

Libros de **Cátedra**

Farmacodinamia general e interacciones medicamentosas

Mecanismos de acción de fármacos
y metodologías de estudio experimental

Alicia E. Consolini y María Inés Ragone (coordinadores)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas

 **Edulp**
Editorial
de la Universidad
de La Plata



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

FARMACODINAMIA GENERAL E INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS

**MECANISMOS DE ACCIÓN DE FÁRMACOS Y METODOLOGÍAS
DE ESTUDIO EXPERIMENTAL**

Alicia E. Consolini
María Inés Ragone
(coordinadores)

Facultad de Ciencias Exactas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



Editorial
de la Universidad
de La Plata

A todas las promociones de alumnos que inspiraron este libro,
y a las que a futuro esperamos disfruten de la Farmacología al leerlo

Agradecimientos

A los ex alumnos de la cátedra, ya Farmacéuticos, María Lara Lazarte, Lucía Clavellino y Matías Bayley, que tan alegremente han colaborado haciendo las ilustraciones de este libro, con entusiasmo y buen humor.

A los profesores de otras cátedras, a quienes invitamos a escribir sus respectivos capítulos basados en su enorme experiencia, y que aceptaron con gusto y gran dedicación.

*Cuando creíamos que teníamos todas las respuestas, de pronto,
cambiaron todas las preguntas.*

MARIO BENEDETTI

Índice

Presentación y generalidades _____	8
<i>Alicia E. Consolini</i>	
Capítulo 1	
Farmacodinamia del músculo esquelético _____	14
<i>María I. Ragone y Alicia E. Consolini</i>	
Capítulo 2	
Farmacodinamia cardíaca _____	35
<i>Alicia E. Consolini, R. Gisel Díaz y María I. Ragone</i>	
Capítulo 3	
Farmacodinamia del músculo liso en general y gastrointestinal _____	64
<i>Alicia E. Consolini y Germán A. Colareda</i>	
Capítulo 4	
Farmacodinamia del músculo liso genitourinario y respiratorio _____	86
<i>Germán A. Colareda y Alicia E. Consolini</i>	
Capítulo 5	
Farmacodinamia del músculo liso vascular _____	103
<i>Pedro Martín</i>	
Capítulo 6	
Interacción fármaco-receptor y farmacodinamia cuantitativa _____	113
<i>Alicia E. Consolini</i>	
Capítulo 7	
Psicofarmacología: farmacodinamia y modelos experimentales _____	141
<i>Silvia Wikinski</i>	
Capítulo 8	
Evaluación de la seguridad de productos farmacéuticos y biofarmacéuticos _____	164
<i>Pablo Quiroga</i>	

Capítulo 9

Interacciones medicamentosas _____ 182

Alicia E. Consolini y María I. Ragone

Los autores _____ 212

CAPITULO 2

Farmacodinamia cardíaca

Alicia E. Consolini, R. Gisel Díaz y María Inés Ragone

*"He aquí mi secreto, que no puede ser más simple:
sólo con el corazón se puede ver bien, lo esencial es invisible a los ojos"*

ANTOINE DE SAINT-EXUPÉRY, El principito

Potenciales de acción cardíacos y sitios de acción de fármacos

El corazón presenta dos tipos de células excitables especializadas para distinta función: las células marcapasos o automáticas para generación y conducción del potencial de acción (PA), y las células miocárdicas encargadas de la contracción. Ambas presentan diferentes potenciales de acción. Recordemos que las fibras contráctiles de ventrículo o aurícula presentan un potencial de acción rápido (fase 0), seguido por una meseta (fase 2). La duración y amplitud del PA es variable en las distintas partes del corazón, siendo más breve en las fibras auriculares que en las ventriculares. También este potencial rápido es característico de las fibras de Purkinje (sistema de conducción) aunque en estas existe una despolarización diastólica lenta en la fase 4. Esto les da las características de células automáticas, aunque se disparan a menor frecuencia que las de los nódulos sinusal y aurículo-ventricular.

a) Fármacos que afectan al potencial de acción del miocardio contráctil

El PA se inicia con la **fase cero**, cuando por la llegada de un estímulo despolarizante (conducido por corrientes de K^+ entre las fibras miocárdicas a modo de sincicio) se alcanza el umbral de activación de los canales de Na^+ . Estos canales voltaje-dependientes generan un gran cambio en el potencial de membrana (E_m) desde alrededor de -80 mV hasta $+20$ o $+30$ mV, voltaje en el cual se inactivan en aproximadamente 1 ms. El breve período en el cual se produce el flujo del ión se denomina "estado activado". Luego el canal cambia su conformación con la despolarización y alcanza su "estado inactivado". Recién cuando la fibra se repolariza y el E_m vuelve al potencial inicial (-80 mV o más negativo) el canal vuelve al "estado de reposo".

Mientras el canal de Na^+ se encuentre inactivado no podrá generarse un nuevo potencial de acción, y entonces la célula se encuentra en su **período refractario**.

La corriente de Na^+ rápida hacia el interior (I_{Na}) puede ser bloqueada selectivamente por tetrodotoxina (TTX), que se une irreversiblemente al canal impidiendo la activación del mismo, y esta herramienta se emplea farmacológicamente para detectar la corriente o bloquearla. Pero terapéuticamente existen fármacos capaces de bloquear la I_{Na} que, consecuentemente, disminuyen la velocidad máxima de despolarización ($V_{\text{máx}}$) de la fase 0. Los **bloqueantes de los canales de Na^+** incluyen a **quinidina, procainamida, disopiramida, lidocaína, fenitoína, mexiletina** y a los actualmente más empleados en terapéutica **flecainida y propafenona**. Son fármacos con propiedades **antiarrítmicas** que por este mecanismo se clasificaron como **de clase I** (según la clasificación de Vaughan-Williams). También la **amiodarona** es un antiarrítmico bloqueante de la corriente de Na^+ , aunque ha sido clasificado de **clase III** por su prolongación del PA (Figura 1).

Los bloqueantes de los canales de Na^+ se enlazan al canal de Na^+ preferentemente en el estado inactivado (o incluso en el breve período activado). Por ello, el efecto es dependiente de la frecuencia de estimulación (a mayor frecuencia habrá más posibilidades de encontrar canales en el estado inactivado) y del voltaje (la despolarización inactiva los canales). De este modo, se obtiene mayor bloqueo cuando el corazón late con más frecuencia (en taquicardia son más efectivos) o si está parcialmente despolarizado (por ej. durante la isquemia miocárdica que promueve arritmias). Estas características le dan selectividad a los fármacos antiarrítmicos, de modo que bloqueen los PA anormales sin afectar el ritmo y conducción normal cardíaco.

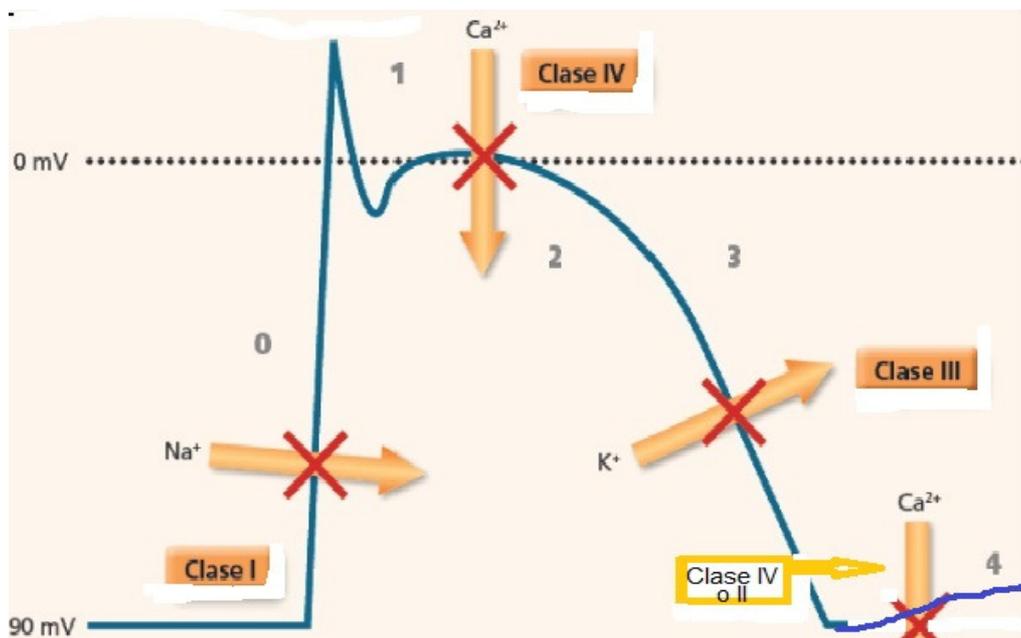


Figura 1: Esquema de un potencial de acción miocárdico ventricular en el que se marcan los canales que son el blanco de inhibición de las drogas antiarrítmicas según la clasificación de Vaughan-Williams. La fase 4 tiene despolarización espontánea en las fibras de Purkinje. Leer los mecanismos correspondientes en el texto.

Luego de la fase 0 se observa una repolarización rápida pero poco duradera, conocida como **fase 1**, que se debe al eflujo de K^+ (antes se consideraba debida al ingreso de Cl^-). La porción del PA que se desarrolla a voltajes positivos se denomina "overshoot". No se conocen fármacos que actúen en esta fase.

La **fase 2** o de meseta se origina por una corriente lenta despolarizante transportada principalmente por Ca^{2+} , que ingresa a través de canales tipo L. Estos canales lentos (L) se activan a alrededor de -40 mV y se inactivan en aproximadamente 50 mseg (notar diferencia con la I_{Na}). Le dan a la meseta una duración de 180 a 200 mseg. Los canales lentos son insensibles a TTX pero pueden ser **bloqueados por magnesio, manganeso y cadmio**, que compiten con el Ca^{2+} por ser cationes divalentes, y por fármacos conocidos como **antagonistas cálcicos o bloqueantes de calcio (BCa), por ej. verapamil y diltiazem (antiarrítmicos clase IV)**, que se enlazan al canal lento cuando está inactivado demorando su próxima reactivación. Bloquean el influjo de Ca^{2+} de modo dependiente de la frecuencia y del voltaje. Es decir, que el bloqueo es mayor cuando existe taquicardia o arritmias, lo cual le da selectividad a estos fármacos para corregir la anomalía en el ritmo de células arritmogénicas sin afectar a las fibras normales.

Además de regular la duración del PA, la corriente de Ca^{2+} -tipo L ($I_{Ca,L}$) es el principal regulador del proceso de excitación-contracción, promoviendo la liberación de Ca^{2+} -inducida por Ca^{2+} . Es estimulada por las **catecolaminas** que actúan en el receptor **β -adrenérgico**. In vivo los antagonistas del receptor β -adrenérgico (algunos de los cuales son considerados antiarrítmicos de clase II) reducen indirectamente a las corrientes de Ca^{2+} . El receptor β se acopla mediante una Gs a la cascada de activación de la adenilatociclasa (AC) y se estimula una proteína-quinasa A (PKA) que fosforila los canales L, aumentando así la amplitud de la corriente de Ca^{2+} (como se verá más adelante). Al canal de tipo L se lo denomina también receptor de dihidropiridinas (DHPR, dihydropyridine receptor) dada su sensibilidad característica a este grupo de compuestos que pueden actuar como bloqueantes (**nifedipina, amlodipina, nitrendipina, nisoldipina y otros derivados**). En realidad, a dosis terapéuticas las DHP actúan en el músculo liso vascular pero su afinidad no les permite bloquear a los canales L del corazón a las concentraciones plasmáticas alcanzadas.

A pesar de que existe otro tipo de canales de Ca^{2+} en el músculo cardíaco, denominados **canales T** (o transitorios de rápida inactivación), éstos están presentes predominantemente en el sistema de conducción, y no participan significativamente en la contracción miocárdica. Ambos se activan por despolarización de la membrana y se inactivan de modo tiempo y voltaje-dependiente. La corriente T se inactiva más rápidamente que la L, y completamente a potenciales más positivos que -30 mV o a potenciales mantenidos estables de -50 mV, mientras la L permanece activa (Bers, 2001).

En el Em correspondiente a la meseta (fase 2) se activan las corrientes repolarizantes de K^+ (hacia el exterior), provenientes de un grupo heterogéneo de canales. El mayoritario es el **"canal rectificador tardío"** cuya corriente (I_K) tiene dos componentes (uno de activación rápida y otro que se activa lentamente durante la meseta) y es la iniciadora de la **fase 3 de repolarización**. El componente rápido puede ser bloqueado por los antiarrítmicos **sotalol y**

amiodarona que prolongan el PA (por lo cual son considerados de clase III) y por **quinidina** y **procainamida** (considerados de clase Ia). A consecuencia de ese bloqueo de la I_K estos fármacos antiarrítmicos pueden producir un alargamiento del intervalo QT del ECG que conduce a efectos arritmogénicos (arritmia tipo "**torsade de points**"). Esto ha provocado un uso limitado de estos fármacos antiarrítmicos en terapéutica, especialmente de los de clase Ia. La I_K es dependiente del voltaje, se activa con la despolarización durante la fase 2 y se inactiva a potenciales mayores de -50 mV (más negativos). Es estimulada por fosforilación mediada por las proteínas-quinasas PKC y PKA. Durante la estimulación **β -adrenérgica** se aumenta la amplitud de la I_K por la vía de PKA, y esto evita la excesiva prolongación del PA debida a la simultánea estimulación de la $I_{Ca,L}$ por la PKA.

Por otra parte, en el corazón existe la **corriente de K^+ "rectificadora anómala"** (I_{K1}) que promueve el eflujo de K^+ a E_m entre -55 y -90 mV, y así contribuye a la repolarización (**fase 3**). Debido a que su conductancia varía con el voltaje, esta corriente contribuye a la despolarización durante la meseta previniendo la pérdida de K^+ durante la fase 2. Al igual que la I_K , la I_{K1} puede ser bloqueada por **sotalol**. Esta corriente I_{K1} debe su nombre a que a E_m más negativos que -100 mV "rectifica" ingresando K^+ a la célula, pero esto es inalcanzable en condiciones fisiológicas ("anómalo").

