



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**“EFECTOS DEL LQM319 COMPUESTO TIOMORFOLÍNICO Y CAPTOPRIL
SOBRE LA DISPERSIÓN DEL INTERVALO QT Y CORRIENTES IONICAS
POST-INFARTO MIOCÁRDICO”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN FARMACIA

PRESENTA:

RAÚL SAMPIERI CABRERA

ASESORES:

DRA. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR

DR. JORGE ALBERTO SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

DRA. MARÍA DEL CARMEN GARCÍA GARCÍA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efectos del LQM319 compuesto tiomorfolínico y captopril sobre la dispersión de intervalo QT y corrientes ionicas post-infarto miocárdico

Que presenta el pasante: Raúl Sampieri Cabrera

Con número de cuenta: 410090398 para obtener el Título de: Licenciado en Farmacia

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 10 de junio de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Luisa Martínez Aguilar	
VOCAL	QFB. Amparo Ramos Aguilar	
SECRETARIO	M.C. Tais Nopal Guerrero	
1er. SUPLENTE	QFB. Luis Alberto Parra Oaxaca	
2do. SUPLENTE	M.C. Jazmín Flores Monroy	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Dedicatoria:

Son muchas las personas que sin duda me han impulsado a cumplir mis metas, sin embargo son pocas las que han fungido como un verdadero pilar para cumplirlas.

“Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento”

Papá y Mamá

“A tu paciencia y comprensión. Por tu constancia y sacrificio me inspiraste a ser mejor, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti, gracias por estar siempre a mi lado”

Gus

Agradecimientos:

A la universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formar parte de ella, brindarme todo lo necesario para desempeñarme académicamente y crecer como persona.

A los profesores que en su mayoría debo llamar “maestros” por guiarme por el camino de la rectitud y orientarme para ser un profesional en el área y con la ética que el país necesita.

A mi asesora y maestra la Dra. Luisa Martínez Aguilar por brindarme la confianza de formar parte de su equipo de trabajo, apoyarme incondicionalmente para mi despeño profesional y mostrarme mis capacidades.

A mis padres sin duda alguna el pilar de mi vida, las personas que siempre tienen la fuerza de salir a delante y la determinación de no rendirse. He aprendido de ellos que la vida es una lucha en donde no debemos de rendirnos, porque cada momento de esta lucha nos enseña a ser mejores personas y que debemos ser felices sin importar las adversidades porque solo así se logra ser personas de bien.

A mis hermanos que a su vez son mis mejores amigos y un gran orgullo para mí, por apoyarme en todo momento y ser un motivo más para culminar mis estudios.

A mis amigos que si bien podría contarlos con las manos, son una parte fundamental de mi vida y un apoyo para lograr mis metas.

A mis compañeros del servicio social y tesis por hacerme pasar ratos de mucha armonía durante la realización del proyecto.

Al MVZ Raúl Aguilar Tovar por la asesoría técnica en el método implante de electrodos de plata para determinación de ECG en rata.

Al Dr. Jorge Alberto Sánchez Rodríguez por su asesoría y apoyo en la realización de este proyecto.

A la Dra. María del Carmen García García sin duda una excelente científica y persona por brindarme el apoyo y asesoría para la realización de este proyecto.

A la QFB Ascensión Hernández Pérez por su asesoría y capacitación para el aislamiento de micocitos.

A la ENF Eva Delgado Sandoval por su apoyo técnico.

Al Tec. Oscar Ramírez Herrera por su capacitación y apoyo técnico.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT IN212213-3 DGAPA UNAM; Cátedra de investigación CONS-26.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán FESC por brindarme los recursos humanos, materiales e inmuebles necesarios para mi educación profesional.

A Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional CINVESTAV-IPN Zacatenco por abrirme sus puertas y permitirme colaborar con ellos.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología por su estímulo para la realización de este proyecto.

Este proyecto es resultado de un trabajo de colaboración entre la FESC-UNAM y CINVESTAV-IPN

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
1. OBJETIVO GENERAL.....	2
1.1. OBJETIVOS PARTICULARES.....	2
2. HIPÓTESIS.....	2
3. MARCO TEÓRICO.....	2
3.1. EL SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	2
3.1.2. EL CORAZÓN.....	3
3.1.3. CÉLULAS CARDIACAS.....	4
3.1.3.1 CANALES IONICOS.....	5
3.1.4. PROPIEDADES ELECTRFIOLÓGICAS DE UNA CÉLULA CARDIACA.....	7
3.1.5 EL SISTEMA DE CONDUCCIÓN ELÉCTRICA DEL CORAZON.....	7
3.2. ELECTROCARDIOGRAMA.....	9
3.2.1. DERIVACIONES ESTÁNDARES.....	12
3.2.2. DERIVACIONES MONOPOLARES DE LOS MIEMBROS.....	13
3.2.3. DERIVACIONES PRECORDIALES (DE WILSON).....	14
3.2.4. DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA Y RITMOS CARDIACOS... 14	
3.3. INTERVALO QT.....	15
3.4. AISLAMIENTO DE MIOCITOS POR LANGENDORFF.....	17
3.5. PATCH CLAMP.....	18
3.6. ARRITMIAS CARDIACAS.....	21
3.7. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES.....	27
3.7.1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	28
3.7.2 CEREBROVASCULARES.....	29
3.7.3 INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO.....	32
3.8. FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS.....	34
3.8.1. GRUPO I O BLOQUEADORES DE CANALES DE Na ⁺	35
3.8.2. GRUPO II O BLOQUEADORES beta-ADRENÉRGICOS.....	36
3.8.3. GRUPO III O BLOQUEADORES DE CANALES DE K ⁺	37
3.8.4. GRUPO IV O BLOQUEADORES DE CANALES DE Ca ²⁺	39
3.9. CHANGROLINA COMO AGENTE ANTIARRÍTMICO.....	40
3.10. DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS.....	41
3.10.1. ETAPAS O FASES DE LA INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS.....	42
3.10.2. ESTUDIO DE FÁRMACOS CON POSIBLES EFECTOS ANTIARRÍTMICOS EN LA FESC.....	44
4. DISEÑO EXERIMENTAL.....	45
4.1. DIAGRAMA DE FLUJO MEDICIÓN ELECTROCARDIOGRAFICA.....	45
4.2. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA MEDICIÓN ELECTROFISIOLÓGICA.....	46
4.3. IMPLANTACIÓN DE LOS ELECTRODOS VÍA SUBCUTÁNEA A RATAS WISTAR... 47	
4.4. ADMINISTRACIÓN DE LOS COMPUESTOS A LA RATA WISTAR.....	48
4.5. OCLUSIÓN DE LA ARTERIA CORONARIA DE LA RATA WISTAR.....	48
4.6. MEDICIÓN DEL INTERVALO QT Y RR, FRECUENCIA CARDIACA Y PRESENCIA DE ARRITMIAS.....	48
4.7. AISLAMIENTO DE CARDIOMIOCITOS.....	49
4.8. ELABORACIÓN DE PIPETAS DE VIDRIO.....	49
4.9. MEDICIÓN DE CORREINTES IÓNICAS.....	49
4.10. TRATAMIENTO DE RESULTADOS.....	49

5. RESULTADOS.....	50
5.1. FRECUENCIA CARDIACA.....	50
5.2. INTERVALO QTc.....	51
5.3. INCIDENCIA DE ARRITMIAS.....	53
5.4. REGISTROS ELECTROFISIOLÓGICOS.....	56
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	60
7. CONCLUSIONES.....	62
8. REFERENCIAS.....	63
9. ANEXO.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las arritmias cardiacas con su forma de presentación

Tabla 2. Clasificación de la PA medida en consulta según las distintas guías

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Representación esquemática del sistema cardiovascular
- Figura 2. Anatomía del corazón
- Figura 3. Flujo de sangre a través del corazón
- Figura 4. Diagrama esquemático de un canal iónico
- Figura 5. Sistema de conducción eléctrica del corazón
- Figura 6. Sistema de conducción eléctrico y ECG
- Figura 7. Partes del ECG
- Figura 8. Representación esquemática de las derivaciones estándares
- Figura 9. Triángulo de Einthoven
- Figura 10. Representación esquemática de las derivaciones monopolares de los miembros
- Figura 11. Representación esquemática de las derivaciones precordiales
- Figura 12. Esquema del sistema de perfusión Langendorff
- Figura 13. Acercamiento de pipeta a célula
- Figura 14. Representación esquemática de las variantes de patch clamp
- Figura 15. Taquicardia sinusal, 100 latidos por minuto
- Figura 16. Bradicardia sinusal, 40 latidos por minuto
- Figura 17. Flutter auricular
- Figura 18. Fibrilación auricular
- Figura 19. Ritmos de la unión AV, 80 latidos por minuto
- Figura 20. Bloqueo aurículo-ventricular, primer grado
- Figura 21. Bloqueo aurículo-ventricular, segundo grado, tipo I
- Figura 22. Bloqueo aurículo-ventricular, segundo grado, tipo II
- Figura 23. Bloqueo aurículo-ventricular, tercer grado
- Figura 24. Ritmo idioventricular, 55 latidos por minuto
- Figura 25. Extrasístole ventricular unifocal
- Figura 26. Extrasístole ventricular multifocal
- Figura 27. Extrasístole ventricular acoplada
- Figura 28. Taquicardia ventricular, 180 latidos por minuto
- Figura 29. Fibrilación ventricular, 180 latidos por minuto
- Figura 30. Asistolia
- Figura 31. Proceso de remodelado arterial en la hipertensión arterial
- Figura 32. Polígono de Willis, punto de encrucijada de la circulación cerebral

- Figura 33. Representación esquemática de un infarto agudo al miocardio
- Figura 34. Esquema del potencial de acción cardiaco. En donde los números representan las fases
- Figura 35. Mecanismo de apertura del canal de sodio
- Figura 36. Mecanismo de acción de los receptores beta adrenérgicos
- Figura 37. Modelo de inactivación del canal de potasio
- Figura 38. Rol de las dos corrientes de calcio (ICa^{++T} e ICa^{++L}) en la despolarización automática de una célula del nódulo sinusal
- Figura 39. Estructura química y regiones de la Changrolina
- Figura 40. Las cuatro etapas esenciales en el desarrollo de medicamentos
- Figura 41. Predominancia de algunas características generales en las tres fases de los estudios clínicos de un nuevo fármaco
- Figura 42. Reacción química para la Síntesis de los compuestos de la serie LQM Morfolínicos, Tiomorfolínicos y Piperidínicos
- Figura 43. Fenol y las posiciones donde se lleva a cabo la sustitución
- Figura 44. Diseño experimental para medición electrocardiográfica
- Figura 45. Rata Wistar con implante subcutáneo
- Figura 46. Diseño experimental para la medición electrofisiológica

