

1 9 8 5 - B

CODIGO: 81196303

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EFFECTO DEL ALMOKALANT (H234-09) SOBRE EL
POTENCIAL DE ACCION DE MUSCULO VENTRICULAR
DE MAMIFERO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

MA. CRISTINA HERNANDEZ HERNANDEZ

GUADALAJARA, JALISCO. 1994

14549/019016
B3301
G. 2



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
 FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente

Número

Sección

C. MA. CRISTINA HERNANDEZ H.

P R E S E N T E . -

Manifiestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de tesis "EFECTO DE LA ALMOKALANT (H234/09) SOBRE EL POTENCIAL DE ACCION DE MUSCULO VENTRICULAR DE CORAZON DE DOS ESPECIES DE MAMIFEROS" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado Director de dicha Tesis el Dr. José A. Sánchez Chapula.

A T E N T A M E N T E

"PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., 14 de Septiembre de 1993

EL DIRECTOR

DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS



FACULTAD DE
 CIENCIAS BIOLÓGICAS

EL SECRETARIO

M. EN C. MA. GEORGINA GUZMAN GODINEZ

c.c.p.- El Dr. José A. Sánchez Chapula, Director de Tesis.-pte.

c.c.p.- El expediente del alumno

C.
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

P R E S E N T E.

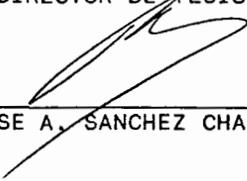
Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el (la) pasante MA. CRISTINA HERNANDEZ HERNANDEZ código número 081196303 con el título EFECTO DEL ALMOKALANT (H234/09) SOBRE EL POTENCIAL DE ACCION DE MUSCULO VENTRICULAR DE MAMIFERO, consideramos que reúne los méritos necesarios para la impresión de la misma y de la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior para los fines a que haya lugar

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. a 17 de Diciembre de 1993.

EL DIRECTOR DE TESIS

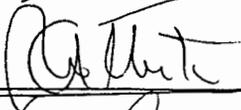


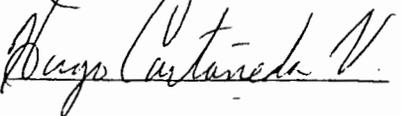
DR. JOSE A. SANCHEZ CHAPULA

SINODALES

1. M. en C. CARLOS BEAS ZARATE
2. M. en C. ALBERTO MORALES VILLAGRAN
3. DR. HUGO CASTAÑEDA VAZQUEZ







CONTENIDO	PAGINA
INTRODUCCION Y ANTECEDENTES	1
Potencial de reposo y potencial de acción	6
Mecanismos iónicos responsables del PA cardiaco	12
Diferencias entre las corrientes repolarizantes de conejo y de cobayo	17
Arritmias cardiacas	18
Clasificación de los fármacos antiarrítmicos	19
Características de los antiarrítmicos Clase III	23
 HIPOTESIS	 26
 OBJETIVOS.	 28
 METODOS.	 31
Disección y montaje.	32
Protocolo experimental.	34
Registro electrofisiológico.	35
Análisis de los resultados.	36
 RESULTADOS.	 37
Efectos electrofisiológicos del almokalant sobre el músculo papilar de conejo.	38
Efectos electrofisiológicos del almokalant sobre el músculo papilar de cobayo	45
 DISCUSION	 56
 CONCLUSIONES	 61
 BIBLIOGRAFIA	 65

Especialmente a mis padres Alberto y Graciela por todo su amor, comprensión y por creer en mí.

A mis hermanas con mucho cariño.

A Lety y a Martha por todo.

Al Dr. José Antonio Sánchez Chapula con todo respeto y gratitud por su dirección de la presente tesis.

Al Dr. Alejandro Elizalde Lozano por su valiosa orientación.

A la Universidad de Colima por su apoyo para la realización de la tesis.

A los profesores que participaron en mi formación como profesionista.

Y a todos los que contribuyeron de alguna manera para la terminación de mi trabajo (Héctor, Oscar, Fernando, etc.)

GRACIAS

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

La actividad contractil de las paredes musculares del corazón impulsa la sangre, la cual cumple con las siguientes funciones: Distribuir nutrientes, eliminar productos de deshecho de cada órgano y transportar hormonas, neurotransmisores y otros mensajeros entre las distintas partes del cuerpo. Estas funciones de transporte son posibles por la acción de bombeo del corazón, el cual puede definirse como una bomba muscular hueca provista de válvulas que mueve la sangre en un circuito vascular cerrado y continuo. El corazón está dividido en 4 cavidades de bombeo: Las aurículas (derecha e izquierda) y los ventrículos (derecho e izquierdo). Entre las cavidades auriculares y ventriculares se sitúan las válvulas auriculoventriculares: La derecha ó válvula tricúspide y la izquierda ó válvula mitral.

Existen varios tipos de células en el miocardio, cada uno de los cuales presenta funciones especializadas. Las células de trabajo del miocardio de las aurículas y de los ventrículos están especializadas para la contracción. Las fibras de Purkinje y el Haz de His llevan a cabo la conducción rápida del impulso eléctrico a través de los ventrículos. Las células de los nodos seno-auricular (nodo SA) y aurículo-ventricular (nodo AV), son responsables de la actividad marcapaso y de la conducción aurículo-ventricular, respectivamente. (Fig. 1). La actividad de marcapaso consiste en la generación espontánea de potenciales de acción (PA). Se caracteriza por una despolarización progresiva en el intervalo entre dos PA a un punto umbral, produciendo el disparo del siguiente PA.

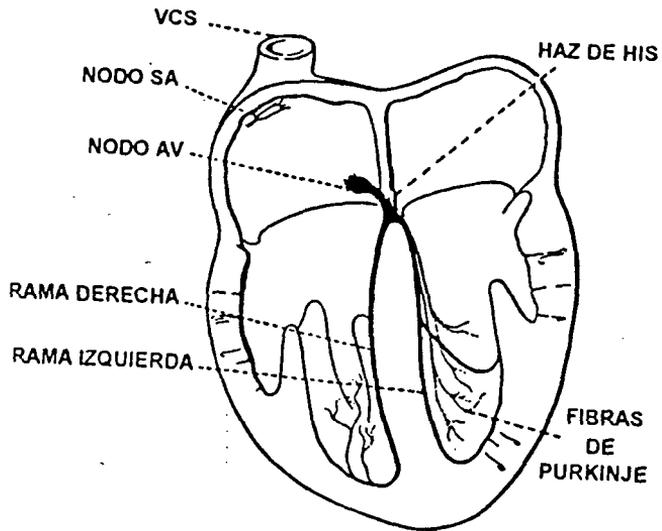


Fig. 1. Esquema de un corte frontal del corazón de mamífero mostrando las aurículas y los ventrículos y la localización anatómica de los nodos (SA y AV), el haz de His y sus ramas y las fibras de Purkinje.

El músculo cardíaco posee al menos 4 propiedades principales: Automatismo (cronotropía), que es la capacidad de iniciar un impulso eléctrico; conductividad (dromotropía), es la capacidad de conducir impulsos eléctricos; contractilidad (inotropía), es la capacidad de contraerse y hacer el trabajo mecánico y la de excitabilidad que es la capacidad de generar PA.

Todas las células del corazón tienen la propiedad de conducir PA. Las células de trabajo del miocardio de las aurículas y ventrículos son capaces de contraerse y relajarse, pero bajo condiciones normales carecen de automatismo. En cambio, las células marcapaso están especializadas para iniciar de manera espontánea un impulso eléctrico. El marcapaso principal del corazón es el nodo SA, en cual normalmente inicia la onda de despolarización que se propaga a través del miocardio para activar a todas las células del corazón. Sin embargo, otras células con actividad latente de marcapaso se encuentran en el nodo AV y en el sistema de His-Purkinje. Las células del nodo AV conducen los impulsos muy lentamente, de esta manera retardan el paso de la onda de despolarización de las aurículas a los ventrículos. En cambio, las células del sistema de His-Purkinje, las cuales son especializadas en la conducción rápida, propagan rápidamente la onda de despolarización a través de los ventrículos, de esta manera sincronizan la contracción de las paredes ventriculares.

La secuencia de activación normal, iniciada por impulsos originados en el nodo SA, activa primero las aurículas y luego los ventrículos. La velocidad de conducción es diferente en cada una de las regiones del corazón, siendo la más rápida en el sistema de

His-Purkinje y la más lenta en el nodo AV. (Katz, 1992).

POTENCIAL DE REPOSO Y POTENCIAL DE ACCION

En todas las células existe una diferencia de potencial eléctrico a través de su membrana plasmática, que se denomina potencial de membrana en reposo (V_m). Esto es una consecuencia de la diferente composición de los medios intra y extracelular y de la permeabilidad selectiva de la membrana para ciertos iones. En la célula en reposo, la membrana es más permeable para el K^+ que para otros iones por lo que el V_m se debe fundamentalmente al flujo de K^+ hacia el medio extracelular a favor de su gradiente de concentración, además el citoplasma contiene algunos aniones grandes como proteínas y fosfatos a los cuales la membrana es impermeable. Por lo que cuando un microelectrodo es insertado a través de la membrana plasmática se registra un potencial intracelular negativo (V_m) con respecto al fluido extracelular que en general es entre -80 a -90 mV. Además del gradiente iónico para el K^+ existen otros mecanismos que también contribuyen en menor medida al potencial de reposo del miocardio, como son los intercambiadores iónicos electrogénicos: la bomba de Na^+-K^+ que lleva 3 iones de Na^+ hacia fuera por 2 de K^+ hacia dentro de la célula, y el intercambiador Na^+-Ca^{2+} el cual lleva un ión de Ca^{2+} por 3 de Na^+ hacia dentro de la célula, así como una pequeña permeabilidad al ión Na^+ (Katz, 1992).

Todo tejido excitable, entre ellos el cardíaco, al ser estimulado eléctricamente genera PA, durante los cuales el potencial de membrana cambia transitoriamente en un rango de 100 a 150 mV. En términos generales, el PA es una súbita despolarización

regenerativa del potencial de transmembrana con la subsecuente repolarización y el regreso al potencial de reposo. Esta señal eléctrica se propaga a todo lo largo de la célula excitada con amplitud y velocidad constante. Además, provee la corriente necesaria para asegurar la propagación del impulso eléctrico hacia otras células vecinas. (Fozzard, 1992).

Tanto en el músculo esquelético como en el nervio el PA es un evento breve , bifásico, en el cual la despolarización rápida es seguida inmediatamente por la repolarización (restauración del potencial de reposo); con la excepción de un post-potencial de baja amplitud, este proceso dura 1-5 milisegundos. (Katz, 1992). En el músculo cardíaco el PA es mucho más largo, alcanza una duración máxima hasta de 300 ms. (Fozzard, 1992).

Se ha descrito una gran variedad de formas y tamaños de los PA en preparaciones musculares cardíacas aisladas, algunas diferencias dependen de la especie y en una misma especie de las distintas regiones donde se registre (Boyett y Jewell, 1980) y de la frecuencia de estimulación (Anderson y Johnson, 1976; Boyett y Jewell, 1980). (Fig. 2)

En un PA típico de las fibras de Purkinje se distinguen varias fases. La fase de despolarización rápida e inversión del potencial (fase 0) es extremadamente rápida siendo la velocidad máxima de despolarización (V_{max}) de aproximadamente 500 V/seg. La fase 1 consiste en una rápida repolarización inicial breve, que es seguida por una meseta (fase 2), la cual es principalmente responsable de la larga duración del potencial de acción cardíaco. Durante la fase 3 el potencial de transmembrana es llevado hacia su potencial de reposo (repolarización). (Sánchez-Chapula, 1987).