En síntesis, **la I_K controla el inicio de la fase 3 de repolarización, mientras la I_{K1} controla la última porción de la fase 3**. Ambas corrientes son sensibles a los cambios en la $[K^+]_e$ contribuyendo por ejemplo a generar arritmias cuando la $[K^+]_e$ es inferior a la fisiológica (2 a 5 mM).

Existe otra corriente rectificadora de K^+ , la **I_{KATP} dependiente de ATP**, la cual se activa cuando la relación de concentraciones de ATP/ADP cae, por ejemplo en la hipoxia o en la isquemia. Cumple la función de acelerar la repolarización o fase 3, con lo que acorta la fase 2 de meseta. Así protege al miocardio hipóxico, reduciendo el influjo de Ca^{2+} y el consumo de energía en la contracción. Esta corriente es la responsable de que la contractilidad caiga abruptamente durante los primeros 3 minutos de isquemia o hipoxia cardíaca. Además, la I_{KATP} puede activarse por los fármacos llamados **abridores de K (diazóxido, cromakalim, nicorandil)** y bloqueada por las **sulfonilureas (por ej. glibenclamida, glipizida, y otras)**. Estas últimas tienen propiedades hipoglucemiantes porque los mismos canales K_{ATP} están presentes en las células beta pancreáticas y median el mecanismo de liberación de insulina.

b) Fármacos que actúan sobre el potencial de acción marcapaso

Recordemos que las células automáticas componen el sistema de conducción en las siguientes estructuras: nódulo sinoauricular (SA), nódulo aurículo-ventricular (AV), fibras de Purkinje y haz de His. Todas ellas tienen la propiedad de automatismo, pero las que exhiben mayor frecuencia de disparo son las del nódulo SA, por lo cual este asume la conducción del marcapaso cardíaco. El PA de los nódulos SA y AV tiene las siguientes características esquematizadas en la Figura 2.

El potencial diastólico máximo de las células SA es de aproximadamente - 50 a - 60 mV, por lo cual los canales rápidos de Na^+ están totalmente inactivados, aún si estuvieran presentes. Entonces, la fase de despolarización (fase 0) se debe a los **canales de Ca^{2+} tipo L**, por lo que las células marcapaso SA y AV tienen PA lentos. Además, hay escasa expresión de los canales de I_{K1} . Durante la **fase 4** se produce la llamada “**despolarización diastólica lenta**” y espontánea, provocada por la inhibición de la conductancia al K^+ por desactivación gradual de la corriente rectificadora tardía (I_{K1}) predominante en la fase 3, que tiene una constante de tiempo de 300 ms. Además, durante la fase 4 se activan la **corriente marcapaso I_f** (“funny” de $t_{1/2}$ 1-2 s) permeable a Na^+ y K^+ , que favorece la despolarización, y la **corriente del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$** (que permite el eflujo de 1 Ca^{2+} y el ingreso de 3 Na^+ , conduciendo carga positiva al interior celular). Recientemente se desarrolló un fármaco capaz de bloquear a la corriente I_f que se denominó **ivabradina**, inhibe a los canales activados por lo cual actúa en modo dependiente de la frecuencia cardíaca, al igual que otros antiarrítmicos, y reduce la taquicardia sinusal sin afectar la contractilidad, siendo útil en el angor y en la insuficiencia cardíaca congestiva.

En la fase 4 también se activan corrientes de Ca^{2+} como la $\text{I}_{\text{Ca,T}}$ (transitoria y de rápida inactivación) y la $\text{I}_{\text{Ca,L}}$ (de lenta duración) a -50 mV y -30 mV, respectivamente. Debido a que en el último tercio de la fase 4 comienzan a activarse los canales L, la frecuencia cardíaca puede ser disminuida por bloqueantes (BCa) como **verapamilo y diltiazem**, que producirán bradicardia. También pueden disminuirla los **abridores de canales de K^+** .

Cuando la célula alcanza espontáneamente el **potencial umbral** (entre - 40 y -30 mV) se activa la mayor proporción de canales L, y aumenta bruscamente la pendiente del PA en lo que se denomina **fase 0 de despolarización**. Esta lleva el Em hasta los + 10 o +15 mV, voltaje en el cual se inactivan totalmente los canales L. Además a ese voltaje se activa la corriente rectificadora de K (I_{K}) (en el rango de -50 a +20 mV) comenzando la fase 3 de repolarización.

Adrenalina y acetilcolina regulan en forma importante y opuesta al PA marcapaso. La **corriente I_f** es sensible a adrenalina (ya que se activa por unión directa de AMPc) y a acetilcolina (puesto que la G_i inhibe a la I_f). La **corriente de Ca^{2+} tipo L** es estimulada por la vía adrenérgica mediante fosforilación por PKA. La **corriente I_{K}** es sensible a acetilcolina ($\text{I}_{\text{K,Ach}}$) porque se activa por el acoplamiento del receptor muscarínico M2 con la subunidad $\text{G}_i\beta\gamma$ de la proteína G_i .

La frecuencia cardíaca está determinada por la frecuencia de disparo de las células del nódulo S.A., que depende de cambios en la pendiente de la fase 4 y de las magnitudes de los potenciales diastólicos máximo (PDM) y umbral (PU). El organismo controla dicha frecuencia marcapaso por estimulación adrenérgica y colinérgica (nervio vago). La **adrenalina aumenta la pendiente de la fase 4** (mayor velocidad de despolarización diastólica espontánea) **y la velocidad de conducción SA y AV**. El mecanismo es el incremento de las corrientes despolarizantes **L** e **I_f** y de la corriente repolarizante I_{K} , con lo que se aumenta el PDM y se acorta el tiempo para alcanzar el PU. El mecanismo se inicia con la unión de la catecolamina al **receptor β** lo cual en el borde intracelular activa a una proteína Gs. La Gs estimula a la adenilatociclasa (AC) que cataliza la producción de AMPc. El AMPc estimula directamente a la **I_f** y activa a la PKA, la cual fosforila al canal de Ca tipo L. Recordemos que la activación del canal L es disparada por

la despolarización de fase 0, pero la fosforilación de la PKA aumenta el influjo de Ca, originando taquicardia e inotropismo positivo. Además, adrenalina acorta la duración del PA, por aumento de las corrientes repolarizantes I_K y I_{K1} . Por esto se preserva la diástole, dado que se alcanza un potencial diastólico máximo (PDM) más negativo. El resultado total del mayor PDM y aumentada $I_{Ca,L}$ es un **aumento en la pendiente de la fase 4 de despolarización diastólica lenta**, y una mayor frecuencia de las células marcapaso (**taquicardia**).

La **acetilcolina (ACh)** liberada desde el nervio vago disminuye la frecuencia de las células marcapaso del nódulo SA y AV, y reduce la velocidad de conducción del sistema de conducción, pudiendo llegar al paro cardíaco. Actúa en sus **receptores muscarínicos M2** acoplados a una proteína G_i . La ACh disocia a la proteína G_i liberando las subunidades G_α que inhibe a la adenilatociclasa (AC) y $G\beta\gamma$ que **activa directamente a canales de K^+ de tipo K_{ACh}** . Estos canales permiten el eflujo de K^+ que **hiperpolariza** a los nódulos SA y AV, lentifica la conducción AV y acorta el PA auricular (que es mucho más corto que el ventricular). Esta corriente disminuye la velocidad de la despolarización diastólica lenta (**reduce la pendiente de la fase 4**). La ACh puede causar también un desplazamiento de la función marcapaso dominante desde las células más rápidas, ubicadas en el centro del nodo sinusal, hacia otras células periféricas de menor frecuencia. Además, la estimulación del receptor M_2 por K_{ACh} ejerce efectos **indirectos** vía proteína G_{ai} : inhibe a la adenilatociclasa (AC) por lo que disminuyen los niveles de AMPc (oponiéndose a la estimulación simpática y reduciendo la $I_{Ca,L}$) **y estimula a la óxido nítrico sintasa (NOS)**. Aumenta la producción de GMPc, el cual activa a una fosfodiesterasa (PDE) que reduce aún más el nivel de AMPc. Los bajos niveles de AMPc resultantes **reducen las corrientes $I_{Ca,L}$ e I_f** contribuyendo a la reducción de la frecuencia cardíaca y de la velocidad de conducción (**bradicardia**) (Schulz y Triggle, 1994).

En las células contráctiles ventriculares hay escaso número de receptores M2 para ACh, por lo que la ACh no ejerce efectos importantes sobre el PA ventricular.

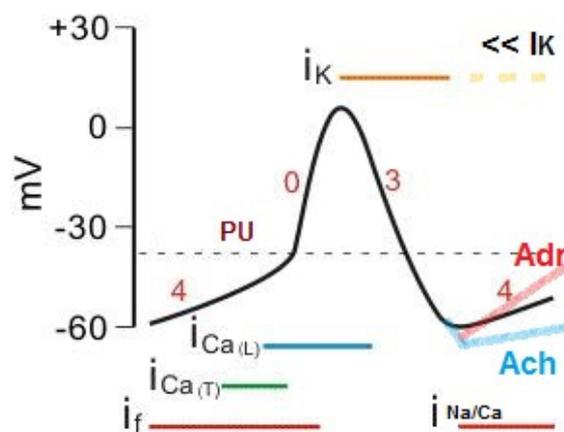


Figura 2: Esquema de un potencial de acción marcapaso (de nódulos SA y AV) en el que se marcan los períodos en que se activan o desactivan (<<) las corrientes responsables de la despolarización diastólica lenta (fase 4). Se indican también los cambios en la pendiente de la fase 4, producidos por los neurotransmisores autonómicos acetilcolina (ACh) y adrenalina (Adr). Leer los mecanismos correspondientes en el texto.

c) Efectos de fármacos sobre los parámetros electrofisiológicos cardíacos

Los parámetros que permiten evaluar alteraciones fisiopatológicas y efectos de fármacos, son los siguientes:

* **Amplitud del PA:** diferencia de voltaje total que ocurre durante la fase cero. Generalmente no es afectada significativamente por fármacos.

* **Velocidad de despolarización máxima ($V_{m\acute{a}x}$):** depende de la pendiente de la fase cero. El valor de la $V_{m\acute{a}x}$ permite clasificar a los tejidos miocárdicos en:

- **tejidos de respuesta rápida,** cuya fase cero depende de la I_{Na} , y dura menos de 5 ms. Es típico de las fibras contráctiles miocárdicas y las fibras de Purkinje. La $V_{m\acute{a}x}$ de estos tejidos se reduce con los *bloqueantes de canales de Na^+ (BNa)*

- **tejidos de respuesta lenta,** cuya fase cero depende de la I_{Ca} , y dura alrededor de 50-100 ms. Es típico de las células de los nódulos SA y AV. La $V_{m\acute{a}x}$ se reduce con los *bloqueantes de canales de Ca^{2+} cardioselectivos (BCa CS)*.

* **Duración del PA (DPA):** el periodo de tiempo transcurrido desde el comienzo de la fase 0 hasta el final de la fase 3. En tejidos de respuesta rápida, el aumento de la frecuencia de estimulación por **catecolaminas** abrevia la duración y la refractariedad en ciertos límites.

* **Frecuencia cardíaca (automaticidad):** depende de la frecuencia del nódulo SA y está determinada por la pendiente de la fase 4 de células marcapaso. Es reducida por los fármacos *bloqueantes beta-adrenérgicos (BB)* y por los *BCa CS*.

* **Período refractario absoluto (PRA):** período durante el cual la célula no puede responder a otro estímulo, aunque sea de máxima intensidad. Abarca desde el comienzo de la despolarización hasta alrededor del 50 % de la repolarización.

* **Período refractario relativo (PRR):** es el mínimo período durante el cual puede obtenerse una respuesta al segundo estímulo, pero el estímulo debe ser supranormal y el segundo PA tendrá una $V_{m\acute{a}x}$ inferior a la normal. El PRR abarca generalmente hasta el final de la repolarización.

* **Período refractario efectivo (PRE):** es el mínimo período durante el cual puede obtenerse un segundo PA, pero éste es débil y no propagado. Es una respuesta local, no propagada, con bajas velocidades $V_{m\acute{a}x}$ y de conducción. Se generan así los PA característicos de la arritmogénesis, en los que aparecen post-despolarizaciones tempranas o tardías, que tienen menor velocidad de conducción en los tejidos de respuesta rápida. En cambio, en los tejidos de respuesta lenta como son los nódulos SA y AV el periodo refractario se extiende durante toda la diástole evitando posibles extrasístoles. Las *drogas antiarrítmicas con propiedades BNa* siempre aumentan el PRE en relación a la duración (DPA) del potencial de acción (aumentan el cociente PRE/DPA). Eso se debe a que tienen afinidad por el estado inactivado del canal de Na^+ , elevando el potencial (ΔE_m) necesario para que los canales vuelvan al estado de reposo. Consecuentemente, el PR se extiende hasta el E_m correspondiente al reposo diastólico, es decir se prolonga desde alrededor del 50% al 95-100% de la fase 3 (*para ampliar ver capítulo de Drogas Antiarrítmicas en Goodman y Gilman, 2014*).

* **Velocidad de conducción:** velocidad a la cual se propaga el estímulo o PA entre dos regiones del corazón. Depende de la velocidad de la fase cero. Cuando una fibra de respuesta rápida se despolariza por activación de la I_{Na} la variación de potencial de membrana local resulta menos negativo que en las porciones vecinas de la célula, produciéndose una fuerza conductora para la corriente longitudinal en el mioplasma a través de uniones "gap" entre células. Esta corriente longitudinal es principalmente transportada por K^+ y desplaza cargas negativas del interior de la membrana despolarizando las zonas adyacentes hasta alcanzar el potencial umbral para la apertura de canales de Na^+ . Normalmente los impulsos generados en el nódulo SA excitan secuencialmente a la aurícula, el nódulo AV, el haz de His, las fibras terminales de Purkinje y el tejido ventricular.

