

11281



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**“ESTUDIOS FUNCIONALES DE LOS SUBTIPOS
DE RECEPTORES α_1 -ADRENÉRGICOS Y DE
ANGIOTENSINA II (AT₁) EN LA INSUFICIENCIA
CARDIACA POST-INFARTO MIOCÁRDICO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTORA EN
CIENCIAS BIOMÉDICAS**

P R E S E N T A :

M. en C. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR

COMITÉ TUTORAL:

**TUTOR: DR. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA
COTUTORA: DRA. DIANA LUZ ARTEAGA BARCAZ
COTUTOR. DR. ENRIQUE HONG CHONG**



MÉXICO, D.F., FEBRERO 2004.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**“ESTUDIOS FUNCIONALES DE LOS SUBTIPOS DE RECEPTORES
 α_1 -ADRENÉRGICOS Y DE ANGIOTENSINA II (AT₁) EN LA INSUFICIENCIA
CARDIACA POST-INFARTO MIOCÁRDICO”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

PRESENTA

M. en C. LUISA MARTINEZ AGUILAR

COMITÉ TUTORAL

**DR. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA
TUTOR**

**DRA. DIANA LUZ ARTEAGA BARCAZ
COTUTORA**

**DR. ENRIQUE HONG CHONG
COTUTOR**

MÉXICO D. F., FEBRERO 2004

Agradecimientos

El alto ejemplo como Padre y Madre, me ha permitido continuar en el camino de la verdad, del conocimiento, del trabajo, de la dedicación, de la ayuda, de la satisfacción y del amor a lo que he realizado.

A mis hermanos que siempre hemos mantenido la unión con la finalidad de proporcionar un apoyo moral: Jácome, Ana, Blas, Eduardo, Juana, Guadalupe, Cayetano, Rosa, Margarita, Alicia[†] y Bernabé

Gracias a tres estrellas, que me han permitido continuar en esta brillante carrera de la ciencia: Ramón, mi amor y compañero de mi vida, Miriam Montserrat y Moisés, mis motivos de superación y orgullo

Dr. Rafael Villalobos, gracias por todo el apoyo y enseñanzas que me brindó para la realización de este trabajo, que no sólo han culminado en mí, sino que además, éstas se han aplicado en todo mi trabajo profesional

Al Departamento de Farmacobiología CINVESTAV-IPN por permitirme llevar acabo la parte experimental de mi trabajo de tesis

Agradezco al CONACYT por su apoyo económico que me brindó y me permitió continuar con mi Superación Académica.

Agradezco a la FES-Cuautitlán por su apoyo para realizar mis Estudios de Doctorado y en especial a una persona muy crítica y noble: Bióloga Elba Martínez Olguín.

A Ma Eugenia Cid Martínez, quien mostró ser una persona muy eficiente y dedicada en su trabajo, gracias por tu apoyo y amistad

Al técnico Julio Sánchez por el apoyo que me brindó en el trabajo de laboratorio y por su amistad.

A la Dra Diana Luz Artega y Dra Guadalupe Baños, por el apoyo y comentarios críticos en mis trabajos. Gracias a la ciencia, hemos mantenido una bella comunicación y amistad.

A la M. en C. Ma Luisa Arias Mendoza y Sra Celia por su amistad y apoyo

Al H. Jurado, por sus comentarios y críticas al manuscrito de esta tesis:

<i>Presidente</i>	<i>Dr. Enrique Piña Garza</i>
<i>Secretario</i>	<i>Dr. Rafael Villalobos Molina</i>
<i>Vocal</i>	<i>Dr. Edmundo Chávez Cossio</i>
<i>Vocal</i>	<i>Dra. Victoria Chagoya Hazas</i>
<i>Vocal</i>	<i>Dr Rolando E. Hernández Muñoz</i>
<i>Suplente</i>	<i>Dr Enrique Hong Chong</i>
<i>Suplente</i>	<i>Diana Luz Arteaga Barcaz</i>

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
GENERALIDADES	1
1) INTRODUCCIÓN	2
1.1 Sistemas de receptores en el miocardio	2
1.2 Receptores adrenérgicos α_1	3
1.3 Receptores a angiotensina II (AT ₁ y AT ₂)	13
1.4 Insuficiencia cardiaca	15
1.5 Receptores adrenérgicos α_1 , β_1 , β_2 y de angiotensina II AT ₁ en la insuficiencia cardiaca	19
1.6 Interacción entre el sistema adrenérgico α_1 y el de angiotensina II	22
1.7 Modelos experimentales para inducir insuficiencia cardiaca	23
1.8 Mecanismo de acción de los inhibidores de la ECA y antagonistas del receptor a angiotensina II	24
2.0 HIPÓTESIS	27
3.0 OBJETIVO GENERAL	27
3.1 Objetivos particulares	28
4.0 MATERIAL Y MÉTODOS	29
4.1 Inducción del infarto miocárdico en la rata	29
4.2 Estudio hemodinámico en la rata	30

	Pág.
4.3 Determinación de la hipertrofia cardiaca	31
4.4 Determinación de la actividad contráctil en la preparación <i>in vitro</i> de tira de ventrículo derecho en presencia y en ausencia de los antagonistas 5-metilurapidil (antagonista α_{1A}), cloroetilclonidina (antagonista α_{1B}) y BMY7378 (antagonista $1D$) en ratas	31
4.5 Estimación de la cantidad de receptores adrenérgicos α_1	32
4.6 Análisis estadístico	33
5.0 RESULTADOS	34
5.1 Determinación de la evolución temporal del infarto miocárdico en la rata	34
5.2 Determinación de la instalación de la insuficiencia cardiaca después de inducir infarto miocárdico, mediante la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en la rata	36
5.3 Determinación temporal del número de receptores adrenérgicos α_1 en ratas control (sham) y con oclusión de la arteria coronaria izquierda	41
5.4 Efecto de la inhibición de la ECA sobre la expresión adrenérgica α_1	42
5.5 Determinación del efecto del captopril, del losartán, del BMY7378 y del propranolol, administrados durante 4 semanas en ratas con oclusión coronaria	43
5.6 Efecto del captopril, del losartán, del BMY7378 y del propranolol sobre el tamaño del infarto en ratas con 4 semanas de oclusión coronaria	46
5.7 Determinación de la respuesta adrenérgica α_1 en tiras de ventrículo derecho en presencia y en ausencia de 5-metilurapidil (antagonista α_{1A}), cloroetilclonidina	

	Pág.
(antagonista α_{1B}) y BMY7378 (antagonista α_{1D}) en ratas sham y con insuficiencia cardiaca	47
5.8 Determinación de la respuesta a angiotensina II en tira de ventrículo derecho de ratas sham y con insuficiencia cardiaca	52
5.9 Determinación de la respuesta adrenérgica α_1 en tiras de ventrículo derecho de ratas tratadas crónicamente con captopril o con losartán	53
6.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	54
7.0 CONCLUSIONES	64
8.0 REFERENCIAS	66

Índice de Cuadros	Pág.
Cuadro 1. Receptores adrenérgicos y sus subtipos	5
Cuadro 2. Caracterización farmacológica de los receptores adrenérgicos α_1	6
Cuadro 3. Receptores de angiotensina II	14
Cuadro 4. Mediadores neurohumorales en la insuficiencia cardiaca	18
Cuadro 5. Modelos experimentales para inducir insuficiencia cardiaca de acuerdo al tipo y especie	24

Índice de Esquemas

Esquema 1. Proceso Fisiopatológico de la Insuficiencia Cardiaca	17
Esquema 2. Mecanismo de acción de los inhibidores de la ECA y antagonistas del Receptor AT ₁	25

Índice de Figuras

Figura 1. Receptores y sus mecanismos de transducción de señales en el corazón humano	3
Figura 2. Densidad de receptores adrenérgicos α_1 de diferentes especies, determinados mediante la unión del radioligando [³ H]prazocina en membranas ventriculares	7
Figura 3. Activación del receptor adrenérgico α_1 acoplado a la proteína G y mecanismo de señalización en el músculo cardiaco	9
Figura 4. Mecanismos propuestos para el efecto inotrópico mediado por los subtipos de receptores α_{1A} y α_{1B}	11

Figura 5. Cantidad de receptores adrenérgicos α_1 y β . Efecto inotrópico positivo de isoprenalina (agonista β) y fenilefrina (agonista α_1) en preparaciones de corazón humano	12
Figura 6. Registros de la actividad hemodinámica de ratas Control (sham) y con Insuficiencia Cardíaca	38
Figura 7. Registro de la actividad contráctil a la fenilefrina en tira de ventrículo derecho	48

Índice de Gráficas

Gráfica 1. Evolución temporal de las dimensiones del miocardio infartado mediante la ligadura de la arteria coronaria izquierda en la rata	35
Gráfica 2. Efectos del 5MU sobre el incremento máximo en el desarrollo de la tensión provocada por 10 μ M de fenilefrina en tira de ventrículo derecho	49
Gráfica 3. Efectos del CEC sobre el incremento máximo en el desarrollo de la tensión provocada por 10 μ M de fenilefrina en tira de ventrículo derecho	50
Gráfica 4. Efectos del BMY7378 sobre el incremento máximo en el desarrollo de la tensión provocada por 10 μ M de fenilefrina en tira de ventrículo derecho	51
Gráfica 5. Respuesta contráctil a Angiotensina II en tira de ventrículo derecho	52
Gráfica 6. Respuesta inotrópica a la fenilefrina en tiras de ventrículo derecho de ratas control, con insuficiencia cardíaca, con captopril y con losartán	53

Índice de Tablas

Tabla 1. Parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con operación falsa y un día de oclusión coronaria	39
Tabla 2. Parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con operación falsa y con una semana de oclusión coronaria	39
Tabla 3. Parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con operación falsa y con tres semanas de oclusión coronaria	40
Tabla 4. Parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con operación falsa y con cuatro semanas de oclusión coronaria	40
Tabla 5. Parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con operación falsa y con seis semanas de oclusión coronaria	41
Tabla 6. Determinación temporal de la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 en ventrículo derecho de ratas control y con oclusión coronaria	42
Tabla 7. Cantidad de receptores adrenérgicos α_1 en ratas controles, con insuficiencia cardíaca (IC) y con captopril (2.5 mg/Kg/día)	43
Tabla 8. Efectos del tratamiento crónico con captopril (2.5 mg/kg) sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con oclusión coronaria	44
Tabla 9. Efectos del tratamiento crónico con losartán (3.0 mg/kg) sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con oclusión coronaria	45
Tabla 10. Efectos del tratamiento crónico con BMY7378 (1.0 mg/kg/día) sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con oclusión coronaria	45

Tabla 11. Efectos del tratamiento crónico con propranolol (1.0 mg/kg/día sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con oclusión coronaria 46

Tabla 12. Porcentaje de área infartada en ratas controles, con insuficiencia cardíaca, BMY 7378, propranolol, captopril y losartán 47

Abreviaturas

IC	Insuficiencia Cardíaca
(+) dP/dt	Diferencial de la presión sistólica con respecto al tiempo
(-) dP/dt	Diferencial de la presión diastólica con respecto al tiempo
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
AMPc	Adenosinmonofosfato cíclico
G _s	Proteína G estimuladora
G _i	Proteína G inhibitoria
G _{q/11}	Proteína G _{q/11}
RSG	Proteína Reguladora de la proteína G
ATP	Adenosíntrifosfato
GDP	Guaníndifosfato
GTP	Guaníntrifosfato
AC	Adenililciclasa
PLC	Fosfolopasa C
PLD	Fosfolipasa D
PIP ₂	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
IP ₃	Inositol-1,4,5-trifosfato
DAG	1,2-Diacilglicerol
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
Ca ²⁺	Ión calcio
K ⁺	Ión potasio
I _{oK}	Corriente saliente de potasio
[³ H]prazosina	Prazosina marcada radiactivamente con Tritio
NA	Noradrenalina
Ang II	Angiotensina II
α _{1A} , α _{1B} α _{1D}	Subtipos de receptores alfa -1A, alfa-1B y alfa 1D-adrenérgicos
β ₁ , β ₂	Receptores beta 1 y beta 2-adrenérgicos
AT ₁ y AT ₂	Receptores de angiotensina II

AT _{1A} y AT _{1B}	Subtipos de receptores de angiotensina II
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral Alfa
RNA _m	Ácido ribonucleico mensajero
5MU	5-metilurapidil (antagonista α_{1A} -adrenérgico)
CEC	Cloroetilclonidina (antagonista α_{1B} – adrenérgico)
BMY7378	Compuesto en clave (antagonista α_{1D} – adrenérgico)
M	Molar
mM	milimolar
nM	nanomolar
μ l	microlitro
μ g	microgramo
AI	Aurícula Izquierda
AD	Aurícula Derecha
VI	Ventrículo Izquierdo
VD	Ventrículo Derecho
OC	Oclusión Coronaria
EE	Error Estándar

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue estudiar la respuesta adrenérgica α_1 y de angiotensina II en la insuficiencia cardíaca post-infarto miocárdico. El modelo experimental para inducir la insuficiencia cardíaca (IC) fue mediante la ligadura de la arteria coronaria izquierda en ratas jóvenes. El establecimiento de la IC en el animal se estimó por la presencia de la hipertrofia cardíaca, la disminución en la presión ventricular sistólica y elevación de la presión diastólica del ventrículo izquierdo, así como la disminución en los $(+)$ dP/dt correspondientes y un área infartada, correspondiente a 38 %. Los resultados muestran que a las 4 semanas post-oclusión el animal desarrolló la insuficiencia cardíaca. Posteriormente, se determinó el curso temporal de la densidad de receptores adrenérgicos α_1 en músculo cardíaco por estudios de unión con el radioligando [3 H] prazosina. Los resultados muestran un incremento en la densidad de los receptores adrenérgicos α_1 con relación a la edad y el tiempo de infarto miocárdico. También se determinó el efecto de inhibir la enzima convertidora de angiotensina (ECA) sobre la expresión adrenérgica α_1 por el tratamiento crónico con captopril (2.5 mg/Kg/día), administrado 24 h después del infarto miocárdico. En este caso, se obtuvo una disminución en la densidad de receptores adrenérgicos α_1 . De aquí, se decidió determinar el efecto del captopril (2.5 mg/Kg/día), del losartán 3 mg/Kg/día, del propranolol (1 mg/Kg/día) y del BMY7378 (1 mg/Kg/día), en ratas con infarto miocárdico sobre la actividad hemodinámica. El tratamiento con los fármacos se inició 24 horas postoclusión y se mantuvo durante 28 días por liberación continua, por bombas osmóticas, con excepción del propranolol que se administró en el agua de beber. Los resultados muestran que el captopril, el losartán y el propranolol evitaron el desarrollo de la insuficiencia cardíaca, disminuyeron la extensión de la necrosis miocárdica, previnieron la hipertrofia cardíaca y mejoraron la actividad hemodinámica. El BMY7378 no evitó el desarrollo de la insuficiencia cardíaca por lo que parece ser que los receptores adrenérgicos α_{1D} no están involucrados en esta patología. Además, se realizaron estudios en tiras de ventrículo derecho en presencia y en ausencia de antagonistas selectivos adrenérgicos α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} (5-metilurapidil, cloroetilclonidina y BMY7378, respectivamente), en ratas sham (falsamente operada) y con insuficiencia cardíaca. Los resultados muestran que los subtipos de receptores adrenérgicos α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} participan en la contracción del músculo cardíaco de ratas sin insuficiencia cardíaca. Mientras que la participación del subtipo de receptor adrenérgico α_{1A} es predominante en el músculo cardíaco de ratas con insuficiencia cardíaca. Por otro lado, se determinó la actividad contráctil a la angiotensina II. Los resultados muestran una mayor actividad inotrópica de este péptido en el músculo cardíaco insuficiente. Lo que nos permite decir que la angiotensina II es un

factor importante en la disfunción cardíaca. Por otro lado, se determinó la respuesta contráctil a fenilefrina en tiras de ventrículo derecho de ratas tratadas crónicamente con captopril (2.5 mg/Kg/día/28 días) y con losartán (3 mg/Kg/día/28 días). En estas preparaciones la respuesta contráctil a fenilefrina no muestra diferencia significativa con respecto al grupo control; mientras que en el grupo de ratas con insuficiencia cardíaca se observó un aumento significativo en la respuesta inotrópica a la fenilefrina. Estos resultados nos permiten sugerir que la inhibición de la ECA y el antagonismo del receptor AT_1 , parecen evitar la expresión funcional adrenérgica α_1 y que la angiotensina II es un factor importante del deterioro de la función cardíaca. Sin embargo, se requiere de continuar con esta investigación con la finalidad de poder caracterizar temporalmente los efectos del captopril, losartán y propranolol, así como, la participación funcional de los subtipos de receptores adrenérgicos α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} en la fase aguda del infarto y durante el desarrollo de la insuficiencia cardíaca para determinar en que momento estos sistemas muestran su potencial dañino en estas patologías.

ABSTRACT

In congestive heart failure (CHF) little is known about alpha 1-adrenoceptor response in cardiac muscle. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, angiotensin II AT1-receptor antagonists and beta-adrenoceptor blockers prolong survival in experimental postischemic heart failure. The aim of this study was investigate alpha 1-adrenergic and angiotensin II responses in heart failure after myocardial infarction (MI) in rats. We evaluated the beneficial effects of low doses of captopril, losartan, propranolol and BMY7378 after coronary ligation. In addition, we determined alpha1-adrenoceptor density during establishment of CHF and evaluated alpha 1A-,1B-,1D-adrenoceptor response in failing cardiac muscle. Male Wistar rats were subjected to MI by left coronary ligation. Hemodynamic variables, infarct size and cardiac hypertrophy were measured. Alpha 1-adrenoceptor density was evaluated by [³H] prazosin binding studies. Phenylephrine-elicited contraction was determined in rat right ventricle strips with CHF. The results showed that the most extensive myocardial infarction occurred 24 hours after coronary ligation and CHF established after 4 weeks. Early and long-term therapy with low doses of captopril reverted hemodynamic variables to sham values, while losartan and propranolol induced further decrease in systolic blood pressure. All drugs were able to reduce infarct size. Alpha 1-adrenoceptor density increased with age, MI and CHF. Alpha 1A- and 1B-adrenoceptor were involved in contraction of failing cardiac muscle. Captopril reduced alpha 1-adrenoceptor density. We suggest that angiotensin II is an important damaging factor in cardiac function.

GENERALIDADES

1) INTRODUCCIÓN

La activación de las respuestas neurohumorales, incluyendo el sistema nervioso simpático, el sistema renina-angiotensina-aldosterona y el sistema arginina-vasopresina se han relacionado con la progresión de la enfermedad miocárdica y vascular. En la insuficiencia cardíaca aguda estos sistemas ayudan a restaurar la homeostasis cardiovascular; sin embargo, su estimulación crónica eventualmente conduce al deterioro de la función ventricular izquierda (Pfeffer y col., 1998). Las acciones específicas y los efectos adversos de los mecanismos compensatorios más estudiados y significativos de los sistemas adrenérgico y de angiotensina II incluyen: regulación de la presión sanguínea, el mantenimiento de agua y electrolitos, el aumento de la frecuencia y la contractilidad cardíacas, la expansión del volumen, la hipertrofia, los efectos tóxicos en miocitos, crecimiento, remodelación, apoptosis y expresión génica alterada (Bristow, 1998). En consecuencia, tanto el sistema adrenérgico α_1 como el sistema renina angiotensina-aldosterona, están involucrados en una variedad de procesos fisiológicos y fisiopatológicos importantes. Básicamente, la respuesta del ligando por la unión a sus receptores específicos da como resultado el incremento de Ca^{2+} citosólico libre, lo que afecta el estado metabólico y la contracción del músculo cardíaco (Fedida, 1993). Particularmente en la insuficiencia cardíaca, existe una disminución de la función y de la disminución de la densidad de receptores adrenérgicos β_1 , por lo que se propone que el sistema adrenérgico α_1 sea importante, como apoyo en la actividad contráctil del músculo cardíaco, en esta enfermedad, además de otras vías inotrópicas como de la angiotensina II. Por lo anterior, decidimos

estudiar la función de los receptores adrenérgicos α_1 y de angiotensina II en corazones insuficientes post-infarto miocárdico.

1.1 Sistemas de receptores en el miocardio.

Varios sistemas de receptores participan en la contracción del músculo cardiaco: **a)** receptores que incrementan las concentraciones de AMPc, lo que activa a una proteína cinasa A (PKA), induciendo así un aumento en la contracción del músculo cardiaco. Los receptores acoplados a esta vía son: adrenérgicos β_1 y β_2 , histaminérgico H_2 , serotoninérgico $5HT_4$, péptido vasoactivo intestinal VIP, prostaglandina PE_1 , glutamato Glu; **b)** receptores que provocan aumento en la fuerza de contracción del músculo cardiaco en forma independiente de la vía AMPc, como los receptores adrenérgicos α_1 , endotelina ET y angiotensina II AT_1 ; **c)** existen otros receptores que participan en la inhibición de la contracción muscular y están acoplados a una proteína G_i que inhibe la actividad de la adenililciclase como receptores muscarínicos M_2 , adenosina A_1 y somatostatina SS. Así, la contractilidad del músculo cardiaco está regulada por numerosos neurotransmisores y hormonas, los cuales actúan por unirse y activar receptores de membrana acoplados a diversos mecanismos de señalización intracelular (Brode, 1995) (Figura 1).

Tres complejos ligando-receptor-proteína G-efector son importantes en el corazón humano. El primero es el de la noradrenalina - receptor adrenérgico β - proteína G_s - adenililciclase que incrementa los niveles de AMPc y activa a la PKA, lo que promueve la entrada de Ca^{2+} extracelular por fosforilación de canales específicos para este ión, induciendo así la contracción del músculo cardiaco (Walsh y col.,1994). El segundo sistema involucra 2 receptores: **a)** el de la noradrenalina-receptor adrenérgico α_1 y **b)** el de

la angiotensina II - receptor AT_1 , ambos están acoplados a una proteína $G_{q/11}$ - PLC, produciéndose la hidrólisis del fosfatidil inositol bisfosfato (PIP_2) con la formación de dos segundos mensajeros: el inositol trisfosfato (IP_3) y el 1,2-diacilglicerol (DAG). El IP_3 estimula la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico y este aumento en la concentración libre del ión está asociado a la contracción muscular (Benfey, 1990). El tercer sistema es acetilcolina-receptor muscarínico- proteína G_i -adenililciclasa que inhibe la formación de AMPc y activa canales de potasio, provocando una disminución en la contracción del músculo cardiaco (Birnbaumer y col., 1990).

Receptores en Miocardio de Humano.

