

03068

3  
29



# Universidad Nacional Autónoma de México

U. A. G. P. y P.  
G. C. H.

EFFECTOS DEL TIAPAMIL SOBRE LA CONTRACTILIDAD,  
EL FLUJO CORONARIO Y EL CONSUMO DE OXIGENO DEL  
CORAZON EN UN PREPARADO GARDIOPULMONAR MODIFICADO

## T E S I S

Que para obtener el Título de  
Maestro en Ciencias Fisiológicas  
p r e s e n t a

**JOSÉ IBARRA ESPINOSA**



México, D. F.

1987

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## I N D I C E

RESUMEN	I
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	4
Los canales Lentos de Calcio	4
Efecto del $Ca^{2+}$ sobre la Regulación de la Fosforilación oxidativa	8
Acciones de la Nifedipina y el Verapamil	11
Ventaja del Preparado Cardiopulmonar sobre la preparación en animal íntegro	12
Determinación de Cambios en la Contractilidad.	13
Influencia de la precarga y la postcarga sobre la función ventricular	14
Influencia de la frecuencia cardíaca sobre la función ventricular	17
MATERIAL Y METODOS	18
RESULTADOS	22
Efectos del Tiapamil Sobre la Contractilidad	22
Efectos del Tiapamil Sobre el Consumo de $O_2$	24
Efectos del Tiapamil Sobre el Flujo sanguíneo Coronario	26
DISCUSION	29
REFERENCIAS	34

## RESUMEN

Las acciones de los diversos antagonistas de canal lento sobre el sistema cardiovascular, no son semejantes. Por ejemplo, se sabe que la nifedipina tiene efecto inotrópico mayor sobre el músculo liso vascular que sobre el cardíaco, mientras que el verapamil provoca lo contrario. También se sabe que el verapamil afecta la función del nodo aurículo-ventricular y que la nifedipina no. Por otro lado, en un trabajo anterior de nuestro laboratorio, se demostró que dosis terapéuticas de verapamil y nifedipina ejercen acciones diferentes sobre el preparado cardiopulmonar modificado. El verapamil disminuye la contractilidad y el trabajo del corazón y produce un aumento discreto en el flujo coronario; la nifedipina no modifica el inotropismo, triplica el flujo coronario e incrementa la eficiencia metabólica de estos corazones. En vista de estos antecedentes se decidió valorar los efectos de otros antagonistas de canal lento en el preparado cardiopulmonar en el perro. En el presente trabajo se describen los resultados obtenidos de valorar el tiapamil y son los siguientes: 1) Un efecto inotrópico negativo y un aumento en el flujo sanguíneo coronario dependientes de la dosis, esto es entre mayor fué la dosis mayores fueron los efectos, y 2), las dosis de 0.25 y 0.5 mg disminuyeron el consumo de oxígeno, mientras que la de 1.0 mg no modificó este parámetro. Estos resultados indican que el tiapamil parece tener afinidad tanto por el músculo liso vascular como por el cardíaco, y que posiblemente afecta el metabolismo celular, de manera directa, lo que explicaría la disminución en el consumo de oxígeno producida por las dosis más pequeñas.

## INTRODUCCION

El calcio tiene un papel muy importante en el proceso de acoplamiento excitación-contracción en el tejido muscular en general. Por lo tanto, los fármacos que inhiben la entrada de calcio a la célula han sido ampliamente utilizados en el tratamiento de algunas enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión arterial y la isquemia miocárdica (Winniford, Willerson y Hillis, 1982).

Para ampliar un poco lo anterior, se puede decir que la razón principal para utilizar a los inhibidores de la entrada de calcio, llamados también inhibidores del canal lento, en el tratamiento de dichas enfermedades, se fundamenta en dos efectos de esos fármacos: el primero es que son vasodilatadores (Fleckenstein, 1983 b), lo cual disminuye la presión arterial por un lado y mejora la perfusión del miocardio isquémico por el otro. El segundo efecto es que disminuyen la entrada de calcio ( $Ca^{2+}$ ) a la célula cardíaca (Fleckenstein, 1983 c), lo que disminuye también su fuerza de contracción y la demanda de oxígeno ( $O_2$ ) del tejido; esto último es benéfico cuando precisamente el aporte de  $O_2$  es menor durante la isquemia.

Además está demostrado que la postcarga es uno de los principales determinantes del consumo de  $O_2$  en el corazón (Evans y Matsuoka, 1915), por lo que si ésta se disminuye con el uso de vasodilatadores, es de esperarse que también disminuya el consumo de  $O_2$ .

Durante cierto tiempo se pensó que todas las acciones de los inhibidores de canal lento sobre el sistema cardiovascular eran semejantes, sin embargo cada vez se cuenta con más observaciones de que ése no es el caso. Por mencionar sólo algunos ejemplos, se sabe que la nifedipina tiene un efecto inotrópico negativo mayor sobre el músculo liso vascular que sobre el músculo cardíaco, mientras que el verapamil produce lo contrario (Fleckenstein y col., 1983 a; Singh, Baky y Nademance, 1985). También se sabe que el verapamil afecta la función del nodo A-V y que la nifedipina no (Gilmour y Zipes, 1985).

En un trabajo anterior de nuestro laboratorio (Bárcenas y colaboradores, 1983), se demostró que las acciones de la nifedipina y el verapamil son completamente diferentes en cuanto a la contractilidad y el flujo coronario, y además se encontró que la nifedipina disminuye el consumo de  $O_2$  del corazón mientras que el verapamil lo aumenta.

Para explicar las diferencias entre las acciones de los inhibidores de canal lento, los autores de los trabajos mencionados, proponen que estos compuestos tienen diferente afinidad por las diferentes estructuras cardiovasculares.

De lo anterior es evidente que hay dos representantes principales de los bloqueadores de canal lento: el verapamil y la nifedipina. La nifedipina carece virtualmente de actividad antiarrítmica y su patrón de efectos hemodinámicos sugiere que el fármaco es más efectivo para bloquear los canales lentos

del músculo liso vascular que los del cardíaco, mientras que el verapamil tiene pronunciados efectos cardíacos y es un agente antiarrítmico efectivo.

Recientemente Haeusler y col. (1982) hicieron una extensa comparación entre los antagonistas de canal lento, con el propósito de seleccionar un compuesto que tuviera una posición intermedia entre el verapamil y la nifedipina, esto es, un compuesto que tuviera efectos cronotrópicos negativo y vasodilatador, y un efecto inotrópico negativo mínimo, para poderlo utilizar en el tratamiento de la enfermedad cardíaca isquémica, ya que con dicho patrón de actividad, es de esperarse que este fármaco reduzca el consumo de  $O_2$  miocárdico y la postcarga.

Por otro lado, como la constipación es un efecto colateral de algunos antagonistas de canal lento, también se intentó reducir la selectividad del fármaco por el músculo liso gastrointestinal y aumentarla por el vascular.

De dicha comparación se seleccionó al tiapamil, por lo que en este trabajo se valoraron las acciones de este fármaco, en un preparado cardiopulmonar modificado, se escogió esta preparación por que los inhibidores de canal lento tienen varios efectos sobre el sistema cardiovascular, que ocurren simultáneamente, lo que dificulta caracterizar las acciones de estos compuestos mediante técnicas que utilizan animales integros o a través de estudios realizados en seres humanos.