Las fibras miocárdicas contráctiles y de His-Purkinje tienen alta o rápida velocidad de conducción, la cual es *sensible a los BNa*. Las células de los nódulos SA y AV tienen lenta velocidad de conducción, la cual es *sensible a los BB y BCa*.

Contractilidad miocárdica y efectos de fármacos

El corazón tiene dos mecanismos básicos para regular su contracción "todo o nada", que son: la variación de la fuerza contráctil dependiendo de la sensibilidad de miofilamentos al Ca^{2+} (determinada fisiológicamente por la longitud inicial de la fibra, según lo expresa la ley de Frank Starling, o aumentada por la vía adrenérgica), y la variación de la cantidad de Ca^{2+} que alcanza los miofilamentos (sensible a fármacos que aumentan o disminuyen su concentración citosólica).

Recordemos cuál es el mecanismo básico de la contracción miocárdica para identificar sitios y mecanismos de acción de fármacos que la alteran:

Es bien sabido que el miocardio depende del Ca^{2+} extracelular para poder contraerse. Ahora bien, en el miocardio se desarrolla un sistema de amplificación de la señal de Ca^{2+} extracelular: la **liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+}** (ver una revisión extensa en Langer 1997). La Figura 4 muestra los sistemas participantes en la homeostasis de calcio y en el gasto energético que permite realizar transportes activos, acoplamiento actomiosínico y recuperación metabólica del ATP y fosfocreatina (PCr). Analicemos en orden secuencial la participación de cada una de las fuentes y destinos del Ca^{2+} durante el ciclo de contracción-relajación miocárdico, pero tengamos en cuenta que algunas de ellas ocurren simultáneamente porque dependen de transportadores con afinidad similar por el Ca^{2+} .

1- Cuando el miocardio está en **reposo** (diástole) todos los compartimentos intracelulares están en equilibrio con una concentración de Ca^{2+} citosólica ($[Ca^{2+}]_i$) de 0.1 μM , mientras la lámina externa del sarcolema (SL) está en equilibrio con una $[Ca^{2+}]_o$ (extracelular) de 1-2 mM (en plasma es 1.8 mM). Sin embargo, no ocurren apreciables movimientos netos de Ca^{2+} debido a la baja permeabilidad de la membrana plasmática al Ca^{2+} . El Ca^{2+} extracelular se enlaza al SL en su lámina externa formada por moléculas cargadas negativamente como son los fosfolípidos y recubiertas por

la porción oligosacárida de glicoproteínas, especialmente el ácido siálico que constituyen la capa externa conocida como **glicocáliz**. Esta capa superficial controla la permeabilidad celular al Ca^{2+} durante el reposo, permitiendo su distribución hacia sitios enlazantes intracelulares de alta afinidad que servirán de reserva para la contracción. El glicocáliz también proporciona Ca^{2+} para las dos rutas de influjo durante la **activación de la contracción**.

2- Durante la fase 2 del PA el Ca^{2+} ingresa a la célula a través de los **canales de Ca^{2+} tipo L**. La cantidad que ingresa depende de la $[\text{Ca}^{2+}]_o$ (en el rango de hasta 2 mM, ya que a esta concentración se saturan los canales de Ca^{2+}) y del grado de fosforilación de los canales por catecolaminas (mediada por PKA dependiente de AMPc). Este influjo es insuficiente para desarrollar por sí mismo la contracción, pero dispara la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (RS). Es discutida la participación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ sarcolemal (NCX) en modo de influjo de Ca^{2+} durante el PA, ya que se considera que éste provee un aporte nulo o escaso en condiciones fisiológicas porque el E_m está mayormente más negativo que el potencial de reversa del NCX ($E_r = 3 E_{\text{Na}} - 2 E_{\text{Ca}}$). Su contribución al influjo de Ca^{2+} podría suceder sólo durante la fase 1 de potenciales positivos, y ello es muy breve.

3- El Ca^{2+} ingresado por canales L se concentra en una zona de la célula denominada "cleft" ubicada en la díada entre el túbulo T y el retículo sarcoplásmico (RS). Inmediatamente, se genera el proceso de **liberación de Ca^{2+} del RS** inducida por Ca^{2+} hacia el "cleft" de la díada. El inductor es el Ca^{2+} ingresado por los canales de Ca tipo L sensibles a dihidropiridinas (**DHP**) y activable durante la fase 2 del PA. El Ca^{2+} es liberado del RS a través de los **canales sensibles a Rianodina de tipo 2 (RyR2)** (denominados así porque la toxina rianodina los bloquea irreversiblemente). **Los canales RyR2 son sensibles al Ca^{2+} y también a la fosforilación por PKA (dependiente del efecto de catecolaminas) y por la CaMKII (quinasa dependiente de calmodulina y Ca^{2+} subtipo II)** en sitios diferentes. La PKA fosforila los residuos Ser2808 y Ser2030, mientras la CaMKII fosforila residuos Ser2808 y Ser2814, ambas acciones de quinasas estimulan a los canales RyR2. No hay contacto físico entre los receptores de DHP (DHPR) y RyR2, como en el caso del músculo esquelético. El único contacto es a través del pulso de Ca^{2+} ingresado por canales L. Cuanto mayor es el influjo de Ca^{2+} mayor es la cantidad liberada desde el RS y, por lo tanto, mayor es la contracción, hasta alcanzar el límite de saturación de la $I_{\text{Ca,L}}$ que está entre 1 y 2 mM. Esta amplificación es producida por el reclutamiento de más canales RyR2 en respuesta a un aumento en el número de canales DHPR activados por voltaje. Un canal de Ca^{2+} tipo L (o DHPR) regula a 4 canales RyR2, que pueden reclutarse parcial o totalmente. En resumen, un pequeño influjo de Ca^{2+} a través de los canales L (o DHPR) se amplifica para dar un mayor flujo de Ca^{2+} liberado al citosol a través de los RyR2 (alta ganancia para activar la contracción). Microscópicamente se han identificado pequeños cuantos de Ca^{2+} liberados desde el RyR2 aún en el reposo diastólico, que se denominan "*sparks*" (chispas) en la zona rodeada por los DHPR y los RyR2. Cuando se activa la $I_{\text{Ca,L}}$ en fase 2, muchos *sparks* se sincronizan para formar ondas de Ca^{2+} ("*waves*") que recorren longitudinalmente al cardiomiocito, y pueden desincronizarse en alguna situación predisponente (Mattiuzzi y col., 2015). El

Ca^{2+} liberado sincrónicamente se suma temporal y espacialmente para dar un “transitorio de Ca^{2+} ” (“*transient*”). Finalmente, la magnitud del transitorio depende de la liberación de Ca^{2+} del RS, y éste a su vez depende de la $[\text{Ca}^{2+}]$ libre en la cisterna del RS, de la cantidad de Ca^{2+} inductor ingresado por los canales L y de la velocidad a la cual éste llegue al “cleft” y forme “waves”. Como describiremos más adelante, las intervenciones que aumentan la $I_{\text{Ca,L}}$ (como **adrenalina**) o reducen el eflujo de Ca^{2+} (como los **cardiotónicos digitálicos**) aumentarán al transitorio de Ca^{2+} y a la contractilidad (inotropismo positivo). La fosforilación por CaMKII del residuo Ser2814 parece ser responsable de la pérdida o fuga (“*leak*”) de Ca^{2+} diastólica que conduce a arritmogénesis, y el antiarrítmico flecainida parece reducir esta pérdida o fuga.

4- El Ca^{2+} difunde en forma de “waves” hacia los **miofilamentos** para enlazarse a la troponina C (TnC) y activar la contracción. Recordemos brevemente que la regulación de la actividad actomiosínica en el miocardio depende de actina, al igual que en el músculo esquelético. Cuando la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ o citosólica se eleva a 10 μM , este se enlaza al sitio afín de la molécula de troponina C (TnC). El complejo troponina (T, I y C) con tropomiosina sufre un cambio conformacional por el que Tn-I libera el sitio activo de la molécula de actina que generaba inhibición pre-existente del acoplamiento actomiosínico. Así, puede formarse el puente actinmiosínico y activarse la ATPasa de la miosina. La hidrólisis del ATP es un proceso exotérmico que genera la energía libre necesaria para producir el deslizamiento de los miofilamentos actomiosínicos, es decir, la contracción. La velocidad de la actividad ATPásica de la miosina puede ser incrementada por la fosforilación de la cadena liviana de miosina, evento que producen las proteína-quinasas dependientes del complejo Ca-calmodulina (CaMKII).

5- Simultáneamente, parte del Ca^{2+} del “cleft” (un 10%) es removido de la célula por moléculas del **intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX)** que están concentradas en la vecindad del “cleft” o diada en el SL. Esta salida es igual a la cantidad ingresada por canales L, de manera de compensar y mantener el nivel de Ca^{2+} citosólico estacionario. El NCX es un sistema de transporte activo secundario que intercambia 1 Ca^{2+} por 3 Na^+ y está conducido por el gradiente de Na^+ generado por la Na^+, K^+ -ATPasa y por el gradiente de Ca^{2+} . Es electrogénico y podría funcionar en una u otra dirección (entrando o sacando Ca^{2+}) según el gradiente electroquímico dado por los gradientes de concentración de ambos iones Na^+ y Ca^{2+} a través de la membrana. Sin embargo, en corazón generalmente trabaja en modo de eflujo de Ca^{2+} (modo “forward”) porque su “potencial de reversión” suele ser menor que el E_m . Por su ubicación en la diada en cercanías del RyR2 y por su alta capacidad de transporte cumple una función importante en remover Ca^{2+} cuando se produce la liberación de Ca^{2+} del RS. También funciona como eflujo de Ca^{2+} durante el reposo y en fase 3 (Bers, 2001). Está en discusión si en algunas especies participa aportando algo de Ca^{2+} para la contracción durante el período de despolarización de la célula, especialmente el breve tiempo de la fase 1. Sin embargo, podría disminuirse el eflujo de Ca^{2+} (o eventualmente favorecerse el “modo reverso” de influjo de Ca^{2+}) en una condición de acumulación de Na^+ intracelular (por ejemplo, por el bloqueo de la Na^+, K^+ -ATPasa producido por digitálicos, ver *luego*).

6- También simultáneamente, al elevarse el nivel de Ca^{2+} intracelular por el proceso de liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} , ocurre la **recaptación de Ca^{2+} por la Ca^{2+} -ATPasa del RS longitudinal** (isoenzima SERCA2a, que es un transporte activo primario con una estequiometría de 2 Ca^{2+} : 1 ATP). La afinidad de este sistema por el Ca^{2+} ($0.1 \mu\text{M Ca}^{2+}$) es similar a la de la TnC, por lo cual compiten por el Ca^{2+} cuando aumenta la $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Por lo tanto, el transitorio de Ca^{2+} es breve y desciende aun antes de que se alcance la máxima contracción (Figura 5). El RS recapta una cantidad de Ca^{2+} similar a la liberada previamente del RS más una pequeña cantidad liberada por las mitocondrias. El Ca^{2+} retomado al RS **difunde desde el RS longitudinal a la diada (RS "junctional")** y se enlaza a la proteína calsequestrina contenida en el RS, lo cual favorece la acumulación. Así, el Ca^{2+} queda listo para ser liberado por una nueva activación de los canales RyR2. El descenso de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ induce la disociación del Ca^{2+} de la TnC y, en presencia de nuevo ATP que reemplaza al GDP de la cabeza de miosina, ocurre la relajación por ruptura de los puentes actomiosínicos.

La velocidad máxima de la SERCA2 está regulada fisiológicamente por fosforilación de una proteína llamada fosfolamban (PLB) que también está inserta en la membrana del RS, asociada a la Ca-ATPasa a la cual le produce cierto grado de inhibición tónica cuando está desfosforilada. La PLB puede fosforilarse en dos sitios, con lo que reduce la inhibición de la SERCA2. Un sitio treonina-17 (Thr17) de la fosfolamban está fosforilado constitutivamente por la proteína-quinasa dependiente del complejo Ca calmodulina (CaMKII), por lo que el mismo Ca^{2+} activador de la contracción estimula la recaptación por la SERCA. El otro sitio serina-16 (Ser16) puede fosforilarse por una PKA activable por la cascada del receptor beta-adrenérgico.

7- En los últimos años se ha descrito una interacción funcional entre el RS y las **mitocondrias**, en el que **el RS contribuye a regular las oscilaciones de la $[\text{Ca}^{2+}]_m$** . Una pequeña fracción del Ca^{2+} liberado del RS difunde hacia las mitocondrias debido a la estrecha cercanía entre ambos tipos de organelas y a la existencia de puntos de contactos. Las mitocondrias poseen un canal denominado uniporter de Ca (UCam) que permite la captación del ión conducido por el gradiente electroquímico mitocondrial ($\Delta\Psi_m$). La $[\text{Ca}^{2+}]_m$ libre en la matriz puede regular y activar las vías metabólicas (deshidrogenasas sensibles a Ca^{2+}) que conducen a una mayor producción energética (ATP y PCr). Se ha encontrado que las mitocondrias responden con oscilaciones de la $[\text{Ca}^{2+}]_m$ libre a los transitorios de Ca^{2+} citosólicos (Gunter y col., 2000; Griffiths y col., 2009). Este mecanismo permite al metabolismo mitocondrial responder a un aumento en la demanda del miocardio (por ejemplo la asociada a la liberación de catecolaminas que incrementan los transitorios de Ca^{2+}). La $[\text{Ca}^{2+}]_m$ es regulada principalmente por un mecanismo de extrusión de Ca^{2+} en intercambio por 3 Na^+ , el NCXm que es conducido por los gradientes electroquímicos de ambos iones (Maack y col. 2006). Su funcionamiento puede alterarse con el aumento de la $[\text{Na}^+]_i$ por ejemplo por **cardiotónicos** (Liu y col., 2010; Ragone y col., 2015). Esta regulación mutua de los niveles de Ca^{2+} entre RS y mitocondrias sugiere que se puede establecer un ciclaje desde el RyR2 al UCam, y desde el mNCX a la SERCA2a. Dicha regulación puede alterarse en deficiencias de oxígeno como el "atontamiento

miocárdico” por isquemia y reperfusión (Ragone y Consolini, 2009; Ragone y col., 2013), los estados más severos de sobrecarga de Ca^{2+} por hipoxia-reoxigenación (Paillard y col., 2013) o los que conducen a arritmogénesis (Takeuchi y col., 2013).