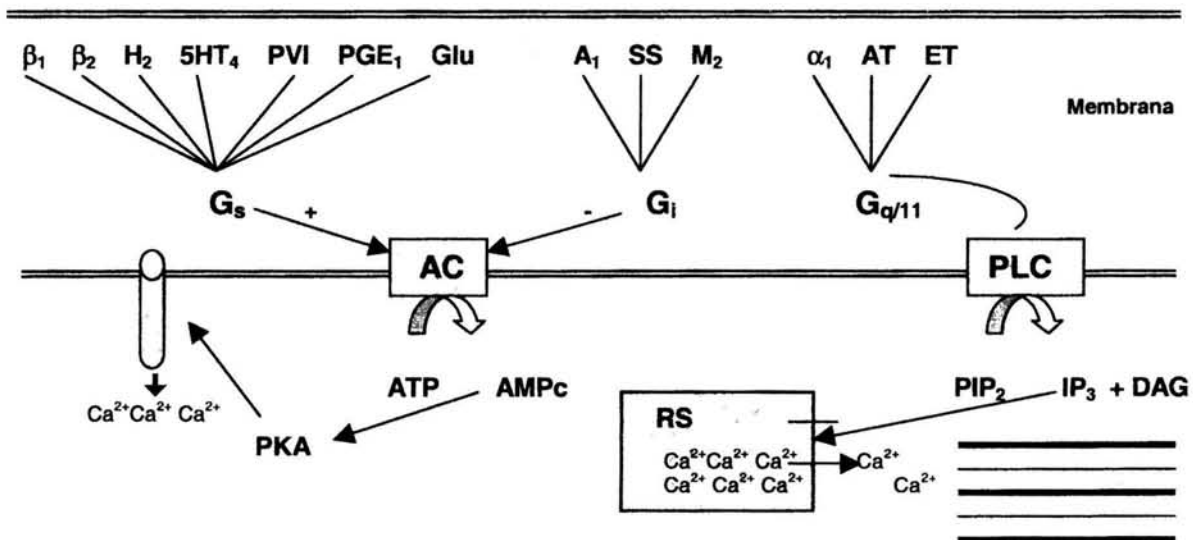


Figura 1. Receptores y sus mecanismos de transducción de señales en el corazón humano. β_1 , β_2 , y α_1 = adrenérgicos, H_2 = histamina, $5HT_4$ = serotonina, PVI = péptido vasoactivo intestinal, PE_1 = prostaglandina E_1 , Glu = glucagon, A_1 = adenosina, SS = somatostatina, M_2 = muscarínicos, AT = angiotensina y ET = endotelina, G_s = proteína G estimuladora, G_i = proteína G inhibitoria, PLC = fosfolipasa C, PIP_2 = fosfatidilinositol 4,5-bifosfato, DAG = diacilglicerol, IP_3 = inositol-1,4,5-trifosfato, + = activación, - = inactivación, AMPc = adenosinmonofosfato cíclico; PKA = proteína cinasa A, RS = Retículo Sarcoplásmico (modificado, Brode, 1995).

1.2 Receptores adrenérgicos α_1 .

Los receptores adrenérgicos α_1 participan en el incremento de la contracción muscular.

Fueron descubiertos en 1966 (Govier y col.) por estudios con radioligandos, utilizando

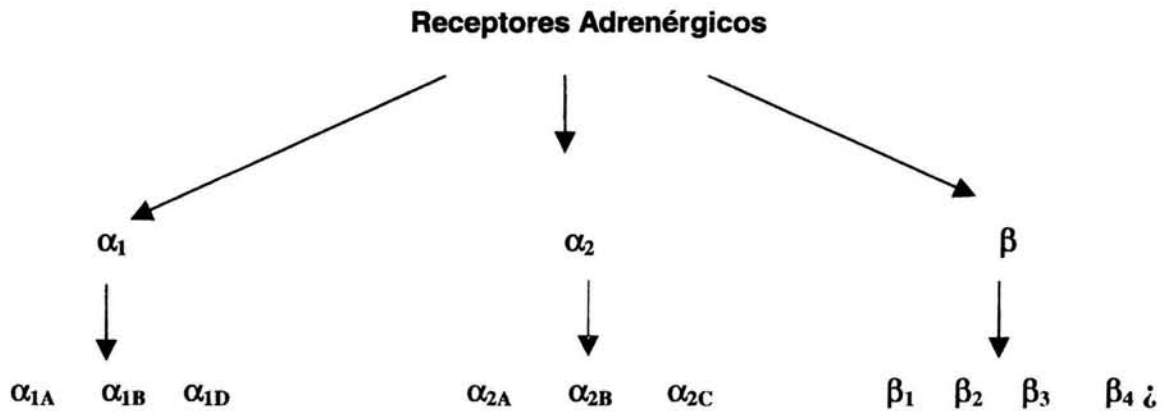
corazones de diferentes especies, entre ellas la rata. Se han identificado tres subtipos de receptores adrenérgicos α_1 por ensayos farmacológicos y a través de clonación molecular: los adrenérgicos α_{1A} (previamente α_{1c}), los α_{1B} y los α_{1D} (previamente $\alpha_{1a/d}$) (Hieble y col.,1995; Michel y col, 1995) (Cuadro 1). Estos receptores están codificados por distintos genes, localizados respectivamente en los cromosomas humanos 8, 5q33, y 20p13. La heterogeneidad de los receptores adrenérgicos α_1 está generada por variantes del receptor adrenérgico α_{1A} , ya que difieren en su longitud y secuencias de los dominios C-terminal (Chang y col.,1998). Este dominio C-terminal en los receptores adrenérgicos α_1 contiene aminoácidos que participan en los procesos de desensibilización (Lattion y col., 1994). Puede especularse que los receptores adrenérgicos α_1 muestran susceptibilidad diferencial a la disminución en la cantidad de receptores ("downregulation"), pero esto no se ha probado experimentalmente.

Algunos estudios han propuesto la existencia de un cuarto subtipo de receptor adrenérgico α_1 , el cual se ha caracterizado por su afinidad relativamente baja a la prazosina y a otros compuestos y se le conoce como α_{1L} (Muramatsu y col., 1990). No obstante, a pesar de los grandes esfuerzos, este supuesto subtipo de receptor no se ha clonado. Sin embargo, las evidencias sugieren que puede ser una isoforma del receptor adrenérgico α_{1A} (Ford y col., 1997). Las características farmacológicas de los subtipos de receptores adrenérgicos α_1 se muestran en el Cuadro 2.

En el corazón humano la presencia de los receptores adrenérgicos α_1 fue analizada por los niveles de RNAm, a través de los ensayos de protección a la RNAasa y por la reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa reversa (RT-PCR). El RNAm para el subtipo de receptor adrenérgico α_{1B} se ha detectado por el mismo análisis.

Análogamente se realizó para el receptor adrenérgico α_{1D} (Faure y col., 1995; Price y col., 1994b).

Cuadro 1. Receptores adrenérgicos y sus subtipos



De cualquier manera, todos los estudios coinciden en que el subtipo de receptor adrenérgico α_{1A} es el más abundante en comparación con los otros subtipos, determinando los niveles de RNAm en el corazón humano (Faure y col., 1995). Además de su presencia, también hay diferencia en la cantidad de receptores en el corazón humano (Chang y col., 1998), aunque poco se conoce de una posible distribución diferencial de estos subtipos en varias regiones del músculo. Por otra parte, los estudios en rata indican que la abundancia relativa de los 3 subtipos, a nivel del RNAm, es similar en todas las regiones del corazón (Wolff y col., 1998). Así, la extrapolación del corazón de rata al de humano no es directa ya que el subtipo de receptor adrenérgico α_{1B} tiene mayor abundancia relativa en el corazón de rata, comparado con el receptor adrenérgico α_{1A} en humano (Price y col., 1994a; Wolff y col., 1998). Sin embargo, la presencia del RNAm no puede predecir la existencia de la

proteína correspondiente en la mayoría de los casos, aunque esto no ha sido así para los subtipos de receptores adrenérgicos α_1 .

Cuadro 2. Caracterización farmacológica de los receptores adrenérgicos α_1 .

	α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}
Orden de Potencia		noradrenalina-adrenalina ^a	
Agonistas Selectivos	A 61603		
Antagonistas Selectivos	KMD 3213 (10.4)	AH 11110A (7.1)	BMY7378(8.4)
	(+)Niguldipina (10)	Cloroetilclonidina ^b	SK&F 105854
	SNAP 5089 (9.7)		
	5 – Metilurapidil (9.2)		
	RS 17053 (9.2)		
	SNAP 5272 (8.4)		

La afinidad de los antagonistas está expresada como los valores aproximados de $-\log K_i$ (número en paréntesis).

^a Ambos, la adrenalina y la noradrenalina tienen cerca de 10 veces más afinidad para el α_{1D} que para los receptores α_{1B} y α_{1A} .

^b Aunque el orden del rango de la inactivación de los subtipos adrenérgicos α_1 por la cloroetilclonidina es $\alpha_{1B} \geq \alpha_{1D} > \alpha_{1A}$. La cloroetilclonidina puede inactivar todos los subtipos de receptores adrenérgicos α_1 dependiendo de la concentración, tiempo, temperatura y medio de incubación. (Adaptado de Alexander y Peters, 1999).

Varios grupos de investigadores han detectado pequeñas cantidades de receptores adrenérgicos α_1 en los ventrículos izquierdo y derecho del corazón humano (Böhm y col., 1988a; Bristow y col., 1988; Vago y col., 1989; Hwang y col., 1996). Siempre que las cantidades de los receptores adrenérgicos α_1 y β fueron comparados en el mismo estudio, los segundos fueron más abundantes (Böhm y col., 1988a, Bristow y col., 1988). En los ventrículos derecho e izquierdo de corazón humano existe una menor cantidad de receptores adrenérgicos α_1 , lo mismo se observa en la rata. De hecho,

esta especie fue la que tuvo mayor cantidad de receptores adrenérgicos α_1 (cinco veces) que otras especies (Steinfath y col., 1992a) (Figura 2).

Estos datos indican que la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 puede ser una característica particular de cada especie y por ello debe tenerse cuidado en la extrapolación de los resultados entre las especies. Además, el papel funcional de los receptores adrenérgicos α_1 se ha estudiado ampliamente en corazones de diferentes especies (Gross y col., 1988; Knowlton y col., 1993; Michel y col., 1994a). Los receptores adrenérgicos α_1 cardiacos pueden estar acoplados a numerosos sistemas de transducción de señales, no sólo a la PLC y fosfolipasa D (PLD), sino también a varias corrientes iónicas, incluyendo canales de calcio tipo L, canales de K^+ y el canal de K^+ activado por acetilcolina, al intercambiador Na^+/H^+ y a la ATPasa dependiente de Na^+ y K^+ (Endoh, 1991).

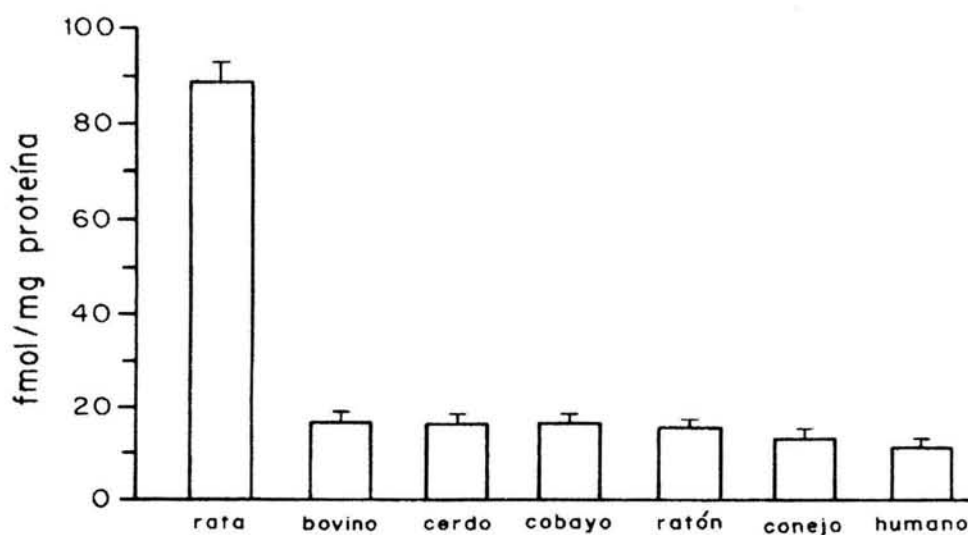


Figura 2. Densidad de receptores adrenérgicos α_1 de diferentes especies, determinados mediante la unión del radioligando [3H] prazosina en membranas ventriculares (Steinfath y col., 1992a).

La transducción de señales de los receptores adrenérgicos α_1 da como resultado un efecto inotrópico positivo (incremento en la fuerza de contracción), pero el efecto final de varias respuestas de la señalización también puede ser una fuerza reducida colateralmente, por la activación de la PKC (Kissling y col., 1997; Peters y col., 1998).

El mecanismo del inotropismo positivo inducido por la estimulación de los receptores adrenérgicos α_1 aún es materia de debate. La estimulación adrenérgica α_1 causada por la unión del ligando, promueve que exista un cambio conformacional en el complejo de la proteína G, dando como resultado una disminución en la afinidad de la subunidad α por el GDP. El estado activo para $G\alpha$ inicia cuando el GDP es intercambiado por GTP, seguido por la disociación de la subunidad α del resto del complejo de la proteína G. La proteína $G\alpha$ activa a la PLC β_1 , la cual es responsable de hidrolizar al PIP_2 en IP_3 y DAG. El primero genera la liberación de Ca^{2+} de los almacenes intracelulares, el cual participa en el aumento de la fuerza de contracción. Además, esta estimulación incrementa la sensibilidad al Ca^{2+} por los miofilamentos y el influjo transmembranal de este ión y causa alcalinización intracelular por activación del intercambiador Na^+/H^+ , lo que ha sugerido que estos efectos son debidos, en parte, a la activación de la PKC inducida por el DAG (Endoh, 1991; Terzic y col., 1993; Deng y col., 1996). Además, este segundo mensajero activa a una isoforma de PKC que modula la activación de factores de transcripción (c-jun y c-fos) y la expresión de genes (Chien y col., 1991; Shubeita y col., 1992). La subunidad $\beta\gamma$ de la proteína G pueden también actuar como transductor de señal, como se demostró por su habilidad para estimular la actividad de la PLC *in vitro* (Schnabel y col., 1996). La desactivación de la $G\alpha$ sucede cuando el GTP se hidroliza a GDP. La $G\alpha$ con el GDP

se reasociará con el dímero $\beta\gamma$, formando el complejo heterotrímico que alcanza el equilibrio para la reactivación de la próxima señal extracelular. Recientemente se ha caracterizado una nueva clase de proteínas que activan a la GTPasa, las cuales juegan un papel crítico en la regulación de la proteína G. Estas proteínas se nombran como reguladoras de la proteína G (RSG) (Berman y col., 1998) (Figura 3).

Por otro lado, los subtipos de receptores adrenérgicos α_{1A} y α_{1B} son los que contribuyen, principalmente, al efecto inotrópico positivo mientras que la participación del subtipo α_{1D} es muy discreta en este efecto (Williamson y col., 1994; Wang y col., 1997).

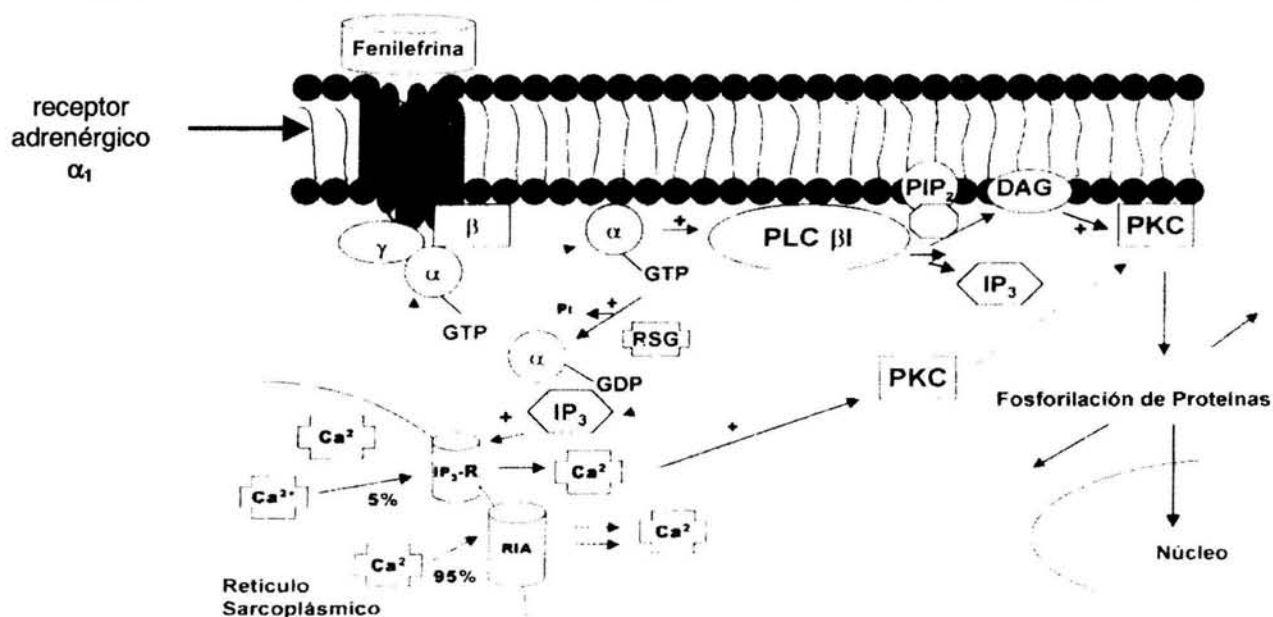


Figura 3 Activación del receptor adrenérgico α_1 acoplado a la proteína G y mecanismo de señalización en el músculo cardíaco (Jalili y col., 1999), ver texto.

De hecho, el incremento en la contracción del músculo cardíaco se produce por dos mecanismos diferentes: el primero está correlacionado con la prolongación de la

duración del potencial de acción, como resultado de la inhibición en la corriente saliente de K^+ (I_{oK}), mientras que el segundo se debe, posiblemente, a un incremento en la sensibilidad miofibrilar al Ca^{2+} (Hattori, 1998) (Figura 4).

La estimulación prolongada de los receptores adrenérgicos α_1 puede también causar el desarrollo del fenotipo hipertrófico. Esto se ha estudiado con detalle en cultivos de cardiomiocitos de ratas neonata y adulta (Meidel y col., 1986; Lee y col., 1988, Waspe y col., 1990 y Pinson y col., 1993). No se conoce si la activación de los receptores adrenérgicos α_1 en el corazón humano promueven la hipertrofia cardiaca. Las vías moleculares que conducen a la hipertrofia cardiaca son estimuladas por los receptores adrenérgicos α_1 en miocitos de rata (Bogoyevitch y col., 1996a; Force y col., 1996; Page, 1996; Olson, 1999; Sugden, 1999), predominantemente, por los receptores adrenérgicos α_{1A} en ratas (Autelitano, 1998). Estos receptores actúan vía una proteína G_q insensible a tóxina pertusis (LaMorte y col., 1994), lo que conduce a la activación de PLC y PKC (Knowlton y col., 1993; Shubeita y col., 1992; Karns y col., 1995; Bogoyevitch y col., 1996b). Queda por resolver como la hipertrofia cardiaca puede desarrollarse secundariamente a la estimulación adrenérgica α_1 miocárdica en humanos.

En la mayoría de los estudios sobre los efectos de la estimulación adrenérgica α_1 en el miocardio humano se ha utilizado fenilefrina como agonista, en presencia de propranolol. Por el bajo número de receptores adrenérgicos α_1 , los efectos contráctiles provocados por la estimulación de éstos fueron del 15 al 35%, comparados con los efectos provocados por la estimulación adrenérgica β (Figura 5) o independientemente del receptor, por elevación del Ca^{2+} extracelular; como en las observaciones hechas

en aurícula y en ventrículo (Shümann y col., 1978; Skomedal y col., 1985; Brückner y col., 1984; Böhm y col., 1988b; Jahnel y col., 1992; Steinfath y col., 1992b, Bristow y col., 1993). No obstante, esto puede deberse a que la fenilefrina no es un agonista completo en algún subtipo de los receptores adrenérgicos α_1 (Taguchi y col., 1998).

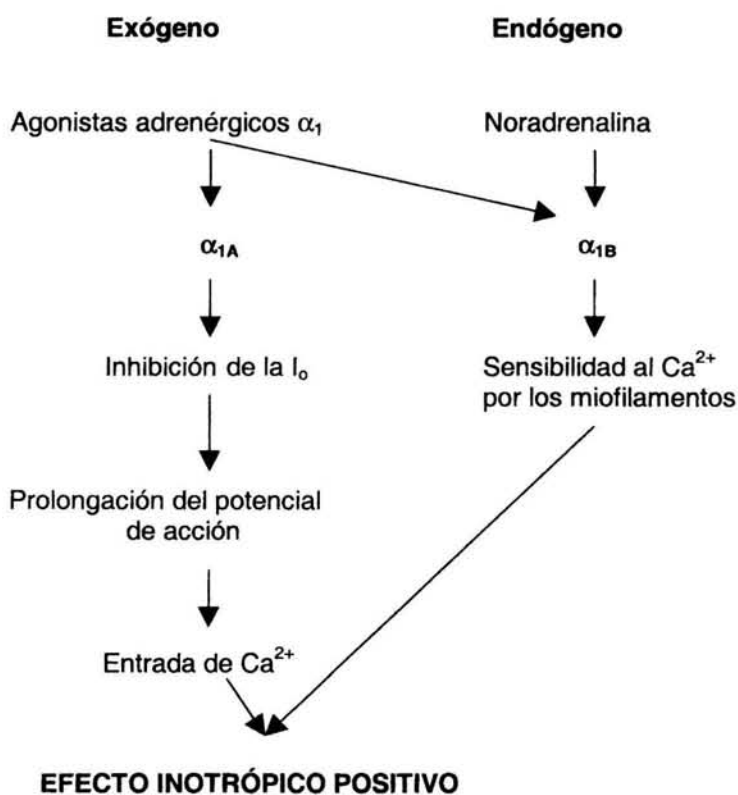


Figura 4. Mecanismos propuestos para el efecto inotrópico mediado por los subtipos de receptores α_{1A} y α_{1B} (Hattori y col., 1998).

Por consiguiente, se ha observado que la noradrenalina (NA) endógena causa un efecto inotrópico positivo más pronunciado que la fenilefrina (Scholz y col., 1996; Skomedal y col., 1997).

Existen datos que indican claramente que la estimulación de los receptores adrenérgicos α_1 pueden causar efectos inotrópicos positivos en el corazón humano.

Aunque los efectos inotrópicos mediados por receptores adrenérgicos α_1 en ventrículo de rata, parecen deberse primariamente por la vía adrenérgica α_{1B} (Michel y col., 1994b), poco se conoce acerca de qué causan los receptores α_1 en el efecto inotrópico en humanos. Mientras que en el tejido cardiaco de rata, se sugiere que los subtipos receptores adrenérgicos α_{1A} y α_{1B} están involucrados en la respuesta inotrópica positiva sostenida (Williamson y col., 1994).

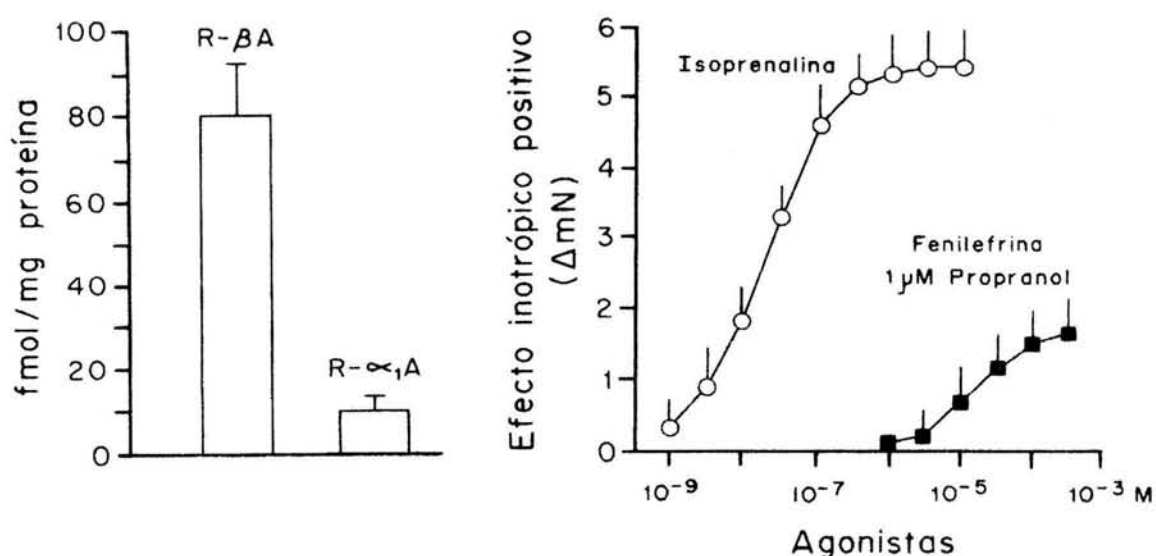


Figura 5. Número de receptores adrenérgicos α_1 y β y efecto inotrópico positivo de isoprenalina (agonista β) y fenilefrina (agonista α_1) en preparaciones de corazón humano (Böhm y col., 1988 ; Bristow y col., 1993).