ÍNDICE DE GRÁFICAS

- Gráfica 1. "Frecuencia cardiaca en función del tiempo"
- Gráfica 2. "Frecuencia cardiaca de los diferentes grupos"
- Gráfica 3. "Intervalo QTc en función del tiempo"
- Gráfica 4. "Intervalo QTc de los diferentes grupos"
- Gráfica 5. "Incidencia de arritmias temporal del grupo infarto"
- Gráfica 6. "Incidencia de arritmias temporal del grupo control"
- Gráfica 7. "Incidencia de arritmias temporal del grupo LQM319"
- Gráfica 8. "Incidencia de arritmias temporal del grupo captopril"
- Gráfica 9. "Curva I/V canal de calcio tipo I en los dif. Grupos"
- Gráfica 10. "Cinética del canal de calcio tipo L en los dif. Grupos"
- Gráfica 11. "Curva I/V del canal de potasio rectificador de entrada lenta en los dif. Grupos"
- Gráfica 12. "Cinética del canal de potasio rectificador de entrada lenta en los dif. Grupos"
- Gráfica 13. "Constante de caída (tau) del canal de potasio rectificador de entrada lenta en los dif. Grupos"

ABREVIATURAS

IMA	Infarto agudo al miocardio
I	Intensidad
QTc	Intervalo QT corregido
mV	milivolts
ms	milisegundos
Ang II	Angiotensina II
ECG	Electrocardiograma

INTRODUCCIÓN

Durante 2007, en México, un 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. Principalmente, en la población de 65 años y más, se manifiestan las enfermedades cardiovasculares.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades cardiovasculares, como el infarto al miocardio y accidente cerebrovascular, cobran 17.5 millones de vidas al año en el mundo¹.

En la industria farmacéutica se han diseñado nuevos e innovadores fármacos y formas farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades cardíacas, sin embargo como la mayoría son de origen extranjero su costo se eleva y la población mexicana no se ve beneficiada en su gran mayoría; por lo anterior es necesario realizar investigaciones nacionales que involucren nuevos fármacos, más específicos y que confieran menor cantidad de efectos adversos y así beneficien directamente a la población mexicana.

A este trabajo de investigación le antecede las investigaciones del año 1979 en la república de China, en las cuales se examinaban a la Febrifugina y sus propiedades contra la malaria; los investigadores detectaron a la Changrolina como agente antiarrítmico. Después Strout y colaboradores estudiaron la estructura química de la Changrolina buscando semejanzas en su estructura con fármacos antiarrítmicos conocidos en la época; su trabajo consistió en modificar la estructura química para deducir que grupo químico o que parte de la molécula es la que proporciona la actividad farmacológica antiarrítmica.^{2, 3, 4, 5}

El grupo de investigadores de Química Medicinal de la FESC retoma estos estudios y propone el estudio de compuestos análogos a la Changrolina, en los cuales grupos pirrolidínicos son sustituidos por la morfolina, tiomorfolina y piperidina; investigadores de éste laboratorio realizaron una síntesis y caracterización de siete compuestos derivados de la Changrolina con diferentes sustituyentes (a la cual se le llamó LQM300's), estos compuestos mostraron que además de tener actividad antihipertensiva poseen también actividad antiarrítmica a través del modelo de rata anestesiada normotensa.⁶ Estos estudios mostraron que algunos de los compuestos de la serie LQM300's presentaron una disminución en la frecuencia cardíaca, por lo que en el trabajo previo a esta investigación se determinó el efecto de los compuestos morfolínicos, dimorfolínicos, monomorfolínicos y ditiomorfolínicos en arritmias post-infarto miocárdico.^{3,4,5}

Como ya se sabe la propagación del intervalo QT medido en ECG se asocia a un riesgo aumentado para la aparición de arritmias ventriculares y muerte súbita cardíaca, trayendo como resultado un aumento en la susceptibilidad de arritmias malignas. Por lo que si el compuesto [4-tert-butil-2,6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil)] (LQM319) ha mostrado disminuir la incidencia de arritmias cardíacas, se espera que exista una modificación del intervalo QT que

beneficie la ausencia de arritmias cardiacas, además de conocer si los iones K^+ y Ca^{2+} están implicados en la heterogeneidad del intervalo QT.

1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la dispersión del intervalo QT y medir las corrientes iónicas de K^+ y Ca^{2+} post-infarto miocárdico mediante la medición en el electrocardiograma y con el uso de la técnica de Patch Clamp respectivamente, para relacionar el intervalo QT con la incidencia de arritmias y los mecanismo iónicos implicados en el efecto del compuesto [4-tert-butil-2,6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil)] (LQM319)

1.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar la técnica de implantación subcutánea de electrodos de plata en rata Wistar y obtener la lectura electrocardiográfica utilizando el software ACQ Acqknowledge 3.9.0 y el equipo Biopac Systems.
- Realizar la técnica de Langendorff de aislamiento de miocitos cardiacos.
- Realizar la técnica de infarto agudo al miocardio por ligadura de coronaria.
- Realizar la técnica de patch-clamp para la medición de corrientes iónicas de K^+ y Ca^{2+} .

2. HIPÓTESIS

Estudios previos han demostrado que el [4-tert-butil-2,6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil)] (LQM319) disminuye la incidencia de arritmias y que el alargamiento del intervalo QT se asocia con la aparición de arritmias ventriculares, por lo que se espera que el compuesto [4-tert-butil-2,6-bis (tiomorfolin-4-ilmetil)] (LQM319) provoque un acortamiento del intervalo QT en las arritmias inducidas post infarto miocárdico y que dicho acortamiento se vea reflejado por la participación electrofisiológica de los canales de K^+ y Ca^{2+} .

3. MARCO TEÓRICO

3.1. EL SISTEMA CARDIOVASCULAR

El sistema cardiovascular está formado por el corazón y los vasos sanguíneos: arterias, venas y capilares. Se trata de un sistema de transporte en el que una bomba muscular (el corazón) proporciona la energía necesaria para mover el contenido (la sangre), en un circuito cerrado de tubos elásticos (los vasos).⁷ Como se puede observar en la figura 1.

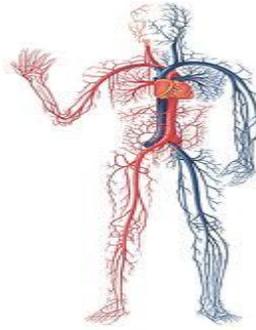


Figura 1. Representación esquemática del sistema cardiovascular. Es una representación del sistema cardiovascular, en donde se pueden ver las arterias (color azul), venas (color rojo), capilares (pequeños vasos) y el corazón. [Vélez, 2002].

3.1.2. EL CORAZÓN

El corazón es un órgano musculoso formado por cavidades. Su tamaño es parecido al de un puño cerrado y tiene un peso aproximado de 250 y 300 g, en mujeres y varones adultos respectivamente. Está situado en el interior del tórax, por encima del diafragma, en la región denominada mediastino, que es la parte media de la cavidad torácica localizada entre las dos cavidades pleurales. Casi dos terceras partes del corazón se sitúan en el hemitorax izquierdo. El corazón tiene forma de cono apoyado sobre su lado, con un extremo puntiagudo, el vértice, de dirección anteroinferior izquierda y la porción más ancha, la base, dirigida en sentido posterosuperior.^{7,8}

Su finalidad es bombear sangre a todos los tejidos del cuerpo para nutrirlos con oxígeno. Esto se logra mediante un sistema de cuatro compartimentos. Las dos cámaras de menor tamaño son las cámaras receptoras, llamadas aurículas (una izquierda y una derecha), y están separadas entre sí por una pared llamada tabique interauricular. Las dos cámaras inferiores, llamadas ventrículos, están separadas por una pared más gruesa, llamada tabique interventricular. Los ventrículos son los responsables de bombear la sangre fuera del corazón. El ventrículo derecho tiene el trabajo más exigente de bombear sangre oxigenada a todo el sistema circulatorio. Por consiguiente, las paredes del corazón están compuestas de tres capas bien definidas. 1) el endocardio, que es la delgada membrana que tapiza por dentro el músculo cardíaco, 2) el músculo cardíaco llamado miocardio, y 3) el epicardio que es una membrana delgada que tapiza el exterior del miocardio.^{7,8}

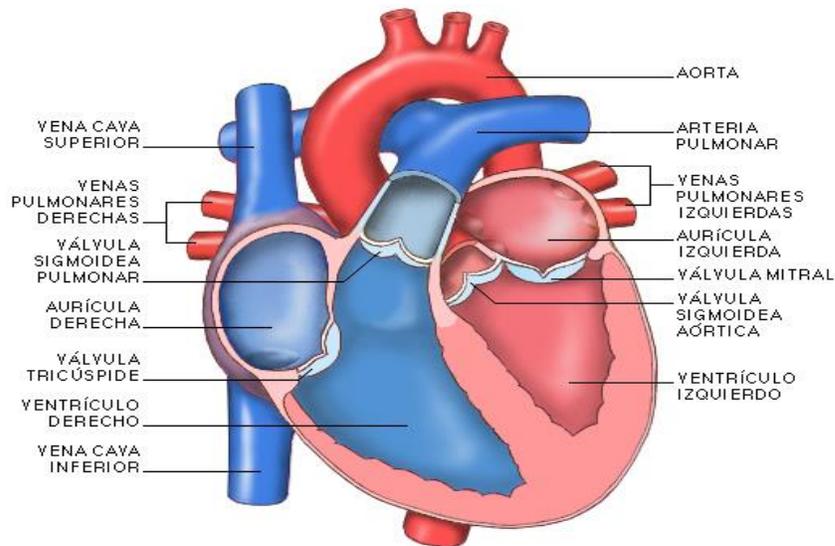


Figura 2. Anatomía del corazón. Esquema de las cavidades y partes de las que consta el corazón, en sus dos partes (izquierda y derecha). [Vélez, 2002].