La fase 4 es el potencial de membrana durante el intervalo diastólico. Esta fase es isoeléctrica en las células cardiacas carentes de automatismo, mientras que en las células nodales y fibras de Purkinje, aparece una despolarización diastólica lenta que desplaza progresivamente el potencial de membrana hacia valores cada vez menos negativos, hasta alcanzar el potencial umbral en el que se dispara un nuevo PA.

Las células auriculares y ventriculares tienen un potencial de reposo estable, del orden de -90 mV, el potencial de acción de las primeras tiene forma triangular, mientras que el de las segundas tiene una clara meseta. Las fibras de Purkinje tienen un potencial diastólico máximo de -90 mV y presenta una despolarización diastólica lenta, la duración de su PA es prolongada (superior a la de los PA ventriculares). (Katz, 1992).

Durante la mayor parte del PA la membrana es refractaria a la aplicación de nuevos estímulos, la refractariedad puede ser absoluta para toda clase de estímulos (periodo refractario absoluto PRA), que corresponde a las fases 0, 1 y 2. En la fase 3 un estímulo puede provocar respuestas locales, esto junto con el anterior forman el periodo refractario efectivo (PRE). Posteriormente existe un intervalo (periodo refractario relativo PRR) en el cual un estímulo de mayor magnitud que el umbral puede provocar una respuesta propagada. El periodo refractario más largo se da en el nodo AV seguido de las fibras de Purkinje, músculo ventricular y músculo auricular por ese orden. (Conde de la Fuente y Col. 1985). (Fig. 3). Para comprender la morfología del PA cardiaco así como las diferencias existentes entre las diversas especies, tejidos y regiones se requieren conocimientos detallados de cada una de las corrientes iónicas generadoras de las fases

de repolarización y de meseta.

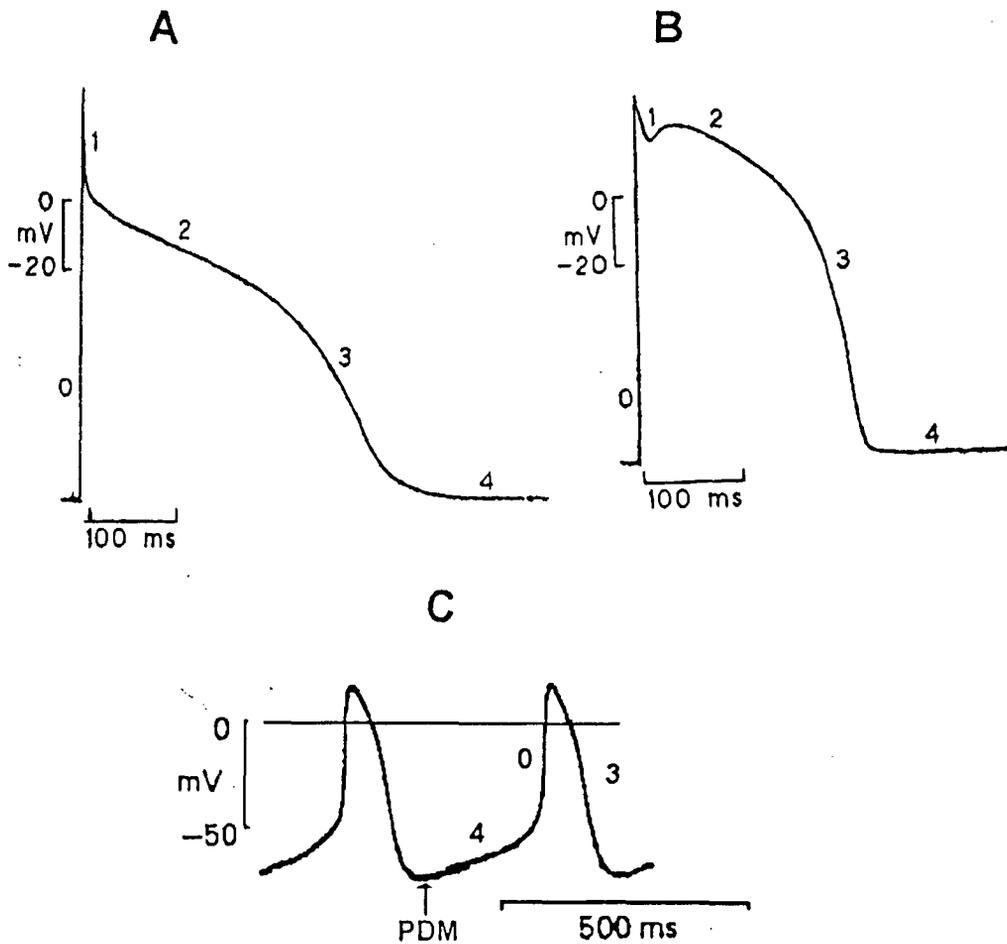


Fig. 2. Registros de PA de diferentes tejidos cardiacos. A) PA de una fibra de Purkinje de perro. B) PA registrado de un músculo papilar del ventrículo derecho del perro. En C un PA registrado en el seno SA del conejo; PDM=potencial diastólico máximo. A y B registros de Barajas M. H. (1993); C modificada de Di Francesco D. et. al. 1986, *J. Physiol.* 377:61-88.

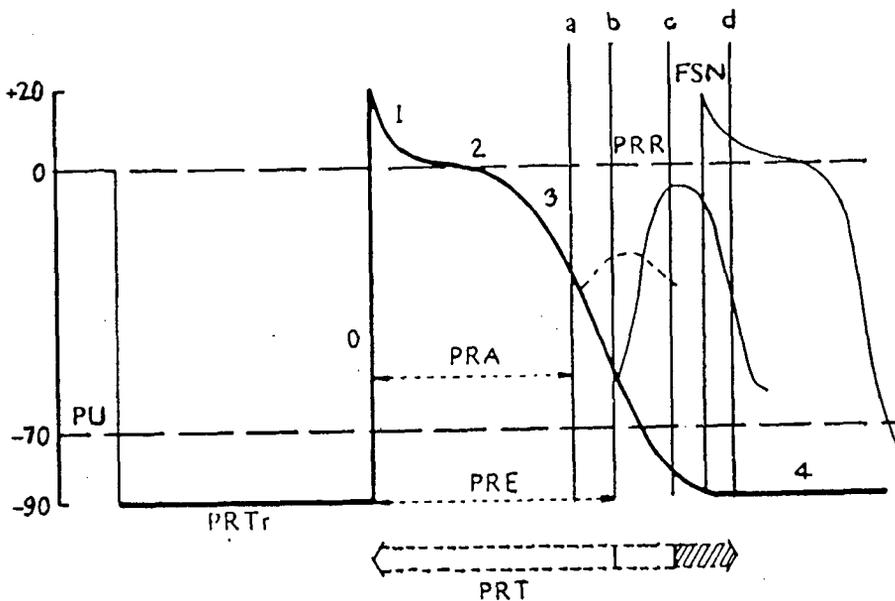


Fig. 3. Esquema que ilustra los periodos refractarios de una fibra de Purkinje. PU, potencial umbral, PRTr, potencial de reposo transmembrana, PRA, periodo refractario absoluto, PRE, periodo refractario efectivo, PRR, periodo refractario relativo, FSN, fase supernormal de excitabilidad, PRT, periodo refractario total. Modificada de Conde de la Fuente A. 1985.

MECANISMOS IONICOS RESPONSABLES DEL POTENCIAL DE ACCION CARDIACO.

Cuando las células cardíacas se estimulan, se produce una compleja secuencia de cambios de voltaje en función del tiempo, debido a cambios en las conductancias iónicas de la membrana. (Fig. 4).

La fase de despolarización rápida del potencial de acción de la mayoría de los tejidos cardíacos (con excepción del nodo SA y del nodo AV), es determinada por la apertura de un canal que es dependiente de voltaje y que permite un rápido incremento en la conductancia a Na^+ , la I_{Na} . Esta corriente se activa en el umbral de disparo del PA (-60 mV) y produce una despolarización rápida y con esto la corriente necesaria para asegurar la propagación del PA en las aurículas, en el sistema His-Purkinje y en las células ventriculares. Estos canales de Na^+ son escasos o ausentes en los nodos SA y AV.

El uso de la técnica de fijación de voltaje en el músculo cardíaco ha permitido el hallazgo de una segunda corriente despolarizante llevada principalmente por Ca^{2+} (Reuter, 1968; Mascher y Peper 1968). Esta corriente "lenta" dependiente de calcio difiere sustancialmente de la corriente rápida de sodio en su dependencia de voltaje, cinética, selectividad iónica y sensibilidad a agentes farmacológicos. La corriente lenta de entrada participa al menos parcialmente en el mantenimiento de la meseta del potencial de acción de todos los tejidos cardíacos. Asimismo es responsable de la fase de despolarización (fase 0) del potencial de acción de los nodos SA y AV (Noma e Irisawa, 1976; Zipes y Méndez, 1973). Existen al menos dos tipos de corrientes de Calcio en el corazón. La

corriente I_{Ca-L} o corriente de calcio de alto umbral (-30 mV) que es bloqueada por verapamil, diltiazem y las dihidropiridinas, y modulada fuertemente por neurotransmisores y la I_{Ca-T} o corriente de calcio de bajo umbral (-50 mV) que se ha identificado en diferentes tejidos cardiacos. La I_{Ca-T} es sensible a concentraciones bajas de Niquel.

La corriente I_{Ca-L} es activada en forma regenerativa desde un potencial de -30 mV, es la responsable de la despolarización y la propagación en las células nodales. Se encuentra también en aurículas, sistema de His-Purkinje y células ventriculares, donde contribuye al mantenimiento de la fase de meseta del PA y dispara la liberación de calcio por el retículo sarcoplásmico. Es inactivada tanto por la despolarización como por la concentración de calcio intracelular. En general dura el tiempo suficiente para contribuir a la corriente neta que fluye durante la fase de meseta del PA.

La I_{Ca-T} es una corriente a través de un canal diferente de I_{Ca-L} activado por voltaje que se activa a potenciales intermedios entre los umbrales para la I_{Na} e I_{Ca-L} (-50 mV). Esta corriente entrante probablemente contribuye a la última parte de la fase 4 de despolarización en el nodo SA y las células del sistema de His-Purkinje, además también puede tener una función importante en la automaticidad anormal en la aurícula. Esta corriente es muy pequeña en las células ventriculares.

La repolarización del PA es debida fundamentalmente a la salida de K^+ de la célula a través de canales selectivos para ese ión.

Se han identificado varios tipos de canales de potasio funcionalmente diferentes en corazón y en otros tejidos. De hecho casi todas las células tienen algún tipo de canal

de potasio. (The Sicilian Gambit, 1991).

La corriente transitoria de salida (I_{to}) es una corriente de gran amplitud a la que se atribuye la fase 1 del PA en la mayoría de los tejidos cardiacos. Puede desempeñar una función importante en la modificación de la duración del PA y en la contribución a la heterogeneidad de la repolarización en diferentes tejidos, esto último debido a que su distribución no es uniforme. La I_{to} varía con la edad y entre las especies, con la localización anatómica y en algunas condiciones fisiopatológicas (Gintant y Col., 1992).

Esta corriente tiene 2 componentes: La I_{to1} que es llevada por K^+ y es activada por voltaje, modulada por neurotransmisores y bloqueada selectivamente por 4-aminopiridina (4-AP); y la I_{to2} es una corriente de Cl^- activada por el calcio liberado del retículo sarcoplásmico, es sensible a cafeína, rianodina y cationes divalentes como Cobalto y Estroncio. Estos dos componentes han sido identificados en miocitos de conejo (Zygmunt y Gibbons, 1991); de gato (Sánchez-Chapula, 1992) y en miocitos humanos auriculares (Escande y Col., 1987).