## ANTECEDENTES

### Los Canales Lentos de Calcio.

Los canales de calcio son trascendentales por su papel en la función celular. La apertura de los canales de calcio durante la excitación es un paso esencial en la descarga rítmica de las neuronas, en la neurosecreción y en la activación de la contracción en el tejido muscular.

Hay dos mecanismos básicos por medio de los cuales la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en el citoplasma aumenta: su liberación desde sitios de almacenamiento intracelular y su transporte desde el espacio extracelular hacia el interior de la célula a través de la superficie de la membrana (Bassingthwaighte y Reuter, 1972).

Las estructuras más importantes para controlar el segundo mecanismo, son proteínas embebidas en la doble capa lipídica de la membrana, que funcionan como "canales" o "poros" a través de los cuales se pueden mover los iones de calcio (Borso et al, 1984). La estructura molecular de estos canales determina qué iones pueden pasar a través de ellos, esto es, su selectividad iónica. Además, el potencial transmembrana afecta a estos canales determinando su apertura y su cinética de activación e inactivación. Estas características se conocen en conjunto como características de compuerta del canal (Hodgkin y Huxley, 1952).

En la actualidad se cuenta con evidencia que sugiere la

existencia de varios canales de calcio dependientes del potencial transmembrana, cada uno con propiedades distintas. El grupo de Tsien ha reportado tres tipos de canales de calcio en cultivos de neuronas sensitivas del ganglio de la raíz dorsal de pollo (Nowycky, Fox y Tsien, 1985), y dos tipos en células cardíacas de mamífero (Nilius, Hess, Lansman y Tsien, 1985). La técnica de fijación de voltaje en microáreas de membrana, les permitió determinar las propiedades funcionales de cada uno de estos canales, tales como características de compuerta, conductancia y sensibilidad farmacológica. Utilizando esta técnica electrofisiológica en neuronas sensitivas, Nowycky, Fox y Tsien (1985) encontraron tres conductancias unitarias con diferentes características cinéticas, que pueden atribuirse a la apertura de tres canales de calcio diferentes.

El canal de calcio más común en las células se clasifica como tipo L y su apertura repetida produce una corriente de entrada de calcio de larga duración a través de la membrana, esto es, con una constante de tiempo para la inactivación de varios cientos de milisegundos. El canal tipo T descrito por primera vez por Carbone y Lux (1984), se abre con un potencial de membrana de aproximadamente  $-50\text{mV}$ , que es mucho más negativo que el necesario para abrir el canal de tipo L, que es de  $-10\text{mV}$ , y su apertura produce una corriente de entrada transitoria cuya constante de tiempo para la inactivación es de 25 ms a  $-30\text{mV}$ , es decir, mucho menos duradera que la que pa

sa por el canal L. Estos dos tipos de canales también se encuentran en las células cardíacas (Nilius, Hess, Lansman y Tsien, 1985). El tercer tipo de canal de calcio encontrado en neuronas sensitivas, es de tipo N (Nowycky, Fox y Tsien 1985) y sólo puede activarse por despolarizaciones grandes, desde un potencial de referencia de  $-100\text{mV}$ .

La actividad de los canales de calcio puede regularse de dos formas, fisiológica y farmacológicamente. La regulación producida por el potencial transmembrana es una forma de regulación fisiológica. Otra sería con neurotransmisores tales como las catecolaminas y la acetilcolina, que influyen en los canales de calcio tipo L en membranas de células cardíacas. Esta regulación ocurre a través de una cascada de eventos y probablemente está relacionada con reacciones de fosforilación, dependientes de AMP cíclico, de las proteínas que constituyen el canal, o de alguna proteína estrechamente asociada con el canal (Reuter, 1983). La regulación del canal de calcio, a su vez, influye grandemente en la actividad eléctrica y mecánica del corazón.

A diferencia de las células cardíacas, en neuronas sensitivas, aunque la actividad del canal de calcio también es afectada por los nucleótidos cíclicos (Fedulova, Kostyuk y Veselowsky, 1981), la noradrenalina ejerce su acción sin la participación de éstos.

La regulación farmacológica consiste en que algunos fármacos

cos, como el verapamil, la nifedipina y el tiapamil, inhiben la entrada de calcio a la célula, esto es, son antagonistas del canal lento, mientras que otros como el Bay K 8644 facilitan la entrada de calcio a la célula, es decir son agonistas del canal lento (Schramm y col., 1983).

Los canales de calcio también se pueden distinguir por su diferente sensibilidad farmacológica, por ejemplo, los tipos L pero no los tipos T ó N, son influenciados por las 1-4 dihidropiridinas (Nilius, Hess, Lansman y Tsien, 1985), una clase de fármacos con amplia aplicación terapéutica; siempre ha llamado la atención que estos bloqueadores de canal de calcio tienen efectos marcados en el músculo liso y cardíaco, pero no en el sistema nervioso central. Por otro lado también llama la atención que las acciones de los inhibidores de canal lento sobre las diversas estructuras cardiovasculares, sean diferentes, cuando en teoría, si lo que hacen es inhibir la entrada de calcio a las células, debieran ser semejantes.

Es probable que los tipos de canal lento se distribuyan en proporciones muy diferentes en los tejidos cuyas funciones son influenciadas por el calcio, así se podría explicar que las dihidropiridinas sólo afectan al músculo liso y cardíaco y no al sistema nervioso, si se propone que existen más canales de calcio tipo L en el músculo liso y cardíaco que en las neuronas, donde quizás predominen los otros dos tipos de canales.

Resultaría muy interesante investigar con más detalle

las densidades respectivas y la sensibilidad farmacológica de los diferentes tipos de canal lento, en los diversos tejidos, lo que también ayudaría a dilucidar el significado funcional de cada tipo de canal de calcio.

**Efecto del  $\text{Ca}^{2+}$  sobre la regulación de la fosforilación oxidativa.**

El efecto del  $\text{Ca}^{2+}$  sobre la fosforilación oxidativa ha sido extensamente estudiado, y hay un acuerdo general de que concentraciones por arriba de  $10^{-6}\text{M}$  inhiben dicho proceso. En un trabajo de Moreno (1985), además de confirmar lo anterior, se encontró que con una concentración de  $10^{-6}\text{M}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , tiene lugar la máxima velocidad de síntesis de ATP. Este trabajo es muy interesante pues en él se estudia el efecto sobre la fosforilación oxidativa, de concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  comparables a las fisiológicas, esto es menores que  $10^{-6}\text{M}$ .

Los resultados de este trabajo mostraron como estas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  externo regulan la velocidad de síntesis de ATP. Al exponer la mitocondria a una concentración extramitocondrial de  $\text{Ca}^{2+}$  de  $10^{-9}\text{M}$  (una concentración en la que la fosforilación oxidativa es 30% menor que con una concentración de  $10^{-6}\text{M}$ ), la cantidad de  $\text{Ca}^{2+}$  interno cayó a 10 nmol/mg de proteína después de 5 min de incubación; mientras que durante la incubación con  $10^{-6}\text{M}$  de  $\text{Ca}^{2+}$  externo, la concentración de calcio intramitocondrial se mantuvo en 20 nmol/mg, una concentración aproximadamente igual a la de la preparación al inicio del experimento.