La sangre no oxigenada vuelve desde el cuerpo a la aurícula derecha. Fluye hacia el ventrículo derecho donde es bombeada a través de la arteria pulmonar una distancia corta hasta los pulmones para oxigenarse, y entonces está lista para ser distribuida nuevamente al cuerpo. Empieza su viaje de retorno al ingresar primero a la aurícula izquierda a través de las venas pulmonares. Fluye luego al ventrículo izquierdo y es bombeada a todo el cuerpo a través de la aorta, para nutrir los tejidos con oxígeno. (Véase figura 3).

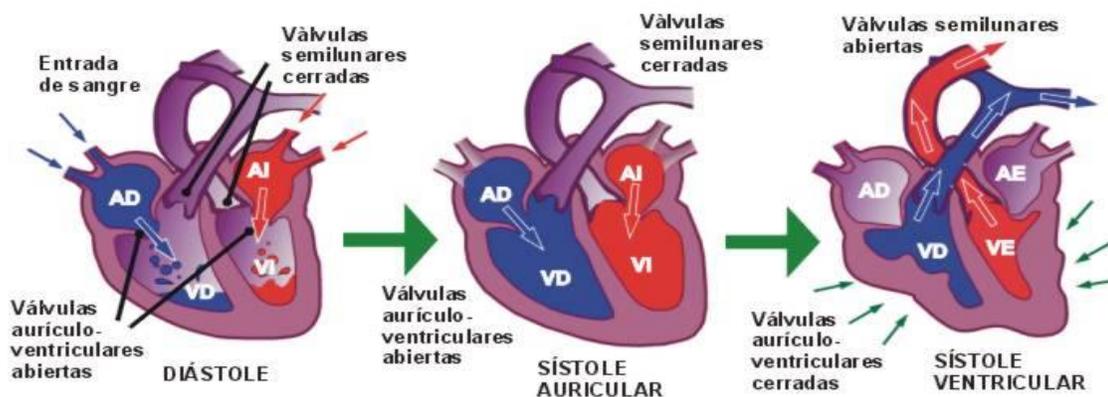


Figura 3. Flujo de sangre a través del corazón. El esquema representa el flujo de sangre desde su entrada al corazón por la aurícula derecha, hasta su salida del mismo el ventrículo izquierdo. [Vélez, 2002].

3.1.3. CÉLULAS CARDIACAS

Cuando evaluamos el corazón encontramos cuatro tipos de células que son: Las células P, las transicionales, las de tipo Purkinje y las miocárdicas que son las encargadas del trabajo contráctil.

A) Células P

Son las células que se encargan de ejecutar la función de marcapaso, se encuentran en mayor abundancia en los Nodos Sinusal (NSA) y Auriculoventricular (NAV), cabe referir que como el que define el inicio de los potenciales en el corazón es el NSA es en él, donde vamos a encontrar la mayor cantidad de éste tipo de células. Las células P, solo pueden estar en contacto con otras células de tipo P o con células de tipo transicional.

A) Células Transicionales (células T)

Son de mayor tamaño con respecto a las células tipo P aunque no más grandes que las encontradas a nivel del miocardio. Dado a que son las únicas células que hacen contacto con las células P, son las encargadas de ayudar a la propagación del impulso nervioso desde el NSA hasta las aurículas y el NAV, encontrándose así en grandes cantidades en éste último.

B) Células tipo Purkinje

Estas células son más alargadas que las fibras miocárdicas de los ventrículos. Tienen la propiedad de conducir los impulsos nerviosos a gran velocidad e igualmente tienen a diferencia de las otras células la propiedad de marcapaso. Se ubican entre el sistema Has de Hiz y las fibras de purkinje.

C) Células del miocardio

El músculo cardíaco, está formado por células alargadas y ramificadas que se unen unas a otras de forma irregular mediante los discos intercalares, cuya función es la de facilitar la conducción de los potenciales eléctricos que se desarrollan a nivel del corazón, el músculo se denomina estriado por que presenta estrías transversales que son visibles a la luz del microscopio.

Las proteínas contráctiles que encontramos en el tejido muscular cardíaco son las mismas que se observan en el tejido esquelético, con la diferencia de que el sistema T (formado por los túbulos transversos) y el retículo sarcoplásmico no se encuentran tan bien organizados como si lo están en el músculo esquelético. Así mismo la organización de éste sistema presenta pequeñas variaciones ya que encontramos un mayor número de sistemas de túbulos transversos a nivel de los ventrículos así como un retículo sarcoplásmico distribuido de forma irregular a todas las fibras musculares que hacen parte del miocardio.⁹

3.1.3.1. CANALES IONICOS

Los canales iónicos son proteínas integrales de la membrana que permite el paso selectivo de algunos iones, en la presencia de algún estímulo. Son principalmente importantes en células excitables, como las neuronas y los músculos.

Los canales iónicos catalizan directamente el flujo de iones que provoca los cambios de voltaje a través de una membrana y, simultáneamente actúan como sensores de señales fisiológicas, como cambio de voltaje o cambio en la concentración de un ligando, organizando los cambios eléctricos de la neurona.¹⁰

Actualmente se conocen dos tipos principales de canales iónicos. Los primeros son los operados por voltaje, y los otros los operados por ligando. De los últimos, todavía se diferencian los activados por un segundo mensajero intracelular y por un ligando externo.¹⁰

Una vez se abre el canal, debe existir un mecanismo para cerrarlo. El mecanismo más aceptado es el de la cadena y la bola. Según este modelo, una compuerta, del lado citoplasmático del canal se cierra. Esta compuerta suelen ser los primeros 20 residuos de una subunidad alpha o beta (o las dos). Un canal iónico se puede volver a abrir, por lo que el canal, al cerrarse, no forma ningún enlace covalente nuevo. Como se mencionó anteriormente, el sistema de cerrar las compuertas está relacionado con el desfavorecer el flujo del ion en cierta dirección. Cuando la concentración del ion cambia, también ocurre un cambio en el potencial de Nernst para este ion. Esto causa el cambio conformacional ya descrito. Sin embargo, al menos en los canales de potasio operados por voltaje, este no es el único mecanismo para cerrar el canal. El otro mecanismo parece no ser tan usado por la célula. Este se basa en un ion de magnesio que tapa el canal. El magnesio se encuentra en el citoplasma, y en ciertas condiciones se ve atraído al canal. Sin embargo, este no puede pasar, teniendo como resultado, cerrar la compuerta.^{10, 11} Véase figura 4.

Se sabe que en los canales operados, la estructura es similar. La diferencia radica en que en vez de ser un cambio de potencial, lo que activa al canal es la presencia de una molécula. Esta molécula causa un cambio electroquímico, que sería equivalente al cambio conformacional realizado por el dipolo. El ejemplo de canal operado por ligando más estudiado es el de la acetilcolina. Este canal se encuentra en las células excitables (músculos y neuronas).

La regulación de los canales iónicos también puede estar regulada por la fosforilación de la proteína. Existen algunos canales iónicos que cuando son fosforilados dejan de funcionar. La mayor parte de canales iónicos presentan una estructura similar, que consta de varias subunidades transmembrana que forman un canal a través del cual pasa el ion. Un agente externo activa el canal, el cual deja pasar selectivamente a un ion. Después de cierto tiempo o estímulo, el canal se cierra de nuevo, mediante otro cambio en su conformación.¹¹

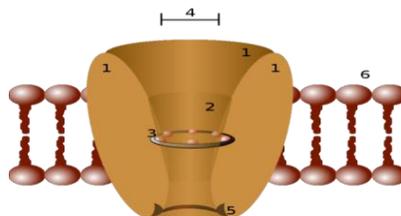


Figura 4. Diagrama esquemático de un canal iónico.

1 - Dominios de canal (normalmente son cuatro por canal), 2 - Vestíbulo exterior, 3 - Filtro de selectividad, 4 - Diámetro del filtro de selectividad, 5 - Sitio de fosforilación. [Silverthorn, 2008].

3.1.4. PROPIEDADES ELECTRFIOLÓGICAS DE UNA CÉLULA CARDIACA

El miocardio es un tejido excitable y presenta 4 propiedades fundamentales:¹²

Excitabilidad (Función Batmotrónica) Es la capacidad de las células de transmitir un potencial de acción.

Automatismo (Función cronotrópica) El corazón genera los impulsos que producen su contracción. El automatismo es una propiedad intrínseca del corazón modulada por factores extrínsecos como la inervación vegetativa, hormonas, iones, temperatura. La prueba más evidente del automatismo cardíaco es que el corazón aislado y perfundido con soluciones salinas adecuadas sigue contrayéndose rítmicamente.

Conducción de impulsos (Función Dromotrópica). Los impulsos generados por el nodo sinoatrial son conducidos por medio del Sistema de conducción eléctrica del corazón. El dromotropismo indica la capacidad del miocardio para conducir estos impulsos.

Contractilidad (Función Inotrópica). La contractilidad del miocardio indica el grado de fuerza que este puede ejercer para vencer la resistencia vascular.

3.1.5. EL SISTEMA DE CONDUCCIÓN ELÉCTRICA DEL CORAZÓN

El sistema de conducción eléctrica del corazón permite que el impulso generado en el nodo sinusal (SA) sea propagado y estimule al miocardio, causando su contracción. Consiste en una estimulación coordinada del miocardio que permite la eficaz contracción del corazón, permitiendo de ese modo que la sangre sea bombeada por todo el cuerpo. (Véase figura 5).

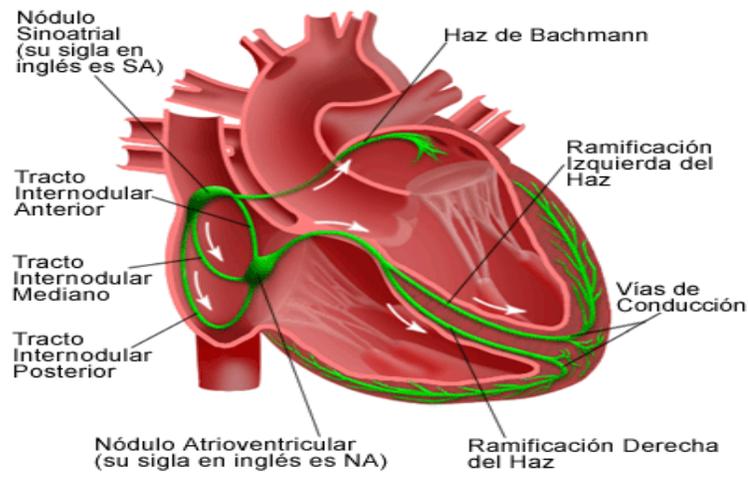


Figura 5. Sistema de conducción eléctrica del corazón. El impulso eléctrico comienza desde el nodo sinusal, pasando por el nodo auriculoventricular hasta propagarse a través de las fibras de Purkinje. [Silverthon, 2002].