El rectificador tardío I_{K1} , es una corriente de potasio llevada a través de canales activados por voltaje y con una cinética de activación lenta. Se activa durante la meseta del PA y es la principal responsable de la terminación de esta. (The Sicilian Gambit, 1991). En miocitos de aurícula y ventrículo de cobayo se han descrito 2 tipos de rectificador tardío, I_{Kr} e I_{Ks} . La I_{Kr} rectifica fuertemente a voltajes mayores de 0 mV, se activa rápidamente comparada con I_{Ks} y es bloqueada por E-4031 y D-sotalol. La I_{Ks} se activa mucho más lentamente pero es mucho más grande que I_{Kr} cuando esta completamente

activada y no rectifica; no es afectada por E-4031 ni por D-sotalol a concentraciones que bloquean completamente a la IKr. (Sanguinetti y Jurkiewicz, 1990).

La corriente de potasio que modula la fase final de la repolarización y mantiene el potencial de reposo en aurículas, nodo AV, sistema de His-Purkinje y ventrículos es la I_{Kr} . Se le llama también Rectificador anómalo por que rectifica fuertemente hacia dentro a potenciales más positivos del E_K . Esto se debe a la cinética de la compuerta del canal, además de un bloqueo dependiente de voltaje producido por el Mg^{2+} intracelular (Vandenberg, C., 1987; Matsuda, H., Saigusa, A., Irisawa, H. 1987).

Aún existe controversia acerca de la contribución relativa de diferentes corrientes iónicas durante la despolarización lenta espontánea. En primer lugar la contribución de una corriente entrante dependiente de tiempo y de voltaje que se activa a potenciales más negativos de -50 mV llamada I_i (Brown y DiFrancesco, 1980); ésta es llevada por Na^+ y K^+ y bloqueada por Cs_2 . Por otro lado se ha propuesto que en este fenómeno también participan la desactivación de la corriente del rectificador tardío y la activación de una corriente entrante de fondo (independiente de tiempo pero dependiente de voltaje), de menor amplitud que la I_i y llevada principalmente por Na^+ (I_B).

AURICULA Y VENTRICULO

NODO SA

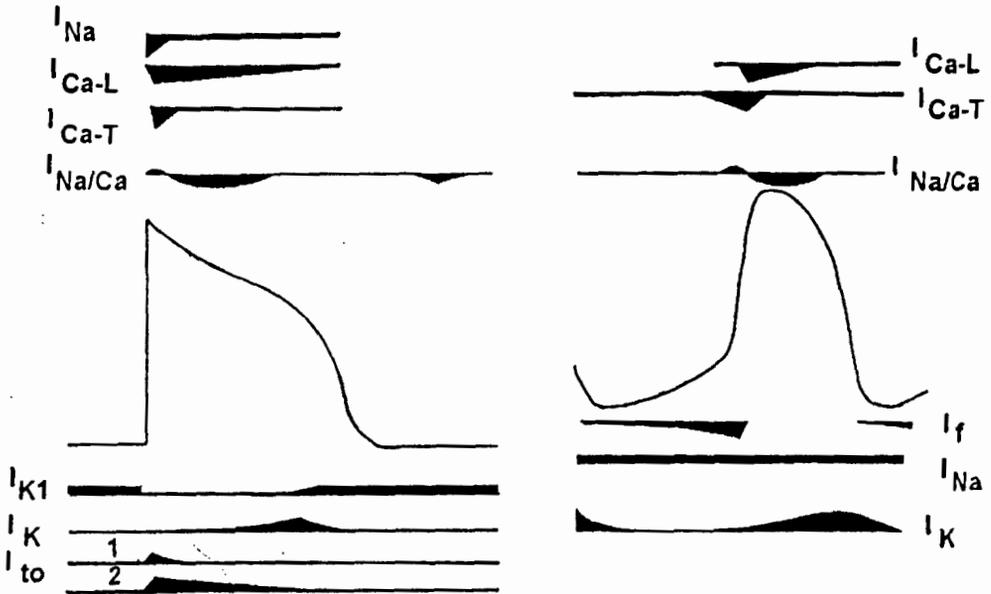


Fig. 4. Esquema de las principales corrientes iónicas involucradas en la generación de PA en los tejidos cardiacos. Se muestra una representación aproximada del curso temporal de las corrientes relacionada con los cambios de potencial. La magnitud relativa de una corriente con respecto a las otras no se representa a escala. Modificada de The Sicilian Gambit (1991). *Circulation* 84:1831-1851.

DIFERENCIAS ENTRE LAS CORRIENTES REPOLARIZANTES DEL VENTRÍCULO DE CONEJO Y DE COBAYO.

La conductancia neta de la membrana a potenciales de meseta y de repolarización es muy pequeña en células ventriculares y cualquier cambio por menor que sea en la conductancia a algún ión (K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , Cl^-) puede alterar significativamente la DPA. La adaptación fisiológica a una frecuencia cardíaca alta se efectúa acortando la DPA, resultado de un pequeño incremento en las corrientes salientes (de potasio y cloro) y de una disminución en las corrientes de entrada de (sodio y de calcio) (Jurkiewicz y Sanguinetti, 1991). Los procesos que determinan la repolarización en la célula cardíaca son complejos, y difieren en las diversas especies y en las distintas regiones anatómicas del corazón. Esto se debe a las diferencias en la magnitud, el tipo, la cinética y la contribución relativa de las corrientes iónicas que modulan la repolarización.

En el cobayo las principales corrientes repolarizantes son: una prominente corriente de rectificación tardía (I_{Kr}), la cual consta de 2 componentes que pueden ser distinguidos por sus cinéticas de activación, rectificación y su sensibilidad a las drogas (Sanguinetti y Jurkiewicz, 1990; Colatsky y Col., 1990). I_{Kr} se activa rápidamente (0.1-0.5 s) a potenciales moderadamente despolarizados (entre -40 y 0 mV), la corriente completamente activada rectifica hacia adentro y es bloqueada por E-4031. Por otro lado, I_{Ks} se activa lentamente y sólo a potenciales más positivos de -10 mV alcanzando su saturación hasta 50 mV, prácticamente no rectifica y es insensible a E-4031 (Carmeliet,

1992). La corriente de rectificador anómalo (I_{K1}), es muy prominente y es la responsable del mantenimiento del potencial de reposo y de la última fase de la repolarización. En el ventrículo de cobayo no se ha registrado la corriente transitoria de salida (Josephson y Col. 1984).

En el conejo las principales corrientes repolarizantes son: la corriente transitoria de salida (I_{to1}), la cual es prominente pero tiene una recuperación de la inactivación muy lenta (aprox. 7000 ms), esto da lugar a alta dependencia de la frecuencia de estimulación tanto en la forma como en la duración del PA. El umbral de activación de esta corriente es cercano a -30 mV y esta completamente activada a 30 mV. La I_K en el conejo consta sólo de un pequeño componente similar a la I_{Kr} del cobayo que se activa a potenciales moderadamente despolarizados y con un curso temporal rápido. La I_{K1} , el rectificador anómalo, es una corriente que activa casi instantáneamente, controla la fase final de la repolarización, además de mantener el potencial de membrana de reposo.

ARRITMIAS CARDIACAS.

Una arritmia es una anomalía de la frecuencia, la regularidad o el sitio de origen del impulso cardíaco, o un disturbio de la conducción que produce una alteración en la secuencia normal de activación de las aurículas y los ventrículos. Las arritmias pueden surgir por alteraciones en la generación de impulsos, conducción de impulsos o ambas. (Conde de la Fuente y Col. 1985).

Las arritmias pueden clasificarse básicamente de 2 maneras: A) Por el tipo de alteración en el ritmo cardiaco se dividen en taquicardias y bradicardias. Y B) Por la estructura en la cual se origina: En arritmias supraventriculares las que surgen en los nodos SA y AV y en el músculo auricular, y ventriculares las originadas en el sistema de His-Purkinje y en el músculo ventricular. En cada uno de los grupos se incluye un gran número de arritmias específicas.

La terapia antiarrítmica ideal depende de la identificación correcta de la arritmia, de la comprensión de los factores involucrados en su generación, conocimiento de los mecanismos de acción de la amplia variedad de agentes farmacológicos disponibles y fundamentalmente los efectos clínicos de los mismos.

La elección del tratamiento adecuado para las arritmias es muy difícil, por lo que los investigadores han tratado de clasificar a los agentes antiarrítmicos de tal forma que les permita un mejor contraste y entendimiento de los mecanismos de acción de las drogas que puedan ser antiarrítmicas. Uno de los primeros intentos de clasificación y el más usado hasta la fecha, ha sido el de Vaughan Williams (1970). Esta clasificación se basa en el efecto electrofisiológico predominante de los fármacos en los tejidos cardiacos.

CLASIFICACION DE LAS DROGAS ANTIARRITMICAS:

Es importante enfatizar que las drogas antiarrítmicas pueden tener múltiples mecanismos de acción, ó ser muy específicas. La clasificación típica es la siguiente (tabla

1):

Clase I: Son agentes anestésicos locales que interfieren en la despolarización de la célula cardiaca, causando una disminución en la velocidad máxima de despolarización (V_{max}).

En años recientes se propuso una subclasificación de las drogas clase I, basada en las diferencias de potencia y sus efectos sobre la repolarización (quinidina, disopiramida). De esta manera la subclase IA son drogas con potencia moderada en el bloqueo de canales de sodio y también prolongan la repolarización. La subclase IB son agentes con potencia más baja que la IA, en el bloqueo del canal de sodio, y tienen muy poco efecto (si lo hay) sobre la duración del PA (lidocaina, mexiletina). La subclase IC son los bloqueadores más potentes del canal de sodio y con efectos muy limitados en la repolarización (flecainida, encainida).

Clase II: El principal mecanismo de acción de los agentes de esta clase es el bloqueo competitivo de receptores beta adrenérgicos; aunque algunos miembros también poseen acciones clase I y (o) clase III. Son agentes de esta clase el propranolol, pindolol, atenolol.

Clase III: Los fármacos antiarrítmicos clase III se caracterizan por su capacidad para prolongar selectivamente la duración del PA (DPA) y el periodo refractario efectivo. El fármaco más característico es la amiodarona.

Clase IV: Los agentes que forman parte de esta clase bloquean la corriente de entrada de Ca^{2+} . Esta corriente es responsable de la prolongada duración de la fase 2 del

PA en el tejido cardiaco. Pertenecen a este grupo el verapamil, diltiazem y las dihidropiridinas. (Vaughan Williams, 1970).

Además de la subclasificación de la clase I se ha propuesto una nueva clase de agentes, la clase V, los cuales ejercen su acción predominante sobre las corrientes despolarizantes de la fase 4 en las células marcapaso. (Vaughan Williams, 1984).

Tabla 1. CLASIFICACION DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS.

Clasificación	Acción	Ejemplos
Clase 1	Bloqueo de canales de sodio.	
la	Deprimen la fase 0, enlentecen la conducción y prolongan la repolarización.	Quinidina procaïnamida disopiramida
lb	Poco efecto sobre la fase 0 en tejido normal Deprimen la fase 0 en tejido isquémico, Acortan la repolarización.	Lidocaina mexiletina lignocaina tocainida
lc	Deprimen de forma marcada la fase 0 y la velocidad de conducción, Efecto leve sobre la repolarización.	Flecainida propafenona lorcainida
Clase II	Bloqueo de receptores β adrenérgicos.	Propranolol pindolol
Clase III	Prolongan selectivamente la repolarización.	Amiodarona E-4031
Clase IV	Bloqueo de canales de calcio, deprimen la fase 2 y la I_{Ca} .	Verapamil diltiazem

Modificada de The Sicilian Gambit. (1991) *Circulation* 84:1831-1851.