Aunque los receptores adrenérgicos α_1 pueden también causar efectos inotrópicos positivos *in vivo*; esto puede ser de relevancia fisiológica limitada porque el agonista endógeno, NA, actúa sólo en menor grado por vía adrenérgica α_1 . Sin embargo, los datos presentes son insuficientes para decir que los receptores adrenérgicos α_1 no participan en la regulación de la fuerza cardiaca desarrollada en el marco de la IC por

el bloqueo de los receptores adrenérgicos β . En los corazones de las ratas se ha observado que el tratamiento *in vivo* con antagonistas adrenérgicos β , como el propranolol, incrementa el número de receptores adrenérgicos α_1 (Mügge y col., 1985; Steinkraus y col., 1989), e intensifica los efectos inotrópicos positivos de la estimulación adrenérgica α_1 *in vitro* (Li y col., 1997).

1.3 Receptores a angiotensina II (AT₁ y AT₂)

El efecto de la angiotensina II (Ang II) en el tejido cardiaco se relaciona con la activación de dos receptores específicos, AT₁ y AT₂ (Baker y col., 1992). El receptor AT₁ tiene dos subtipos: AT_{1A} y AT_{1B}. El receptor AT_{1A} es el principal regulador de la presión sanguínea y estimulador del crecimiento potencial de los cardiomiocitos *in vivo*, mientras que los receptores AT_{1B} se involucran en el control del tono vascular cuando los receptores AT_{1A} están ausentes (Hein L., 1998) (Cuadro 3). Los receptores de angiotensina II son receptores de 7 dominios transmembranales, cuyas estructuras primarias han sido establecidas por clonación molecular (Mukoyama y col., 1993). La activación del receptor está unida a varias proteínas intracelulares, empezando con la proteína G. El receptor regula que la unión a las proteínas G involucre a la segunda y a la tercera asas citosólicas y al segmento proximal de la cadena carboxilo terminal. En la rata, el AT_{1A}, el AT_{1B}, y los receptores AT₂ se localizan en los cromosomas 17, 2 y X respectivamente (Inagami y col., 1994). La exposición de los receptores de AT_{1A} y AT_{1B} a la Ang II es seguida por el transporte del receptor a las vesículas intracelulares (Sasamura y col., 1997). La internalización del complejo Ang II-receptor AT₁ ocurre con una vida media de menos de 2 minutos. A diferencia de los receptores AT₂, que no

están internalizados, los receptores AT_1 parece que circulan continuamente entre las vesículas endosomales y la membrana plasmática nuclear (Hein y col., 1998). De acuerdo con este argumento, los receptores AT_1 en los miocitos de rata se han localizado en el sarcolema, los túbulos T y el núcleo (Fu y col., 1998). Al internarse, el complejo Ang II-receptor es degradado en la célula o ejerce efectos intracelulares. Así, existe evidencia de que la Ang II se une a un sitio nuclear y que la unión de la Ang II a un receptor de alta afinidad ocasiona un cambio en la conformación de la cromatina (Baker y col., 1992 y Re y col., 1984).

Cuadro 3. Receptores de Angiotensina II (American Heart Association, 1999).

AT_1	AT_2
Se activa constantemente	Se activa sólo después de la lesión
Vasoconstrictores	Vasodilatadores
Promueven crecimiento celular	Antiproliferativos
	Activan óxido nítrico y bradicinina

El mecanismo de acción de los receptores a angiotensina II está muy bien definido. La activación de los receptores AT_1 produce una variedad de sucesos, tales como la estimulación de la PLC con la activación subsecuente de la PKC y la liberación de Ca^{2+} , de los depósitos intracelulares. Además, la tirosina cinasa activada por mitógeno es fosforilada (Thomas y col., 1996). Resulta muy interesante que el bloqueo del receptor AT_2 incrementa las señales tempranas del receptor AT_1 , con respuesta del crecimiento cardiaco en el corazón hipertrofiado de la rata (Bartunek y col., 1999). La interacción entre los receptores AT_1 y AT_2 representa una parte interesante en la

patología del corazón. En cerdos, la reducción en el tamaño del infarto inducido por el bloqueo del receptor AT_1 aparece a través de una casacada de señales que involucran la activación del receptor AT_2 , bradicinina y prostaglandinas (Jalowi y col., 1998).

Se ha encontrado que la angiotensina II induce apoptosis en cultivos de miocitos ventriculares de ratas neonatas, a través de la activación de los receptores AT_1 y de PKC, porque la p53 aumentaba la expresión de angiotensinógeno en estas células, lo que llevó a postular que la p53 induce la apoptosis por la estimulación en la liberación de angiotensina II de los miocitos y la subsecuente activación del receptor AT_1 (Kajstura y col., 1997). Sin embargo, la apoptosis también se ha atribuido a la estimulación del receptor AT_2 y a su segundo mensajero, la ceramida (Lehtonen y col., 1997).

1.4 Insuficiencia Cardíaca.

La principal causa de muerte después del infarto miocárdico, en humanos, es la Insuficiencia Cardíaca (IC), como resultado de la pérdida de una cantidad significativa de tejido ventricular (Rakusan y col., 1980). Los pacientes que sobreviven a la fase aguda pueden tener un deterioro importante de la función ventricular, la que es compensada por el miocardio residual (Tomanek y col., 1982).

Por otro lado, cuando el músculo cardíaco sufre un daño por alguna patología, un número de mecanismos neurohumorales se activan para preservar la homeostasis. Inicialmente estos sistemas se consideran como respuestas compensatorias benéficas a la liberación de neurohormonas endógenas como la renina, angiotensina II, aldosterona, catecolaminas que, posteriormente, parecen jugar un papel perjudicial en el desarrollo de la enfermedad cardíaca, como en la IC (Packer y col., 1987). La IC se caracteriza por una

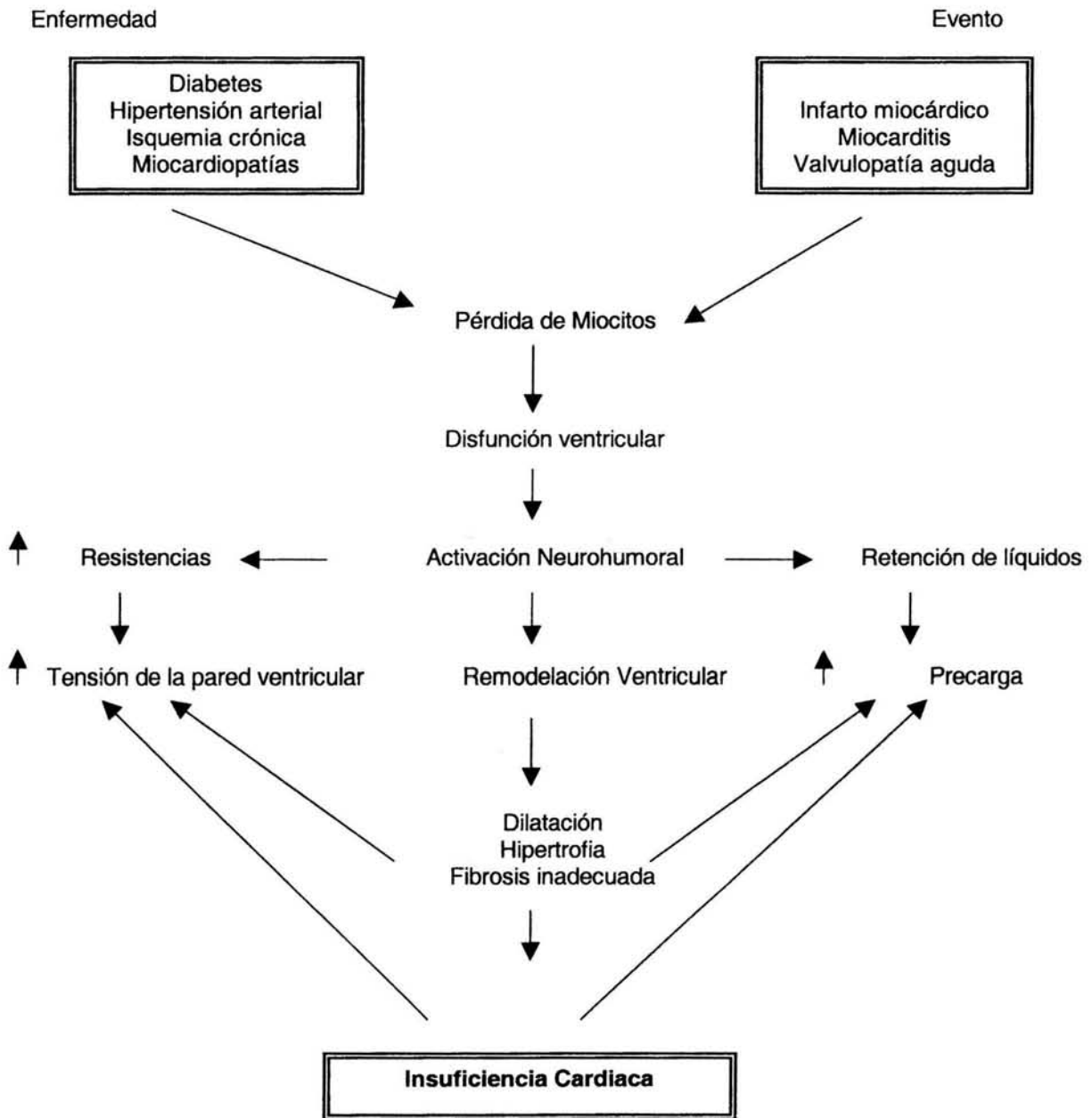
perfusión inadecuada de los órganos periféricos, generando congestión pulmonar y venosa como consecuencia de la deficiencia en la contracción del músculo cardíaco (Fozzard y col., 1991).

Desde hace varios años se ha identificado que durante la IC, existe función sistólica conservada, por las que la alteración se centra en la función diastólica del ventrículo izquierdo (VI). La disfunción sistólica del VI es responsable de dos tercios de los casos de IC; mientras que un tercio se produce por disfunción diastólica con sistólica conservada, pudiendo existir la disfunción ventricular mixta (Ho y col., 1993).

En el esquema 1 se representa el proceso fisiopatológico de la IC después de haber sufrido hipertensión arterial, o infarto miocárdico, entre otras enfermedades, en donde la pérdida de la masa muscular miocárdica y su sustitución por tejido conectivo, es la alteración morfológica y funcional producida por las enfermedades crónicas identificadas como "riesgo" para la IC y causa directa de disfunción ventricular izquierda. Aún siendo la IC asintomática se disparan o exacerban ciertos procesos enzimáticos que se traducen en una alteración de la respuesta humoral.

El proceso fisiopatológico de la IC, está asociado a la activación de los sistemas *nervioso simpático* y *renina-angiotensina-aldosterona*, los cuales actúan para compensar la IC (Packer y col., 1988). Se ha demostrado que la activación del sistema nervioso simpático en este síndrome es por el incremento de NA plasmática (Thomas y col., 1978), debido a la disminución de la captación de este neurotransmisor; además de que los almacenes de NA son depletados en la IC (De Quatro, 1973). El incremento de los niveles circulantes de NA produce un aumento en la fuerza de contracción, vasoconstricción y taquicardia ventricular (Meredith y col., 1993). De hecho, el aumento de NA circulante se correlaciona con la severidad de la enfermedad y con el índice de mortalidad (Cohn y col., 1984).

Esquema 1. Proceso Fisiopatológico de la Insuficiencia Cardíaca (Peters and Pool,1998)



Por otro lado, la activación del sistema renina-angiotensina estimula la secreción de aldosterona, lo que promueve la retención de Na^+ y agua, provocando vasoconstricción secundaria a la síntesis de angiotensina II, además de provocar

efectos inotrópicos y cronotrópicos positivos, así como la síntesis de proteínas y crecimiento celular (Levine, 1982).

Eventualmente, la enfermedad progresa y estos mecanismos compensatorios ya no mantienen adecuadamente la actividad ventricular debido al incremento en la carga de trabajo del corazón. Así, la respuesta cardiaca a la estimulación neurohumoral está alterada marcadamente en el corazón insuficiente (Packer y col., 1987).

Los mediadores neurohumorales en la IC pueden tener acción endócrina, paracrina y autocrina y pueden clasificarse, de acuerdo a su acción principal en: agentes vasoconstrictores, vasodilatadores y factores de crecimiento. La activación de la respuesta neurohumoral produce liberación de múltiples sustancias, las cuales ejercen efectos aditivos u opuestos obteniendo como resultado una respuesta orgánica compleja que, dependiendo del efecto dominante, puede ser benéfica o dañina a las estructuras afectadas (Cuadro 4). No toda la respuesta es sincrónica, sino que existen procesos de activación inmediata, como la respuesta adrenérgica y otros de activación tardía, como el sistema renina-angiotensina y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Todas las respuestas compensatorias se producen en beneficio del corazón, pero al sostenerse o sobreexpresarse, generan daño (Gutiérrez, 2001).

Cuadro 4. Mediadores neurohumorales en la insuficiencia cardiaca (Bristow y col., 1998).

CONSTRICTORES	DILATADORES	FACTORES DE CRECIMIENTO
Noradrenalina	Péptidos Natriuréticos	Insulina
Angiotensina II	Prostaglandina E ₂	TNF- α
Vasopresina	Oxido Nítrico	Hormona de crecimiento
Endotelina	Bradicinina	Citocinas
	Dopamina	

1.5 Receptores adrenérgicos β_1 , β_2 , α_1 y de angiotensina II (AT_1) en la insuficiencia cardiaca.

Algunos sistemas de receptores presentes en el corazón humano se han investigado, como es el caso del sistema receptor adrenérgico β - proteína G - adenililciclase. En 1982, Bristow y col. fueron los primeros en reportar que la densidad de receptores adrenérgicos β_1 está disminuída en pacientes con IC crónica de etiología diferente. Numerosos estudios han confirmado que la reducción en la densidad de receptores adrenérgicos β está directamente relacionada a la severidad de la enfermedad, según la clasificación de la "New York Heart Association" (Bristow y col., 1993). Con respecto a los receptores β_2 , los datos son controversiales ya que en algunos casos se ha determinado que estos pueden encontrarse disminuídos o bien no cambian (Brode, 1991).

Debido a que existe una gran actividad simpática en la insuficiencia cardíaca crónica, frecuentemente se asume que la desensibilización de los receptores adrenérgicos β es inducida por el agonista (Loshe y col., 1993). De hecho, los agonistas adrenérgicos β y los agentes inotrópicos positivos dependientes del AMPc (inhibidores de la fosfodiesterasa), como es el caso de la milrinona (Böhm y col., 1988b) o pimobendan (Bóhm col., 1991), presentan efectos contráctiles reducidos en el miocardio insuficiente de humano. Por otro lado, el corazón insuficiente tiene una reserva inotrópica, la cual probablemente resulta en mínima parte de la disminución de la respuesta adrenérgica β . De hecho, la densidad de los receptores α_1 se incrementa en algunas formas de insuficiencia cardiaca (Vago, 1989). De aquí que la estimulación α_1 en el miocardio insuficiente es importante en condiciones de desensibilización o disminución del receptor adrenérgico β ("downregulation").

Es por esto que el uso de bloqueadores adrenérgicos β_1 , en el tratamiento de la IC, sería una estrategia adecuada para determinar la importancia del sistema adrenérgico α_1 como apoyo a la actividad contráctil del corazón, así como otras vías inotrópicas.

1.5.1 Efectos de los receptores adrenérgicos α_1 en la insuficiencia cardiaca.

Los cambios en la densidad de receptores adrenérgicos α_1 en el miocardio y en el sistema de señalización en los pacientes con IC, han variado de un estudio a otro. Estas diferencias pueden ser el resultado de las diferentes condiciones experimentales y del uso de distintos radioligandos como [^3H] prazosina y [^{125}I] IBE – 2254 (Vago y col., 1989; y Steinfath y col., 1992b). Además, estas diferencias pueden ser debidas a la etiología de la IC. Experimentos *in vitro*, realizados en el miocardio insuficiente de pacientes, han mostrado que los receptores adrenérgicos α_1 se incrementan (Vago y col., 1989), mientras que la estimulación adrenérgica α_1 se mantiene, disminuye o se incrementa (Skomedal y col., 1997; Mertens y col., 1992). En ratas con insuficiencia cardiaca, inducida por infarto miocárdico, el efecto inotrópico positivo de los agonistas adrenérgicos α_1 se mantiene y con esto se sugiere el potencial terapéutico de los mismos (Litwin y col., 1995).

Por otro lado, en corazones insuficientes de humano, se ha reportado una reducción en el número de receptores adrenérgicos α_1 en la IC; mientras que otros estudios no reportan cambios significativos o bien determinan un aumento de los receptores adrenérgicos α_1 (Vago y col., 1989; Steinfath y col. 1992b; Hwang y col., 1996; Yoshikawa y col., 1996). Aunque se ha demostrado que tanto los receptores adrenérgicos α_1 como los receptores adrenérgicos β_2 tienen una afinidad menor para la NA y que ambos receptores de baja afinidad están disminuídos (“dowregulation”) en el

corazón insuficiente de humano (Bristow y col., 1988). Las razones de esta variabilidad de resultados aún no son claras. Los estudios bioquímicos han mostrado que el aumento en la densidad de receptores adrenérgicos α_1 en corazones insuficientes no está asociado con el aumento de la función del receptor, porque la activación de la proteína G (G_H , de peso molecular alto) permanece sin alteración debido a una reducción en la G_H en la fracción de membrana (Hwang y col. 1996). De manera interesante, la proteína G clásicamente asociada con los receptores α_1 (por ejemplo Gq) no parece estar alterada cuantitativamente en IC en humanos (Pönicke y col., 1998). Además, la estimulación α_1 indujo la formación del IP_3 , el cual parece no cambiar en esta condición (Bristow, 1993). Estos datos indican la presencia de un defecto en el acoplamiento entre receptor-efector en la vía de señalización α_1 , en corazones insuficientes de humanos. Con los datos anteriores, podemos decir que la estimulación de los receptores α_1 participa en el mantenimiento de la función en la insuficiencia cardíaca, pero esto no es decisivo ya que los resultados obtenidos de los estudios *in vivo* son controversiales.

1.5.2 Receptores a angiotensina II en la insuficiencia cardíaca.

Existen dos subtipos de receptores para angiotensina II, definidos como AT_1 y AT_2 , los cuales se han identificado por antagonistas específicos no peptídicos. El receptor AT_1 regula los efectos presores, contráctiles y el crecimiento celular de los miocitos cardíacos y células vasculares (Backer y col., 1992; Sadoshima y col., 1993).

Los datos que se han publicado sobre los cambios en la densidad de receptores AT_1 en los corazones insuficientes son controversiales. Así, Urata y col. (1989), describen que los receptores AT_1 no cambian, mientras que Regitz-Zagrosek y col. (1995), determinan

que en el miocardio ventricular y auricular obtenido de corazones de pacientes con IC en estado final, se encuentran marcadamente disminuidos. Además, la respuesta inotrópica positiva a la angiotensina II y el RNAm que codifica a este receptor están disminuídos.

El bloqueo del sistema renina-angiotensina con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) o con antagonistas del receptor a angiotensina II (AT_1) mejoran la función cardíaca en el humano y en animales de experimentación con IC congestiva (Jhonston, 1993), además de incrementar la respuesta del corazón insuficiente a la activación del receptor adrenérgico β (Van, 1995). De hecho, se han obtenido avances considerables en la terapia médica para los pacientes con insuficiencia cardíaca. Los inhibidores de la ECA han mostrado mejorar los efectos hemodinámicos, reduciendo la postcarga e incrementado el gasto cardíaco, que se traduce en la disminución de la mortalidad y de la morbilidad en un rango amplio de pacientes con esta enfermedad (Pfeffer y col., 1992).

Entonces, durante la IC compensada después del infarto miocárdico, el sistema receptor adrenérgico β manifiesta alteraciones que se asocian con el empeoramiento de la respuesta a su estimulación y pone de manifiesto la actividad de otros sistemas que sirven de apoyo a la función contráctil del corazón insuficiente, como es el caso de los sistemas adrenérgico α_1 y de angiotensina II (AT_1).

1.6 Interacción entre el sistema adrenérgico α_1 y el de angiotensina II.

Las interacciones fisiológicas importantes entre los sistemas de receptores adrenérgicos α_1 y de angiotensina II son la facilitación de la liberación del neurotransmisor NA de las terminaciones nerviosas presinápticas, lo que causa vasoconstricción y daño miocárdico (Schuerman y col., 1970; Henegar y col., 1995). En neuronas, la NA liberada interactúa

con los receptores adrenérgicos α_1 y su activación continua resulta en la disminución del número de receptores de angiotensina II (AT_1) (Summers, 1993). Por el contrario, Hu y col. (1998), determinaron que la angiotensina II induce la transcripción y expresión de los receptores adrenérgicos α_1 en células de músculo liso vascular. Hong-Tai y col. (1997) demostraron la existencia de comunicación cruzada (“cross talk”) entre los receptores de angiotensina II (AT_1) y adrenérgicos α_1 en miocitos cardiacos; además de que la angiotensina II selectivamente disminuye el RNAm del subtipo de receptor adrenérgico α_{1A} , sugiriendo con esto que la angiotensina II podría actuar como modulador negativo de la hipertrofia estimulada por los receptores adrenérgicos α_1 .

1.7 Modelos experimentales en la insuficiencia cardiaca.

La IC puede ser inducida experimentalmente por sobrecarga de presión, de volumen, por infarto miocárdico, o por la creación de otros casos de enfermedad en el miocardio. El modelo por sobrecarga de presión puede ser útil en el estudio de hipertrofia ventricular, cambios celulares y vasculares. Mientras que el modelo de sobrecarga de volumen se utiliza para analizar la patogénesis de la alteración hormonal y electrolítica. El modelo de infarto miocárdico o destrucción celular, parece ser el más conveniente para valorar terapias nuevas que proporcionen el mantenimiento de los reflejos periféricos. La cardiomiopatía experimental puede proporcionar un medio importante para la identificación de mecanismos subcelulares patológicos. Para mayor relevancia, los estudios deberían realizarse en animales despiertos con los reflejos intactos (Smith y col., 1985) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Modelos experimentales para inducir insuficiencia cardiaca de acuerdo al tipo y especie (Smith, 1985).

