



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO DE LOS
COMPUESTOS MORFOLÍNICOS LQM 302, LQM 308, LQM
310 Y DEL COMPUESTO TIOMORFOLÍNICO LQM 320
SOBRE LOS CANALES DE CALCIO TIPO L EN MIOCITOS
VENTRICULARES AISLADOS DE RATA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGA

P R E S E N T A N:

**ELVIA EDITH GARFIAS DELGADO
ZULEYMA RESENDIZ LABASTIDA**

ASESORES:

**Dr. MARTÍN MARTÍNEZ ROSAS
Dr. ENRIQUE R. ÁNGELES ANGUIANO**

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX. 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: TESIS

Caracterización del efecto de los compuestos morfolinicos LQM302, LQM308, LQM310 y del compuesto tiomorfolínico LQM320 sobre los canales de calcio tipo L en miocitos ventriculares aislados de rata

Que presenta la pasante: Elvia Edith Garfias Delgado
 Con número de cuenta: 404070809 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
 Cuautitlán Izcalli, Méx. a 31 de mayo de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique R. Angeles Anguiano	
VOCAL	Dr. Francisco López Mejía	
SECRETARIO	Q. Arcadia Hernández Beltrán	
1er SUPLENTE	QFB. Amparo Ramos Aguilar	
2do SUPLENTE	MFC. Cecilia Hernández Barba	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHA/pm



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: TESIS

Caracterización del efecto de los compuestos morfolinicos LQM302, LQM308, LQM310 y del compuesto tiomorfolínico LQM320 sobre los canales de calcio tipo L en miocitos ventriculares aislados de rata

Que presenta la pasante: Zulevma Resendiz Labastida
 Con número de cuenta: 303287964 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 “POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”
 Cuautitlán Izcalli, Méx. a 31 de mayo de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique R. Angeles Anguiano	
VOCAL	Dr. Francisco López Mejía	
SECRETARIO	Q. Arcadia Hernández Beltrán	
1er SUPLENTE	QFB. Amparo Ramos Aguilar	
2do SUPLENTE	MFC. Cecilia Hernández Barba	

NOTA: los sindocales supientes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHA/pm

DEDICATORIAS DE EDITH

A mis padres Elvia Edith y Oscar Manuel, que admiro por su grandeza y logros, a ustedes que me han enseñado que en la vida hay que luchar por lo que se quiere siempre siguiendo el buen camino gracias por su interminable amor, ternura apoyo y paciencia, sin ustedes nada de esto se estaría materializando, gracias por estar aquí siempre, ¡los amo!

A mi hermana Nelly, se que siempre estaremos una para la otra, simplemente es un vinculo raro que nos une, y aun que a veces tienes formas muy poco convencionales de darme aliento lo logras y me hechas para adelante, te amo princesa!!

A mi familia. A todo mi árbol genealógico desde abuelitos, pasando por tíos, primos y sobrinos por brindarme su apoyo, enseñanzas, consejos pero sobre todo cariño incondicional. Los amo Familia Garfias Cortes y Familia Delgado Villalobos Cisneros.

Dr. Martín Martínez Rosas. Asesor, maestro y amigo, gracias por todas sus enseñanzas no solo académicas sino también de vida, por soportarme por tanto tiempo, pero sobre todo por apoyarme en todo momento.

Zule Resendiz. Capulla adorada por fin lo logramooooos!! gracias por aventurarte conmigo en esta odisea llamada tesis, wow ha sido increíble compartirla contigo! Te quiero muchoooo!!

Dr. Enrique R. Ángeles Anguiano por depositar su confianza en nosotras y permitirnos con su apoyo llevar a cabo este gran sueño, gracias de corazón.

Familia Sánchez Loza. Gracias por adoptarme, ser tan lindos siempre conmigo, apoyarme y llenarme de cariño. Nancy y Karla, no importa a quien conocí primero, ya que ambas son hermosas y maravillosas personitas que amo!

Familia Oropesa Posada. A todos y cada uno de ustedes gracias por siempre recibirme con los brazos abiertos, darme oportunidades invaluables y brindarme su cariño. Carito simplemente te adoro amiga!

A mis amigos, con los que he compartido infinidad de momentos hermosos e importantes, tristes y felices en cada una de las etapas de mi vida. A ustedes hermanos que he podido elegir, los adoro y admiro, cada uno es muy importante para mí. (Paty H., Pao V., Beto M., Javo R., Javi B.,

Marquitos J., Bruno G., Anita E., Ricky G., Miri G., Cesar B., Gaby P., Jair L., Jonh J., Caro O., Cesar S., Roger B., Clau L., Vero E., Maythe M., Martin F., Xiomara G., Moy M., David V., Memo B.,)

Profra. Irma Díaz C. Gracias por las enseñanzas que recibí de usted en mis primeros años de vida ya que me dio excelentes cimientos que me permitieron continuar llenándome de conocimiento. Yo le prometí que le dedicaría mi tesis, y aquí está con mucho cariño y respeto.

A la UNAM, por ser mi alma mater, la institución que me ha proporcionado las herramientas para desarrollarme como estudiante universitario para culminar como un profesionista que pueda aportar algo bueno a nuestra sociedad.

DEDICATORIAS DE ZULEYMA

Pero por la gracia de Dios soy lo que soy, y la gracia de Dios no ha sido estéril en mí. Al contrario, he trabajado más que todos los demás, bueno no yo, si no la gracia de Dios conmigo.

1 Corintios 15:10

Feliz el que encuentra sabiduría, el que logra inteligencia, pues es más rentable que la plata, más provechosa que el oro.

Proverbios 3:13-14

Mejor son dos que uno, pues juntos obtienen mejores resultados, de sus esfuerzos

Eclesiastés 4:9

Más vale sabio que fuerte, hombre sabio que forzado. Así es la sabiduría para tu vida, si la encuentras, tendrás porvenir y tu esperanza no quedará defraudada

Proverbios 24:5, 14

A mi Padre, por darme la fortaleza para seguir adelante, por enseñarme que en la vida hay que luchar por lo que uno quiere y defender los logros pero sobre todo enseñarme que la integridad de una persona se mide por sus logros y que son estos los que hablan de su persona.

A mi Madre, esa mujer firme y amorosa que me ha llevado a ser la mujer sensible y entregada que soy el día de hoy, por acompañarme en las noches de estudio y desvelo, por alimentarme de amor y encomendarme siempre a Dios en mis propósitos.

A mi Hermana que me regalo cariño, calidez y me regalo serenidad con un abrazo y así aprender que poco a poco se llega a la meta.

Familia, hoy veo realizado un sueño que parecía lejano, costó bastante trabajo pero con paciencia, dedicación y amor estoy aquí hoy disfrutando el esfuerzo.

A ti Edy, que con mucho entusiasmo me acompañaste en esta aventura, hoy disfrutemos de este logro que tanto nos enseñó. Gracias por compartir este momento conmigo!

Al Dr. Martín Martínez, que nos apoyó en todo momento para sacar adelante este proyecto, por la paciencia y la dedicación para enseñarnos y

orientarnos en el tema. Dr. gracias por toda su atención y confianza así y por compartirnos su conocimiento para realizar esta tesis

Al Dr. Enrique Ángeles Anguiano que confió su proyecto en nosotros y que nos ayudó en la culminación de esta tesis por su amabilidad y atención para seguir adelante

A ti Aurelio, por confiar en mi e iniciar mi formación profesional, laboral y apoyarme para culminar este proceso.

A todos los amigos que en este largo camino he encontrado para compartir cada momento, los que me acogieron en su casa y con su familia.

A todos mis maestros que contribuyeron en mi formación y que supieron guiarme en el camino de aprender.

A mi gran escuela **UNAM** que prepara jóvenes de bien y capaces y que hoy me da la llave de la sabiduría

A todos los que contribuyeron a este gran sueño, pero sobre todo Gracias a Dios por poner en mi camino a todas esas personas que me acompañaron y por darme esa gran familia que me apoya y me ama incondicionalmente, por dejarme concluir con esta etapa de mi vida y me dio la sabiduría para tomar las decisiones acertadas. Gracias a ti Señor por esta maravillosa vida y el cumplimiento de este sueño.

CONTENIDO

1. JUSTIFICACIÓN	5
2. INTRODUCCIÓN	6
2.1. FISIOLÓGÍA DEL CORAZÓN	6
2.1.1. Miocito cardiaco	8
2.1.2. La sarcómera	10
2.1.3. Mecanismo de contracción	12
2.1.4. Acoplamiento excitación-contracción	13
2.2. CICLO CARDIACO	16
2.2.1. Tonos cardíacos	19
2.2.2. Actividad eléctrica	20
2.2.3. Potencial de Acción	22
2.2.4. Canales iónicos regulados por voltaje	28
2.2.5. Electrocardiograma	33
2.3. ARRITMIAS	38
2.3.1. Definición	38
2.3.2. Epidemiología de las arritmias.....	38
2.3.3. Mecanismos de producción de las arritmias	40
2.3.4. Clasificación.....	44
2.4. FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS	44
2.4.1. Generalidades.....	44
2.4.2. Mecanismos generales de acción	46
2.4.3. Nuevos Fármacos Antiarrítmicos	55
3. HIPÓTESIS	58
4. OBJETIVOS	59
4.1. Objetivo general.....	59
4.2. Objetivos particulares.	59
5. MATERIALES Y MÉTODOS	60

5.1. Soluciones	60
5.2. Aislamiento de Miocitos Cardiacos.....	62
5.3. Electrofisiología.....	63
6. RESULTADOS	65
6.1. Antecedentes de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el tiomorfolínico LQM 320	65
6.2. Efecto sobre las corrientes de K^+	67
6.3. Efecto sobre las corrientes de Na^+	67
6.4. Efecto de los compuestos sobre corrientes de calcio en miocitos ventriculares aislados de corazones de ratas	68
6.4.1. Cinética de la corriente I_{Ca} Control.....	68
6.4.2. Capacitancia	73
6.4.3. Relación de densidad de corriente voltaje de la I_{Ca} en miocitos ventriculares	74
6.4.4. Efecto de los compuestos Morfolínicos y tiomorfolínicos sobre la I_{Ca}	74
6.4.4.1. Efecto del compuesto morfolínicico LQM 302 sobre la corriente I_{Ca}	75
6.4.4.2. Efecto del compuesto morfolínicico LQM 308 sobre la corriente I_{Ca}	77
6.4.4.3. Efecto del compuesto morfolínicico LQM 310 sobre la corriente I_{Ca}	79
6.4.4.4. Efecto del compuesto tiomorfolínico LQM 320 sobre la corriente I_{Ca}	81
6.5. Curvas Dosis Efecto (D-E).....	83
7. DISCUSIÓN	88
8. CONCLUSIONES	95
9. BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS.....	97

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

HEPES	Ácido N-2-hidroxietilpiperacin-N'-2-etanosulfónico
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
ATP	Adenosin trifosfato
AV	Auriculoventricular
Ca²⁺	Calcio
Kv	Canales de potasio dependientes de voltaje
Cm	Capacitancia de membrana
Q	Carga
Cl⁻	Cloro
MgCl₂	Cloruro de magnesio
NiCl	Cloruro de níquel
KCl	Cloruro de potasio
NaCl	Cloruro de sodio
I_{Ca}	Corriente de calcio
I_{CaL}	Corriente de calcio tipo L
I_{CaT}	Corriente de calcio tipo T
I_{ClCa}	Corriente de cloro dependiente de calcio
I_{K(ATP)}	Corriente de potasio sensible a adenosin trifosfato
I_{Na}	Corriente de sodio
I_{max}	Corriente máxima
I_{K1}	Corriente rectificadora entrante de potasio
I_k	Corriente rectificadora tardía de potasio
I_{Ks}	Corriente rectificadora tardía saliente de Potasio
I_{t0}	Corriente transitoria de salida de potasio
I_k	Corriente de potasio
Curva IV	Curva corriente-voltaje
D.S.	Desviación estándar
DFH	Difenilhidantoína
DE₅₀	Dosis efectiva cincuenta
D-E	Dosis-efecto
ECG	Electrocardiograma
EGTA	Etilenglicol tetraacético
exp	Experimento
FA	Fibrilación auricular
K₂HPO₂	Fosfato de potasio dibásico
°C	Grados centígrados
NaOH	Hidróxido de sodio
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IV	Intravenosa
OH	Ion hidroxilo
Kg	Kilogramos

LQM	Laboratorio de Química Medicinal
LVA	Low voltaje activación
Mg²⁺	Magnesio
MΩ	Mega ohms
μm	Micrómetros
μM	Micromolar
mseg	Mili segundos
mV	Mili volts
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mM	Milimol
ms	milisegundos
nA	Nanoamperes
O₂	Oxígeno
K(b)	Pendiente
PR	Periodo refractario
pA	Picoampers
pF	Picofaradios
DAD	Postpotenciales tardíos
EAD	Postpotenciales tempranos
K⁺	Potasio
Em	Potencial de membrana
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundos
SA	Sinoauricular
Na⁺	Sodio
TPSV	Taquicardias Paroxísticas Supraventricluares
U.I.	Unidades internacionales
UAP	Universidad Autónoma de Puebla
V	Voltaje

1. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de nuevos fármacos es un área de intenso estudio que busca terapias más eficaces y seguras para el paciente. En particular, se ha incrementado la búsqueda de fármacos antiarrítmicos ya que los actuales presentan un bajo índice terapéutico y potencialmente podrían agravar la arritmia para la cual se diseñaron.

Dentro de este contexto, el diseño de Fármacos del Programa de Química Medicinal de la Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan Campo 1, ha desarrollado una amplia variedad de fármacos con potencial efecto cardiovascular. Los compuestos de la serie metiltiomorfolinfenoles presentan características que les permiten ser considerados para su estudio en el desarrollo de fármacos antihipertensivos y antiarrítmicos. Estos fármacos son los que llamamos morfolínicos y tiomorfolínicos.

El presente estudio está enfocado a caracterizar los efectos de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el tiomorfolínico LQM 320, sobre los canales iónicos de cardiomiocitos aislados de rata y con estas bases, proponer su desarrollo como fármacos antiarrítmicos.

1. INTRODUCCIÓN

2.1. FISIOLÓGÍA DEL CORAZÓN

El corazón es una bomba que impulsa la sangre a todos los tejidos del cuerpo llevando oxígeno y nutrientes a las células y eliminando los desechos. Está formada por 4 cavidades: dos de ellas, las aurículas derecha e izquierda, reciben la sangre proveniente del sistema venoso y se contraen para llenar las otras dos cavidades: los ventrículos derecho e izquierdo que se encargan de bombear la sangre al sistema arterial de ambas circulaciones: la sistémica y la pulmonar.

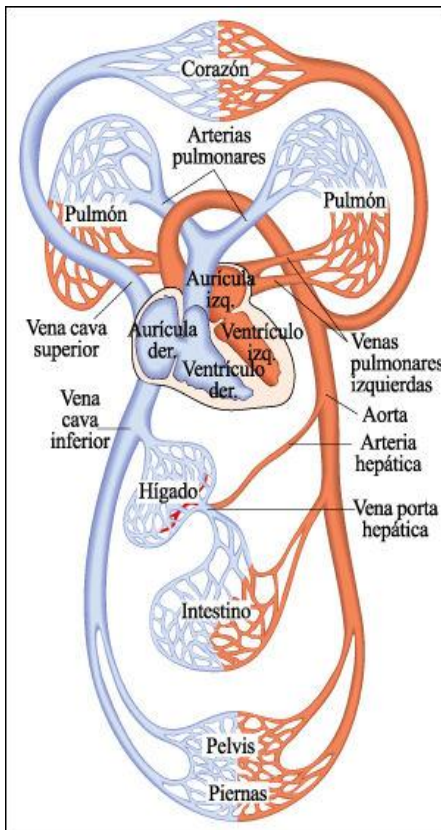


Figura 1 Circulación pulmonar y sistémica. La sangre oxigenada se muestra en rojo, y la desoxigenada en azul. El circuito corto (circulación pulmonar), empieza en la parte derecha del corazón, envía la sangre a los pulmones y la hace regresar oxigenada de nuevo al corazón. El circuito largo (circulación sistémica), comienza en la parte izquierda del corazón, recibe la sangre oxigenada de los pulmones y la envía al resto del cuerpo. (Imagen tomada de: <http://www.cobach-elr.com/academias/quimicas/biologia/biologia/curtis/libro/c42e.htm>)

Para realizar el trabajo de bomba, el corazón contiene tejido muscular, además de otros tipos celulares. Las células musculares se anclan mediante una capa fina de tejido fibroso que además de ser un soporte

mecánico transmite las fuerzas generadas por el tejido contráctil, formando así una unidad anatómica llamada miocardio. Además de su función de bomba, es interesante señalar que al corazón se le han descrito funciones endócrinas (Eugene Braunwald, 1997)

El corazón posee automatismo que es la propiedad que le permite generar sus propios impulsos. Todo el miocardio la presenta, sin embargo, existen estructuras especializadas en generar y conducir el impulso eléctrico llamadas en conjunto: sistema de conducción. El sistema de conducción (*Figura 2*) nace en el nodo sinoauricular (SA) o marcapaso, zona que dispara más frecuentemente que el resto del sistema, por lo que controla toda la actividad eléctrica. El marcapaso se comunica mediante fibras internodales con el nodo aurículoventricular (AV) el cual se continúa con el Haz de His y sus ramas, y termina en la red de fibras de Purkinje. El nodo SA se encuentra ubicado en la unión entre la aurícula derecha y la vena cava superior. El nodo AV se encuentra en la base del tabique interauricular. El Haz de His nace del nodo AV y entra en el tejido fibroso. El haz de His tiene una porción ramificada que origina una capa amplia de fibras que se distribuyen por el tabique interventricular; de su lado derecho formando la rama derecha y de su lado izquierdo, formando la rama izquierda; estas ramificaciones originan el sistema His-Purkinje que se extiende por el endocardio de ambos ventrículos (Eugene Braunwald, 1997) (Cheitlin Melcin D., 1995)

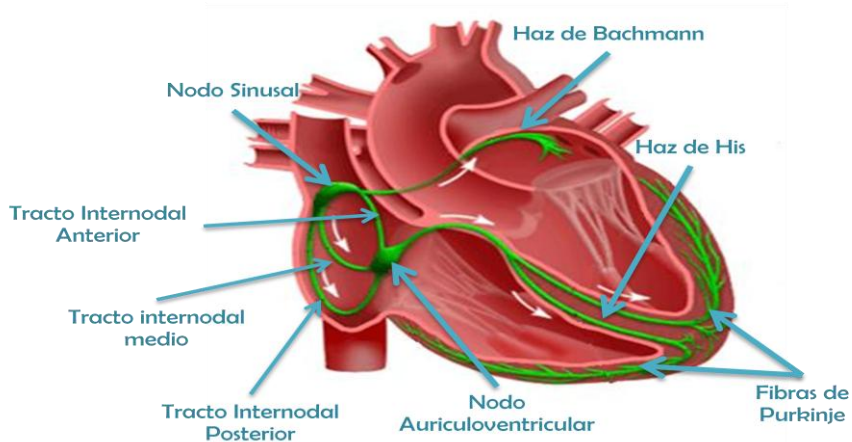


Figura 2. Sistema de conducción cardíaca. El impulso comienza en el nodo sinusal, este se transmite por vías preferentes (tractos internodales anterior, medio y posterior) al nodo auriculoventricular (AV). Del tracto internodal anterior se deriva el Haz de Bachmann el cual conduce el impulso cardíaco preferentemente desde la aurícula derecha a la aurícula izquierda. Al llegar el impulso al nodo AV, viaja por la rama izquierda y derecha del Haz de His en donde se disipa a las Fibras de Purkinje, transmitiendo así el impulso a los ventrículos.

2.1.1. Miocito cardíaco

El miocito cardíaco es la célula fundamental del corazón ya que el trabajo contráctil que realiza cada miocito se refleja en la actividad de bomba que realiza todo el órgano. Los miocitos ventriculares miden de 100 a 200 μm de longitud y de 10 a 50 μm de diámetro (Figura 3). En la Figura 2 se observa un miocito ventricular al microscopio óptico, el cual muestra las típicas estrías transversales que lo identifica como músculo estriado. Las estrías son el resultado de la disposición regular de las proteínas contráctiles en el interior de las células. Este arreglo estructural altamente organizado del citoesqueleto de los miocitos se esquematiza en la Figura 4, donde se

muestra el nivel de organización desde el músculo completo hasta los filamentos contráctiles pasando por los discos intercalares. El miocito contiene miofibrillas que lo atraviesan en toda su longitud y están formadas por las proteínas contráctiles. Las miofibrillas están rodeadas por estructuras membranosas llamadas túbulos transversos que son invaginaciones de la membrana celular y llevan el impulso eléctrico al interior de las células. Las miofibrillas están formadas por miofilamentos gruesos y delgados, llamados así por sus dimensiones (*Figura 4*). Cada célula muscular cardíaca está separada de otra por medio de los discos intercalares que son zonas de interacción constituidas de proteínas estructurales. En esta zona están presentes las uniones comunicantes (o uniones en hendidura) y los desmosomas. Las uniones comunicantes son canales formados por proteínas de membrana de dos células adyacentes y constituyen vías de comunicación intercelular de baja resistencia eléctrica a través de las cuales el potencial de acción es transmitido de una célula a otra, mientras que los desmosomas son zonas de fuerte adhesión mecánica a través de los cuales la fuerza generada por una célula se transmite a las otras. Además de miocitos, el corazón contiene fibroblastos, células endoteliales del endocardio y del árbol coronario, neuronas y células de músculo liso vascular.

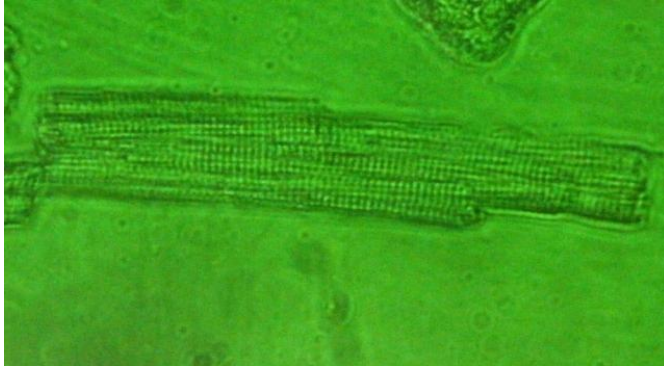


Figura 3. Fotografía de miocito cardíaco de rata tomada en el laboratorio de electrofisiología del departamento de Fisiología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". (Microscopio óptico invertido Carl Zeiss Axiovert 100. Aumento 320x).