CARACTERISTICAS DE LOS ANTIARRITMICOS CLASE III.

Se conoce que los agentes antiarrítmicos clase Ic disponibles no discriminan bien entre el tejido normal y el tejido dañado, por consecuencia tienen con un bajo índice terapéutico. Además, es difícil desarrollar agentes antiarrítmicos más potentes, por lo que resulta problemático tratar a los pacientes que no responden a los agentes de las clases Ia y Ib. Una evidencia reciente de los efectos potencialmente letales de las drogas antiarrítmicas clase I han sido los resultados obtenidos del estudio CAST (Cardiac Arrhythmia Suppression Trial, 1989), en el cual el objetivo era probar la hipótesis de que la supresión de despolarizaciones ventriculares prematuras (DVP) asintomáticas en una población con antecedentes de infarto de miocardio podría reducir la incidencia de muerte súbita. Los sujetos a estudiar fueron escogidos entre pacientes con riesgo moderado de muerte súbita en los cuales las DVP y (o) la taquicardia ventricular no sostenida pudieran ser suprimidas por encainida, moricizina y flecainida. El estudio fue suspendido al ser evidente que la flecainida y la encainida incrementaban de 2 a 3 veces más la mortalidad comparado con los pacientes que recibieron placebo (Woosley, 1991).

Actualmente los agentes antiarrítmicos clase III son preferidos con más frecuencia para tratar pacientes con taquicardias serias (Hondegghem y Snyders, 1990). Estos fármacos pueden tener una ventaja sobre otras clases de drogas puesto que además de prolongar la DPA producen un efecto inotrópico positivo, lo cual se ha probado en diferentes estudios experimentales (Tande y Col. y Mortensen y Col., 1990).

La prolongación uniforme de la duración del potencial de acción se identificó por primera vez como un mecanismo antiarrítmico potencial por Vaughan Williams (1970). Esto surgió de la observación de que al ser incrementada la DPA, la incidencia de las arritmias disminuyó en un modelo de hipotiroidismo experimental. La prolongación de la DPA fue definido como actividad de tercera clase de drogas antiarrítmicas, y como agentes clásicos la amiodarona y el sotalol (Cobbe, 1988).

La modulación de la DPA es un mecanismo reconocido de acción de algunas drogas antiarrítmicas. Los agentes antiarrítmicos clase III actúan por prolongación selectiva de la DPA cardiaco, sin bloquear canales de sodio y calcio a concentraciones terapéuticas relevantes. Algunos agentes clase III desarrollados recientemente son: sotalol, E-4031, Dofetilida y UK-66,914. La prolongación de la repolarización producida por estos es mayor a las frecuencias de estimulación más bajas (0.1 y 0.5 Hz), el efecto disminuye progresivamente conforme aumenta la frecuencia. A este fenómeno se le conoce como "dependencia de uso inversa" (Hondegghem y Snyders, 1990).

Otro agente antiarrítmico novedoso clase III es el almokalant (H234/09), el cual prolonga significativamente la DPA y el periodo refractario sin afectar la velocidad máxima de despolarización o la amplitud del PA en el humano (Darpö, et al, 1991) y en animales experimentales, además produce una respuesta inotrópica positiva (Carlsson y Col. y Duker y Col., 1990).

A nivel de membrana, las observaciones preliminares indican que el almokalant alarga la DPA por bloqueo selectivo de la corriente de potasio IK (rectificador tardío)

(Carmeliet, 1991). Además, se ha observado que el almokalant prolonga la DPA de manera más marcada a las frecuencias más bajas de estimulación, esto es, presenta dependencia de uso inversa.

En el presente trabajo nos propusimos investigar los efectos del almokalant (H234/09) sobre los PA en músculos papilares del conejo y del cobayo.

HIPOTESIS.

El Almokalant (H234/09) alarga la duración del PA y el periodo refractario en músculo cardíaco. Dado que la cinética de las corrientes salientes responsables de la repolarización del PA en músculo ventricular de conejo es diferente a la de las de cobayo, se esperaría que los efectos del Almokalant sobre la repolarización, sea diferente en las especies a estudiar.

OBJETIVOS.

1. Estudiar los efectos del almokalant sobre los siguientes parámetros del PA: Potencial de reposo (PR), duración al 30, 50 y 90% de la repolarización (DPA_{30} , DPA_{50} y DPA_{90} respectivamente) amplitud máxima (AMP) y velocidad máxima de despolarización de la fase 0 del PA (V_{max}) en músculos papilares del ventrículo derecho de cobayo y de conejo.

2. Determinar la curva concentración-respuesta en cada una de las especies.

3. Determinar si los efectos del almokalant sobre los parámetros del PA dependen de la frecuencia de estimulación.

M E T O D O S

Disección y Montaje

Protocolo Experimental

Registro Electrofisiológico

Análisis de los Resultados

METODOS.

DISECCION Y MONTAJE.

Se utilizaron músculos papilares del ventrículo derecho de cobayo y de conejo, para lo cual se sacrificaron cobayos (0.7 a 1.1 Kg de peso) y conejos Nueva Zelanda (1 a 2 Kg de peso), sin distinción de sexo. El sacrificio se llevó a cabo por dislocación de las vértebras cervicales con un golpe en la nuca. Inmediatamente después se procedió a la extracción rápida del corazón depositándolo en solución de Tyrode normal previamente oxigenada con una mezcla de 95% de O₂ y 5% de CO₂ para llevar a cabo la disección de los músculos papilares. Estos se montaron en una cámara dividida en tres compartimentos (Fig. 5): El distal, el central (o brecha) y el de prueba. En el compartimento distal es donde se lleva a cabo la estimulación, el de brecha consta de dos membranas de látex con 2 mm de separación entre ellas, el de prueba es donde se llevan a cabo los registros de los PA. Se utilizaron músculos papilares del ventrículo derecho (de menos de 1 mm de diámetro y de 5 a 7 mm de longitud). Se llevó a cabo el montaje de los músculos papilares en la cámara dejando una porción de 1 a 0.8 mm en el compartimento de prueba. Los compartimentos distal y de prueba fueron perfundidos continuamente con solución de Tyrode normal de la siguiente composición: (mM) NaCl 125, KCl 4, MgCl₂ 1.05, NaHCO₃ 24, NaH₂PO₄ 0.42, dextrosa 11 y CaCl₂ 1.8. La solución fue burbujeadada con una mezcla de 95% de O₂ y 5% de CO₂ para ajustar el pH a 7.4. El compartimento central fue perfundido

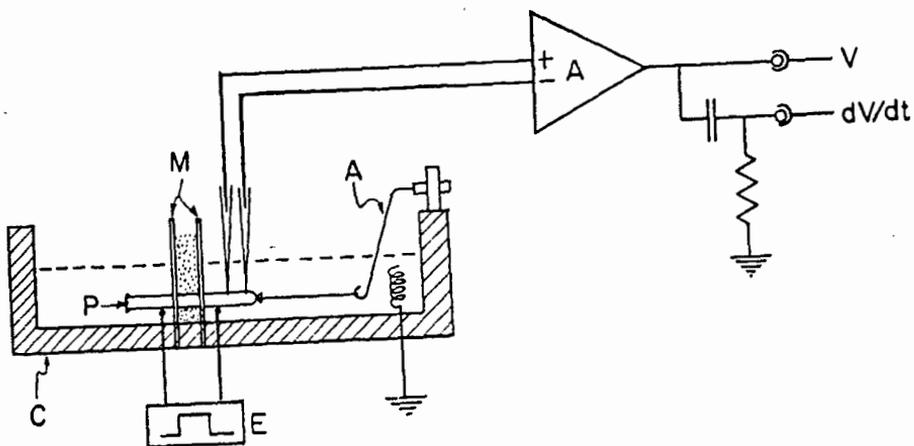


Fig. 5. Esquema del dispositivo experimental utilizado en el registro de PA de músculos papilares de conejo y de cobayo. C, cámara, P, músculo papilar, M, membranas de látex delimitando el compartimento de brecha, A, amplificador diferencial, V, señal de voltaje, dV/dt , señal de la primera derivada del voltaje, A', ajustador de tensión.

La temperatura de las soluciones en las cámaras de experimentación se mantuvo constante en $36 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$, para esto las soluciones se precalentaron en un intercambiador de calor antes de entrar a las cámaras, en las cuales la temperatura se monitoreo con un sensor miniatura conectado a un teletermómetro.

Las preparaciones se estimularon eléctricamente con pulsos supraumbrales cuadrados de 5 ms de duración, a una frecuencia de 1 Hz, utilizando un estimulador acoplado a una unidad aisladora. Los estímulos se aplicaron pasando corriente entre 2 electrodos de platino localizados en los compartimentos distal y de prueba.

Las preparaciones se mantuvieron bajo estas condiciones permitiendo que alcanzaran un estado estable durante 60 min por lo menos, antes de llevar a cabo los protocolos experimentales.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL.

Una vez que se pudieron obtener registros estables de PA, se procedió a registrar los trazos controles en la solución de Tyrode normal, estimulando las preparaciones a las frecuencias de 0.1, 0.5, 1 y 2 Hz, permitiendo que el PA alcanzara su estabilidad en cada una de las frecuencias de estimulación. Luego se empezó a perfundir la solución de Tyrode normal que contenía el almokalant aumentando su concentración en forma logarítmica a partir de 1 nM. Cada una de las concentraciones se perfundió durante un

tiempo necesario hasta que la preparación alcanzara un estado estable con el fármaco. Una vez alcanzado se procedió a tomar los registros con cada una de las frecuencias de estimulación a explorar. Después se comenzó a perfundir la siguiente concentración y así sucesivamente hasta que se alcanzó la concentración a la cual el almokalant ejerció su mayor efecto sobre el PA. Una vez alcanzada la concentración a la cual se observó el efecto máximo del fármaco ($1 \mu\text{M}$), se procedió al lavado de la preparación con Tyrode normal durante 2 hrs., tomando registros a las frecuencias de estimulación de 0.1, 0.5, 1 y 2 Hz al terminar el lavado.

REGISTRO ELECTROFISIOLOGICO.

Los PA se registraron con la técnica convencional de registro intracelular con 2 microelectrodos de vidrio, con una resistencia de 10 a 20 Megaohms.

Los cuales se llenaron con una solución de KCl 3 M. Estos fueron acoplados a hemiceldas de Ag-AgCl y estas a la entrada de dos seguidores de voltaje de ganancia unitaria conectados a la configuración diferencial y se compensaron las capacidades parásitas.

Se registró la primera derivada de la fase de ascenso de los PA para determinar la V_{max} utilizando un derivador analógico lineal entre 0 y 1000 V/s. Las señales se exhibieron en la pantalla de un osciloscopio de doble trazo con memoria y fueron grabadas para analizarlas posteriormente en una computadora utilizando el programa de registro y

análisis Axotape.

ANALISIS DE LOS RESULTADOS.

De los trazos de los PA obtenidos se midieron los siguientes parámetros:

Potencial de reposo, amplitud máxima, velocidad máxima de despolarización, DPA_{30} , DPA_{50} y DPA_{90} .

Los parámetros se analizaron estadísticamente llevándose a cabo el análisis de varianza (ANOVA) para muestras múltiples y después la evaluación por el método de Dunnett. Este método es específico para realizar comparaciones de muestras múltiples con un control, las diferencias entre los parámetros obtenidos se consideraron significativas en el nivel de $p < 0.05$ y $p < 0.01$. Los datos son reportados como valores promedio \pm error estandar (E.E.).

