $\pm$ 0,45	51,83 $\pm$ 0,83
1×10^{-5}	91,72 $\pm$ 3,90	82,81 $\pm$ 2,42	80,90 $\pm$ 1,40	73,70 $\pm$ 1,54	56,56 $\pm$ 4,31	49,20 $\pm$ 2,36
1×10^{-4}	98,58 $\pm$ 2,11	88,66 $\pm$ 0,94	79,94 $\pm$ 0,32	74,23 $\pm$ 0,33	51,61 $\pm$ 6,12	39,71 $\pm$ 4,21

Discusión

Los efectos de la insulina sobre el sistema cardiovascular son conocidos desde antiguo. VISSCHER y MULLER (21) observó una reducción en el volumen ventricular del corazón cuando añadió insulina a una preparación corazón-pulmón; BAYLISS *et al.* (1) observaron que este mismo tipo de preparación se mantenía en mejores condiciones cuando añadían insulina-glucosa al líquido de perfusión; ERNSTENE (3) observó aumento tensional en individuos hipoglucémicos por insulina. Estos resultados se interpretan de diversas formas: efecto directo de la insulina sobre el SNC (15), estimulación del sistema adrenérgico (19), acción directa sobre el miocardio (7, 11, 16, 17).

Trabajos experimentales tanto en animal íntegro como en preparaciones de músculo aislado han mostrado que el aumento del conotropismo e inotropismo cardíaco inducido por la insulina está estrechamente relacionado con el sistema β -adrenérgico (2, 9, 14). Está demostrado el aumento del inotropismo cardíaco por el glucagón (4, 10), y se ha sugerido que estos efectos son consecuencia del glucagón contaminante en las preparaciones de

insulina (6, 8, 10, 16). Pero aún admitiendo un posible efecto del glucagón contaminante, no es posible admitir esta hipótesis como causa primordial del aumento del inotropismo, porque las concentraciones contaminantes del glucagón existentes en las preparaciones de insulina no superan el 0,1 % (alrededor de 8×10^{-11} M) y, a estas concentraciones los efectos sobre el inotropismo son mínimos (9, 14).

Otra posible explicación es que la insulina induzca un aumento de la actividad adrenérgica a través de un estímulo central consecuente a la hipoglucemia (13). Sin embargo, si se mantienen los niveles de glucosa constantes, mediante una infusión de este azúcar, persiste el efecto inotrope positivo (2, 14).

En el presente trabajo se han determinado las concentraciones de glucosa en el líquido nutricio en condiciones control y en los minutos 1, 3 y 5 en los grupos segundo y tercero, observándose una reducción de la concentración de glucosa en el baño al añadir al mismo adrenalina; reducción que se intensifica cuando se introduce insulina. Resultados cualitativamente iguales se obtienen con Cl_2Ca e insulina (tabla I).

El consumo de glucosa en ambos grupos es mayor cuando se introduce insulina en el baño simultáneamente a la adrenalina o Cl_2Ca ; y, sin embargo, reduce el aumento de la contractilidad inducido por adrenalina y Cl_2Ca , por lo que no puede atribuirse al efecto inotrope de la insulina un aumento en el consumo de glucosa.

Este antagonismo insulina-adrenalina observado en el consumo de glucosa corrobora el antagonismo general que existe entre ambas sustancias en los efectos fisiofarmacológicos de la adrenalina mediados por el cAMP y adenilciclase y que han sido observados en distintos tejidos (páncreas, hígado y tejido adiposo). RIEKER *et al.* (18) indican que la insulina actúa deprimiendo o bloqueando la respuesta al estímulo adrenérgico.

El antagonismo adrenalina-insulina a nivel de los efectos inotropos y cronotropos por un lado, y metabolismo de la glucosa por otro, no parecen estar relacionados. Trabajos realizados por LUCCHESI *et al.* (11) en músculo papilar de perro indican que los efectos inotropos de la insulina no están relacionados con la facilitación del transporte de glucosa a través de la membrana de la fibra miocárdica. De los resultados obtenidos en el presente estudio se deduce que la insulina presenta un efecto inotrope positivo sobre el músculo cardíaco y es independiente de la concentración externa en el baño.

La reducción del efecto inotrope de la adrenalina en presencia de insulina, y la acentuación de este hecho, previo bloqueo parcial de los receptores beta, indica que la insulina se comporta como un agonista parcial de la adrenalina a nivel de los receptores beta miocárdicos.