2.1.2. La sarcómera

La sarcómera es la estructura funcional del miocito y es la porción de una miofibrilla que va desde una línea Z a la siguiente (*Figura 4*). La organización estructural de la sarcómera está dada por diferentes zonas denominadas bandas. En el microscopio electrónico se puede ver una estructura denominada disco Z que separa una sarcómera de otra. Este disco se encuentra ubicado en una región poco densa llamada la banda I en donde solamente hay filamentos delgados. Estas bandas alternan con otras denominadas bandas A donde se encuentran filamentos gruesos y delgados. En la parte media de las bandas A se encuentra la banda H en donde solo hay filamentos gruesos. La sarcómera está formado por 8 proteínas mayores (miosina de cadena pesada, dos miosinas de cadena ligera, tropomiosina, troponina T, troponina I, troponina C y actina) y varias menores. Estas proteínas se encuentran organizadas en filamentos: los

filamentos gruesos contienen principalmente miosina y los filamentos delgados, actina, tropomiosina y las troponinas. Los filamentos de miosina están formados por 2 cadenas pesadas y 4 ligeras con estructura de 2 cabezas y un cuerpo (en forma de bastón) (Figura 4 abajo a la derecha). Los filamentos de actina están constituidos por tres componentes proteicos (actina, tropomiosina y troponina), es una doble hélice en espiral en donde uno de los extremos de los filamentos se une en los discos Z. (Fox, 2003)

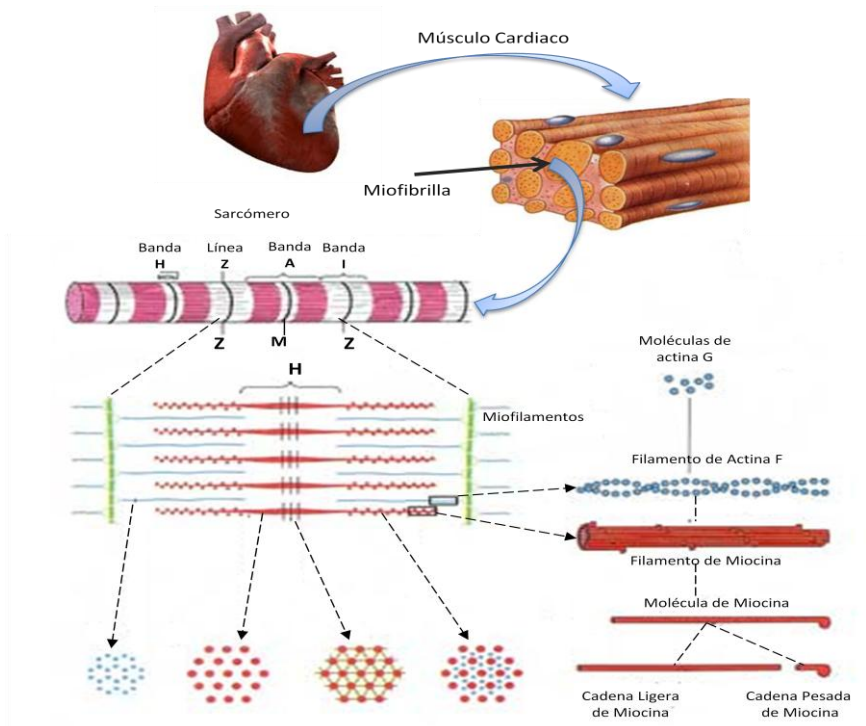


Figura 4. Organización estructural de músculo cardíaco, con la estructura y posición de filamentos finos y gruesos de la sarcómera en cortes transversales, así como su estructura molecular. (Tomado y adaptado de, <http://tecefi2010unab.blogspot.mx/2010/05/sarcomero-y-proteinas-contractiles-el.html>).

2.1.3. Mecanismo de contracción

La contracción muscular a nivel molecular consiste en la unión y desunión cíclica de la cabeza de miosina al filamento de actina (*Figura 5* abajo). Ante la llegada del estímulo apropiado (ión Ca^{2+}), la troponina T cambia de conformación haciendo que la tropomiosina deje libre el sitio activo de la actina para que interactúe con la miosina, formando fuertes puentes transversales o puentes cruzados que actúan a modo de “remo”, desplazando cíclicamente los filamentos de actina. La cabeza de la miosina se adhiere al filamento de actina por medio de la hidrólisis parcial de adenosin trifosfato (ATP), arrastrando el disco Z hacia el centro de la sarcómera. Luego la miosina se desconecta del filamento de actina y recupera su posición de reposo momento en que los puentes cruzados se encuentran débilmente unidos. A continuación el filamento de miosina se une nuevamente al filamento de actina pero en un punto más cercano al disco Z, con lo cual el filamento de actina se desliza un poco más hacia el centro de la sarcómera. Estos episodios se llevan a cabo varias veces lo que provoca que los filamentos de actina se acerquen mutuamente de manera que la sarcómera acorta su longitud durante la contracción, como resultado del deslizamiento de los filamentos de actina sobre la miosina. Las bandas I y H se acortan mientras que la banda A permanece sin modificaciones. (*Figura 5*) (Fox, 2003).

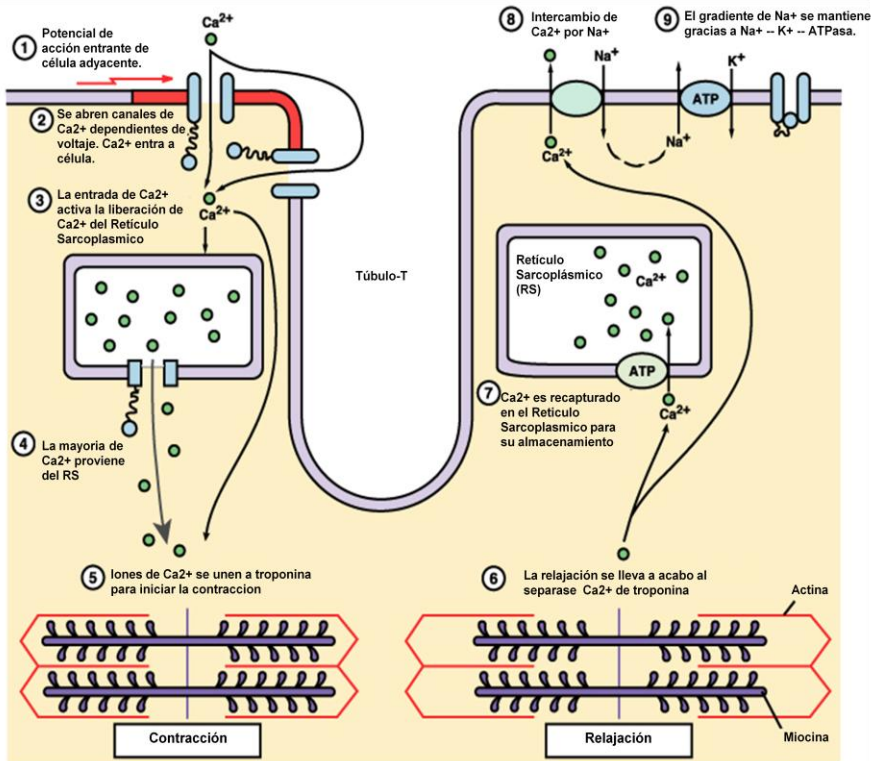


Figura 5. Acoplamiento excitación-contracción y del músculo cardíaco. Se representa cómo el potencial de acción viaja por la membrana plasmática generando la entrada de Ca^{2+} por los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. Esta entrada de Ca^{2+} hace que se libere mayor cantidad de este ión del Reticulo Sarcoplásmico. El aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} activa a las proteínas contráctiles. La contracción termina cuando la concentración de Ca^{2+} intracelular baja al ser recapturado por la bomba de Ca^{2+} del Reticulo Sarcoplásmico. Imagen adaptada de <http://163.178.103.176/Tema1G/APortal/ATPSilver/CAP12/S14/S14~1.HTM>

2.1.4. Acoplamiento excitación-contracción

Es el proceso mediante el cual la estimulación eléctrica desencadena la contracción del miocito. Este proceso se inicia cuando el potencial de acción que viaja por los túbulos T, induce una entrada de calcio al miocito a través de canales L que fueron activados por despolarización. La entrada de Ca^{2+}

provoca una liberación mayor de calcio a partir del retículo sarcoplásmico. El ión Ca^{2+} se une a la troponina C (*Figura 5*) (Ferez Sergio, 2004) (Fox, 2003) (Cheitlin Melcin D., 1995). Las cisternas terminales son ensanchamientos del retículo sarcoplásmico que se cree, guardan cantidades importantes del ión Ca^{2+} y están separadas por los túbulos transversales (túbulos T). El retículo sarcoplásmico posee canales a través de los cuales sale Ca^{2+} . Estos canales son llamados canales de liberación de Ca^{2+} . Los potenciales de acción inducen un cambio conformacional en los canales de calcio tipo L, que a su vez interactúan directamente con el canal de liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico; este proceso se denomina liberación electromecánica. Así mismo, el flujo de Ca^{2+} a través de los canales iónicos en los túbulos T pueden estimular la salida de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico, este proceso se denomina mecanismo de liberación de Ca^{2+} inducido por Ca^{2+} . El proceso de salida de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico por estos mecanismos tiene como finalidad unirse a la troponina C y activar la contracción muscular. La unión entre el ión Ca^{2+} y troponina C permite la unión de la troponina T a la tropomiosina que desplaza el filamento de actina y lleva a exponer los lugares en los que se puede unir la miosina y formar los puentes cruzados. Los puentes cruzados provocan fuertes movimientos cíclicos entre actina y miosina que ya se describieron y que constituye la contracción muscular a nivel molecular. Esta interacción cual puede permanecer siempre que el Ca^{2+} permanezca unido a la troponina C.

La relajación inicia cuando comienza a disminuir la concentración de calcio en el citoplasma al ser bombeado este ión al retículo sarcoplásmico (Cheitlin Melcin D., 1995) (Ferez Sergio, 2004) (Fox, 2003). Al caer la concentración de este ión, la troponina C, que lo mantenía unido, cambia de conformación y lleva finalmente a que la tropomiosina regrese a su posición de inhibición (sobre los puntos de unión de actina y miosina) y así se evita la formación de los puentes cruzados actina-miosina y por lo tanto se produce la relajación muscular. Cabe mencionar que los puentes cruzados de la miosina son activados por medio de la hidrólisis de ATP y que el retorno de Ca^{2+} al retículo sarcoplásmico se realiza mediante transporte activo, por lo que el ATP es esencial en el proceso de contracción cardiaca.

Particularmente, el corazón no puede generar una contracción sostenida debido a que los ventrículos y las aurículas se comportan como una sola unidad, es decir, el miocardio se estimula eléctricamente como si fuera una sola unidad celular y se contrae de igual manera. Esta respuesta se explica porque el potencial de acción es un pulso muy largo que dura casi 300 milisegundos y por lo cual el corazón no puede estimularse nuevamente hasta que se produzca la relajación correspondiente y así, presenta periodos refractarios muy largos en los que no es posible volver a estimular el corazón. Con este fenómeno se asegura la acción rítmica con que se lleva a cabo el bombeo de la sangre por el corazón (Cheitlin Melcin D., 1995) (Ferez Sergio, 2004) (Fox, 2003).

2.2. CICLO CARDIACO

El ciclo cardiaco es el proceso repetitivo de contracción (sístole) y relajación (diástole) del corazón (*Figura 6*), en la primera se lleva a cabo la expulsión del contenido ventricular y en la segunda el llenado del mismo (Fox, 2003) (Taylor, 2010).

En el diagrama de Wiggers (*Figura 6*) se pueden ver todos los acontecimientos de un ciclo cardíaco. Es decir, se representan los cambios eléctricos, de volumen, acústicos, y de presión que ocurren durante un ciclo en el corazón izquierdo aunque algunos eventos se consideran para ambos ventrículos y aurículas. La primera curva representa el electrocardiograma, la segunda curva la presión en la aorta, la tercera curva la presión del ventrículo izquierdo, la cuarta, la presión en la aurícula izquierda; la quinta curva, el fonocardiograma que registra los ruidos que emite el corazón y la sexta curva representa el llenado (volumen) ventricular. En la parte final de este diagrama se observa de manera esquemática las fases del ciclo cardiaco correspondientes a los cambios del diagrama comenzando con la sístole auricular y terminando con la sístole ventricular (Fox, 2003)

En el Diagrama de Wiggers (*Figura 6*) se muestran las ondas del electrocardiograma (PQRST) en la derivación DII. La onda P es producida por la despolarización auricular, es decir, se registra la actividad eléctrica de las dos aurículas en una sola onda. Como la actividad eléctrica antecede a la actividad mecánica, la onda P es anterior a la contracción auricular,

iniciando la contracción 0.16 segundos después del inicio de la onda P. El complejo QRS es producido por la despolarización ventricular y desencadena la contracción ventricular. Se puede ver que el complejo QRS comienza antes de que inicie la sístole ventricular (abajo la curva de presión ventricular que refleja la contracción ventricular). La onda T se produce por la repolarización ventricular que ocurre un poco antes de que finalice la contracción ventricular (Fox, 2003)

En la *Figura 6* se observa que en la curva de presión auricular hay 3 pequeñas variaciones que se denominan curvas de presión auricular **a**, **c** y **v**. La onda **a** es producida por la contracción auricular, la onda **c** es producida por la contracción ventricular que comienza y empuja el piso de la aurícula, pero también por un ligero flujo retardado de sangre a las aurículas al comienzo de la contracción ventricular, la onda **v** es producida al final de la contracción ventricular por el flujo de sangre que es lento hacia las aurículas mientras las válvulas AV están cerradas mientras se da la contracción ventricular. Esta onda desaparece cuando las válvulas AV se abren y la sangre almacenada fluye hacia los ventrículos (Fox, 2003)

Se observan las curvas correspondientes al llenado y presión intraventricular, se ve que hay una interrelación entre ellos. En la sístole ventricular las válvulas AV se encuentran cerradas por lo que se acumula la sangre en las aurículas y provocando un ligero aumento de la presión, lo que se observa en la curva de presión auricular. En cuanto comienza la

relajación del ventrículo y baja la presión intraventricular por debajo de valor de la presión de las aurículas, se abren las válvulas AV y la sangre acumulada fluye a los ventrículos, estos cambios los observamos tanto en la curva de presión como en la de volumen ventricular. A este proceso se le denomina periodo de llenado rápido de los ventrículos y dura aproximadamente el primer tercio de la diástole fenómeno que se observa en ambas curvas. Durante el tercio medio de la diástole hay una cantidad de sangre que sigue fluyendo hacia las aurículas y pasa a los ventrículos. Durante el último tercio de la diástole las aurículas se contraen y se lleva a cabo el flujo de entrada de la sangre a los ventrículos. (Fox, 2003)

Después del comienzo de la contracción ventricular hay un aumento de presión ventricular inmediato, lo que provoca que se cierren las válvulas AV y pasan 0.02 a 0.03 s para que el ventrículo acumule presión suficiente (por encima de 80 mmHg en el ventrículo izquierdo y 70 mmHg en el ventrículo derecho) para abrir las válvulas aórtica y pulmonar y pueda iniciarse la eyección. Antes de alcanzar este valor de presión, los ventrículos continúan contrayéndose y la presión aumenta pero el volumen intraventricular aún no cambia, pues la sangre contenida no ha podido escapar de la cámara. A este periodo se le denomina contracción isovolúmica o isovolumétrica, en el cual se lleva a cabo el acortamiento de las fibras musculares con un aumento de tensión en el músculo (Fox, 2003).

Al continuar el aumento de las presiones ventriculares se alcanza la presión

suficiente para abrir las válvulas aórtica y pulmonar. La sangre comienza a salir de los ventrículos, este es el inicio del periodo de eyección. Al final de la sístole comienza inmediatamente la relajación ventricular, lo que provoca que disminuyan las presiones intraventriculares. La sangre bombeada por los ventrículos contraídos ha llenado las grandes arterias aumentando la presión en éstas. Este aumento de presión hace que la sangre intente regresar a los ventrículos lo que produce que las válvulas aórtica y pulmonar se cierren. Aquí se da un periodo llamado relajación isovolúmica o isovolumétrica que dura 0.03 a 0.06 s en el cual el músculo está relajado sin modificar el volumen ventricular, las presiones disminuyen y vuelven a valores diastólicos. Después se abren de nuevo las válvulas AV y comienza un nuevo ciclo de bombeo ventricular (Fox, 2003).

2.2.1. Tonos cardíacos

En la penúltima curva del diagrama de Wiggers (*Figura 6*) se muestra la curva correspondiente a los dos tonos cardíacos principales. Los tonos cardíacos son ruidos que produce el corazón al realizar el bombeo sanguíneo, no se puede oír la apertura de las válvulas pues no emiten ningún ruido. En cambio el cierre de las válvulas AV y semilunares (aórtica y pulmonar) si producen sonidos que viajan en distintas direcciones por todo el tórax. Estos ruidos son llamados tonos cardíacos, que en un corazón sano suenan como "lab dap". El primer tono cardíaco denominado S_1 (T_1), está producido por el cierre de las válvulas AV (tricúspide y mitral) durante la

contracción de los ventrículos, la vibración que produce es de tono bajo y prolongado (“lab”). El segundo tono cardíaco denominado S_2 (T_2), es producido por el cierre de las válvulas semilunares y marca el final de la sístole, este ruido es corto y rápido (“dab”) (Fox, 2003). Además, existe un tercer ruido que puede auscultarse en niños y atletas sin que suponga patología alguna, pero en el individuo adulto generalmente se asocia a patología, producido por el choque de la sangre durante el llenado rápido ventricular con la pared ventricular poco distendida. Y un cuarto ruido, siempre asociado a patología, que se escucha durante la contracción auricular (presistólico), por el choque de la sangre impulsada contra la pared de un ventrículo hipertrófico. En general un ciclo cardíaco dura, para una persona con una frecuencia cardíaca media de 72 latidos por minuto en reposo, aproximadamente 0,8 segundos.

2.2.2. Actividad eléctrica

Las células cardíacas tienen la capacidad de generar y propagar la actividad eléctrica y así mismo, poseen ritmicidad lo que quiere decir que están en completa sincronización para llevar a cabo su trabajo eléctrico y mecánico. A través de la membrana celular que separa al medio intracelular del extracelular, existe una diferencia muy grande de potencial (el interior es negativo con respecto al exterior) que se denomina potencial de membrana en el reposo, que persiste si la célula no es estimulada. Al estimular la célula se produce el potencial de acción transmembranal, que consiste en una

despolarización rápida que lleva a una inversión de polaridad de la célula, es decir, el interior de la célula se vuelve positivo con respecto al exterior, seguida de una repolarización lenta. Esta señal se propaga de manera unidireccional por todas las regiones del miocardio.

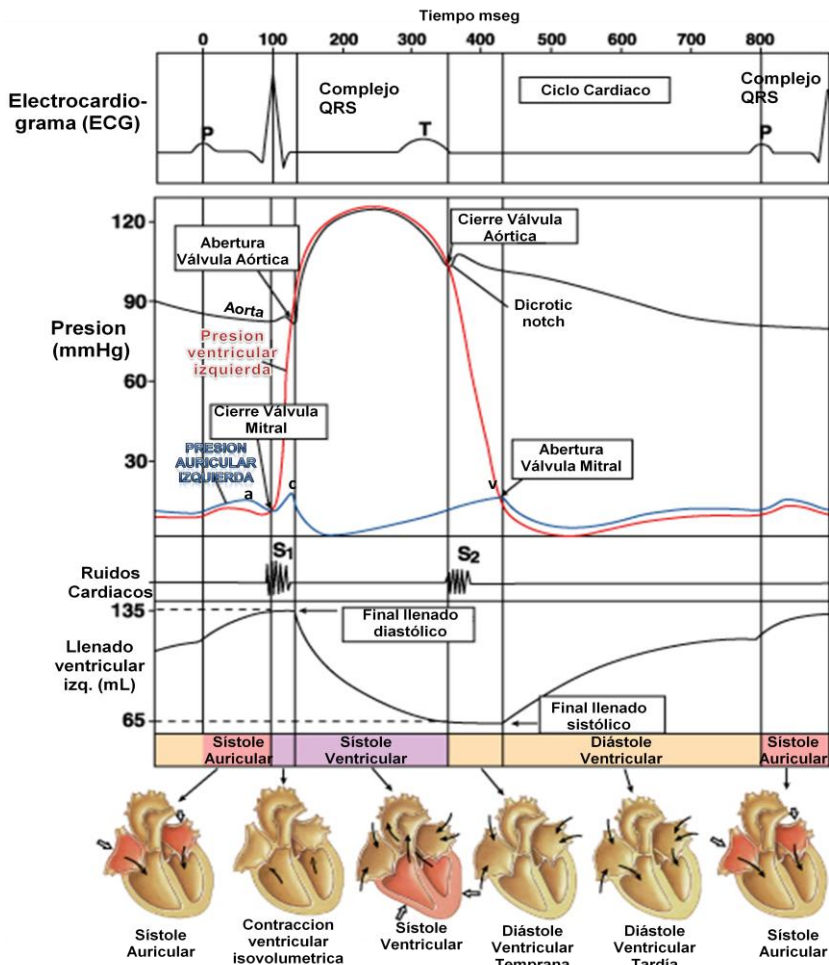


Figura 6. Diagrama de Wiggers. Representación de todos los acontecimientos que se dan en el ciclo cardíaco. (Imagen adaptada de http://faculty.pasadena.edu/dkwon/chapter%2014/Chapter%2014_cardiology_files/frame.htm)

2.2.3. Potencial de Acción

El potencial de acción de fibras rápidas (aurículas, ventrículos, His-Purkinje) describe 5 fases (*Figura 7*) cada una de ellas asociadas con un cambio en la conductancia de uno o más iones específicos. Este potencial de acción se caracteriza por poseer una duración de 200-500 ms y estas células presentan un potencial de membrana en el reposo de -85 mV. La primera fase, de despolarización (fase 0), es una fase ascendente, muy rápida. Inmediatamente después se observa la fase de repolarización inicial (fase 1), la cual es conocida como precoz o temprana, seguida por la fase de repolarización muy lenta (fase 2) que también es llamada meseta por su morfología, esta fase que dura más que las restantes, es seguida por la fase de repolarización final (fase 3). La fase 4 es el período diastólico presente en cada sucesión de potenciales de acción y corresponde al potencial de membrana en el reposo.