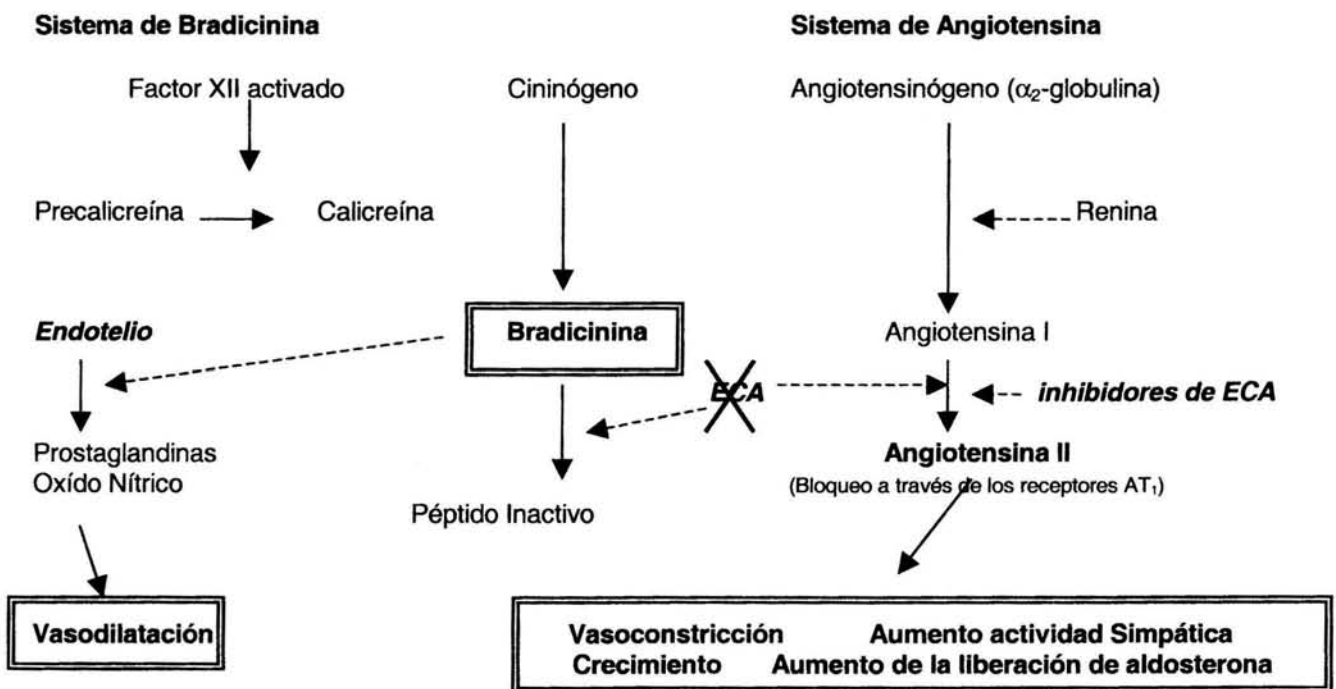
Técnica Experimental	Especie
Sobrecarga de presión	
Ligadura de la arteria pulmonar	gato, perro, cerdo
Constricción aórtica	rata, conejo,perro
Hipertensión experimental	rata, perro
Sobrecarga de volumen	
Fístula de la aorta a la vena cava	rata, perro
Incompetencia valvular aórtica	rata, conejo
Defecto septal auricular	gato
Infarto miocárdico	
Ligadura coronaria	rata, perro, cerdo
Embolismo coronario	perro
Mercurio líquido	perro
Microesferas	perro, cerdo, bovino
Hipoxia	rata
Cardiomiopatía	
Cardiomiopatía espontánea	hamster
Sobredosis de barbitúricos	perro
Isoproterenol	rata

1.8 Mecanismo de acción de los inhibidores de la ECA y antagonistas del receptor a angiotensina II (AT₁)

El sistema renina-angiotensina-aldosterona desempeña una función importante en los mecanismos interrelacionados con la regulación de la presión arterial a plazos cortos y largos. Los factores que reducen el volumen sanguíneo, la presión de perfusión renal o la concentración plasmática de sodio tienden a activar el sistema, mientras que el aumento de estas variables lo suprime. La renina es una enzima que se genera en las células yuxtglomerulares del riñón, de donde se segrega a la circulación y el sustrato natural de

la renina es la α_2 -globulina llamada angiotensinógeno. Además es la enzima que se encarga de mediar la separación del decapeptido angiotensina I a partir de la proteína angiotensinógeno. Este decapeptido se desdobla mediante la ECA y da como resultado el octapeptido angiotensina II.

Esquema 2. Mecanismo de acción de los inhibidores de la ECA y antagonistas del Receptor AT_1 (Opie,2001).



La ECA (proteasa) tiene dos grupos zinc, cada uno de los cuales participa en la estructura del sitio de alta afinidad con el cual interactúan la angiotensina I o los inhibidores de la ECA. Esta proteasa no sólo convierte la angiotensina I en angiotensina II sino que además inactiva a la bradicina (por lo que también se le denomina cininasa) y a otros péptidos vasodilatadores. La inhibición de la ECA tiene un efecto vasodilatador al reducir la formación de angiotensina II y quizá aumentar la formación de bradicina. No toda la

angiotensina II se produce por acción de la ECA; hay vías distintas de la ECA, como la de las proteasas con la actividad de quimasa similares a serina, que también pueden formar angiotensina II y generan el mismo resultado. La participación exacta de de las vías distintas de la ECA, aún es motivo de controversia, sobre todo a nivel cardiaco y renal. Sin embargo, hay cada vez más evidencia de que las vías alternativas son de gran relevancia en el tejido vascular (Opie, 2001) (Esquema 2).

2) HIPOTESIS

En la insuficiencia cardíaca existe disminución en la respuesta contráctil por el sistema adrenérgico β , ya sea por desensibilización o por disminución en la densidad de receptores, lo que promueve a que otros sistemas participen en la homeostasis cardiovascular, entre ellos los sistemas adrenérgico α_1 y de angiotensina II. Entonces, esto nos permitirá determinar el efecto de ambos sistemas sobre la funcionalidad del músculo cardíaco insuficiente.

3) OBJETIVO GENERAL

Determinar la participación del sistema adrenérgico α_1 (α_{1A} , α_{1B} , α_{1D}) y el de angiotensina II (ECA y AT_1) mediante las respuestas *in vivo* e *in vitro*, en el modelo de insuficiencia cardíaca inducida por el infarto miocárdico .

3.1 Objetivos Particulares

- Determinar por medio de las variables cardiacas (índice de peso de las aurículas izquierda y derecha y los ventrículos izquierdo y derecho) y los cambios hemodinámicos (presión arterial media, frecuencia cardiaca, presión sistólica y la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y sus respectivas dP/dt), el desarrollo de la insuficiencia cardiaca, inducida por infarto miocárdico en la rata.
- Determinar el curso temporal de la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 en ventrículo derecho de ratas sham (sin oclusión) y con infarto miocárdico.
- Determinar el efecto del captopril (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina) sobre la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 , en el ventrículo derecho de ratas con 4 semanas de infarto miocárdico.
- Comparar el efecto del captopril con el de losartán (antagonista del receptor AT_1), el de propranolol (antagonista adrenérgico β) y el de BMY7378 (antagonista adrenérgico α_{1D}), midiendo los parámetros hemodinámicos y variables cardiacas en ratas con 4 semanas de infarto miocárdico.
- Determinar la respuesta contráctil adrenérgica α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} en tiras de ventrículo derecho de ratas control y con insuficiencia cardiaca.
- Determinar la respuesta contráctil de la angiotensina II en tiras de ventrículo derecho de ratas control y con insuficiencia cardiaca.
- Determinar la respuesta contráctil adrenérgica α_1 en tiras de ventrículo derecho de ratas tratadas crónicamente con captopril o con losartán.

4.0 MATERIAL y MÉTODOS.

Reactivos. La fenilefrina, el captopril, la cloroetilclonidina HCl (CEC) y el BMY7378 (8-(2-(4-(2-metoxifenil)-1piperazinil)etil) 8-azaspiro (4,5) decano-7, 9-diona 2HCl) se obtuvieron de Research Biochemicals Int. (Natick, MA, USA), y el (\pm) propranolol HCl de Sigma Chemical Co (St Louis, MD). El losartán fue una donación de Merck-Sharp-Dohme, México y el captopril de Bristol Myers-Squibb (NJ USA). NET-823 Prazosin,[7-metoxi-³H], actividad específica 77 Cii/mmol. Todos los demás reactivos fueron grado analítico, obtenidos de fuentes comerciales locales.

Animales. Ratas Wistar macho (10 semanas de edad, 250-300 g de peso) se mantuvieron en condiciones controladas de luz:oscuridad y tuvieron libre acceso al alimento y al agua. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité Institucional sobre el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.

Los diferentes compuestos se administraron mediante el uso de bombas osmóticas (Alzet, CA, EUA) 24 h postoclusión, las cuales se implantaron subcutáneamente. Excepto el propranolol que se administró en el agua de beber.

4.1 Inducción del infarto miocárdico en la rata

A las ratas Wistar anestesiadas con éter se les realizó una toracotomía entre el cuarto y el quinto espacio intercostal, se expuso el corazón y se localizó la arteria coronaria descendente anterior izquierda, la cual se ocluyó con hilo seda 5/0. Posteriormente se regresó el corazón a la cavidad torácica, se insuflaron los pulmones con ayuda de una bombilla y se suturó el músculo y la piel. A las ratas se les permitió recuperarse. Las ratas con operación falsa se les realizó el mismo procedimiento quirúrgico, excepto la ligadura de la arteria coronaria (Seyle y col.,1960). Posteriormente, fueron sacrificadas

para determinarles el área de infarto . Esto se llevó a cabo, a las 4, 6, 12, 24 y 48 horas después de la oclusión coronaria. Los corazones fueron extríados y lavados con solución salina isotónica . Se disecó sólo la masa ventricular, ésta fue cortada del ápex a la base en rebanadas transversales de aproximadamente 1 mm de espesor y los cortes fueron colocados en una cámara de tejidos aislados para ser teñidas. La tinción se realizó con el azul de tetrazolio al 0.1% a 37 °C durante 15 minutos aproximadamente, tiempo necesario para observar las zonas infartadas (color rojo) y las no infartadas (color azul). Los cortes fueron colocados en una caja de petri y lavados con solución salina isotónica. Después se dejaron en un portaobjetos para fijarlos con formol al 6% durante 24 horas. Se lavaron y se fotografiaron junto con 1 cm² de papel milimétrico para facilitar su calibración en el planímetro. El negativo se proyectó para dibujar el contorno de las rebanadas, sus cavidades y la zona necrosis. Posteriormente, se calibró el planímetro Polar Planimeter 205 con 1 cm² de área y con éste se midió el área total de la rebanada y el área de la cavidad, con la sustracción de la segunda, con la sustracción de la segunda, se obtuvo el área total del miocardio y por último se midió el área de infarto, el que fue expresado como el porcentaje de miocardio infartado (Nachals, 1963).

4.2 Estudio hemodinámico en la rata

Después de diferentes tiempos de haber inducido el infarto miocárdico, los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (35 mg/Kg, i.p.), Se canuló la arteria carótida derecha con un catéter de polietileno PE50 para determinar la presión arterial, la cual se midió con un transductor Gould P231D Grass (Astro-Med, W. Warwick, RI, USA); la presión sanguínea media es obtenida directamente de un amplificador de presión

Grass (Astro-Med). La medición de la frecuencia cardiaca se realizó mediante el uso de un tacógrafo, el cual fue acoplado a un amplificador de presión arterial. La determinación de la presión ventricular izquierda se realizó por el deslizamiento del catéter de la carótida derecha hacia el ventrículo izquierdo. La primera derivada de la presión ventricular izquierda (dP/df) se obtuvo por medio de un diferenciador Grass (Astro-Med). Posteriormente, los animales se sacrificaron, se extrajo el corazón y se determinó la actividad contráctil de las diferentes preparaciones del músculo cardiaco (DeFelice y col., 1989).

4.3 Determinación de la hipertrofia cardiaca

La hipertrofia cardiaca se estimó por el índice de peso de cada cavidad del corazón (aurícula derecha e izquierda, ventrículos izquierdo y derecho); es decir, se determinó por el cociente entre el peso de la cada cavidad expresada en mg y el peso del animal en g (Litwin y col., 1995).

4.4 Determinación de la actividad contráctil en la preparación *in vitro* de ventrículo derecho en presencia y en ausencia de los antagonistas 5-metilurapidil (antagonista adrenérgico α_{1A}), cloroetilclonidina (antagonista adrenérgico α_{1B}) y BMY7378 (antagonista adrenérgico α_{1D}) en ratas

Se sacrificaron los animales 4 semanas después de la oclusión. El corazón se extrajo y se colocó en una caja petri con solución Krebs (NaCl 0.12, Dextrosa 0.017, NaHCO_3 0.025, KCl 0.0047, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0012, KH_2PO_4 0.0012, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.0025 y Ca-Na-EDTA 2.6×10^{-5} M) con oxigenación (95% O_2 y 5% CO_2), a temperatura de 30-32 °C. Se disecó el ventrículo derecho y se cortó longitudinalmente en tiras de 5 mm de largo x 1

mm de ancho, aproximadamente. Las tiras de ventrículo derecho se estimularon con una frecuencia de 1 Hz, con pulsos de duración de 5 ms y 1.5 veces más del potencial umbral (20-30 V) y la tensión se ajustó en la preparación a 750 mg con la finalidad de producir la contracción isométrica máxima, la cual se registró con transductores de tensión (FTO3C) en un polígrafo 7DGrass. Se dejaron estabilizar las preparaciones por un período de 1.5 h y se realizaron cambios con solución Krebs cada 15 min.

Posteriormente, las tiras de ventrículo derecho se incubaron durante 30 min con propranolol (1 μ M) para prevenir los efectos potenciales de las catecolaminas endógenas y asegurar que la fenilefrina no actuase sobre receptores adrenérgicos β . Se determinó la respuesta a fenilefrina 10^{-5} M en ausencia y en presencia de 5-metilurapidil (3×10^{-10} , 10^{-9} , y 10^{-8} M); cloroetilclonidina (10^{-6} Y 10^{-5} M) y de BMY7378 (10^{-8} y 10^{-9} M). Esto se realizó en ratas sham, con insuficiencia cardiaca y tratadas con captopril y losartán (Michel y col., 1994b).

4.5 Estimación de la cantidad de adrenérgicos α_1 .

4.5.1 Obtención de membranas. Las membranas se obtuvieron de ventrículo derecho, el cual fue cortado y colocado en amortiguador frío (Tris HCl, 25 mM; EDTA, 1 mM; $MgCl_2$, 2 mM; KCl, 100 mM, pH 7.4) y se homogenizó a 4 °C con un Polytron. El homogenado fue filtrado a través de 4 capas de nylon de malla (tamaño de poro 93 μ m), se diluyó con amortiguador y se centrifugó dos veces a 40,000 g por 30 min a 4°C. El pellet resultante se lavó con amortiguador de incubación (Tris HCl, 50 mM; $MgCl_2$, 2 mM; EDTA, 1 mM, pH 7.4) y se recentrifugó. El pellet final fue suspendido en amortiguador de incubación frío y se determinó la cantidad de proteína por el método de (Lowry, 1951).

4.5.2 Determinación de la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 .

Se utilizaron alicuotas de 400 μg de proteína/100 μl , y se añadieron 100 μl prazosina desde una concentración de 0.01 hasta 7.5 nM marcada con tritio ($[^3\text{H}]$), en un volumen final de 250 μl , los que se incubaron por 60 min a temperatura ambiente. La reacción se terminó por filtración en un multifiltro Bradel con papel GF/C con amortiguador de incubación frío. Los filtros se lavaron 3 veces con el amortiguador y se colocaron en viales a los que se les adicionó 5 ml de líquido de centelleo. La radiactividad retenida se cuantificó por medio de un contador de centelleo líquido (Beckman LS 6000SC). La unión no-específica se determinó por la adición de 10 μM fentolamina. Todos los ensayos se hicieron por triplicado (Deng y col., 1996).

5.0 Análisis estadístico. Los valores se presentan como promedio \pm EE. Las diferencias significativas son valoradas por la prueba t de Student. Un valor de $*p < 0.05$ se consideró significativo. Los datos de los estudios de unión fueron analizados con el programa EBDA-LIGAND (Biosoft, Elsevier), con el que se determinó el número de receptores máximo ($B_{\text{máx}}$) y la constante de afinidad (K_d).

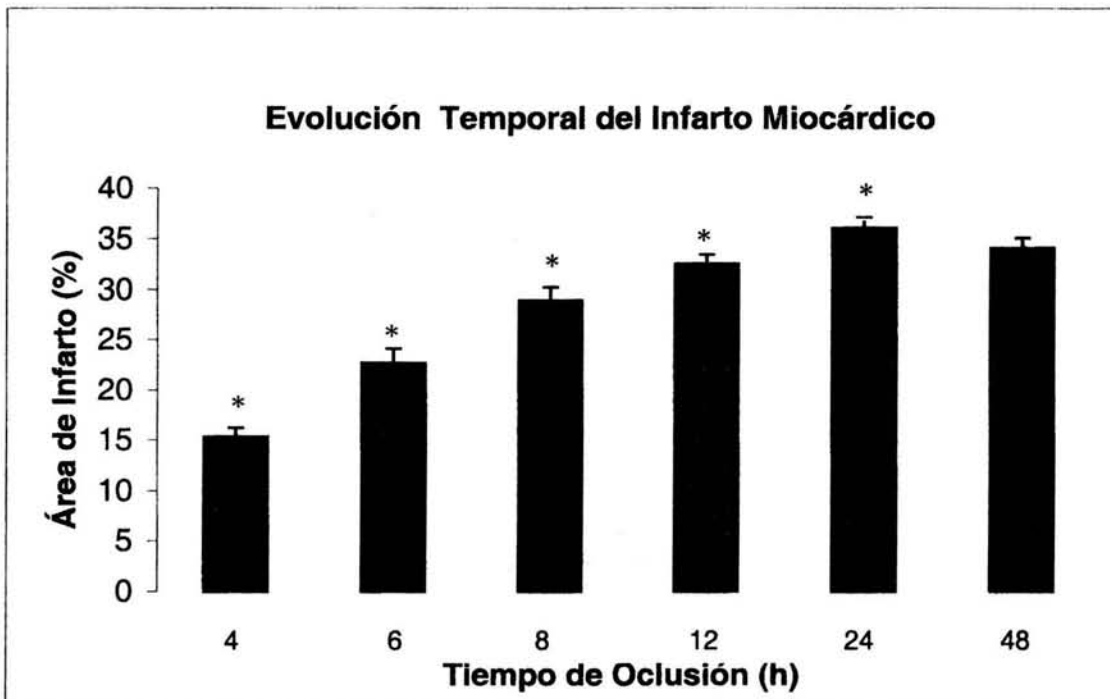
5.0 RESULTADOS

5.1 Determinación del área afectada por el infarto miocárdico en la rata

Cuando se ocluye una arteria coronaria, las fibras miocárdicas incluidas en la zona irrigada por el vaso sanguíneo afectado presentan una lesión isquémica cuya gravedad y trascendencia funcional, son proporcionales al diámetro de la arteria ocluída y al tiempo de la oclusión, e inversamente proporcional a la densidad de la circulación colateral que puede sustituir la deficiencia circulatoria.

La determinación diferencial de las zonas del corazón afectadas irreversiblemente por la isquemia puede hacerse mediante varias técnicas. Una de las reacciones histoquímicas que permiten identificar y cuantificar el tejido necrosado por los fenómenos isquémicos es utilizando azul de tetrazolio. Esta técnica es una de las más eficientes, y está basada en la capacidad del colorante en teñir intensamente de azul a las células cuya integridad funcional se manifiesta por las deshidrogenasas, enzimas intracelulares que reaccionan selectivamente con este compuesto, que por otro lado, se encuentra ausente de las células con daño importante. Por lo tanto, éstas quedan sin color en los cortes histológicos incubados con este colorante en condiciones supravitales (Nachals, 1963). Por medio de esta técnica histoquímica, se pudo valorar la evolución de las dimensiones del tejido afectado con relación al tiempo de oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en la rata.

La gráfica 1 muestra los resultados obtenidos en lotes comparables de ratas a los que se les practicó la ligadura coronaria y se les sacrificó para la cuantificación de las dimensiones de la zona necrosada como consecuencia de la oclusión coronaria, transcurridos distintos tiempos después de practicada la oclusión.



Gráfica 1. Evolución temporal de las dimensiones del miocardio infartado por la ligadura de la arteria coronaria izquierda en la rata. La altura de las barras es proporcional a la fracción porcentual del miocardio ventricular infartado, determinado con la tinción del azul de tetrazolio. Nótese que a las 24 h post-oclusión coronaria se obtiene el área máxima de infarto miocárdico. Valores promedio * $p < 0.05$ grupo 4h ,6h,8h,12,vs grupo 24 h n= 8prueba t de Student datos no pareados

Se puede apreciar en este modelo experimental, que la cantidad de tejido afectado por la isquemia presenta dimensiones no estables, ya que desde las 4 horas (tiempo mínimo de evolución del infarto que conviene valorar en este modelo), la magnitud de tejido lesionado tiende a aumentar hasta las 24 horas. Las ratas después de 4 horas de oclusión coronaria presentaron un área afectada (reacción negativa al azul de tetrazolio) de $15.3 \pm 0.9\%$ de la superficie del miocardio analizado; a las 6 horas la superficie del infarto ha aumentado a $22.70 \pm 1.4\%$, a las 8 horas a $28.9 \pm 1.3\%$, a las 12 horas a $32.5 \pm 0.9\%$ y a las 24 horas a $36.0 \pm 1.1\%$.

A partir de las 24 horas las dimensiones del infarto miocárdico tienden a estabilizarse, a las 48 horas el área infartada no difiere significativamente comparado con el grupo de las 24 horas de oclusión coronaria.

5.2 Determinación de la instalación de la insuficiencia cardiaca después de inducir infarto mediante la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en la rata

Las variables cardiacas y los parámetros hemodinámicos de cada uno de los grupos diferentes se muestran en las tablas 1, 2, 3, 4 y 5.

El estudio hemodinámico se realizó en 55 ratas, las cuales se dividieron en 5 grupos: ratas con un día, 1, 3, 4 y 6 semanas después de la oclusión de la arteria coronaria izquierda (n=5) y los grupos control de cada uno de los diferentes tiempos (operación falsa, n=6). La ligadura de la arteria coronaria izquierda produjo un 35% de mortalidad en 48 horas.

Los pesos corporales de las ratas control y las infartadas no presentaron cambio significativo. A pesar del adelgazamiento de la pared libre del ventrículo izquierdo (VI), su peso se incrementa a partir de la tercera semana post-infarto miocárdico, así como del ventrículo derecho (VD) y las aurículas izquierda (AI) y derecha (AD), lo que nos indica que a partir de este momento se desarrolla la hipertrofia cardiaca. La presión diastólica final del ventrículo izquierdo se incrementó significativamente en los grupos de 3, 4 y 6 semanas de oclusión coronaria (control 9 ± 2 vs infartada 26 ± 5 ; control 5 ± 1 vs infartada 22 ± 2 y control 3.3 ± 0.3 vs infartada 19 ± 3 , respectivamente) y permaneció aumentada de 4 a 5 veces más que los valores control. De hecho este parámetro hemodinámico se asocia con el evento hipertrófico. La presión sistólica del

ventrículo izquierdo disminuyó 19% y 23% en los grupos de 4 y 6 semanas de oclusión coronaria, respectivamente. Tanto el (+) dP/dt de la presión sistólica como el (-) dP/dt de la presión diastólica del ventrículo izquierdo, disminuyeron significativamente en las ratas de 4 y 6 semanas. Sin embargo, en el grupo de 3 semanas sólo disminuyó el (-) dP/dt . Cabe mencionar que en el grupo de un día post-infarto miocárdico no se pudo medir la presión sistólica ni la diastólica del ventrículo izquierdo, así como su respectiva dP/dt , ya que al llevar a cabo el cateterismo cardiaco, se presentaron arritmias cardiacas.

La presión arterial media se mantuvo sin cambio en los grupos de 1 día, 3 y 4, semanas después de la ligadura, mientras que en los grupos de 4 y 6 semanas postoclusión coronaria, mostraron una reducción significativa. La frecuencia cardiaca se incrementó en 14% y 29% en los grupos de un día y 3 semanas postinfarto, respectivamente. Mientras que en los grupos restantes no existieron cambios significativos.