8- Durante la **diástole o reposo** entre latidos se mantiene una $[\text{Ca}^{2+}]_i$ de alrededor de 100 nM mantenida por el funcionamiento de los transportes activos de la Ca-ATPasa sarcolemal (que tiene una alta afinidad de 0.5 μM y baja velocidad de captación) y en parte por la SERCA, y por el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que puede actuar a altas y bajas $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

Homeostasis del Ca^{2+} en el ciclo contracción-relajación

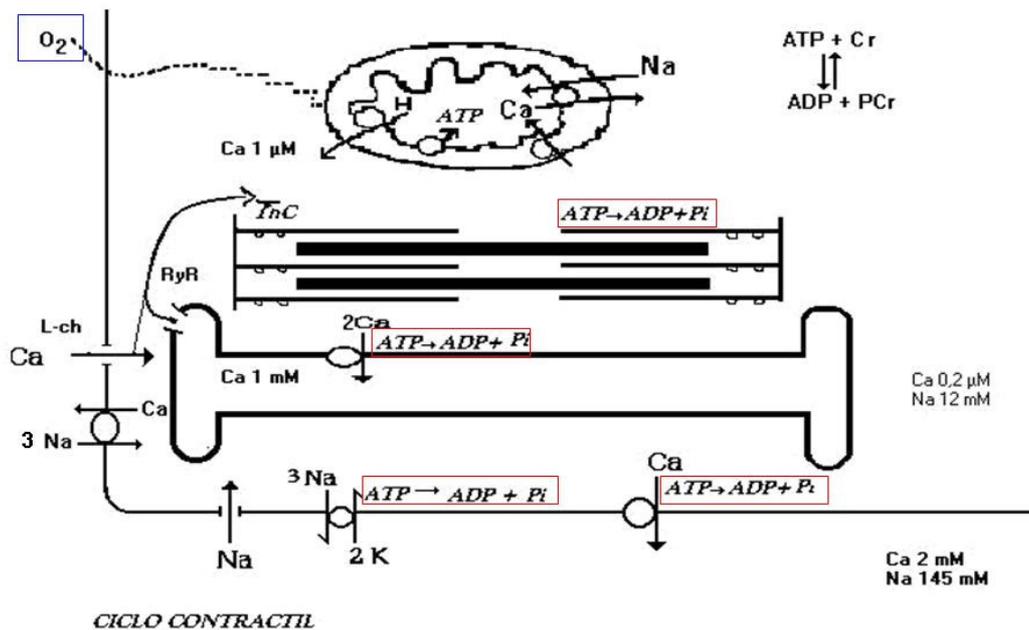


Figura 3: Esquema de los mecanismos que regulan la homeostasis de calcio y consumen energía química bajo la forma de hidrólisis de ATP. Los mecanismos se disparan por la fase 1 del potencial de acción y producen el acoplamiento excitación-contracción-relajación.

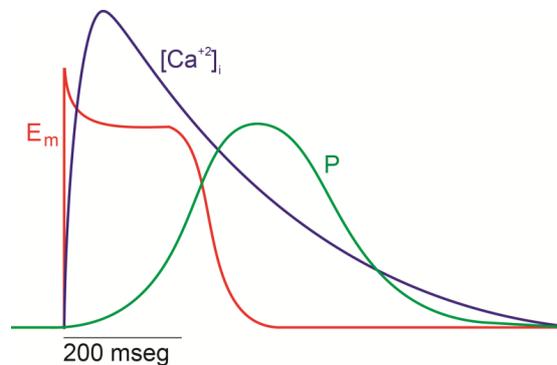


Figura 4: Esquema que representa la secuencia temporal de ocurrencia del potencial de acción (PA) de una fibra miocárdica, del transitorio de calcio ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) y la contractilidad medida como presión intraventricular desarrollada (P). Observar la duración del PA y proporcionalmente la duración de la contracción.

Acción de las catecolaminas sobre la contractilidad cardíaca

Extrínsecamente, la principal modulación de la contractilidad cardíaca es la debida a la acción de las catecolaminas circulantes (**adrenalina**) y de nervios simpáticos (**noradrenalina, NA**). Estos agonistas interactúan fundamentalmente con el receptor $\beta 1$ de la membrana sarcolemal (Figura 5). El mecanismo de este receptor es la activación de una proteína Gs que, mediante la hidrólisis del GTP se disocia en 2 subunidades, de las cuales la $G_{i\alpha}$ activa a la **adenilato-ciclase (AC)**. Esta enzima cataliza la formación de AMPc a partir de ATP en la membrana sarcolemal. El AMPc formado es degradado a 5'-AMP por la fosfodiesterasa (PDE), pero antes activa a una **proteínaquinasa A (PKA)**. Ésta es capaz de fosforilar tanto proteínas contráctiles (Tn-I) como de membrana (canales de Ca^{2+} y fosfolamban). En ausencia de estímulo de PKA ocurre la desfosforilación de esas proteínas por fosfatasa. La fosforilación de la subunidad α de los canales de Ca L por PKA se suma a la producida por PKC y CaMKII (dependientes de Ca^{2+}) aumenta el número de canales que se activa en cada potencial de acción (mayor probabilidad de apertura), por lo que incrementa el influjo de Ca^{2+} hasta 3 veces el basal y por lo tanto, ejerce una **acción inotrópica positiva**.

Simultáneamente, la **fosforilación de la proteína fosfolamban por PKA** en un sitio distinto al de fosforilación de las CaMKII aumenta aún más la recaptación de Ca^{2+} por la SERCA2 (ambas aumentan la afinidad por el Ca^{2+}), por lo que se **incrementa la velocidad de relajación**. A esta acción también contribuyen la fosforilación de la Ca-ATPasa de sarcolema, que aumenta el eflujo de Ca^{2+} , y la **fosforilación de la Tn-I**, que disminuye la afinidad de Tn-C por el Ca^{2+} . El resultado es un aumento del inotropismo (aumenta la máxima presión intraventricular desarrollada, P) con aceleración de las máximas velocidades relativas de contracción (+dP/dt/P) y de relajación (-dP/dt/P) y un acortamiento del tiempo total de la contracción (ver detalles del registro en la Figura 6).

Si bien en condiciones fisiológicas las acciones de las catecolaminas están principalmente mediadas por el receptor $\beta 1$, el corazón posee una baja cantidad de **receptores $\alpha 1$** . La estimulación del receptor $\alpha 1$ activa a la fosfolipasa C (PLC), proteína de la membrana plasmática que hidroliza al fosfolípido componente de la membrana fosfatidilinositol-4,5-difosfato (PIP2). Así se producen **1,4,5-inositoltrifosfato (IP3)** y **diacilglicerol (DAG)**. El IP3 es soluble y aumenta la liberación de Ca^{2+} del RS. El DAG activa a la proteína-quinasa C (PKC), que a su vez fosforila el canal de Ca^{2+} aumentando el influjo de Ca^{2+} . Ambos mecanismos conducen a efectos inotrópicos positivos sin efectos sobre la relajación. Sin embargo, es importante tener en cuenta que en base a la abundancia de receptores **los efectos de las catecolaminas en corazón son predominantemente de tipo $\beta 1$** .

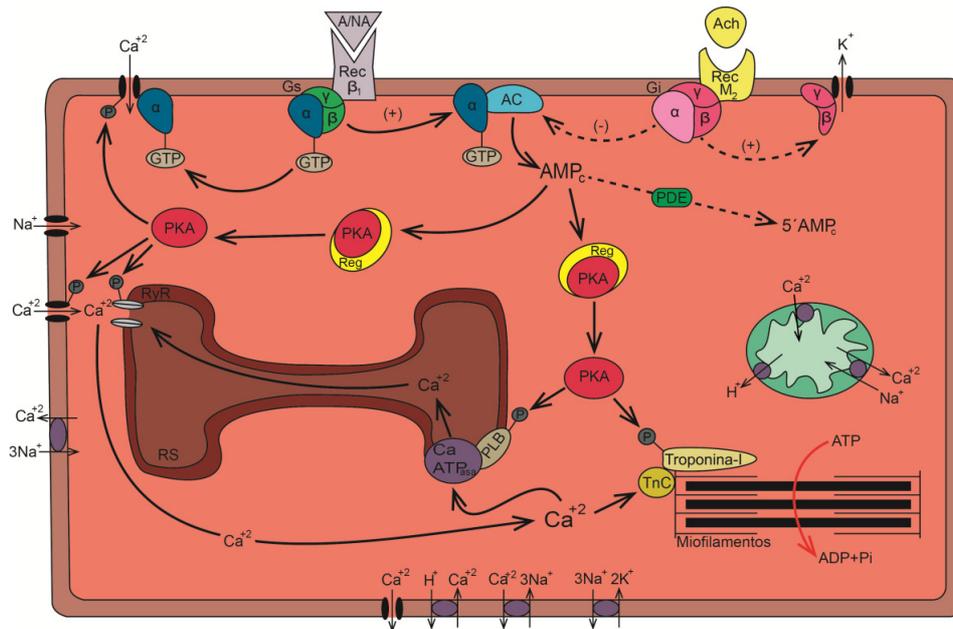


Figura 5: Esquema de una célula miocárdica donde se muestran los mecanismos participantes en la regulación ejercida por los neurotransmisores autonómicos acetilcolina (ACh) en receptor M_2 y de adrenalina (Adr) o noradrenalina (NA) en receptor β_1 -adrenérgico. La fosfodiesterasa (PDE) también es un blanco que puede inhibirse por fármacos. Leer los mecanismos correspondientes en el texto.

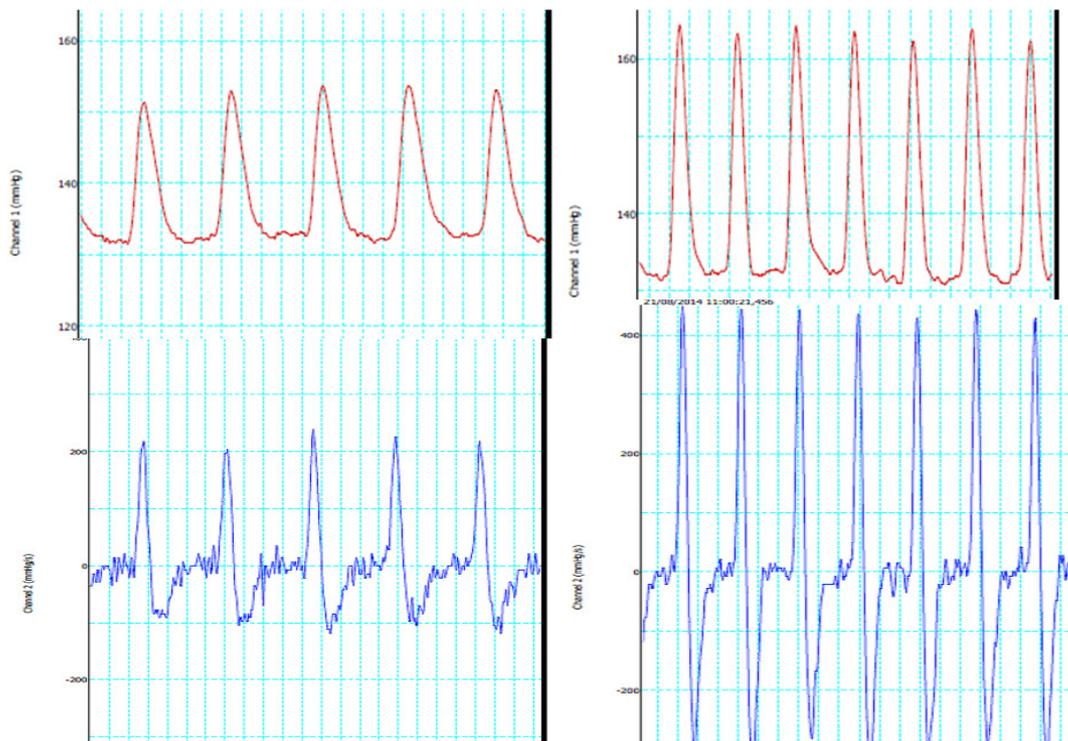


Figura 6: Registro experimental de la presión intraventricular (arriba) y la primera derivada de dicho registro (abajo) correspondientes a un corazón de rata aislado y perfundido por vía arterial. A la izquierda se muestran los registros correspondientes a una condición control (solución Krebs), y a la derecha se observan los registros del mismo corazón perfundido con solución Krebs conteniendo Adrenalina. Observar que Adrenalina aumenta la presión máxima desarrollada en la contracción (P) y las dP/dt máximas positivas (velocidad de contracción) y negativas (de relajación).

Efectos de los cardiotónicos digitálicos en el corazón insuficiente

Los glucósidos digitálicos, de los cuales la digoxina es la única formulada en especialidad farmacéutica en la actualidad, son útiles para mejorar la contractilidad en un miocardio insuficiente. La alteración de un miocardio insuficiente es que la contractilidad se reduce por diversos factores (hipertensión arterial crónica no controlada, endocarditis, u otra alteración). Esto origina un cuadro complejo de compensaciones en el organismo que concluye con un corazón dilatado con alto volumen residual, bajo volumen sistólico y altas presiones transmuralas, con aumentos de la precarga y postcarga, y riesgos de edema periférico y/o pulmonar (Opie y Gersh, 2005). A nivel celular, el **miocardio insuficiente** tiene varias alteraciones que reducen al transitorio de Ca^{2+} y al inotropismo, como aumentada expresión del NCX, y reducida expresión de la SERCA2a y la PLB (Hasenfuss y Pieske, 2002). Hay una pérdida o "leak" de Ca^{2+} del RS durante la diástole provocada por fosforilación del RyR2, que contribuye al aumento de la presión de fin de diástole pero reduce la carga del RS para el transitorio de Ca^{2+} por lo cual lo reduce (para ampliar, ver Mattiazzi y col., 2010).