Fase 0 ó Fase de despolarización

Esta fase también se llama de despolarización rápida. Esta fase depende totalmente de la entrada de iones Sodio (Na^+). Cada vez que la célula alcanza el umbral de activación de estos canales (-65mV), los canales se abren y entra rápidamente este ión. En consecuencia el potencial de membrana se desplaza a valores menos negativos y luego positivos, lo que se llama despolarización. Los canales de sodio son controlados por compuertas, una de apertura (o de activación) y otra de cierre (o de

inactivación). Estas compuertas están controladas por la magnitud del potencial transmembrana (UAP, 2005). Como se mencionó, al final de la fase 0 la célula queda polarizada a la inversa de cómo estaba en el reposo, es decir el interior ahora es positivo con respecto al exterior. La despolarización induce que los canales de Na^+ se inactiven, es decir que pasen a un estado cerrado del cual no saldrán hasta después de un tiempo; lo que determina el periodo refractario de las células cardíacas (Iturralde, 2008).

Fase 1 o Fase de repolarización temprana

Esta fase es una breve repolarización rápida que sigue al pico del potencial de acción y es causada principalmente por una corriente transitoria saliente de potasio (K^+) a través de canales de activación rápida (I_{t0}). Esta repolarización temprana afecta indirectamente la duración del potencial de acción debido a que controla el curso del tiempo subsecuente de otras conductancias dependientes de voltaje, además durante esta fase, la inactivación de los canales de Na^+ dependientes de voltaje es prácticamente completa. Otra corriente de salida ocasionada por el aumento de la permeabilidad del ion Cloro (Cl^-) parece contribuir en esta fase, siendo ésta la corriente de Cl^- dependiente de Ca^{2+} (I_{ClCa}) (Iturralde, 2008) (UAP, 2005)

Fase 2 o Fase de repolarización lenta o meseta

Esta fase depende de un delicado balance de corrientes de entrada (despolarización) y salida (repolarización). Las corrientes dominantes en

esta fase son las de ingreso de calcio (I_{Ca}), la rectificadora tardía de salida de potasio (I_{Ks}) y el componente de inactivación lenta de la corriente de sodio (I_{Na}). La corriente de ingreso de calcio es transportada por dos tipos de canales (T y L), por lo que se divide en el componente de corriente tipo T (“transient”) que se activa por despolarizaciones débiles y se inactiva rápidamente y en el componente dado por la corriente tipo L (“Long lasting”) que por el contrario se activa por despolarizaciones potentes y se inactiva lentamente. (Iturralde, 2008)

Durante la fase 2 o de meseta la entrada lenta de calcio se considera muy importante debido a su participación con el proceso del acople excitación-contracción. Durante la fase 2, existe una salida de K^+ que equilibra el movimiento de los iones Na^+ y Ca^{2+} hacia el interior y en consecuencia, el potencial de membrana se mantiene estable cerca de los 0 mV durante varias decenas de mseg. La fase 2 aún cuando es una meseta mantiene siempre una repolarización constante que se debe a la salida neta de cargas positivas hacia el exterior haciendo que exista un decaimiento lento pero progresivo.

Fase 3 o Fase de repolarización final

Los canales de calcio se inactivan al final de la fase 2, sin embargo, la permeabilidad a K^+ es alta, lo que determina que el potencial de membrana retorne al equilibrio. Existe una gran participación de corrientes de potasio, como la rectificadora tardía de potasio (I_K) de la cual se conocen un

componente rápido (I_{KR}) y otro lento (I_{KS}) que se inactivan hacia el final de la repolarización en donde predomina la corriente rectificadora entrante de potasio (I_{K1}) responsable de la alta permeabilidad a este ión en las células cardiacas que se encuentran en reposo (Iturralde, 2008).

En este proceso de repolarización participan también las siguientes corrientes:

- Corriente $I_{K(ATP)}$ sensible a los niveles citoplásmicos de ATP, se abre a niveles menores a 0.5 mM generando una corriente saliente de potasio que abrevia el potencial de acción. Cuando se activa, se manifiesta mayoritariamente al final de la repolarización. En condiciones normales no se observa hasta que exista una caída importante en los niveles de ATP intracelular, como en el caso de hipoxia o isquemia.
- Corriente $I_{K(ACh)}$ se activa al unirse la acetilcolina con su receptor muscarínico de la membrana plasmática, lo que provoca la salida de K^+ , el acortamiento del potencial de acción y el desplazamiento del potencial de membrana en el reposo hacia valores más negativos. Esta corriente es la que participa en la regulación de la frecuencia cardíaca por el sistema parasimpático.
- Corriente $I_{K(Ca)}$ o corriente de potasio activada por calcio. Se activa en presencia de concentraciones elevadas de calcio citosólico y su activación limita la frecuencia cardíaca.

Fase 4 o Fase diastólica

Esta fase es el potencial de membrana en el reposo. La corriente que controla esta fase es la I_{K1} , determinando que el potencial en reposo se aproxime al potencial de equilibrio para el K^+ (-90 mV). En el tejido marcapaso la membrana experimenta una despolarización totalmente espontánea durante esta fase, que la lleva hasta el nivel del potencial umbral para poder generar un nuevo potencial de acción que recorrerá todo el miocardio. (Iturralde, 2008). Analicemos lo que ocurre en el marcapaso.

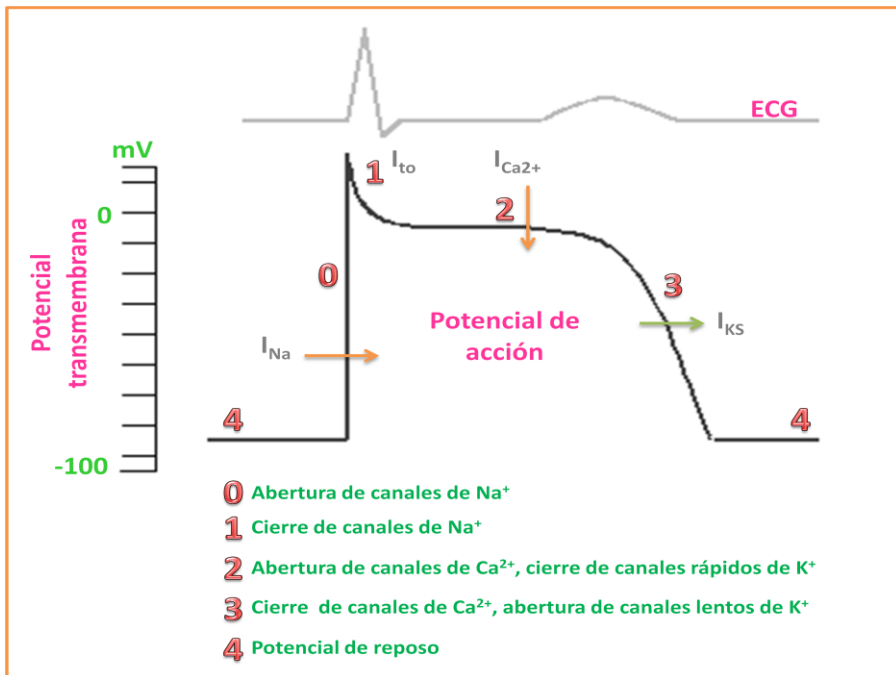


Figura 7. Potencial de acción de célula contráctil cardíaca (fibras rápidas) y su relación con el electrocardiograma; además de Corrientes iónicas, I_{Na} : corriente rápida de entrada de Na^+ ; $I_{Ca^{2+}}$: corriente de entrada de Ca^{2+} a través de los canales L. I_{to} : corriente de salida transitoria de Potasio.

El Potencial de acción de fibras lentas (nodo SA y nodo AV) se divide en 3 fases (Fases 0, 3 y 4) (*Figura 8*). La Fase 4 es la de despolarización espontánea presenta una pendiente positiva y se genera por el mecanismo siguiente: la elevada concentración de Na^+ extracelular y las cargas negativas del interior celular hace que los iones Na^+ tiendan a entrar a las células del nodo en el reposo. Esta entrada es progresiva por canales de Na^+ que no se inactivan, por lo que se genera una despolarización continua con pendiente positiva que lleva a un cambio de potencial de membrana de -70 mV a -40 mV . Cuando se alcanza este valor (-40 mV) se inicia la activación de los canales de calcio y al entrar Ca^{2+} produce la fase 0 del potencial de acción marcapaso. La entrada de Ca^{2+} se da a través de canales de Calcio tipo L que se comienzan a abrir hacia el final de la Fase 4. Debido a que el movimiento de Ca^{2+} a través de estos canales en la célula no es rápida, la velocidad de despolarización (pendiente de la fase 0) es mucho más lenta que en otras células cardíacas (por ejemplo, las células de Purkinje), de ahí el nombre de fibras lentas. La repolarización o fase 3 de las células marcapaso, al igual que en las fibras rápidas, depende principalmente de la salida de K^+ por la corriente I_k (Guyton, 2011). La velocidad de conducción de estas fibras es mucho más lenta que las anteriores. Las causas de la conducción lenta de las fibras nodales sinusal y aurículo-ventriculares es en parte porque la amplitud del potencial de acción generado es pequeño, debido al bajo nivel (menos negativo) del potencial

de reposo y existen pocas uniones comunicantes entre las sucesivas células de estas vías determinando mayor resistencia a la conducción de los iones.

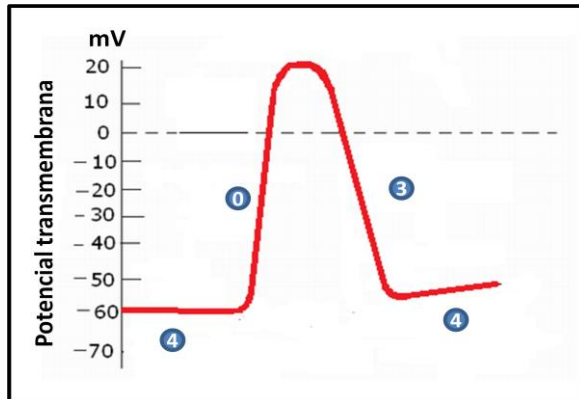


Figura 8 Potencial de acción del nodo AV (marcapaso)

2.2.4. Canales iónicos regulados por voltaje

En general, los canales iónicos son proteínas macromoleculares transmembranales que poseen poros acuosos que permiten el paso de iones, estos son selectivos a determinados iones y su apertura depende de varios estímulos, entre ellos, cambios en el voltaje transmembranal (*Figura 9*). Cuando el canal se abre, se forma un poro acuoso que al llegar a una determinada región se estrecha originándose la selectividad iónica permitiendo el paso sólo de un tipo de ion. Por ejemplo, los canales de calcio solo permiten el paso de iones Ca^{2+} (Iturralde, 2008) (P. Zipes Douglas, 1995)

Canales iónicos de K^+

Los canales iónicos tienen fundamentalmente dos componentes que los

caracterizan: la permeabilidad a los iones y su mecanismo de apertura y cierre (Hille, 1991). Según estos dos componentes, los canales de potasio dependientes de voltaje (K_v) son aquellos que controlan el flujo de iones potasio a través de la membrana, y su mecanismo de acción se basa en la sensibilidad a la diferencia de potencial a ambos lados de ésta. Los canales de K^+ juegan un papel importante en las células cardíacas, ya que establecen el potencial de reposo, determinan los periodos de actividad intensa, modulando los tiempos transcurridos de durante disparos repetitivos (“interspike intervals”), disminuyen por lo general, la excitabilidad celular (Hille, 1991)

Canales iónicos de Na^+

Los canales de sodio dependientes de voltaje permiten el paso de iones sodio a través de la membrana celular. El transporte de los iones sodio a través de estos canales es pasivo y solo depende del potencial electroquímico del ion. Los canales de Na^+ de células cardíacas son responsables de la fase de despolarización del potencial de acción. Estos se abren y cierran más rápido que los canales de K^+ , lo produce una entrada de cargas positivas (Na^+) durante el comienzo del potencial de acción y una salida (K^+) hacia el final del mismo.

Canales iónicos de Ca^{2+}

En general los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje constituyen una parte esencial entre los cambios transitorios en el potencial de membrana y una

variedad de respuestas celulares. Estas respuestas incluyen la secreción de neurotransmisores y hormonas, el inicio de la contracción en el músculo cardiaco y liso, y la activación de respuestas a través de segundos mensajeros en muchos tipo de células. (Martínez, 1995)

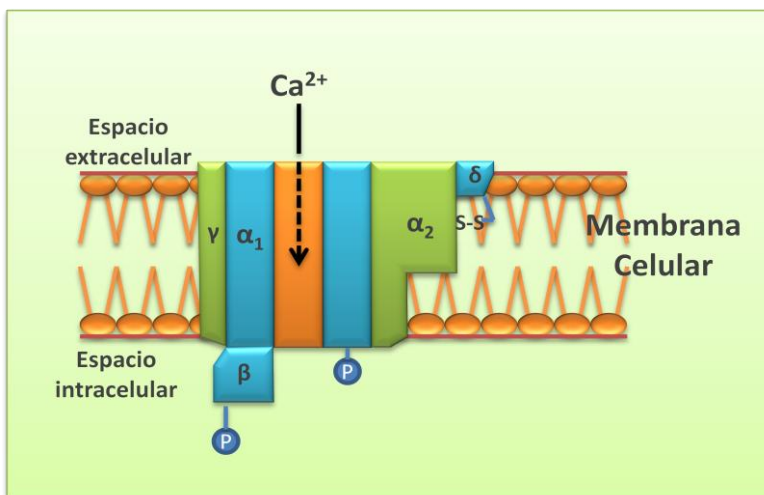


Figura 9. Distribución espacial de las subunidades que conforman los canales de Ca^{2+} ($\alpha 1$, $\alpha 2$, β , δ y γ) y sus sitios de fosforilación (P)

La vía más importante para la entrada de Ca^{2+} en las células cardiacas son los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. Al abrirse, permiten el flujo selectivo de iones Ca^{2+} a través del poro del canal, esenciales para el acoplamiento excitación-contracción. Estos canales permiten la entrada de Ca^{2+} y se activa el proceso de liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico que lleva a su vez, a un aumento significativo de este ion intracelularmente, evento que inicia la contracción cardiaca normal como ya se describió (Figura 5).

Los canales de Ca^{2+} se encuentran entre los más importantes componentes de la membrana del miocito cardiaco. Estos canales se clasifican en función de sus propiedades electrofisiológicas y farmacológicas. Los canales de Ca^{2+} se clasifican electrofisiológicamente de acuerdo a su voltaje, umbral de activación y por las características de su inactivación. Existen 2 grupos de canales de Ca^{2+} : los de bajo umbral de activación o LVA (“Low Voltage Activation”) con un voltaje umbral de activación de -50 mV aproximadamente. Estos canales son llamados también canales de Ca^{2+} tipo T (“Transient”) por presentar una cinética de inactivación rápida. Los canales de Ca^{2+} tipo T fueron descritos originalmente en neuronas sensoriales de vertebrados. Su función está relacionada principalmente con la actividad rítmica (marcapasos) y la entrada de Ca^{2+} a potenciales negativos. Se activan por el voltaje a potenciales cercanos a -70 mV, observándose la amplitud máxima de la corriente alrededor de -20 mV (Bossu, J.L.; Feltz, A. & Thoman, J.M., 1985) (Fedulova, y otros, 1985). Estos canales se inactivan también con el voltaje y se desactivan más lentamente que otros canales de Ca^{2+} . Los canales de tipo T son bloqueados, aunque de forma no selectiva, por amilorida, tetrametrina, difenilhidantoina, octanol y son resistentes a las dihidropiridinas. (Izagirre, 1998)

El segundo grupo de canales de Ca^{2+} son los canales de alto umbral de activación o HVA (“High Voltage Activation”) con un potencial de activación

de -20 mV aproximadamente. En este grupo encontramos a los canales de Ca^{2+} tipo L (“Long lasting”) por su cinética de inactivación lenta. Los canales de Ca^{2+} de tipo L son los mejores estudiados y se encuentran ampliamente distribuidos en todas las células excitables y en la mayoría de las células no excitables. Su activación es dependiente del voltaje y el potencial de activación depende del tipo celular; por ejemplo, en las células neuroendócrinas y en el músculo cardíaco se activan a partir de potenciales próximos a -30 mV y la amplitud máxima de la corriente se alcanza en torno a los 5 mV mientras que, en neuronas sensoriales se activan alrededor de -10 mV. La inactivación es más lenta que los canales de tipo T y en el curso temporal de dicho proceso tiene una constante de tiempo del orden de segundos. (Bean, 1985) (Lee, y otros, 1985) (Martínez, 1995)

Los canales de calcio son proteínas oligoméricas, constituidos por una subunidad principal α_1 , que sirve como poro y sensor del cambio de potencial. En el caso de los canales tipo L, en esta subunidad se encuentra el sitio de unión para las dihidropiridinas, grupo de fármacos que bloquean al canal de manera altamente selectiva como por ejemplo la nifedipina. Además de la subunidad α_1 , el canal contiene diversas subunidades reguladoras o auxiliares: la subunidad α_2 (unidas por puentes disulfuro), la subunidad γ y la subunidad δ . (Figura 9) (Izaguirre, 1998)

La farmacología de este tipo de canales es de gran importancia debido al éxito alcanzado en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares,

neurológicas, gastrointestinales, etc. Este tratamiento con fármacos bloqueantes de los canales de Ca^{2+} de tipo L, denominados usualmente "antagonistas del calcio", se unen específicamente a los sitios receptores acoplados alostéricamente a la subunidad α del canal, pero esta unión está modulada por los estados (activo, inactivo) del mismo; teniendo mayor afinidad por el estado inactivo, que es el que predomina durante la despolarización, produciendo la estabilización de este estado y por lo tanto un bloqueo dependiente de voltaje de la corriente de Ca^{2+} . (Izaguirre, 1998)

2.2.5. Electrocardiograma (ECG)

El electrocardiograma es el registro extracelular de la actividad eléctrica de todo el corazón que permite el diagnóstico de las arritmias. La actividad eléctrica del corazón se produce por la repetición y suma de potenciales de acción que se producen en distintas regiones del músculo cardiaco, los cuales se propagan por los tejidos y líquidos circundantes; las diferencias de potencial generados son conducidos a través de electrodos colocados en la piel que detectan estos cambios. Dichos registros los podemos observar en la impresión de estos fenómenos en papel térmico (Fox, 2003) (Taylor, 2010).

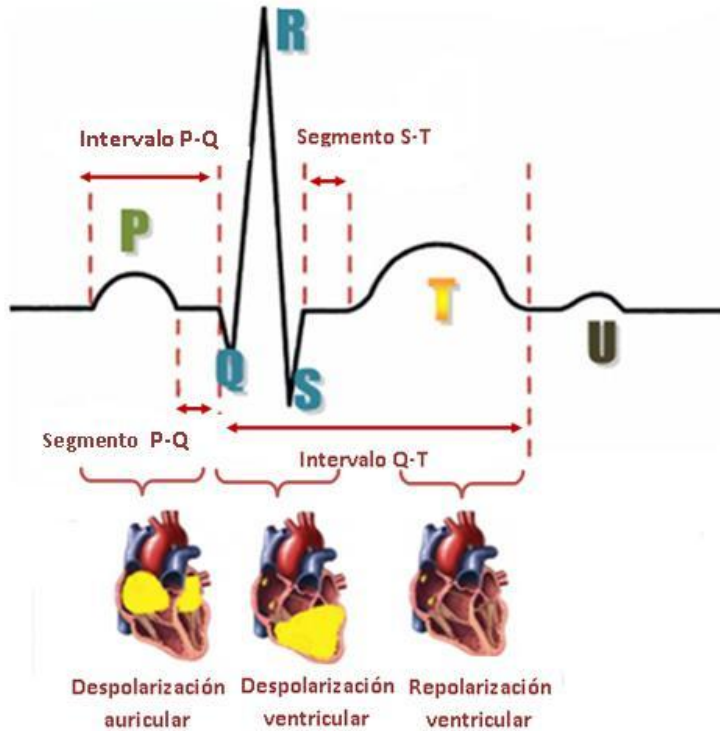


Figura 10. Electrocardiograma. Cada parte del ECG es designada alfabéticamente. Cada latido cardíaco comienza con un impulso del marcapasos principal del corazón (nodo sinoauricular). Primero este impulso activa las cavidades superiores del corazón (aurículas). La onda P representa esta activación de las aurículas. Luego, la corriente eléctrica fluye hacia abajo, en dirección a las cámaras inferiores del corazón (ventrículos). El complejo QRS representa la activación de los ventrículos. La onda T representa la onda de recuperación, mientras que la corriente eléctrica se expande hacia atrás sobre los ventrículos en la dirección opuesta.

Como ya se ha mencionado, el proceso de contracción y relajación del corazón implica procesos de despolarización y repolarización que desencadena ondas que se pueden detectar en el electrocardiograma. La onda P representa la onda de despolarización que precede a la contracción de las aurículas, la primera parte de la onda representa la actividad de la

aurícula derecha y la segunda parte, la actividad de la aurícula izquierda. Después de un pequeño retardo, a continuación se despolarizan los ventrículos y este proceso genera el complejo QRS. Después de un breve tiempo en que no se registra onda alguna, se presenta la onda T, la cual representa la repolarización ventricular. La repolarización auricular no es visible al ECG. Todos estos acontecimientos suceden en un tiempo determinado que se describen en ondas, segmentos e intervalos. Las ondas ya se han mencionado. Los segmentos no contienen ondas y se dice que son isoeléctricos, es decir, su valor se encuentra en 0 mV y se encuentran entre las ondas. Los segmentos son dos: el PQ y el ST. El segmento PQ o PR es el tiempo desde el final de la despolarización auricular (fin de la onda P) hasta que da inicio la despolarización ventricular (inicio de QRS). El segmento ST es el tiempo entre el fin de la despolarización ventricular (fin de QRS) hasta el inicio de la repolarización ventricular (inicio de T). Los intervalos abarcan a las ondas y a los segmentos. El intervalo PQ o PR es el tiempo que transcurre desde el inicio de la despolarización auricular (onda P) hasta el inicio de la despolarización ventricular (QRS) que incluye a la onda P, pero no al QRS. El intervalo QT es el tiempo que transcurre desde el inicio de la despolarización ventricular (inicio de QRS) hasta el final de la repolarización ventricular (fin de T) (Malcom, 2008).