También se demostró que la velocidad de síntesis de ATP en la mitocondria es un proceso dependiente del tiempo cuando se incuban con  $\text{Ca}^{2+}$  a  $10^{-9}\text{M}$ ; aparentemente, conforme el  $\text{Ca}^{2+}$  se sale de la mitocondria, la velocidad de fosforilación oxidativa disminuye gradualmente. En cambio cuando se incubaba con  $10^{-6}\text{M}$  la velocidad de la respiración no se modifica de manera importante, ya que el  $\text{Ca}^{2+}$  interno se mantiene en un nivel constante de aproximadamente 20 nmol por mg de proteína. Todos estos resultados demuestran que el nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  intra mitocondrial, modulado por las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  exter no influyen en la velocidad de fosforilación oxidativa.

Aquí surge la pregunta de cómo es que el  $\text{Ca}^{2+}$  intra mitocondrial afecta la cinética de la síntesis de ATP. Esta pregunta se puede contestar aunque sea parcialmente si se toma en consideración que dos enzimas que podrían regular la velocidad de la fosforilación oxidativa son la sintetasa de ATP y el translocador de adenin nucleótidos.

En el trabajo de Moreno, el análisis de la curva de inhibición de la respiración en estado 3, inducida por oligomicina, reveló que el control ejercido por la sintetasa de ATP fué mayor con  $10^{-9}\text{M}$  que con  $10^{-6}\text{M}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , pues se observó que cuando se incubaban las mitocondrias con esta última concentración se requería más oligomicina para producir un cambio en la pendiente inicial de la curva de inhibición. Esto último está de acuerdo con que los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  pueden afectar la inte racción de la proteína inhibidora con la sintetasa de ATP (No-

reno 1985), afectando así el número de enzimas funcionales.

Por otro lado, Moreno también analizó los efectos del carboxiatractilosido sobre la respiración en estado 3 y mostró que el grado de control ejercido por el translocador de adenin nucleótidos sobre la fosforilación oxidativa es significativamente diferente en presencia de  $10^{-9}M$  que en presencia de  $10^{-6}M$  de  $Ca^{2+}$ , siendo varias veces mayor en el último caso que en el primero. El autor concluyó de estos resultados, que si el grado de control de este acarreador es diferente con las dos concentraciones de  $Ca^{2+}$  estudiadas, entonces la contribución cuantitativa de otros pasos en la fosforilación oxidativa, necesariamente también sufrirían modificación. Finalmente el autor concluye que el hecho de que las variaciones en el control, dependientes de  $Ca^{2+}$ , ejercido por la sintetasa de ATP y el translocador de adenin-nucleótidos ocurran en dirección opuesta, sugiere que las variaciones en las concentraciones de  $Ca^{2+}$  extramitocondrial, dentro de límites fisiológicos, modifican cuantitativamente la contribución de múltiples puntos de control, involucrados en la cinética total de la síntesis de ATP.

Actualmente, no es posible asegurar el mecanismo por el cual las concentraciones de  $Ca^{2+}$  intramitocondrial inducen los cambios antes mencionados en la cinética de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, una posibilidad sería que el  $Ca^{2+}$  actúe como un regulador alostérico de algunas enzimas involucradas en el proceso de fosforilación oxidativa, por lo

menos de la sintetasa de ATP y el acarreador de adenin-nucleótid<sup>o</sup>s.

#### Acciones de la Nifedipina y el Verapamil.

Como se mencionó en la introducción, en un trabajo anterior de nuestro laboratorio (Bárce<sup>n</sup>as y col. 1983), se evaluaron los efectos de dos bloqueadores de canal lento, la nifedipina y el verapamil, sobre la contractilidad, el flujo coronario y el consumo de O<sub>2</sub> del corazón en un preparado cardiopulmonar, y se encontraron marcadas diferencias entre los efectos de cada compuesto. Mientras que el verapamil disminuyó la contractilidad y el trabajo del corazón y produjo un aumento discreto en el flujo coronario, la nifedipina no modificó el inotropismo, triplicó el flujo coronario y disminuyó el consumo de O<sub>2</sub> del corazón.

La disminución en el consumo de O<sub>2</sub> del corazón que produjo la nifedipina es un hallazgo muy interesante, pues no se puede atribuir a modificaciones en la frecuencia cardíaca, pre-carga o postcarga, ya que todos estos parámetros se mantuvieron constantes en estos experimentos. También es importante hacer énfasis en que, como se demuestra en ese trabajo, dicha disminución no puede ser consecuencia de una depresión de la contractilidad. De estas consideraciones se desprende que la única explicación posible para este efecto de la nifedipina, es que ésta interviene de alguna manera en el metabolismo de la célula cardíaca.

Entonces, tomando en consideración los antecedentes de Nowycky, Fox y Tsien (1985), Nilius y col. (1985), Bárcenas y col. (1983) y Moreno (1985), se decidió evaluar en este trabajo un nuevo bloqueador del canal lento, el tiapamil, sobre la contractilidad, el flujo coronario y el consumo de  $O_2$  del corazón, en un preparado cardiopulmonar modificado.

#### Ventaja del Preparado Cardiopulmonar Sobre la Preparación en Animal Integro.

El preparado cardiopulmonar, que se describirá después, ofrece básicamente una ventaja sobre la preparación en animal íntegro: controlar a voluntad tanto la precarga como la post-carga, y en caso de ser necesario, también la frecuencia cardíaca. En contraste, estos parámetros no se pueden controlar en el animal íntegro cuando se pretende valorar los efectos de los bloqueadores de canal lento sobre la función cardíaca y el flujo coronario, pues dichos fármacos modifican esos parámetros debido a que inhiben el paso de calcio a través de la membrana celular de las células excitables (Ellrodt, Chew y Shing, 1980). En el sistema cardiovascular, estos efectos inhibitorios son ejercidos sobre el músculo liso de los vasos coronarios y periféricos y sobre el músculo cardíaco (Bárcenas y col, 1983, Bourassa y col, 1980, Hossack y Bruce, 1981, Chew y col., 1980, Fleckenstein, 1983 a, Simonsen y Nitter Hauge, 1978, Bayer y Epp, 1979, Nakajima y col., 1975).

De lo anterior es fácil entender que los efectos terapéu

ticos de estos fármacos en el animal íntegro, son el resultado de una compleja interacción de alteraciones simultáneas en precarga, postcarga, contractilidad, frecuencia cardíaca, conducción aurículo-ventricular y flujo coronario. Por lo tanto, la valoración de los efectos directos de estos compuestos sobre la contractilidad, el flujo coronario y el consumo de  $O_2$  del corazón, se ven grandemente dificultados en preparaciones de animal íntegro. En cambio, se puede utilizar un preparado cardiopulmonar, que permite cuantificar estos parámetros en condiciones que mantienen constantes la precarga, postcarga y frecuencia cardíaca.

