

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS, DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

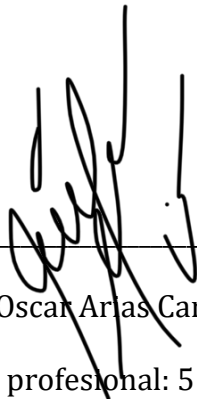
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE SERVICIO SOCIAL:

“EFECTO DEL PROPRANOLOL EN LA CORTEZA MOTORA PRIMARIA EN RATONES”

ALUMNA: MARIANA PÉREZ AGUILAR - 2162033750

FECHA DE INICIO: 21 de Febrero 2022

FECHA DE TÉRMINO: 21 de Agosto 2022



Dr. Oscar Arias Carrión

Cédula profesional: 5102115

Jefe de la Unidad de Trastornos del
Movimiento y Sueño

Hospital General Manuel Gea González

Asesor externo



Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa

No. Económico: 36434

Profesor Asociado D de T.C.

Asesor interno

Introducción

El temblor esencial (TE) es un trastorno de movimiento que comprende diferentes tipos de temblores de acción, tanto posturales como de intención, descartando previamente que su origen sea por alguna causa farmacológica o enfermedad médica general. La etiología del TE es desconocida. Se cree que estarían involucrados en su fisiopatología el cerebelo, el tálamo y áreas corticales frontales, interconectadas a través de un circuito cerebelo-tálamo-cortical. Presenta diferencias en la edad de inicio, distribución anatómica, índice de progresión y amplitud. Puede afectar a uno o varios segmentos corporales, tales como extremidades superiores, cabeza, mandíbula, laringe, tronco, cara y extremidades inferiores. Este trastorno no afecta la expectativa de vida, pero es una causa de limitación social, física, y psicológica.¹

El tratamiento farmacológico utilizado para este trastorno es el uso de betabloqueadores. Entre menos cardio-selectivo sea el fármaco mayor es su efectividad, por lo tanto, el que se utiliza con mayor frecuencia es el propranolol y la dosis utilizada varía entre 60 a 320 mg/día.¹

El propranolol es un antagonista competitivo no selectivo en betareceptores adrenérgicos. Dentro de sus efectos se encuentran la disminución de la frecuencia cardiaca, el gasto cardiaco y la presión arterial, también disminuye la demanda de oxígeno del miocardio.

El metabolismo del propranolol es por la vía hepática en su primer paso. Tiene una biodisponibilidad relativamente baja, la proporción que llega al torrente sanguíneo es directamente proporcional a la dosis ingerida de este. Tiene características que lo hacen lipofílico, por tanto, puede traspasar con facilidad la barrera hematoencefálica.² Se depura desde la sangre a razón de 16 mL/min/kg, su volumen de distribución es de 4 L/Kg y casi el 90% de este fármaco se encuentra fijo en la circulación unido a proteínas plasmáticas.³

Tiene acción como anestésico local, su eliminación y semivida varía entre 3.5 – 6 horas, tiene una biodisponibilidad aproximada de 30%, su eliminación puede prolongarse cuando existe enfermedad hepática, disminución del flujo sanguíneo hepático o inhibición de enzimas hepáticas.²

La vía de administración de este medicamento es oral o parenteral.²

El enantiómero S(-) del propranolol es la forma activa del fármaco, se capta en las terminaciones nerviosas simpáticas y se descarga cuando se produce estimulación nerviosa simpática.³

La administración de propranolol en pacientes que sufren el trastorno de temblor esencial ha demostrado ser uno de los tratamientos con mayor efectividad. La mejoría ocurre en aproximadamente 50% a 60% de los pacientes, siendo más evidente en el temblor de las manos y menos en el temblor de la cabeza o la voz. Sin embargo, aún se encuentra en investigación si la reducción de los movimientos involuntarios provocados por el temblor esencial, son producidos por un efecto del fármaco a nivel de sistema nervioso central o periférico.³ Por ello, el objetivo de este proyecto es ampliar el conocimiento sobre el efecto del propranolol en el circuito cerebelo-tálamo-cortical, específicamente en la corteza motora primaria.

Antecedentes

Temblor esencial

Dentro de los trastornos del movimiento, el temblor esencial es uno de los más comunes para los especialistas que tratan estas afecciones. La etiología de este trastorno aún no se comprende completamente, y tanto su respuesta al tratamiento como su pronóstico muestran una considerable variabilidad.¹

El temblor es la oscilación de una o varias articulaciones sobre su eje. El nombre de temblor esencial (TE) hace referencia a que el temblor se produce sin causa evidente, habiéndose descartado un origen farmacológico o alguna otra patología. Este trastorno puede verse reflejado en alguno de los segmentos corporales como las extremidades superiores, la cabeza, la mandíbula, la laringe, el tronco, la cara y las extremidades inferiores.¹

Tiene una prevalencia muy variable que se sitúa entre 0.5 a 1,700 por cada 100,000 habitantes en la población general, y de 400 a 5,500 por cada 100,000 en la población mayor de 40 años.¹⁷ Además, se observa una prevalencia del 4.6% en hombres y 5.0% en mujeres.¹⁸

Electroencefalograma (EEG)

Es una técnica que sirve para la exploración del sistema nervioso central (SNC) mediante el registro de la actividad eléctrica cerebral.²¹

La señal eléctrica que se registra es generada principalmente por las células piramidales de la corteza cerebral. Poblaciones de estas neuronas se pueden ver como pequeños dipolos eléctricos, cuyos potenciales postsinápticos, inhibitorios o excitatorios, se suman para producir la actividad eléctrica que puede ser medida desde la superficie del cráneo. Para realizar este registro es necesario utilizar electrodos distribuidos a través del área craneal, y un amplificador capaz de medir la diferencia de potencial eléctrico existente entre ellos.²¹

Existen tres tipos de encefalogramas de acuerdo con el área en la cual se colocan los electrodos: EEG estándar (sobre el cuero cabelludo), EEG cortical (sobre la corteza cerebral) y EEG de profundidad (intracerebral).²¹

Clasificación de la actividad rítmica espontánea de la corteza

Según su contenido de frecuencias, la señal de EEG puede clasificarse en cinco bandas principales. En seres humanos, la prominencia de cada una de estas bandas está directamente relacionada con su estado mental:

- Delta (0 – 4 Hz): Presente en adultos sólo en el sueño de ondas lentas. Su amplitud correlaciona con la profundidad del sueño y es mayor en hemisferio derecho. Su origen se atribuye al tálamo y está relacionado a la consolidación de la memoria. En vigilia, su aparición se considera normal en la infancia, sin embargo, en adultos es indicativo de enfermedades orgánicas cerebrales graves.
- Theta (4 – 8 Hz): Presente principalmente en zonas parietal y temporal. Pueden ser más notorias en la infancia o en adultos en períodos de estrés. Se correlacionan con la dificultad

en operaciones mentales, durante la atención y captación de información, procesamiento y aprendizaje o al tratar de recordar (memoria de trabajo).

- Alfa (8 – 12 Hz): Presente en la zona occipital en sujetos normales despiertos, sin ninguna actividad y con los ojos cerrados (ritmo dominante posterior). Su amplitud correlaciona con el estado de relajación mental y física. Disminuye o desaparece con ojos abiertos o durante atención focalizada.
- Beta (12 – 30 Hz): Aparece principalmente en regiones parietales y frontales, cuando se activa intensamente el SNC o cuando el sujeto está bajo tensión. Se correlaciona con estados de pensamiento activo, ocupado o ansioso y concentración activa. También al planear o ejecutar movimientos (zona central), u observar los movimientos de alguien (neuronas espejo).
- Gamma (>30 Hz): No ha sido muy estudiada, pero parece correlacionarse con procesos de atención.