No existen dudas de que los glucósidos cardiotónicos inhiben a la Na^+, K^+ -ATPasa sarcolemal. Se ha encontrado que su efecto inotrópico positivo es consecuencia de esa inhibición que altera el funcionamiento del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ sarcolemal. El mecanismo es el siguiente: los glucósidos cardiotónicos se enlazan a un sitio receptor en la molécula de la Na^+, K^+ -ATPasa e inhiben su funcionamiento selectivamente durante el reposo diastólico. Por lo tanto, la $[\text{Na}^+]_i$ aumenta, con lo cual se disminuye el gradiente de Na^+ que promovía el funcionamiento "forward" de influjo de Na^+ /eflujo de Ca^{2+} y consecuentemente la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ se eleva en el "cleft" o dónada (Figura 7). El Ca^{2+} en exceso se acumula en el RS, evitando así la contractura diastólica. Cuando llega a la célula un PA se liberará mayor cantidad de Ca^{2+} del RS, y por ende se producirá un efecto inotrópico. En síntesis, el inotropismo positivo es disparado por una disminución del eflujo de Ca^{2+} por el NCX. Mediante el uso de un inhibidor selectivo del intercambiador en modo reversa (influjo de Ca^{2+} /eflujo de Na^+) como el KBR7943 se encontró que esta forma no participa en la generación del inotropismo positivo al menos en la rata. Por lo tanto, la sobrecarga de Na^+ no alcanzaría para invertir un significativo número de moléculas del NCX que promuevan el influjo neto de Ca^{2+} . Sin embargo, habría una pequeña fracción de ellos que se invierte y generan corrientes causantes de arritmias como efecto tóxico de los digitálicos a alta dosis. Más recientemente se demostró que los digitálicos ouabaína y digoxina activan a la CaMKII (p-CaMKII) que a su vez fosforila a PLB (en Thr17) y al RyR2 (en Ser2814). Esta vía origina la actividad arritmogénica disparada por altas dosis de cardiotónicos, puesto que pudo ser reducida por el inhibidor selectivo de la CaMKII llamado KN93 y exacerbada por sobreexpresión de la CaMKII. El cardiotónico aumentó el contenido de Ca^{2+} del RS y la frecuencia de "sparks" de Ca^{2+} siendo éstos últimos dependientes de la CaMKII del RS. Este aumentado "leak" de Ca^{2+} del RS genera las típicas postdespolarizaciones tardías de los cardiotónicos, disparadoras de arritmias (Gonano y col., 2011).

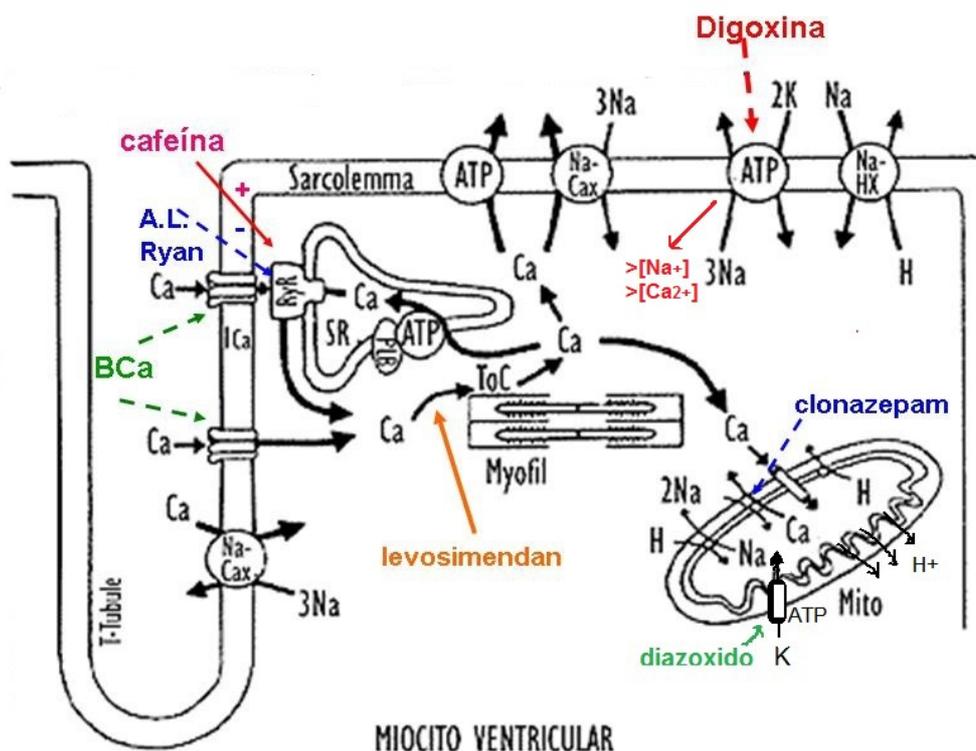


Figura 7: Esquema de una célula miocárdica donde se muestran los mecanismos de drogas que inhiben a la Na,K-ATPasa (cardiotónicos), inhiben al RyR2 (anestésicos locales, AL) o lo estimulan (cafeína 10 mM), que inhiben al mNCC (clonazepam), que estimulan al mKATP (diazóxido) o que aumentan la afinidad de TnC por Ca (levosimendan). Ver los mecanismos y efectos correspondientes en el texto.

Bloqueantes de los canales de Ca^{2+} tipo L

Estas drogas (verapamil, diltiazem, dihidropiridinas) bloquean selectivamente los canales L por lo que disminuyen la frecuencia, la velocidad de conducción AV y la contractilidad cardíaca (Figura 7). Se dividen en dos grupos:

a- BCa cardioselectivos: Verapamil y diltiazem, se unen al canal L desde el interior celular, después de atravesar la membrana lipídica, preferentemente se unen al estado inactivado o al activado. Por ello dan un bloqueo dependiente del voltaje, es decir de la frecuencia de estimulación o tiempo de despolarización. Son más selectivos por el músculo cardíaco (dando bradicardia e inotropismo negativo), pero también bloquean al músculo liso (hipotensión).

b- BCa vasculoselectivos: son las dihidropiridinas (nifedipina, nitrendipina, amlodipina, nocardipina, etc.), se unen al canal L desde el exterior "obstruyendo" en forma competitiva el sitio de unión del Ca^{2+} para su influjo. Son más selectivos por el músculo liso que por el cardíaco a las concentraciones plasmáticas alcanzadas en terapéutica. Por ello, generan hipotensión importante, y no producen bradicardia. Al contrario, se puede desencadenar taquicardia refleja en compensación a la hipotensión.

Fármacos que inhiben la función del retículo sarcoplásmico

Los **anestésicos locales (procaína, lidocaína, cartecaína)** pueden alterar la función sarco-reticular a concentraciones altas difícilmente alcanzadas en la terapéutica. Se ha descrito que los AL reducen la actividad del RyR y de la SERCA2, por lo cual contribuyen a producir un inotropismo negativo.

Otro fármaco que puede reducir la actividad del RyR es el dantroleno, que se ha empleado para tratar la espasticidad del músculo esquelético por inhibir al RyR en ese músculo (ver capítulo 1).

Efectos de los inhibidores de la fosfodiesterasa

Las **metilxantinas** (cafeína, teofilina y teobromina) y la **papaverina** aumentan los niveles de AMPc por inhibir a la fosfodiesterasa (PDE), enzima que cataliza la hidrólisis del AMPc (Figura 5). En consecuencia, se producen efectos inotrópicos y cronotrópicos positivos similares a los de las catecolaminas, pero de menor intensidad. Sin embargo, las xantinas tienen otros efectos como bloqueo del receptor de adenosina, que es un neurotransmisor inhibitorio. Este efecto se caracteriza por producir un leve estímulo de las vías simpáticas, lo cual genera crono- e inotropismo positivo, y aumentada sensibilidad de los miofilamentos al Ca^{2+} . Estos efectos pueden observarse a concentraciones bajas, de hasta 1 mM y son típicos de la administración in vivo. Pero particularmente la cafeína a 10 mM estimula la liberación de Ca^{2+} del RS por activar el pasaje del RyR2 a un estado abierto continuo. Por este efecto la cafeína se ha convertido en una herramienta para estimular in vitro la liberación de Ca^{2+} del RS y así estimar su contenido (Bers, 2001). Su aplicación conduce a un efecto inotrópico positivo transitorio inicial, seguido por un prolongado y marcado efecto inotrópico negativo debido a la depleción de las reservas de Ca^{2+} del RS. Esta activación del RyR2 por cafeína también conduce a un ciclaje de Ca^{2+} entre la SERCA2 y el RyR2 y las mitocondrias, que lentifica la relajación y aumenta el gasto energético cardíaco (Bonazzola y Ponce-Hornos, 1987).

Otros inhibidores de la PDE son empleados por vía intravenosa para mejorar la contractilidad cardíaca en situaciones agudas de insuficiencia grave. Se trata de **amrinona** y **milrinona**. Por otra parte, otro inhibidor de la PDE es el **sildenafil**, que se emplea como vasodilatador para la disfunción eréctil y para algunas formas de hipertensión arterial pulmonar, (ver más adelante su rol en la hipertrofia cardíaca). Pero a nivel cardíaco, todos estos inhibidores de la PDE desencadenan taquicardia importante, por la estimulación de la PKA que fosforila y activa canales de Ca^{2+} , lo cual se convierte en un efecto adverso a tener en cuenta y en una posible contraindicación para pacientes arrítmicos.

Efectos del levosimendan

El levosimendan es un fármaco de uso parenteral que es capaz de aumentar la afinidad de la troponina C por el Ca^{2+} (Figura 7), de manera que la curva sigmoidea de contractilidad versus pCa ($-\log [\text{Ca}^{2+}]$) se corre hacia la izquierda. El resultado es un inotropismo positivo, ya que a una determinada $[\text{Ca}^{2+}]_0$ se logra mayor contractilidad. Este fármaco se usa como alternativa a las catecolaminas y a amrinona o milrinona en la emergencia de falla cardíaca, dado que su efecto inotrópico no está acompañado de efecto cronotrópico, por lo que aventaja a dichos fármacos clásicos.

Propiedades de las drogas antiarrítmicas

Las drogas antiarrítmicas son un grupo heterogéneo de compuestos clasificados en clases denominadas del I al IV, según el mecanismo principal del fármaco. Esta clasificación fue realizada por Vaughan-Williams, y facilita la comprensión de los mecanismos de acción.

De clase I: bloquean a los canales de Na^+ en estado inactivado

De clase II: bloquean a los receptores β -adrenérgicos

De clase III: prolongan mucho el PA

De clase IV: bloquean a los canales de Ca^{2+} en estado inactivado

Los **antiarrítmicos de clase I** bloquean la conducción de PA rápidos dependientes de las corrientes arritmogénicas de Na^+ anómalas (alta frecuencia o parcialmente despolarizadas), la $V_{m\acute{a}x}$ y la excitabilidad, reduciendo selectivamente las corrientes arritmogénicas. Es posible comprobar que un fármaco es un bloqueante de canales de Na^+ evaluando la curva de excitabilidad miocárdica mínima al representar el voltaje versus la duración del estímulo umbral para desencadenar la contracción. Estos fármacos corren la curva hacia arriba y derecha, es decir generan el requerimiento de un mayor voltaje o mayor duración del estímulo para alcanzar el umbral de excitación y generar la contracción, debido a que bloquean la I_{Na} para desencadenar la fase cero, y la $V_{m\acute{a}x}$.

Algunas drogas de clase I actúan sobre la **corriente de K^+** , alterando la duración del PA. Por ello, la clase I se clasifica en:

- **clase Ia:** bloqueantes de canales de Na^+ que inhiben canales de K^+ (reducen la I_{K} repolarizante), y prolongan la duración del PA, como **quinidina y procainamida**, con el riesgo de que pueden resultar arritmogénicos por alargar anormalmente el intervalo QT (ver descripción del PA miocárdico al inicio de este capítulo)
- **clase Ib:** bloqueantes de canales de Na^+ que aumentan la corriente de K^+ , aceleran la fase 3 y acortan el PA, como **lidocaína, fenitoína y mexiletina**.
- **Clase Ic:** bloqueantes de canales de Na^+ que no modifican apreciablemente la corriente de K^+ ni la duración del PA, por ejemplo **propafenona y flecainida**,

A pesar de esas diferencias de las subclases, todos los bloqueantes de canales de Na^+ **alargan más el período refractario efectivo que la duración del PA** (mayor relación PRE/DPA), con lo que todos ejercen un aumento de la refractariedad que reduce la posibilidad de aparición de estímulos anormales (Figura 8). El mecanismo por el que los antiarrítmicos del grupo I (bloqueantes de los canales de Na^+) actúan es la incorporación inespecífica de droga en la bicapa lipídica, lo cual altera la cinética del canal de Na^+ . El grado de bloqueo depende de propiedades fisicoquímicas de estas drogas como pK, lipofilicidad, tamaño molecular, etc.