#### Determinación de Cambios en la Contractilidad.

Debido a que es fácil confundir el concepto de función ventricular con el de contractilidad y que los métodos que se utilizan para determinar la contractilidad en el corazón intacto generalmente dan lugar a controversia, a continuación se explicará la diferencia entre función ventricular y contractilidad y se mencionará la ventaja y la limitación de la técnica empleada en este trabajo, para medir la contractilidad.

La función ventricular es la capacidad del corazón para generar tensión o acortar sus fibras musculares. Cuando esta capacidad puede determinarse independientemente de variaciones en precarga, postcarga y frecuencia cardíaca, se llama contractilidad.

Influencia de la precarga y postcarga sobre la función ventricular.- El principio de Frank-Starling es uno de los principios fisiológicos más importantes de la función cardíaca y se refiere a la capacidad que tiene el ventrículo intacto para modificar la fuerza de su contracción de un latido a otro, dependiendo de su tamaño inicial, o sea el que tiene al final de la diástole. Este principio se puede expresar de la siguiente manera: "En el músculo cardíaco, la energía mecánica que se libera al pasar del estado de reposo al estado contraído, es función de la longitud de la fibra muscular, esto es, del área de las superficies 'químicamente activas" (Patterson y Starling, 1914).

Patterson y Starling (1914), demostraron con claridad que en cualquier nivel de contractilidad, el volumen latido es una función de la longitud de la fibra muscular durante la diástole (es decir la precarga). También demostraron que cuando se deprime la contractilidad, así como después de administrar un inhibidor de canal lento, se expulsa un volumen latido menor que en condiciones de contractilidad normal, aun que la precarga sea igual o aún mayor.

Sarnoff y Berglund (1954), consideraron el trabajo por latido ventricular como un indicador del funcionamiento cardíaco, y lo estudiaron en un amplio rango de presiones, ya sea auricular media o ventricular al final de la diástole y llamaron a la relación resultante, curva de función ventricular. Se ha considerado que una familia de tales curvas re-

fleja diferentes estados contráctiles y que la posición de una curva dada proporciona una descripción de la contractilidad ventricular. Una sola curva representa el efecto de Frank Starling, esto es el efecto de modificar la precarga. El desplazamiento de toda la curva hacia arriba o hacia abajo significa un efecto inotrópico positivo o negativo respectivamente, o dicho en otras palabras un aumento o depresión de la contractilidad.

Debido a que la magnitud del trabajo por latido depende de la presión arterial, igual que el trabajo de un músculo aislado depende de la postcarga, generalmente las curvas de función ventricular son obtenidas mientras se mantiene constante la presión arterial sistémica (o pulmonar) (Sarnoff y Berglund, 1954; Sonnenblick y Downing, 1963). Entonces, a cualquier nivel de contractilidad, el trabajo por latido es influido por la postcarga; es bajo cuando la presión en el tracto de salida es baja, aumenta a un punto óptimo conforme se aumenta la presión y de nuevo disminuye, hasta llegar a cero, cuando la postcarga es lo suficientemente alta como para impedir la expulsión ventricular, es decir cuando la contracción ventricular se vuelve isovolumétrica.

Aún cuando la presión del tracto de salida se mantenga constante, la curva de función ventricular representa una combinación de los efectos de la precarga y la postcarga, debido a que conforme aumenta la precarga, aumenta el tamaño cardíaco, y por la ley de Laplace, la postcarga aumenta aún mante-

niendo constante la presión aórtica. No obstante, las curvas de función ventricular son operantes para detectar un cambio en la contractilidad del corazón, más que para determinar el nivel absoluto de ella.

En estudios de músculo aislado, se define a la precarga como la tensión de reposo (fuerza por área de sección transversal) previa a la estimulación eléctrica. Una extrapolación directa de esta definición al corazón intacto requeriría el cálculo de la tensión de la pared miocárdica al final de la diástole, pero como esto no resulta práctico, se han utilizado algunos índices de precarga ventricular tales como la presión o el volumen al final de la diástole ventricular o la presión auricular media.

En vista de que es más fácil y más preciso medir presión que volumen, en el presente trabajo se prefirió utilizar presión media de la aurícula izquierda como parámetro de precarga.

Por otra parte, no está claro qué parámetro podría reflejar adecuadamente el funcionamiento miocárdico. Sin embargo, ya que el propósito primordial del corazón es aportar sangre a todo el organismo, es indudable que el volumen latido puede reflejar adecuadamente el funcionamiento miocárdico, por lo que para construir las curvas de Starling se decidió graficar en las ordenadas el volumen latido y en las abscisas la presión media de la aurícula izquierda en este trabajo.

Como ya se ha discutido, un desplazamiento hacia arriba y a la izquierda de dicha curva, tradicionalmente se ha interpretado como un aumento en la contractilidad, tomando en consideración que se han mantenido fijas tanto precarga como postcarga. Por otro lado, resulta claro que un desplazamiento hacia abajo y a la derecha correspondería a una disminución en la contractilidad.

Influencia de la frecuencia cardíaca sobre la función ventricular. - También se sabe que un aumento en la frecuencia cardíaca puede mejorar el funcionamiento ventricular, siempre y cuando se mantenga constante el volumen diastólico. Este último se logra al aumentar el retorno venoso, como de hecho sucede en ciertas condiciones como el ejercicio, en donde la taquicardia es uno de los mecanismos más importantes para aumentar el gasto cardíaco (Vatner y col. 1972).

En conclusión, la contractilidad refleja la intensidad del estado activo del músculo cardíaco; a su vez el estado activo se puede considerar como una medida mecánica de los procesos químicos que suceden en el elemento contráctil del músculo y que generan tanto fuerza como acortamiento (Braunwald, Ross y Sonnenblick, 1976).

De todo lo anterior es evidente que los cambios en la contractilidad en una preparación de corazón intacto, sólo se pueden estudiar adecuadamente si se mantienen constantes los otros tres determinantes de la función cardíaca, esto es, pre-

carga, postcarga y frecuencia cardíaca, como de hecho se logra en la preparación corazón-pulmón.

#### MATERIAL Y METODO

Todos los experimentos se realizaron en perros de los dos sexos, que pesaban entre 14 y 17 Kg y que fueron anestesiados por vía intravenosa con pentobarbital sódico a dosis de 30-35 mg/kg.

Se utilizó la técnica del preparado cardiopulmonar modificado (Fig. 1); este consiste esencialmente de dos circuitos, uno de los cuales está integrado de la siguiente manera:

La sangre pasa por presión hidrostática desde un reservorio venoso hacia los pulmones por medio de una cánula insertada en la arteria pulmonar (1). La cantidad de sangre que sale del reservorio "venoso" se puede regular, modificando la altura de este. Una vez que la sangre recorre la circulación pulmonar (2), desemboca en el corazón izquierdo (3) y mediante una cánula insertada en el tronco braquiocéfálico pasa a una resistencia artificial fija a 80 mm Hg (4) y de esta a un medidor de flujo de Stolnikof (5). Se completa el circuito con un sistema de calentamiento termostáticamente controlado (6) para mantener la temperatura de la sangre a 37°C que finalmente pasa al reservorio "venoso" (7).