El nódulo sinusal, también llamado Sinoauricular (S.A.), de Keith y Flack o Marcapasos del Corazón, está ubicado en la parte posterosuperior de la aurícula derecha, en la entrada de

la vena cava superior. Éste nódulo tiene forma ovalada y es el más grande de los marcapasos cardíacos. Está irrigado por la arteria del mismo nombre, que es una rama de la arteria coronaria derecha (60%) o de la arteria circunfleja (40%). Tiene una rica inervación simpática y parasimpática.

Desde el nódulo sinusal, el impulso eléctrico se desplaza, diseminándose por las aurículas a través de las vías internodales, produciendo la despolarización auricular y su consecuente contracción. En adultos sanos, el nodo sinusal descarga a una velocidad de 60 impulsos por minuto, definiendo así el ritmo sinusal normal, que se traduce en contracciones por minuto.

La onda eléctrica llega luego al nódulo auriculoventricular (AV) o de Aschoff-Tawara, una estructura ovalada, un 40% del tamaño del nódulo sinusal, ubicada en el lado izquierdo de la aurícula derecha, en el tabique interauricular, anterior al orificio del seno coronario y encima de la inserción de la lámina septal de la válvula tricúspide. En el 90% de los casos, este nodo está irrigado por una rama de la arteria coronaria derecha. El nodo AV también tiene una rica inervación simpática y parasimpática. Aquí, la onda eléctrica sufre una pausa de aproximadamente 0,1 segundo.

El impulso cardíaco se disemina luego a través de un haz de fibras que es un puente entre el nódulo auriculoventricular y las ramas ventriculares, llamado haz de His, irrigado por ramas de la arteria coronaria derecha y la arteria descendente anterior (interventricular anterior). El haz de His se divide en 4 ramas: las ramas derecha e izquierda y esta última se divide en el fascículo izquierdo anterior y el fascículo izquierdo posterior, desde donde el impulso eléctrico es distribuido a los ventrículos mediante una red de fibras que ocasionan la contracción ventricular llamadas fibras de Purkinje, desencadenando la contracción ventricular.

En la mayor parte de los casos, las células que pertenecen al sistema de conducción del corazón están irrigadas por ramas de la arteria coronaria derecha, por lo que un trombo en esta arteria puede decirse que tiene un efecto negativo inmediato sobre la actividad cardíaca. Las células miocárdicas son células musculares estriadas compuestas por filamentos de actina y miosina. Están rodeadas por una membrana llamada sarcolema, la cual en sus extremos se engruesa sirviendo de punto de unión de dos células miocárdicas. Estos puntos de unión se conocen por el nombre de discos intercalares, que tienen una baja impedancia eléctrica y, por lo tanto, una gran capacidad para la conducción del estímulo eléctrico de una célula miocárdica a otra.

El sistema eléctrico del corazón tiene una vinculación estrecha con el ECG, correspondiendo a cada etapa del sistema una onda, intervalo o segmento, según corresponda. (Véase figura 6).

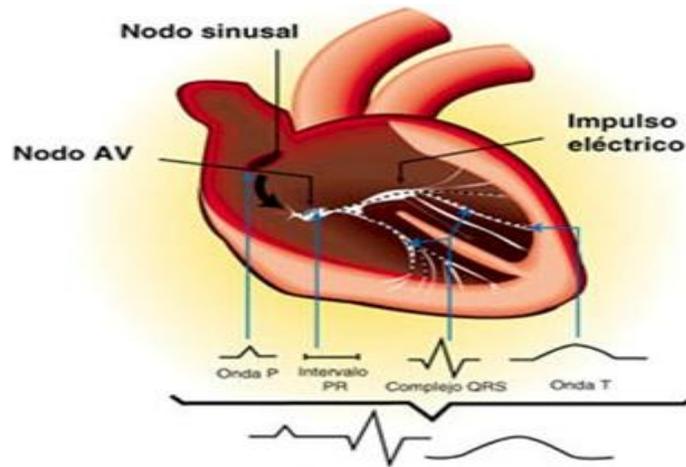


Figura 6. Sistema de conducción eléctrico y ECG. El impulso eléctrico comienza desde el nodo sinusal, pasando por el nodo auriculoventricular hasta propagarse a través de las fibras de Purkinje. [Silverthon, 2002].

3.2. ELECTROCARDIOGRAMA

El electrocardiograma (ECG) es el registro gráfico, en función del tiempo, de las variaciones de potencial eléctrico generadas por el conjunto de células cardíacas y recogidas en la superficie corporal.

Las variaciones de potencial eléctrico durante el ciclo cardíaco producen las ondas características del ECG.

La formación del impulso y su conducción generan corrientes eléctricas débiles que se diseminan por todo el cuerpo. Al colocar electrodos en diferentes sitios y conectarlos a un instrumento de registro como el electrocardiógrafo se obtiene el trazado característico que analizaremos en la práctica.

Las conexiones de entrada al aparato deben ser realizadas de tal forma que una deflexión hacia arriba indique un potencial positivo y una hacia abajo uno negativo.

Para permitir comparación entre los registros obtenidos se han adoptado normas internacionales con respecto a la velocidad del papel (25 mm/seg), la amplitud de calibración (1 mV = 1 cm) y los sitios de la colocación de los electrodos cutáneos (ver Derivaciones).

Elementos del electrocardiograma

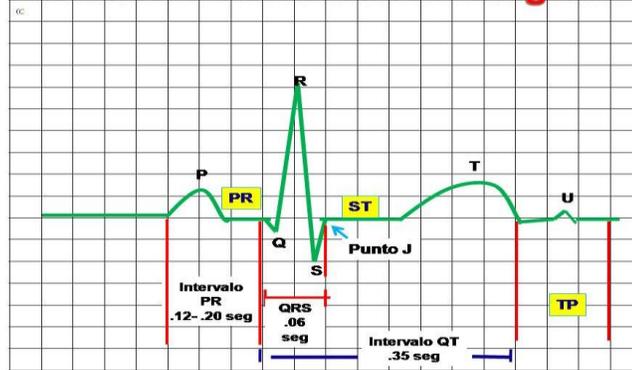


Figura 7. Partes del ECG. Se pueden observar las partes de las que consta un ECG: ondas, intervalos, segmentos y el complejo QT. [Hamm, 125]

La onda P es la señal eléctrica que corresponde a la despolarización auricular. Resulta de la superposición de la despolarización de la aurícula derecha (parte inicial de la onda P) y de la izquierda (final de la onda P). La repolarización de la onda P (llamada onda T auricular) queda eclipsada por la despolarización ventricular (Complejo QRS). Para que la onda P sea sinusal (que provenga del nodo sinusal) debe reunir ciertas características:

1. No debe superar los 0,25 mV (milivoltios). Si lo supera, estamos en presencia de un agrandamiento auricular derecho.
2. Su duración no debe superar los 0,11 segundos en el adulto y 0,07-0,09 segundos en los niños. Si está aumentado posee un agrandamiento auricular izquierdo y derecho.
3. Tiene que ser redondeada, de rampas suaves, simétricas, de cúspide roma y de forma ovalada.
4. Tiene que preceder al complejo ventricular.

El complejo QRS corresponde a la corriente eléctrica que causa la contracción de los ventrículos derecho e izquierdo (despolarización ventricular), la cual es mucho más potente que la de las aurículas y compete a más masa muscular, produciendo de este modo una mayor deflexión en el electrocardiograma.

La onda Q, cuando está presente, representa la pequeña corriente horizontal (de izquierda a derecha) del potencial de acción viajando a través del septum interventricular. Las ondas Q que son demasiado anchas y profundas no tienen un origen septal, sino que indican un infarto de miocardio.

Las ondas R y S indican contracción del miocardio. Las anomalías en el complejo QRS pueden indicar bloqueo de rama (cuando es ancha), taquicardia de origen ventricular, hipertrofia ventricular u otras anomalías ventriculares. Los complejos son a menudo pequeños en la pericarditis.

La duración normal es de 60 a 100 milisegundos. Cuando aparece completo, el complejo QRS consta de tres vectores, nombrados usando la nomenclatura descrita por Willem Einthoven:

Onda Q. Es la primera onda del complejo y tiene valores negativos (desciende en la gráfica del ECG, aunque no siempre es visible).

Onda R. Es la primera deflexión positiva del complejo QRS y en la imagen clásica del ECG, es la de mayor tamaño.

Onda S. Es cualquier onda negativa que siga a la onda R.

La onda T representa la repolarización de los ventrículos. Durante la formación del complejo QRS, generalmente también ocurre la repolarización auricular que no se registra en el ECG normal, ya que es tapado por el complejo QRS. Eléctricamente, las células del músculo cardíaco son como muelles cargados; un pequeño impulso las dispara, despolarizan y se contraen. La recarga del muelle es la repolarización (también llamada potencial de acción).

En la mayoría de las derivaciones, la onda T es positiva. Las ondas T negativas pueden ser síntomas de enfermedad, aunque una onda T invertida es normal en aVR y a veces en V1 (V₂₋₃ en personas de etnia negra).

El segmento ST conecta con el complejo QRS y la onda T. Puede estar reducido en la isquemia y elevado en el infarto de miocardio.

Su duración aproximadamente es de 0,20 segundos o menos y mide 0,5 mV.

El intervalo QT corresponde a la despolarización y repolarización ventricular, se mide desde el principio del complejo QRS hasta el final de la onda T. Éste intervalo QT y el QT corregido son importantes en la diagnosis del síndrome de QT largo y síndrome de QT corto. Su duración varía según la frecuencia cardíaca y se han desarrollado varios factores de corrección para este intervalo.