Las mediciones hemodinámicas efectuadas *in vivo* revelaron una marcada disfunción del ventrículo izquierdo en las ratas con infarto miocárdico, lo que indica que a las 4 y a las 6 semanas existe insuficiencia cardiaca. Con base en estos resultados y en estudios previos, las ratas se trataron durante 4 semanas postoclusión con los fármacos elegidos.

La Figura 6 muestra los registros hemodinámicos típicos de una rata control (panel superior) y de una rata con 4 semanas postoclusión coronaria (panel inferior). Obsérvese que la frecuencia cardiaca no cambia, la presión arterial sistólica y la diastólica tienden a disminuir, la presión sistólica del ventrículo izquierdo con su

respectivo (+) dP/dt disminuyen, mientras que la presión diastólica final del ventrículo izquierdo aumenta y su (-) dP/dt disminuye.

Figura 6. Registros de la actividad hemodinámica de las ratas control (Sham) y ratas con insuficiencia cardiaca (ver texto).

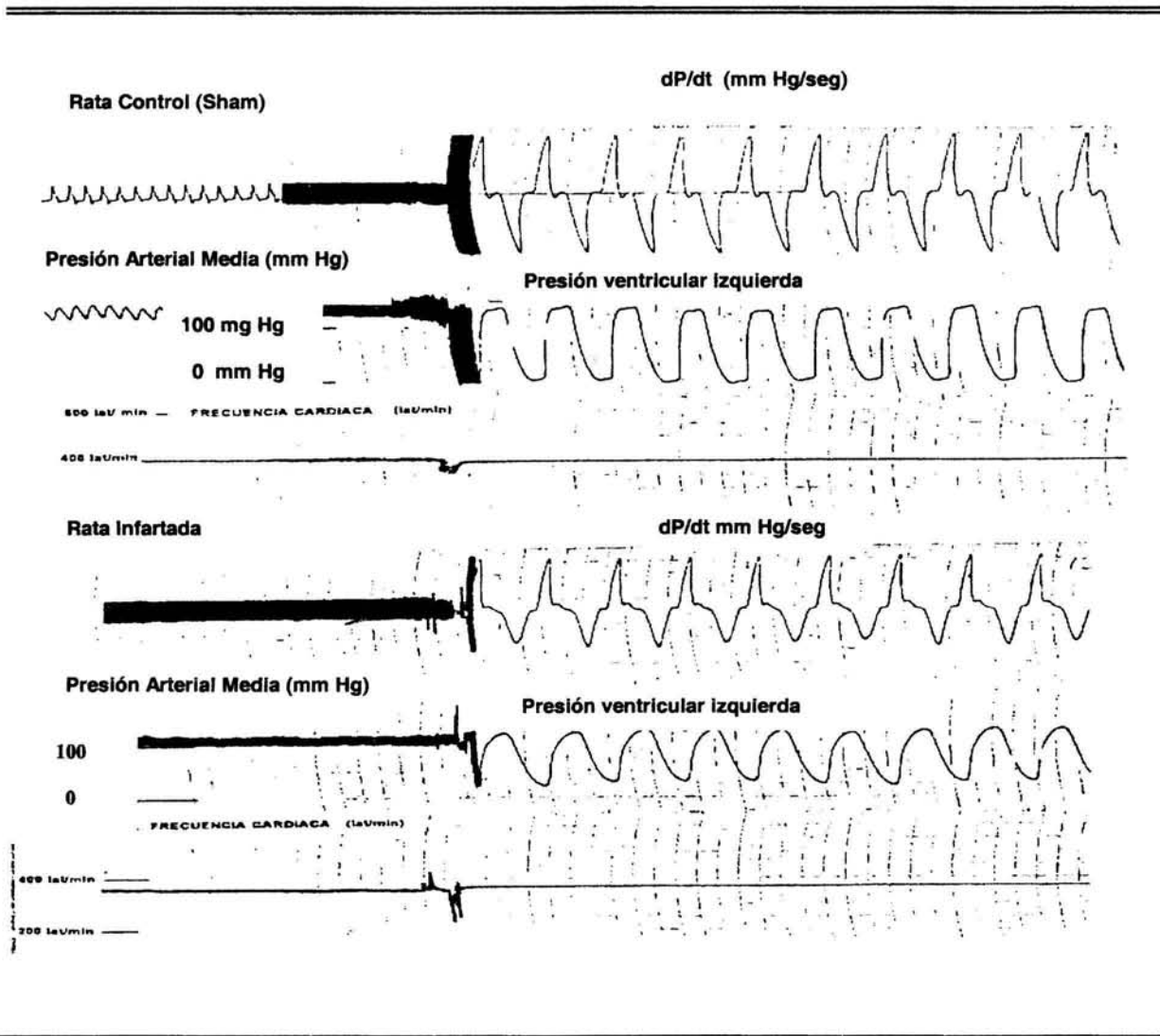


Tabla 1. Parámetros hemodinámicos y variables cardiacas de ratas con operación falsa y un día de oclusión coronaria.

	CONTROL	OCCLUSIÓN CORONARIA
PESO CORPORAL (g)	278 ± 9	265 ± 2
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	352 ± 10	402 ± 9*
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	113 ± 1	103 ± 3
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	119 ± 3	no se midió
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	2.5 ± 1	no se midió
(+) dP/dt (mmHg/seg)	4452 ± 20	no se midió
(-) dP/dt (mmHg/seg)	4394 ± 42	no se midió
AI/PC mg/g	0.11 ± 0.008	0.12 ± 0.008
AD/PC mg/g	0.22 ± 0.009	0.20 ± 0.098
VI/PC mg/g	2.62 ± 0.13	2.7 ± 0.1
VD/PC mg/g	0.7 ± 0.02	0.78 ± 0.03

PC: peso corporal

AI: aurícula izquierda

VI: ventrículo izquierdo

AD: aurícula derecha

VD: ventrículo derecho

n = 5

n = 5

*p < 0.05

prueba t de Student datos no pareados

Tabla 2. Parámetros hemodinámicos y variables cardiacas de ratas con operación falsa y con una semana de oclusión coronaria.

	CONTROL	OCCLUSIÓN CORONARIA
PESO CORPORAL (g)	277 ± 2	280 ± 8
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	447 ± 18	420 ± 10
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	107 ± 6	91 ± 1*
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	112 ± 3	95 ± 10
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	9 ± 1	12 ± 1
(+) dP/dt (mmHg/seg)	3762 ± 162	3450 ± 404
(-) dP/dt (mmHg/seg)	3481 ± 153	3059 ± 355
AI/PC mg/g	0.10 ± 0.01	0.15 ± 0.06
AD/PC mg/g	0.22 ± 0.02	0.24 ± 0.04
VI/PC mg/g	2.5 ± 0.06	2.35 ± 0.09
VD/PC mg/g	0.95 ± 0.05	0.87 ± 0.02

PC: peso corporal

AI: aurícula izquierda

VI: ventrículo izquierdo

AD: aurícula derecha

VD: ventrículo derecho

n = 6

n = 5

*p < 0.05

prueba t de Student datos no pareados

Tabla 3. Parámetros hemodinámicos y variables cardiacas de ratas con operación falsa y con tres semanas de oclusión coronaria.

	CONTROL	OCCLUSIÓN CORONARIA
PESO CORPORAL (g)	359 ± 8	336 ± 21
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	385 ± 18	498 ± 11
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	108 ± 5	113 ± 13
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	112 ± 4	119 ± 9
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	9 ± 2	26 ± 5*
(+) dP/dt (mmHg/seg)	3776 ± 61	3650 ± 67
(-) dP/dt (mmHg/seg)	3519 ± 70	2822 ± 198*
AI/PC mg/g	0.09 ± 0.01	0.19 ± 0.04*
AD/PC mg/g	0.17 ± 0.01	0.20 ± 0.01*
VI/PC mg/g	2.04 ± 0.09	2.45 ± 0.12*
VD/PC mg/g	0.82 ± 0.01	0.97 ± 0.01*

PC: peso corporal
AI: aurícula izquierda
VI: ventrículo izquierdo

AD: aurícula derecha
VD: ventrículo derecho

n = 6

n = 5

*p < 0.05

prueba t de Student datos no pareados

Tabla 4. Parámetros hemodinámicos y variables cardiacas de ratas con operación falsa y con cuatro semanas de oclusión coronaria.

	CONTROL	OCCLUSIÓN CORONARIA
PESO CORPORAL (g)	349 ± 8	349 ± 4
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	385 ± 9	387 ± 13
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	112 ± 7	94 ± 6
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	125 ± 6	102 ± 5*
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	5 ± 1	22 ± 2*
(+) dP/dt (mmHg/seg)	3853 ± 75	2625 ± 216*
(-) dP/dt (mmHg/seg)	3500 ± 78	2740 ± 140*
AI/PC mg/g	0.083 ± 0.005	0.29 ± 0.02*
AD/PC mg/g	0.12 ± 0.01	0.28 ± 0.06*
VI/PC mg/g	2.2 ± 0.04	2.61 ± 0.18*
VD/PC mg/g	0.84 ± 0.05	1.3 ± 0.18*

PC: peso corporal
AI: aurícula izquierda
VI: ventrículo izquierdo

AD: aurícula derecha
VD: ventrículo derecho

n = 6

n = 5

*p < 0.05 prueba t de Student datos no pareados

Tabla 5. Parámetros hemodinámicos y variables cardiacas de ratas con operación falsa y con seis semanas de oclusión coronaria .

	CONTROL	OCCLUSIÓN CORONARIA
PESO CORPORAL (g)	346 ± 9	378 ± 16
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	425 ± 4	328 ± 16*
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	129 ± 4	107 ± 5*
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	155 ± 3	118 ± 7*
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	3.3 ± 0.3	19 ± 3*
(+) dP/dt (mmHg/seg)	4400 ± 200	3650 ± 50*
(-) dP/dt (mmHg/seg)	4333 ± 177	2437 ± 108*
AI/PC mg/g	0.012 ± 0.01	0.31 ± 0.04*
AD/PC mg/g	0.19 ± 0.01	0.38 ± 0.06*
VI/PC mg/g	2.28 ± 0.07	2.36 ± 0.01*
VD/PC mg/g	0.98 ± 0.02	1.5 ± 0.01*

PC: peso corporal

AI: aurícula izquierda

VI: ventrículo izquierdo

AD: aurícula derecha

VD: ventrículo derecho

n = 6

n = 5

*p < 0.05

prueba t de Student datos no pareados

5.3 Determinación temporal del número de receptores adrenérgicos α_1 en ratas control y con 1 día, 1, 3 y 4 semanas post-infarto miocárdico

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos en la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 ($B_{m\acute{a}x}$) en membranas de ventrículo derecho de ratas control y las que fueron sometidas a diferentes tiempos postinfarto. Las ratas control de 1 día mostraron menor cantidad de receptores adrenérgicos α_1 en el ventrículo derecho que en las ratas control de 4 semanas (10 semanas vs 14 semanas de edad, respectivamente). Asimismo, las ratas de 4 semanas con oclusión coronaria mostraron un aumento en la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 (3 veces) con

respecto a las ratas de 1 día post-infarto miocárdico. Esto último lo interpretamos como un mecanismo compensatorio por la disfunción ventricular izquierda. Por otro lado, la constante de afinidad (K_d) no tuvo cambios significativos en los grupos control y en los grupos con infarto miocárdico.

Tabla 6. Determinación temporal de la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 en ventrículo derecho de ratas control y con oclusión coronaria.

	CONTROL		OCLUSIÓN CORONARIA	
	$B_{m\acute{a}x}$ (fmol/mg proteína)	K_d (10^{-10} M)	$B_{m\acute{a}x}$ (fmol/mg proteína)	K_d (10^{-10} M)
1 día	33 ± 0.7	0.84 ± 0.03	34 ± 1.9	1.3 ± 0.1
1 semanas	39 ± 0.3	1.6 ± 0.21	$65 \pm 6.1^*$	4.2 ± 0.4
3 semanas	44 ± 1.6	1.0 ± 0.03	58 ± 7.5	1.0 ± 0.5
&4 semanas	$65 \pm 5^{**}$	2.3 ± 0.62	$102 \pm 10^{***}$	2.2 ± 0.1

Valores promedio \pm E.E.; n = 5 & Insuficiencia Cardíaca; *p<0.05 control vs oclusión coronaria (OC);
 ** p<0.05 control 1 día vs control 4 semanas; ***p<0.05 1 día de OC vs 4 semanas de OC
 prueba t de Student, datos no pareados

5.4 Efecto de la inhibición de la ECA sobre la expresión adrenérgica α_1 . En la tabla 7 se muestran los resultados de cantidad de receptores adrenérgicos α_1 que se determinaron en el ventrículo derecho de ratas controles (sham), con insuficiencia cardíaca y tratadas crónicamente con captopril donde se observa que la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina II provocó una disminución parcial de la expresión adrenérgica α_1 , sin cambio significativo en la constante de afinidad.

Tabla 7. Cantidad de receptores adrenérgicos α_1 en ratas controles, con insuficiencia cardiaca (IC) y con captopril (2.5mg/Kg/día).

	Control	Insuficiencia Cardiaca	Captopril
$B_{m\acute{a}x}$ fmol/mg proteína	65 ± 5	102 ± 10*	82 ± 8
K_d (10^{-10} M)	2.3 ± 0.6	2.2 ± 0.1	2.3 ± 0.5

Valores promedio ± EE n = 5 *p < 0.05 control vs IC prueba t de Student datos no pareados

5.5 Determinación del efecto del captopril, del losartán, del BMY7378 y del propranolol administrados durante 4 semanas en ratas con oclusión coronaria

En las tablas 8, 9 10 y 11 se muestran los parámetros hemodinámicos y el peso de las cavidades del corazón de los animales control, los que se sometieron a oclusión coronaria y los que recibieron tratamiento farmacológico. Los compuestos fueron administrados mediante bombas osmóticas, con una liberación de: a) captopril de 2.5 mg/Kg/día; b) losartán (3 mg/Kg/día), c) BMY7378 1mg/Kg/día y d) propranolol (1mg/Kg/día, en el agua de beber) durante 28 días. Como puede observarse, el captopril previno los cambios hemodinámicos y la hipertrofia cardiaca generados por la oclusión coronaria; mientras que el losartán y el propranolol disminuyeron significativamente la presión sistólica del ventrículo izquierdo y su respectiva (+) dP/dt. También evitaron la elevación de la presión diastólica final de llenado del ventrículo izquierdo y la hipertrofia cardiaca, parámetros importantes que nos hablan de insuficiencia cardiaca.

Por otro lado, el antagonista adrenérgico α_{1D} BMY7378 (Tabla 10), no previno la instalación de la insuficiencia cardiaca ya que las variables cardiacas y la hemodinamia de las ratas sometidas a infarto miocárdico fueron muy similares al grupo de ratas con oclusión coronaria.

Tabla 8. Efectos del tratamiento crónico con captopril 2.5 mg/Kg) sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardiacas de ratas con oclusión coronaria.

	CONTROL	OCCLUSIÓN	CAPTOPRIL
PESO CORPORAL (g)	396 ± 2	382 ± 23	375 ± 12
FRECUENCIA CARDIACA (at/min)	385 ± 9	387 ± 13	370 ± 20
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	112 ± 7	94 ± 6*	115 ± 6**
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	125 ± 11	102 ± 5*	118 ± 3
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	5 ± 1	22 ± 2*	6 ± 2**
(+) dP/dt (mmHg/seg)	3853 ± 75	2625 ± 16*	3858 ± 69**
(-) dP/dt (mmHg/seg)	3500 ± 78	2740 ± 30*	3268 ± 102**
AI/PC mg/g	0.083 ± 0.02	0.29 ± 0.02*	0.16 ± 0.01**
AD/PC mg/g	0.12 ± 0.01	0.28 ± 0.06*	0.16 ± 0.01**
VI/PC mg/g	2.2 ± 0.04	2.61 ± 0.01*	2.12 ± 0.07**
VD/PC mg/g	0.84 ± 0.05	1.3 ± 0.18*	0.72 ± 0.05**

PC: peso corporal
AI: aurícula izquierda
VI: ventrículo izquierdo

AD: aurícula derecha
VD: ventrículo derecho

n = 5 n = 5 n = 5
valores promedio ± EE
*p < 0.05 control vs OC **p < 0.05 OC vs CAPTOPRIL
prueba t de Student datos no pareados

Tabla 9. Efectos del tratamiento crónico con losartán (3.0 mg/Kg) sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con oclusión coronaria.

	CONTROL	OCCLUSIÓN	LOSARTÁN
PESO CORPORAL (g)	396 ± 2	382 ± 23	390 ± 5
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	385 ± 9	387 ± 13	372 ± 20
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	112 ± 7	94 ± 6*	88 ± 6**
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	125 ± 11	102 ± 5*	83 ± 3**
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	5 ± 1	22 ± 2*	9 ± 2**
(+) dP/dt (mmHg/seg)	3853 ± 75	2625 ± 16*	2765 ± 140
(-) dP/dt (mmHg/seg)	3500 ± 78	2740 ± 30*	2625 ± 153
AI/PC mg/g	0.083 ± 0.02	0.29 ± 0.02*	0.11 ± 0.01**
AD/PC mg/g	0.12 ± 0.01	0.28 ± 0.06*	0.15 ± 0.003**
VI/PC mg/g	2.2 ± 0.04	2.61 ± 0.01*	1.99 ± 0.07**
VD/PC mg/g	0.84 ± 0.05	1.3 ± 0.18*	0.94 ± 0.03**
	n = 5	n = 5	n = 5

PC: peso corporal
 AI: aurícula izquierda AD: aurícula derecha
 VI: ventrículo izquierdo VD: ventrículo derecho

valores promedio ± EE
 *p < 0.05 control vs OC **p < 0.05 OC vs LOSARTÁN

Tabla 10. Efectos del tratamiento crónico con BMY 7378 (1.0 mg/Kg/día) sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con oclusión coronaria.

	CONTROL	OCCLUSIÓN	BMY7378
PESO CORPORAL (g)	396 ± 2	382 ± 23	425 ± 10
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	385 ± 9	387 ± 13	302 ± 31**
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	112 ± 7	94 ± 6*	93 ± 1
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	125 ± 11	102 ± 5*	95 ± 5
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	5 ± 1	22 ± 2*	18 ± 2
(+) dP/dt (mmHg/seg)	3853 ± 75	2625 ± 16*	2850 ± 50
(-) dP/dt (mmHg/seg)	3500 ± 78	2740 ± 30*	2715 ± 90
AI/PC mg/g	0.083 ± 0.02	0.29 ± 0.02*	0.30 ± 0.02
AD/PC mg/g	0.12 ± 0.01	0.28 ± 0.06*	0.24 ± 0.03
VI/PC mg/g	2.2 ± 0.04	2.61 ± 0.01*	3.05 ± 0.08**
VD/PC mg/g	0.84 ± 0.05	1.3 ± 0.18*	2.15 ± 0.25**
	n = 5	n = 5	n = 3

PC: peso corporal
 AI: aurícula izquierda AD: aurícula derecha
 VI: ventrículo izquierdo VD: ventrículo derecho

valores promedio ± EE
 *p < 0.05 control vs OC **p < 0.05 OC vs BMY7378
 prueba t de Student datos no pareados

Tabla 11. Efectos del tratamiento crónico con propranolol 1 mg/Kg sobre los parámetros hemodinámicos y variables cardíacas de ratas con oclusión coronaria.

	CONTROL	OC	PROPRANOLOL
PESO CORPORAL (g)	380 ± 6	363 ± 2	351 ± 7
FRECUENCIA CARDIACA (lat/min)	370 ± 13	370 ± 10	380 ± 14
PRESIÓN ARTERIAL MEDIA (mmHg)	120 ± 1	98 ± 5*	113 ± 6**
PRESIÓN SISTÓLICA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	139 ± 11	112 ± 6*	115 ± 2
PRESIÓN DIASTÓLICA FINAL DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO (mmHg)	3 ± 0.2	24 ± 2*	8 ± 1**
(+) dP/dt (mmHg/seg)	3828 ± 68	2365 ± 30*	2756 ± 39**
(-) dP/dt (mmHg/seg)	3268 ± 70	2258 ± 108*	2520 ± 55**
AI/PC mg/g	0.074 ± 0.02	0.25 ± 0.01*	0.10 ± 0.02**
AD/PC mg/g	0.12 ± 0.01	0.38 ± 0.06*	0.18 ± 0.05**
VI/PC mg/g	2.04 ± 0.01	2.61 ± 0.01*	2.03 ± 0.05**
VD/PC mg/g	0.84 ± 0.05	1.4 ± 0.03*	0.93 ± 0.04**

PC: peso corporal
AI: aurícula izquierda
VI: ventrículo izquierdo

AD: aurícula derecha
VD: ventrículo derecho

n = 5 n = 5 n = 5
valores promedio ± EE
*p < 0.05 control vs OC **p < 0.05 OC vs propranolol
prueba t de Student datos no pareados

5.6 Efecto del captopril, del losartán, del BMY7378 y del propranolol sobre el tamaño del infarto en ratas con 4 semanas de oclusión coronaria.

La tabla 12 se muestra el porcentaje del área infartada de la pared libre del ventrículo izquierdo, evaluada 4 semanas postoclusión coronaria sin y con los tratamientos del inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), el antagonista de los receptores AT₁ y el bloqueo del receptor adrenérgico β. El Captopril, el losartán y el propranolol evitaron que el tamaño del infarto fuera > 40%; mientras que el BMY7378 (antagonista adrenérgico α_{1D}), no lo redujo.

Tabla 12. Porcentaje de área infartada en ratas controles, con insuficiencia cardiaca, BMY 7378, propranolol, captopril y losartán.

CONTROL	OCLUSIÓN	FÁRMACO
		BMY 7378
0	42.7 + 2.12*	41.5 ± 2.9
		PROPRANOLOL
0	39.4 + 2.68*	22.0 ± 0.7**
		CAPTOPRIL
0	42.7 + 2.12*	27.4 ± 1.2**
		LOSARTÁN
0	42.7 + 2.12*	27.6 ± 0.92**

Valores promedio ± EE *p< 0.05 control vs Oclusión Coronaria **p<0-05 Oclusión vs Fármaco prueba t de Student datos no pareados

5.7 Determinación de la respuesta adrenérgica α_1 en tiras de ventrículo derecho.

Las acciones inotrópicas positivas de fenilefrina (10 μ M) en tira de ventrículo derecho provocaron una respuesta trifásica: un efecto inotrópico positivo transitorio, seguido de un efecto inotrópico negativo transitorio y una respuesta inotrópica positiva sostenida. Esta última, se consideró como la respuesta contráctil a fenilefrina en ausencia y en presencia de los diferentes antagonistas (Figura 7).

Efectos del 5-metilurapidil (5MU), la cloroetilclonidina (CEC) y el BMY 7378 sobre la respuesta contráctil a fenilefrina. Los efectos de los diferentes antagonistas sobre las respuestas contráctiles a la estimulación adrenérgica α_1 , fueron comparados antes y después de haber adicionado las diferentes concentraciones de los antagonistas α_{1A} ,

α_{1B} y α_D . La respuesta inotrópica positiva sostenida a fenilefrina se redujo a las concentraciones 3×10^{-10} ; 10^{-9} y 10^{-8} M del 5MU en las tiras de ventrículo derecho de ratas sham y con insuficiencia cardiaca (Gráfica 2). La adición de CEC (10^{-5} M) disminuyó la contracción sostenida a fenilefrina ($10 \mu\text{M}$) en las tiras de ventrículo derecho de las ratas sham. Mientras que la respuesta contráctil a fenilefrina se incrementó en presencia de CEC (10^{-5} M), en las preparaciones de ventrículo derecho de ratas con insuficiencia cardiaca (Gráfica 3). En presencia de BMY7378 (10^{-7} M), se disminuyó la actividad adrenérgica α_1 en las tiras de ventrículo de los corazones de las ratas sham. Por el contrario, se observó un aumento de la respuesta a fenilefrina en presencia del antagonista α_{1D} (10^{-8} y 10^{-7} M), en las tiras de ventrículo derecho de los corazones de las ratas con insuficiencia cardiaca (Gráfica 4).