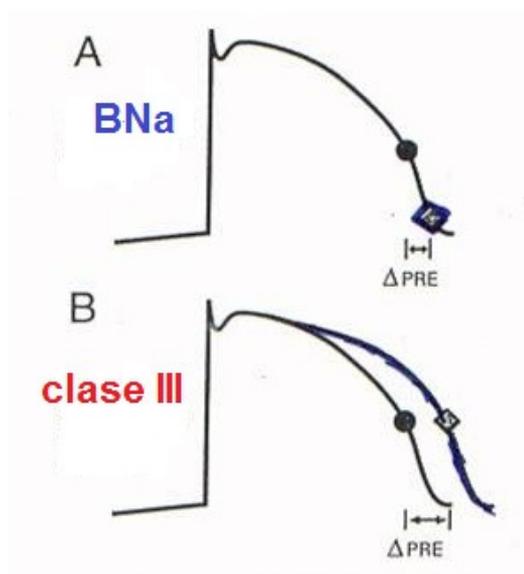


Figura 8: Esquema del potencial de acción (PA) miocárdico mostrando la prolongación del período refractario efectivo (PRE) que se produce por antiarrítmicos que inhiben a la corriente de Na^+ (BNa) típico de los fármacos de clase I (A), y los que prolongan la duración del PA (clase III) generalmente por inhibir a las corrientes de K repolarizantes (B). Considerar que la amiodarona y dronedarona comparten ambos mecanismos, por lo que se suman ambos factores de prolongación del PRE.

Los **antiarrítmicos de clase III** son un grupo heterogéneo de fármacos (**amiodarona, dronedarona, sotalol, bretilo**), que tienen en común la propiedad de prolongar mucho la duración del potencial de acción miocárdico, por mecanismos antes explicados. Esa característica es común a todos, a pesar de que algunos como amiodarona y dronedarona inhiben a las corrientes de Na^+ , Ca^{2+} y K^+ , y otros son también antiadrenérgicos (sotalol y bretilo). El efecto sobre la duración del PA puede evaluarse fácilmente por aplicación de un segundo estímulo (bigemínico) en la medición contráctil, y la respuesta graficada en función del tiempo de demora entre el primer y el segundo estímulo. Un antiarrítmico clase III será capaz de aumentar el mínimo período de tiempo necesario para visualizar la respuesta a los 2 estímulos. Esto es debido a que prolongan la duración del PA y aún más al PRE (Figura 8B).

Como se explicó en la sección del potencial de acción miocárdico, en los tejidos de respuesta lenta (nódulos SA y AV) los **bloqueantes del canal de Ca^{2+} (grupo IV, BCa)** como **verapamil** y **diltiazem** actúan en forma dependiente del voltaje y de la frecuencia de estimulación, por enlazarse y bloquear al estado inactivo del canal L. Por ello, son ideales para re-

ducir la frecuencia marcapaso y la velocidad de conducción AV, prolongando el período refractario. Esto mejora la función de filtro de estímulos ectópicos en el nódulo AV, preservando al ventrículo de una arritmia proveniente de la región auricular o supraventricular. Por otra parte, los BCa anulan las post-despolarizaciones tempranas o tardías arritmogénicas ventriculares, debido a que dichas anomalías son mediadas por canales de Ca^{2+} , siendo entonces útiles en las re-entradas.

Otro fármaco de uso en la emergencia de arritmia es la **adenosina**, que se aplica en forma parenteral intravenoso. Endógenamente, este compuesto es un metabolito del ATP que resulta esencial en la vía de autorregulación del tono coronario miocárdico, puesto que a mayor demanda cardíaca se intensifica la síntesis de adenosina por degradación del ATP, y ella migra desde el miocito a las coronarias para causar vasodilatación. De esta forma se coordina que a mayor demanda cardíaca haya mayor suministro de oxígeno. El mecanismo de acción es la activación de los receptores A1 que se acopla a una proteína Gi. Consecuentemente por hidrólisis del GTP se desdoblán las subunidades $G_{i\alpha}$ y $G_{i\beta\gamma}$ la primera de las cuales inhibe a la adenilato ciclasa (AC) y la segunda activa a los canales de K^+ , provocando hiperpolarización y vasodilatación. A nivel del miocardio y los nódulos SA y AV la adenosina también provoca hiperpolarización por la misma vía (similar a la del M2 en la Figura 5). Esto conduce a una reducción de las arritmias graves y reversión de la alteración despolarizante que dispara el umbral arritmogénico, por ejemplo la provocada por isquemia. Se emplea vía IV en la emergencia de taquicardia supraventricular paroxística.

Fármacos cardioprotectores en la isquemia y reperfusión cardíacas

Cuando la irrigación coronaria se reduce por obstrucción o vasoespasmo, el miocardio recibe menos oxígeno y reduce su metabolismo aeróbico esencial para la resíntesis del ATP y PCr necesarios para abastecer de energía a la célula. Entonces, ocurren varios cambios en la homeostasis de Ca^{2+} que conducen a una menor o mayor disfunción contráctil, dependiendo de la duración de la isquemia. A partir del conocimiento de esas alteraciones se pueden formular estrategias terapéuticas para prevenir o revertir la disfunción (Consolini y col., 2014).

La Figura 9 muestra un registro de los cambios contráctiles y energéticos (como flujo de calor liberado por los procesos exotérmicos cardíacos: hidrólisis de ATP por bombas y miofilamentos, unión de Ca^{2+} a sitios específicos como TnC, y metabolismo mitocondrial). Cuando la perfusión cesa y el oxígeno se reduce, caen abruptamente la contractilidad y las reservas energéticas, en parte porque se activa una corriente de K^+ dependiente de ATP (KATP) que acorta la duración del PA y se reduce el influjo de Ca^{2+} en fase 2 (Cole y col. 1991). Dependiendo de la duración de la isquemia, durante la reperfusión (R) se recupera la contractilidad parcialmente y el corazón se hace menos económico porque consume más energía y libera más calor para desarrollar una contractilidad menor a la inicial. Hablamos entonces de un “corazón atontado” (o proceso de “*stunning*”).

Entre los mecanismos aparece la alteración de la homeostasis de Ca^{2+} . En la **isquemia** se reduce bruscamente la corriente de Ca^{2+} , por lo que el RS retiene su carga, y el transitorio de Ca^{2+} y la contractilidad se reducen. Además, la reducción del ATP reduce la remoción activa del Na^+ y Ca^{2+} celular, por lo cual se inicia la contractura diastólica.

Cuando ocurre la **reperfusión**, el metabolismo y los niveles de ATP se restituyen, se recuperan la Na^+, K^+ -ATPasa y el gradiente de Na^+ . Esto favorece la activación del eflujo de los H^+ acumulados durante la etapa hipóxica por la vía del intercambiador Na^+/H^+ . Y eso favorece el eflujo de Na^+ por el NCX, lo cual conlleva a un brusco reingreso de Ca^{2+} y liberación brusca del Ca^{2+} del RS proporcional a su carga (Valverde y col. 2010). Así, ocurre la máxima contractura diastólica durante el inicio de la R. Pero gradualmente la Na^+, K^+ -ATPasa restituye el gradiente de Na^+ y el funcionamiento “forward” del NCX, removiendo el Ca^{2+} citosólico. Así lentamente puede recuperar el tono diastólico, los niveles de ATP y de Ca^{2+} del RS, de modo que se recupera el transitorio de Ca^{2+} . Cuando la isquemia es breve, el miocardio recupera parcialmente su contractilidad pero reduce su economía por aumentar el gasto energético (miocardio atontado). Esto se atribuye a la necesidad de manejar la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevada, ya sea por los transportadores y/o por las mitocondrias que aumentan el metabolismo. Los **fármacos cardioprotectores** frente al atontamiento son aquellos que reducen la sobrecarga de Ca^{2+} citosólica como los BCa (diltiazem, verapamil), o los que reducen la sobrecarga de Ca^{2+} mitocondrial (diazóxido, un abridor del mKATP que reduce el gradiente para la captación de Ca^{2+} mitocondrial) (Ragone y col., 2009). En ciertas condiciones, un leve aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_m$ por bloqueo del mNCX ha sido benéfico, pero hay un límite por encima del cual se dispara la disfunción (Consolini y col., 2014; Ragone y col., 2015). Es bien conocido que si las mitocondrias se sobrecargan de Ca^{2+} se dispara la activación del poro de transición de permeabilidad (mPTP) con lo cual las mitocondrias pierden contenido de ciertas proteínas y eso conduce a una más pronunciada disfunción. Los mPTP pueden bloquearse por ciclosporina-A en modo bastante selectivo. Sin embargo, las estrategias de cardioprotección están aún en etapa experimental, empleándose antioxidantes, fitoestrógenos (Colareda y col., 2016) como preventivos del daño isquémico celular. En la terapéutica clínica se emplean antiagregantes como preventivos de obstrucción coronaria y beta-bloqueantes (BB) para reducir el gasto cardíaco de pacientes que ya han padecido un ataque de angor.

Fármacos en la hipertrofia cardíaca

La hipertrofia cardíaca es una respuesta maladaptativa temprana a diversos factores que puede evolucionar a insuficiencia. Puede generarse a raíz de sobrecarga hemodinámica, mutaciones de proteínas sarcoméricas o pérdida de masa contráctil luego de procesos isquémicos como infarto. De todas maneras independientemente de la causa a la que responda, la necesidad de preservar la fracción de eyección y por ende la funcionalidad del corazón lleva a un incremento en el estrés de pared ventricular que promueve un remodelamiento de la estructura cardíaca y lleva a

una dilatación de las cámaras. Este remodelamiento comprende un incremento en el tamaño de los miocitos cardíacos, un progreso hacia apoptosis de los mismos, un incremento en la fibrosis intersticial a raíz de cambios en otros componentes del corazón como fibroblastos y matriz extracelular. Se ha demostrado que la generación de esta respuesta obedece a mecanismos autócrino-parácrinos que desencadenan una cascada intracelular e involucra vías de transcripción activadas por sobrecarga de Ca^{+2} (como Calcineurina/NFAT). La necesidad de prevenir la generación o revertir el estado hipertrófico una vez instaurado llevó al estudio de las vías de señalización que pueden desencadenar estas respuestas y con ello, a la búsqueda de blancos terapéuticos para el desarrollo farmacológico.

Blanco terapéutico: Angiotensina II (Ang II)

La Ang II, componente del sistema RAA, ha sido estudiada ampliamente por su carácter pro hipertensivo (a través de su receptor AT1). No obstante, en corazón Ang II es capaz de inducir crecimiento celular miocárdico e hiperplasia de fibroblastos cardíacos (Sadoshima e Izumo 1993), efectos que pueden prevenirse con el empleo de fármacos bloqueantes del receptor AT1, denominados genéricamente ARA-2 como **losartán, telmisartán, irbesartán**. Experimentalmente en trabéculas aisladas de ventrículo, Ang II promueve un incremento en la tensión desarrollada que es independiente de la activación α y β adrenérgica (Moravec y col. 1990), mostrando que se debe a la activación de su receptor AT1 y está mediado por Ca^{+2} . Por otra parte, el miocardio sometido a estiramiento es capaz de liberar Ang II al medio extracelular y generar esta respuesta autócrina. Por ello, los beneficios de losartán en la prevención y reversión de la hipertrofia miocárdica y fibroblástica así como en el remodelamiento miocárdico, se deben principalmente a acciones directas en corazón (Xu y col. 2009).

Blanco terapéutico: Receptor de mineralocorticoide MR

Como parte del sistema RAA, la Aldosterona (Ald) se ha vinculado principalmente con la generación de respuestas en riñón mediadas por la síntesis de proteínas que promueven el incremento en la reabsorción de H_2O y control de la excreción de Na^+ . Clínicamente, las drogas antagonistas del receptor MR de Aldosterona (como **espironolactona y eplerenona**) han tenido efectos benéficos en tratamientos destinados a evitar el desarrollo de fibrosis cardíaca y vascular, la progresión a insuficiencia cardíaca e hipertensión resistente (Ferrario y Schiffrin, 2015). Análogamente a lo que sucede con los ARA-2, la efectividad de los inhibidores del MR responde a acciones directas sobre el músculo cardíaco. En efecto, se ha demostrado activación de los receptores MR en músculo cardíaco sometido a estiramiento, los cuales por un mecanismo no genómico promueven la generación de especies reactivas del oxígeno e inducción de quinasas redox-sensibles que culminan en una sobrecarga de Ca^{+2} (Cingolani y col., 2013). Cuando el músculo cardíaco (por ejemplo el papilar aislado) se somete a estiramiento experimenta un aumento bifásico en la fuerza desarrollada: un primer incremento agudo, explicable por la ley de Frank-Starling, que se corresponde con una mayor sensibilidad de las fibras contráctiles al Ca^{+2} y un segundo de desarrollo gradual denominado segunda fase de fuerza (SFF) que involucra una mayor carga de Ca^{+2} citosólica. Esta SFF

puede cancelarse tanto con losartán como por **epirenona** y **espironolactona** por lo que involucra tanto al receptor AT1 de Ang II como al MR de Ald y el sostenimiento en el tiempo de dicho estímulo puede dar lugar al desarrollo de **hipertrofia cardíaca**.