El patrón de un encefalograma es dependiente del grupo de edad en que se realiza. La actividad theta y delta se observan con más frecuencia en la niñez. La actividad alfa es característica en la pubertad. En adultos, la presencia de actividades delta y theta excesivas regularmente indican una anomalía cerebral.²⁶

Sistema nervioso central

El sistema nervioso central está compuesto por el encéfalo (cerebro, tallo cerebral y cerebelo) y la médula espinal. Se encarga de integrar la información sensorial tanto del interior del cuerpo como del entorno, con el fin de regular el funcionamiento de los demás órganos y sistemas.³

A lo largo del sistema nervioso central las neuronas se agrupan en núcleos o están presentes en estructuras estratificadas como el cerebelo o el hipocampo.³

El cerebro

El cerebro se divide en cinco regiones (*Figura 1*) que son diferentes unas entre otras no solo anatómicamente sino también en la funcionalidad. Estas regiones se encuentran en ambos hemisferios.²⁵

- **Lóbulo frontal**

El lóbulo frontal es participe en los movimientos motores incluyendo el área donde se genera el habla.

- **Lóbulo parietal**

El lóbulo parietal es el encargado de procesar la información del tacto, el dolor, la temperatura de la piel y el procesamiento visual.²⁵

- **Lóbulo occipital**

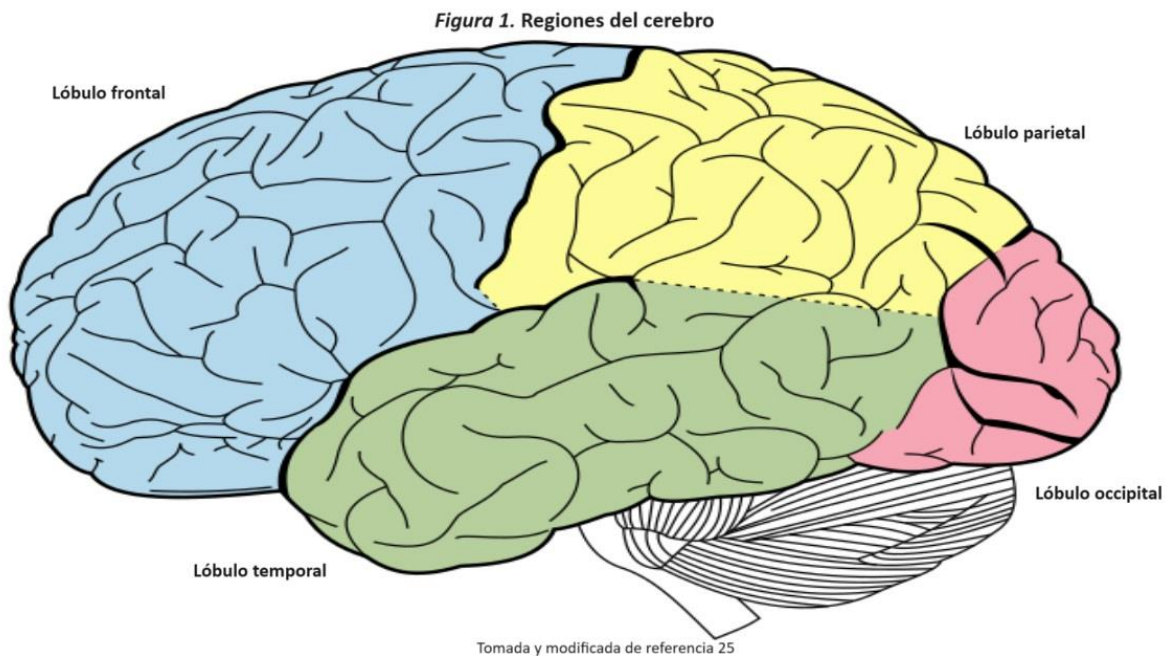
El lóbulo occipital es el encargado de procesar la información visual para llegar a un nivel de organización y comprensión de lo que vemos.²⁵

- **Lóbulo temporal**

El lóbulo temporal reúne los sonidos crudos que detectan los oídos para así convertirlos en un contexto. Si existiera daño de esta área el lenguaje hablado o escrito no sería comprendido.²⁵

- **Lóbulo insular**

La función de esta área del cerebro aún no es comprendida del todo, pero se sabe que es partícipe del procesamiento del gusto y las emociones. Su actividad cambia en función de diferentes estados como el dolor, el amor, la empatía, la adicción y el disfrutar de las actividades.



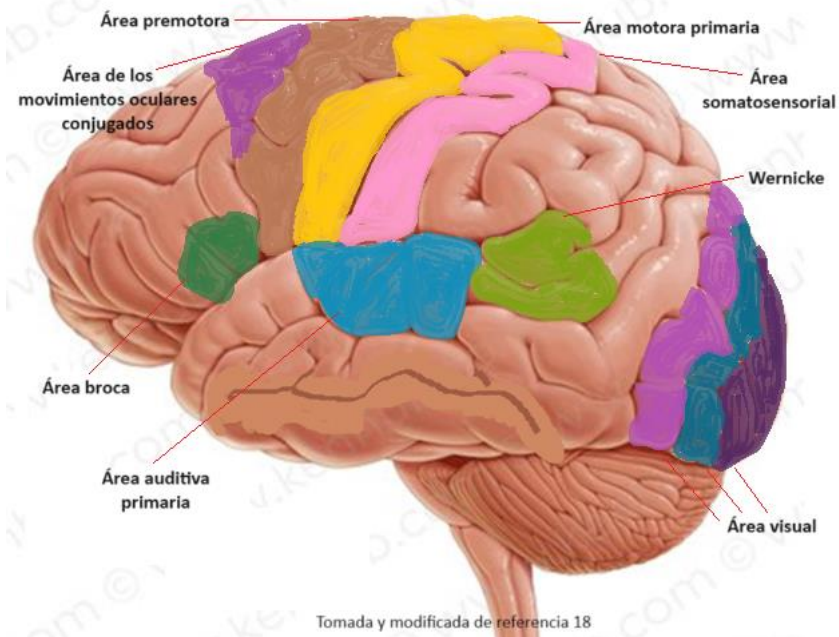
Áreas de la corteza cerebral

Todas las áreas de la corteza se encuentran conectadas entre sí.

- Áreas sensoriales
- Áreas de asociación
- Áreas motoras

Estas áreas cuentan con una distribución de funciones en todo el cerebro (*Figura 2*).

Figura 2. Distribución de las funciones cerebrales



Corteza motora primaria (M1)

Es la región del cerebro que se encarga de los movimientos voluntarios. Bajo estimulación eléctrica, con la menor intensidad de corriente, esta área cortical provoca el movimiento de algunas partes del cuerpo.⁴

Se encuentra en el área 4 de Brodmann, anterior al surco central, y ocupa los dos tercios posteriores del giro frontal ascendente. Es responsable de los movimientos contralaterales del cuerpo.⁵

Dirige la totalidad de la musculatura, las neuronas que conforman esta área, forman un mapa topográfico invertido del cuerpo (organización somatotópica).

Esta área del cerebro está implicada en diversas acciones manipulativas y de control fino, como: fuerza muscular, movimientos de flexión y extensión, fijación de articulaciones, dirección del movimiento, movimientos ipsilaterales, contralaterales y bilaterales.⁶

Barreras que deben atravesar los fármacos para llegar al SNC

Existen tres tipos de barreras que un fármaco debe atravesar para poder llegar al cerebro: la barrera hematoencefálica (BHE), la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo (BSLCR), y la barrera sangre-aracnoides.⁷

Barrera hematoencefálica

Está conformada por una barrera membranosa, la cual sirve para separar el tejido cerebral de la sangre circulante. Consta de capilares sanguíneos con características diferentes a los de otros tejidos. Estos están cubiertos por células endoteliales sin poros y con aberturas muy estrechas, lo que disminuye su permeabilidad.⁷

Barrera sangre-líquido cefalorraquídeo y la barrera sangre aracnoides

La BSLCR se encuentra en el epitelio del plexo coroideo y permite el acceso al líquido cefalorraquídeo ventricular y subaracnoideo.⁷

La barrera sangre-aracnoides está compuesta por células epiteliales que por su ubicación son llamadas "células intermedias" ya que se encuentran entre el líquido cefalorraquídeo y el cerebro. Estas impiden el paso de la mayoría de las macromoléculas presentes en la sangre al líquido cefalorraquídeo.⁷

Estas barreras principalmente cumplen tres funciones: regulan en equilibrio iónico, facilitan el transporte de nutrientes al SNC y evitan la entrada de sustancias que pueden ser potencialmente tóxicas.¹³