Se debe tener presente la estrecha relación entre la contracción miocárdica y los movimientos del Ca^{2+} de sus lugares de unión a las proteínas contráctiles.

Si éste fuese el único mecanismo, la administración de insulina al baño reduciría

de forma cuantitativamente igual la actividad inotropa de la adrenalina y del Cl_2Ca . En nuestros resultados la insulina inhibe mucho más intensamente a la adrenalina (fig. 3).

De lo expuesto se deduce que la insulina actuaría sobre los receptores β_2 comportándose como agonista parcial de la adrenalina, por ello dicha hormona reduce la contractilidad inducida por la adrenalina, aunque se debe tener en cuenta que la estimulación de los receptores beta pone en marcha la contracción muscular, fenómeno en el cual el Ca^{2+} juega un papel fundamental.

Resumen

Se estudian los efectos de la insulina sobre la actividad contráctil del músculo cardíaco aislado de rata, ventrículo derecho en baño de órganos. El líquido de perfusión fue Tyrode con burbujeo constante de carbógeno. La presencia de insulina en baño (0,3 UI/ml) aumenta la fuerza contráctil. El incremento de la contractilidad inducido por la adrenalina y el Cl_2Ca es reducido por la insulina. Tras bloqueo parcial de los receptores beta con pindolol este decremento es mayor. Las determinaciones de glucosa en el baño muestran igualmente un antagonismo insulina-adrenalina. La insulina se comporta como un agonista parcial de la adrenalina a nivel de los receptores beta.

Bibliografía

1. BAYLISS, L. E., MULLER, E. A. y STARLING, E. H.: *J. Physiol.*, London, 65, 33-47, 1928.
2. DOWNING, S. E., LEE, J. C. y RIEKER, R. P.: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 127, 649-656, 1977.
3. ERNSTENE, A. C. y ALTSCHULE, M. D.: *J. Clin. Invest.*, 10, 521-528, 1931.
4. FARAH, A. y TUTTLE, R.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 129, 48-55, 1960.
5. GARCÍA DE JALÓN, P. D., MORATINOS, J. P. y SERRANO, J. S.: *Brit. J. Pharmacol.*, 46, 167-169, 1972.

6. GLASGOW, A. M.: *Diabetes*, 19, 28-32, 1970.
7. HIATT, N. y KATZ, J.: *Life Sci.*, 8, 551-558, 1969.
8. HIATT, N., KATZ, J. y SHEINKOPF, J. A.: *Endocrinology*, 87, 186-191, 1970.
9. KLINGE, E. y WAFIN, F.: *Ann. Med. Exptl. Biol. Fenniae*, 49, 138-142, 1971.
10. LEE, J. C. y DOWNING, S. E.: *Am. J. Physiol.*, 230, 1.360-1.365, 1976.
11. LUCCHESI, B. R.: *Circulation Res.*, 22, 777-787, 1968.
12. LUCCHESI, B. R., MEVINA, M. y KNIFFEN, F. J.: *European. J. Pharmacol.*, 18, 107-115, 1972.
13. MARINETTI, G. V., SHLATZ, L. y REILLY, K.: En «*Insulin Action*» (I. B. Fritz, ed.), Academic, Nueva York, 1972, pp. 207-276.
14. MORAD, M. y GOLDMAN, Y.: *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 27, 259-316, 1973.
15. NUDEL, D. B., LEE, J. C. y DOWNING, S. E.: *Am. J. Physiol.*, 202, 249-252, 1962.
16. PEREDA, S. A., ECKSTEIN, J. W. y ABBoud, F. M.: *Am. J. Physiol.*, 202, 249-252, 1962.
17. REGAN, T. J., FRANK, M. J., LEHAN, P. H. y HELLEMS, H. K.: *Am. J. Physiol.*, 205, 790-794, 1963.
18. RIEKER, R. P., LEE, J. C. y DOWNING, S. E.: *Yale J. Biol. Med.*, 48, 353-360, 1975.
19. SODI-PALLARÉS, D., BISTENI, A., MEDRANO, G. A., TESTELLI, M. y DE MICHELI, A.: *Dis. Chest.*, 43, 424-432, 1963.
20. SUTHERLAND, E. W. y ROBINSON, G. A.: *Diabetes*, 18, 797-819, 1969.
21. VISSCHER, M. B. y MULLER, E. A.: *J. Physiol.*, London, 62, 341-348, 1926.