RESULTADOS

EFFECTOS ELECTROFISIOLOGICOS DEL ALMOKALANT SOBRE MUSCULO VENTRICULAR DE CONEJO.

En los músculos papilares de conejo los efectos del almokalant fueron dependientes de la concentración y de la frecuencia de estimulación, como se puede apreciar en la Fig. 6, a la frecuencia de 0.1 Hz los efectos no fueron significativos y es a la frecuencia de 1 Hz donde se observó el mayor efecto en esta especie. La figura 7 muestra el efecto del almokalant sobre la DPA_{30} en músculo papilar de conejo a las diferentes frecuencias de estimulación exploradas (0.1-2 Hz). Como se puede observar no se produjo ningún efecto estadísticamente significativo sobre este parámetro con ninguna de las concentraciones del fármaco aplicadas.

Sobre la DPA_{50} a la frecuencia de estimulación de 0.1 Hz las diferentes concentraciones de Almokalant utilizadas no producen ninguna alteración. A la frecuencia de estimulación de 0.5 Hz, el almokalant (1 μ M) produce un ligero incremento de la DPA_{50} no significativo estadísticamente, en cambio a 1 Hz, con 300 nM de almokalant se produjo un incremento significativo de la DPA_{50} , alcanzándose el efecto máximo sobre este parámetro del PA con 1 μ M. (Fig. 8).

El efecto del almokalant sobre la DPA_{90} en el músculo ventricular de conejo se muestra en la Fig. 9. A la frecuencia de estimulación de 0.1 Hz no se presentó ninguna alteración significativa con ninguna de las concentraciones del fármaco. El incremento de

la DPA empieza a ser significativo a la frecuencia de 0.5 Hz y con 300 nM del fármaco. La máxima prolongación del PA medido al 90% se presentó a la frecuencia de 1 Hz, manteniéndose el efecto a 2 Hz; en estas frecuencias de estimulación la prolongación de la DPA₉₀ se observó con dosis menores (30 nM).

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

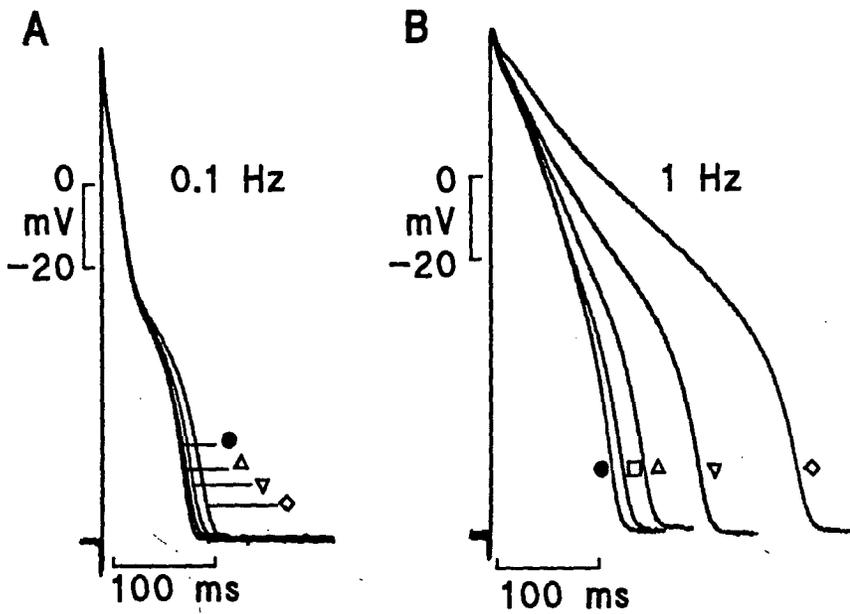


Fig. 6. Efecto de diferentes concentraciones de almokalant sobre el músculo ventricular de conejo estimulado a las frecuencias de 0.1 y 1 Hz. Control, (●) 30 nM, (△) 100 nM, (▽) 300 nM y (◇) 1 μM. A y B son registros tomados de la misma preparación.

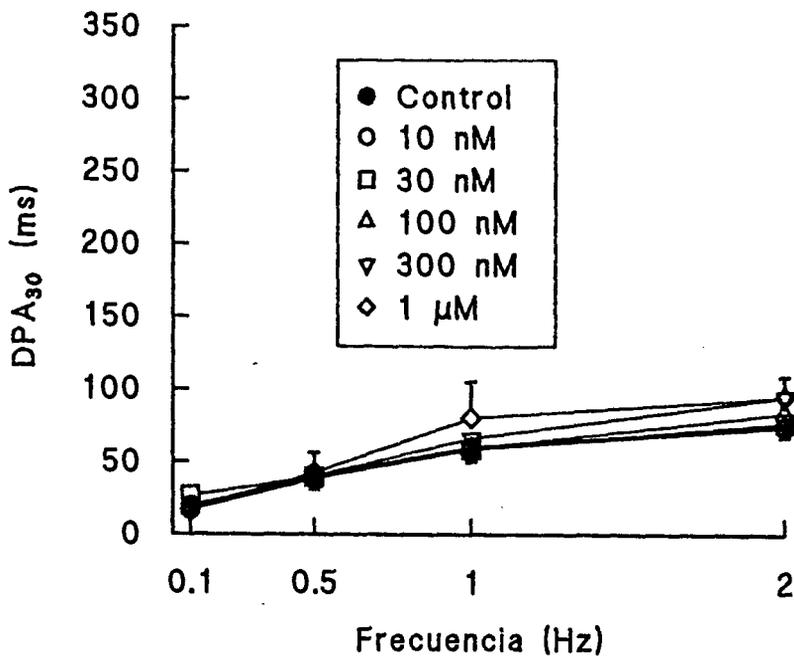


Fig. 7. Efecto del almokalant sobre la DPA_{30} en el músculo papilar de conejo a las diferentes frecuencias de estimulación exploradas. Los símbolos representan los promedios \pm E.E.

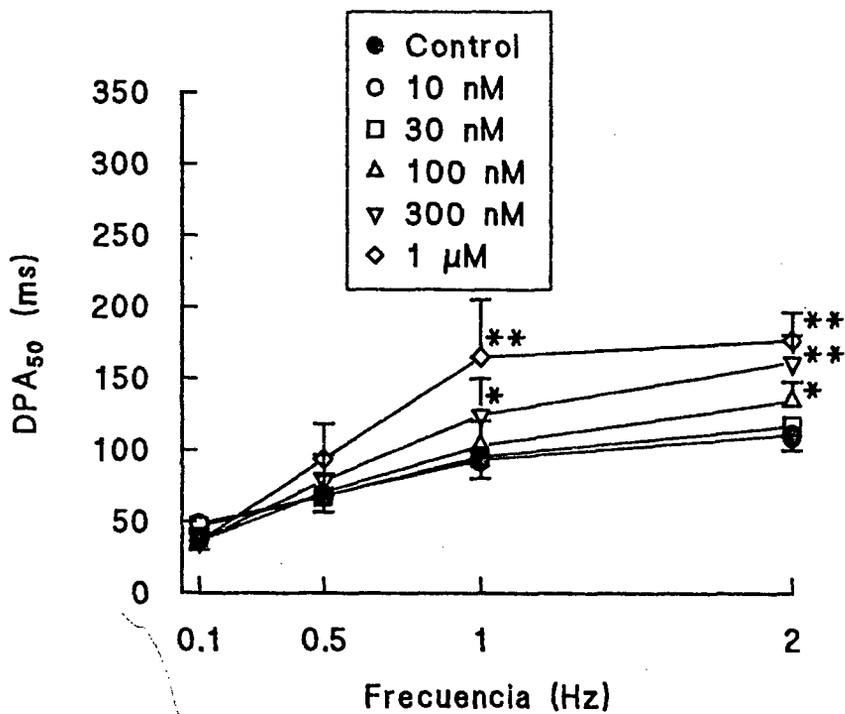


Fig. 8. Efecto del almokalant sobre la DPA_{50} en el músculo papilar de conejo. Los símbolos representan los promedios \pm E.E. *= $p < 0.05$ **= $p < 0.01$

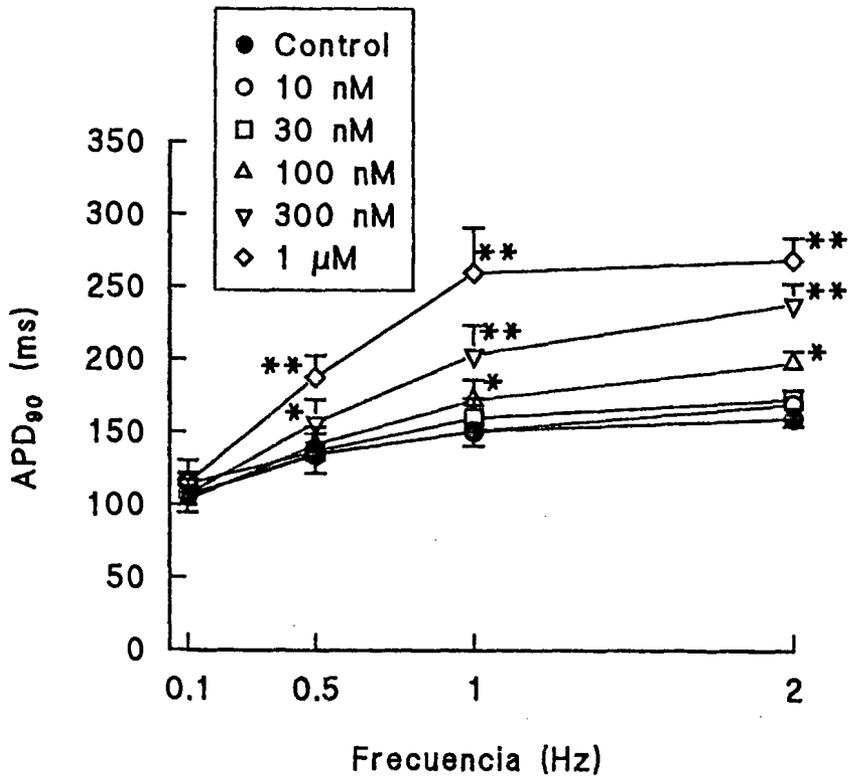


Fig. 9. Efecto del almokalant sobre la DPA₉₀ en músculo papilar de conejo. Valores dados en promedios \pm E.E. *= $p < 0.05$ y **= $p < 0.01$

El efecto del almokalant sobre el músculo ventricular de conejo fue completamente reversible en 1 hora de lavado con la solución de tyrode normal. (Fig. 10).

En la tabla 2 se resumen los efectos del almokalant sobre los distintos parámetros del PA de los músculos papilares de conejo estimulados a la frecuencia de 1 Hz.

EFFECTOS ELECTROFISIOLOGICOS DEL ALMOKALANT SOBRE EL MUSCULO VENTRICULAR DE COBAYO.

En el músculo ventricular de cobayo los efectos del almokalant fueron dependientes de la concentración y no de la frecuencia de estimulación (Fig. 11). Los parámetros del PA afectados fueron la DPA medida al 50 y al 90% de la repolarización, y al igual que en conejo, la DPA_{30} , la amplitud máxima, el potencial de reposo, la V_{max} , y la amplitud de la fase 2 no resultaron afectados por el fármaco. El efecto del almokalant sobre la DPA_{30} del músculo ventricular de cobayo fue prácticamente nulo a todas las concentraciones utilizadas y a todas las frecuencias de estimulación exploradas. (Fig. 12).

Sobre la DPA_{50} el efecto del almokalant empieza a aparecer a la concentración de 30 nM pero el incremento no es importante hasta 100 nM, donde la prolongación de la DPA_{50} fue estadísticamente significativa a todas las frecuencias de estimulación y se incrementó aún más al aumentar la concentración a 300 nM y 1 μ M. (Fig. 13).