La glucoproteína P es un transportador encargado de expulsar los sustratos farmacológicos hacia la membrana luminal de las células endoteliales de los capilares cerebrales, generando que estos se trasladen hacia la sangre. Es por ello que los fármacos tienen una difícil penetración al encéfalo.¹⁶

Además de la glucoproteína P, existen otros transportadores dentro de la barrera hematoencefálica y la barrera hematorraquídea como: OATP1A4, OATP1A5 y OAT3 los cuales participan en la salida de aniones orgánicos del SNC, además de ser mediadores en la captación de compuestos orgánicos.¹⁶

Propiedades de la barrera hematoencefálica

El área superficial de la BHF es aproximadamente 1000 veces mayor que el área de la BSLCR, por lo que puede considerarse como la barrera más importante para el transporte de medicamentos en el cerebro. También funciona como barrera metabólica e inmunitaria. Su funcionalidad es afectada por procesos fisiológicos y patológicos, que a su vez pueden afectar al transporte transcelular y paracelular de los medicamentos.⁷

Esta barrera está compuesta por células endoteliales que tienen una carga superficial negativa. También consta de muchas mitocondrias y enzimas, las cuales ayudan en la selección de nutrientes y el intercambio de sustancias externa e internamente.⁷

En un adulto, la BHF tiene un área aproximada de 20 m².¹³

La BHF tiene una función de suma importancia para el control del volumen intracraneal a través de las acuaporinas, canales transmembranales que se encargan del transporte de iones y agua.¹³

La barrera hematoencefálica está formada por células vasculares endoteliales, astrocitos y pericitos basados en el plexo coroideo, la vascularización cerebral y el epéndimo.¹⁹

Transporte de medicamentos a través de la barrera hematoencefálica

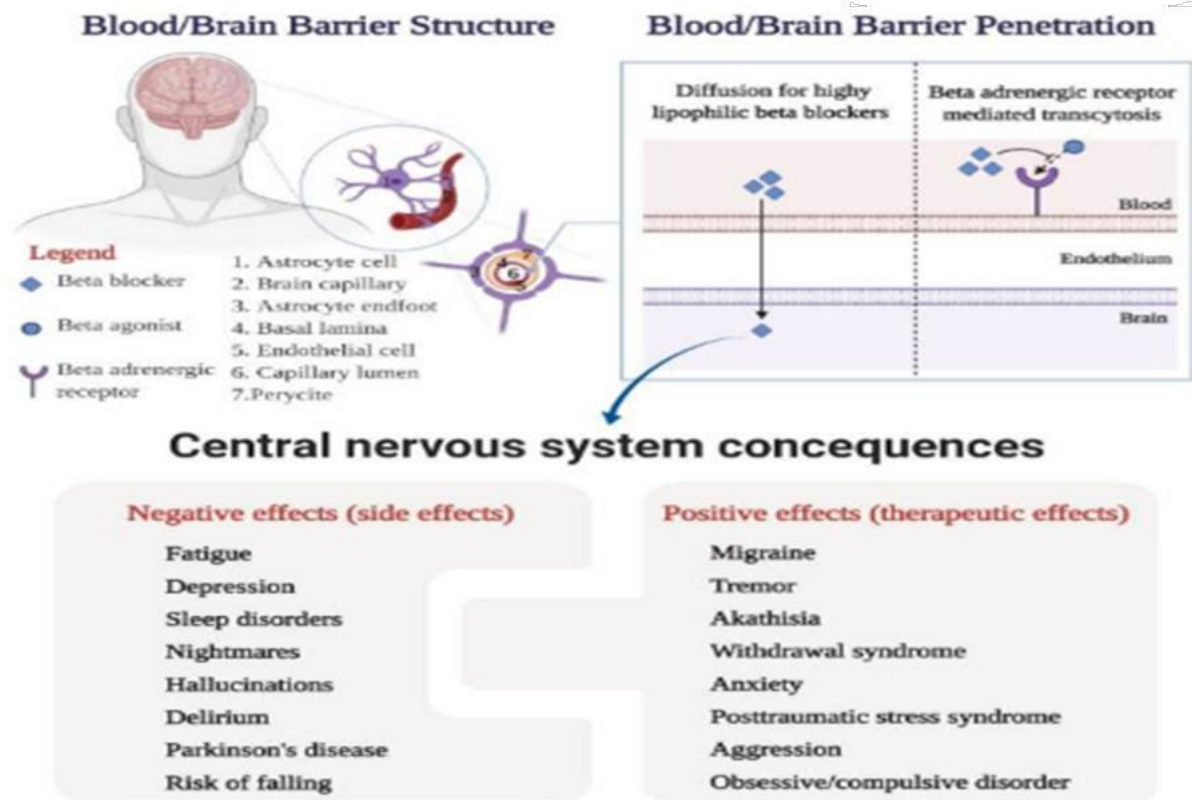
La permeabilidad de esta barrera está mediada por las células endoteliales capilares.

El transporte de compuestos hacia el cerebro a través de la BHE es mediante el transporte pasivo (difusión simple de moléculas lipofílicas) y el transporte activo (transporte mediado por portadores, receptores, y adsorción y transporte activo de salida).⁷ Las moléculas altamente lipofílicas y relativamente pequeñas cruzan pasivamente las membranas celulares de la barrera hematoencefálica.¹⁹ El transporte activo puede influir en el movimiento de la barrera biológica de un

lado u otro, las sustancias que tienen una alta lipofilia poseen una mayor afinidad con ciertas bombas de expulsión.¹⁹

Una vez que los fármacos atraviesan la barrera hematoencefálica existen consecuencias que pueden ser negativas o positivas en el SNC (Figura 3).

Figura 3. Consecuencias del sistema nervioso central: angioarquitectura de la barrera hematoencefálica, suministro de fármacos al cerebro y efectos negativos y positivos interconectados de los betabloqueantes.



Tomada de referencia 19

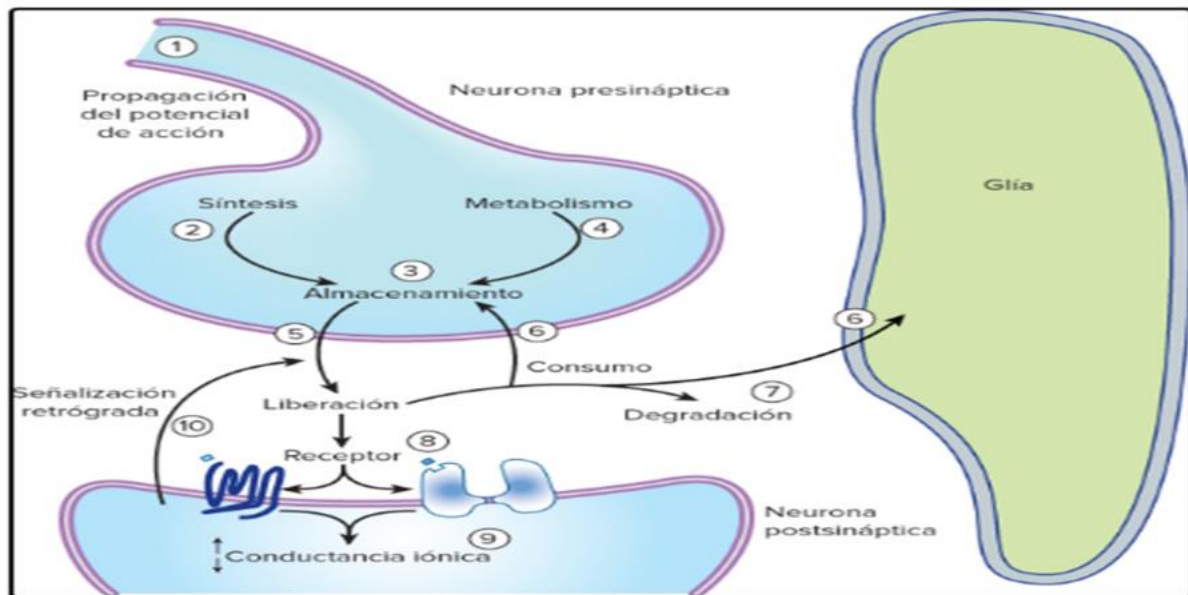
La permeabilidad de la barrera hematoencefálica se puede determinar utilizando diversos métodos incluida la biodistribución y la autorradiografía en animales, muestreo invasivo, imágenes PET o exámenes postmortem en investigaciones en humanos. De los resultados arrojados por estos métodos es que se permite agrupar los betabloqueadores de acuerdo con su capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica.²⁴

Sitios de acción de los medicamentos que pasan a través de la barrera

Casi todos los medicamentos que ejercen su efecto en el sistema nervioso central producen sus efectos al modificar algún paso en la transmisión sináptica química. Las acciones producidas que son dependientes del transmisor se pueden dividir en categorías presinápticas y postsinápticas. En la categoría presináptica podemos mencionar los fármacos que actúan sobre la síntesis, el almacenamiento, el metabolismo y la liberación de neurotransmisores. En la categoría postsináptica encontramos que el receptor transmisor es el sitio primario de acción del fármaco. En este caso los fármacos pueden actuar como agonistas de los neurotransmisores o bloquear la función de receptor. También pueden actuar directamente en los canales iónicos de los receptores ionotrópicos.³

En la figura 4 se observa el proceso por el cual los medicamentos pueden ejercer su acción terapéutica.