El otro circuito se forma al separar el corazón derecho (9) del resto de la circulación pulmonar, para ello se inser

ta otra cánula (8) en el tracto de salida del ventrículo derecho para recoger la sangre que en estas condiciones representa el 90% del flujo coronario (Rodbard, Graham y Williams, 1953) y la pasa a un medidor de flujo de Stolnikof (no se muestra en la figura), de ahí la sangre pasa al reservorio "venoso" y sigue el circuito descrito en el párrafo anterior hasta la aorta de donde pasa a la circulación coronaria, para finalmente desembocar en el corazón derecho. Los otros vasos que entran o salen del corazón y que no están involucrados en alguno de los dos circuitos descritos se cierran por medio de ligaduras.

Al separar el corazón derecho de la circulación cardiopulmonar, se puede medir directamente el flujo sanguíneo coronario, así como obtener muestras de sangre venosa coronaria, para poder determinar el consumo de oxígeno del corazón.

En nuestros experimentos se midieron los siguientes parámetros: 1) gasto sistémico; 2) flujo coronario; 3) presión de la aurícula izquierda; 4) presión aórtica; 5) frecuencia cardíaca, 6) porcentaje de saturación de oxígeno en la sangre arterial y venosa y 7) hematocrito.

Los gastos sistémico y coronario, se midieron con medidores de flujo de Stolnikof, Las presiones de las aurículas izquierda y aórtica se midieron a través de cánulas conectadas a transductores de presión que se conectaron a un polígrafo.

La frecuencia cardíaca se obtuvo de electrogramas ventri-

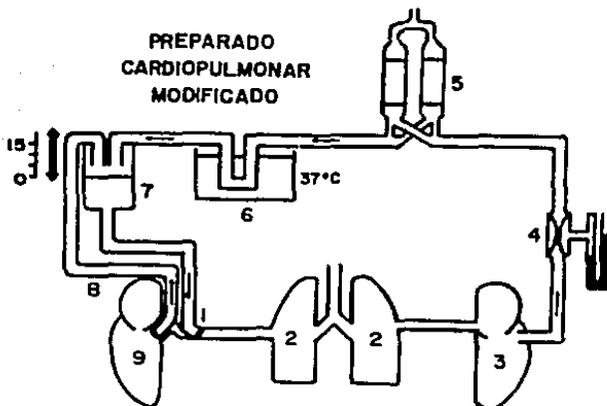


Figura 1.- Diagrama del preparado cardiopulmonar modificado: 1) arteria pulmonar, 2) pulmones, 3) corazón izquierdo, 4) resistencia artificial de Starling, 5) medidor de flujo, 6) sistema de calentamiento termostáticamente controlado, 7) reservorio "venoso" movable hacia arriba y hacia abajo, 8) tubo que recoge el flujo sanguíneo coronario, 9) corazón derecho. Para más detalles vease el texto.

culares registrados en el polígrafo, Los porcentajes de saturación de oxígeno en las muestras de sangre se determinaron con el método espectrofotométrico de Falholt (Falholt, 1963), y

los valores de volumen sistólico, trabajo, consumo de  $O_2$  y eficiencia se determinaron, conforme fórmulas clásicas (Braunwald, 1969 y Simann, Fawaz y Jarawan, 1971).

De todos los experimentos, el nivel de referencia, cero, del reservorio venoso se consideró a una altura constante de 10 cm por arriba del corazón, que equivale a condiciones de reposo. Para estudiar la capacidad del corazón para responder a un mayor "retorno venoso", el nivel del reservorio se elevó a varias alturas por encima de cero.

El protocolo experimental consistió de las siguientes etapas:

En la primera etapa se elevó el reservorio venoso desde un nivel 0, a 5, 10 y 15 cm. En cada altura del reservorio se determinaron todos los distintos parámetros y se tomaron muestras de sangre para determinar el consumo de oxígeno; la segunda y tercera etapa consistieron en administrar dos dosis iguales de tiapamil, una en cada etapa respectivamente, para que 30 minutos después de la administración de cada una de las inyecciones se repitiera la determinación de todos los parámetros en las diversas alturas del reservorio.

Las dosis estudiadas de tiapamil fueron de 0.25, 0.5 y 1 mg en grupos de 10 experimentos para cada una de ellas. Estas dosis corresponden al intervalo de concentraciones plasmáticas que se han reportado al administrar dosis terapéuticas a pacientes (Wendt, 1982).

El análisis estadístico de los datos experimentales consistió en la prueba de "t" pareada, tomando como límite de significancia a  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

### Efectos del Tiapamil Sobre la Contractilidad.

Las gráficas de la figura 2 muestran la relación entre el volumen de expulsión sistólica y la presión auricular izquierda. Los símbolos en cada curva representan los valores promedio y errores estandar de los datos obtenidos a cada altura del reservorio venoso, en las distintas etapas del protocolo experimental.

Las partes A B y C de la figura muestran los efectos de 0.25, 0.5 y 1.0 mg de tiapamil respectivamente sobre la contractilidad. En estas gráficas, los valores marcados con C corresponden a las determinaciones control, los marcados con 1 fueron medidos 30 minutos después de la primera administración de la dosis correspondiente y los identificados con 2, representan los determinados a los 30 minutos después de la segunda administración, que fué igual a la primera; se observa que el efecto del tiapamil sobre la contractilidad es dependiente de la dosis, entre más grande es esta, mayor es el desplazamiento de las curvas hacia la derecha y abajo, lo que significa que el tiapamil produce un efecto inotrópico negativo, que es más acentuado con la dosis de 1 mg. Refiriéndose al último valor de las curvas, después de la 2a. adminis

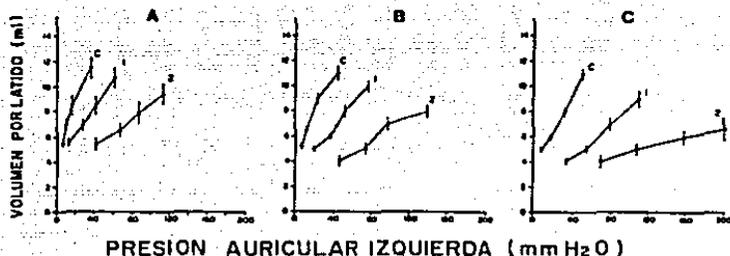


Figura 2.- Efectos del Tiapamil sobre la relación entre presión auricular izquierda y volumen por latido. Las partes A, B y C de la figura muestran los resultados obtenidos con 0.25, 0.5 y 1.0 mg de Tiapamil respectivamente. En cada gráfica la curva marcada con C representa las condiciones control y las curvas 1 y 2, los efectos del Tiapamil. La curva 1 se obtuvo 30 minutos después de administrar la primera dosis y la curva 2, 30 minutos después de administrar la segunda dosis.

tracción de 1 mg, se necesitó una precarga 4 veces más grande que en condiciones control, para expulsar un volumen sistólico, aproximadamente, 50% menor que en control. En un trabajo anterior de nuestro laboratorio se hizo un grupo de experimentos control, en el cual se llevó a cabo todo el protocolo

experimental, pero en vez de administrar el Tiapamil entre cada una de las curvas se administró solución salina (Bárceñas y col. 1983). el hecho de que en el presente trabajo, con todas las dosis de tiapamil estudiadas se produjeron cambios más grandes que en el grupo de experimentos control, permite descartar que el desplazamiento de las curvas sea consecuencia del simple deterioro de la preparación con el tiempo.