El efecto más notable del almokalant fue sobre la DPA_{90} (Fig. 14). El incremento de la DPA_{90} ya fue significativo con la concentración de 30 nM y a las frecuencias de 0.1, 0.5 y 1 Hz y no a 2 Hz. Con la concentración de 100 nM de almokalant el mayor efecto se presenta a 1 Hz seguido de 0.5 y 2 Hz. Con 300 nM el efecto sobre la DPA fue mayor a la frecuencia de 0.5 Hz que a la de 1 Hz. Sin embargo, en todas las frecuencias de estimulación el incremento de la DPA_{90} fue significativo estadísticamente. Efectos semejantes sobre la DPA_{90} se observaron con 1 μ M, sólo que con esta concentración se

produjo la prolongación máxima a la frecuencia de estimulación de 0.5 Hz.

El efecto del almokalant sobre el músculo papilar de cobayo fue completamente reversible, al lavar con la solución de tyrode normal durante 45 a 60 minutos (Fig. 15).

La tabla 3 muestra los valores control y los efectos del Almokalant sobre los diferentes parámetros del PA del músculo papilar de cobayo a la frecuencia de 1 Hz.

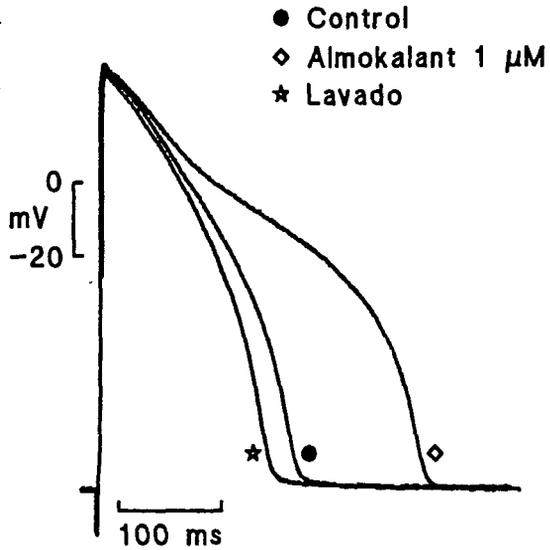


Fig. 10. PA de músculo ventricular de conejo estimulado a 1 Hz en los que se muestran registros control, efecto máximo del almokalant y lavado. Registros tomados de la misma preparación.

Tabla 2. Efectos del almokalant sobre los diferentes parámetros del PA del músculo papilar de conejo a la frecuencia de estimulación de 1 Hz.

	PR(mV)	AMP(mV)	V _{max} (V/s)	DPA ₅₀ (ms)	DPA ₅₀ (ms)	DPA ₉₀ (ms)
CONTROL	-83.66 ± 0.7	114.32 ± 2.6	166.00 ± 26.3	60.21 ± 10.2	92.01 ± 11.9	150.21 ± 10.1
10 nM	-83.85 ± 0.7	112.76 ± 3.1	161.00 ± 25.0	58.87 ± 11.7	92.87 ± 13.8	150.33 ± 11.6
30 nM	-83.65 ± 0.8	112.48 ± 3.4	160.00 ± 24.0	58.66 ± 13.2	95.07 ± 16.0	159.33 ± 13.6
100 nM	-83.66 ± 0.8	111.90 ± 3.9	159.00 ± 23.2	59.13 ± 11.9	102.73 ± 17.5	171.67 ± 14.1*
300 nM	-84.05 ± 0.8	112.30 ± 3.7	167.50 ± 28.0	66.20 ± 16.1	124.20 ± 25.6*	202.87 ± 20.4*
1 μM	-83.76 ± 0.8	113.90 ± 3.8	161.25 ± 33.5	80.16 ± 24.9	164.66 ± 40.4**	259.25 ± 31.2**
LAVADO	-82.78	106.40	150	43.66	113	218.33

Valores dados en promedios ± E.E. *= $p < 0.05$ y **= $p < 0.01$

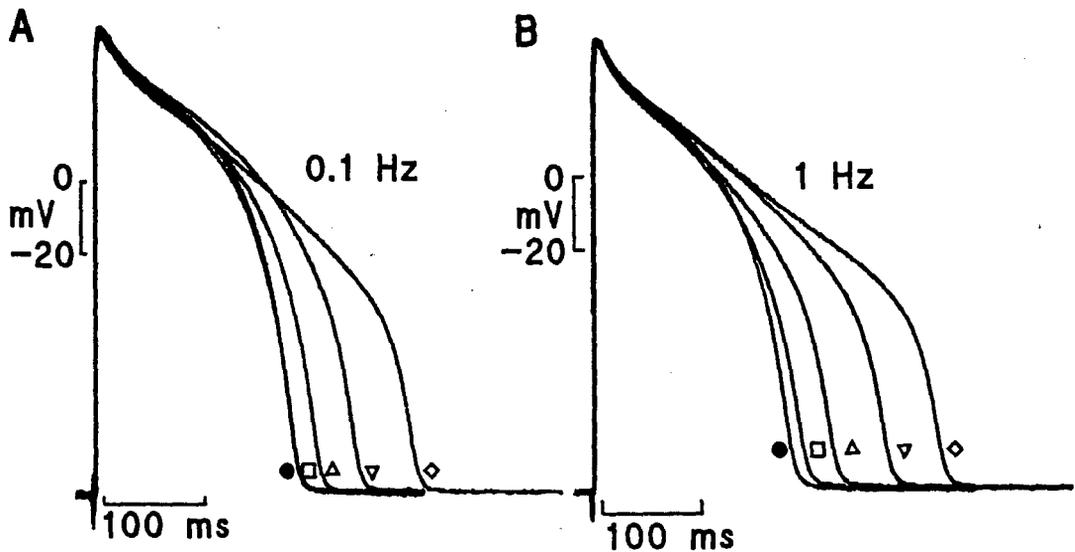


Fig. 11. Efecto del almokalant sobre el PA de músculo papilar de cobayo a las frecuencias de estimulación de 0.1 y 1 Hz.

A y B son registros tomados de la misma preparación.

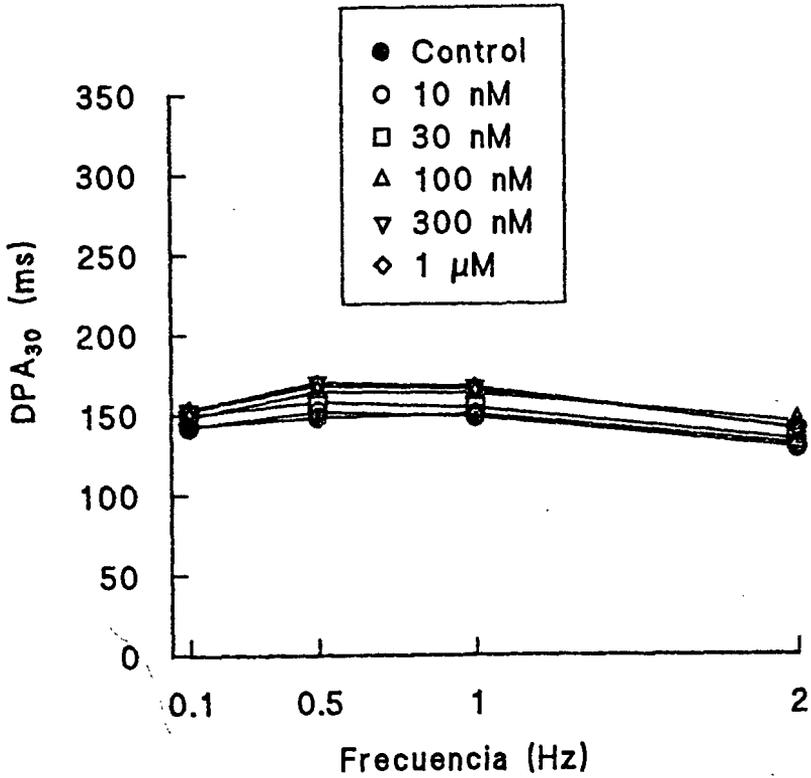


Fig. 12. Efecto del almokalant sobre la DPA_{30} en músculo papilar de cobayo. Los valores están dados en promedios \pm E.E.

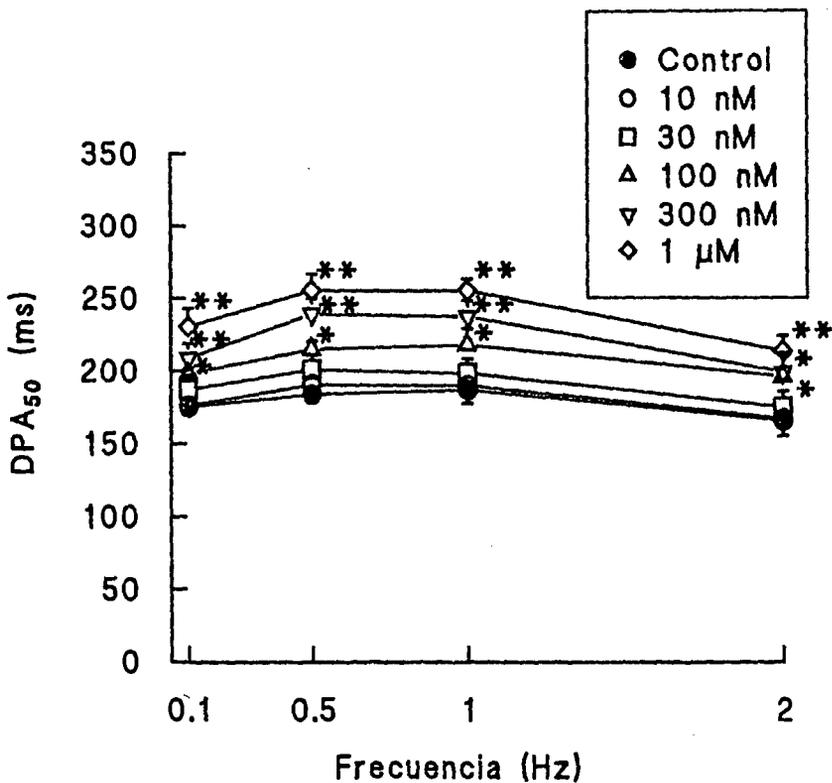


Fig. 13. Efecto del almokalant sobre la DPA_{50} en el músculo papilar del cobayo. Los símbolos representan los promedios \pm E.E. *= $p < 0.05$ y **= $p < 0.01$

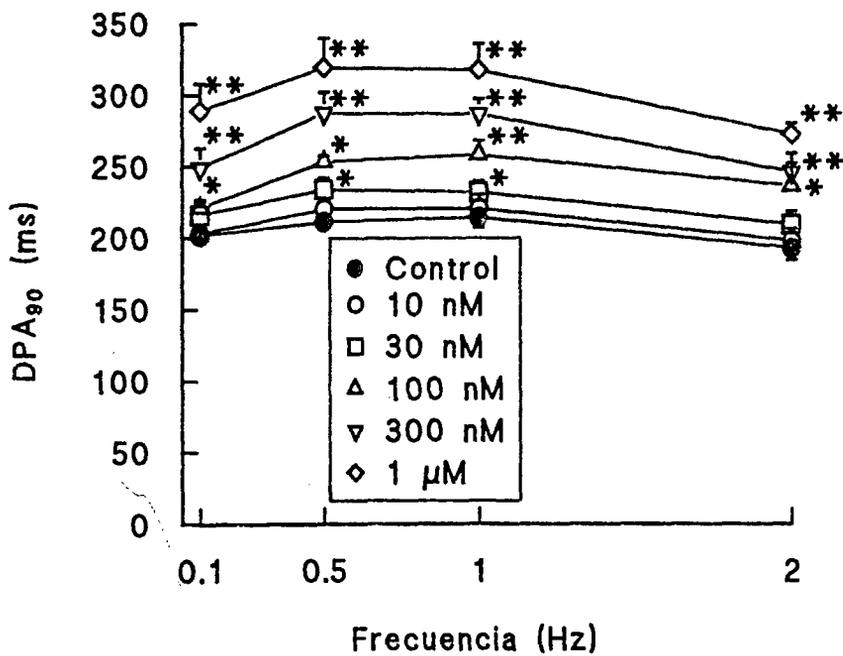


Fig. 14. Efecto del almokalant sobre la DPA_{90} en músculo papilar del cobayo. Valores dados en promedios \pm E.E. *= $p < 0.05$ y **= $p < 0.01$