El más frecuentemente utilizado es el formulado por Bazett y publicado en 1920. La fórmula de Bazett es:

$$QT_c = \frac{QT}{\sqrt{RR}}$$

donde QT_c es el intervalo QT corregido para la frecuencia cardíaca y RR es el intervalo desde el comienzo de un complejo QRS hasta el siguiente, medido en segundos. Sin embargo, esta fórmula tiende a ser inexacta; sobre-corrige en frecuencias cardíacas altas e infra-corrige en las bajas.

3.2.1. DERIVACIONES ESTÁNDARES

Las derivaciones estándares se llaman derivaciones bipolares porque están compuestas por dos electrodos, uno negativo y uno positivo, y el ECG registra la diferencia de potencial eléctrico entre ellos (Véase figura 8).

DERIVACIÓN I. Se forma con el electrodo del brazo derecho, que se designa como negativo y el del brazo izquierdo, que se considera positivo.

DERIVACIÓN II. Se forma con el electrodo del brazo derecho, que se designa como negativo, y el de la pierna izquierda que se considera positivo.

DERIVACIÓN III. Se forma con el electrodo del brazo izquierdo, que se designa como negativo y el de la pierna izquierda, que se considera positivo.

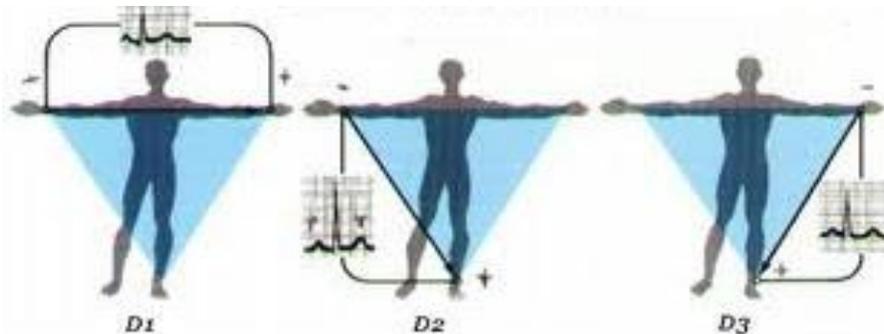


Figura 8. Representación esquemática de las derivaciones estándares. Se pueden observar a la izquierda la primera derivación en la cual se toma como polo positivo la mano derecha, como tierra al pie derecho y como polo negativo la mano izquierda. Para cada derivación aplica el mismo criterio variando únicamente las posiciones. [Hamm, 2010].

Las tres derivaciones estándares forman un triángulo sobre el cuerpo y tiene una relación matemática entre sí, como lo describió Einthoven: la altura o profundidad de los registros de la derivación I más la derivación III es igual a la altura o profundidad del registro en la derivación II (véase figura 9).

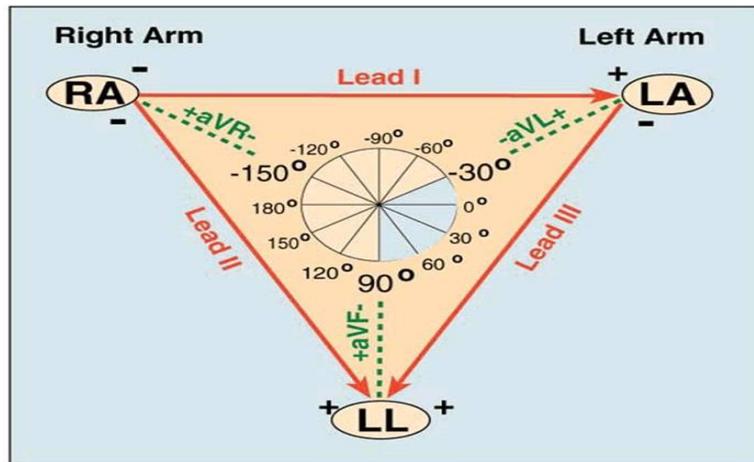


Figura 9. Triángulo de Einthoven. Triángulo que ordena las derivaciones y establece que entre ellas existe una relación matemática. [Hamm, 2010].

3.2.2. DERIVACIONES MONOPOLARES DE LOS MIEMBROS

Registran las variaciones de potencial de un punto con respecto a otro que se considera con actividad eléctrica cero. Se denominan aVR, aVL y aVF, en donde:

A: Aumento y se obtiene al eliminar el electrodo negativo dentro del propio aparato de registro.

V: vector

R (right), L (left) y f (foot): según el lugar donde se coloque el electrodo positivo, brazo derecho, brazo izquierdo o pierna izquierda.

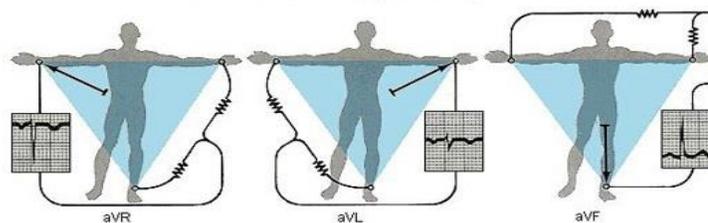


Figura 10. Representación esquemática de las derivaciones monopolares de los miembros. Se puede observar la tendencia del electrocardiograma para cada derivación monopolar. [Hamm, 2010].

3.2.3. DERIVACIONES PRECORDIALES (DE WILSON)

El electrodo se coloca en:

V₁. 4^o espacio intercostal derecho, línea paraesternal derecha.

V₂. 4^o espacio intercostal izquierdo, línea paraesternal izquierda.

V₃. Simétrico entre V₂ y V₄.

V₄. 5^o espacio intercostal izquierdo, línea medioclavicular.

V₅. 5^o espacio intercostal izquierdo, línea anterior axilar.

V₆. 5^o espacio intercostal izquierdo, línea axilar media (Véase figura 11).

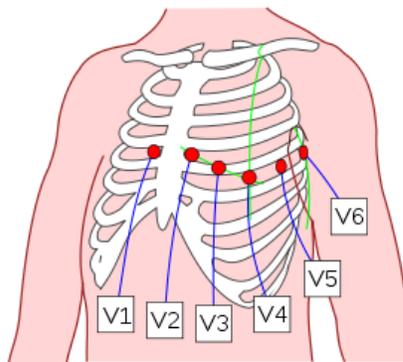


Figura 11. Representación esquemática de las derivaciones precordiales. Estas derivaciones se disponen en la cara anterior del tórax, como se muestra en el esquema y cada una representa una función específica. V₁ y V₂ recogen fundamentalmente la actividad del tabique o septo interventricular, y por ello se denominan "derivaciones septales". En V₃ y V₄, se recoge fundamentalmente la actividad eléctrica de la cara anterior del ventrículo izquierdo, denominándose así "derivaciones anteriores". Por último, V₅ y V₆ detectan la actividad eléctrica de la cara lateral del ventrículo izquierdo, y se denominan "derivaciones laterales". [Hamm, 2010].

3.2.4. DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA Y RITMOS CARDIACOS.

La frecuencia cardíaca es el número de latidos cardíacos que ocurren en un minuto. En el ECG la frecuencia cardíaca se mide de una onda R a la siguiente onda R para determinar la frecuencia cardíaca ventricular, y de una onda P a la siguiente onda P para determinar la frecuencia auricular. Los complejos QRS representan despolarizaciones ventriculares y las ondas P representan despolarizaciones auriculares.

El ritmo cardíaco normal comienza en el nodo SA y prosigue con la despolarización de las aurículas; en el ECG aparece una onda O, que representa la despolarización auricular. El

impulso cardiaco viaja hacia el nodo AV y el haz de His atraviesa las ramas de Haz de His y las fibras de Purkinje y se registra un intervalo PR. El impulso alcanza después el músculo ventricular y aparece un QRS, que representa la despolarización ventricular, seguido de un segmento ST isoelectrico y una onda T que representa la repolarización ventricular. Este ritmo cardiaco se llama ritmo sinusal en donde existen de 60 a 100 latidos por minuto. Los ritmos sinusales se diferencian entre sí por la frecuencia.

La frecuencia que establece el nódulo sinusal puede alterarse por diversos factores, siendo los más importantes el sistema nervioso autónomo y mecanismos químicos.

El sistema nervioso autónomo regula la frecuencia cardiaca a través de impulsos que provienen del centro cardiovascular situado en la unión bulbo-portuberancial. Las fibras simpáticas que se originan en este centro ocasionan un aumento de la frecuencia cardiovascular cardiaca. Así mismo, las fibras parasimpáticas que desde el centro cardiovascular llegan a través del nervio vago al corazón disminuyen la frecuencia cardiaca. Receptores situados en el sistema cardiovascular y receptores musculares informan al centro cardiovascular de cambios en la presión arterial, en la composición química de la sangre y de la actividad física, respectivamente. Ello comporta la llegada de estímulos activadores o inhibidores al centrocervical que ocasiona la respuesta de este a través del SNA.

La regulación química de la frecuencia cardiaca incluye mecanismos relacionados con las hormonas suprarrenales, epinefrina y norepinefrina y con cambios en la concentración de determinados iones intra y extracelulares (K^+ , Ca^{2+} y Na^+).

Otros valores que pueden influir en el valor de la frecuencia cardiaca incluyen edad, género y temperatura corporal.

3.3 INTERVALO QT

El intervalo QT representa eletrocardiográficamente la depolarización y repolarización ventricular, actividad eléctrica mediada por canales, complejas estructuras moleculares ubicadas dentro de la membrana celular del miocito, que regulan los flujos iónicos a través de ella. La rápida entrada de los iones positivos sodio y calcio a través de estos canales es la responsable de la depolarización miocárdica normal, y la repolarización ocurre cuando este flujo es sobrepasado por la salida de iones de potasio. Cuando una disfunción de estos canales resulta en un exceso intracelular de iones cargados positivamente, ya sea por insuficiente salida de potasio o excesiva entrada de sodio, la repolarización ventricular se retrasa y el intervalo QT se prolonga.

El aumento de la duración del intervalo QT en el ECG se ha asociado con un mayor riesgo de arritmias graves y muerte súbita, favoreciendo la aparición de la llamada taquicardia ventricular helicoidal "torsades de pointes"), potencialmente fatal. Hay varios factores implicados en la prolongación del QT. Se han descrito causas ligadas a genes y otras

desencadenadas por uso de medicamentos tanto de uso cardiológico (Ej: amlodarona, sotalol, flecainide), y otros, especialmente drogas antidepresivas y antipsicóticas (Ej: imipramina, haloperidol, quetiapina). En los últimos 10 años se han debido retirar del mercado otras drogas de uso frecuente, que prolongan el QT, por su asociación con la producción de arritmias ventriculares graves (Ej: los antihistamínicos terfenadina y astemizol, y el prokinético gastrointestinal, cisaprida)¹.