Figura 4. Sitios de acción de medicamentos. Dibujo esquemático de los pasos a través de los cuales los medicamentos pueden alterar la transmisión sináptica. 1) Potencial de acción en fibra presináptica; 2) síntesis del transmisor; 3) almacenamiento; 4) metabolismo; 5) liberación; 6) recaptura en la terminación nerviosa o captación en una célula glial; 7) degradación; 8) receptor para el transmisor; 9) aumento o disminución inducida por el receptor en la conductancia iónica; 10) señalización retrógrada.



Tomada de referencia 3

La unión de un fármaco a su diana suele ser saturable y estereoselectiva.²⁷

Betabloqueadores

Los betabloqueadores son fármacos que se unen a receptores beta-adrenérgicos induciendo así un antagonismo competitivo.

Presentan cardioselectividad por los receptores beta₁ y beta₂. Los primeros se encuentran principalmente en el corazón, riñón y los adipocitos, mientras que los segundos se encuentran principalmente a nivel bronquial, arterial, muscular, pancreático, hepático, etc.

Estos fármacos presentan diversa afinidad por los lípidos. Los lipofílicos tienen un metabolismo de primer paso y son metabolizados por el hígado, lo cual ocasiona que su biodisponibilidad sea baja. También, por su lipofilidad, pueden pasar con facilidad la barrera hematoencefálica. Los betabloqueantes con menor afinidad a los lípidos son eliminados en el riñón y es difícil que crucen la barrera hematoencefálica.⁸

Pertencen a la familia de receptores que se acoplan a proteínas G y el estímulo que reciben proviene de catecolaminas endógenas. Una vez que estos betabloqueadores son estimulados, se activan numerosas cascadas intracelulares, teniendo como resultado la contracción cardíaca o dilatación vascular.¹⁴

Contrarrestan los efectos de las catecolaminas en los receptores beta bloqueando estos receptores y disminuyendo de manera competitiva su ocupación por las catecolaminas y otros agonistas.¹⁵

Mecanismo de acción de los betabloqueadores

Su mecanismo de acción radica en la afinidad para unirse a los receptores beta-adrenérgicos. No producen respuestas fisiológicas y compiten con los agonistas por el sitio de unión, razón por la cual se les llama antagonistas competitivos. Sus efectos son contrarrestados incrementando la dosis del agonista.²⁰

A pesar que su mecanismo de acción es común entre estas sustancias, existen algunos aspectos que marcan diferencias entre ellos, como:

-Afinidad selectiva por los subtipos de receptores adrenérgicos beta.

-Agonismo inverso.

-Agonismo parcial.

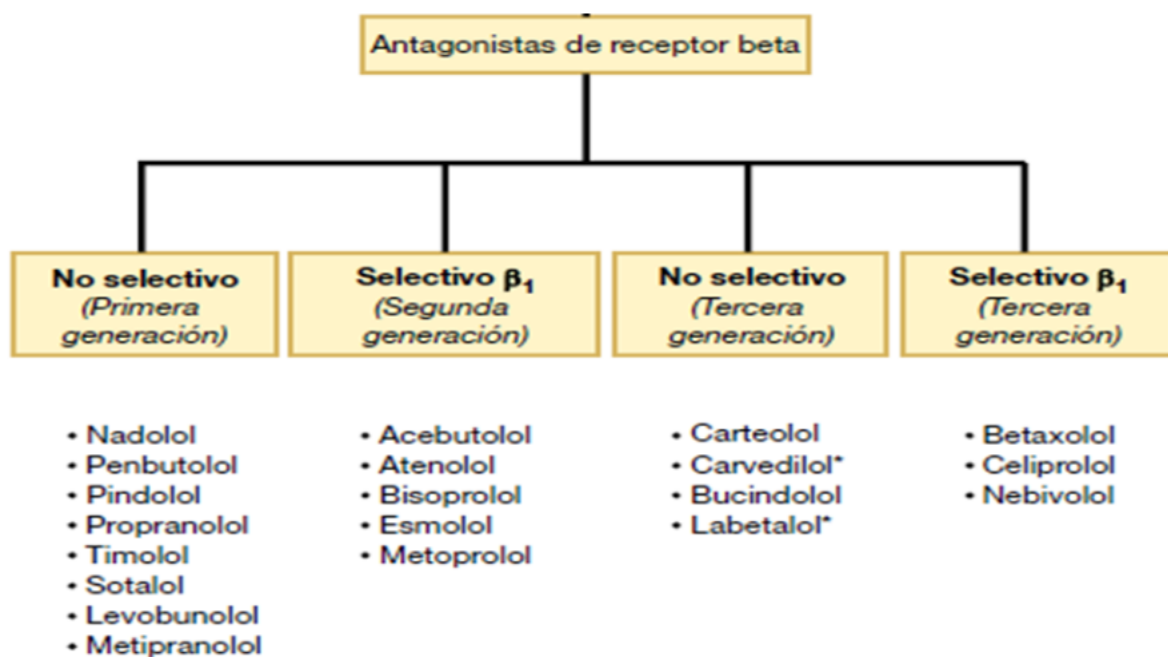
-Agonismo sesgado.

-Mecanismos adicionales independientes a sus propiedades, que contribuyen a su eficacia terapéutica:

- Bloqueo de canal de k^+ (sotalol)
- Actividad antagonista en receptor adrenérgico β_1 (carvedilol y labetalol)
- Actividad de liberación de NO (nebivolol)²⁰

En la figura 5 se observa la clasificación de los antagonistas de los receptores beta, así como la generación a la cual pertenecen.

Figura 5. Clasificación de los antagonistas de los betareceptores



Algunas de las diferencias entre los betabloqueadores son la efectividad relativa entre los receptores beta₁ sobre los receptores beta₂, la actividad simpaticomimética intrínseca, su capacidad para bloquear a los alfa-receptores, sus diferentes liposolubilidades, la capacidad para inducir vasodilatación y diferentes actividades farmacocinéticas.¹⁶

Propiedades farmacocinéticas

- Absorción

En su mayoría, estos fármacos se absorben bien tras la administración por vía oral; las concentraciones máximas se observan alrededor de las tres horas después de su ingestión.¹⁵

- Biodisponibilidad

El porcentaje del fármaco presente en la circulación sistémica es proporcional a la dosis, por lo que podría existir una saturación en los mecanismos hepáticos de extracción. La biodisponibilidad de estos fármacos es variable de paciente a paciente.¹⁵

- Distribución y eliminación

Se distribuyen con rapidez y en grandes volúmenes. La mayoría de los antagonistas beta poseen semividas de entre tres y diez horas.¹⁵

Farmacodinamia

Efectos farmacológicos

- Efectos cardiovasculares
- Acción hipertensiva

Efectos sobre la hipertrofia cardiovascular y la disfunción endotelial

Utilidad como fármacos antihipertensivos

- Acción antianginosa
- Efectos electrofisiológicos

Efectividad antiarrítmica

Prevención de la muerte cardiaca súbita

- Insuficiencia cardiaca
- Infarto de miocardio
- Aplicaciones neuropsiquiátricas

Los betabloqueadores no selectivos reprimen los síntomas somáticos (palpitaciones, temblor, hipertensión arterial, sudoración, diarrea, etc.) y psíquicos de ansiedad (tensión, miedo, dificultad de concentración, etc.). Estos fármacos son altamente efectivos para suprimir la ansiedad pre/postoperatoria o situacional (hablar en público, realizar exámenes, conducir coches, tocar un instrumento, etc.). También son útiles en pacientes con temblor esencial o sintomático (asociado a ansiedad, hipertiroidismo, agonistas β-adrenérgicos, litio, metilxantinas, Parkinson, morfina o

alcohol), así como también en el mioclono esencial familiar.⁹ Uno de los fármacos más utilizados como beta bloqueador es el propranolol.