Tabla 3. Resumen del efecto del almokalant sobre el PA del músculo papilar de cobayo a la frecuencia de estimulación de 1 Hz

	PR(mV)	AMP(mV)	V _{max} (V/s)	DPA ₉₀ (ms)	DPA ₅₀ (ms)	DPA ₉₀ (ms)
CONTROL	-89.55 ± 1.5	129.18 ± 1.4	206 ± 30.3	150.30 ± 10.8	186.69 ± 9.4	214.02 ± 7.3
10 nM	-89.12 ± 1.4	128.87 ± 1.6	206 ± 30.1	148.63 ± 10.9	189.69 ± 11.3	220.22 ± 9.6
30 nM	-89.06 ± 1.4	129.23 ± 1.2	208 ± 29.2	154.17 ± 12.1	198.09 ± 10.0	231.48 ± 7.80 *
100 nM	-89.02 ± 1.4	126.46 ± 4.6	196 ± 29.8	163.27 ± 13.4	217.62 ± 11.2 *	257.67 ± 10.1 **
300 nM	-89.69 ± 1.3	130.60 ± 1.1	216 ± 33.8	167.16 ± 15.4	237.17 ± 11.1 **	286.25 ± 10.7 **
1 μM	-90.76 ± 1.4	128.57 ± 1.1	243 ± 8.2	165.89 ± 16.7	255.00 ± 8.10 **	317.00 ± 18.3 **
LAVADO	-91.57	131.80	180	125.34	168.34	203

Valores dados en promedios ± E.E. * = p < 0.05 y ** = p < 0.01.

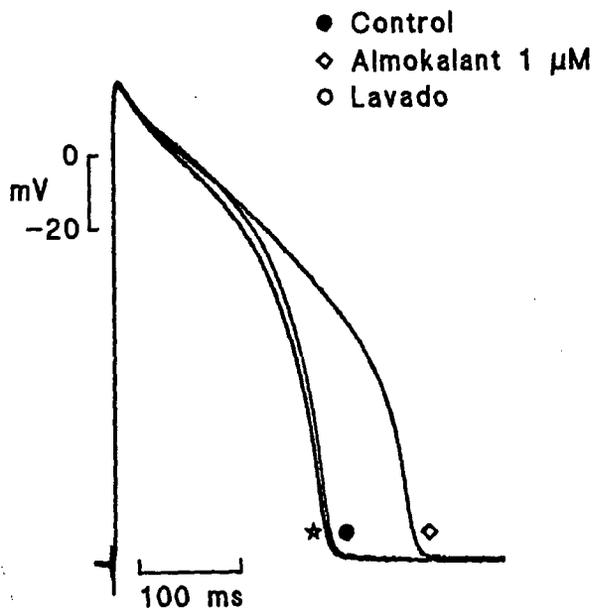


Fig. 15. Registros de PA en músculo papilar de cobayo en las que se muestra el control, el efecto máximo y el lavado a una frecuencia de estimulación de 1 Hz. Registros tomados de la misma preparación.

DISCUSSION.

El incremento en la mortalidad asociado al uso de los agentes antiarrítmicos encainida y flecainida de la clase Ic, encontrado en el trabajo llevado a cabo por CAST (Cardiac Arrhythmia Suppression Trial), ha conducido a una reevaluación crítica del uso de los antiarrítmicos para adecuar las terapias existentes en el control de las arritmias cardíacas. Aunque las razones de los resultados obtenidos por el CAST permanecen aún sin aclarar, se ha sugerido que la proarritmia debida a un enlentecimiento excesivo en la conducción es una posible causa. Por consecuencia, las drogas que actúan por otros mecanismos diferentes del bloqueo del canal de sodio, como los bloqueadores β y los agentes antiarrítmicos clase III actualmente se consideran con interés como una posible terapia alternativa.

En general, aún se conoce muy poco acerca de la eficacia y seguridad de los agentes antiarrítmicos clase III. Sin embargo, estudios preliminares sugieren que estos agentes, los cuales producen menor depresión cardíaca que otras clases de drogas, generalmente demuestran mayor eficacia que los agentes convencionales clase I en la prevención de arritmias ventriculares que ocurren durante isquemia aguda o por estimulación eléctrica programada.

Los datos disponibles en la literatura sugieren que la mayoría de los agentes clase III ejercen sus efectos sobre la repolarización por bloqueo de uno o más tipos de canales de potasio.

Hondeghem y Snyders (1990) proponen que el potencial terapéutico de los agentes

clase III disponibles, es limitado en primer lugar por su poca capacidad para prolongar la repolarización a frecuencias cardíacas altas, lo cual reduciría su eficacia contra las taquicardias y por otro lado su tendencia a prolongar excesivamente la DPA a frecuencias bajas, efecto que puede ser proarrítmico. Este patrón de actividad, de eficacia reducida a frecuencias cardíacas altas y mayor eficacia a frecuencias bajas, es opuesto al que se observa típicamente con los agentes clase I. Los antiarrítmicos clase III tienden a exhibir efectos farmacológicos mayores conforme la frecuencia cardíaca es disminuída.

La atenuación de la actividad clase III a frecuencias cardíacas altas se ha atribuído al fenómeno conocido como "dependencia de uso inversa" (Hondegheem y Snyders, 1990). Sin embargo de las dos especies estudiadas en el presente trabajo, con el almokalant este fenómeno se presenta sólo en el cobayo. Lo cual nos hace pensar que la "dependencia de uso inversa" depende además del tipo de interacción del fármaco con los canales de potasio, de las corrientes que determinen la repolarización del PA a las diferentes frecuencias de estimulación en el tejido y de la especie con la que se trabaje.

Los fármacos antiarrítmicos clase III actúan prolongando selectivamente la duración del potencial de acción cardíaco. El almokalant prolonga los potenciales de acción e incrementa la refractariedad en músculo ventricular de humano y de otros mamíferos (Darpö, et. al. 1991). En el presente trabajo comparamos los efectos del almokalant sobre músculos papilares de conejo y de cobayo.

En el músculo papilar de conejo los efectos del almokalant fueron dependientes de la concentración, el efecto se presentó a concentraciones mayores de 30 nM. El fármaco

no modificó significativamente las primeras fases del PA, la amplitud la V_{max} y la DPA_{30} a ninguna de las concentraciones ni frecuencias de estimulación estudiadas. El efecto del almokalant fue significativo sobre la última fase de la repolarización del PA, aumentó la DPA_{50} y la DPA_{90} . Este efecto fue altamente dependiente de la frecuencia de estimulación entre 0.1 y 1 Hz, a 2 Hz el efecto fue similar que a 1 Hz. Estos resultados muestran que en el músculo ventricular de conejo el almokalant produce un efecto clase III dependiente de uso, siendo mayor el efecto cuanto más alta la frecuencia de estimulación.

En el músculo papilar de conejo la repolarización es determinada por las siguientes corrientes repolarizantes: 1) una corriente transitoria de salida de potasio (I_{to1}) de gran magnitud, voltaje dependiente, que tiene una recuperación de la inactivación muy lenta ($t_{rec} = 7000$ ms), esta última propiedad de la corriente determina que la I_{to1} sea la determinante de la repolarización a frecuencias bajas de estimulación (ej. 0.1 Hz), siendo mucho menos importante en la repolarización a frecuencias mayores (Giles y Imaizumi, 1988), esto permite que a las frecuencias más altas las otras corrientes participen en forma importante. 2) La corriente transitoria de salida secundaria o I_{to2} , es una corriente acarreada por cloro y activada por el calcio liberado por el retículo sarcoplásmico, participa principalmente durante la fase 1 del potencial de acción y su contribución es mayor cuanto más alta la frecuencia de estimulación (Hiraoka y Kawano, 1989). 3) La corriente de rectificación tardía I_K , la cual tiene características similares a la I_{Kr} del cobayo, participa principalmente durante la última parte de la repolarización y su participación es mayor cuanto más alta es la frecuencia de estimulación, ya que presenta el fenómeno

llamado de "acumulación de la activación" (Gintant et al., 1991). 4) La corriente de rectificación anómala o I_{K1} , también participa en la última fase de la repolarización y por sus características cinéticas, su contribución es similar a todas las frecuencias de estimulación utilizadas en el presente trabajo (Gintant et al. 1991).

En el músculo papilar de cobayo los efectos del almokalant fueron dependientes de la concentración y no de la frecuencia de estimulación. El efecto se presentó a partir de 30 nM del fármaco. El almokalant produjo un alargamiento significativo de la DPA_{50} y la DPA_{90} y sin ningún efecto sobre la DPA_{30} con todas las frecuencias de estimulación utilizadas. La amplitud máxima del PA, la V_{max} , el potencial de reposo y la amplitud de la fase 2 no resultaron afectados.

Las corrientes responsables de la repolarización en el músculo ventricular de cobayo son: 1) una prominente corriente de rectificación tardía (I_{Kr}), la cual consta de 2 componentes que pueden ser distinguidos por sus cinéticas de activación, rectificación y su sensibilidad a las drogas (Sanguinetti y Jurkiewicz, 1990; Colatsky et al., 1990). I_{Kr} se activa rápidamente (0.1 - 0.5 s) a potenciales moderadamente despolarizados (entre -40 y 0 mV), la corriente completamente activada rectifica hacia adentro. Por otro lado, I_{Ks} se activa lentamente y sólo a potenciales más positivos de -10 mV alcanzando su saturación hasta 50 mV, prácticamente no rectifica (Carmeliet, E. 1992). 2) La corriente de rectificador anómalo (I_{K1}), es muy prominente y es la responsable del mantenimiento del potencial de reposo y de la última fase de la repolarización.

La prolongación de la DPA puede explicarse fundamentalmente por dos

mecanismos iónicos, ya sea por un aumento de las corrientes entrantes o por una disminución de las corrientes salientes. Una de las corrientes que participan de manera importante en el mantenimiento de la meseta es la corriente entrante de calcio I_{Ca} , ya que el almokalant no modifica la amplitud de la meseta, esto nos sugiere que el fármaco no modifica la I_{Ca} . Por lo tanto, la prolongación significativa de la DPA_{50} y DPA_{90} parece ser debida a un bloqueo de las corrientes salientes. El hecho de que la fase 1 del PA no es modificada por el fármaco sugiere que las corrientes transitorias de salida no son afectadas por almokalant. Los candidatos más viables son el rectificador tardío I_K o el rectificador anómalo I_{K1} o ambas.

En estudios preliminares de nuestro laboratorio (no publicados) se ha encontrado que el almokalant bloquea la corriente I_K (rectificador tardío) en el conejo, esta corriente es muy semejante al componente rápido del rectificador tardío de cobayo, el cual también es bloqueado por el almokalant, sin resultar afectado el componente lento (I_{Ks}). También se ha encontrado que el almokalant no afecta a la corriente de calcio I_{Ca} , ni la corriente de rectificación anómala (I_{K1}), ni la corriente transitoria de salida acarreada por potasio y activada por voltaje (I_{to1}) y tampoco la I_{to2} que es acarreada por cloro y activada por calcio liberado del retículo sarcoplásmico.