Blanco terapéutico: intercambiador Na^+/H^+ miocárdico NHE1

El NHE1 es una proteína integral de membrana cuya función principal es la regulación del pH intracelular (pH_i). La regulación del pH_i por acción del NHE1 trae aparejado un incremento en la $[\text{Na}^+]_i$, el cual en condiciones fisiológicas es removido eficientemente por la bomba Na^+/K^+ ATPasa. Sin embargo, la hiperactividad del intercambiador genera un incremento sostenido en la $[\text{Na}^+]_i$ suficiente para originar una elevación de la $[\text{Ca}^{+2}]_i$ a través del funcionamiento en modo reversa del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ (NCX) (Figura 7). La inhibición crónica de la actividad del NHE1 con inhibidores derivados del diurético amilorida (**cariporide**, **eniporide** y **zoniporide**) revierte los signos de daño tisular y apoptosis en el tejido **hipertrófico**, como así también mejora la función del tejido cardíaco luego de injurias como **isquemia y reperfusión e infarto**. A pesar de los beneficios demostrados en diversos modelos experimentales, en los estudios clínicos la evaluación de dichos inhibidores como terapéutica en procesos isquémicos cardiovasculares no generó los resultados esperados, señalando que el bloqueo total de la actividad del NHE1 sería la causa de la falta de efectividad aparente y del surgimiento de efectos adversos no deseados de origen vascular (Cingolani y col., 2013). Entonces, tratando de preservar la función homeostática basal del NHE1, se diseñaron nuevas estrategias de inhibición tendiendo a aplacar la sobreactivación ocurrida en estos procesos patológicos. Esta sobreactivación genera un aumento en la fosforilación del extremo citosólico del transportador NHE1, y por ende la prevención de la fosforilación o la inducción de la desfosforilación de dichos residuos es un potencial blanco terapéutico. En ese marco, los inhibidores selectivos de la fosfodiesterasa 5A (PDE5A, enzima que cataliza la conversión de GMPc en 5'-GMP), son capaces de inducir la actividad de fosfatasa como PP2A que llevan a la desfosforilación del NHE1 (Díaz y col. 2010) reduciendo así la hipertrofia cardíaca. La aplicación terapéutica más comúnmente asociada a los inhibidores de la PDE5A (**sildenafil**, **tadalafil**, **vardenafil**) es el tratamiento de la disfunción eréctil. Sin embargo, en los últimos años se ha descrito su utilización en otras patologías, como por ejemplo **insuficiencia cardíaca crónica e hipertensión pulmonar**. Particularmente en corazón, se demostró que sildenafil es capaz de prevenir apoptosis en modelos de cardiotoxicidad crónica, además de ser efectivo en la prevención de la generación de **hipertrofia** y el mejoramiento de la función ventricular de corazones sometidos a **infarto** mediante un mecanismo que se atribuye primariamente a la inhibición del NHE1 (Perez y co, 2007).

Blanco terapéutico: Anhidrasa Carbónica (AC)

La AC es la enzima que cataliza la disociación del ácido carbónico en CO_2 y agua. Las variaciones de pH que devienen de su actividad han llevado a plantear la posibilidad de

que dicha enzima estuviera estrechamente vinculada a los mecanismos encargados de la homeostasis del pH_i (como NHE1 y el cotransporte $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$) y por ende a la regulación de la $[\text{Na}^+]_i$ e indirectamente, como se explicó anteriormente, a la de Ca^{+2} . En efecto, se ha demostrado la existencia de una interacción física y funcional entre la AC y el NHE1 (Vargas y col. 2013), tal que la inhibición de la AC (con **acetazolamida** o **ethoxzolamida**) es capaz de modular negativamente la actividad del NHE1 y reducir la SFF en la que éste cumple un rol fundamental. La acción moduladora de la actividad del NHE1 radica básicamente en su función facilitadora de protones a la AC, aunque su interacción física sugiere una regulación mayor que vincularía a la fosforilación del mismo. En ese aspecto, los inhibidores de la AC son fármacos efectivos para prevenir el desarrollo de hipertrofia en varios modelos celulares y animales (Alvarez y col., 2007, Vargas y col., 2016).

Blanco terapéutico Calcineurina y vía NFAT

Calcineurina es una fosfatasa Serina/treonina activable por el complejo Ca^{+2} -Calmodulina, que al activarse desfosforila y activa al factor de transcripción nuclear derivado de células T (NFAT), el cual migra al núcleo para desencadenar transcripción génica (Wilkins y col. 2004). Se activa más por sobrecarga de Ca^{+2} por lo cual sería mediadora en la generación de hipertrofia. Se ha visto que modula la expresión de numerosos genes relacionados con la reprogramación fetal en hipertrofia patológica. Como paso previo a tal reprogramación de genes, la inhibición de la ruta desencadenada por calcineurina con **ciclosporina-A** (Cys-A) parece un blanco terapéutico razonable. En efecto, en ratones transgénicos con disfunción sarcomérica que desarrollan cardiomiopatía dilatada, la administración de Cys-A previene el desarrollo de hipertrofia. También resultó efectiva en la prevención de la hipertrofia debida a sobrecarga de presión, aunque no es una droga que actualmente tenga esta indicación (Olson y Molkentin 1999).

Evaluación experimental de fármacos sobre músculo cardíaco

Experimentalmente, el estudio de los efectos de fármacos sobre las funciones cardíacas puede abordarse mediante diferentes tipos de preparados:

- a- Corazón aislado y perfundido mediante la técnica de Langendorff: se perfunden las coronarias (con solución Krebs como nutriente) a través de la arteria aorta en forma retrógrada (técnica de Langendorff). Se registra la presión intraventricular (P) isovolumétrica desarrollada por el ventrículo izquierdo mediante un globito de látex regulado por pasos hasta volumen óptimo conectado a un transductor de presión y a un polígrafo. Es útil como modelo de contractilidad del corazón entero, porque registra la presión intraventricular y se nutre por la vía fisiológica arterial. Además, es el modelo óptimo para estudiar el fenómeno de isquemia-reperusión porque permite interrumpir la perfusión coronaria total o parcialmente. En nuestro laboratorio también estudiamos la ener-

gética cardíaca incorporando el corazón perfundido en un sistema calorimétrico para registrar el flujo de calor durante todo el experimento (Ponce-Hornos y col., 1982; Consolini y col., 2007).

Las consecuencias de la isquemia y reperfusión (I/R) son: un aumento de la presión diastólica (contractura) durante la isquemia y aún más durante la reperfusión, una reducción de la recuperación de la contractilidad durante la R, y en ciertos casos se generan arritmias durante R. Energéticamente, en la isquemia hay una caída del flujo de calor asociada a la brusca disminución del metabolismo aeróbico mitocondrial. Al inicio de la R aumenta mucho el flujo de calor por la reactivación de los mecanismos que remueven activamente el Ca^{2+} acumulado en citosol (SERCA, NCX, UCam, Ca-ATPasa sarcolemal). El calor proviene de la hidrólisis exotérmica del ATP consumido para mantener esos transportes y el ATP hidrolizado por el sistema actomiosínico durante la contractura diastólica y la recuperación contráctil (Figura 9). Con el transcurso de R, la presión diastólica se reduce y la contractilidad aumenta en diversos grados según el tiempo de la isquemia. Si la isquemia es relativamente breve, la R da lugar a un “**corazón atontado**” con reducida economía contráctil (relación entre la contractilidad y el flujo de calor que estima la energía consumida). Si la isquemia es muy prolongada, se disparan procesos de apoptosis (por acumulación citosólica y mitocondrial de Ca^{2+} y de especies reactivas de oxígeno, ROS) y el tejido se contractura en forma irreversible reduciendo casi a cero su flujo de calor por el cese del metabolismo y de la hidrólisis de ATP (**infarto**).

- b- Aurículas aisladas con frecuencia espontánea: se sumergen en una solución nutriente (Krebs) y se registra la contracción mediante un transductor de fuerza isométrico. Puede evaluarse la frecuencia contando el número de contracciones por unidad de tiempo. Es útil para estudiar efectos en la frecuencia espontánea o en la contractilidad, y para analizar efectos de catecolaminas porque difícilmente genera arritmias (Kitchen, 1984).
- c- Papilar aislado: se prepara y mide similarmente al preparado de aurículas, pero carece de automatismo y permite evaluar fuerza isométrica y tensión parietal, porque sus fibras son longitudinales y paralelas, alineadas con la dirección de medida del transductor. Se puede trabajar con pequeños volúmenes de solución Krebs y de fármacos, pero no permite generar un modelo de isquemia/reperfusión porque debe estar continuamente superfundido. Gracias a su escaso diámetro y volumen permite estimar cambios en la $[\text{Ca}^{+2}]$ citosólica empleando la carga del papilar con un indicador fluorescente sensible al mismo (como Fura-2 o Fluo-4) para luego visualizar en un microscopio de fluorescencia las zonas e intensidad relativa de fluorescencia (en la célula).

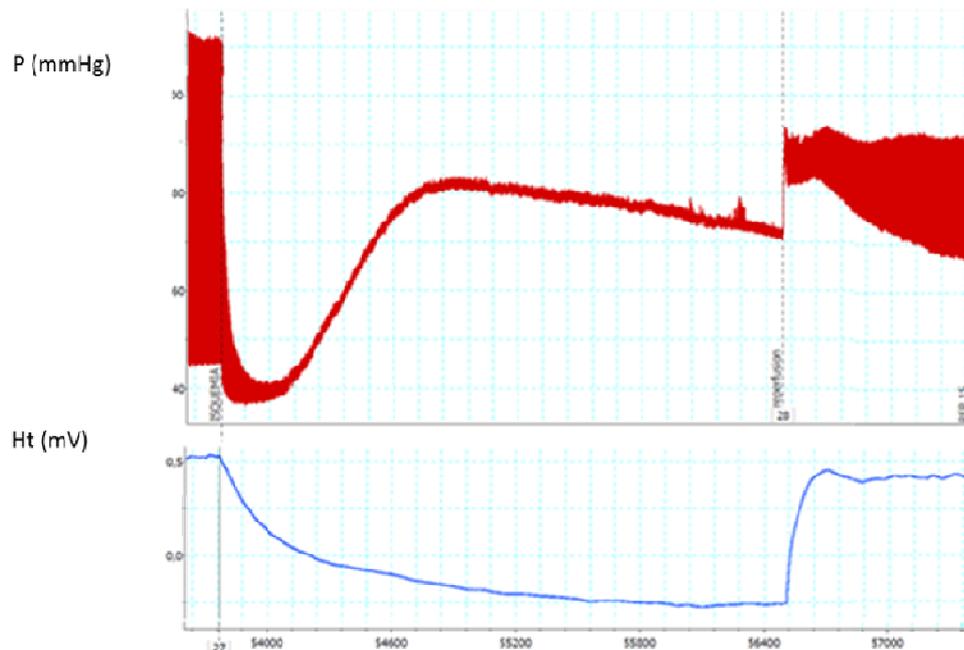


Figura 9: Registro obtenido en nuestro laboratorio a partir de un corazón de rata aislado y perfundido antes y durante la isquemia (30 minutos) y reperusión (I/R). Arriba se muestra la presión intraventricular (P) y abajo el flujo de calor (Ht). Notar que durante la isquemia caen bruscamente la contractilidad y el Ht, pero se produce contractura diastólica; y durante la R se recupera gradualmente la contractilidad después de aumentar aún más la contractura diastólica. Ver en el texto los mecanismos responsables de tales cambios por alteración de la homeostasis de Ca^{2+} .

d- Cardiomiocitos aislados en un medio nutriente y con enzimas como colagenasa y proteasa para separarlas de la matriz extracelular de colágeno y glicoproteínas: se registra acortamiento mediante cámara de video y/o potenciales de acción (PA) o corrientes eléctricas con microelectrodos. También permite evaluar cambios en las $[\text{Ca}^{2+}]$ libre en diversos compartimentos celulares con el empleo de fluoróforos (indicadores que emiten fluorescencia al complejarse con el Ca^{2+} libre) tales como Fura-2 y Fluo-4 para el citosólico, y Rhod-2 cargado en frío para las mitocondrias. Es útil para estudiar mecanismos de fármacos en esas variables y en un sistema simplificado, pero no reproduce situaciones como la I/R, ya que no admite la isquemia, aunque ésta se ha simulado químicamente, mediante venenos mitocondriales y anoxia.

Bibliografía

Alvarez, B. V., D. E. Johnson, D. Sowah, D. Soliman, P. E. Light, Y. Xia, M. Karmazyn, Casey, J. R. (2007). Carbonic anhydrase inhibition prevents and reverts cardiomyocyte hypertrophy. *Journal of Physiology* 579(Pt 1), 127-145.

- Bers, D. M. (2001). *Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force*. 2nd edn. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Berridge, M. J. (1997). Elementary and global aspects of calcium signalling. *Journal of Physiology* 499 (2), 291-306.
- Bonazzola, P., Ponce-Hornos, J. E. (1987). Effects of caffeine on energy output of rabbit heart muscle. *Basic Research in Cardiology* 82(5), 428-436.
- Cingolani, H. E., Perez, N. G., Cingolani, O. H. Ennis, I. L. (2013). The Anrep effect: 100 years later. *American Journal of Physiology- Heart Circulation Physiology* 304(2), H175-H182.
- Colareda, G. A., Ragone, M. I., Consolini, A. E. (2016). Sex differences in the mechano-energetical effects of genistein on stunned rat and guinea-pig hearts. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology* 43, 102-115.
- Cole, W. C., Pherson, C. D., Sontag, D. (1991). ATP-regulated K⁺ channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage. *Circulation. Research* 69, 571-581.
- Consolini, A. E., Ragone, M. I., Conforti, P., Volonté, M. G. (2007) Mitochondrial role in ischaemia-reperfusion of rat hearts exposed to high-K⁺ cardioplegia and clonazepam: energetic and contractile consequences. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 85, 483-496.
- Consolini, A. E., Ragone, M. I., Colareda, G. A., Bonazzola, P. (2014). "Insights on mitochondrial role in cardiac stunning and cardioprotection: an energetic approach". En: "Mitochondrial dysfunction: Risks factors, Symptoms and Treatment options", Kinberly L. Anderson, editor. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Diaz, R. G., Nolly, M. B., Massarutti, C. Casarini, M. J. Garciarena, C. D. Ennis, I. L. Cingolani H. E., Perez, N. G. (2010) Phosphodiesterase 5A inhibition decreases NHE-1 activity without altering steady state pH(i): role of phosphatases. *Cellular Physiology and Biochemistry* 26(4-5), 531-540.
- Ferrario, C. M., Schiffrin E. L. (2015). Role of mineralocorticoid receptor antagonists in cardiovascular disease. *Circulation Research* 116(1), 206-213
- Gonano, L. A., Sepúlveda, M., Rico, Y., Kaetzel, M., Valverde, C. A., Dedman, J., Mattiazzi, A., Vila-Petroff, M. (2011). Calcium-calmodulin kinase II mediates digitalis-induced arrhythmias. *Circulation Arrhythmia Electrophysiology* 4(6), 947-957.
- Griffiths, E. J. (2009). Mitochondrial calcium transport in the heart: physiological and pathological roles. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 46, 789-803.
- Gunter, T. E., Buntinas, L., Sparagna, G., Eliseev, R., Gunter, K. (2000). Mitochondrial calcium transport: mechanisms and functions. *Cell Calcium*. 28, 285-296.
- Hasenfuss, G., Pieske, B. (2002). Calcium cycling in congestive heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 34(8). 951-969
- Kitchen, I. (1984). *Textbook of in vitro practical pharmacology*. London: Blackwell Scientific Publications.
- Langer, G. A. (1997). *The Myocardium*. 2nd Edition. London: Academic Press.