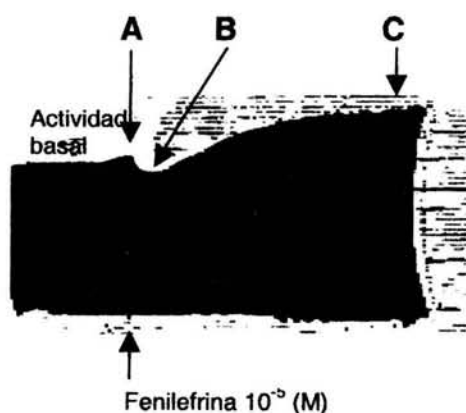
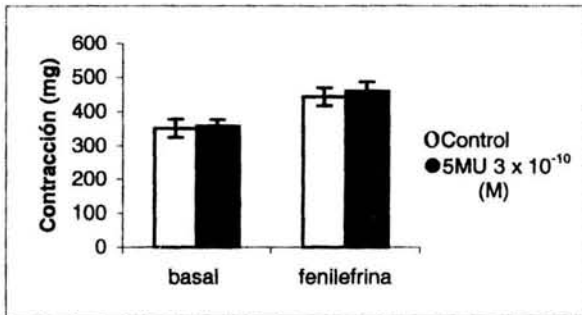
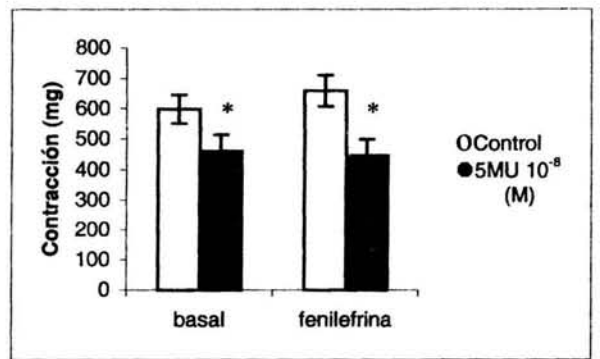
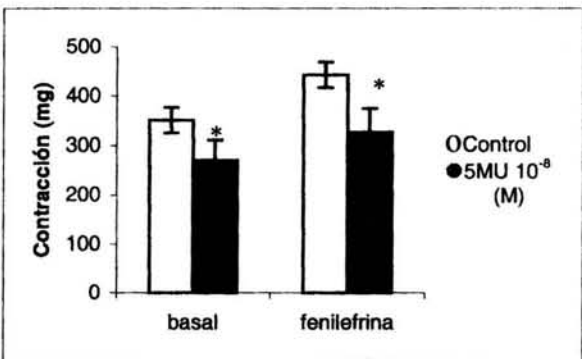
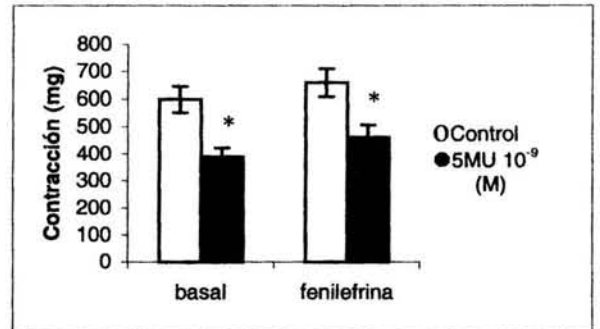
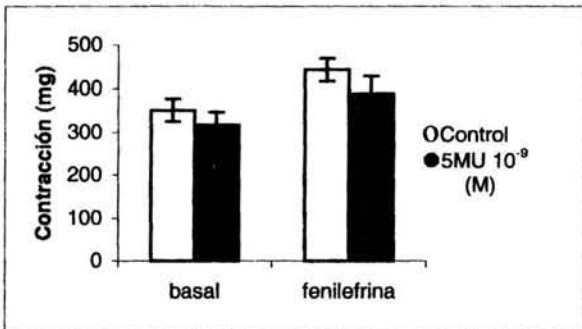
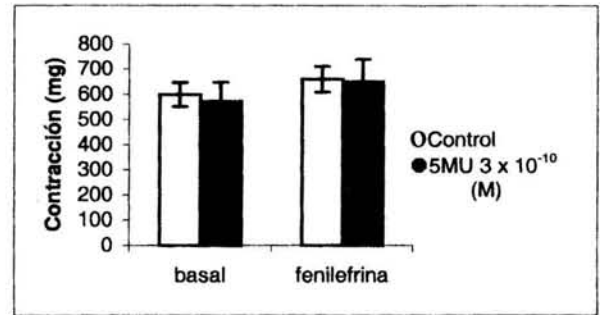


Figura 7. Registro típico de la actividad contráctil por Fenilefrina (10^{-5} M) en tira de ventrículo derecho de rata. Obsérvese la respuesta trifásica de este agonista adrenérgico α_1 , efecto inotrópico positivo transitorio (A), seguido del efecto inotrópico negativo transitorio (B) y una respuesta inotrópica positiva sostenida (C).

Efecto de la Fenilefrina en Tiras de Ventrículo Derecho de Rata Sham

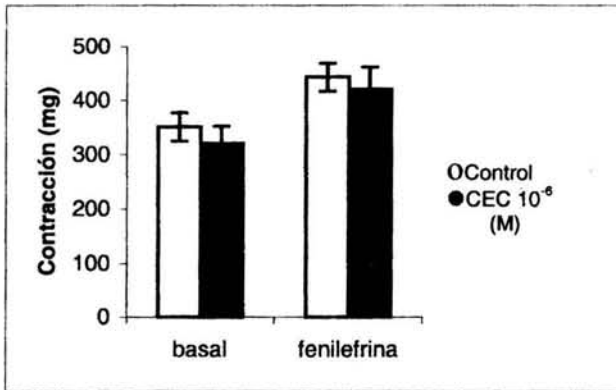


Efecto de la Fenilefrina en Tiras de Ventrículo Derecho de Rata con Insuficiencia Cardíaca

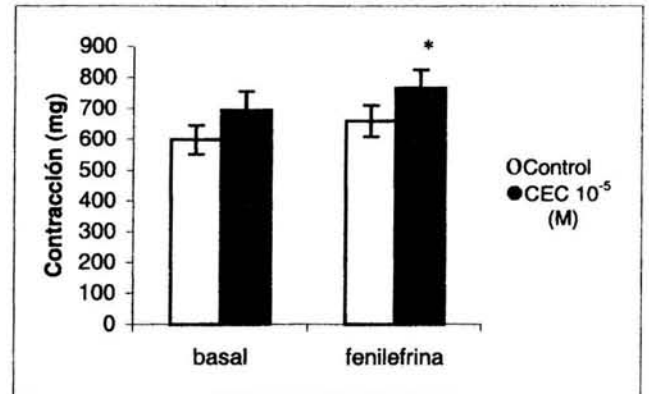
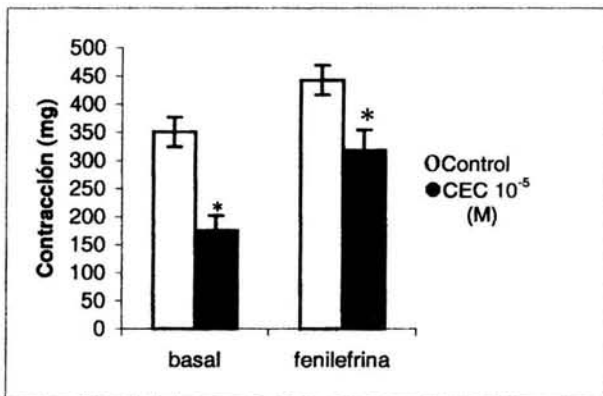
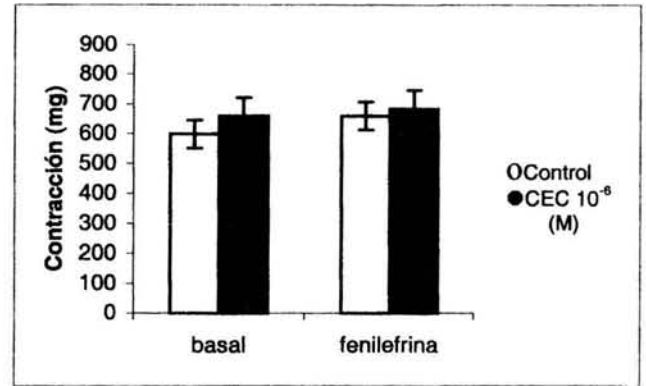


Gráfica 2 . Efectos del 5MU sobre el incremento máximo en el desarrollo de la tensión provocada por $10 \mu\text{M}$ de fenilefrina (FEN) en tira de ventrículo derecho. La acción inotrópica de la fenilefrina fue analizada antes (barras claras) y después de la adición de 5MU (barras oscuras, 3×10^{-10} , 10^{-9} y 10^{-8} M). Los valores son presentados en mg de tensión desarrollada por las tiras de ventrículo derecho de las ratas sham (sin insuficiencia cardíaca) y de las ratas con insuficiencia cardíaca (4 h de oclusión coronaria). Obsérvese que la tensión basal de la tira de ventrículo derecho de la rata control es menor que la de rata con insuficiencia cardíaca. Los resultados son representados como el promedio \pm EE de 6 ratas por grupo. Prueba t de Student datos no pareados * $p < 0.05$

Efecto de la Fenilefrina en Tiras de Ventrículo Derecho de Rata Sham

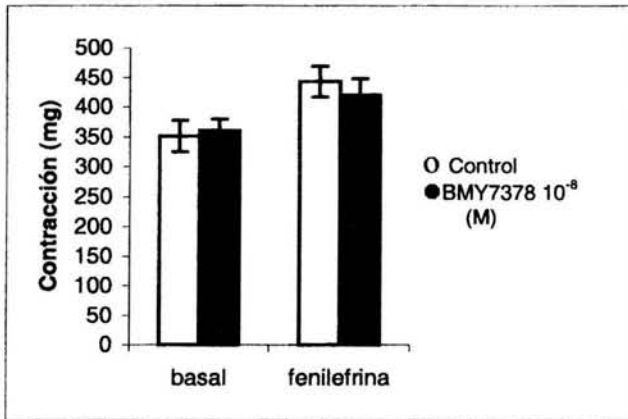


Efecto de la Fenilefrina en Tiras de Ventrículo Derecho de Rata con Insuficiencia Cardiaca

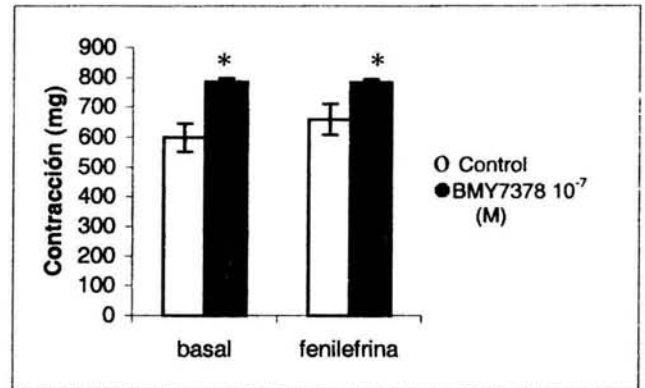
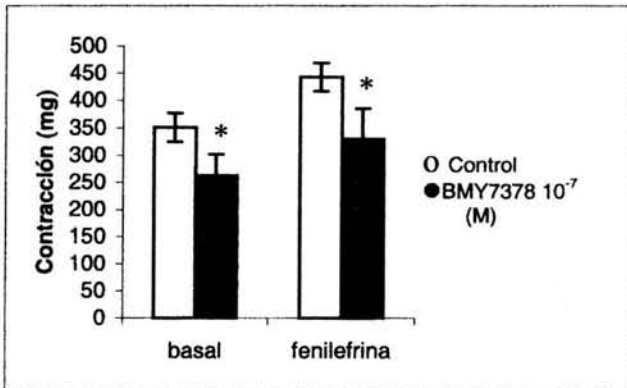
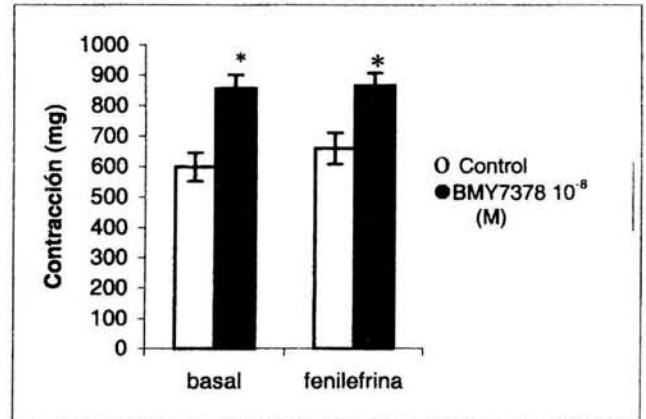


Gráfica 3 . Efectos del CEC sobre el incremento máximo en el desarrollo de la tensión provocada por $10 \mu\text{M}$ de fenilefrina (FEN) en tira de ventrículo derecho. La acción inotrópica de la fenilefrina fue analizada antes (barras claras) y después de la adición de CEC (barras oscuras, 10^{-6} y 10^{-5} M). Los valores son presentados en mg de tensión desarrollada por las tiras de ventrículo derecho de las ratas sham (sin insuficiencia cardiaca) y de las ratas con insuficiencia cardiaca (4 h de oclusión coronaria). Obsérvese que la tensión basal de la tira de ventrículo derecho de la rata control es menor que la de rata con insuficiencia cardiaca. Los resultados son representados como el promedio \pm EE de 6 ratas por grupo. Prueba t de Student datos no pareados * $p < 0.05$

Efecto de la Fenilefrina en Tiras de Ventrículo Derecho de Rata Sham

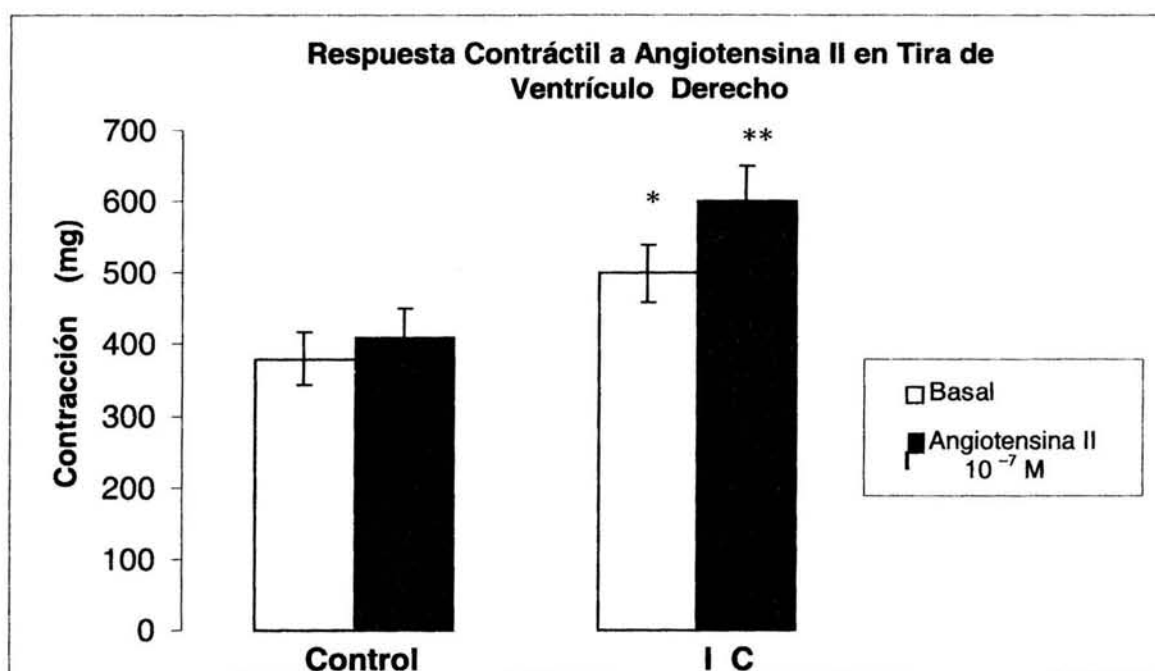


Efecto de la Fenilefrina en Tiras de Ventrículo Derecho de Rata con Insuficiencia Cardiaca



Gráfica 4. Efectos del BMY7378 sobre el incremento máximo en el desarrollo de la tensión provocada por 10 μ M de fenilefrina (FEN) en tira de ventrículo derecho. La acción inotrópica de la fenilefrina fue analizada antes (barras claras) y después de la adición de BMY7378 (barras oscuras, 10⁻⁸ y 10⁻⁷ M). Los valores son presentados en mg de tensión desarrollada por las tiras de ventrículo derecho de las ratas sham (sin insuficiencia cardiaca) y de las ratas con insuficiencia cardiaca (4 h de oclusión coronaria). Obsérvese que la tensión basal de la tira de ventrículo derecho de la rata control es menor que la de rata con insuficiencia cardiaca. Los resultados son representados como el promedio \pm EE de 6 ratas por grupo. Prueba t de Student datos no pareados * p<0.05

5.8 Respuesta a angiotensina II en tira de ventrículo derecho de ratas sham y con insuficiencia cardiaca. La respuesta a la angiotensina II en estas preparaciones dio como resultado un incremento significativo en la respuesta contráctil en las tiras de ventrículo derecho de ratas con insuficiencia cardiaca (4 h de oclusión coronaria), comparado con la respuesta a angiotensina II en ratas sham (gráfica 5).



Gráfica 5. Efectos de la angiotensina II en tira de ventrículo derecho de ratas sin oclusión y con insuficiencia cardiaca (4 h de oclusión coronaria). Las barras claras muestran la actividad contráctil basal de las tiras de ventrículo derecho de los corazones del grupo control y con insuficiencia cardiaca. Las barras oscuras representan la actividad contráctil a la angiotensina II en ambas preparaciones. Nótese el aumento en la respuesta inotrópica a la angiotensina II en las tiras de ventrículo derecho de los corazones insuficientes.

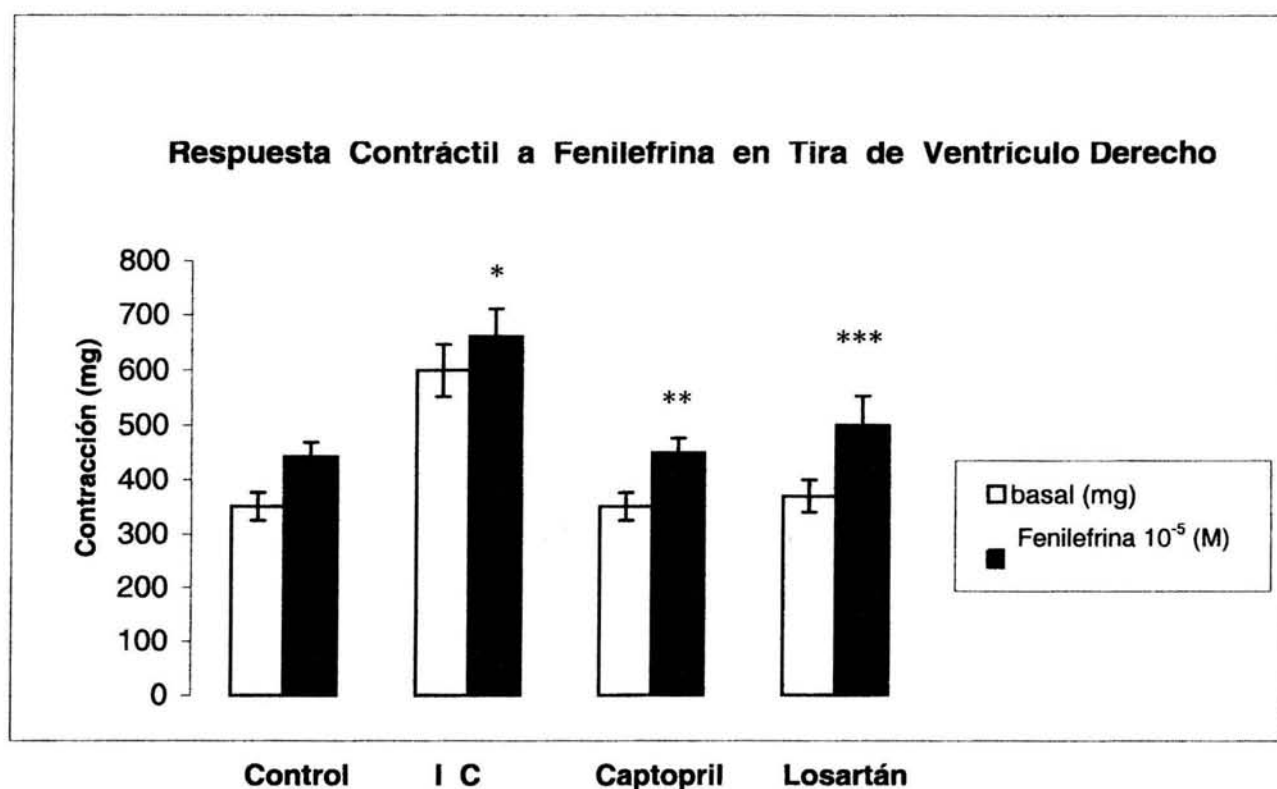
Valores promedio n = 6 ± EE

*p < 0.05 Control vs IC

Prueba de t de Student, datos no pareados

** p < 0.05 angiotensina control vs angiotensina IC

5.9 Respuesta adrenérgica α_1 en tira de ventrículo derecho de ratas tratadas crónicamente con captopril y con losartán. La respuesta contráctil sostenida a fenilefrina ($10 \mu\text{M}$) de las preparaciones de ventrículo derecho, es semejante en las ratas tratadas con captopril y con losartán con las preparaciones de las ratas sham. Mientras que la respuesta inotrópica al agonista adrenérgico α_1 se incrementó en las preparaciones de ratas con insuficiencia cardiaca (Gráfica 6).



Gráfica 6. Respuesta inotrópica a la fenilefrina en tiras de ventrículo derecho de ratas control, con insuficiencia cardiaca, con captopril (2.5 mg/Kg/28 días) y con losartán (3.0 mg/Kg/28 días) 24 horas después de la oclusión de la arteria coronaria. La respuesta contráctil basal de cada grupo se representa con las barras claras y la actividad contráctil a la fenilefrina se representa con las barras oscuras.

Valores promedio \pm EE n = 6 *p< 0.05 control vs IC; **p<0.05 IC vs Captopril; ***p<0.05 IC vs Losartán
prueba t de Student datos no pareados

6.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El modelo experimental de infarto miocárdico inducido mediante la oclusión de la arteria coronaria izquierda en la rata, ha sido utilizado para estudiar la morfología, los cambios funcionales del ventrículo izquierdo y la supervivencia después de la pérdida de tejido miocárdico. Los cambios histológicos y la formación de la cicatriz después de la oclusión coronaria, son comparables en humanos y en ratas. De hecho, la disfunción del ventrículo izquierdo depende del tamaño del infarto (Pfeffer y col., 1979).

La trayectoria básica de los cambios cardiovasculares, en las ratas que sobrevivieron al infarto agudo del miocardio, reflejan una adaptación a la necrosis miocárdica del ventrículo izquierdo, a pesar de una hipertrofia del miocardio residual y descompensación subsecuente. A las 4 semanas después de haber inducido infarto miocárdico, los corazones pesan 20% más que los normales. Se ha propuesto que el corazón empieza a ganar peso desde la cuarta semana post-infarto (De Felice, 1989). Nuestros resultados muestran este incremento a partir de la tercera semana después de la oclusión coronaria. Por otro lado, el peso del ventrículo derecho refleja una mayor ganancia que el ventrículo izquierdo, resultado que está de acuerdo con lo reportado por DeFelice y col. (1989).