CONCLUSIONES.

1. Los efectos del almokalant sobre el músculo ventricular de conejo fueron dependientes de la concentración (30, 100, 300 nM y 1 μ M) y de la frecuencia de estimulación (0.1-2 Hz). El efecto fue mayor a las frecuencias de estimulación más altas, aumentando significativamente la DPA_{50} y la DPA_{90} .

2. En el músculo ventricular de cobayo el efecto del almokalant fue dependiente sólo de la concentración (30, 100, 300 nM y 1 μ M) y no de la frecuencia de estimulación, aumentando significativamente la DPA_{50} y la DPA_{90} .

3. En el músculo ventricular de conejo a las frecuencias de estimulación más bajas (0.1 Hz principalmente) la corriente predominante en la repolarización es la corriente transitoria de salida de potasio I_{to1} , conforme la frecuencia de estimulación es incrementada empieza a predominar la corriente del rectificador tardío. Por consiguiente, los resultados obtenidos sugieren que la corriente que esta siendo afectada fundamentalmente es la I_K .

4. En el músculo ventricular de cobayo no se ha descrito la corriente transitoria de salida, por lo que las corrientes predominantes en la repolarización son el rectificador tardío (I_K) y el rectificador anómalo (I_{K1}), las cuales tienen la misma participación a cualquier frecuencia de estimulación. Si un fármaco estuviera afectando a cualquiera de

estas corrientes, o a ambas, el efecto sería el mismo independientemente de la frecuencia de estimulación, lo cual sugiere, por los resultados obtenidos, que este es el mecanismo de acción del almokalant.

La disponibilidad de bloqueadores nuevos y más selectivos para canales de potasio específicos aún en desarrollo como agentes clase III, ha contribuido a clarificar las cuestiones básicas acerca de los mecanismos iónicos responsables de la repolarización cardíaca y se espera que los datos clínicos determinarán la seguridad relativa y la eficacia de estos agentes en la prevención de arritmias sintomáticas y en tratamientos crónicos.

El presente trabajo se realizó con la finalidad de aportar datos nuevos sobre el mecanismo de acción de estos fármacos.

BIBLIOGRAFIA.

-CONDE DE LA FUENTE, C. A., ALMERIA VALERA, C., OLIVEROS RODRIGUEZ, F.,
ASTILLEROS, M. 1985. Pregrado Cardiología. Cap. Arritmias I. Edición única. Pgs. 103-123.

-BROWN, H. F., DiFRANCESCO, D. 1980. Voltage-clamp investigations of membrane
currents underlying pacemaker activity in rabbit sino-atrial node. *Journal of Physiology*
(London). Vol. 308. Pgs. 331-351.

-CARLSSON, L., ABRAHAMSSON, C., ALMGREN, O., CHARLOTTE, L., DUKER, G. 1991.
Prolonged action potential duration and positive inotropy induced by the novel class III
antiarrhythmic agent H 234/09 (almokalant) in isolated human ventricular muscle. *Journal*
of Cardiovascular Pharmacology. Vol. 18. Pgs. 882-887.

-CARMELIET, E. 1977. Repolarization and frequency in cardiac cells. *Journal of Physiology*.
Paris. Vol. 73. Pgs. 903-923.

-CARMELIET, E. 1991. Voltage-and time-dependent block of the delayed K⁺ current in
cardiac myocytes by dofetilide. *Journal of Pharmacology in Experimental Therapeutics*.
Vol. 262. Pgs. 809-817.

-CAST INVESTIGATORS. 1989. Preliminary report: Effect of encainide and flecainide on
mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction. *New*

England Journal of Medicine. Vol. 321. Pgs. 406-412.

-CLARCK, R. B., GILES, W. R., IMAIZUMI, Y. 1988. Properties of the transient outward current in rabbit atrial cells. *Journal of Physiology*. Vol. 405. Pgs. 147-148.

-COBBE, S. M. 1988. Modification of class III anti-arrhythmic activity in abnormal myocardium. *Cardiovascular research*. Vol. 22. Pgs. 847-854.

-COLATSKY, T. J., FOLLMER, C. H., STARMER, C. F. 1990. Channel specificity in antiarrhythmic drug action. Mechanism of potassium channel block and its role in suppressing and aggravating cardiac arrhythmias. *Circulation*. Vol. 82. Pgs. 2235-2242.

-DUNNETT, C. W. 1955. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *American Statistical Association Journal*. Vol. 50. Pgs. 1096-1121.

-DUNNETT, C. W. 1964. New tables for a multiple comparison with a control. *Biometrics*. Pgs. 482-489.

-FOZZARD, H. A., MORTON, F. ARNSDORF. 1992. *Cardiac Electrophysiology*. In Fozzard H. A. Jennings, R. B., Haber, E., Katz, A. M. Morgan, H. E. (Eds): *The heart and cardiovascular system*. New York, Raven Press, Publishers, second edition. Pgs. 63-98.

-GILES, W. R., IMAIZUMI, Y. 1988. Comparison of potassium currents in rabbit atrial and ventricular cells. *Journal of Physiology*. Vol. 405. Pgs. 123-145.

-GINTANT, G. A., COHEN, I. S. DATYNER, N. B., KLINE, R. P. 1991. Time-dependent outward currents in the heart. In Fozzard H. A. Jennings, R. B., Haber, E., Katz, A. M., Morgan, H. E. (Eds.): *The Heart and Cardiovascular System*. New York, Raven Press, Publishers. Second edition. Pgs. 1121-1169.

-HIRAOKA, M., KAWANO, S. 1987. Mechanism of increased amplitude and duration of the plateau with sudden shortening of diastolic intervals in rabbit ventricular cells. *Circulation Research*. Vol. 60. Pgs. 14-26.

-HONDEGHEM, L. M., SNYDERS, D. J. 1990. Class III antiarrhythmic agents have a lot of potential but along way to go. Reduced effectiveness and dangers of reverse use dependence. *Circulation*. Vol. 81. Pgs. 686-690.

-HIRAOKA, M., KAWANO, S. 1989. Calcium-sensitive and insensitive transient outward currents in rabbit ventricular myocytes. *Journal of Physiology (London)*. Vol. 410. Pgs. 187-212.

-HUME, R., UEHARA, A. 1985. Ionic basis of the different action potential configurations

of single guinea-pig atrial and ventricular myocytes. Journal of Physiology. Vol. 368. Pgs. 525-544.

-JURKIEWICZ, N. K., SANGUINETTI, M. C. 1993. Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent. Specific block of rapidly activating delayed rectifier K^+ current by dofetilide. Circulation research. Vol. 72. Pgs. 75-83.

-KATZ, A. M. 1992. The Cardiac Action Potential. Physiology of the Heart. Second edition. Raven Press publishers. Pgs. 438-472.

-MATSUDA, H. SAIGUSA, A. IRISAWA, H. 1987. Ohmic conductance through the inwardly rectifying K_v channel and blocking by internal Mg^{2+} . Nature. Vol. 325. Pgs. 156-159.

-SANCHEZ-CHAPULA, J. 1987. Mecanismos iónicos responsables del potencial de acción de las células cardíacas. En: Músculos esqueléticos y cardíacos. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Alambra. México, D. F. Ed. Pastelín, G. y Muñoz-Martínez, J. Edición única. Pgs. 357-386.

-SANGUINETTI, M.C., JURKIEWICZ, N. K. 1990. Two types of delayed rectifier K^+ currents

in guinea pig ventricular myocytes (abstract). *Biophysics Journal*. Pgs. 57-142.

-SHIMONI, Y., CLARK, R. B., GILES, W. R. 1992. Role of an inwardly rectifying potassium current in rabbit ventricular action potential. *Journal of Physiology*. Vol. 84. Pgs. 1831-1851.

-VANDENBERG, C. 1987. Inward rectification of a potassium channel in cardiac ventricular cells depends on internal magnesium ions. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*. Vol. 84. Pgs. 2560-2564.

-VAUGHAN WILLIAMS E. M. 1970. Clasification of anti-arrhythmic drugs. In: Olesen KH, eds. *Symposium on Cardiac Arrhythmias*. Sodertalje, Sweden: AB Astra. Pgs. 449-476.

-VAUGHAN WILLIAMS E. M. 1984. A Classification of anti-arrhythmic action reassessed after a decade of new drugs. *Journal Clinic Pharmacology*. Vol. 24. Pgs. 129-147.

-WOOSLEY, R. L. 1991. Antiarrhythmic drugs. *Annual review of Pharmacology and Toxicology*. Vol. 31. Pgs. 427-455.

LA ASOCIACION MEXICANA DE FARMACOLOGIA A.C.

Otorga la presente

CONSTANCIA

A:

Hernández C.

Por la presentación del trabajo:

EFFECTOS DEL ALMOKALANT (H234) SOBRE LOS POTENCIALES DE ACCION DE MUSCULO VENTRICULAR DE COBAYO CONEJO Y GATO

como parte de las actividades del

XVI CONGRESO NACIONAL DE FARMACOLOGIA

Guanajuato, Gto. 18 de Noviembre de 1993



Dr. Fermín Valenzuela
Presidente

EFFECTO DEL ALMOKALANT (H234/09) SOBRE LOS POTENCIALES DE ACCION DE MUSCULO VENTRICULAR DE COBAYO Y CONEJO. Hernández, C., Elizalde, A. y Sánchez-Chapula, J. C.U.I.B. de la Universidad de Colima, Apartado Postal 199, Colima, Col. C.P. 28000 México.

El fármaco antiarrítmico Clase III almokalant alarga selectivamente la duración del potencial de acción (DPA). En el presente proyecto, hemos estudiado los efectos del almokalant sobre diferentes parámetros del PA en músculo ventricular de cobayo y conejo a diferentes frecuencias de estimulación (0.1, 0.5, 1 y 2 Hz). En cobayo, las principales corrientes repolarizantes son: Una prominente corriente de rectificación tardía (IK) y la corriente rectificadora anómala (IK1). En conejo, las principales corrientes repolarizantes son la corriente transitoria de salida (Ito1), la cual es prominente pero tiene una recuperación de la inactivación de muy lenta, una pequeña IK y la corriente IK1. Se utilizaron músculos papilares del ventrículo derecho, el PA se registró con la técnica convencional de microelectrodos. Encontramos que en cobayo el almokalant (30-1000 nM) produce un alargamiento de la duración del PA, principalmente en la parte final de la repolarización DPA90, la DPA medida al 30% de la repolarización (DPA30) no se modificó significativamente. El efecto fue cuantitativamente similar a las frecuencias de estimulación estudiadas. En el conejo el almokalant aumentó la DPA90 pero no la DPA30, el efecto sobre la DPA90 no fue significativo a la frecuencia de 0.1 Hz pero si a las frecuencias más altas (0.5-2 Hz). Las conclusiones son: 1. El almokalant aumenta la DPA90 y no la DPA30 en el músculo ventricular de las especies estudiadas, lo que sugiere que el efecto puede ser debido a bloqueo de IK o IK1 sin afectar Ito1, 2. El efecto fue independiente de la frecuencia de estimulación en el músculo papilar de cobayo, en cambio en el músculo papilar de conejo el efecto fue mayor a las frecuencias más altas, lo cual refuerza la suposición de que Ito1 no es afectada por el almokalant, ya que en el ventrículo de conejo estimulado a bajas frecuencias, la Ito1 es la determinante de la repolarización del PA.