- Liu, T., Brown, D. A., O'Rourke, B. (2010). Role of mitochondrial dysfunction in cardiac glycoside toxicity. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 49, 728–736.
- Maack, C., Cortassa, S., Aon, M. A., Ganesan, A. N., Liu, T., O'Rourke, B. (2006). Elevated cytosolic Na⁺ decreases mitochondrial Ca²⁺ uptake during excitation-contraction coupling and impairs energetic adaptation in cardiac myocytes. *Circulation Research* 99, 172–182.
- Mattiazzi, A., Mundiña-Weilenmann, C., Vittone, L., Vila-Petroff, M. Acoplamiento excitomotor en el corazón normal y patológico. En: Gelpi, R. J. y Donato, M. (2010). *Fisiopatología cardiovascular. Bases racionales para la terapéutica*. Buenos Aires: Editorial Corpus.
- Mattiazzi, A., Argenziano, M., Aguilar-Sanchez, Y., Mazzocchi, G., Escobar, A. L. (2015). Ca²⁺ Sparks and Ca²⁺ waves are the subcellular events underlying Ca²⁺ overload during ischemia and reperfusion in perfused intact hearts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 79, 69-78.
- Moravec, C. S., Schluchter, M. D., Parandhi, L., Czernska, B., Stewart, R. W. Rosenkranz, E., Bond, M. (1990). Inotropic effects of angiotensin II on human cardiac muscle in vitro. *Circulation* 82(6), 1973-1984.
- Olson, E. N., Molkentin, J. D. (1999). Prevention of cardiac hypertrophy by calcineurin inhibition: hope or hype? *Circulation Research* 84(6), 623-632.
- Opie, L. H., Gersh, B. J. (2005). *Fármacos para el corazón*. 6ta edición. Madrid: Elsevier Inc. España.
- Paillard, M., Tubbs, E., Thiebaut, P. A., Gomez, L., Fauconnier, J., Da Silva, C. C., Teixeira, G., Mewton, N., Belaidi, E., Durand, A., Abrial, M., Lacampagne, A., Rieusset, J., Ovize, M. (2013). Depressing mitochondria-reticulum interactions protects cardiomyocytes from lethal hypoxia-reoxygenation injury. *Circulation* 128, 1555-65.
- Perez, N. G., Piaggio, M. R. Ennis, I. L. Garcíarena, C. D. Morales, C., Escudero, E. M., Cingolani, O. H., Chiappe de Cingolani, G., Yang X. P., Cingolani H. E. (2007). Phosphodiesterase 5A inhibition induces Na⁺/H⁺ exchanger blockade and protection against myocardial infarction. *Hypertension* 49(5), 1095-1103.
- Ponce-Hornos, J. E., Ricchiuti, N. V., Langer, G. A. (1982). On-line calorimetry in the arterially perfused rabbit interventricular septum. *American Journal of Physiology- Heart Circulation Physiology* 243, H289-H295.
- Ragone, M. I., Bonazzola, P., Colareda G. A., Consolini, A. E. (2015). Cardioprotection of hyperthyroidism on the stunned rat heart under ischaemia/ reperfusion: energetics and role of mitochondria. *Experimental Physiology* 100, 680–97.
- Ragone, M. I., Consolini, A. E. (2009). Role of the mitochondrial Ca²⁺ transporters in the high-[K⁺]_o cardioprotection of rat hearts under ischemia and reperfusion: a mechano-energetic study. *J Cardiovascular Pharmacology* 54, 213-222.
- Ragone, M. I., Torres, N. S., Consolini, A. E. (2013). Energetic study of cardioplegic hearts under ischaemia/reperfusion and [Ca⁽²⁺⁾] changes in cardiomyocytes of guinea-pig: mitochondrial role. *Acta Physiologica* 207, 369-385.

- Sadoshima, J., Izumo, S. (1993). Mechanotransduction in stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes. *Journal of Receptor Research* 13(1-4), 777-794.
- Schulz, R., Triggle, C. R. (1994). Role of NO in vascular smooth muscle and cardiac muscle function. *Trends in Pharmacological Sciences* 15, 255-259.
- Takeuchi, A., Kim, B., Matsuoka, S. (2013). The mitochondrial Na⁺-Ca²⁺ exchanger, NCLX, regulates automaticity of HL-1 cardiomyocytes. *Science Reports* 3, 2766.
- Valverde, C. A., Kornyejev, D., Ferreiro, M., Petrosky, A. D., Mattiazzi, A., Escobar A. L. (2010). Transient Ca²⁺ depletion of the sarcoplasmic reticulum at the onset of reperfusion. *Cardiovascular Research* 85, 671–680.
- Vargas, L. A., Diaz, R. G., Swenson, E. R., Perez N. G., Alvarez, B. V. (2013). Inhibition of carbonic anhydrase prevents the Na(+)/H(+) exchanger 1-dependent slow force response to rat myocardial stretch. *American Journal of Physiology- Heart Circulation Physiology* 305(2), H228-H237.
- Vargas, L. A., Pinilla, O. A., Diaz, R. G., Sepulveda, D. E., Swenson, E. R., Perez N. G., Alvarez, B. V. (2016). Carbonic anhydrase inhibitors reduce cardiac dysfunction after sustained coronary artery ligation in rats. *Cardiovascular Pathology* 25(6), 468-477.
- Wilkins, B. J., Dai, Y. S., Bueno, O. F., Parsons, S. A., Xu, J., Plank, D. M., Jones, F., Kimball, T. R., Molkentin, J. D. (2004). Calcineurin/NFAT coupling participates in pathological, but not physiological, cardiac hypertrophy. *Circulation Research* 94(1), 110-118.
- Xu, F., Mao, C., Hu, Y., Rui, C., Xu, Z., Zhang, L. (2009). Cardiovascular effects of losartan and its relevant clinical application. *Current Medicinal Chemistry* 16(29), 3841-3857.

Los autores

Colareda, Germán A.

Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas-Área Ciencias Biológicas, Fac. de Cs. Exactas de la UNLP. Farmacéutico y Licenciado en Ciencias Farmacéuticas, UNLP. Becario de UNLP. Ayudante diplomado dedicación exclusiva, cátedra Farmacología-Farmacía, FCE, UNLP. Últimas Publicaciones: *Exp Physiol* (2015: 100, 680-97); *Clin Exp Pharm Physiol* (2016: 42, 102-115). Capítulos de libros: *Mitochondrial Dysfunction: Risk Factors, Symptoms and Treatment Options* (2014). Integrante del proyecto “Farmacología experimental y energética cardíaca en diversos modelos animales y efectos de plantas medicinales”.

Díaz, Romina Gisel

Doctora en Ciencias de la Salud de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP. Farmacéutico y Licenciada en Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP. Investigador Asistente, Área Medicina, Ciencias Básicas, CONICET. Jefe de Trabajos Prácticos, cátedra Farmacología I y II, Área Farmacia, UNLP. Publicaciones: *Epidermal Growth Factor Receptor Silencing Blunts the Slow Force Response to Myocardial Stretch.*, Journal of the American Heart Association, septiembre 2016; *Myocardial mineralocorticoid receptor activation by stretching and its' functional consequences*, Hypertension, 2014; *Inhibition of carbonic anhydrase prevents the Na⁺/H⁺ exchanger 1-dependent slow force response to rat myocardial stretch*, Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013. Distinciones: Premio Dra. María Cristina Camilión de Hurtado al mejor trabajo de investigación cardiovascular, SAFIS, 2015. Premio Prof. Dr. Carlos Taquini al Mejor Trabajo de Investigación Básica, SAHA, 2015, Reconocimiento a Egresada Distinguida de Posgrado, UNLP, 2014, Premio Simposio Jóvenes Investigadores, SAFE, 2014.

Pedro, Martín

Farmacéutico por la Fac. de Cs. Exactas de la UNLP. Doctor en Ciencias Exactas, Área Ciencias Biológicas, UNLP. Especialista en electrofisiología, farmacología de canales iónicos con especial aplicación al músculo liso vascular. Profesor Adjunto Ordinario dedicación simple a cargo de Elementos de Farmacología (Lic. en Bioquímica) y Farmacología (Lic. en Óptica Ocular y Optometría), FCE-UNLP. Investigador Asistente del CONICET (2016) del Instituto de estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos (IIFP) CONICET - UNLP, tema: Hipertensión arterial y su control por diuréticos de tipo tiazida: rol del canal de K⁺ de tipo BK en su efecto hipotensor cró-

nico. Director responsable del proyecto de extensión universitaria (2014) “Magistrales, laboratorio social”. Premio SAFE 2015 (Sociedad Argentina de Farmacología Experimental).

Quiroga, Pablo

Farmacéutico y Licenciado en Cs. Farmacéuticas de la Fac. de Cs. Exactas de la UNLP. Experto Universitario en Toxicología y Máster Universitario en Toxicología, Universidad de Sevilla España. Profesor Titular de la Cátedra de Control de Calidad de Medicamentos y Profesor Titular a Cargo de la Cátedra Toxicología Farmacéutica, FCE-UNLP. Docente a cargo del Módulo Bioensayos - Magister de Plantas Medicinales (FCE-UNLP); Docente de la Carrera de Médico Especialista en Medicina de la Industria Farmacéutica (Facultad de Medicina, UBA). Jefe del Departamento de Investigaciones Farmacológicas de Laboratorios Bagó S.A. Miembro de la Comisión Permanente de Farmacopea Argentina, Especialista Externo para la evaluación de Proyectos de Investigación UBACYT 2014-2017 Grupos En Formación (UBA). Autor de cinco capítulos de libros, coautor de trabajos científicos publicados en revistas internacionales con referato, disertante en Congresos y Workshops Nacionales e Internacionales.

Wikinski, Silvia

Médica especialista en Psiquiatría (Facultad de Medicina, UBA) y Doctora por la UBA, orientación Farmacología. Profesora Adjunta de Farmacología, Facultad de Medicina, UBA. Autora y compiladora del libro *El Tratamiento Farmacológico en Psiquiatría* (2013), y más de 30 trabajos científicos en revistas indexadas. Directora del Nodo de Preclínicos de la Plataforma Tecnológica EBAL (CONICET-UNLP). Premios “Actualización en Psiquiatría” de la Fundación Florencio Fiorini (2007), “Lucio V. López” de la Academia Nacional de Medicina (2014), “Juan Madera” de la Facultad de Medicina de la UBA (2000) y Accesit Jornadas Científicas de la Academia de Farmacia y Bioquímica de la UBA (1998).

Coordinadores

Consolini, Alicia E.

Doctora en Ciencias Farmacéuticas y Licenciada en Cs. Farmacéuticas por la UNLP. Profesora Titular, cátedra Farmacología-Farmacia, Fac. Cs. Exactas, UNLP. Investigadora categoría II. Directora de la Maestría en Plantas Medicinales, UNLP. Exbecaria del CONICET, 3 estancias mensuales en el exterior. Coordinadora de la comisión de carrera de Farmacia. Autora de 31 publicaciones científicas, las 3 últimas: *Exp Physiol* (2015: 100, 680-97); *Clin Exp Pharm Physiol* (2016: 42, 102-115); *Pharmacology online* (2016: 2, 91-99). Autora de tres capítulos de libros en: *Handbook of Ethnopharmacology* (2008); *Cardiomyopathies causes, effects and treatment* (2009: 57-65); *Mitochondrial Dysfunction: Risk Factors, Symptoms and Treatment Options* (2014). Ha recibido dos premios. Directora de 3 tesis doctorales, 5 de Maestría y 2 de

especialización finalizadas, y 3 tesis de Maestría en desarrollo. Directora de proyectos de investigación de CONICET y UNLP.

Ragone, María Inés

Doctora por la Facultad de Ciencias Exactas, Farmacéutico y Licenciada en Ciencias Farmacéuticas de la UNLP. Investigador Asistente, CONICET. Profesor Adjunto, cátedra Farmacología-Farmacía, Fac. Cs. Exactas, UNLP. Últimas publicaciones: *Exp Physiol* (2015: 100, 680-97); *Clin Exp Pharm Physiol* (2016: 42, 102-115); *Pharmacology online* (2016: 2, 91-99). Autora de capítulos de libros: *Handbook of Ethnopharmacology* (2008); *Cardiomyopathies causes, effects and treatment* (2009: 57-65); *Mitochondrial Dysfunction: Risk Factors, Symptoms and Treatment Options* (2014). Ha recibido el Premio Simposio Jóvenes Investigadores, SAFE, 2014. Integrante del proyecto "Farmacología experimental y energética cardíaca en diversos modelos animales y efectos de plantas medicinales".

Farmacodinamia general e interacciones medicamentosas : mecanismos de acción de fármacos y metodologías de estudio experimental / Alicia Elvira Consolini ... [et al.] ; coordinación general de Alicia Elvira Consolini ; María Inés Ragone. - 1a ed . - La Plata : Universidad Nacional de La Plata, 2017.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-950-34-1572-6

1. Medicamentos. I. Consolini, Alicia Elvira II. Consolini, Alicia Elvira, coord. III. Ragone, María Inés , coord.
CDD 615

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
47 N.º 380 / La Plata B1900AJP / Buenos Aires, Argentina
+54 221 427 3992 / 427 4898
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Eduulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2017
ISBN 978-950-34-1572-6
© 2017 - Eduulp

e
exactas