#### Efectos del Tiapamil sobre el Consumo de $O_2$ .

En la figura 3 se grafica la relación entre el trabajo total y el consumo de  $O_2$  del corazón. Las partes B, C y D muestran los efectos del tiapamil a dosis de 0.25, 0.5 y 1.0 mg respectivamente.

Las gráficas están organizadas de manera semejante que la anterior, es decir, las curvas marcadas con C corresponden a las determinaciones hechas en condiciones control y, las marcadas con 1 y 2, corresponden a las determinaciones hechas después de administrar el tiapamil, 30 minutos después de la primera dosis, curva 1, y 30 minutos después de la segunda dosis (igual a la primera), curva 2.

Como se menciona anteriormente, Bárceñas y col. (1983) realizaron un grupo de experimentos control en el preparado cardiopulmonar modificado (Ver: Efectos del Tiapamil Sobre la Contractilidad) y en cuanto al consumo de oxígeno encontraron que entre las dos primeras etapas experimentales (curvas c y 1), no hubo diferencias significativas, pero la curva 2, que se

obtuvo 60 minutos después de la curva control, se desplazó claramente hacia arriba lo que significa que en esas condiciones, el corazón consume más oxígeno para realizar la misma cantidad de trabajo que en condiciones control.

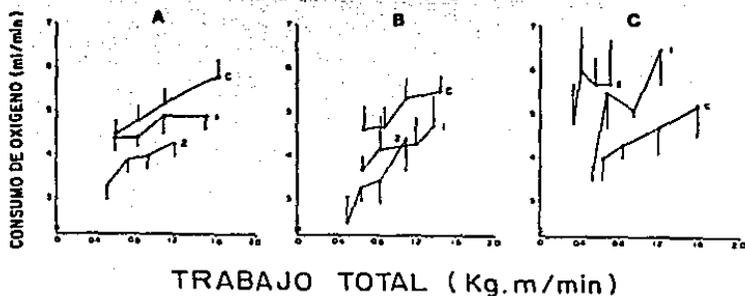


Figura 3.- Efectos del Tiapamil sobre la relación entre trabajo total y consumo de oxígeno del corazón. Las partes A, B y C de la figura muestran los resultados obtenidos con 0.25, 0.5 y 1.0 mg de tiapamil respectivamente. Los símbolos en cada gráfica tienen el mismo significado que en la figura 2.

En las partes A y B de la figura 3 se observa que el tia-

tiapamil a dosis de 0.25 y 0.5 mg produce que las curvas 1 y 2 se desplacen hacia abajo de la curva control, efecto que es más claro con la dosis de 0.25 mg. A primera vista parecería que el efecto del tiapamil sobre el consumo de oxígeno del corazón es discreto, sin embargo hay que considerar que el compuesto a estas dosis, no sólo produjo un desplazamiento de las curvas 1 y 2 hacia abajo de la curva control, sino que además evitó el desplazamiento de las curvas 1 y 2 hacia arriba de la curva tomada al tiempo cero, como se observó en el grupo de experimentos control, y dicho desplazamiento significó un incremento de hasta un 50% en el consumo de oxígeno.

En la parte C de la figura, se puede ver que con la dosis de 1.0 mg de tiapamil, las curvas se desplazan hacia arriba de la curva control, de una manera semejante a como se observó en el grupo de experimentos control (Bárcenas y col. 1983), es decir, el corazón consume una mayor cantidad de oxígeno para realizar una misma cantidad de trabajo que en condiciones control. Por ejemplo, en la parte C de la figura 3, si se compara el último valor de la curva 2 con el valor correspondiente en la curva control, se observa que después de haber administrado el compuesto, el corazón requiere consumir aproximadamente un 50% más oxígeno que en condiciones control.

Efectos del tiapamil sobre el Flujo Sanguíneo Coronario.

La figura 4 muestra los efectos del fármaco sobre los di

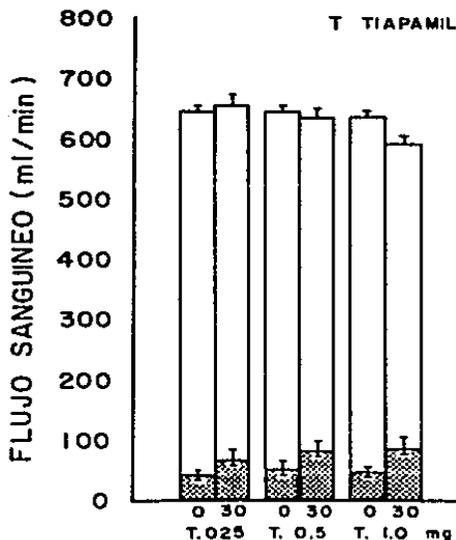


Figura 4.- Efectos del Tiapamil sobre los diferentes flujos de sangre medidos en el preparado cardiopulmonar modificado. La altura total de cada barra representa el gasto cardíaco, que es la suma del gasto sistémico (porción blanca) y el flujo sanguíneo coronario (porción oscura). Los números en la parte inferior representan el tiempo transcurrido en minutos después de la administración del fármaco a las dosis indicadas.

ferentes flujos de sangre que se pueden medir en el preparado cardiopulmonar modificado. Todos los valores que se muestran en la figura, fueron obtenidos a la altura cero del reservorio venoso. Los datos a las otras alturas se comportaron de manera muy semejante a estos. Se graficaron los valores promedio y los errores estandar. La amplitud total de las barras representa el gasto total, la parte obscura el gasto coronario (en este caso el error estandar se graficó hacia abajo) y la parte clara el gasto sistémico.

Cada par de barras corresponde a las primeras dos etapas experimentales, esto es, antes de administrar el tiapamil y 30 minutos después de haberlo administrado a las dosis que se indican en la parte inferior de la figura. Se puede ver que los efectos son dependientes de la dosis, ya que la dosis de 0.25 mg incrementó el flujo coronario en un 50%, la de 0.5 mg en un 60% y la de 1.0 mg en un 100%.

Si se compara el efecto de 1.0 mg de tiapamil sobre el flujo coronario, esto es, un incremento de un 100%, con el efecto de 10 mcg de nifedipina sobre el mismo parámetro, que fué un incremento del 300% (Bárcenas y col. 1983), se puede decir que el tiapamil tiene un menor efecto vasodilatador coronario.

Los efectos del tiapamil y la nifedipina sobre el flujo coronario medido en esta preparación, es mayor que el cambio observado en el grupo de experimentos control, en el cual el flu

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

jo coronario a los 30 minutos sólo fué un 33% mayor que en el tiempo cero (Bárceñas y col. 1983).