Propranolol

En su estructura, este fármaco presenta un centro quiral, que es el sitio en el cual se forma la unión con el receptor generado así su actividad biológica.²²

Presenta isómeros y una mezcla racémica. El nombre químico de este fármaco es 1-(isopropilamina)-3-(-1-naftiloxi)-2-propranolol clorhidrato o 1-[(1-metiletil (amino))]-3-(-1-naftaleniloxi)-2-propanol. Su peso molecular es 295.81 g/mol y su punto de fusión oscila entre 162-165 °C. Es un sólido blanco, soluble en agua y alcohol, ligeramente soluble en cloroformo y casi insoluble en éter. La descomposición de este fármaco en soluciones acuosas es mediante la oxidación de cadena de isopropilamina, su valor de pK_a es de 9.45.²²

El propranolol es un fármaco que se utiliza ampliamente en la práctica clínica. Se une competitivamente a los adenosreceptores, disminuyendo la eficacia de los agonistas beta.²²

Es un fármaco liposoluble que se absorbe rápida y completamente por vía oral. Su biotransformación se lleva a cabo en la pared intestinal e hígado (a través del citocromo CYP2D6), ocasionando así que su biodisponibilidad sea baja (10-30%). Por sus características liposolubles tiene buena afinidad con las proteínas plasmáticas y esto a su vez ocasiona que se difunda ampliamente por el organismo. Este fármaco puede atravesar con facilidad la barrera placentaria y hematoencefálica.⁹

Tiene diversos efectos en el SNC como: la depresión, el vértigo, el letargo, la fatiga, debilidad, trastornos visuales, alucinaciones, pérdida de memoria a corto plazo, labilidad emocional, sueños vívidos, disminución del desempeño y depresión que se manifiesta por insomnio.²³

Se puede encontrar en una presentación de acción prolongada con lo que la absorción puede durar hasta 24 horas, teniendo un efecto mínimo en los receptores muscarínicos y alfa. También puede llegar a bloquear algunos receptores de serotonina en el cerebro, sin embargo, se desconoce su importancia clínica.¹⁵

Efecto del propranolol en el SNC

Efectos centrales de dosis únicas orales en el hombre

En un estudio realizado por S.A.M SALEM y D.G. McDEVITFT del Departamento de Terapéutica y Farmacología, The Queen's Universidad de Belfast, Irlanda del Norte se menciona que el uso de propranolol a bajas concentraciones (40 y 80 mg) tiene mayor efecto para contrarrestar el estado de ánimo para la tensión, el estado de alerta, la depresión, desapego y ansiedad, los cuales fueron medidos con escalas de calificación. Este estudio sugiere que existe un deterioro del nivel de rendimiento de excitación o integración, sensoriomotor, desempeño, percepción y reconocimiento. Por lo tanto, el uso de este fármaco no es recomendado para realizar habilidades cotidianas como conducción y manejo de maquinaria industrial ya que este tiene un mayor efecto entre las 2-3 horas posteriores a su administración.¹⁰

Electroencefalograma posterior a la administración de propranolol

Después de la ingestión de dosis de 40 y 80 mg de propranolol, en un estudio realizado por A.N. NICHOLSON; N. A. WRIGHT Y M. B. ZETLEIN, Instituto de Medicina Aeronáutica de la Real Fuerza Aérea, Farnborough, Hampshire GU14 6SZ, se observó una disminución de la actividad beta del EEG, atribuida a un efecto sedante del propranolol. Sin embargo, existen otros estudios que concluyen que los cambios vistos en el EEG pueden interpretarse como una disminución en el estado de alerta a dosis bajas y sedación a dosis altas. De igual forma estos estudios abren una ventana de investigación, pues existe la posibilidad de que los receptores se saturen a bajas concentraciones.¹¹

La distribución en el cerebro del propranolol inyectado vía intravenosa se ve afectada por el tiempo transcurrido después de la administración. En los primeros 3 minutos posteriores a la administración, el fármaco se presenta en la materia gris sin embargo no se distribuye en el área de la sustancia blanca. De igual forma este fármaco se puede encontrar en la región del hipocampo y en algunas secciones del tronco encefálico. Después de 40 minutos, el propranolol disminuye en casi todo el encéfalo, pero permanece presente en la corteza cerebral, el tálamo y el hipocampo.¹²

La eliminación de este fármaco y sus metabolitos es llevada a cabo en el riñón.⁹

Objetivos

General: Identificar los cambios en la actividad electroencefalográfica de la corteza motora primaria en ratones, posterior a la administración de propranolol.

Específicos:

- Revisión bibliográfica.
- Instrumentación para registro electroencefalográfico en ratones.
- Administración de la dosis de propranolol (el equivalente en ratones de la dosis para el tratamiento de TE en humanos).
- Registro de la variación del EEG antes y después de la administración de propranolol.

Metodología

Para este estudio se utilizó un grupo de 10 ratones macho de la cepa C57BL/6 con una edad promedio de 3 meses y un peso de 28 - 32 g. Estos ratones se mantuvieron en cajas individuales de policarbonato en una habitación con temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y ciclos automáticos de luz/oscuridad de 7 am a 7 pm, manteniendo libre acceso a alimento y agua. Ya que los ratones están predispuestos a la hipotermia, fue necesario el uso de placas de calentamiento durante y después de la cirugía. El experimento fue realizado de acuerdo con la norma NOM-062-ZOO-1999.

Preparación de las soluciones:

-Anestesia

En una jeringa de insulina se mezcló 0.10 mL de Xilazina (PROCIN), 0.18 mL de Ketamina HCl solución inyectable (Ketamin-Pet) y 0.42 mL de solución de NaCl al 0.9%.

-Solución de propranolol

En un matraz aforado de 20 mL se colocaron 40 mg de clorhidrato de propranolol (mezcla racémica $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich) y aforando con solución salina al 0.9%. Quedando así una concentración de 2 mg/mL.

Intervención

El material se esterilizó sumergiéndolo durante 5 minutos en alcohol etílico al 70%.

Cada ratón se pesó en una báscula electrónica. Posteriormente, se procedió a administrar intraperitonealmente la solución de anestesia, 0.0032 mL/g del ratón, para una dosis de 82.3 mg/kg de ketamina y 9.1 mg/kg de xilazina. Se dejó actuar durante un intervalo de 10 -15 minutos, tiempo durante el cual se realizó la eliminación del pelo del ratón, descubriendo el área del cráneo, y se montó en un equipo estereotáxico (David Kopf Instruments) para la intervención. Ya en la posición correcta, para evitar la desecación corneal, los ojos fueron cubiertos con dexpanthenol (Bepanthen®, Hoffmann-La Roche AG). Después, se realizó un corte con bisturí a lo largo de la línea media de la cabeza, iniciando desde la parte central de los ojos hasta poder observar el punto de referencia lambda (punto donde se unen los huesos parietales y el occipital), dejando así el cráneo expuesto. Tomando como punto de referencia Bregma (punto donde se unen los huesos parietales y el frontal), con la ayuda de un taladro de pluma con punta de fresa diamante #4 se procedió a realizar cuatro perforaciones en las coordenadas anteroposterior (AP) 0.5 - 1.0 mm y lateral medial (ML) 1.0 - 2.5 mm, con una profundidad suficiente para atravesar el grosor del hueso del cráneo y sin lastimar el cerebro. En cada orificio se procedió a colocar un electrodo (tornillo de acero inoxidable) teniendo cuidado que el electrodo no perforara el cerebro y solo lo tocara (figura 6). Se colocaron dos electrodos de registro sobre la corteza motora primaria de cada hemisferio cerebral, además de un electrodo de referencia y otro de tierra. Para su fijación, se usó una pequeña porción de metilmetacrilato (acrílico dental), y en seguida se colocó un chip de 2 canales fabricado ad hoc para el experimento, para unir los electrodos a un conector apropiado para el amplificador de señales (figura 7). Terminado este procedimiento se colocó al individuo en su caja, la cual se mantuvo a una temperatura de 27 °C por un lapso de 30 minutos. El tiempo de recuperación de la cirugía fue de 1 semana en las condiciones de ciclo de luz/oscuridad 12 h, con agua y comida ad libitum.