Más recientemente, un QT muy acortado, aunque su frecuencia se considera rara, se ha asociado también a muerte súbita.

Por ello, la medición adecuada del QT resulta de importancia clínica. Sin embargo, se ha observado que la mayoría de los médicos no saben medir el QT y no pueden hacer el diagnóstico de síndrome de QT prolongado. En un estudio, 76% de los médicos, incluidos cardiólogos y médicos de urgencia, no sabían definir el QT. En otro, sólo 43% de médicos no cardiólogos midieron el QT correctamente, y en otro, menos de 25% de los médicos, incluidos cardiólogos clínicos, pudieron clasificar correctamente el QT como alargado o normal.

La duración del intervalo QT puede tener variaciones circadianas, de edad y de género, siendo la frecuencia cardíaca el factor más decisivo en su duración. Por tanto, su medición debe ser siempre corregida de acuerdo a ella; éste es el QT corregido. Las mediciones realizadas de manera computacional no son confiables. Para medir adecuadamente el QT basta un ECG de 12 derivaciones, tomado a la velocidad estándar de 25 mm por segundo, en reposo. En caso de evaluar el efecto de alguna droga, el ECG debe ser tomado en el momento de la mayor concentración sanguínea de la droga.

El intervalo QT debe ser medido desde el comienzo del complejo QRS hasta el final de la onda T, que corresponde al punto de intersección de su porción descendente con la línea isoeletrica TP.

Se recomienda medir el intervalo QT en la derivación D2 y V5 o V6, usando el promedio de los valores obtenidos en al menos 3 ciclos cardiacos. Para obtener el QT corregido, se recomienda, a pesar de no ser adecuada para frecuencias rápidas, usar la fórmula de Bazett, en la que el QT medido en segundos se divide por la raíz cuadrada del tiempo del RR precedente expresado en segundos.

Se considera, en general, que el QT corregido no debiera ser mayor a 450 msec en hombres y 470 msec en mujeres. Por sobre esos valores se debiera diagnosticar QT prolongado.

La medición del QT se hace especialmente difícil en presencia de fibrilación auricular, trastornos de la conducción eléctrica, síndrome de preexcitación, ritmo de marcapaso.

También en arritmia sinusal, y en casos de ritmo sinusal regular pero donde la onda T no es fácil de medir, ya sea porque es bifásica o tiene muy cerca una onda U. La onda U debe incluirse en la medida, sólo si es lo suficientemente ancha para estar unida a la onda T. En caso de fibrilación auricular algunos recomiendan usar el QT promedio de 10 latidos en vez de 3; otros en cambio prefieren medir los intervalos QT que siguen al más corto y al más largo de los intervalos RR, dividiendo cada uno por la raíz cuadrada del intervalo RR precedente, y obtener el promedio de ambas mediciones. En los casos de depolarización anormal no hay método estandarizado de medición del QT, estimándose que el QTc no debiera sobrepasar los 500 mseg.

3.4. AISLAMIENTO DE MIOCITOS POR LANGENDORFF

Langendorff o ensayo de corazón aislado y perfundido es una técnica in vitro predominante utilizado en la investigación farmacológica y fisiológica utilizando animales. Permite que el examen de la fuerza contráctil cardiaca y el ritmo cardiaco sin las complicaciones de un animal intacto. Además de que cuando la solución de perfusión se combina con enzimas como colagenasa y proteasa se pueden aislar miocitos facilitando su obtención y con porcentajes de rendimiento elevados.

En la preparación de Langendorff, el corazón es retirado del cuerpo del animal, y se perfunde a continuación, de una manera inversa a través de la aorta, por lo general con una solución oxigenada rica en nutrientes. La presión inversa hace que la válvula aórtica se cierre, forzando a la solución en los vasos coronarios, que suministran normalmente el tejido del corazón con sangre. Esto alimenta de nutrientes y oxígeno al músculo cardíaco, permitiéndole continuar latiendo durante varias horas después de su retirada del animal. Esta es una preparación útil, ya que permite la adición de fármacos (a través de la perfusión) y la observación de su efecto sobre el corazón sin las complicaciones implicadas con la experimentación in vivo. Así como la adición de enzimas que ayuda a la disociación de las células cardiacas. El procedimiento se hace manteniendo las condiciones lo más parecido a los parámetros fisiológicos (Véase figura 12)

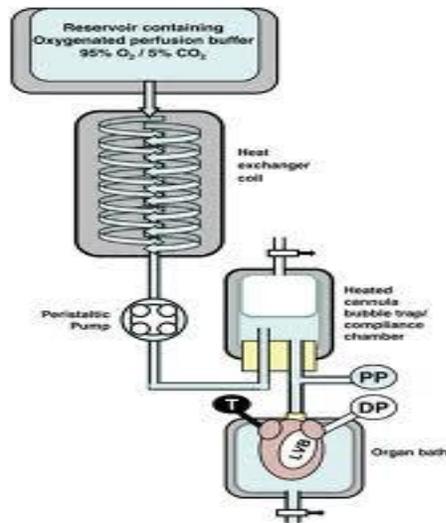


Figura 12. Esquema del sistema de perfusión Langendorff. El sistema cuenta con una bomba peristáltica, un sistema de perfusión y un baño maría, principalmente. [Hayes, 2007].

3.5. PATCH CLAMP

En electroscopia la fijación de membranas es una técnica de laboratorio que permite el estudio individual o múltiple de canales iónicos. Esta técnica puede ser aplicada en una amplia variedad de células, pero es especialmente útil en el estudio de células excitables como las neuronas cardiomiocitos, fibras musculares y células pancreáticas beta. También puede ser aplicada al estudio de los canales iónicos en las bacterias principalmente en esferoplastos gigantes preparados. La fijación de membranas es una mejora de la abrazadera de voltaje, desarrollada por Erwin Neher y Bert Sakmann a finales de los 70 y comienzos de los 80. Este descubrimiento registró las corrientes de un canal iónico por primera vez, demostrando su participación en procesos fundamentales de la célula como la conducción del potencial de acción. Neher y Sakmann recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina en 1991 gracias a este trabajo.

La grabación en la fijación de membrana usa una micropipeta como electrodo que tiene una punta abierta de cerca de un micrómetro de diámetro, un tamaño que encierra un área superficial que a menudo contiene uno o pocos canales iónicos moleculares. Este tipo de electrodo es diferente del Sharp micorelectrode utilizado para implantar células en registros intracelulares tradicionales donde es sellado en la superficie de la membrana celular, en lugar de insertarlas. En algunos experimentos la punta de la micropipeta es calentada en una micro forja para producir una superficie suave que ayuda a formar un sello de alta resistencia con la membrana. El interior de la pipeta es llenado con la solución correspondiente a la composición iónica de la solución de baño, como en el caso de la grabación conectada por células o el citoplasma de todas las células. Un alambre de cloruro

de plata es puesto en contacto con esta solución y conduce la corriente eléctrica al amplificador. El investigador puede cambiar la composición de la solución o adicionar medicinas para estudiar los canales iónicos bajo diferentes condiciones. La micropipeta presiona otra vez la membrana celular para ayudar a la formación de un sello de alta resistencia entre el vidrio y la membrana (un gigasello ya que la resistencia eléctrica es mayor a la de un sello gigahom). La gran resistencia de este sello hace posible aislar eléctricamente las corrientes moderadas a través de la fijación de membrana con la incursión de poco ruido, de esta forma brinda una estabilidad mecánica a la grabación. A diferencia de la grabación tradicional de la abrazadera de voltaje con dos electrodos, la fijación de membranas usa un solo electrodo para registrar corrientes. Muchos amplificadores de la fijación de membranas no utilizan un verdadero circuito de abrazadera de voltaje sino amplificadores diferenciales que utilizan un electrodo para establecer el nivel cero de corriente. Esto permite al investigador mantener un voltaje constante mientras se observa cambios en la corriente. Alternativamente puede ser sujeta completamente manteniendo la energía constante mientras se observan cambios en el voltaje de la membrana.



Figura 13. Acercamiento de pipeta a célula. Vista microscópica de la pipeta de fijación celular. [Walz, 2002].

Algunas variaciones pueden ser aplicadas dependiendo de lo que el investigador quiera estudiar, las técnicas “inside-out” y “outside-out” se llaman membrana extirpada ya que la membrana es removida de la superficie principal de la célula. Las técnicas de agrupación de células y membrana extirpada son usadas para estudiar el comportamiento de canales iónicos individuales en la sección de la membrana unida al electrodo. El “whole-cell patch” y el parche perforado permite al investigador estudiar el comportamiento eléctrico de toda la célula, en lugar de corrientes en un solo canal. El “whole-cell patch” permite acceso al interior de la célula por medio de una resistencia eléctrica baja, actualmente esta técnica ha sustituido en gran medida técnicas de grabación con electrodos de alta resistencia para registrar corrientes a través de toda la membrana celular. Técnica de agrupación de células En esta técnica el electrodo es sellado a un trozo de membrana y la célula permanece intacta. Esto permite la grabación de las corrientes a través de un solo canal iónico en esa parte específica de la membrana, sin perturbar el interior de la célula. Para los canales que están modulados por receptores metatrópicos, el neurotransmisor o droga en estudio es usualmente incluido dentro de la solución en la pipeta, donde puede hacer contacto con lo que había sido la superficie externa de la membrana. Mientras la actividad resultante del canal puede atribuirse a la droga usada, usualmente no es posible cambiar la concentración de la droga.

Así la técnica se limita a un punto en la curva de respuesta de dosis por cada parte. Habitualmente la reacción de la dosis se lleva a cabo usando varias células y membranas. De todas formas el “voltage-gated ion channels” puede ser sujetados en diferentes potenciales de membrana usando la mismo lugar, lo que causa la activación del canal y completa la curva I – v (corriente-voltaje) puede ser estabilizada con una sola fijación de membrana.