Por otro lado, el tiapamil produjo una disminución en el gasto sistémico, y esta disminución fué mayor conforme se aumentó la dosis. Si se toma en consideración que el fármaco no produjo alteraciones significativas en la frecuencia cardíaca, esta observación está de acuerdo con el efecto inotrópico negativo de este medicamento que también fué mayor conforme se aumentó la dosis (veanse las curvas de Starling en la figura 2).

#### DISCUSION

De los resultados de este trabajo, es claro que las acciones del tiapamil dependen de la dosis, por ejemplo, los efectos sobre el inotropismo y la eficiencia cardíaca de la dosis de 1.0 mg se parecen más a los producidos por el verapamil, mientras que los de las dosis de 0.5 y 0.25 mg se parecen a los de la nifedipina.

Para explicar la dependencia de la dosis de los efectos del tiapamil y las diferencias entre los efectos de los distintos antagonistas de canal lento, podemos proponer, con base en los resultados del grupo de Tsien que demuestran la existencia de dos tipos de canales lentos, T y L, en la membrana de la célula cardíaca (ver la sección de antecedentes), que estos se distribuyen en proporciones diferentes entre los

tejidos cardiovasculares y que la afinidad de los diversos antagonistas de canal lento es distinta para cada uno de los canales de calcio. Entonces, proponemos de manera especulativa:

1o.- Que hay una mayor densidad de canales tipo T en el músculo cardíaco que en el músculo liso vascular de las arterias coronarias y una mayor densidad de canales tipo L en las arterias coronarias que en el músculo cardíaco.

2o.- Que el tiapamil tiene mayor afinidad por los canales tipo L que por los canales tipo T.

Así se podría explicar que sólo la dosis más alta de tiapamil produjo un marcado efecto inotrópico negativo, mientras que aún con la dosis más baja de las que se utilizaron en este trabajo, se produjo un aumento significativo en el flujo coronario.

Por otro lado, los antagonistas de canal lento no sólo inhiben la entrada de calcio a la célula, sino que también pueden afectar otros aspectos de la función celular como por ejemplo el metabolismo energético.

En nuestros experimentos encontramos que el tiapamil disminuyó el consumo de  $O_2$  del corazón, en condiciones en que dicho efecto no se podía atribuir a variaciones en precarga, postcarga, frecuencia cardíaca ni contractilidad, factores que podrían influir, en el consumo de  $O_2$  del corazón. Por lo tanto, la disminución en el consumo de  $O_2$  que produjeron las dosis de 0.25 y 0.5 mg de tiapamil, sólo se puede explicar, si

esta sustancia afecta de alguna manera el metabolismo energético.

Moreno (1985) demostró que cuando las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  intramitocondrial disminuían ligeramente por debajo de  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  aumentaba la eficiencia metabólica de las mitocondrias. Este hallazgo llama la atención, ya que durante la activación la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citoplásmico se eleva hasta  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  (Peón y Kabela, 1981), por lo que se podría plantear de manera especulativa que la disminución en el consumo de  $\text{O}_2$  producida por el tiapamil, puede ser el resultado de un efecto indirecto de esta sustancia; esto es, al inhibir la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a la célula cardíaca, se disminuiría la concentración extramitocondrial de  $\text{Ca}^{2+}$ , quizás a un nivel en el cual la mitocondria empezaría a perder  $\text{Ca}^{2+}$  hasta lograr un estado de mayor eficiencia metabólica.

Esta posibilidad está de acuerdo con los resultados de Lavanchy y col. (1986), quienes estudiaron el efecto del diltiazem sobre el metabolismo energético del corazón aislado de la rata sometido a isquemia. Estos autores reportaron que el contenido de ATP y fosfato de creatinina aumentaron significativamente después de 30 minutos de perfusión normóxica en presencia de  $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$  de diltiazem, esto es, una dosis que no produjo una depresión significativa de la contractilidad.

Otra alternativa para explicar la disminución en el consumo de oxígeno, es que el tiapamil difunda al interior de la

célula y el mismo afecte el proceso de fosforilación oxidativa, actuando de manera semejante que la oligomicina o el carboxiatractilosido, esto es, disminuyendo la velocidad de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, la interpretación no puede ser tan simple, pues si ese fuera el caso, la sustancia sería tan tóxica que no podría emplearse en la terapéutica médica, y la evidencia hasta el momento, indica que su utilización clínica ha resultado exitosa (Chu y De Gori, 1982, Menzel y Kirchner, 1982. Gasic; 1982).

Otro aspecto difícil de explicar, es el por qué sólo las dosis de 0.25 y 0.5 mg producen disminución del consumo de oxígeno. Aunque en nuestra opinión la evidencia bioquímica hasta el momento es insuficiente para explicar estas observaciones, es un hecho que el tiapamil en las condiciones ya mencionadas produce un incremento en la eficiencia miocárdica, y podría pensarse que este último de sus efectos sea el resultado del balance entre los efectos de este compuesto sobre el metabolismo y sobre la contractilidad. Esto es, mientras que los efectos sobre el metabolismo disminuyen el consumo de oxígeno, los efectos negativos sobre la contractilidad lo aumentan; de tal manera, sólo con las dosis de 0.25 y 0.5 mg del compuesto, que produjeron el menor efecto inotrópico negativo, se pudo observar la disminución en el consumo de oxígeno del corazón.

De nuestros resultados se puede obtener dos conclusiones:

1o. Los efectos de los antagonistas de canal lento sobre el sistema cardiovascular son diferentes para cada compuesto, y al menos en el caso del tiapamil, los efectos también pueden depender de la dosis. Estas observaciones se pueden explicar por una diferente afinidad entre los antagonistas de canal lento, por el músculo liso vascular y el cardíaco.

2o. Probablemente el tiapamil actuó directamente sobre el metabolismo de la célula cardíaca de manera tal que disminuye el consumo de oxígeno del corazón con ciertas dosis.

Estas dos conclusiones pueden tener gran trascendencia pues ayudarían a utilizar estas sustancias de manera más racional en la terapéutica médica, si no se utilizan bajo la suposición de que todas tienen efectos semejantes