Transcurrido el tiempo de recuperación, se procedió a administrar de forma intraperitoneal solución salina al 0.9% (0.0041 mL/g de peso del ratón) a manera de placebo, para inmediatamente conectarlo al sistema de registro de EEG/EMG (amplificador PINNACLE TECHNOLOGY) (figura 8). Cada ratón se registró por un periodo de 7 horas consecutivas, con una tasa de muestreo de 250 Hz y un filtro pasabanda de 0.5 – 40 Hz. Durante el tiempo de registro, el ratón tenía libre movimiento dentro de un cilindro de acrílico de 30 cm de diámetro y 30 cm de altura. Transcurrido este tiempo el individuo fue desconectado y depositado nuevamente en su caja, con las condiciones descritas anteriormente.

Se dejó descansar al individuo por 1 semana y, transcurrido ese tiempo, se repitió el experimento, pero esta vez aplicando vía intraperitoneal la solución de propranolol, 0.0041 mL/g de peso del ratón, para una dosis de 8.2 mg/kg, equivalente a la ingesta de una pastilla de 40mg en un humano promedio.

De igual forma, se conectó cada ratón al sistema de registro de EEG/EMG y se dejó grabando por un periodo de 7 horas.

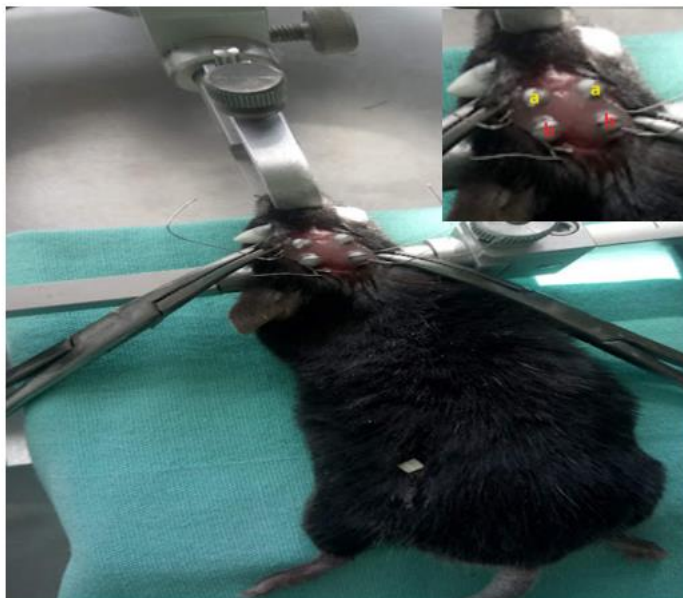
Procesamiento de la señal de EEG.

Una vez que los registros electroencefalográficos de todos los individuos fueron obtenidos, se procedió a analizarlos con el software Matlab (MathWorks). Para ello, los registros se importaron y se les aplicó un filtro digital de 1 – 40 Hz. Posteriormente, cada canal del registro (uno para la corteza motora izquierda y otro para la derecha) se normalizó con respecto a la potencia promedio del registro, y se dividió en fragmentos de un segundo de duración mediante una ventana de muestreo tipo Hamming. A cada uno de estos fragmentos se le calculó la amplitud máxima, y si esta superaba los 100 μV , se consideraba que el registro estaba contaminado con ruido (artefactos producidos por el movimiento del ratón) y era eliminado del análisis. A los fragmentos del registro que se encontraban libres de ruido se les calculó la potencia en las bandas de frecuencia correspondientes a delta (1 – 4 Hz), theta (4 – 7 Hz), alfa (7 – 13 Hz) y beta (13 – 35 Hz) mediante la transformada rápida de Fourier. Los valores de potencia de cada fragmento de un segundo se promediaron por intervalos de una hora, de forma que para cada ratón se tuvo un promedio de la potencia de la señal de EEG en cada una de las 4 bandas de frecuencia, por cada una de las 7 horas del registro, para cada canal (izquierdo y derecho).

Análisis estadístico.

Se comparó la potencia en cada una de las bandas de frecuencia y cada uno de los canales de forma independiente (figura 9). Se tomó como variable dependiente potencia promedio y como variables independientes la condición del ratón (placebo o propranolol) y el tiempo (el número de horas de registro transcurridas). Se aplicó un análisis de varianza de dos factores (ANOVA de dos vías) tomando tanto la condición del ratón y el tiempo del registro factores de medidas dependientes (mediciones repetidas) con corrección de Greenhouse-Geisser. Se estableció un nivel de significancia estadística de $\alpha = 0.05$.

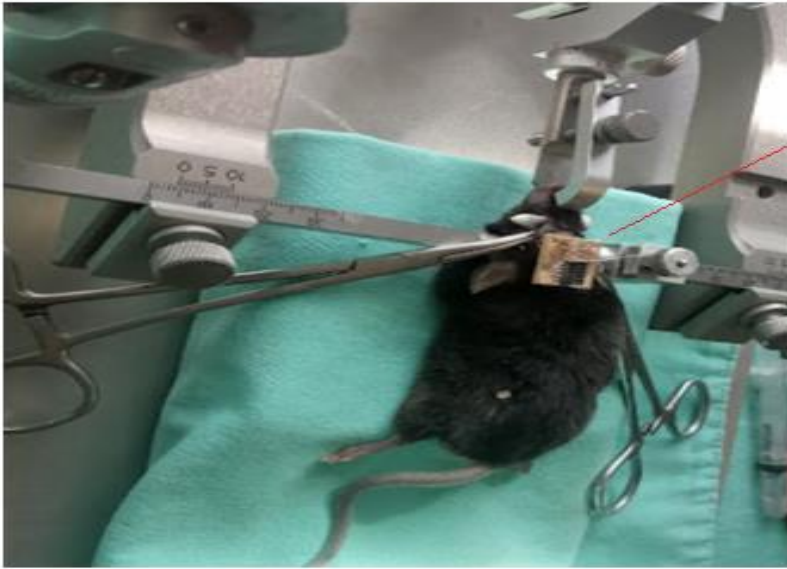
Figura 6. Colocación y fijación de electrodos.



a) Electrodos de registro sobre la corteza motora primaria de cada hemisferio cerebral

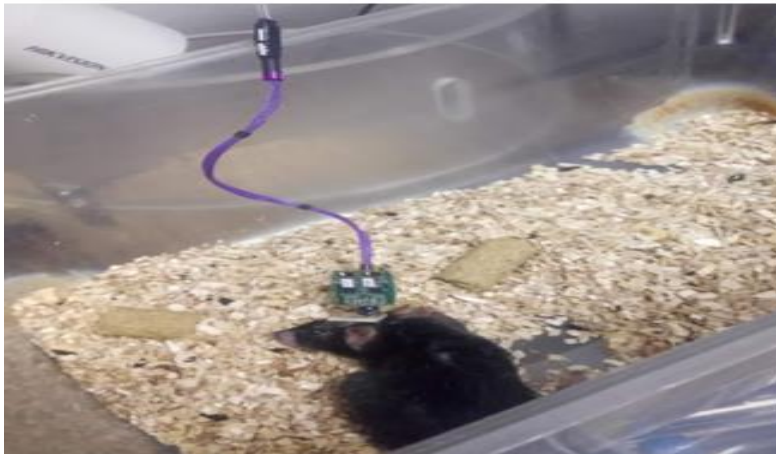
b) Electrodo de referencia y tierra.