“INSIDE-OUT PATCH” Después de la formación del gigasello, la micro pipeta es rápidamente retirada de la célula, de esta forma rasgado el parche de la membrana celular, el parche queda unido a la micro pipeta, de esta forma queda la superficie intracelular de la membrana queda expuesta al medio externo. Esto es muy útil para el investigador cuando desea manipular el medio ambiente en la superficie intracelular de los canales iónicos. Por ejemplo los canales que se activan por ligandos intracelulares pueden ser estudiados a través de un rango de concentraciones de ligandos.

“WHOLE-CELL PATCH” En contraste el “whole-cell patch” involucra grabaciones de Corrientes a través de múltiples canales a la vez sobre toda la membrana celular. El electrodo se deja en el lugar de la célula, pero se aplica mas succión para romper cierta porción de la membrana, produciendo así un acceso al espacio intracelular. La ventaja del “whole-cell patch” sobre la grabación con micro electrodo de punta (puntudo), es que la apertura más grande de la pico en la fijación de membrana provee menor resistencia y en consecuencia mayor acceso eléctrico al interior de la célula. Una desventaja de esta técnica es que el volumen del electrodo es mayor que el de la célula, de este modo el contenido al interior de la célula es lentamente remplazado por el que está en el electrodo, esto se conoce como la dialices del contenido. Debido a esto cualquier propiedad de la célula que dependa del contenido intercelular se altera. Usualmente la solución utilizada en la pipeta se aproxima a un contenido con mucho potasio como en el interior celular. Generalmente el comienzo del “whole-cell patch” tarda aproximadamente 10 minutos, en este espacio es posible hacer mediciones antes de comenzar la diálisis.

“OUTSIDE-OUT PATCH” Después de formado el “whole-cell patch”, el electrodo puede ser lentamente retirado de la célula, permitiendo a un bulbo de la membrana “bleb out” de la célula. Cuando el electrodo está halado lo suficiente, estable se separa de la célula y se reforma como una membrana convexa en el final del electrodo (como una pelota abierta en la punta del electrodo), con la parte exterior de la membrana hacia el exterior del electrodo, de esta manera si el “bleb” de la membrana es lo suficientemente pequeñas posible realizar grabaciones de un solo canal. “Outside-out patch” brinda al investigador la oportunidad de estudiar las propiedades de un canal iónico cuando se aísla de la célula y se expone a diferentes soluciones en la superficie extracelular de la membrana. Esta es la ventaja distintiva que tiene el “Outside-out patch” frente al “whole-cell patch”. Sin embargo es más difícil de realizar ya que conlleva más pasos en su elaboración.

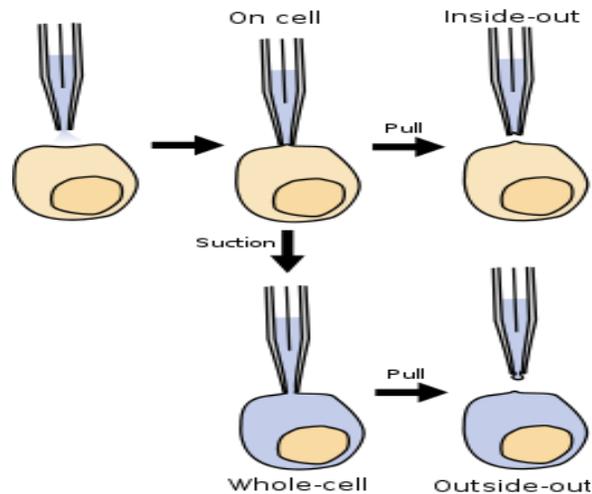


Figura 14. Representación esquemática de las variantes de patch clamp. Las diferentes variaciones de la técnica de patch clamp son utilizadas para un estudio dado o condiciones de trabajo establecidas, siendo la más usada Whole-cell. [Walz, 2002].

3.6. ARRITMIAS CARDIACAS

El término arritmia cardíaca implica no sólo una alteración del ritmo cardíaco, sino que también cualquier cambio de lugar en la iniciación o secuencia de la actividad eléctrica del corazón que se aparte de lo normal.

El ritmo cardíaco será considerado normal, cuando se origine en el nódulo sinusal y se conduzca a través de todas las estructuras cardíacas por las vías acostumbradas en forma normal. De acuerdo con este concepto un simple retardo en la conducción de los impulsos o una secuencia de activación anormal (como ocurre en los bloqueos de ramas y en las preexcitaciones) serán considerados también una arritmia cardíaca.

Existen distintas formas de clasificar las arritmias cardíacas.

A) Según el lugar donde se originen: 1) Supraventriculares (nodo sinusal, aurículas y unión AV); 2) Ventriculares.

B) Según el mecanismo de producción: 1) Alteración del automatismo y/o; 2) Alteración de la conducción.

C) Desde el punto de vista de la presentación clínica: 1) Paroxítica; o, 2) Permanentes.

D) Según la forma de expresión electrocardiográfica: 1) Hiperactivas; 2) Hipoactivas

Tabla 1. Clasificación de las arritmias cardiacas con su forma de presentación

Arritmias supraventriculares	Trastornos de la conducción	Arritmias ventriculares
<ul style="list-style-type: none"> - Taquicardia sinusal. - Bradicardia sinusal. - Arritmia sinusal. - Paro sinusal. - Contracción auricular prematura (CAP). - Flutter auricular. - Fibrilación auricular. - Fibrilo-flutter auricular. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ritmo de la unión A-V. - Taquicardia nodal. - Bloqueos AV. - Ritmo idioventricular acelerado (RIVA). - Bloqueos de rama. 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrasístoles ventriculares. - Taquicardia ventricular. - Flutter y fibrilación ventricular.

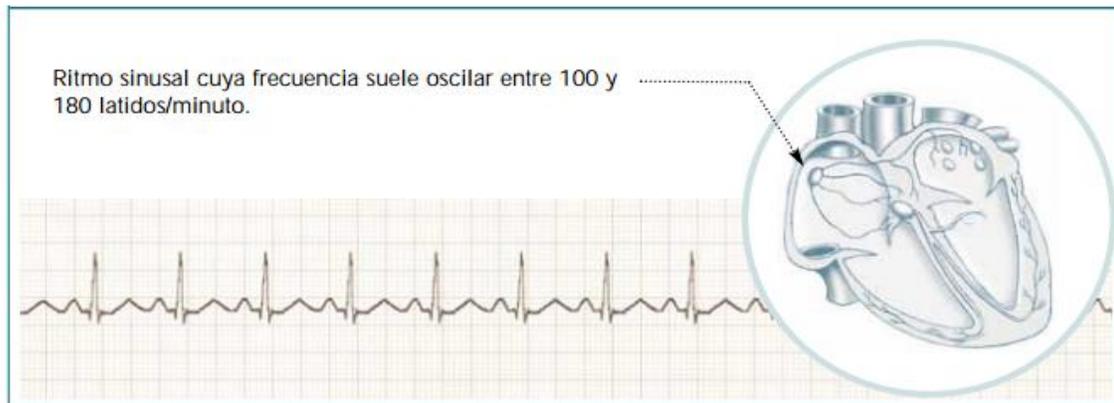


Figura 15. Taquicardia sinusal, 100 latidos por minuto. [Gutiérrez, 2002].

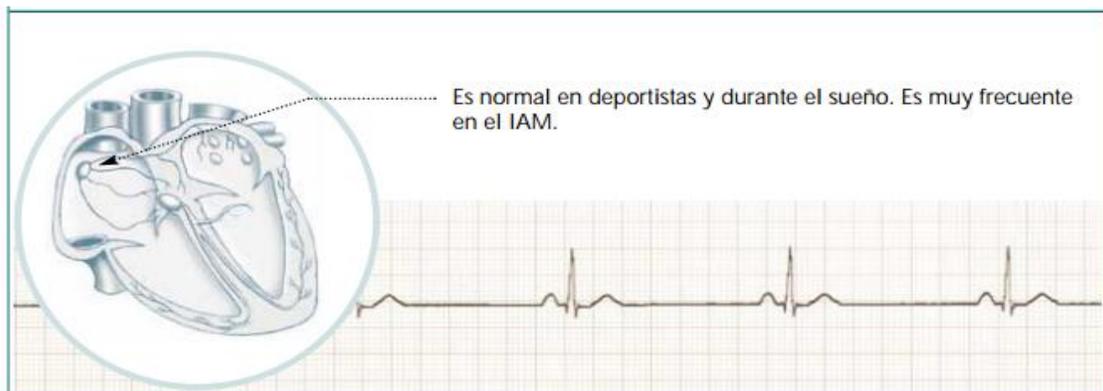


Figura 16. Bradicardia sinusal, 40 latidos por minuto. [Gutiérrez, 2002].

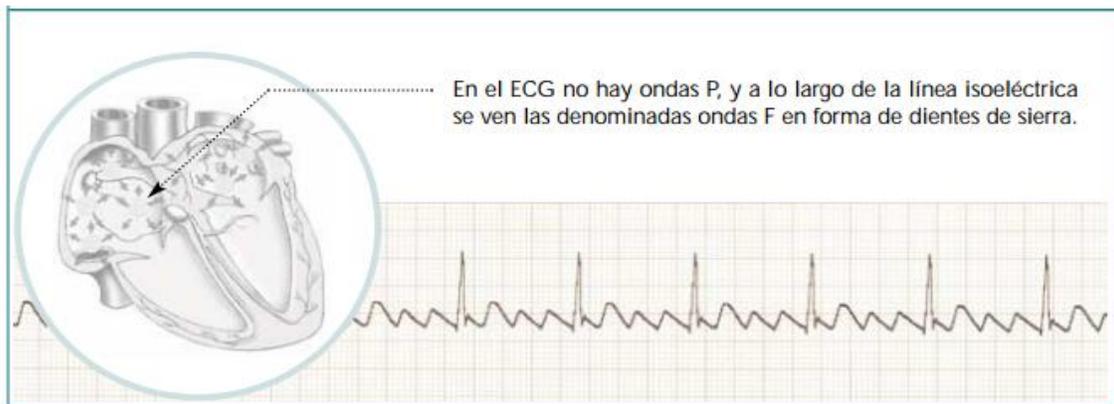


Figura 17. Flutter auricular. [Gutiérrez, 2002].