Otros autores han demostrado que con 3 semanas de oclusión coronaria, el tejido miocárdico necrosado es completamente reemplazado por tejido conectivo (Fishbein y col., 1978). A pesar de la severa cicatriz del ventrículo izquierdo (40%) después de un mes de la oclusión coronaria, la apariencia y la conducta normal de las ratas así como el mantenimiento de la frecuencia cardíaca y la presión arterial media no cambian, lo que refleja la participación de uno o varios mecanismos compensatorios. Entre ellos el incremento de catecolaminas circulantes las que pueden participar en el aumento de la

función contráctil del músculo cardíaco, en la hipertrofia cardíaca, en la disminución de la resistencia a la eyección ventricular o a la estimulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, que promueve al aumento del volumen sanguíneo. El incremento en la presión diastólica de llenado final del ventrículo izquierdo, observado en los grupos de 3, 4 y 6 semanas post-infarto, significa un incremento en el peso total del corazón y una reducción en las resistencias vasculares periféricas. Esto indica que por lo menos 3 de estas respuestas adaptativas, están actuando para mantener un gasto cardíaco y una perfusión favorable de los órganos.

Con relación a la hemodinamia y a la hipertrofia en esta condición, se han reportado cambios en estos parámetros, como: disminución de la presión máxima del ventrículo izquierdo o (+) dP/dt , hipotensión, incremento en la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y disminución en su respectiva (-) dP/dt , presencia de hipertrofia cardíaca evidenciada por el incremento en el peso del corazón, tamaño del infarto > a un 40% y dilatación de la cavidad ventricular izquierda (Pfeffer y col., 1979). En nuestros resultados, estos cambios son observados a partir de la cuarta semana de oclusión coronaria y fueron similares a los reportados, por lo que consideramos que el modelo es exitoso, al usar ratas jóvenes, las cuales muestran una trayectoria con infarto miocárdico severo y sanado, lo que se refleja en una descompensación cardíaca progresiva, conduciendo a una insuficiencia cardíaca terminal.

6.1 Expresión adrenérgica α_1 en músculo cardíaco.

La relación envejecimiento-enfermedad y los cambios en los receptores transmembranales con la edad pueden ser útiles para establecer la patogénesis de

enfermedades progresivas, en este caso la insuficiencia cardiaca (Dax y col., 1987). En el modelo de crecimiento natural de ratas Wistar no se había determinado los cambios en la cantidad y en la afinidad de los receptores adrenérgicos α_1 del músculo cardiaco, ni en ratas con infarto miocárdico ni con insuficiencia cardiaca. Por otro lado, se ha sugerido que la edad es un factor determinante en la expresión funcional de los receptores adrenérgicos α_1 (Ibarra y col., 1997).

En nuestro caso, encontramos que la densidad de los receptores se incrementa al doble en el músculo ventricular derecho de las ratas sin oclusión coronaria con la edad; mientras que las ratas insuficientes muestran una cantidad 3 veces mayor. Estos resultados son diferentes a los obtenidos por Litwin y col., 1991, ya que ellos determinaron que la cantidad de receptores adrenérgicos α_1 se mantiene, así como la funcionalidad del músculo cardiaco.

Los RNAm de los tres subtipos de receptores adrenérgicos α_1 se han identificado en las diferentes cavidades del corazón (aurículas y ventrículos), predominando el subtipo de receptor $\alpha_{1B} > \alpha_{1A} > \alpha_{1D}$. De hecho, hasta el momento no se han identificado los RNAm de los subtipos de los receptores adrenérgicos α_1 en músculo ventricular insuficiente, lo cual sería interesante de investigar ya que en otros modelos de daño, como la hepatectomía parcial y regeneración hepática, favorece la expresión de receptores adrenérgicos β (Huerta-Bahena y col, 1983).

6.2 Receptores adrenérgicos α_{1D} en la insuficiencia cardiaca. Debido a que el BMY 7378 es un antagonista altamente selectivo, se usa ampliamente para caracterizar y cuantificar a los receptores adrenérgicos α_{1D} (Goetz y col., 1995; Villalobos-Molina,

Ibarra, 1999). Esta propiedad nos permitió investigar si estos receptores están involucrados en los cambios hemodinámicos y sobre todo, en la hipertrofia cardiaca, como se ha descrito en los vasos sanguíneos (Chen y col., 1995; Xin y col., 1997). Sin embargo, el BMY 7378 no tuvo efectos benéficos en las ratas infartadas, por lo que concluimos que los receptores adrenérgicos α_{1D} no participan en los mecanismos que generan la insuficiencia cardiaca. Esto ha sido apoyado con otros datos donde no se les atribuye función a estos receptores (Deng., y col. 1996). Aunque no se descarta su participación en la contracción del músculo cardiaco ya que se ha descrito su presencia en el músculo cardiaco (Deng y col., 1998; Zhang y col., 1999) y los receptores adrenérgicos α_{1D} aparecen, funcionalmente, con la edad (Ibarra y col., 1997; Villalobos-Molina y col., 1999), por lo que se planea utilizar ratas adultas (6-8 meses) y estudiar la función cardiaca.

6.3 Inhibición de la enzima convertidora de angiotensina II. Como es conocido, el corazón responde a la sobrecarga posterior al infarto miocárdico con una reacción hipertrófica adaptativa que restaurará la masa cardiaca y normalizará el aumento en la tensión del músculo. En nuestras condiciones, los animales infartados que desarrollaron insuficiencia cardiaca presentaron aumento en el peso del corazón; así, el peso del ventrículo derecho y de las aurículas se incrementó, como se ha reportado en otros estudios (Peffer y col., 1985c; Sladek, 1996). En marcado contraste, los animales con oclusión coronaria que recibieron terapia inmediata y por largo plazo con captopril a la dosis de 2.5 mg/Kg/día/28 días, no desarrollaron insuficiencia cardiaca, demostrado por la ausencia de cambios significativos en la hemodinamia y el corazón

no desarrolló hipertrofia. Además, el tamaño del infarto disminuyó en estos animales, lo que significa que la zona infartada, comprometida por la isquemia, se beneficia por el captopril (probablemente favoreciendo una mejor circulación en las arterias de resistencia) y la cantidad de células que mueren, es menor. Cabe destacar que una dosis menor de captopril (1.25 mg/Kg/día /28 días, en el agua de beber) no presentó estos efectos benéficos. El uso del captopril en el entendimiento de la insuficiencia cardiaca ha sido amplio; sin embargo, la mayoría de los estudios reportan el efecto benéfico de la inhibición de la ECA cuando ya se ha establecido la insuficiencia (Litwin y col. , 1991; Martínez y col., 1999) y nuestra propuesta es aplicar la terapia unas horas postinfarto, para así evitar el desarrollo de la insuficiencia, ya que el tamaño del infarto será menor.

6.4 Antagonismo de los receptores a la angiotensina II (AT₁). Los resultados obtenidos con el losartán, en animales con oclusión coronaria, son similares a los descritos por la inhibición de la ECA. Así, no hay hipertrofia del corazón y la extensión del infarto miocárdico disminuye, al igual que con el captopril. Sin embargo, con la dosis de losartán utilizada (3mg/Kg/día/28 días) la presión sistólica del ventrículo izquierdo fue menor, incluso que los animales sin tratamiento, por lo que se obtuvieron valores de presión arterial media y (+) dP/dt, similares a los animales sin tratamiento. Es probable que una dosis menor de losartán tenga mejores efectos hemodinámicos y mantenga al corazón sin hipertrofia. En la literatura existen gran cantidad de datos sobre el antagonismo AT₁ y su efecto benéfico en animales con insuficiencia cardiaca (Sladek, 1996; Hu, 1998; Richer, 1999; Bastien, 1999). Sin embargo, la controversia sobre su uso en la clínica existe, ya que es muy difícil comparar experimentos pues las

dosis empleadas, la duración del tratamiento, la etapa inicial de la terapia y el antagonista empleado difieren. No obstante, el bloqueo AT₁ puede repercutir en que otros sistemas (como el adrenérgico), participen en el mantenimiento de la función contráctil del corazón.

Además el bloqueo de los receptores AT₁ produce un aumento de las concentraciones circulantes de la angiotensina II y sus metabolitos, lo que causa estimulación de los receptores AT₂ que no son bloqueados y que contrarrestan los efectos de los receptores AT₁, lo que previene el crecimiento y promueve la remodelación cardíaca (Bunkenburg y col., 1992 Trevethan, 2001).

6.5 Bloqueo de los receptores adrenérgicos β .

Los datos obtenidos con el propranolol, en animales con oclusión coronaria, son similares a los descritos por la inhibición de la ECA y el antagonismo del receptor AT₁. Así, no hay hipertrofia del corazón y la extensión del infarto miocárdico disminuye, al igual que con el captopril y el losartán. Sin embargo, con la dosis de propranolol utilizada (1mg/Kg/día/28 días) la presión sistólica del ventrículo izquierdo fue menor, incluso que los animales sin tratamiento, por lo que se obtuvieron valores de presión arterial media y (+) dP/dt, similares a los animales sin tratamiento. Es probable que una dosis menor de propranolol al igual que con el losartán tenga mejores efectos hemodinámicos. El bloqueo adrenérgico β puede revertir cambios inducidos por estimulación adrenérgica β , lo que permite recuperar la función mecánica (Brophy, col., 2001; Sjaastad y col., 2003). Se ha determinado que los bloqueadores adrenérgicos β

son capaces de promover la regresión del fenotipo hipertrófico lo que resulta como un efecto benéfico en la IC (Grimm y col., 2002)

En estudios actuales se ha valorado el efecto de la combinación de un inhibidor de la ECA, con un antagonista de los receptores AT_1 y con bloqueador adrenérgico β en la IC, de lo que se ha obtenido una disminución en la morbilidad y mortalidad en los pacientes con IC (Van der Sloot. 2003). La importancia de estas intervenciones han sido dirigidas favorablemente sobre los procesos de remodelación del ventrículo izquierdo, lo significa una nueva estrategia terapéutica para limitar el tamaño del infarto y retardar así la progresión de la remodelación del ventrículo izquierdo (Gaballa y col., 2002).

6.6 Respuesta contráctil a la fenilefrina en tiras de ventrículo derecho en presencia y en ausencia de los antagonistas α_{1A} , α_{1B} y α_{1D}

Uno de los propósitos de este estudio fue determinar la participación de los subtipos de receptores adrenérgicos α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} en el músculo cardiaco de ratas sin y con insuficiencia cardiaca. Los subtipos de receptores adrenérgicos α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} median la contracción del músculo cardiaco, lo que se ha caracterizado por el uso de antagonistas específicos para cada subtipo de receptor, cuando son usados en experimentos funcionales y de unión (Zhang y col., 1999) y moleculares (Faure y col., 1995). Por otro lado, se sabe que las respuestas cardiacas a las catecolaminas vía los receptores adrenérgicos α_1 , existen tanto en corazón normal como en múltiples estados fisiopatológicos. Deng y col., (1996), determinaron las diferencias ontogénicas en la función de los subtipos de receptores adrenérgicos α_1 . De hecho, la contracción

del ventrículo derecho está dada por la participación adrenérgica α_{1A} en ratas recién nacidas, mientras que en rata adulta es α_{1A} y α_{1B} . Resultados previos muestran que los receptores α_{1A} y α_{1B} activan la respuesta inotrópica positiva en la aurícula izquierda (Zhang y col., 1994); mientras que nuestros resultados demuestran que los subtipos de receptores adrenérgicos α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} participan en la contracción del ventrículo derecho de rata adulta y el subtipo de receptor adrenérgico α_{1A} participa en la contracción del músculo cardiaco de rata con insuficiencia cardiaca. Con esto podemos decir, en general, que los 3 subtipos de receptores adrenérgicos α_1 participan, diferencialmente, en la actividad contráctil del corazón. Por otro lado, se sabe que después de una exposición continua a agonistas adrenérgicos α_1 como en la insuficiencia cardiaca, las células miocárdicas muestran una respuesta hipertrófica, incluyendo un incremento en el volumen y acumulación de proteínas contráctiles (Simpson, 1983). Se ha sugerido que los receptores adrenérgicos α_{1A} activan las vías de señalización que controlan la transcripción y median el incremento del tamaño de la célula en miocitos ventriculares de rata (Knowlton y col., 1993). Es interesante saber que existe comunicación cruzada entre los subtipos de receptores adrenérgicos α_{1A} y α_{1B} (Deng y col., 1998). De hecho, la activación del receptor α_{1B} inhibe las acciones mediadas a través del receptor adrenérgico α_{1A} , posiblemente a través de un acoplamiento a los canales de Ca^{2+} sensibles a nifedipina. Además, la exposición a los agonistas adrenérgicos induce un incremento en el RNAm de los receptores adrenérgicos α_{1A} y disminuye la expresión de los otros subtipos de receptores adrenérgicos α_1 (Rokosh y col., 1994). En nuestros resultados observamos que la contracción miocárdica a fenilefrina es mayor en el músculo cardiaco hipertrofiado de

la rata con insuficiencia cardiaca y que la respuesta contráctil adrenérgica α_{1A} es predominante. Aunque en ratón transgénico la hipertrofia cardiaca es inducida por el subtipo de receptor adrenérgico α_{1B} (Milano y col., 1994).

6.7 Respuesta a angiotensina II en tira de ventrículo derecho de ratas sham y con insuficiencia cardiaca.

Nuestros resultados demuestran que la exposición del miocardio a angiotensina II generó un efecto inotrópico positivo como la medición *in vitro* de la función contráctil en tira de ventrículo derecho de ratas con IC post- infarto miocárdico. Se ha determinado que la angiotensina II administrada *in vitro* produce un efecto inotrópico negativo sobre la actividad contráctil en los corazones de ratas control, infartadas y con insuficiencia cardiaca, siendo muy marcado el efecto de la angiotensina II en éstas últimas (Capasso y col., 1993). Se sugiere que la angiotensina II favorece la respuesta contráctil del músculo cardiaco por la movilización de Ca^{2+} extracelular mediante los canales tipo "L" de calcio.

6.8 Respuesta adrenérgica α_1 en tira de ventrículo derecho de ratas tratadas crónicamente con captopril y con losartán

Se ha concluido de experimentos *in vivo* que la angiotensina II incrementa la liberación de noradrenalina en el corazón (Krasney y col., 1966). El sistema renina-angiotensina modula el tono simpático, no sólo por acción a nivel del sistema nervioso central o por el incremento de la liberación de catecolaminas de la médula adrenal sino también por el efecto local de las terminaciones nerviosas simpáticas en los tejidos (Peach M.,

1972). En nuestros resultados, la respuesta contráctil a fenilefrina se disminuyó tanto por el captopril (inhibidor de la ECA) como por el losartán (antagonista de los receptores AT_1) en las ratas con insuficiencia cardiaca. Evidentemente se determinó la regulación de la respuesta adrenérgica α_1 por la angiotensina II en el tejido cardiaco de ratas con insuficiencia cardiaca. Por otro lado, Hong-Tai y col., 1997, demuestran que existe comunicación cruzada entre los receptores a angiotensina II (AT_1) y el subtipo de receptor adrenérgico α_{1A} en miocitos cardiacos debido a que la angiotensina II disminuye el RNAm del subtipo de receptor α_{1A} .

El nuevo concepto de la insuficiencia cardiaca como el modelo neurohumoral, ha llevado al uso de inhibidores de la ECA, antagonistas del receptor AT_1 y bloqueadores adrenérgicos β en el tratamiento de la IC. De acuerdo a la hipótesis neurohumoral, la falla cardiaca se desarrolla y progresa como una consecuencia de la activación de neurohormonas endógenas que a su vez representan una respuesta inicial como puede ser daño agudo al corazón. El síndrome de la IC ha sido redefinido como el desarrollo y progresión de remodelación miocárdica del ventrículo izquierdo. Lo que sugiere que se debe continuar con los estudios sobre la participación de los sistemas adrenérgicos β , α_1 y de angiotensina II en la IC.

7.0 CONCLUSIONES

- 1) El infarto miocárdico máximo por ligadura de la arteria coronaria experimental, se presenta 24 horas post-oclusión.
- 2) La instalación de la insuficiencia cardiaca inducida por infarto miocárdico se desarrolla gradualmente y en nuestras condiciones, se obtiene a las 4 horas de oclusión coronaria.
- 3) La cantidad de receptores adrenérgicos α_1 en el ventrículo derecho se incrementa con la edad, el infarto miocárdico y la insuficiencia cardiaca, sin cambio significativo en la constante de afinidad.
- 4) La prevención de la insuficiencia cardiaca por el captopril y por el losartán sugiere que al inhibirse la síntesis de angiotensina II y su interacción con el receptor AT_1 , disminuye los efectos deleterios de esta hormona con la progresión de la enfermedad.
- 5) La disminución del área infartada por los fármacos propranolol, captopril y losartán se ve reflejada en una mejor actividad hemodinámica y remodelación cardiaca.
- 6) Los receptores adrenérgicos α_{1D} no están involucrados en la patogénesis de la insuficiencia cardiaca.
- 7) La hipertrofia cardiaca promueve que la respuesta contráctil adrenérgica α_1 del músculo cardiaco insuficiente sea mayor que en el normal.

- 8) Se sugiere que los receptores adrenérgicos α_{1A} y α_{1B} están involucrados en la respuesta inotrópica positiva a fenilefrina en ventrículo derecho de rata con insuficiencia cardiaca.

- 9) La prevención de la insuficiencia cardiaca y la disminución de la actividad adrenérgica α_1 por el captopril y por el losartán, disminuyen la cantidad de hipertrofia cardiaca y la posible inducción de la expresión de los receptores adrenérgicos α_1 .

- 10) La respuesta de la angiotensina II se incrementa en el músculo cardiaco insuficiente y sugiere que es un factor importante en el deterioro de la función cardiaca.

8.0 REFERENCIAS

Alexander SPH and Peters J. Trends in pharmacological sciences receptor and ion channel nomenclature supplement, 10th ed., Elsevier Trends Journals, Cambridge, 1999.

Autelitano D and Woodcock E. Selective activation of α_{1A} -adrenergic receptors in neonatal cardiac myocytes is sufficient to cause hypertrophy and differential regulation of α_1 -adrenergic receptor subtype mRNAs. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30:1515-1523.

Baker KM, Booz GW, Dostal y col. Cardiac actions of angiotensin II: role of an intracardiac renin-angiotensin system. *Annu Rev Physiol* 1992; 54:227-241.

Bartunek j, Weinberg E, TajimaM, Rohrbach S, Lorrel B. Angiotensin II type-2 receptor blockade amplifies the early signals of cardiac growth response to angiotensin II in hypertrophied rats. *Circulation* 1999; 99:22-25.

Bastein N, Servant M, Gutkowska J, Meloche S and Lambert C. Downregulation of cardiac AT₁-receptor expression and angiotensin II concentrations after long-term blockade of renin-angiotensin system in cardiomyopathic hamsters. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34: 402-410.

Benfey BG. Function of myocardial α_1 -adrenoceptors. *Life Sci* 1990; 46: 743-757.

Berman D and Gilman A. Mammalian RGS proteins: variants at the gate. *J Mol Chem* 1998; 273: 1269-1272.

Birnbaumer L, Abramowitz J, Brown AM. Receptor-effector coupling by G proteins. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1031: 163-224.

Bogoyevitch M and Sugden P. The role of protein kinases in adaptational growth of the heart. *Int J Biochem Cell Biol* 1996a; 28:1-12.

Bogoyevitch M, Anderson M, Gillespie-Brown J, Clerk A, Glennon P, Fuller S, and Sugden PH. Adrenergic receptor stimulation of the mitogen-activated protein kinase cascade and cardiac hypertrophy. *Biochem J* 1996b; 314:115-121.

Böhm M, Diet F, Feiler G, Kemkes B and Erdmann W. α -Adrenoceptors and α -adrenoceptor-mediated positive inotropic effects in failing human myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988a; 12:357:364.

Böhm M, Diet F, Feiler G, Kembes B, Kreuzer E Weinhold C, Erdmann E: Subsensitivity of the failing human heart to isoprenaline and milrinone is related to beta-adrenoceptor downregulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988b;12: 726-732.

Böhm M, Morano I, Pieske B, Rüegg JC, Wankerl M, Zimmermann R, Erdman E: Contribution of cAMP-phosphodiesterase inhibition and sensitization of the contractile proteins for calcium to the inotropic effect pimobendan in failing human myocardium. *Circ Res* 1991; 68: 689-701.

Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W. Decreased catecholamine sensitivity and β -adrenergic-receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med* 1982; 307: 205-211.

Bristow M, Minobe W, Rasmussen R, Hershberger R and Hoffman B. Alpha-1 adrenergic receptors in the nonfailing and failing human heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 247:1039-1045.

Bristow M. Changes in myocardial and vascular receptors in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22(SupplA):61a-71a.

Bristow M. Why does the myocardium fail? Insights from basic science. *Lancet* 1998; 352 suppl (1):518-14.

Brodde O-E. β_1 - and β_2 -adrenoceptors in the human heart: properties, function, and alterations in chronic heart failure. *Pharmacol Rev* 1995; 43:203-242.

Brophy, J. M., Joseph, L. & Rouleau, J. L. Beta-blockers in congestive heart failure. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 2001; 134: 550-560.

Bunkenburg B, Van Amelsvoort T, Rogg H, Wood JM: Receptor-mediated effects of angiotensin II on growth on vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1992; 20: 46-54.

Brückner R, Meyer W, Mügge A, Schmitz W and Scholz H. α -Adrenoceptor mediated positive inotropic effect of phenylephrine in isolated human ventricular myocardium. *Eur J Pharmacol* 1984; 99: 345-347.

Capasso JM, Li P, Zhang X Meggs I y Anversa P. Alterations in ANG II responsiveness in left and right myocardium after infarction-induced heart failure in rats. *Am J Physiol* 1993; 264 (Heart Circ Physiol, 33): H2056-H2067.

Chang D, Chang T, Yamanishi S, Salazar F, Kosaka A, Khare R, et al. Molecular cloning, genomic characterization and expression of novel human α_1 -adrenoceptor isoforms. *FEBS Lett* 1998; 422: 279-283.

Chen L, Xin X, Eckhart a, Yang N and Faber J. Regulation of vascular smooth muscle growth by α_1 -adrenoceptor subtypes in vitro and in situ. *J Biol Chem* 1995; 270: 30980-30985.

Chien K, Knowlton K, Zhu H, and Chien S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies of an adaptative physiologic response. *FASEB J* 1991; 5: 3037-3046.

Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AB, Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 1984; 311: 819-823.

Dalhlof B, Pennert K, Hansson L: Reversal of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients. A meta-analysis of 109 treatment studies. *Am J Hypertens* 1992; 5: 95-110.

Dax E. Age-related changes in membrane receptor interactions. *Endocrinology and Metabolism Clinics* 1987; 16: 947-963.

De Quatro V, Nagatsu T, Mendez A Verska J. Determinants of cardiac noradrenaline depletion in human congestive failure. *Cardiovasc Res* 1973; 7: 344-350.

DeFelice A, Frering R and Horan P. Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. *Am J Physiol* 1989; 257: H289-H296.

Deng X, Chemtob S, Almazan G and Varma D. Ontogenic differences in the functions of myocardial alpha 1 adrenoceptor subtypes in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 276: 1155-1161.

Deng X-F, Sculptoreanu A, Mulay S, Peri KG, Li J-F, Zheng W-H, Chemtob S, Varma DR. Crosstalk between α_{1A} and α_{1B} -adrenoceptor in neonatal rat myocardium: implications in cardiac hypertrophy. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;286:489.