Figura 7. Colocación de chip de 2 canales



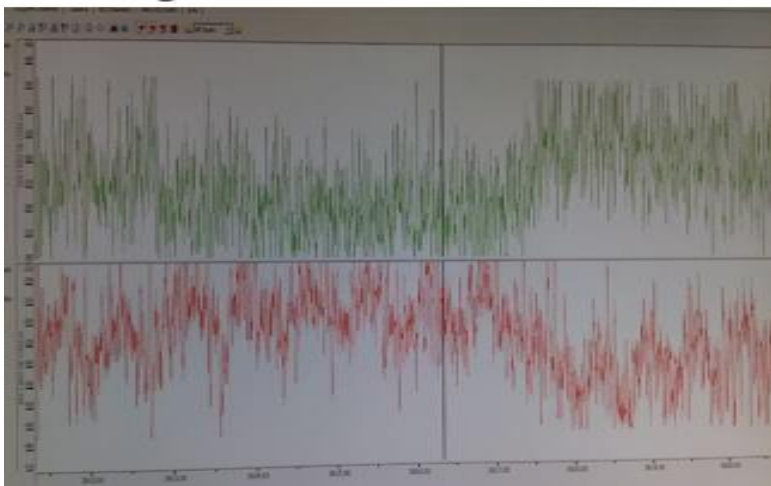
Colocación y fijación de chip de 2 canales con acrílico dental

Figura 8. Ejemplar conectado a amplificador



Uso de amplificador PINNACLE TECHNOLOGY después de administración de solución salina / propranolol

Imagen 9. Señal de EGG de ambos hemisferios.



Bandas de frecuencia en ambos hemisferios

Resultados

De los 10 ratones registrados, dos presentaron un exceso de artefactos en la señal de EEG durante el registro, por lo que tuvieron que ser descartados del análisis y sólo se pudo analizar la señal de EEG de 8 ratones.

En ninguna de las bandas de frecuencia analizadas se encontró diferencia entre la potencia promedio del registro de EEG de los ratones bajo el efecto del propranolol en comparación con el placebo (Figura x).

Solamente el factor tiempo tuvo un efecto significativo en la variabilidad de la potencia promedio a lo largo de las 7 horas de registro ($p < 0.05$, en ambos canales, para todas las bandas de frecuencia).

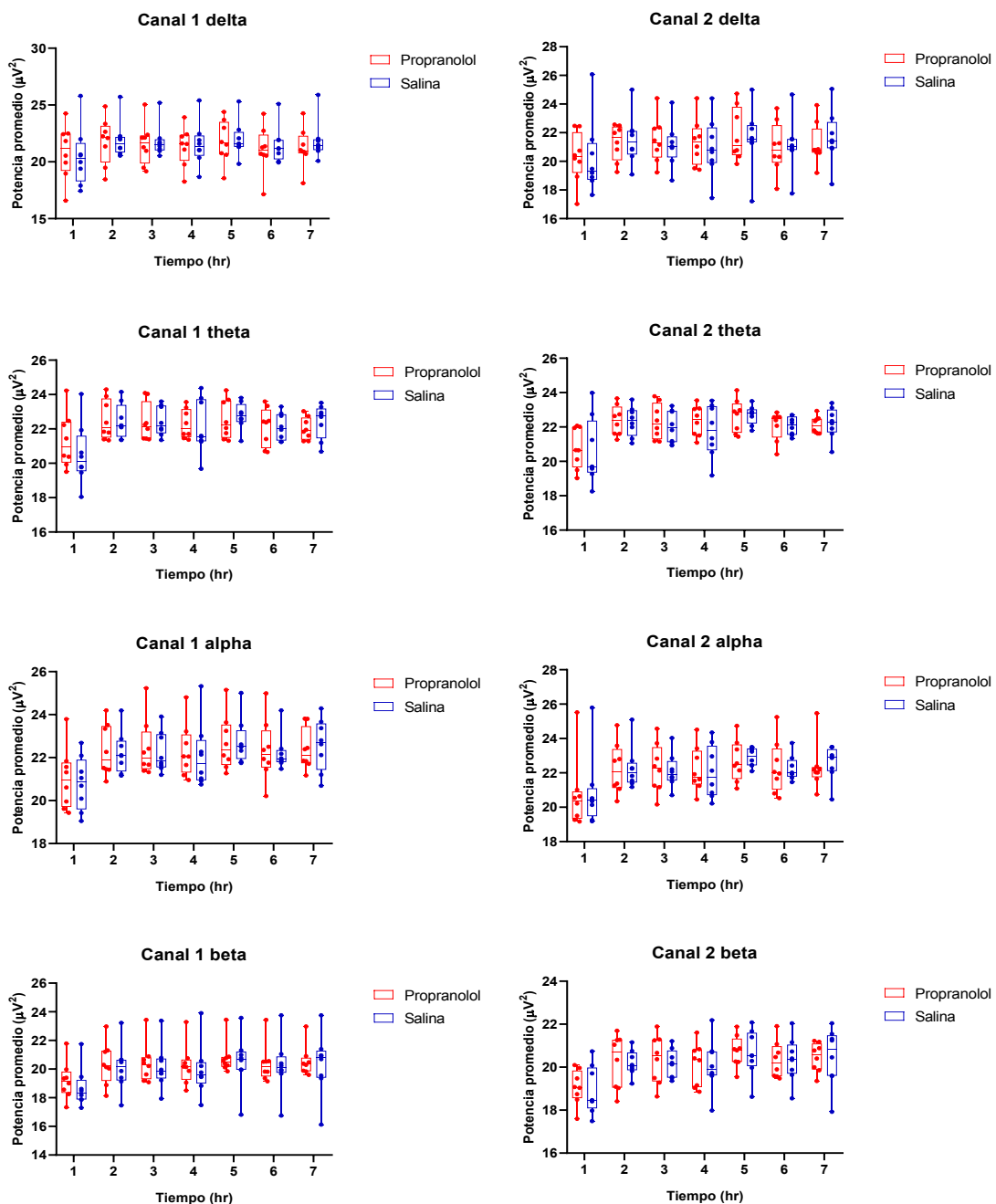


Figura 10. Comparación de la potencia promedio en las bandas de frecuencia delta, theta, alfa y beta de la señal de EEG sobre la corteza motora primaria derecha (Canal 1) e izquierda (Canal 2) de los ratones, bajo el efecto del propranolol (rojo) en comparación con el placebo (azul).

Discusión

No se observaron diferencias en la actividad electroencefalográfica de los ratones bajo la influencia del propranolol en ninguna de las bandas de frecuencia analizadas. Sin embargo, se identificó un efecto relacionado con el tiempo de registro sobre la potencia de la señal en todas las bandas, independientemente de si se les administró placebo o propranolol. Esta variación podría atribuirse a fluctuaciones en el ciclo circadiano de los animales, evidentes a lo largo de las siete horas de registro.

La ausencia de diferencias en la potencia del EEG en los ratones tratados con propranolol podría tener varias explicaciones. Una posibilidad es que el propranolol no afecte la corteza motora primaria. A pesar de esto, investigaciones previas han indicado que algunos agonistas de los receptores adrenérgicos beta1 y beta2, como el isoproterenol, la dobutamina y el fenoterol, pueden modular la tasa de activación de las neuronas de M1 en ratas. Además, en este mismo estudio, se observó que el propranolol facilitó tanto la actividad de fondo como la actividad evocada en las neuronas de M1 [Lukhanina, 2003]. Además, en estudios en humanos, se ha sugerido que el propranolol afecta la excitabilidad cortical motora, dependiente del receptor glutamatérgico NMDA, al reducir la duración de los efectos secundarios generados por la estimulación transcraneal con corriente continua (tDCS) [Nitsche, 2004]. Otros hallazgos respaldan que el propranolol tiene efectos en la corteza motora, ya que aumenta la banda beta de la coherencia corticomuscular en humanos [Baker, 2012] y modula la excitabilidad de la corteza motora primaria en personas con temblor esencial, según mediciones con estimulación magnética transcraneal [Miguel-Puga, 2024]. Aunque estos estudios sugieren efectos del propranolol en la actividad y excitabilidad de las neuronas de M1, solo uno ha proporcionado mediciones directas sobre la corteza, y el mecanismo subyacente a estos efectos aún no se ha esclarecido.