## REFERENCIAS

- Bárceñas, L., Salinas, E. Ibarra, J., Arteaga, D. y Kabela E. (1983) Efectos contrastantes de dos inhibidores de canal lento sobre la contractilidad el flujo coronario y el consumo de oxígeno. Comparación con las acciones del dipiridamol. VII Congreso Nacional de Farmacología, México, Puerto Vallarta, Jal.
- Bassingthwaighte, J.B. and Reuter, H. (1972) Calcium movements and excitation contraction coupling in cardiac cells 354-395 In: Walmor C. De Mello (Ed), Electrical phenomena in the heart. Academic Press, New York.
- Bayer, R., Epp, G. (1979) Effects of RO 11-1781 on electrical properties of isolated cat myocardium. Arch. Pharmacol 307: R40.
- Bourassa, M.G., Cote, P., Theroux, P., Tubau J.E. Genain C. and Waters, D.D. (1980) Hemodynamics and coronary flow following diltiazem administration in anesthetized dogs and humans. Chest. 78 (Suppl. 1): 224-230.
- Borsotto, M., Barhanin, J., Norman, R.I. and Lazdonski M. (1984) Purification of the dihydropyridine receptor of the voltage dependent channel from skeletal muscle transverse tubules using (+) [3H] PN 200-110 Biochem and Biophys. Res. Commun. 122: 1357-1377.
- Braunwald, E. (1969) Thirteen Bowditch Lecture. The determinants of myocardial oxygen consumption. The Physiologist 12: 65.
- Braunwald, E., Ross, J. Jr. and Sonnenblick, E.H. (1978) Mechanisms of contraction of the normal and failing heart, Little Brown, Boston.
- Carbone, E. and Lux, H.D. (1984) A low voltage activated, fully inactivating Ca channel in vertebrate sensory neurones. Nature 310: 501-502.
- Chew, C.Y.C., Brown, B.G., Singh, B.N., Hecht, A.S., Schunugg, S.J., Wong, M., Shah, P.M., Dodge, H.T. (1980): Mechanism of action of verapamil in ischemic heart disease. Observations on changes in systemic and coronary vasomobility. Clin. Invest. Med. 3: 151.
- Chu, D., De gori, D. (1982) Antihypertensive effect of tiapamil, a calcium antagonist, Double-Blind Placebo crossover study. Cardiology 69 (Suppl. 1): 99-104.

Ellrodt, G., Chew, C.Y.C., Singh, B.N. (1980) Therapeutic implications of slow channel blockade in cardiocirculatory disorders. Circulation 62: 669-679.

Evans, C.L. and Matsuoka, Y. (1915) The effect of various mechanical conditions on the gaseous metabolism and efficiency of the mammalian heart. J. Physiol. London 49: 378-405.

Falholt, W. (1963) Blood oxygen saturation determine spectro photometrically. Scand. J. Clin. Invest. 15: 67-72.

Fedulova, S.A., Kostyuk, P.G. and Veselowsky, N.S. (1981) Calcium channels in the somatic membrane of the rat dorsal root ganglion neurons, effects of cAMP. Brain Res 214, 210-214.

Fleckenstein, A. (1983 a) Outstanding antianginal potency of calcium antagonist in vasospastic coronary disease 297-303 In: Albrech Fleckenstein (Ed.), Calcium Antagonism in Heart and Smooth Muscle. Wiley Interscience, New York.

Fleckenstein, A. (1983 b) The practical significance of calcium antagonists in cardiovascular therapy 286-320 In: Albrech Fleckenstein (Ed.), Calcium Antagonists in Heart and Smooth Muscle. Wiley interscience, New York.

Fleckenstein, A. (1983 c) Discovery and mechanism of action of specific calcium-antagonistic inhibitors of excitation-contraction coupling in the mammalian myocardium 34-108 In: Albrech Fleckenstein (Ed.), Calcium Antagonism in Heart and Smooth Muscle. Wiley Interscience, New York.

Gasic, S. (1982) Acute antianginal effect of Tiapamil Cardiology 69 (Suppl. 1) 209-224.

Gilmour, R.F. and Zipes, D.P. (1985) Slow inward current and cardiac arrhythmias. Am. J. Cardiol 55: 89 B)

Haeusler, G., Eigenmann, R., Gerold, M., Hefti, F., Jovanovic, D., Blaber, L., Nakamura, K., Thorens, S. (1982) Overview on the pharmacological and Toxicological characterization of the calcium antagonist Tiapamil. Cardiology 69 (Suppl. 1): 31-57.

Hossack, K.F. and Bruce, R.A. (1981) Improved exercise performance in persons with stable angina pectoris receiving diltiazem. Am. J. Cardiol. 47: 95-501.

Hodkin, A.L. and Huxley, A.F. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol. London 117: 500-544

Lavanchi, N. Martín, J. and Rossi, A. (1986) Effects of diltiazem on the energy metabolism of the isolated rat heart submitted to ischaemia; a  $^{31}\text{P}$ NMR study. J.M. Cell Cardiol 18, 931-941.

Menzel, T., Kirchner, P. (1982) Parenteral Tiapamil treatment of arrhythmias in cardiac patients Cardiology 69 (Suppl. 1): 192-197.

Moreno Sánchez, R. (1985) Regulation of oxidative phosphorylation in mitochondria by external free  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations J. Biol. Chem. 260: 4028-4034.

Nakajima, H., Hoshiyama, M., Jamashita, K. and Joyomoto, A. (1975) Effects of diltiazem on electrical and mechanical activity of isolated cardiac ventricular muscle of guinea pig. JPN. J. Pharmacol. 25: 383-392.

Nilius, B., Hess, P., Lansman, J.B. and Tsien, R.W. (1985) A novel type of cardiac calcium channel in ventricular cells Nature 316: 443-446.

Nowycky, M.C., Fox, A.P. and Tsien, R.W. (1985) Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity Nature 316: 440-443.

Patterson, W.W. and Starling E.M. (1914) On mechanical factors which determine output of ventricles. J. Physiol. London 48: 357-379.

Peón, J. y Kabela E. (1981) Análisis de los factores que determinan la contractilidad cardíaca y su influencia en la regulación de la función ventricular Arch. Inst. Cardiol. Méx. 51: 571-589.

Reuter, H. (1983) Calcium channel modulation by neurotransmitters, enzymes and drugs. Nature 301: 569-574.

Rodbard, S., Graham, G.R. and Williams, F. (1953) continuous and simultaneous measurement of total coronary flow, venous return and cardiac output in the dog. J. Appl. Physiol. 6, 311-314.

Sarnoff, S.J., and Berglund E. (1954) Ventricular function, I. Starling's law of the heart studied by means of simultaneous right and left ventricular function curves in the dog. Circulation 9: 706-718.

Schramm, M., Thomas, G., Towart, R. and Franckowiak, G. (1983) Novel dihydropyridines with positive inotropic action through activation of  $\text{Ca}^{2+}$  channels Nature 303: 535-537.

Simann, J., Fawaz, G. and Jarawan, S. (1971) The effect of ouabain induced contractility on myocardial oxygen consumption. Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol 271: 249.

Simonsen, S., Nitter-Hauge, S. (1978) Effects of nifedipine ("Adalat") on coronary hemodynamics in patients with coronary arteriosclerotic disease. Acta. Med. Scand. 204: 179-184.

Singh, B.N., Baky, S. and Nademane, K. (1985) Second generation calcium antagonist search for greater selectivity and versatility Am. J. Cardiol. 55: 214 B.

Sonnenblick, E.H. and Downing, S.E. (1963) Afterload as a primary determinant of ventricular performance. Am. J. Physiol. 204: 604-610.

Vatner, S.F., Franklin, D., Higgins, C.B., Patrick, T. and Braunwald, E. (1972) Left ventricular response to severe exertion in untethered dogs. J. Clin. Invest. 51: 3052-3060.

Wendt, G. (1982) Pharmacokinetics and metabolism of Tiapamil. Cardiology 69 (Suppl. 1): 68-78.

Winniford, Willerson and Hillis (1982) Calcium antagonists in the treatment of individuals with ischemic heart disease. Angiology 33: 522-539.