Endoh M. Myocardial α -adrenoceptors: Multiplicity of subcellular coupling processes. *Asia Pac J Pharmacol* 1991; 6:171-186.

Faure C, Gouhier C, Langer S and Graham D. Quantification of α_1 -adrenoceptor subtypes in human tissues by competitive RT-PCR analysis. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 213:935-943.

Fedida D, Braun PA and Giles W. α_1 -Adrenoceptors in myocardium: Functional aspects and transmembrane signaling mechanisms. *Physiol Rev* 1993; 73(2): 469-487.

Fishbein M, Maclean D, and Maroko P. Experimental myocardial infarction in the rat. *Am J Pathology* 1978; 90: 57-70.

Force T, Pombo C, Acruch J, Bonventre J, Kyriakis J. Stress activated protein kinases in cardiovascular disease. *Circ Res* 1996; 78:947-953.

Ford A, Daniels D, Chang D, Jasper J, Lesnick J and Clarke D. Pharmacological pleiotropism of the human recombinant α_{1A} -adrenoceptor: Implications for α_1 -adrenoceptor clasification. *Br J Pharmacol* 1997; 121:1127-1135.

Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Katz AM and Moragn HE. The heart and cardiocascular system Heart Failure vol I Second edition, 1991. Raven Press, NY.

Fu M, Schulze W, Wallukat G, Elies R, Eftekhari P, Hjalmarson A. Inmmunochemical localization of angiotensin II receptor (AT_1) in the heart with antipeptide antibodies showing a chronotropic effect. *Rec Chann* 1998; 6: 99-111.

Gaballa MA, Goldman S. Ventricular remodeling in heart failure. *J Card Fail* 2002 Dec;8(6 Suppl):S476-85.

Goetz A, King H, Ward S, True T, Rimele T, Saussy Jr D. BMY7378 is a selective antagonist of the D subtype of evidence of α_{1D} -adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 1995; 272: R5-9.

Govier W, Mosal N, Whittngton P and Broom A. Myocardial alpha and beta adrenergic receptors as demonstrated by atrial functional refractory-period changes. *J Pharmacol Exp Ther* 1966; 154: 255-263.

Gross G, Hanft G and Rugevics C. 5-Methyl-urapidil discriminates between subtypes of the α_1 -adrenoceptor. *Eur J Pharmacol* 1988; 151:333-335.

Gervais M, Fornes P, Richer C, Nisato D, Giudicelli JF. Effects of angiotensin II AT_1 -receptor blockade on coronary dynamics, function, and structure in postischemic heart failure in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36:329-337.

Grimm D, Jabusch HC, Kossmehl P, Huber M. Experimental diabetes and left ventricular hypertrophy: effects of beta-receptor blockade. *Cardiovasc Pathol.* 2002 Jul-Aug;11(4):229-37.

Gutiérrez VI. Mecanismos fisiopatogénicos de la falla cardiaca crónica. *Rev. Hosp. Gral. Dr. M. Gea González*, 2001; Vol. 4: 75-95.

Hattori Y and Kanno M. Role of α_1 -adrenoceptor subtypes in production of the positive inotropic effects in mammalian myocardium: implications for the α_1 -adrenoceptor subtype distribution. *Life Sci* 1998; 62: 1449-1453.

Hein L. Genetic deletion and overexpression of angiotensin II receptors. *J Mol Med.* 1998;76:756-763.

Henegar JR, Brower GL, Kabour A, Janicki JS. Catecholamine response to chronic ANG II infusion and its role in myocyte and coronary vascular damage. *Am J Physiol* 1995; 269: H1564-H1569.

Hieble J, Bylund D, Clarke D, Eikenburg D, Langer S, Lefkowitz R, et al.. International Union of Pharmacology X. Recommendation for nomenclature of α_1 -adrenoceptors: Consensus update. *Pharmacol Rev* 1995; 47:267-270.

Ho K, Pinsky J, Kannel W. The epidemiology of heart failure: The Framingham study. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 6A-13A.

Hong-Tai L, Long S, Gray O, Rokosh G. Cross talk between angiotensin AT₁ and α_1 -adrenergic receptors. Angiotensin II downregulates α_{1a} -adrenergic receptor subtype mRNA and density in neonatal rat cardiac myocytes. *Circ Res* 1997; 81; 396-403.

Hu K, Gaudron P, Anders H, Weidemann F, Turschner O, Nahredorf M and Ertl G. Chronic effects of early started angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin AT₁-receptor subtype blockade in rats with myocardial infarction: role of bradykinin. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 401-409.

Huerta-Bahena J, Villalobos-Molina R, García Sáinz J. Roles of alpha-1 and beta adrenergic receptors in adrenergic responsiveness of liver cells formed after partial hepatectomy. *Biochim Biophys Acta* 1983; 763: 112-119.

Hwang K, Gray C, Sweet W, Moravec C and Im M. α_1 -Adrenergic receptor coupling with G_h in the failing human heart. *Circulation* 1996; 94:718-726.

Ibarra M, Terrón J, López Guerrero J, Villalobos- Molina R. Evidence for an age-dependent functional expression of α_{1D} -adrenoceptors in the rat vasculature. *Eur J Pharmacol* 1997; 322: 221-224.

Igawa A, Nozawa T, Yoshida N, Fujii N. Effects of the angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril on sympathetic neuronal function and beta-adrenergic desensitization in heart failure after myocardial infarction in rats. *Mol Pharmacol* 2003 Jun;63(6):1338-48.

Inagami T, Guo D, Kitani Y. Molecular biology of angiotensin II receptors: an overview. *J Hypertens*, 1994; 12(suppl): S1-SV.

Inayatilla A, Chemtob S and Varma D. Ontogeny of positive inotropic response to sympathomimetic agents and myocardial adrenoceptors in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1994; 72: 361-367.

Jahnel U, Jakob H and Nawrath H. Electrophysiologic and inotropic effects of α -adrenoceptor stimulation in human isolated atrial heart muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1992; 346:82-87.

Jalili T, Takeishi Y and Walsh A. Signal transduction during cardiac hypertrophy: the role of $G\alpha_q$, PLC β I, and PKC. *Cardiovasc Res* 1999; 44:5-9.

Jalowi A, Schulz R, Dorge H, Behrendes M, Heusch G. Infarct size reduction by AT₁ receptor blockade through a signal cascade of AT₂ receptor activation, bradykinin and prostaglandins *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:1787-1796.

Jhonston CF, Fabris B, Yoshida K. The cardiac renin-angiotensin system in heart failure. *Am Heart J* 126: 756-760, 1993.

Kajtura J, Cigola E, Nialhotra A, Li P, Cheng W, Meggs L, Anversa P. Angiotensin II induces apoptosis of adult ventricular myocytes in vitro. *J Mol Cardiol* 1997; 29: 859-870.

Karns L, Kariya K and Simpson P. M-CAT, CArG, and Sp1 elements are required for α_1 -adrenergic induction of the skeletal α -action promoter during cardiac myocyte hypertrophy: Transcriptional enhancer factor-1 and protein kinase C as conserved transducers of the fetal program in cardiac growth. *J Biol Chem* 1995; 270:410-417.

Kim S, Yoshiyama M, Izumi Y, Kawano H, Kimoto M, Zhan Y, Iwao H. Effects of combination of ACE inhibitor and angiotensin receptor blocker on cardiac remodeling, cardiac function, and survival in rat heart failure. *Circulation* 2001;103:148-154.

Kissling G, Blickle B, Ross C, Pascht U and Gulbins E. α_1 - Adrenoceptor mediated negative inotropy of adrenaline in rat myocardium *J Physiol (Lond)* 1997; 499:195-205.

Knowlton K, Michel M, Itani M, Shubeita H, Ishihara K, Brown J., Chien K. The α_{1A} -adrenergic receptor subtype mediates biochemical, molecular, and morphologic features of cultured myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem* 1993; 268:15374-15380.

Krasney JA, Hogan PM, Lowe RF, Youmans WB. Peripheral adrenergic basis for cardioaccelerator action of angiotensin. *Am J Physiol.* 1966;211:1447-1450.

LaMorte V, Thorburn J, Absher D, Spiegel A, Brown J, Chien K. G_q -and ras-dependent pathways mediate hypertrophy of neonatal rat ventricular myocytes following α_1 -adrenergic stimulation. *J Biol Chem* 1994; 269:13490-13496.

Lattion A-L, Diviani D and Cotecchia S. Truncation of the receptor carboxyl terminus impairs agonist-dependent phosphorylation and desensitization of the α_{1B} -adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 22887-22893.

Lee H, Henderson S, Reynolds R, Dunnmon P, Yuan D and Chien K. α_1 -Adrenergic stimulation of cardiac gene transcription in neonatal rat myocardial cells: Effects on myosin light chain-2 gene expression. *J Biol Chem* 1988; 263:7352-7358.

Lehtonen J, Horiuchi M, Dzau V. Ceramide as a second messenger for angiotensin II type 2 receptor- mediated apoptosis. *Circulation* 1997; 96(suppl I): I-554.

Levine TB, Francis GS, Goldsmith SR, Simon AB, Cohn JN. Activity of the sympathetic nervous system and renin-angiotensin system assessed by plasma hormone levels and their relationship to hemodynamic abnormalities in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1982; 49: 1659-1666.

Li W, Zhang Y and Wang X-L. Altered α_1 -adrenoceptor subtypes mediated cardiac function after treatment of propranolol to rats. *Acta Pharmacol Sin* 1997; 18:237-240.

Litwin S, Litwin C, Raya T, Warner A and Goldman S. Contractility and stiffness noninfarcted myocardium following coronary ligation in rats: effects of chronic angiotensin converting enzyme inhibition. *Circulation* 1992; 83: 1028.

Litwin S, Vatner D and Morgan J. Inotropic effects of α_1 -adrenergic agonists in myocardium from rats with post infarction heart failure. *Am J Physiol* 1995; 269:H 1553-H1563.

Loshe MJ. Molecular mechanisms of membrane receptor desensitization. *Biochim Biophys Acta* 1993;1179: 171-188.

Lowry OH, Rosebrought NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.

Martínez L, Carmona L y Villalobos-Molina. Vascular α_1 -adrenoceptor function is maintained during congestive heart failure after myocardial infarction in the rat. *Arch Med Res* 1999; 30: 290-296.

Megarry SG, Sapsford R, May AS, Ball SG: Do ACE inhibitors provide protection for the heart in the clinical setting of acute myocardial infarction? *Drugs* 1997; 54(suppl 5): 48-58.

Meidel R, Sen A, Henderson S, Slahetka M and Chein K. α_1 -Adrenergic stimulation of rat myocardial cells increases protein synthesis. *Am J Physiol* 1986; 251:H1076-H1084.

Meredith IT, Eisenhofer G, Lambert G. Cardiac Sympathetic activity in congestive heart failure: evidence for increased neuronal norepinephrine release and preserved neuronal uptake. *Circulation* 88: 1993; 615-621.

Mertens M, Batink M, Pfaffendorf M, Vab Zweteb P. Impaired inotropic response to alpha 1 but not to beta-adrenoceptor stimulation in isolated hearts from spontaneously hypertensive rats. *J Hypertensión* 1992; 10:143-148.

Michel M, Hanft G and Gross G. Radioligand binding studies of α_1 -adrenoceptor subtypes in rat heart. *Br J Pharmacol* 1994a; 111:533-538.

Michel M, Hanft G and Gross G. Functional studies on α_1 -adrenoceptor subtypes mediating inotropic effects in rat right ventricle Br J Pharmacol 1994b; 111:539-546.

Michel M, Kenny B and Schwinn D. Classification of α_1 -adrenoceptor subtypes. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1995; 352:1-10.

Milano C, Dolber P, Rockman H, Bond R, Venable M, Allen and Lefkowitz R. Myocardial expression of a constitutively active α_{1B} -adrenergic receptor in transgenic mice induces cardiac hypertrophy. Proc Natl Acad Sci 1994; 91: 10109-10113.

Mügge A, Reupcke C and Scholz H. Increased myocardial α_1 -adrenoceptor density in rats chronically treated with propranolol. Eur J Pharmacol 1985; 112:249-252.

Mukoyama M, Nakajima M, Horiuchi M, Sasanura H. Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven transmembrane receptors. J Biol Chem 1993; 268: 24539-24542.

Muramatsu I, Ohmura T, Kigoshi S, Hashimoto S and Oshita M. Pharmacological subclassification of α_1 -adrenoceptors in vascular smooth muscle. Br J Pharmacol 1990; 99:197-201.

Nachals M y Shnitka T. Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity. J Pathol 1963; XLII(4): 379-404.

Olson E and Molkentin J. Prevention of cardiac hypertrophy by calcineurin inhibition: Hope or hype? Circ Res 1999; 84:623-632.

Packer M, Lee WH, Kessler PD, Gottlieb SS, Bernstein J L, Kukin ML. Role of neurohormonal mechanisms in determining survival in patients with severe chronic heart failure. Circulation 1987; 75(suppl IV): IV-80.

Packer M. Neurohormonal interactions and adaptations in congestive heart failure. Circulation 1988;; 4:721.

Page C and Doubell A. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) in cardiac tissues. Mol Cell Biochem 1996; 157:49-57.

Peach MJ. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. Physiol Rev 1972; 57: 313-370

Peter E and Pool M. Neurohumoral activation in the treatment of congestive heart failure: Basis for new treatments?. Cardiology 1998; 90:1-7.

Peters S, Batink H, Michel M, Pfaffendorf M and Van Zwieten P. Possible mechanism of the negative inotropic effect of α_1 -adrenoceptor agonists in rat isolated left atria after exposure to free radicals. Br J Pharmacol 1998;123:952-958.

Pfeffer M, Pfeffer J, Fishbein P, Spadaro J, Konecny R and Braunwald. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979; 44: 503-512.

Pfeffer M, Pfeffer J, Steinberg C and Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 1987; 72: 406-412.

Pfeffer MA, Braunwald E, Moye L. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-677.

Pinson A, Schlüter K-D, Zhou XJ, Schwartz P, Kessler-Icekson G. Alpha- and beta-adrenergic stimulation of protein synthesis in cultured adult ventricular cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1993; 25: 477-490.

Pönicke K, Vogelsang M, Heinroth M, Becker K, Zolk O, Böhm M. Endothelium receptors in the failing and nonfailing human heart. *Circulation* 1998; 97: 744-751.

Price D, Lefkowitz R, Caron M, Berkowitz D and Schwinn D. Localization of mRNA for three distinct α_1 -adrenergic receptor subtypes in human tissues: Implications for human α -adrenergic physiology. *Mol Pharmacol* 1994a; 45:171-175.

Price D, Chari R, Berkowitz D, Meyers W and Schwinn D. Expression of α_1 -adrenergic receptor subtype mRNA in rat tissues and human SK-N-MC neuronal cells: Implications for α_1 -adrenergic subtype classification. *Mol Pharmacol* 1994b, 46:221-226.

Regitz-Zagrosek V, Friedel N, Heymann A. Regulation, chamber localization, and subtype distribution of angiotensin II receptors in human hearts. *Circulation*, 1995; 91: 1461-1471.

Richer C, Fornes P, Cazaubon C, Domergue V, Nisato D and Giudicelli J. Effects of long-term angiotensin II AT₁ receptor blockade on survival, hemodynamics and cardiac remodeling in chronic heart failure in rats. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 100-109.

Rokosh DG, Bailey BA, Stewart AFR, Karnas LR, Long CS, Simpson PC. Distribution of α_{1C} -adrenergic receptor mRNA in adult rat tissues by Rnase protection assay and comparison with α_{1B} and α_{1D} . *Biochem Biophys Res Commun* 1994;200:1177.

Sadoshima J, Izumo S y col. Molecular characterization of angiotensin II induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts: critical role of the AT₁ receptor subtype. *Circ Res* 1993; 73: 413-423.

Sjaastad, I. Schiander, A. Sjetnan, E. Qvigstad y J. Bøkenes. Increased contribution of α_1 - vs β -adrenoceptor-mediated inotropic response in rats with congestive heart failure. *Acta Physiol Scand* 2003; 177: 449-458.

Sasamura H, Hem L, Saruta T, Pratt RE. Evidence for internalization of both type I angiotensin receptor subtypes (AT1a and AT1b) by a protein kinase C independent mechanism. *Hypertens Res* 1997; 20: 295-300.

Schnabel P, Gas H, Nohr T, Camps M and Bohm M. Identification and characterization of G protein-regulated phospholipase C in human myocardium *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 2419-2427.

Scholz H, Eschenhagen T, Neumann J and Stein B. Receptor-mediated regulation of cardiac contractility: Inotropic effects of alpha-adrenoceptor stimulation with phenylephrine and noradrenaline in failing human hearts, in *Molecular and Cellular Mechanisms of Cardiovascular Regulation* 1996, pp 317-325, Springer-Verlag, Tokyo.

Schuerman HJ, Starke K, werner U y col. Interaction of inhibitors of noradrenaline uptake and angiotensin on the sympathetic nerves of the isolated rabbit heart. *Br J Pharmacol* 1970; 39: 390-397.

Schüman H, Wagner J, Knorr A, Reidemeister J, Sadony V and Schramm G. Demonstration in human atrial preparations of α -adrenoceptors mediating positive inotropic effects. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1978; 302:333-336.

Selye H, Bajusz S, Grasso S and Mendell P. Simple techniques for surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology* 1960; 11: 398-407.

Shubeita H, Martinson E, Van Bilsen M, Chien K and Brown J. Transcriptional activation of the cardiac myosin light chain 2 and atrial natriuretic factor genes by protein kinase C in neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 1305-1309.

Simpson P. Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an α_{1A} -adrenergic response. *J Clin Invest* 1983; 72: 732-736

Skomedal T, Aass H, Osnes J, Fjeld N, Klingen G, Langslet A and Semb G. Demonstration of alpha adrenoceptor-mediated inotropic effect of noradrenaline in human atria. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 233: 441-446.

Skomedal T, Aass H, Osnes J, Fjeld N, Klingen G, Langslet A and Semb G. Comparison between alpha-1 adrenoceptor-mediated and beta adrenoceptor-mediated inotropic components elicited by noradrenaline in failing human ventricular muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280: 721-729.

Sladek T, Sladkova J, Kolar F, Papousek F, Cicutti N, Korecky B and Rakusan K. The effect of AT₁ receptor antagonist on chronic cardiac response to coronary artery ligation in rats *Cardiovasc Res* 1996; 31: 568-574.

Smith H y Nutall A. Experimental models of heart failure. *Cardiovasc Res* 1985; 19: 185-186.

- Steinfath M, Chen Y, Lavicky J, Magnussen O, Nose M., Rosswag S. Cardiac α_1 -adrenoceptor densities in different mammalian species. *Br J Pharmacol* 1992a; 107:185-188.
- Steinfath M, Danielsen W, Von der Leyen H, Mende U, Meyer W, Neumann J. Reduced α_1 - and β_2 -adrenoceptor-mediated positive inotropic effects in human end-stage heart failure. *Br J Pharmacol* 105:463-469, 1992b.
- Steinkraus V, Nose M, Scholz H and Thormählen K. Time course and extent of α_1 -adrenoceptor density changes in rat heart after beta-adrenoceptor blockade. *Br J Pharmacol* 1989; 96:441-449.
- Sugden P. Signaling in myocardial hypertrophy: Life after calcineurin? *Circ Res* 1999; 84:633-646.
- Sumners C, Raizada MK, Angiotensin II receptor subtypes in neuronal cells. In: Raizada MK, Phillips MI, Sumners C, eds. *Cellular and Molecular Biology of the Renin-Angiotensin System*. Boca Raton, Fla; CRC Press; 379-411,1993.
- Taguchi K, Yang M, Goepel M and Michel M. Comparison of human α_1 -adrenoceptor subtype coupling to protein kinase C activation and related signalling pathways. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*1998; 357:100-110.
- Terzic A, Puceat M, Vassort G and Vogel S. Cardiac α_1 -adrenoceptors: An overview. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 147-175.
- Thomas JA, Marks BH. Plasma Norepinephrine in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1978; 41:233-243.
- Thomas W, Thekkumbara T, Baker K. Cardiac effects of angiotensin II AT1 receptor signaling, desensitization and internalization. *Adv Exp Med Biol* 1996; 396: 59-69.
- Tomanek R, Searls J and Lachenbrush. Quantitative changes in capillary bed during developing, peak and stabilized cardiac hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. *Cir Res* 1982; 51: 295-304.
- Trevethan CS. Inhibidores de enzima convertidora o bloqueadores de receptores AT₁. *Archivos de Cardiología de México*, 2001; 71:S171-S176.
- Urata H, Healy B, Stewart RW, Bumpus FM, Husain A. Angiotensin II receptors in normal and failing human hearts. *J Clin endocrinol Metab* 1989; 69: 54-66.
- Vago T, Bevilacqua M, Norbiato G. Identification of α_1 -adrenergic receptors on sarcolemma from normal subjects and patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: characteristics and linkage to GTP-binding protein. *Cir Res* 1989; 64: 474-481.

Van Veldhuisen DJ, Brodde O-E, van Gilst WH, et al. Relation between myocardial β -adrenoceptor density and hemodynamic and neurohumoral changes in rat model of chronic myocardial infarction: effects of ibopamina and captopril *Cardiovasc Res* 1995; 30: 386-93.

Van der Sloot JA. New developments in the management of heart failure: a review of the literature in 2002. *Neth J Med*. 2003 May;61(5 Suppl):19-27.

Villalobos -Molina R, López -Guerrero J and Ibarra M. Functional evidence of α_{1D} -adrenoceptors in the vasculature of young and adult spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1534-1538.

Walsh DA, Van Pattern SM. Multiple pathway signal transduction by the cAMP dependent protein kinase. *FASEB J* 1994; 8: 1227-1236.

Wang S, Fontenot H and Kennedy R. α_1 -Adrenoceptors play little role in the positive inotropic action of phenylephrine. *Eur J Pharmacol* 1997; 321: 39-43.

Waspe L, Ordahl C and Simpson P. The cardiac β -myosin heavy chain isogene is induced selectively in α_1 -adrenergic receptor-stimulated hypertrophy of cultured rat heart myocytes. *J Clin Invest* 1990; 85:1206-1214.

Williamson A, Seifen E, Lindermann J and Kennedy R. Effects of WB4101 and chloroethylclonidine on the positive and negative inotropic actions of phenylephrine in rat cardiac muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 268: 1174-1181.

Wolff D, Dang H, Liu M, Jeffries W and Scofield M. Distribution of α_1 -adrenergic receptor mRNA species in rat heart. *J. Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32:117-122.

Xia QG, Chung O, Spitznagel H, Illner S, Janichen G, Rossius B, Gohlke P, Unger T. Significance of timing of angiotensin AT₁ receptor blockade in rats with myocardial infarction-induced heart failure. *Cardiovasc Res* 2001;49:110-117.

Xin X, Yang N, Eckhart A and Faber J. α_{1D} -Adrenergic receptors and mitogen-activated protein kinase mediate increased protein synthesis by arterial smooth muscle. *Mol Pharmacol* 1997; 51: 764.

Yoshikawa T, Port J, Asano K, Chidiak P, Bouvier M, Dutcher D, et al. Cardiac adrenergic receptor effects of carvedilol. *Eur Heart J* 1996; 17(Suppl B): 8-16.

Zhang-Y, Yu-GS, Cheng-MZ, Han QD. Effect of alpha 1-adrenoceptor subtypes on beta-adrenoceptor mediated positive inotropic response in rat left atria. *Acta Physiol Sin* 1994;46(5):473-9.

Zhang Y, Xu K and Hanc C. α_1 - Adrenoceptor subtypes mediating inotropic effect in rat heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291: 829-838.