Como hemos visto, el corazón es un órgano tridimensional por lo que la

actividad que realiza debe ser estudiada en las tres dimensiones lográndose caracterizar su función a través de 12 perspectivas denominadas *derivaciones*, que están basadas en el triángulo de Einthoven en honor a su descubridor Willem Einthoven, quien pensó que siendo el corazón una fuente de corriente y el cuerpo un gran conductor, podría construir un triángulo imaginario alrededor del mismo, en cuyos lados se proyectarían las fuerzas eléctricas generadas por el músculo cardíaco determinadas por la localización y orientación de los electrodos en el cuerpo. Al colocar dos electrodos en los brazos y dos en las piernas, se pueden registrar las 6 derivaciones de las extremidades que comprenden las derivaciones estándar y derivaciones aumentadas, que registran la actividad eléctrica en el plano frontal, es decir, examinan las fuerzas eléctricas que se desplazan en forma vertical y horizontal. Adicionalmente se colocan 6 electrodos en el tórax que describen las derivaciones precordiales que registran la actividad en el plano horizontal

Derivaciones estándar

Son tres derivaciones designadas como DI, DII y DIII son derivaciones bipolares en las que cada una de ellas utiliza dos electrodos que registran la diferencia de potencial eléctrico entre dos puntos del triángulo y registran el voltaje que existe entre los electrodos colocados en brazos y piernas. Tiene su importancia fundamentalmente en precisar el ritmo cardíaco, la frecuencia cardíaca, la posición del corazón y sobre todo la detección de

arritmias. En DI se conectan los electrodos en el brazo izquierdo y brazo derecho, en la derivación DII se conectan los electrodos en brazo derecho y pierna izquierda, en la derivación DIII se conectan los electrodos en brazo izquierdo y pierna izquierda.

Derivaciones aumentadas

Estas derivaciones son unipolares, registran las variaciones eléctricas en un punto y se generan a partir de designar un electrodo como el centro positivo con lo cual se registra la diferencia de potencial. Su principal objetivo es obtener una descripción eléctrica del corazón más completa en un plano frontal. Estas derivaciones son llamadas aumentadas debido al tipo de conexión eléctrica pues se debe incrementar el voltaje, lo que da como resultado un trazo de amplitud aumentada obteniéndose un mejor registro. Las derivaciones están denominadas por abreviaturas como: aVR, aVL, aVF en donde (a) es el incremento de voltaje en el trazo, (V) es la derivación de voltaje obtenido y finalmente los electrodos que se colocan en brazo derecho (R), brazo izquierdo (L) y pierna izquierda (F), que diferencian a estas derivaciones con sus iniciales en inglés.

Derivaciones precordiales

Estas son derivaciones unipolares y son registradas en el tórax desde la posición 1 a 6 y es a esta característica que se debe su nombre, por la posición en que se coloca el electrodo. Su principal objetivo es obtener una descripción eléctrica del corazón en el plano horizontal y son empleadas

para determinar con exactitud las lesiones miocárdicas en el lado derecho e izquierdo, así como las lesiones en las paredes del corazón. En V1 el electrodo se coloca en el cuarto espacio intercostal derecho; en V2 en el cuarto espacio intercostal izquierdo; en V3 en el quinto espacio intercostal izquierdo; en V4 en el quinto espacio intercostal en la línea medioclavicular; en V5 en el quinto espacio intercostal a la izquierda de V4 y en V6 en el quinto espacio intercostal en la línea axilar media.

2.3. ARRITMIAS

2.3.1. Definición

Para dar una definición de arritmias primero debemos tomar en cuenta que el ritmo normal o ritmo sinusal se origina en el nodo SA, el cual genera el impulso eléctrico que se propaga y despolariza al resto de las células cardiacas. De acuerdo a esto, una arritmia es cualquier alteración del ritmo normal ya sea en la formación del impulso eléctrico o en su conducción. (Atienza, 2008) (Fajuri, 2011)

2.3.2. Epidemiología de las arritmias

Actualmente, en México no existe información detallada sobre la epidemiología de las arritmias. Sin embargo, se puede obtener información a partir de diferentes estudios realizados en países americanos y europeos, siendo la fibrilación auricular (FA) la arritmia más frecuente. La edad del paciente es uno de los parámetros más significativo para la manifestación de algún tipo de arritmia, descartando a las arritmias congénitas. La

prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles como cierto tipo de arritmias, han demostrado un crecimiento exponencial en los últimos 20 años (Fajuri, 2011). En nuestro país, los adultos comprenden más de la mitad de la población y las enfermedades cardiovasculares que afectan a este grupo constituyen las principales causas de muerte. (Fanghanel-Salmón, y otros, 2006)

De acuerdo al Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) durante 2007, en México, poco más de 87 mil personas fallecieron a causa de alguna enfermedad del corazón. En el mundo, las enfermedades cardiovasculares cobran 17.5 millones de vidas al año (INEGI, 2012).

Según un estudio realizado en Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Reina Sofía en Córdoba España, 4 de cada 10 pacientes con FA tiene más de 70 años; la incidencia de FA es de 3.1 por 1000 personas/año entre los 55 y 65 años, y de 38 por 1000 personas/año mayores de 85 años, duplicándose la incidencia se duplica a partir de los 50 años por cada década de incremento de edad.

La FA es la taquiarrítmia más común, seguida por el flutter auricular, por las arritmias provocadas por cirugías cardíacas y las taquicardias paroxísticas supraventriculares (TPSV). Según un estudio realizado en Norteamérica (Granada J, 2000) la incidencia de flutter auricular fue de 88 por 1000 personas/año, siendo más alta en hombres que en mujeres.

A diferencia de la FA, más de la mitad de los casos de flutter auricular fueron

secundarios a una causa aguda o corregible (cirugía cardíaca) y solo la tercera parte se asoció a enfermedades crónico degenerativas. (M. Anguita Sánchez, 2009)

Respecto a la TPSV la prevalencia en el mismo estudio la presentaron 2 pacientes por cada 1000 habitantes, con una incidencia de 35 casos por 100 000 personas/año, en donde las mujeres presentaron un riesgo doble en comparación con los hombres, incrementándose dicho riesgo con la edad.

Por último, la epidemiología de las arritmias está estrechamente ligada a la de la cardiopatía isquémica aguda y a la de muerte súbita, ya que la mayoría de arritmias clínicamente relevantes se presentan en pacientes con cardiopatía isquémica (M. Anguita Sánchez, 2009).

2.3.3. Mecanismos de producción de las arritmias

De forma general, las alteraciones del ritmo cardiaco (arritmias) se originan por dos procesos distintos:

- Alteraciones en la formación del impulso eléctrico
- Anomalías en la conducción del impulso eléctrico
- Automatismo normal y anormal

La propiedad que tienen las fibras de iniciar espontáneamente un impulso se denomina “automatismo” sin la necesidad de un estímulo previo. Poseen esta propiedad las células del nodo SA y nodo AV; así como las del sistema específico de conducción, a diferencia de las fibras miocárdicas

auriculares y ventriculares como ya se mencionó en otras secciones. Esta diferencia es una consecuencia de la fase 4 o fase diastólica del potencial de acción en la que se produce una lenta despolarización constituye la base de la actividad del marcapaso (UNIZAR, 2012) (Almendral Garrote J, 2005)

Debe tenerse en cuenta que para que un estímulo sea transmitido es necesario que la célula no se encuentre en periodo refractario absoluto (fases 1-2 y parte de fase 3 del potencial de acción) y que cuando una célula marcapaso es estimulada a una frecuencia superior a la propia su actividad automática se deprime, lo que explica porque todos los marcapasos potenciales están normalmente dominados por el más rápido (nodo SA) y que, por lo tanto, no se manifiesten.

Alteraciones en la formación del impulso

La anomalía en la formación del impulso se debe a un aumento o disminución del mecanismo normal del nodo SA o a una descarga de un marcapaso ectópico (marcapasos latentes o secundarios), pudiendo ocurrir en fibras localizadas en diferentes partes de las aurículas, el seno coronario, las válvulas AV y el sistema His-Purkinje. Como ejemplo de este tipo de anomalías podemos mencionar taquicardia o bradicardia sinusal. (Almendral Garrote J, 2005)

➤ Actividad Inducida

La actividad inducida es producida por postpotenciales, estos son

oscilaciones del potencial de acción que al alcanzar el potencial umbral, disparan o inducen un nuevo potencial de acción. Esto puede ocurrir antes o después de una completa despolarización de la fibra cardiaca. (Almendral Garrote J, 2005)

Cuando los postpotenciales se producen durante las fases 2 y 3 del potencial de acción se les denomina postpotenciales tempranos (early afterdepolarizations, EAD); cuando ocurren después de que se llevo a cabo una completa repolarización se les llama postpotenciales tardíos (delayed afterdepolarizations, DAD).

Los EAD pueden ser originados por intervenciones quirúrgicas; pueden provocar repolarizaciones y taquiarritmias ventriculares en algunos pacientes con síndrome de QT largo. La base iónica de este trastorno aun no se encuentra bien elucidada, sin embargo se presume que se lleva a cabo a través de canales iónicos de calcio tipo L, ya que se originan a un voltaje cercanos a la meseta (fase 2) del potencial de acción. (Feo, 2004)

Los DAD se llevan a cabo en fibras de Purkinje expuestas a preparados libres de sodio. También se ha visto que los DAD se originan por una corriente transitoria de entrada, ya que se activa un canal de cationes no selectivo provocando una liberación de calcio en el retículo sarcoplásmico (esto se ha visto en pacientes expuesto a digitálicos). Los DAD pueden ser causantes de taquicardias ventriculares asociadas al síndrome de QT largo (Feo, 2004).

Alteraciones en la conducción del impulso

El retraso o bloqueo en la conducción del impulso puede desencadenar bradiarritmias, (bradys, lento; a, sin; rhytmos, ritmo; lentitud del latido cardiaco, acompañado de frecuencia irregular del pulso) cuando el impulso es bloqueado; o taquiarritmias cuando se produce una excitación de reentrada (Eugene Braunwald, 1997).

Una reentrada se da cuando un grupo de fibras no fueron activadas durante la fase inicial de la despolarización recuperando así su excitabilidad antes de que termine el impulso, dichas fibras crearán una cadena reexcitando a otras zonas que ya habían sido despolarizadas y que ya se habían recuperado de la despolarización inicial. (Fajuri, 2009)

Como ya se ha mencionando antes, la actividad eléctrica durante cada ciclo cardiaco normal comienza en el nodo sinusal y continúa activando a cada una de las fibras hasta llegar al periodo refractario absoluto. Durante este tiempo, el impulso cardiaco se interrumpe y se reanuda con el siguiente impulso sinusal. La reentrada es una de las causas principales de varias taquiarritmias como el flutter auricular, fibrilación auricular y ventricular, reentrada sinusal, reentrada auricular, reentrada en el nodo AV, síndrome de preexcitación, etc. (Feo, 2004)

2.3.4. Clasificación.

Tabla 1. Clasificación de las Arritmias (Rowlands DJ, 1992).

MECANISMO	ARRITMIA
<i>Alteraciones en la formación del impulso en el nodo sinoauricular</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Arritmia sinusal • Taquicardia sinusal • Bradicardia sinusal • Fallo sinusal
<i>Formación del impulso Ectópico</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Escape auricular • Extrasístole auricular • Taquicardia auricular • Flutter auricular • Fibrilación auricular • Escape nodal • Extrasístole nodal • Ritmo nodal de escape • Ritmo nodal acelerado • Taquicardia nodal por reentrada • Taquicardia Auriculoventricular por reentrada • Escape ventricular • Extrasístole ventricular • Ritmo idioventricular acelerado • Taquicardia ventricular monomórfica • Taquicardia ventricular polimórfica • Torsade de Pointes • Fibrilación ventricular
<i>Alteración de la conducción</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Bloqueo sinoauricular • Bloqueo intraauricular • Bloqueo auriculoventricular <ul style="list-style-type: none"> ○ Primer grado ○ Segundo grado: Mobitz tipo I (Wenckebach) ○ Segundo grado : Mobitz tipo II ○ Disociación AV • Bloqueo de rama y combinaciones • Síndrome de preexcitación ventricular

2.4. FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS

2.4.1. Generalidades

Los fármacos antiarrítmicos forman un grupo de sustancias capaces de suprimir o prevenir alteraciones del ritmo cardiaco a concentraciones que no

generan efectos adversos sobre el latido sinusal propagado normalmente (Valenzuela, 2004). Actualmente, en el mercado se puede encontrar un gran número de estos medicamentos, sin embargo, sólo algunos de ellos son selectivos a cierto tipo de arritmias. (Mycek, y otros, 2006). En 1970, Vaughan Williams propuso una clasificación basada en los modos de acción de los fármacos antiarrítmicos agrupándolas en tres clases (Vaughan, 1970). En la Clase I los fármacos que reducían la corriente de entrada de sodio, en concentraciones que no afectaban el potencial de reposo de la membrana. En la clase II los fármacos que bloqueaban la actividad simpática sobre el corazón, sin afectar el potencial de acción de la mayoría de las células cardíacas, reducían la despolarización espontánea de las células marcapasos bajo estimulación adrenérgica y tenían efectos cronotrópicos negativos. Los fármacos de la clase III eran las que prolongan la duración del potencial de acción (bloqueaban los canales de potasio) y eran capaces de ejercer actividad sobre diferentes canales iónicos a nivel celular con acciones complejas sobre el potencial de acción.

En 1974, Singh y Hauswirth modificaron la clasificación, con dos cambios importantes (Singh BN, 1974). Primero, colocaron la lidocaína y la DFH (difenilhidantoina) bloqueadores del canal de sodio, en una subclase diferente, porque en dosis bajas y con potasio extracelular bajo tenían poco efecto sobre el potencial de acción y la velocidad de conducción. Segundo, crearon la clase 4, donde acomodaron los bloqueadores de los canales de

calcio que afectaban regiones en las que la despolarización dependía primariamente de la I_{CaL} . Harrison en 1985, subclasificó los fármacos de la clase I, de acuerdo a su efecto sobre la duración del potencial de acción, luego se comprobó que la subclasificación las dividía de acuerdo a la velocidad de recuperación del bloqueo del canal de sodio. Los fármacos de la clase IA eran intermedios entre los efectos de la clase IB (con constantes de tiempo de recuperación rápida, menos de 1 s) y las de la clase IC (con tiempos de recuperación más lentos, más de 15 s).

Resumiendo lo anterior se puede inferir que los fármacos antiarrítmicos pueden dividirse en 4 clases de acuerdo a su potencial de acción (Rodríguez, y otros, 2000):

Clase I: bloqueadores los canales de Na^+ dependientes del voltaje

Clase II: bloqueadores β -adrenérgicos.

Clase III: bloqueadores de canales de K^+

Clase IV: bloqueadores canales de Ca^{2+} dependientes del voltaje de tipo L

2.4.2. Mecanismos generales de acción

Clase I. Bloqueadores de canal de Na^+

El mecanismo de acción común a los fármacos antiarrítmicos del grupo I es el bloqueo de los canales de Na^+ dependientes del voltaje. Este efecto produce, como consecuencia, una disminución de la excitabilidad y de la velocidad de conducción intracardiaca. Esta disminución de la velocidad de

conducción es capaz de inhibir las arritmias por reentrada. Este mecanismo se explica mediante la hipótesis del receptor modulado, propuesta en 1977 por Hondeghem y Katzung, la cual propone que los canales de Na^+ pueden estar en tres estados diferentes: reposo (estado cerrado), que predomina a potenciales de membrana electronegativos, abierto (único estado conductor del canal), que aparece durante la fase 0 del potencial de acción, e inactivo (estado cerrado no disponible para ser activado), que predomina a potenciales de membrana electropositivos (durante las fases 2 y 3 del potencial de acción, así como al comienzo de la fase 4). También propone que los fármacos antiarrítmicos pueden unirse a cualquiera de los tres estados del canal, aunque por lo general, a concentraciones terapéuticas presentan muy baja afinidad por el estado de reposo y muy alta afinidad por los estados abierto y/o inactivo del canal; además dice que los canales de Na^+ unidos a fármaco no son conductores (no dejan pasar iones Na^+), sea cual sea el estado en que se encuentren, y por último propone que las transiciones entre los canales de Na^+ están regidas por una función que depende del valor del potencial de membrana y del tiempo. Con un antiarrítmico de este grupo, esta función de transición está desplazada hacia niveles más negativos de potencial de membrana (el paso desde el estado inactivo hasta el de reposo requiere mayor hiperpolarización que en ausencia de fármaco) y está retrasada en el tiempo (de 25 ms a 0,3-15 s). (Tamargo J, 1993) (Tamargo J., 2012)

Los antiarrítmicos del grupo I han sido subdivididos en tres subgrupos:

- Subgrupo IA: fármacos con cinética de recuperación intermedia (entre 1 y 6 s). Ej. Quinidina, Procainamida, Disopiramida.
- Subgrupo IB: fármacos con cinética de recuperación rápida (entre 0,3 y 1 s) que además acortan la duración del potencial de acción (aumenta el intervalo diastólico durante el cual el antiarrítmico se disocia del canal). Ello explica por qué a concentraciones terapéuticas apenas deprimen la I_{Na} y la velocidad de conducción intraventricular en pacientes en ritmo sinusal (no modifican la anchura del complejo QRS del ECG). Ej. Lidocaína, Mexiletina, Tocainida, Apridina.
- Subgrupo IC: fármacos con una cinética lenta de recuperación del bloqueo (mayor de 8 s). Dado que el tiempo que tardan en disociarse del canal es mucho mayor que el intervalo diastólico en ritmo sinusal (1 s), estos fármacos producen una marcada depresión de la I_{Na} y de la velocidad de conducción intracardiaca, prolongando el QRS incluso en pacientes en ritmo sinusal. Esta marcada depresión de la velocidad de conducción facilita la aparición de arritmias por reentrada y sería responsable de la alta incidencia de fenómenos arritmogénicos que estos fármacos producen. Ej. Propafenona, Flecainida. (Tamargo J., 2012)

Clase II. Bloqueadores β -adrenérgicos.

Existen β -bloqueadores cardiosselectivos y no selectivos, los primeros actúan sobre receptores β_1 y los segundos sobre receptores β_1 y β_2 . El mecanismo de acción de esta clase de antiarrítmicos se lleva a cabo al reducir la despolarización de la fase 4 del potencial de acción, con lo cual se provoca un menor automatismo, retraso de la conducción AV y disminución de la frecuencia y contractilidad del corazón. (Mycek, y otros, 2006)

En el miocardio sano, los β -bloqueadores apenas deprimen la excitabilidad, la velocidad de conducción (no modifican el QRS) o los períodos refractarios auriculares y ventriculares. Al comienzo del tratamiento acortan la duración del potencial de acción auricular o ventricular, pero en tratamientos crónicos la prolongan. A la altura del nodo AV deprimen la velocidad de conducción y prolongan el período refractario (PR) del ECG, pero no modifican estos parámetros en las vías accesorias. Las vías accesorias o conexiones entre la aurícula y el ventrículo son el resultado del desarrollo embrionario anormal. Esto permite la conducción eléctrica entre la aurícula y ventrículo no solo a través del Nodo AV sino usando otras vías de conducción. Este paso a través de las vías accesorias eluden el retraso usual entre la aurícula y el ventrículo que ocurre el Nodo AV predisponiendo al paciente a las taquiarrítmias supraventriculares. (Tamargo J., 2012) (Gonzaga, 2012)

En el miocardio isquémico, los β -bloqueadores:

- Prolongan de forma homogénea la duración del potencial de acción

y de los períodos refractarios ventriculares. En el área infartada, la destrucción de las terminales nerviosas simpáticas ventriculares produce una distribución no homogénea de la inervación cardíaca. En estas condiciones un aumento del tono simpático acorta la duración del potencial de acción en las zonas inervadas, pero no en las zonas desnervadas. Como consecuencia en el límite entre ambas zonas existe una marcada disparidad en la duración de la repolarización lo que facilita la reentrada del impulso cardíaco.

- Deprimen la excitabilidad y la velocidad de conducción y aumentan el umbral de fibrilación ventricular.
- Exhiben propiedades antianginosas ya que mejoran la perfusión subendocárdica, disminuyen las demandas miocárdicas de O_2 (reducen la frecuencia, la contractilidad y la poscarga) e inhiben la agregación plaquetaria, la lipólisis y la captación miocárdica de ácidos grasos.
- Suprimen los potenciales de acción dependientes de Ca^{2+} provocados por las catecolaminas que se conducen muy lentamente y que facilitan la reentrada del impulso cardíaco.
- Los β -bloqueadores no selectivos suprimen la hipopotasemia causada por las catecolaminas en la fase temprana del infarto de miocardio y que sensibiliza a la aparición de arritmias cardíacas. Todas estas acciones explican por qué cuando los β -bloqueadores

se administran en las primeras 24 horas postinfarto de miocardio reducen la muerte súbita, el área de infarto, la incidencia de fibrilación ventricular y el reinfarto, lo que los convierte en los fármacos de elección en la prevención secundaria de la cardiopatía isquémica.