Otra explicación plausible es que los cambios en la excitabilidad de M1 no sean lo suficientemente notorios como para modificar significativamente la actividad eléctrica de las neuronas, lo que haría que la medición de la potencia de la señal eléctrica del EEG no sea lo bastante sensible para detectar tales modificaciones. Un análisis más detallado de esta señal, como un análisis tiempo-frecuencia o la extracción de características estadísticas de la serie temporal, podría revelar posibles cambios en la actividad de las neuronas de la corteza motora en estudios subsiguientes. Además, teniendo en cuenta la varianza obtenida en las mediciones de potencia promedio, el tamaño de la muestra fue relativamente pequeño, por lo que se recomienda aumentar el número de ratones en experimentos futuros para mejorar el poder estadístico de la prueba.

Conclusiones

En resumen, aunque no se observaron diferencias en la actividad electroencefalográfica de los ratones tratados con propranolol en comparación con el grupo de control, existen indicios de que este fármaco puede tener efectos en la excitabilidad y actividad de las neuronas de la corteza motora primaria, como se ha evidenciado en estudios previos en modelos animales y humanos. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales con un enfoque más detallado y un tamaño de muestra mayor

para comprender mejor los posibles efectos del propranolol en la actividad cerebral y su relevancia clínica en el tratamiento de trastornos neurológicos.

Bibliografía

- ¹ Venegas F, Pablo, Gómez R, Rodrigo, & Sinning O, Mariana. (2010). Temblor esencial: Una revisión crítica. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 48(1), 58-65. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272010000200008>.
- ² Katzung, BG (2019). *Farmacología básica y clínica* (14ª ed.). McGraw-Hill Interamericana. <https://uam.vitalsource.com/books/9781456267827>
- ³ Brunton, L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (Eds.). (2006). *Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica* (Spanish Edition) (11. a ed.). McGRAW-HILL.
- ⁴ Gómez, M. (2008). Caracterización electrofisiológica de la actividad neuronal de ratones control y transgénicos del receptor dopaminérgico d2 (r-d2). Implantación de los r-d2 en el circuito motor y su relación con los trastornos del movimiento. (Doctor). Universidad Autónoma de Madrid.
- ⁵ Castillo, S. (2018). Morfología dendrítica de neuronas de la corteza motora primaria de ratas hembra Long Evans a lo largo del ciclo estral (Licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- ⁶ Buffone, Gabriel Darío y Dalto, Carlos (2013). Anatomía funcional del cuerpo estriado y la corteza cerebral: Su relación con el movimiento. 10mo Congreso Argentino de Educación Física y Ciencias. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación. Departamento de Educación Física, La Plata.
- ⁷ Loch-Neckel G, Koepp J. La barrera hematoencefálica y la administración de medicamentos en el sistema nervioso central [The blood-brain barrier and drug delivery in the central nervous system]. *Rev Neurol*. 2010 Aug;51(3):165-74. Spanish. PMID: 20645267.
- ⁸ Martínez, L., & Mármol, L. (2017). Curso básico sobre hipertensión. Tema 4. Betabloqueantes. *Farmacéutica Comunitaria*, (Vol. 31. Núm. 4.), 20–25. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-curso-basico-sobre-hipertension-tema-4--X0213932417614186>
- ⁹ Tamargo, J., & Delpón, E. (2011). I. FARMACOLOGÍA DE LOS BLOQUEANTES DE LOS RECEPTORES BETA-ADRENÉRGICOS. Recuperado 11 de diciembre de 2022, de Cardioteca website: <https://e-lactancia.org/media/papers/Betabloqueantes-FK-Eta2011.pdf>
- ¹⁰ *Br. J. clin. Pharmac.* (1984), 17, 31-36
- ¹¹ *Br. J. clin. Pharmac.* (1988), 26, 129-141
- ¹² Masuoka D, Hansson E. Autoradiographic distribution studies of adrenergic blocking agents. II. 14C-propranolol, a beta-receptor-type blocker. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1967;25(4):447-55. doi: 10.1111/j.1600-0773.1967.tb00413.x. PMID: 5630682.

- ¹³ Iván Pérez-Neri, et al. Arch Neurocién (Mex) Vol. 20, No. 1: 60-64; 2015.
- ¹⁴ Óliver, E., Mayor Jr., F., & D'Ocon, P. (2019). Betabloqueantes: Perspectiva Histórica y Mecanismos de Acción. *Revista Española de Cardiología*, 72(10), 853-862.
<https://doi.org/10.1016/j.recesp.2019.02.023>
- ¹⁵ Katzung, B. G., & Trevor, A. J. (s. f.). *Farmacología básica y clínica* (13.a ed.). Mc Graw Hill.
- ¹⁶ Brunton L.L., & Knollman B.C.(Eds.), [publicationyear2] Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica, 14e. McGraw-Hill Education.
- ¹⁷ Otero, E., & Arreaga, N. (2000). Características Clínicas del Temblor Esencial en México. *Revista Ecuatoriana de Neurología*, 9(1-2), 1-4.
- ¹⁸ De La Cruz, E., & Otero, E. (2005). Temblor esencial. *Arch Neurocién (Mex)*, 11(3), 194-204.
- ¹⁹ Cojocariu, S. A., Mastaleru, A., Sascău, R., Stătescu, C., Mitu, F., & Leon-Constantin, M. (2021). Neuropsychiatric consequences of lipophilic Beta-Blockers. *Medicina-lithuania*, 57(2), 155.
<https://doi.org/10.3390/medicina57020155>
- ²⁰ Oliver, E., Mayor Jr, F., & D'Ocon, P. (2019). Bloqueadores beta: perspectiva histórica y mecanismos de acción. *Revista Española de cardiología*, 72(10), 853-862.
<https://doi.org/10.1016/j.recesp.2019.02.023>
- ²¹ Ramos-Argüelles, F., Morales, G., Egozcue, S., Pabón, R.M., & Alonso, M.T.. (2009). Técnicas básicas de electroencefalografía: principios y aplicaciones clínicas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 32(Supl. 3), 69-82. Recuperado en 08 de agosto de 2023, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272009000600006&lng=es&tlng=es
- ²² Ruiz Caballero, Ritsie, Ávila González, Rizzate, & González Lavaut, José A. (1998). Propranolol y sus ésteres: detección y resolución enantiomérica. *Revista Cubana de Farmacia*, 32(2), 130-139. Recuperado en 10 de agosto de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151998000200009&lng=es&tlng=es.
- ²³ Clark, M. A., Finkel, R., Rey, J. A., & Whalen, K. (2001). *Farmacología* (5.a ed.). Richard A. Harvey.
- ²⁴ Beaman, E. E., Bonde, A., Larsen, S. M. U., Ozenne, B., Lohela, T. J., Nedergaard, M., Gislason, G., Knudsen, G. M., & Holst, S. C. (2022). Blood–brain barrier permeable B-blockers linked to lower risk of Alzheimer’s disease in hypertension. *Brain*, 146(3), 1141-1151.
<https://doi.org/10.1093/brain/awac076>.
- ²⁵ Bubb, J. (2021). Anatomía y fisiología para las profesiones sanitarias. Cengage aprendiendo EE. UU.
<https://uam.vitalsource.com/books/9780357461174>.
- ²⁶ Corteza cerebral. Afifi A.K., & Bergman R.A.(Eds.), (2021). *Neuroanatomía Funcional: Texto y Atlas*, 3e. McGraw Hill.
<https://accessmedicina.up.eiogim.com/content.aspx?bookid=3064§ionid=255515341>.
- ²⁷ Lukhanina, E. P., Kolomiets, B. P., & Pilkevich, N. A. (2003). Effect of stimulation of beta-adrenergic receptors on neuronal activity in primary motor cortex of the rat. *Neuroscience letters*, 340(2), 99-102.

- ²⁸ Nitsche, M. A., Grundey, J., Liebetanz, D., Lang, N., Tergau, F., & Paulus, W. (2004). Catecholaminergic consolidation of motor cortical neuroplasticity in humans. *Cerebral Cortex*, 14(11), 1240-1245.
- ²⁹ Baker, M. R., & Baker, S. N. (2012). Beta-adrenergic modulation of tremor and corticomuscular coherence in humans. *PLoS One*, 7(11), e49088.
- ³⁰ Miguel-Puga, A., Villafuerte, G., Treviño, M., Ortega-Robles, E., & Arias-Carrión, O. (2024). Effect of Propranolol on Motor Cortex Excitability in Essential Tremor: An Exploratory Study. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*, 14.