Algunos fármacos antiarrítmicos clase II son Esmolol, Metoprolol, Pindolol y Propranolol. (Tamargo J., 2012)

Clase III. Bloqueadores de canales de K^+

Los fármacos antiarrítmicos Clase III bloquean canales de potasio reduciendo la salida de este ion durante la fase de repolarización de las células cardiacas. Dichos agentes retrasan la duración del potencial de acción sin modificar la fase 0 de la despolarización o el potencial de reposo de membrana. Además estos fármacos alargan el periodo refractario efectivo. El periodo refractario efectivo es aquel en el que al estimular el miocardio se comienza a registrar una señal eléctrica sin disparar un potencial de acción, es decir, una célula se despolariza normalmente, pero no puede conducir dicho estímulo a las células vecinas a ella. (Taylor, 2010) (Mycek, y otros, 2006)

Algunos fármacos antiarrítmicos clase III son Sotalol, Amiodarona, Bretilio.

Clase IV. Bloqueadores de canales de Ca^{2+}

Estos fármacos bloquean la Ica que a nivel cardíaco es responsable del acoplamiento excitación-contracción, de la despolarización de los nodos SA

y AV, del mantenimiento de la fase 2 del potencial de acción y del tono vascular coronario. Todos estos fármacos presentan propiedades antihipertensoras y antianginosas

Al igual que los canales de Na^+ , los canales de Ca^{2+} de tipo L presentan 3 estados conformacionales: reposo, activo e inactivo. A niveles comprendidos entre -50 y -30 mV los canales de Ca^{2+} se encuentran en estado de reposo. Se activan de forma transitoria cuando el potencial de membrana se despolariza por encima de -20 mV y a continuación se inactivan, aunque los procesos de activación e inactivación son mucho más lentos que los de la I_{Na} . El verapamilo y el diltiazem presentan una alta afinidad por los estados activo y/o inactivo, y prolongan la reactivación del canal de Ca^{2+} , por lo que el bloqueo de la corriente de calcio aumenta con la frecuencia de estimulación (en estas condiciones, los canales están más tiempo en estado inactivo y disminuye el intervalo diastólico). Esto explica por qué a concentraciones terapéuticas estos fármacos apenas modifican la conducción AV en ritmo sinusal, pero la deprimen si existen taquicardias supraventriculares o por reentrada intranodal. El verapamilo y el diltiazem no modifican la excitabilidad, la velocidad de conducción (complejo QRS del ECG) o el período refractario auricular o ventricular, ya que en estos tejidos se generan potenciales de acción Na^+ -dependientes. A la altura de los nodos SA y AV, que generan potenciales Ca^{2+} -dependientes, reduciendo la despolarización de la fase 4 del potencial de acción (*Figura 8*), disminuyen la

frecuencia sinusal y suprimen el automatismo de la unión AV. A las dosis habituales el verapamilo y el diltiazem no alteran o disminuyen muy poco, la frecuencia sinusal en pacientes hipertensos o anginosos, ya que su acción depresora directa sobre el nodo SA es contrarrestada por su potente acción vasodilatadora que aumenta por vía refleja el tono simpático cardíaco. Sin embargo, a dosis altas o en pacientes con disfunción sinusal previa, ambos fármacos pueden producir bradicardia e incluso asistolia. También suprimen el automatismo anormal y la actividad desencadenada por pospotenciales tempranos o tardíos. En el nodo AV, prolongan el período refractario y disminuyen la conducción a través de él (prolongan el intervalo PR), siendo el verapamilo más potente a este respecto que el diltiazem.

También deprimen la contractilidad y el volumen minuto cardíaco pero ambos efectos se contrarrestan en parte por su acción vasodilatadora arteriovenosa que disminuye la poscarga. Sin embargo en pacientes con depresión previa de la función ventricular o en aquellos en que los reflejos simpáticos están parcialmente inhibidos o cuando se administran a altas dosis, verapamilo y diltiazem pueden precipitar un cuadro de insuficiencia cardíaca. Ambos fármacos aumentan el flujo coronario y disminuyen las demandas miocárdicas de O_2 (reducen la poscarga, la frecuencia y la contractilidad cardíacas) lo que podría explicar su efectividad en el tratamiento de arritmias asociadas a la cardiopatía isquémica.

Otros Fármacos Antiarrítmicos

Existen algunos fármacos antiarrítmicos que no pueden ubicarse en ninguna de las clases establecidas debido a que su mecanismo de acción es diferente, como es el caso de la adenosina y la digoxina.

La adenosina es un nucleósido púrico endógeno que estimula a sus receptores A1 cardíacos y activa una corriente de salida de K^+ e inhibe la entrada de Ca^{2+} estimulada por el AMPc. El aumento de la salida de K^+ hiperpolariza el potencial de membrana de los nodos SA y AV e inhibe su actividad automática, mientras que en las células auriculares acorta la duración del potencial de acción; la inhibición de la entrada de Ca^{2+} también deprime la frecuencia de las células del nodo SA y la velocidad de conducción a través del nodo AV, a la vez que prolonga el período refractario de éste.

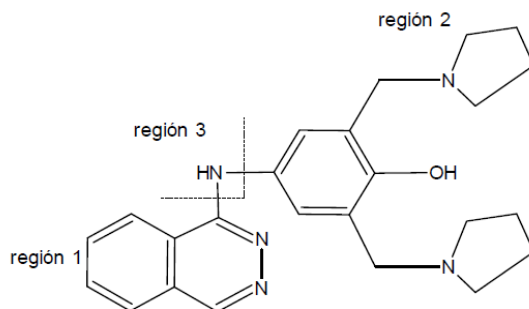
La digoxina acorta el periodo refractario de las células miocárdicas de la aurícula y del ventrículo a la vez que alarga el periodo refractario efectivo y disminuye la velocidad de conducción de las fibras de Purkinje.

Sales de K^+ y de Mg^{2+} . La disminución de los niveles de potasio sérico aumenta el automatismo de los marcapasos ectópicos y provoca la aparición de pospotenciales tempranos, por lo que predispone a la aparición de arritmias ventriculares (*Torsade de pointes*); además, la hipopotasemia facilita la aparición de signos de intoxicación digitálica. En estas circunstancias el riesgo arritmogénico puede controlarse administrando

sales de K^+ o diuréticos ahorradores de K^+ si la hipopotasemia aparece en pacientes que reciben dosis altas de diuréticos tiazídicos o de asa. La hiperpotasemia por el contrario, cursa con depresión de los marcapasos cardíacos y de la conducción a través del nodo AV. Por lo tanto, es necesario monitorizar los niveles plasmáticos de K^+ a fin de evitar la aparición de arritmias asociadas a hipo o hiperpotasemia. La administración IV de sales de Mg^{2+} ha sido utilizada en el tratamiento de *Torsades de pointes*, en la fase aguda del infarto de miocardio y en la intoxicación digitálica (en este caso, la hipomagnesemia se asocia a una diuresis excesiva producida por diuréticos tiazídicos o de asa).

2.4.3. Nuevos Fármacos Antiarrítmicos

En la actualidad diversos estudios han llevado a grandes avances en la medicina terapéutica como es el caso de los fármacos antiarrítmicos. En 1979 Liangquan et al. notaron al realizar pruebas clínicas que un compuesto, la changrolina (*Figura 11*), era efectiva como un agente antiarrítmico. A partir de este descubrimiento se intensificó la búsqueda y caracterización de las propiedades de este compuesto.



Changrolina

Figura 11. Molécula de Changrolina, dividida en tres regiones (1) región heteroatómica que contiene la quinazolina, (2) región aromática con el bis(pirrolidimilmetil) fenol, (3) región enlazante entre las dos regiones.

En 1983 Stout et al. mostraron gran interés en la changrolina ya que su estructura era diferente a los productos existentes en el mercado. Así, retomaron la investigación de Liangquan et al., modificando cada región en orden para encontrar la que determina la actividad antiarrítmica. En 1985 Stout et al. continuaron con las modificaciones de la changrolina encontrando que la región 1, la quinazolina, podía ser reemplazada por una variedad de anillos heteroatómicos sin que disminuyera la actividad, mientras que en la región 2 se sustituye la pirrolidina por piperidinas. Se observó que la región 3, que une a las dos primeras, tiene una mayor actividad y una menor toxicidad cuando contiene un grupo carbonilo, incluyendo grupos cetona, amida y urea.

En 2006 el Laboratorio de Química Medicinal (LQM) de la FES Cuautitlán de la UNAM, dirigido por Doctor Enrique Ángeles, retoma la investigación de

Stout y sintetiza una nueva serie de compuestos, entre ellos los tiomorfolínicos y morfolínicos, se pretende que estas moléculas presenten actividad biológica como antihipertensivos y menor toxicidad, ya que se realizó el modelaje molecular de los derivados piperidínicos encontrándose que estos compuestos tienen propiedades fisicoquímicas similares a la changrolina y sus derivados.

La síntesis de estos compuestos tiomorfolínicos y morfolínicos, se fundamenta en la reacción química entre un fenol sustituido, un formaldehído más una molécula de morfina, tiomorfina o piperidina, con lo cual se obtiene una serie de compuestos con la clave LQM. (García, 2009)

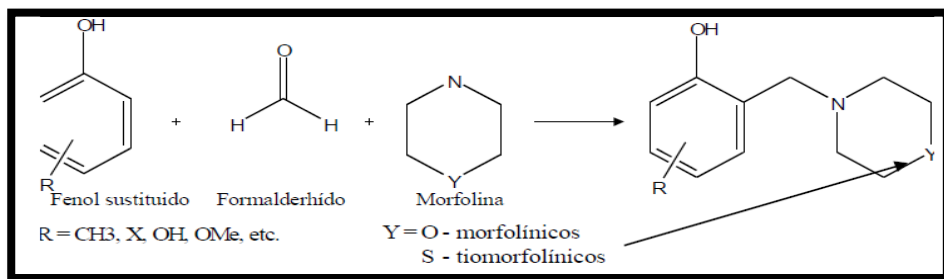


Figura 12. Reacción química de síntesis de la serie de compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos. (García, 2009)

2. HIPÓTESIS

Considerando los resultados del modelaje molecular de estos derivados en los que se encontró propiedades fisicoquímicas similares a la Changrolina y basándose en los antecedentes de los efectos hipotensores, vasodilatadores y antiarrítmicos descritos en modelos de animal completo y de arritmias experimentales en rata para los fármacos Morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y para el Tiomorfolínico LQM 320, proponemos que su mecanismo de acción es a través de canales iónicos.

3. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general.

- Evaluar el efecto de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el tiomorfolínico LQM 320, sobre las corrientes iónicas de cardiomiocitos aislados de rata, por medio de la técnica de "Patch-Clamp" en su modalidad de célula completa.

4.2. Objetivos particulares.

- Obtener células ventriculares de rata viables para su registro electrofisiológico.
- Aprender la técnica de "Patch-Clamp" en su modalidad de célula completa para el registro de canales iónicos en células ventriculares de rata.
- Caracterizar el efecto de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y tiomorfolínico LQM 320, sobre las corrientes iónicas de miocitos cardiacos de rata mediante la obtención de registros electrofisiológicos de las principales corrientes iónicas de miocitos cardiacos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Soluciones

La composición de las soluciones utilizadas están descritas en la siguiente tabla

Tabla 2 Composición de las soluciones utilizadas

Solución Tyrode 10X	
Reactivo	Concentración (mM)
NaCl	1430
KCl	54
HEPES	50
MgCl ₂	10
Solución Tyrode 1X	
Glucosa	0.2
Creatina	0.00457
Ácido Pirúvico	0.00136
Taurina	0.0415
Solución KB	
KCl	100
Piruvato	5
Succinato	5
Taurina	10
EGTA	0.5
HEPES	10
K ₂ HPO ₄	20
Creatina	5
MgCl ₂	5
Glucosa	20
pH: 7.4 con NaOH	

Todas las soluciones fueron oxigenadas previamente por 20 min, y durante todo el proceso de digestión. Las soluciones de conservación se prepararon al día de experimentación y solo se preparaba la cantidad suficiente para

mantener a las células en un tiempo mínimo de 3 horas en condiciones resistentes a Ca^{2+} . La composición de la solución KB posee compuestos energéticos como la Glucosa, con el fin de mantener a las células en condiciones óptimas y evitar la desaparición de las corrientes con el tiempo. El registro de las corrientes de Ca^{2+} se realizó mediante una solución interna con la siguiente composición:

Tabla 3 . Composición de Solución Interna utilizada en microelectrodos

Solución interna para el registro	
Reactivo	Concentración (mM)
Metano Sulfonato de Cesio	135
CsCl	10
MgSO ₄	2
HEPES	5
EGTA	1
pH: 7.3 con NaOH	

La solución interna permitió el registro de las corrientes de Calcio debido a que los reactivos en su composición inhiben las entradas de corrientes como Potasio que es el principal ion presente en el medio extracelular que fue sustituido por Cesio, eliminando las corrientes de salida de Potasio, esta solución fue colocada en los microelectrodos y evitando formación de burbujas de aire, para una correcta adhesión a la membrana. Los compuestos LQM fueron preparados en una concentración inicial de 1mg/mL con HCl hasta su disolución total y llevando al aforo con agua destilada, posteriormente se realizaron las diluciones necesarias para las dosis requeridas en cada experimento. Para la preparación de la enzima se

pesaron 16 mg de Colagenasa (tipo 1) GIBCO y se diluyeron en 40 mL de Tyrode 1X oxigenado, obteniendo una concentración de 0.04 mg/mL.

5.2. Aislamiento de Miocitos Cardiacos

El aislamiento de miocitos cardiacos se realizó a través de un método enzimático de digestión por perfusión utilizando el aparato Langendorff. Se utilizaron ratas jóvenes macho de la cepa Wistar, con un peso de 250-300 gramos; los animales fueron administrados por vía intraperitoneal con solución de heparina 5000 U.I. con la finalidad de evitar la formación de trombos, transcurridos 10 minutos, los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con una mezcla de Xylacina en una dosis de 6.6 mg/kg y Ketamina en una dosis de 5mg/kg. El corazón se removió cuidadosamente por medio de una toracotomía, colocándolo de inmediato en la solución Tyrode libre de Ca^{2+} a 37°C para eliminar la sangre. Posteriormente el corazón se monta en el aparato de Langendorff canulando la aorta, se fija y se inicia la perfusión con solución Tyrode sin Ca^{2+} por reperfusión retrógrada durante 2 minutos aproximadamente hasta que deja de latir. Posteriormente se inicia la perfusión con la solución de colagenasa 0.4 mg/mL durante 5-7 minutos; transcurrido el tiempo de digestión el corazón se lavó con solución Tyrode para eliminar los restos de la solución de enzima. El corazón se transfirió a un colador de malla de poro pequeño (SIGMA no. de catálogo CD1-1KT) con solución Tyrode. Los ventrículos digeridos se separan en pequeños trozos y se agitan mecánicamente de manera suave para liberar

las células, posteriormente los miocitos cardiacos se colocaron en tubos cónicos para ser centrifugados por 2 min a 200 rpm, sustituyendo el sobrenadante con solución KB. Los miocitos cardiacos aislados se almacenaron en tubos cónicos manteniéndose a una temperatura constante de 37°C en un Baño María (Precision All Stainless Steel Water Bath, modelo 183) hasta el momento de su uso.

5.3. Electrofisiología

Para realizar el registro de las corrientes de Calcio (I_{Ca}) se empleó la técnica de “patch-clamp” en su modalidad de célula completa (Whole-cell) (Hamil O. P., 1981) utilizando un amplificador (Axopatch 1D) la cual permite ingresar directamente al interior de la célula luego del rompimiento del sello de alta resistencia. Esta ruptura de la membrana permite la comunicación directa con la solución contenida en la pipeta y el interior de la célula y se logra mediante la aplicación de presión negativa. (Axón Instruments). Los experimentos electrofisiológicos se realizaron a una temperatura de 37°C aproximadamente, se colocó una suspensión con el mayor numero de miocitos estriados “rod shaped” en la cámara del Microscopio Invertido (Carl Zeiss, Axiovert 100, aumento 320x)y se emplearon pipetas de vidrio de borosilicato (Glass Thinw) con un diámetro de 2-3 μ m que se realizaron en un estirador de pipetas (Puller) (Sutter Instrument Co., Modelo P-87); dichos pipetas se llenaron con la solución interna para obtener una resistencia entre 4-6 M Ω . Las corrientes de Calcio se registraron por medio de el

software pClamp (Axon Instruments), con el cual se aplicaron pulsos de 20ms de duración a un potencial de mantenimiento de -80 mV. Las corrientes se digitalizaron mediante un convertidor analógico-digital (c A/D) y los registros se almacenaron en una computadora PC para posteriormente realizar el análisis correspondiente

6. RESULTADOS

Partiendo del objetivo general de este trabajo de evaluar el efecto de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y del tiomorfolínico LQM 320, la caracterización de dicho efecto sobre los canales iónicos se realizó por medio de la técnica de “patch-clamp” en miocitos cardíacos de rata donde obtuvimos células viables, los cuales se evaluaron por sus propiedades histológicas presentando morfología normal (rod-shaped), forma elongada, estriaciones claras que son fácilmente apreciables en el microscopio. Adicionalmente, los miocitos presentaron tolerancia a calcio, pues al ser expuestas a concentraciones fisiológicas de Ca^{2+} (1-2.5 mM), estas no mostraron cambio alguno y continuaron en su forma ideal “rod-shaped” con estriaciones claras (Bouron, y otros, 1990) (Lundgren, y otros, 1984).

Otro de los objetivos fue aprender la técnica de “Patch-clamp” en la modalidad de célula completa (“whole-cell”) para el registro de canales iónicos en células ventriculares de rata, obteniendo registros electrofisiológicos que permitieron observar el efecto de los compuestos en estudio sobre los canales de sodio, potasio y calcio.

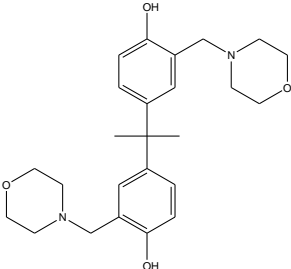
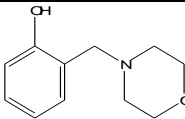
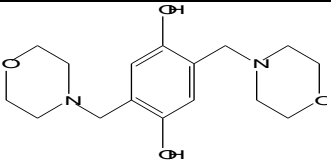
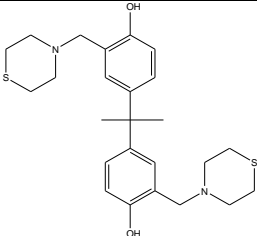
6.1. Antecedentes de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el tiomorfolínico LQM 320

La similitud de la estructura química de los compuestos LQMs estudiados provenientes de la Changrolina la cual presenta efecto antiarrítmico (Islas

Martínez, 2007) (Liangquan, y otros, 1979); despertó el interés por probar el efecto sobre los canales iónicos cardiacos y determinar si presentan potencial antiarrítmico.

Se determinó el efecto sobre las corrientes dependientes de voltaje de potasio, sodio y calcio para describir exactamente el o los canales en los que actúan.

Tabla 4 Clasificación y estructura química de los compuestos empleados en el presente trabajo.

NATURALEZA	COMPUESTO	ESTRUCTURA
Morfolínico	LQM 302	
Morfolínico	LQM 308	
Morfolínico	LQM 310	
Tiomorfolínico	LQM 320	

6.2. Efecto sobre las corrientes de K^+

El ritmo cardíaco normal depende de la coordinación precisa de una onda eléctrica que se propaga por el tejido y cuya terminación, al final de cada ciclo cardíaco, requiere la apertura de canales de potasio por los que fluye el ión desde el interior celular al medio externo. Las arritmias están relacionadas con fallos cardíacos, por ejemplo, infartos o hipertrofias, también son características del denominado “síndrome QT-largo”, caracterizado precisamente por una propensión a la producción de estas arritmias que pueden desembocar en síncope, fibrilación ventricular y muerte repentina. Una de las causas del “síndrome QT-largo” es el mal funcionamiento de los canales de potasio cardíacos. Por esta razón, se decidió probar los compuestos LQM en canales de potasio y ver si estos producían algún efecto. En los experimentos realizados no se observó ningún efecto de los compuestos LQM 302, LQM 308, LQM 310 Y LQM 320 sobre las corrientes de potasio.

6.3. Efecto sobre las corrientes de Na^+

La capacidad de estos canales de encontrarse en un estado cerrado-inactivado produce el periodo refractario y es crítico para la propagación del potencial de acción en cardiomiocitos, además estos canales pueden ser moduladores en distintas patologías tales como las arritmias y miocardiopatías. En nuestro estudio se realizaron experimentos enfocados a probar el efecto de los compuestos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y LQM

320 sobre I_{Na} , los cuales no arrojaron algún dato que indique que estos compuestos tengan algún efecto sobre esta corriente.

6.4. Efecto de los compuestos sobre corrientes de calcio en miocitos ventriculares aislados de corazones de ratas

Se registraron corrientes de calcio en condiciones de fijación de voltaje en miocitos ventriculares aislados de rata siguiendo protocolos de control de voltaje con la técnica de patch-clamp en la configuración de célula completa (*Figura 13*). Se aplicaron pulsos despolarizantes a partir de un potencial de mantenimiento de -90 mV con pasos de 20 mV, hasta un máximo de 120 mV. Las corrientes de calcio (I_{Ca}) se activaron a un potencial de -40 mV que corresponde al umbral de activación de I_{CaL} .

6.4.1. Cinética de I_{Ca} Control

Estas corrientes presentaron una fase de activación que refleja el proceso de flujo de calcio por los canales que va en aumento hasta alcanzar su máxima amplitud cuando se han abierto la totalidad de canales a ese potencial ya que la fase de activación depende del potencial de membrana de la célula. Posteriormente la corriente I_{CaL} presenta un decaimiento espontáneo denominado fase de inactivación. La inactivación de los canales de calcio se lleva a cabo por dos mecanismos: uno dependiente de calcio y otro dependiente de voltaje. Para entender el mecanismo de inactivación por Ca^{2+} es necesario mencionar que el canal de Ca^{2+} se mantiene abierto por fosforilación. El canal es sustrato de la enzima fosforilasa dependiente

de AMPc que se encarga de fijar un grupo fosfato. La probabilidad de apertura depende del grado de fosforilación, además de su dependencia del potencial de membrana (E_m). La inactivación dependiente de calcio se ha descrito en diversos trabajos en los cuales se describen diferentes mecanismos; uno de ellos sugiere que esta inactivación se debe a la desfosforilación de los canales ocasionada por la propia entrada de calcio activando diversas fosfatasas; otro mecanismo propone un papel para las proteínas que unen Ca^{2+} y que tienen la capacidad de regular al canal, como la calmodulina. La calmodulina se une al canal en la subunidad $\alpha 1$. El Ca^{2+} que entra al activarse el canal se une a la calmodulina produciendo este tipo de inactivación. (Latorre, y otros, 1996) (Hernández Valdivia, 2005)

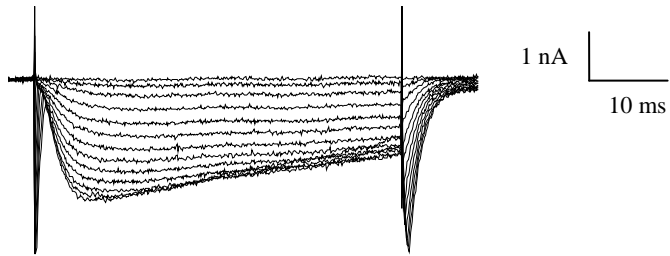
La inactivación dependiente de voltaje se da por un cambio en el potencial de membrana que ocurre cuando se pasa de un estado de reposo a un estado de apertura transitorio. (Latorre, y otros, 1996)

La activación de la I_{Ca} se realizó mediante el ajuste de la corriente a una ecuación monoexponencial a potenciales entre 0 y 40 mV. Los resultados de este análisis se muestran en la *Tabla 5*.

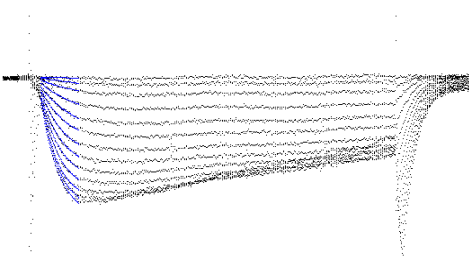
Tabla 5 *Parámetros cinéticos del comportamiento de I_{Ca}*

Parámetros de τ de activación (ms)	Parámetros de τ de inactivación (ms)
A potencial de 0 mV: Prom. τ ac. = 1.83 ± 0.47 D.S. τ ac. = 0.87	A potencial de 0 mV: Prom. τ in. = -11.46 ± 2.8 D.S. τ ac. = 24.7
A potencial de 40 mV: Prom. τ ac. = 1.56 ± 0.36 D.S. τ ac. = 0.27	A potencial de 40 mV: Prom. τ in. = -48.05 ± 16.82 D.S. τ in. = 31.31

a)



b)



c)

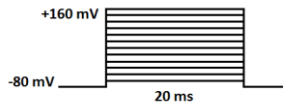
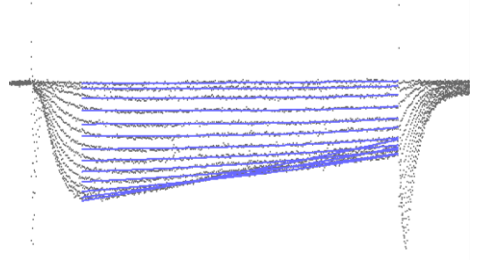


Figura 13. a) Trazo representativo de la corriente de Calcio en una célula ventricular control b) Ajuste de cinética de activación c) Ajuste de la cinética de inactivación. Los trazos se obtuvieron a un potencial de mantenimiento de -80 mV. Inserto protocolo de registro.

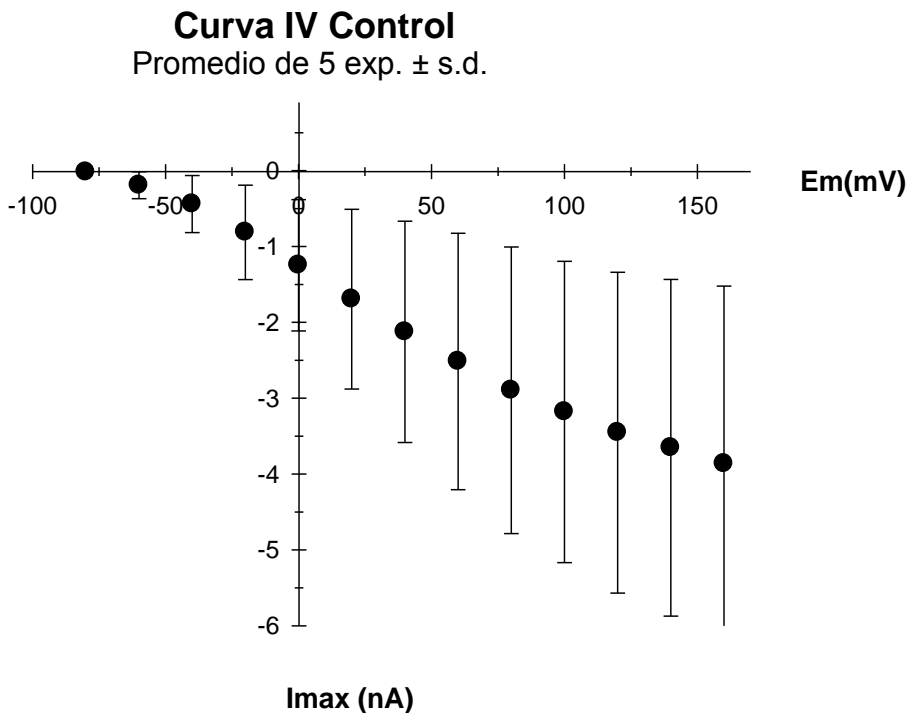


Figura 14. Curva corriente-voltaje de I_{Ca} (nA) bajo condiciones control expresada en miocitos ventriculares de rata.

Las curvas IV fueron normalizadas con la capacitancia promedio para representarlas en unidades de densidad de corriente por voltaje (pA/pF vs mV). La relación corriente voltaje para I_{Ca} (nA) muestra que la corriente comenzó a activarse a aproximadamente a -40 mV (Figura 14). Los experimentos se realizaron en un total de 5 células, en la figura se muestra el promedio de la corriente máxima (I_{max}) obtenida para cada punto de potencial expresada por la capacitancia promedio, se indica el error

estándar de cada punto, pudiendo graficar I_{max} en el eje de las ordenadas en función al potencial de membrana (E_m) en el eje de las abscisas.

6.4.2. Capacitancia

La capacidad de almacenar cargas en la membrana es la capacitancia, que se mide en Faradios. Si la capacitancia es grande quiere decir que hay muchas cargas negativas en la membrana, y por tanto se necesitará más tiempo para depolarizar la membrana. Si bien se desconoce el sistema físico que produce la capacitancia en la membrana, se ha propuesto que depende de sus moléculas lipídicas (material pobremente conductor) aprisionado entre dos medios iónicos conductores.

Entonces la existencia de una capacitancia en la membrana celular explica por qué cuando se aplica una corriente el potencial local que se crea necesita de cierto tiempo para alcanzar un valor máximo, y por qué disminuye lentamente cuando la corriente cesa: un condensador requiere un tiempo dado para cargarse y descargarse densidad de canales iónicos o para normalizar cambios en el tamaño celular.

La capacitancia de la membrana es directamente proporcional al área superficial de la membrana y expresa cambios independientes a la variación de la superficie celular. (Chapula, 2002)

La capacitancia de la membrana se calculó mediante la integración de la corriente capacitiva obtenida de la aplicación de un pulso despolarizante de 20mV utilizando la ecuación $C_m=Q/V$; en donde Q es el movimiento de

carga total determinada integrando el área de la corriente capacitiva generada en respuesta a un cambio de voltaje de (-10 mV con potencial de mantenimiento de 0 mV), y V es la diferencia de potencial en Volts, en este caso 10 mV.

En un estudio realizado por Taril Smani y colaboradores se calculó una capacitancia de membrana de 175 pF miocitos cardíacos control de ratas Wistar macho. (Tarik Smani, 2010), (Figuroa, 2010). El cálculo promedio de capacitancia (C_m) calculado en este trabajo fué de 137 ± 27 pF

6.4.3. Relación de densidad de corriente voltaje de la I_{Ca} en miocitos ventriculares

Para poder establecer el flujo de la corriente por área se normalizó la corriente obtenida graficando así la relación de densidad corriente-voltaje (pA/pF-mV) para cada uno de los compuestos descritos en este trabajo; esta relación de densidad corriente-voltaje se calcula a partir de la amplitud de corriente normalizada por la capacitancia de la membrana. Esta forma de presentar el flujo de la corriente evita las diferencias por unidad de área o por tamaño de célula.

La representación de la densidad de corriente obtenida para cada pulso de voltaje, es la denominada “curva densidad de corriente-voltaje” y muestra la dependencia de voltaje de la corriente estudiada.

6.4.4. Efecto de los compuestos Morfolínicos y tiomorfolínicos sobre la I_{Ca}

La I_{Ca} se bloquea por diversos fármacos. De manera más selectiva la I_{Ca} es

bloqueada por compuestos denominados antagonistas de calcio. Los compuestos utilizados en este estudio tuvieron un efecto bloqueador de las corrientes de calcio de una manera selectiva.

6.4.4.1. Efecto del compuesto morfolínico LQM 302 sobre la corriente I_{Ca}

La *Figura 15A* muestra los trazos representativos del efecto del compuesto LQM 302 sobre las corrientes de calcio (I_{Ca}). En la parte (a) se ilustra los trazos de corrientes control obtenidos con el protocolo de pulsos mostrado (*Figura 13*) con una duración de 20 ms. En la parte (b) se observa el efecto del compuesto LQM 302 a una dosis de 1.94×10^{-8} mM que corresponde a la DE_{50} . La parte (c) de la figura ilustra el bloqueo total de I_{Ca} por este compuesto.

En la *Figura 15B* se muestra el efecto del compuesto LQM 302 a una concentración de 1.94×10^{-8} mM sobre la relación densidad de corriente-voltaje para diversas células. En condiciones control el promedio de los valores obtenidos para I_{Ca} a 100 mV fue de -23.6 pA/pF, en presencia del compuesto el valor obtenido fue de -12.3 pA/pF al mismo potencial, se puede observar una disminución de aproximadamente el 50% en la densidad de corriente, sin producir cambios en la dependencia de voltaje.

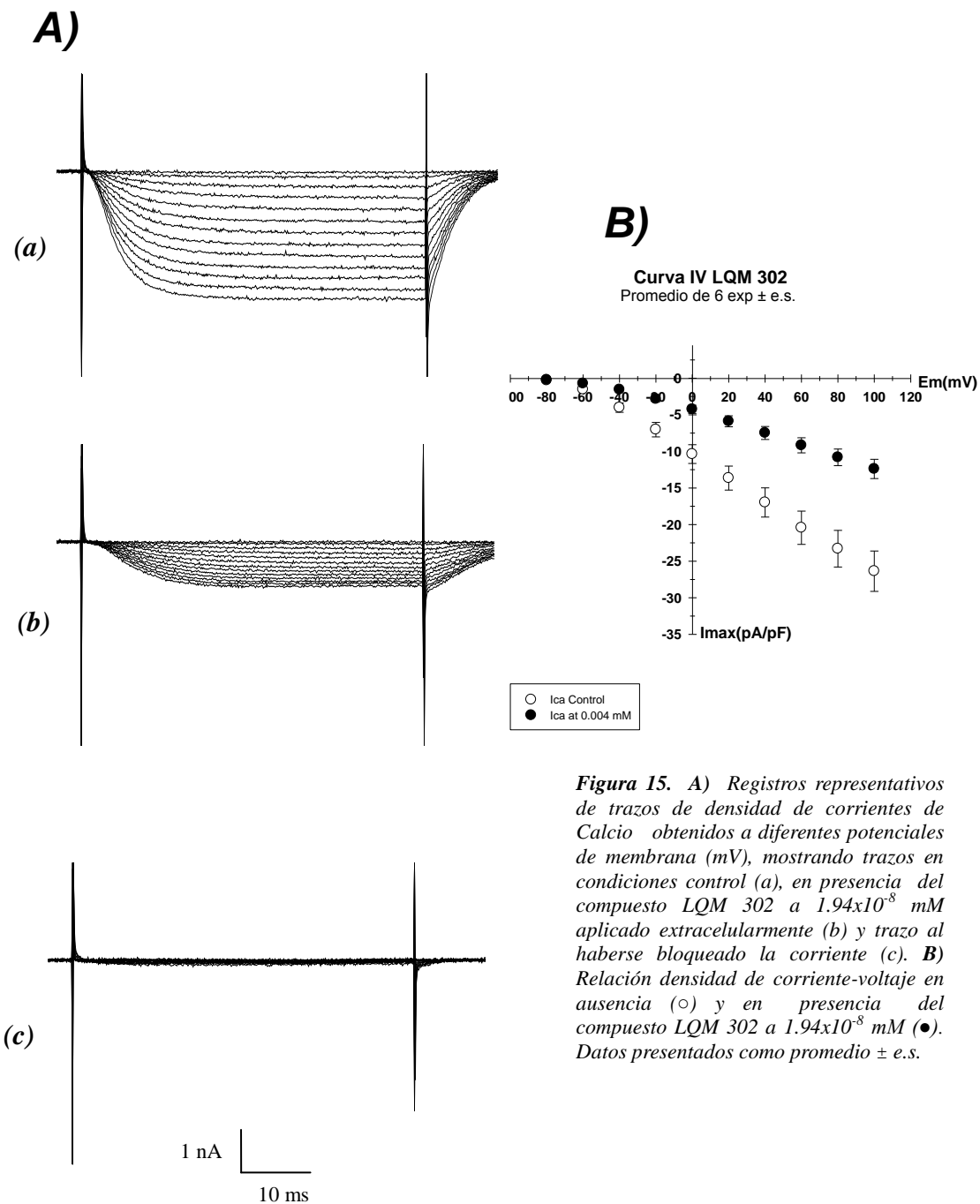


Figura 15. *A) Registros representativos de trazos de densidad de corrientes de Calcio obtenidos a diferentes potenciales de membrana (mV), mostrando trazos en condiciones control (a), en presencia del compuesto LQM 302 a 1.94×10^{-8} mM aplicado extracelularmente (b) y trazo al haberse bloqueado la corriente (c). B) Relación densidad de corriente-voltaje en ausencia (○) y en presencia del compuesto LQM 302 a 1.94×10^{-8} mM (●). Datos presentados como promedio \pm e.s.*

6.4.4.2. Efecto del compuesto morfolínico LQM 308 sobre la corriente I_{Ca}

La *Figura 16A* muestra los trazos representativos del efecto del compuesto LQM 308 sobre las corrientes de calcio (I_{Ca}). En la parte (a) se ilustra las corrientes control obtenidas con el protocolo de pulsos mostrado en el inserto (*Figura 13*) con una duración de 20 ms. En la parte (b) se observa el efecto del compuesto LQM 308 a una dosis de 0.00531 mM que corresponde a la DE_{50} . La parte (c) de la figura ilustra el bloqueo total de I_{Ca} por este compuesto.

En *Figura 16B* se muestra el efecto del compuesto LQM 308 a una concentración de 0.00531 mM sobre la relación densidad de corriente-voltaje en varias células. En condiciones control el promedio de los valores obtenidos para I_{Ca} a 100 mV fue de -31.5 pA/pF, en presencia del compuesto el valor obtenido fue de -16.8 pA/pF al mismo potencial, se puede observar una disminución de aproximadamente el 50% en la densidad de corriente, sin producir cambios en la dependencia de voltaje.

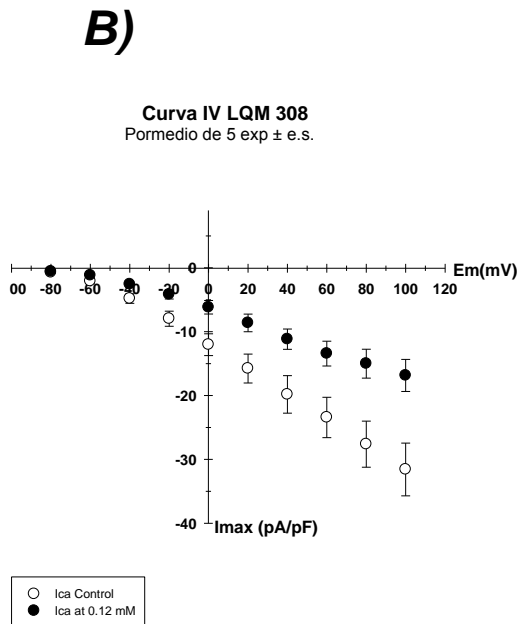
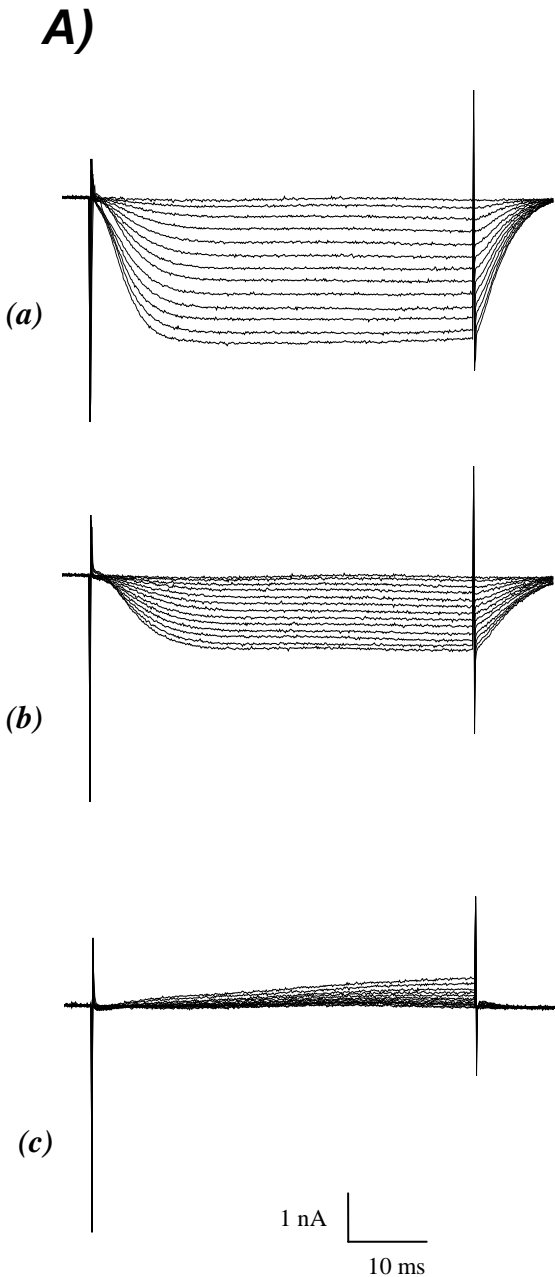


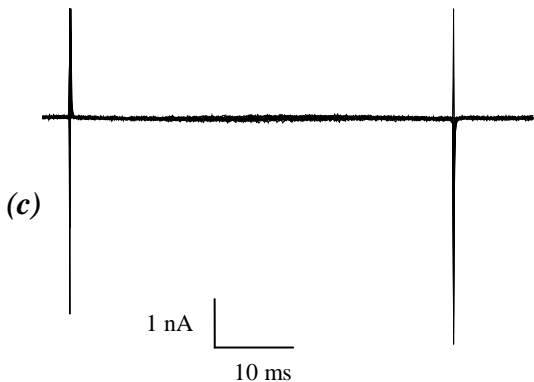
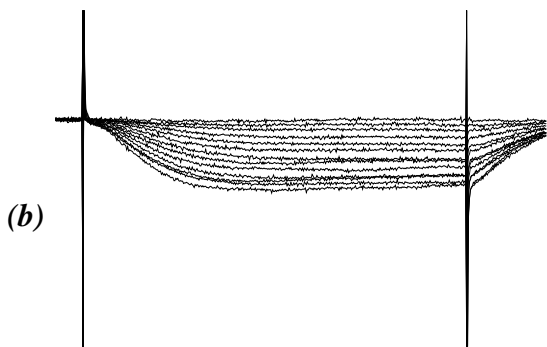
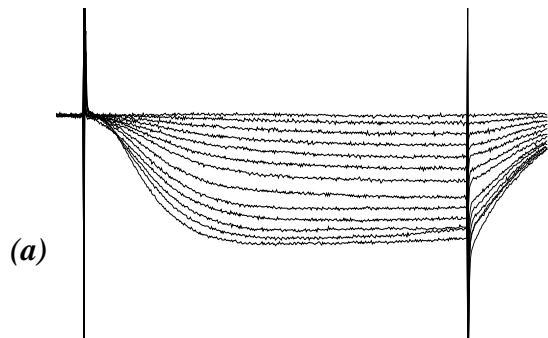
Figura 16. A) Registros representativos de trazos de densidad de corrientes de Calcio obtenidos a diferentes potenciales de membrana (mV), mostrando trazos en condiciones control (a), en presencia del compuesto LQM 308 a 0.00531 mM aplicado extracelularmente (b) y trazo al haberse bloqueado la corriente (c). **B)** Relación densidad de corriente-voltaje en ausencia (○) y en presencia del compuesto LQM 308 a 0.00531 mM (●). Datos presentados como promedio \pm e.s.

6.4.4.3. Efecto del compuesto morfolínico LQM 310 sobre la corriente I_{Ca}

La *Figura 17A* muestra los trazos representativos del efecto del compuesto LQM 310 sobre las corrientes de calcio (I_{Ca}). En la parte (a) se ilustra las corrientes control obtenidas con el protocolo de pulsos mostrado (*Figura 13*) con una duración de 20 ms. En la parte (b) se observa el efecto del compuesto LQM 310 a una dosis de 0.2754 mM que corresponde a la DE_{50} . La parte (c) de la figura ilustra el bloqueo total de I_{Ca} por este compuesto.

En la *Figura 17B* se muestra el efecto del compuesto LQM 310 a una concentración de 0.2754 mM sobre la relación densidad de corriente-voltaje obtenido en varias células. En condiciones control el promedio de los valores obtenidos para I_{Ca} a 100 mV fue de -32.8 pA/pF, en presencia del compuesto el valor obtenido fue de -17.1 pA/pF al mismo potencial, se puede observar una disminución de aproximadamente el 50% en la densidad de corriente, sin producir cambios en la dependencia de voltaje.

A)



B)

Curva IV LQM 310
Promedio de 9 exp. \pm e.s.

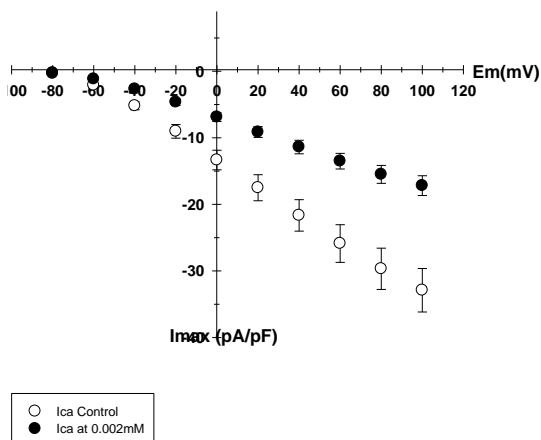


Figura 17. A) Registros representativos de trazos de densidad de corrientes de Calcio obtenidos a diferentes potenciales de membrana (mV), mostrando trazos en condiciones control (a), en presencia del compuesto LQM 310 a 0.2754 mM aplicado extracelularmente (b) y trazo al haberse bloqueado la corriente (c). B) Relación densidad de corriente-voltaje en ausencia (○) y en presencia del compuesto LQM 310 a 0.2754 mM (●). Datos presentados como promedio \pm e.s.

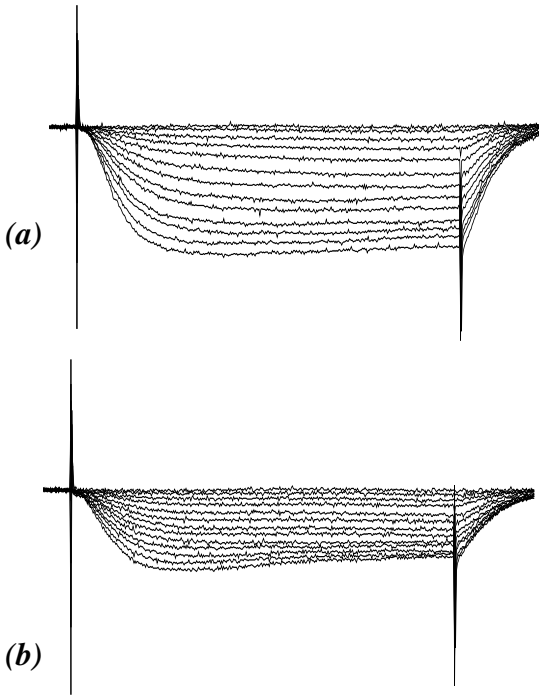
6.4.4.4. Efecto del compuesto tiomorfolínico LQM 320 sobre la corriente

I_{Ca}

La *Figura 18A* muestra los trazos representativos del efecto del compuesto LQM 320 sobre las corrientes de calcio (I_{Ca}). En la parte (a) se ilustra las corrientes control obtenidas con el protocolo de pulsos mostrado (*Figura 13*) con una duración de 20 ms. En la parte (b) se observa el efecto del compuesto LQM 320 a una dosis de 0.029 mM que corresponde a la DE_{50} . La parte (c) de la figura ilustra el bloqueo total de I_{Ca} por este compuesto.

En la *Figura 18B* se muestra el efecto del compuesto LQM 320 a una concentración de 0.029 mM sobre la relación densidad de corriente-voltaje. En condiciones control el promedio de los valores obtenidos para I_{Ca} a 100 mV fue de -21.3 pA/pF, en presencia del compuesto el valor obtenido fue de -10.7 pA/pF al mismo potencial, se puede observar una disminución de aproximadamente el 50% en la densidad de corriente, sin producir cambios en la dependencia de voltaje.

A)



B)

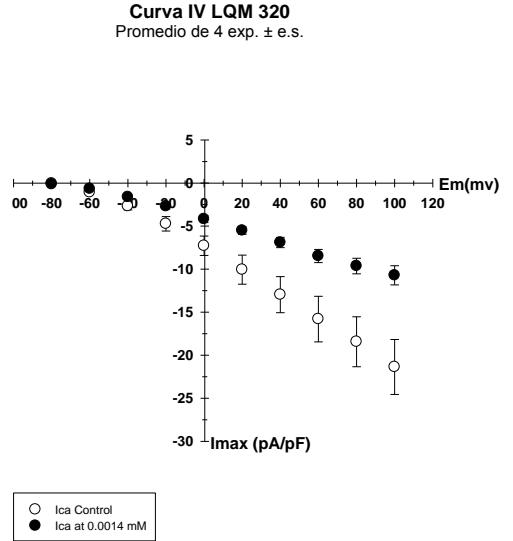


Figura 18. A) Registros representativos de trazos de densidad de corrientes de Calcio obtenidos a diferentes potenciales de membrana (mV), mostrando trazos en condiciones control (a), en presencia del compuesto LQM 320 a 0.029 mM aplicado extracelularmente (b) y trazo al haberse bloqueado la corriente (c). B) Relación densidad de corriente-voltaje en ausencia (○) y en presencia del compuesto LQM 320 a 0.029 mM (●). Datos presentados como promedio \pm e.s.

6.5. Curvas Dosis Efecto (D-E)

La relación dosis-efecto es la relación entre la dosis de un fármaco y la magnitud de la respuesta producida por el fármaco, siendo la respuesta directamente proporcional a la dosis. Esta relación se basa en que la relación dosis-respuesta permite establecer el rango de dosis de la sustancia y determinar la DE_{50} , así como la velocidad de la respuesta en función de la dosis (pendiente).

En las Curvas D-E los valores de las dosis se expresan en unidades logarítmicas y los valores del efecto se expresan en porcentaje o proporción del efecto máximo. La forma que adquieren es de tipo sigmoideo, en donde se observan tres fases principales: la primera fase en donde se inicia el efecto, la segunda fase está representada por un comportamiento lineal donde se observa el intervalo de dosis que produce entre el 25% y 75% de la respuesta a la sustancia química al que fue expuesta y finalmente en la tercera fase la curva se aplana, debido a que va disminuyendo la respuesta gradualmente hasta que finalmente la curva llega a su máximo efecto. Este tipo de curva permite calcular la $D E_{50}$, que es la dosis que presenta el 50% del efecto máximo y permite realizar una comparación de potencia de los compuestos empleados en el estudio.

Como se puede observar en la *Figura 1*Figura 19, el rango de las dosis empleadas varió considerablemente diversos así como los parámetros de las curvas. El compuesto LQM 302 presentó la menor DE_{50} y el rango de

logaritmo de la dosis de -4 a -6 (μM).

El comportamiento de todos los compuestos fue similar pues al igual que en el caso de compuesto LQM 302 se pudo apreciar que dependen únicamente de la dosis aplicada y de acuerdo a la concentración aplicada del compuesto es la respuesta de los canales de calcio a este.

El comportamiento del LQM 308, LQM 310 y 320 fueron similares y confirman el efecto de estos en los canales de Ca^{2+} tipo L, en todos los compuestos se aprecian las 3 fases representativas de una curva dosis-efecto que explican el efecto de los compuestos en cada una de las fases que se presentan en la curva dosis-efecto, en que valor de dosis se dio el mayor efecto y al cual se presentó el 50% de este

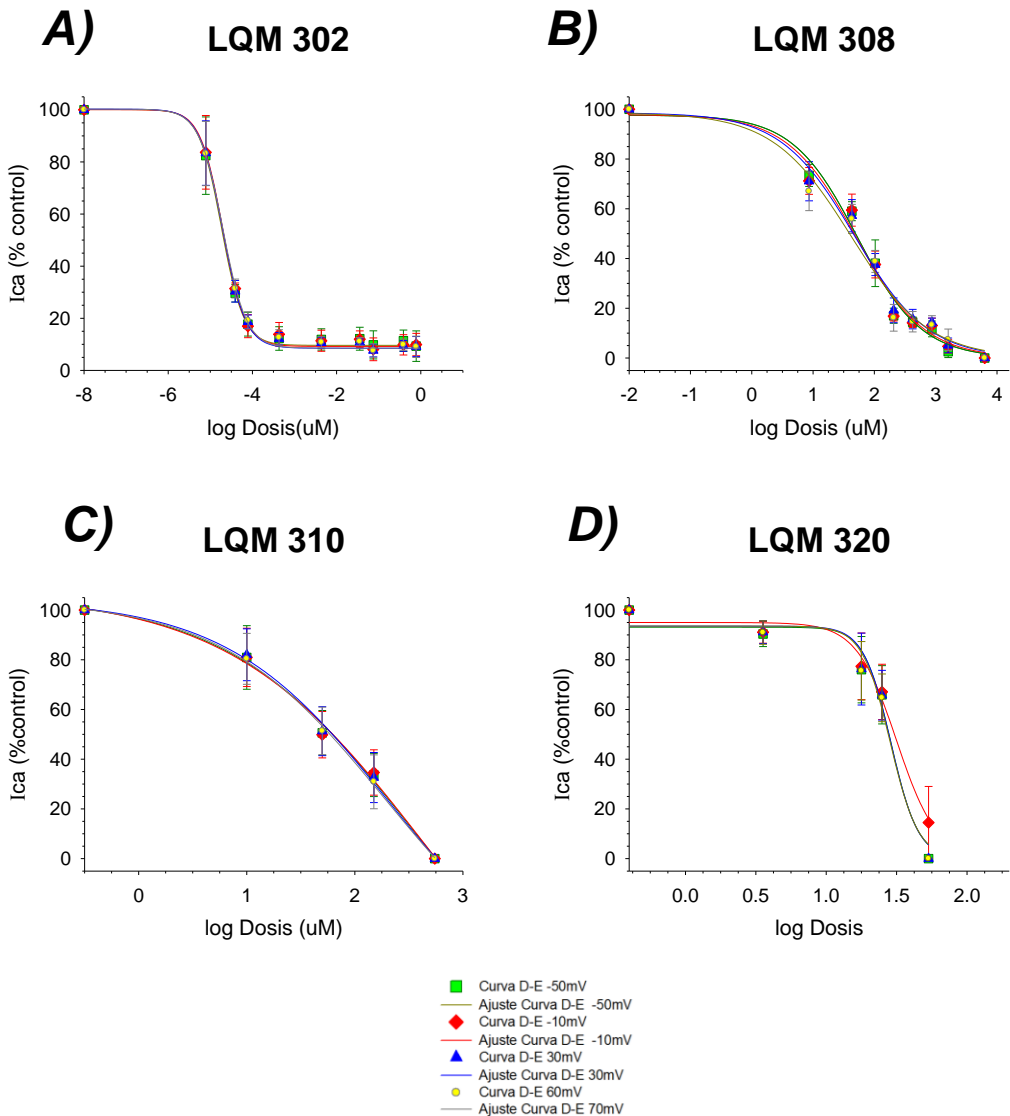


Figura 19 *Curvas Dosis-Efecto (D-E) para los diferentes LQM's estudiados a diferentes voltajes (-50, -10, 30 y 70 mV); las corrientes de calcio se expusieron a diferentes concentraciones de fármaco, se calculó el porcentaje de inhibición respectivo, presentando cada concentración y cada célula. A) Curva D-E para el compuesto LQM 302 mostrando un bloqueo de corriente de Calcio tipo L muy marcada, siendo no dependiente de voltaje. B) Curva D-E para el compuesto LQM 308, mostrando su efecto bloqueante no dependiente de voltaje en canales de calcio tipo L. C) Curva D-E para el compuesto LQM 310, mostrando un ligero bloqueo de canales tipo L, siendo este no dependiente de voltaje. D) Curva D-E para el compuesto LQM 320, mostrando un bloqueo en la corriente de Calcio tipo L, siendo no dependiente de voltaje.*

Tabla 6. Efectos de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el compuesto tiomorfolínico LQM 320 sobre Canales de Calcio

	Em (mV)	DE ₅₀ (mM)	K(b)	y0	
LQM 302	-50	1.8382x10 ⁻⁸	-0.2651	9.6157	
	-10	1.9570 x10 ⁻⁸	-0.2643	9.2011	
	30	1.9534 x10 ⁻⁸	-0.2732	8.5021	
	70	1.9856 x10 ⁻⁸	-0.2809	8.547	
	promedio	-	1.94 x10 ⁻⁸	-0.2709	8.9665
	error std	-	5.76E-03	3.02E-03	0.2083
	prom ± es	-	1.94x10 ⁻⁸ ± 5.752e-3	0.2709±3.02e-3	8.9665±0.2083
LQM 308	-50	0.0294	-0.5851	-	
	-10	0.0291	-0.6172	-	
	30	0.02873	-0.6707	-	
	70	0.02846	-0.7233	-	
	promedio	-	0.00531	-0.579	-
	error std	-	2.25E-02	2.36E-02	-
	prom ± es	-	0.00531 ± 2.2531e-2	0.579±2.36e-2	-
LQM 310	-50	0.45877	-0.9104	-96.5399	
	-10	0.33884	-0.8573	-81.7872	
	30	0.2025	-0.7493	-57.5759	
	70	0.1885	-0.7578	-56.1618	
	promedio	-	0.2754	-0.8187	-73.0162
	error std	-	7.11E-02	3.04E-02	7.592
	prom ± es	-	0.2754 ± 7.11e-2	0.8187±3.04e-2	73.0162±7.592
LQM 320	-50	0.02945	-0.0898	-	
	-10	0.0291	-0.093	-	
	30	0.02874	-0.0972	-	
	70	0.02894	-0.0999	-	
	promedio	-	0.029	-0.095	-
	error std	-	2.51E-03	1.73E-03	-
	prom ± es	-	0.029 ± 2.51e-3	0.95 1.73e-3	-

Se realizó el análisis en un rango de voltaje de -50 a 70 mV (Lamas, 2005) debido a que es el rango de inactivación de los canales de calcio, en la *Tabla 6* se presentan los resultados de los efectos de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y tiomorfolínico LQM 320 sobre I_{CaL} obtenidos de varios experimentos. En esta tabla se refleja, en términos generales, que los efectos obtenidos para una sola célula son

completamente consistentes en todas las células probadas.

El potencial de membrana (E_m) es el potencial que se obtuvo con el protocolo de pulsos empleado, la DE_{50} corresponde a la dosis en la que se obtiene la mitad del efecto máximo, la $K(b)$ se refiere a la pendiente que se obtuvo al realizar el ajuste del gráfico y es la región donde se obtiene la mayor parte del efecto, por último se muestran los datos para y_0 obtenidos a partir del ajuste para una gráfica sigmoidea que no alcanza el cero absoluto, es decir que no bloquea el 100% de los canales.

7. DISCUSIÓN

En este trabajo se caracterizó el efecto de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y tiomorfolínico LQM 320 sobre los canales de calcio tipo L. El interés de estudiar estos compuestos nace de la necesidad de contar con mejores herramientas terapéuticas para tratar las arritmias. En la búsqueda de nuevos compuestos se ha recurrido a estudiar sustancias presentes en remedios naturales o medicina alternativa. En este sentido, recientemente se han encaminado investigaciones de la síntesis de nuevos fármacos derivados a su vez, de compuestos contenidos en remedios naturales utilizados tradicionalmente desde hace cientos de años en la medicina oriental (Klages, 1968) El descubrimiento de alcaloides contenidos en plantas de origen Chino ha derivado en una serie de estudios para buscar sus efectos terapéuticos, gracias a los cuales se logró aislar un compuesto denominado Changrolina, con efectos cardiovasculares (Islas Martínez, 2007). Los compuestos estudiados en esta tesis son derivados de la Changrolina, en la cual se descubrió que uno de los sustituyentes (el fenol), presenta propiedades antiarrítmicas (Islas Martínez, 2007). Con base en esto, se modificó su estructura química para encontrar la forma de mejorar su eficacia y/o potenciar el efecto conocido, quedando en algunos casos mono-, di- o trisustituída. Los compuestos resultantes a esta modificación estructural se clasifican de acuerdo al tipo de sustituyente que contengan, si en éste se encuentra el átomo de oxígeno se les da el prefijo

morfo-, si en el sustituyente está un átomo de azufre se les da el prefijo tio- (Beltrán, 2009).

Los experimentos realizados en esta tesis revelaron que los canales de calcio tipo L en cardiomiocitos de rata son bloqueados a diferentes rangos de concentración por los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el compuesto tiomorfolínico LQM 320 en una relación dosis-dependiente.

Los canales de calcio son proteínas oligoméricas, constituidos por una subunidad principal, α_1 , que sirve como poro y sensor del cambio de potencial (Catterall, 1991).). El efecto bloqueador que producen todos los compuestos LQM demuestra que ninguno de ellos se une al poro del canal. Al observar las curvas dosis-respuesta se observa que no cambia el rango de las dosis a distintos voltajes. Este efecto es conocido como bloqueo no dependiente de voltaje y sugiere que todos los compuestos probados se unen al vestíbulo del canal sin entrar al poro, que es el sitio donde se detecta el cambio de potencial transmembrana por el canal.

Ninguno de los compuestos estudiados en este trabajo produjo cambios en la cinética de la corriente de calcio, la densidad máxima de corriente de calcio es similar en todos los compuestos de la serie LQM. Con esta información se confirma que la corriente solo se ve afectada en su amplitud por los compuestos LQM estudiados.

Cabe mencionar que según la literatura las corrientes de calcio tipo L y tipo

T difieren tanto en sus propiedades cinéticas como en sus propiedades farmacológicas. (Butron de Mejia, 1995)

En las curvas dosis-respuesta se puede observar que algunos de los fármacos no bloquearon el 100% de la corriente, lo que sugiere que el componente remanente pudiera corresponder a canales de calcio tipo T.

La potencia de un fármaco relaciona la dosis administrada de este y el efecto que produce, por lo que al fármaco que emplee la dosis más pequeña en producir el efecto se considera potente. Los compuestos LQM realizaron el efecto bloqueante a diferentes dosis, para poder determinar cuál es el compuesto con mayor potencia, se utiliza el valor de DE_{50} que para los compuestos analizados en este trabajo el orden descendente de potencia es: LQM 302 con una $DE_{50}=1.94 \times 10^{-8}$ mM, LQM 308 con una $DE_{50}=0.00531$ mM, LQM 320 con una $DE_{50}=0.029$ mM y por último LQM 310 con una $DE_{50}=0.2754$ mM. El resultado más sobresaliente de este trabajo es el bloqueo de la corriente de Calcio tipo L (I_{Ca}), producido por el LQM 302 a dosis muy reducidas ($DE_{50}=1.94 \times 10^{-8}$ mM). La pendiente de la curva refleja la relación entre la dosis mínima para que se produzca un efecto y la dosis para producir el efecto máximo, refleja la velocidad de respuesta de cada compuesto, a pendientes más elevadas realizan el efecto con una velocidad mayor. Para fines de realizar un análisis de ordenamiento de grado del efecto conforme a la pendiente mostrada por los compuestos analizados en este trabajo en forma descendente quedan en el siguiente

orden: LQM 302, LQM 308, LQM 320 y LQM 310. (Catteral, 1991)

La *Tabla 4* muestra las estructuras químicas de los compuestos LQM que fueron objeto de estudio en este trabajo. En los estudios realizados por Staut et al. en 1985 acerca de la Changrolina y su actividad antiarrítmica de acuerdo a su estructura (*Figura 11*), se vio que la región 1, la quinazolina, podía ser reemplazada por una variedad de anillos heteroatómicos sin que ello disminuya la actividad mientras que en la región 2 se sustituye la pirrolidina por piperidinas; además se observó que la región 3, que une a las dos primeras, tiene una mayor actividad y una menor toxicidad cuando contiene un grupo carbonilo, incluyendo grupos cetona, amida y urea. (Staut, y otros, 1985)

Con base a lo descrito en lo anterior se puede decir que la actividad anti arrítmica es atribuida a la región morfolínica y tiomorfolínica de los compuestos de la serie LQM. La sustitución de la quinazolina por fenoles sustituidos refuerza lo dicho de que la actividad anti arrítmica se debe al anillo de morfolina.

Según lo observado el compuesto que presento mayor eficacia fue el compuesto morfolínico LQM 302, esto se atribuye a que tiene dos OH por lo que no tiene impedimento estérico, además este compuesto posee doble anillo morfolínico lo que puede inferir una mayor eficacia a diferencia de los demás compuestos.

Un comportamiento similar tuvieron el compuesto morfolínico LQM 308 y el

tiomorfolínico LQM 320, lo cual es atribuible a que ambos compuestos poseen dobles anillos morfolínicos y tiomorfolínicos respectivamente.

A diferencia de los compuestos anteriores, el compuesto LQM 310 fue el menos eficaz lo cual se explica con que su estructura solo posee un anillo morfolínico que pueda conferirle la actividad antiarrítmica.

Los demás sustituyentes que conforman las estructuras de todos los compuestos no tiene acción sobre el potencial antiarrítmico de los compuestos, pudiendo ser objeto de estudio para otro tipo de acciones farmacológicas que no se abordan en este trabajo.

Los antagonistas del calcio de tipo dihidropiridina (ej. Nifedipino) son unos de los más potentes bloqueadores de los canales de calcio, estos fármacos tienen una mayor sensibilidad para bloquear a las corriente de calcio tipo L que a la tipo T, no todas las dihidropiridinas presentan el mismo porcentaje de inhibición y no para todas I_{CaT} se muestra igual de sensible (Bean, 1985) (Akaike, y otros, 1989) (Rodríguez, 2000)

Numerosos estudios han demostrado que la existen numerosos bloqueadores no dependientes de voltaje de ambas poblaciones de Corrientes de Calcio (I_{CaT} , I_{CaL}) o del una sola población, tal es el caso de NiCl, Mibefradilo. (Rodríguez, 2000)

En este trabajo los compuesto de la serie LQM logran bloquear una o ambas corriente de calcio con un comportamiento similar a los mostrados en varios trabajos; los compuestos LQM 302 Y 308 lograron un bloqueo total de

ambas corrientes (I_{CaT} , I_{CaL}) mientras que los compuestos LQM 310 y 230 solo lograron bloquear solamente a la corriente tipo L, demostrando que la corriente de calcio tipo T tiene deferente sensibilidad para ser bloqueada como lo descrito en los trabajos mencionados.

En un estudio realizado por Chin-Yue Yang et al. sobre el bloqueo de canales de calcio tipo L por propofol (Yang, y otros, 1996) se observó que dicho fármaco provocaba un efecto bloqueante dosis dependiente en las actividades electromecánicas de preparados cardiacos. La concentración de propofol que se utilizó en los experimentos variaron de concentraciones terapéuticas a subterapéuticas. En este sentido se puede decir que las curvas dosis respuesta de los compuestos estudiados presentaron rangos diversos de dosis; aunque en este trabajo no se puede afirmar si las dosis de los compuestos LQM empleadas para producir el efecto son terapéuticas. Además en el trabajo de Ching-Yue Yang se caracterizó al propofol como un antagonista de calcio lo que sugiere que los compuestos de la serie LQM estudiados en este trabajo podrían tener un mecanismo de acción similar al bloquear tanto la corriente de calcio tipo T como la tipo L.

La biodisponibilidad es un parámetro farmacocinético que representa la fracción de fármaco administrada que alcanza el sitio de acción, y se considera equivalente a los niveles alcanzados en la circulación sistémica. Existen diversos parámetros farmacocinéticos que están relacionados con la biodisponibilidad y que ayudan a determinar la fracción real de fármaco que

logró llegar al sitio de acción, para este estudio no se realizaron las pruebas que determinan estos valores debido a que fue un estudio in vitro, por lo que se asume que la dosis aplicadas son las misma que produjeron el efecto bloqueante en las corrientes de calcio; pues los compuestos LQM no tuvieron que realizar la liberación de barreras previas a la acción. Se requeriría realizar estudios farmacocinéticos para determinar el rango de dosis potencialmente terapéutico, así como determinar la toxicidad de los compuestos para proponerlos como candidatos a fármacos antiarrítmicos.

Cuando se logran diseñar nuevos fármacos es importante caracterizarlos completamente ya que al conocer la relación que existe entre su estructura química con la actividad biológica que presentan se puede establecer un tratamiento terapéutico más efectivo y con ello disminuir los efectos adversos durante la terapia. En este trabajo se demostró un efecto bloqueante de los canales de Calcio tipo L con lo cual se podrían corregir trastornos en el sistema de conducción del corazón, y evitar los síntomas causados por este tipo de anomalías. Este trabajo establece una antecedente para realizar estudios encaminados a caracterizar a estos compuestos como posibles fármacos útiles en la terapéutica.

8. CONCLUSIONES

- Se evaluó el efecto de los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el compuesto tiomorfolínico LQM 320 sobre canales iónicos mediante el modelo electrofisiológico "Patch-Clamp en su modalidad de célula completa
- Los resultados de este estudio mostraron que el efecto antiarrítmico descrito para los compuestos estudiados se da a través del bloqueo de canales de calcio, en específico el de tipo L.
- Los compuestos morfolínicos LQM 302, LQM 308 presentaron un efecto bloqueante del 100% sobre corrientes de calcio, por lo cual probablemente bloquean canales de calcio tipo L y tipo T. siendo el LQM 302 el que presentó un bloqueo más marcado.
- Los compuestos morfolínico LQM 310 y tiomorfolínico LQM 320 presentaron un bloqueo de la corriente de calcio tipo L con una fracción de corriente no bloqueable que probablemente corresponde a la corriente de calcio tipo T.
- El efecto bloqueante de morfolínicos LQM 302, LQM 308, LQM 310 y el tiomorfolínico LQM 320 es concentración-dependiente y a su vez es independiente de voltaje.
- En conclusión este trabajo proporciona nueva evidencia de efectos consistentes implicados en la modulación de los canales de calcio tipo L principalmente y en los canales de calcio tipo T posiblemente;

además da pauta a nuevos estudios para elucidar el mecanismo específico y las anomalías que se podrían prevenir con estos nuevos compuestos considerándolos una nueva terapia funcional adecuada.

9. BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

Akaike N, PG Kostyuk and VV Osipcbuck Dihydropiridine-sensitive low threshold calcium channels in isolated rat hypothalamic rat neurones [Journal] // Journal of Physiology. - London : [s.n.], 1989. - 412. - pp. 181-195.

Alexandre Bouron Daniel Potreau, Colette Besse, Guy Ryamond An efficient isolation of Ca-tolerant ventricular myocytes from ferret heart for applications in electrophysiological studies [Journal]. - Paris, France. : Biol Cell, Elsevier, 1990. - 70. - pp. 121-127.

Almendral Garrote J Navia Roque J, Zeballos García M Anestesia y electrofisiología cardiaca (Parte I) [Journal] // Rev Esp Anestesiología y Reanimación. - Madrid. : [s.n.], 2005. - 5 : Vol. 52. - pp. 276-290.

Ambudkar Xibao Liu and Indu S. Characterists of Store-operated calcium-permeable channel. Sarcoendoplasmic reticulum calcium pump function controls channel gating [Journal] // The Journal of Biological Chemistry. - Maryland. USA : [s.n.], agosto 10, 2001. - 32 : Vol. 276. - pp. 29891-29898.

Atienza Felipe Alonso Tesis. Estudio de los mecanismos de las arritmias [Book]. - Leganés : UNIVERSIDAD CARLOS III DE MADRID, 2008. - p. 45.

Bean BP. Two kinds of calcium channels in canine atrial cells. Differences in kinetics, selectivity and pharmacology [Journal] // J Gen Physiol. - 1985. - 86. - pp. 1-30.

Beltrán Q.F.B. César Briones Tesis. Determinación de la actividad hipotensora de los compuestos morfolínicos (LQM 302, LQM 312), Tiomorfolínicos (LQM 324, LQM 337) y Piperidínicos (LQM 335, LQM 336, LQM 344 Y LQM 354) en rata wistar anestesiada. [Book]. - Cuautitlan Izacalli, Edo Méx. : UNAM, 2009.

Benavides Evelyn Relación Entre Canales de Calcio Voltaje-Sensibles y degeneración axonal [Journal] // Cuadernos de Neurología. - Chile : Universidad Católica de Chile, 2001. - Vol. 25.

Bossu, J.L.; Feltz, A. & Thoman, J.M. Depolarization elicits two distinct calcium currents in vertebrate sensory neurones. [Journal] // Pflügers Arch. - 1985. - Vol. 403. - pp. 360-368.

Bouron Alexandre [et al.] An efficient procedure of Ca-tolerant ventricular myocytes from heart for applications in electrophysiological studies [Journal] // Biol

Cell. - Francia : El Sevier, 1990. - 70. - pp. 121-127.

Bryan K. Chamberlain Pompeo Volpe, Sidney Fleischer Calcium-induced Calcium release from purified cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles [Journal]. - USA : [s.n.], Jun 25, 1984. - 12 : Vol. 259. - pp. 7540-7546.

Butron de Mejia Jose A Armengol Bases Experimentales para el estudio del sistema nervioso [Book]. - Sevilla : Universidad de Sevilla, 1995. - pp. 298-300.

Catteral W.A. Functional subunit structure of voltage-calcium channels [Journal] // Science. - September 1991. - 5027 : Vol. 253. - pp. 1499-1500.

Catterall William A. Voltaged-gated calcium channels [Journal] // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. - Wahsington USA : [s.n.], October 2012. - 3. - pp. 1-23.

Chapula M.en C. Jose Antonio Sánchez Efectos d ela diabetes mellitus sobre las corrientes de potasio activadas por voltaje en miocitos aislados de ratón y de conejo [Book]. - Colima, México : Universidada de Colima, 2002.

Cheitlin Melcin D. Sokolow Maurice Cardiología Clínica [Book]. - México D.F. : Manual Moderno, 1995. - 5a.

Diane Lipscombe Thomas D. Helton, Weifeng Xu. L-type calcium channels: the Low down. [Journal] // Journal of Neurophysiology. - Rhode, Island. USA : [s.n.], 2004. - 92. - pp. 2633-2641.

Dolphin Annett C. A Short Hitory of Voltage-Gated Calcium Channels [Journal] // British Journal of Pharmacology. - 2006. - 14756-62.

Dunlap Daniel H. Cox and Kathleen Pharmacological Discrimination of N-Type from L-Type Calcium Current and its Selective Modulation by transmitters [Journal] // The Journal of Neuroscience. - Boston, Massachusetts : [s.n.], 1992. - 3 : Vol. 12. - pp. 905-914.

Eugene Braunwald Douglas P. Zipes Tratado de Cardiología [Book]. - Philadelphia : Mc. Graw Hill, 1997. - pp. 3571-936. - 5a. Edicion..

Fajuri Alejandro Arritmias [Online]. - 2011. - Octubre 08, 2011. - <http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/cuarto/integrado4/cardio4/ManualArritmias.pdf>.

Fajuri Dr. Alejandro Fisiopatologíal de las Arritmias [Online]. - 2009. - Noviembre

10, 2012. - http://www.cardiouc.cl/CardiologiaUC/Arritmias/Arritmias_2.pdf.

Fanghanel-Salmón Guillermo [et al.] Epidemiología Cardiovascular en México. estudio comparativo entre datos nacionales en una población cautiva de trabajadores en el Distrito Federal [Journal]. - [s.l.] : Diabetes Hoy para el Médico y Profesional de la Salud, 2006. - 4 : Vol. 5.

Fedulova S.A., Kostyuk P.G. and Velselovsky N.S. Two types of calcium channels in the somatic membrane of new-born rat dorsal root ganglion neurones [Journal] // J. Physiol. - 1985. - Vol. 350. - pp. 431-446..

Feo Deyanira Almeida Electrofisiología de las Arritmias Cardíacas [Book Section] // Manual de Arritmias Cardíacas. - Venezuela : Universidad Central de Venezuela. Consejo de desarrollo Científico y Humanístico, 2004.

Ferez Sergio Monobe Fausto. El comportamiento del miocardio en la isquemia y en la reperfusión [Book]. - Madrid, España. : Elsevier, 2004.

Ferez Sergio Peña Marco A. Anatomía y Fisiología de la Circulación Coronaria [Book]. - México D.F. : Intersistemas Editores, 2004.

Figueroa M. en C. Ivan Arael Aréchiga Caracterización de las corrientes iónicas de K⁺ (Ito1, IKs, e IKr) en miocitos de nodo senoauricular de gato [Book]. - Colima : Universidad de Colima. Facultad de Medicina. Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, 2010.

Fox Stuart Ira Fisiología Humana [Book]. - [s.l.] : Mc Graw Hill, 2003. - 1a : pp. 334-461.

García Maithe Mondragon Tesis. Determinación del efecto de los compuestos morfolinicos (LQM 313, LQM 314, LQM 341 y LQM 352), tiomorfolínicos (LQM 318, LQM 324 y LQM 401) y piperidinicos (LQ 335, LQM 336 y LQM 345) en aorta torácica y abdominal de rata hipertensa espontánea., - México : [s.n.], 2009.

Gerad Meinssner Julia S. Genderson. rapid calcium release from cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles is dependent on Ca²⁺ and is modulated by Mg²⁺, adenine nucleotide and calmodulin [Journal]. - North Carolina. USA : [s.n.], march 5, 1987. - 7 : Vol. 262. - pp. 365-373.

Gonzaga Universidad Nacional San Luis Modulo III Transtornos de Conducción // Curso de especialización a nivel postgrado. Electrocardiografía / ed. Sur Asistencia Médica del. - 2012. - p. 10.

Granada J Uribe W, Chyyou P, Maassen K, Vierkant R, Smith PN, et al

Incidence and predictors of atrial flutter in the general population. [Journal]. - [s.l.] : J Am Coll Cardiol., 2000. - 36 : Vols. 2242-6.

Guyton Hall Tratado de Fisiología Médica [Book]. - [s.l.] : Elsevier, 2011. - 12a : pp. 116-118.

Hamil O. P. Marty A., Neher E., Sackman B., Sigworth F.J. Improved patch-clamp techniques for high-resolution currents recording from cells and cell-free membrane patches [Journal] // Pflügers Arch. - 1981. - Vol. 39. - p. 85.

Harrison DC Is there a rational basis for the modified classification of antiarrhythmic drugs? // In: Morganroth J, Moore EN, eds. Cardiac arrhythmias: new therapeutic drugs and devices. - Amsterdam : Martinus Nijhoff, 1985. - pp. 36-48.

Hernández Valdivia Consuelo María Tesis. Corrientes de calcio a través del canal mutante leaner expresado en un sistema heterólogo [Book]. - Colima : Universidad de Colima, 2005. - pp. 18-19.

Hille Bertil Ionic channels of excitable membranes [Book]. - [s.l.] : Sinauer Associates Inc., 1991. - 2 : pp. 115-121.

INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía [Online]. - Gobierno Federal, 2012. - Mayo 2, 2012. - <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2009/corazon09.asp?s=inegi&c=2740&ep=21>.

Islas Martínez José Manuel Tesis. Determinación de las constantes de acidez de compuestos piperidínicos de interés biológico [Report]. - México D.F. : Universidad Autónoma Metropolitana, 2007. - pp. 1-3.

Iturralde Pedro Arritmias Cardíacas [Book]. - [s.l.] : McGraw Hill, 2008. - 3a : pp. 1-14.

Izaguirre V. y Zavaleta, A. I. Canales de Calcio Voltaje-dependientes [Journal] // Ciencia e Investigación. - [s.l.] : UNMSM - Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1998. - 1 : Vol. 1.

Klages F. Tratado de Química Orgánica [Book]. - Zaragoza : Reverté, 1968. - Vol. 2 : 2 : pp. 633-635.

Lamas J.A. Evolución del concepto de potencial de reposo neuronal. [Journal] // Revisión de Neurociencia. - 2005. - 9 : Vol. 41. - pp. 538-549.

Latorre Ramón [et al.] Biofísica y Fisiología Celular [Book]. - España : Universidad de Sevilla, 1996. - p. 322.

Lee K.S., Marban E. and Tsien R.W. Inactivation of calcium channels in mammalian heart cells: joint dependence on membrane potential and intracellular calcium [Journal] // J. Physiol.. - 1985. - Vol. 364. - pp. 395-411.

Liangquan Li [et al.] Studies on a new antiarrhythmic drug Changrolin 4-(3',5'-bis((N-pyrrolidinyl)methyl)-4-hydroxyanilino)-quinazoline [Journal] // scientia sinica. - China : [s.n.], 1979. - 10 : Vol. 22. - pp. 1220-1228.

Lundgren Evy, Borg Thomas and Sven Mardh Isolation, characterization and adhesion of calcium-tolerant myocytes from the adult rat heart [Journal] // J Mol Cell Cardiol. - Uppsala : [s.n.], 1984. - 16. - pp. 355-362.

M. Anguita Sánchez E. Villanueva Fernández, J. López Aguilera, L. Cejudo Días del Cmpo, Arritmias. Síndromes arrimogenicos. Clasificación. Fisiopatología. Criterios diagnósticos y pronósticos. [Journal] // Mmedicine. - Córdoba : [s.n.], 2009. - 10 : Vol. 38. - pp. 2531-8.

Malcom Thaler El libro del ECG [Book]. - [s.l.] : Wolters Kluwer Lippincott Williams and Wilkins, 2008. - 5a : pp. 9-59.

Martín Rosas Peralta Agustín Lara Esqueda, Gustavo Pastelín Hernández, Oscar Velázquez Monroy, Jesús Martínez Reding, Arturo Méndez Ortiz, José–Antonio Lorenzo Negrete, Catalina Lomelí Estrada, Antonio González Hermosillo, Jaime Herr Re–encuesta Nacional de Hipertensión Arterial (RENAHTA): Consolidación Mexicana de los Factores de Riesgo Cardiovascular. Cohorte Nacional de Seguimiento [Journal]. - México Distrito Federal : Archivos de cardiología de México, 2005. - 1 : Vol. 75.

Martínez Martín Efecto de un componente de la matriz extracelular sobre la actividad de los canales de Ca²⁺ del musculo esqueletico [Book]. - México, D.F. : Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N., 1995. - pp. 25-28.

Meyer Klaus W. Linz and Rainer Control of L_type calcium current during the action potential [Journal] // Journal of Physiology. - Bonn, Germany : [s.n.], 1998. - 2 : Vol. 513. - pp. 425—442.

Mycek Mary J., Harvey Richard and Champe Pamela. Farmacología. [Book]. - México, D.F. : McGraw-Hill, 2006.

O.P. Hamill A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, and F.J. Sigworth. Improved Patch-Clamp Techniques for High-Resolution Current Recording from Cells and Cell-Free Membrane Patches [Journal]. - Federal Republic of Germany : Pflügers Archive European Journal of Physiology, 1981. - 391. - pp. 85-100.

P. Zipes Douglas Jalife José Cardiac Electrophysiology from Cell to Bedside [Book]. - E.U.A. : Saunders Company, 1995. - 1a : pp. 10-16.

R. S. KASS J. P. ARENA, a n d S. CHIN Block of L-Type Calcium Channels by Charged Dihydropyridines, Sensitivity to Side of Application and Calcium [Journal] // THE JOURNAL OF GENERAL PHYSIOLOGY. - New York : [s.n.], July 1991. - Vol. 98. - pp. 63-75.

Rodríguez G. Fita and Sancho C. Gomar Antiarrítmicos [Book Section] // Tratado de Emergencias Médicas / book auth. María Sol Carrasco Jiménez Jose Antonio Paz Cruz. - Madrid : Aran Ediciones, 2000.

Rodríguez María Luisa Matínez Tesis Doctoral. Estudio d ela corriente de calcio tipo T e la hipertrofia cardiaca experimental [Book]. - Madrid : Universidad Complutense De madrid, 2000.

Rowlands DJ Brownlee WC The Cardiac Dysrrhythmias [Book Section] // Care of Critically ill Patient / book auth. Tinker J Zapol WM. - Londres : Springer-Verlag, 1992.

Singh BN Hauswirth O Comparative mechanisms of antiarrhythmic drugs [Journal] // American Heart Journal. - 1974. - Vol. 87. - pp. 367-82.

Staut David M [et al.] Synthesis an antiarrhythmic and parasympholyc proprieties of substituted phenols. 3. Modifications to the linkage region (region3) [Journal] // J. Med. Chem.. - Illinois : [s.n.], 1985. - Vol. 28. - pp. 295-298.

Tamargo J Valenzuela C, Deplon E. Clasificación de los fármacos antiarrítmicos en los 90: un enfoque para el cardiólogo Clínico [Journal] // Esp Cardiol. - 1993. - Vol. 46. - pp. 183-194.

Tamargo J. Valenzuela C. Fármacos Antiarrítmicos [Book Section] // Farmacología Humana / book auth. Florez Jesús. - [s.l.] : ELSEVIER-MASSON, 2012. - 5a.

Tarik Smani Eva Calderón, Nieves Gómez, María Fernández, Victoria Cachofeiro, Vicente Lara, Antonio Ordoñez, Carmen Delgado. Mechanisms underlying the activation of L-type calcium channels bt urocortin in rat ventricular myocytes [Journal] // Cardiovascular Research. - Sevilla España : [s.n.], February

2010. - Vol. 87. - pp. 459-466.

Taylor Best & Bases Fisiológicas de la Práctica Médica [Book]. - México, Distrito Federal. : Medica Panamericana, 2010.

Taylor Best & Bases Fisiológicas de la Práctica Médica [Book]. - [s.l.] : Médica Panamericana, 2010. - 14a : p. 231.

Tomohiko Sakatan Takeshi Shirayama, Taku Yamamoto, Hiroki Mani, Hirokazu Shiraishi, Hiroaki Matsubara Cardiac Hypertrophy Diminished the Effects of Isoproterenol on Delayed Rectifier Potassium Current in rat Heart [Journal] // The Journal of Physiological Sciences. - Kyoto, Japan : [s.n.], April. 2006. - 2 : Vol. 56. - pp. 173-181.

UAP Universidad de las Américas Puebla [Online]. - 2005. - Noviembre 2012. - http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbc/mancilla_s_c/capitulo1.pdf.

UNIZAR Departamento de Medicina Psiquiatría y Dermatología [Online] // Introducción a la Patología Médica y Quirúrgica - Complementos. - Universidad de Zaragoza, 2012. - Noviembre 2012. - http://www.unizar.es/departamentos/medicina_psiquiatria/primer_ciclo/doc/15a_ARRITMIAS.pdf.

Valdivia Consuelo María Hernández Tesis. Corrientes de calcio a través del canal mutante leaner expresado en un sistema heterólogo [Book] / ed. Medicina Universidad de Colima. facultad de. - Colima : [s.n.], 2005. - pp. 5-19.

Valenzuela J. Tamargo y C. Farmacos Antiarrítmicos [Book Section] // Farmacología Humana / book auth. Florez Jesús. - Barcelona España : Masson, 2004. - 4a.

Vaughan Williams Classification of antiarrhythmic drugs // In: Sandoe E, Flenstead-Jensen E, Olesen EH, eds. Symposium on cardiac arrhythmias. / ed. Astra AB. - Copenhagen : [s.n.], April 1970. - pp. 449-472.

Velázquez Monroy O Rosas Peralta M, Lara Esqueda A, Pastelín Hernández G, Grupo ENSA 2000, Attie F, Tapia Conyer R Hipertensión arterial en México: Resultados de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000 [Journal]. - México : Arch Cardiol Mex , 2002. - 1 : Vol. 72.

Victor Yarotsky Guofeng Gao, Lei Do, Sindura B. Ganapathi, Blaise Z. Peterson and Keith S. Elmslie Roscovitline Blind to novel L-channel(Cap1.2) Sites That Separately Affect Activation and Inactivation [Journal] // The Journal of

Biological Chemistry. - January 1, 2010. - 1 : Vol. 285. - pp. 43-53.

Vogel Zhihong Liu and Hans J. Structural basis for the regulation of L-type voltage-gated calcium channels: interactions between the N-terminal cytoplasmic domain and Ca²⁺ Calmodulin [Journal] // *Frontiers in molecular neuroscience*. - april 2012. - 38 : Vol. 5. - pp. 1-16.

Yang Ching-Yue MD [et al.] Propofol Inhibits Cardiac L-Type Calcium Current in Guinea Pig Ventricular Myocytes [Journal] = Taipei, Taiwan // *Anesthesiology*. - 1996. - 3 : Vol. 84. - pp. 626-35.