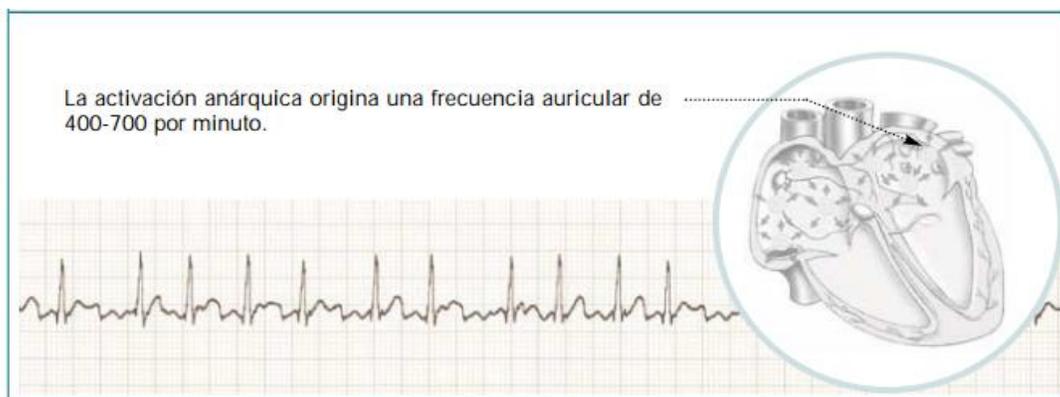


Figura 18. Fibrilación auricular. [Gutiérrez, 2002].

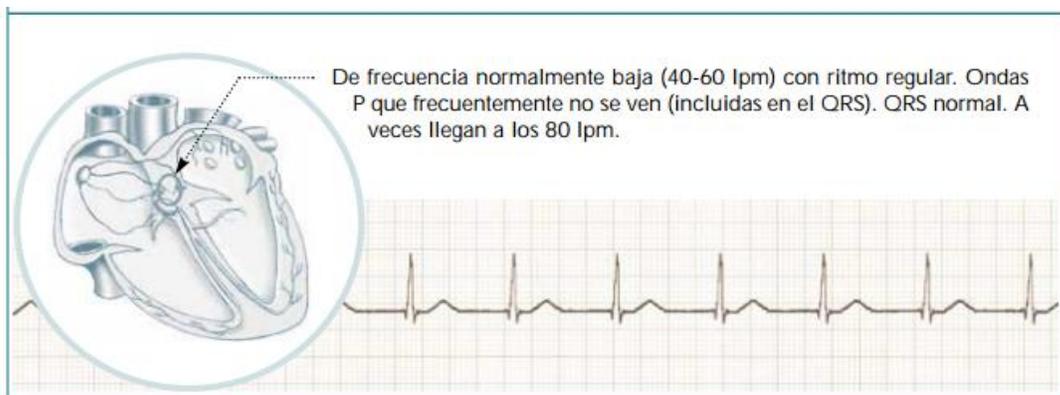


Figura 19. Ritmos de la unión AV, 80 latidos por minuto. [Gutiérrez, 2002].

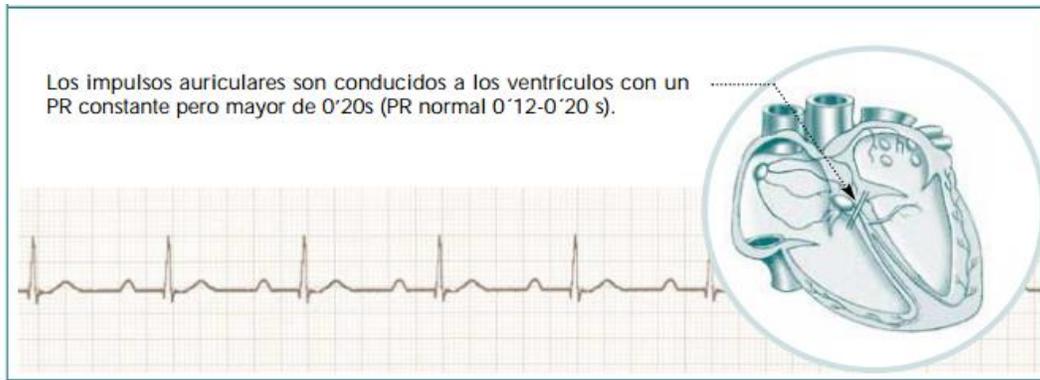


Figura 20. Bloqueo aurículo-ventricular, primer grado. [Gutiérrez, 2002].

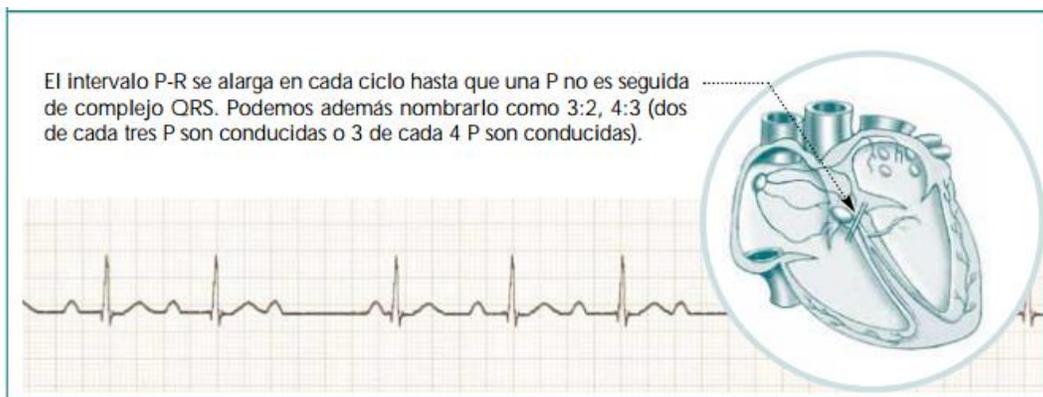


Figura 21. Bloqueo aurículo-ventricular, segundo grado, tipo I.[Gutiérrez, 2002].

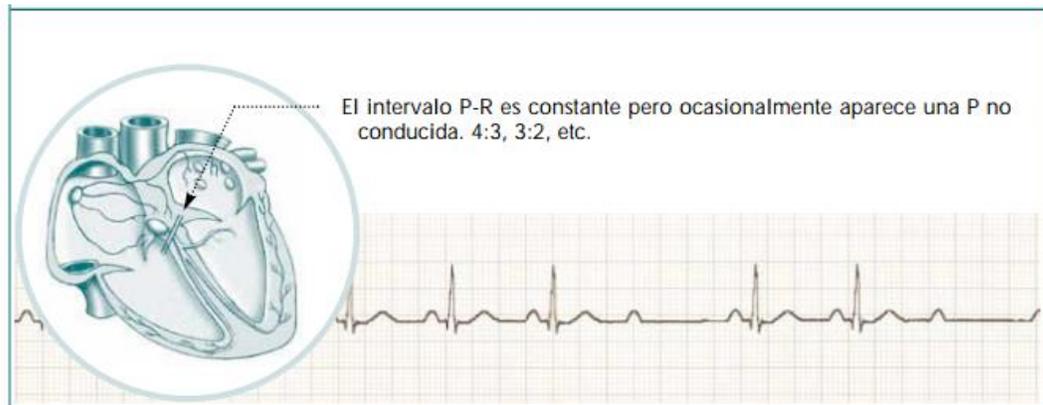


Figura 22. Bloqueo aurículo-ventricular, segundo grado, tipo II. [Gutiérrez, 2002].

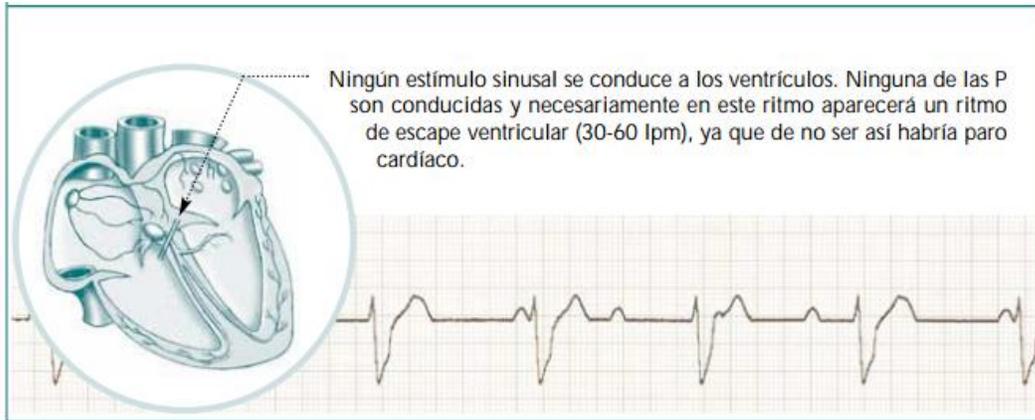


Figura 23. Bloqueo aurículo-ventricular, tercer grado. [Gutiérrez, 2002].

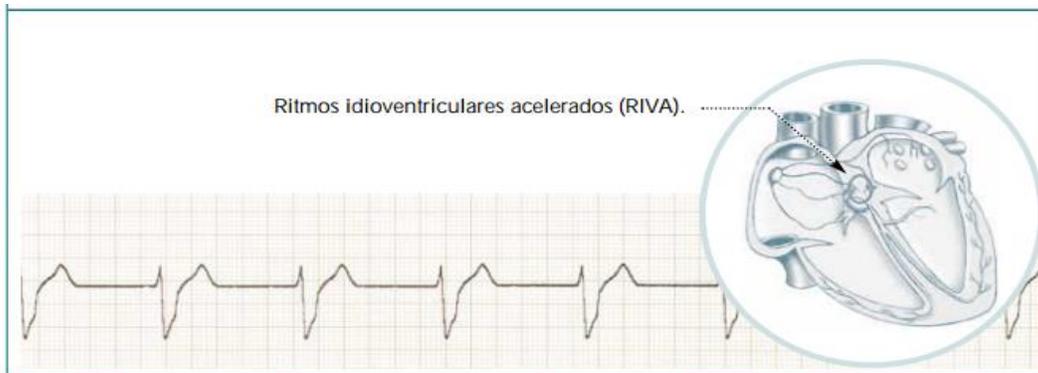


Figura 24. Ritmo idioventricular, 55 latidos por minuto. [Gutiérrez, 2002].

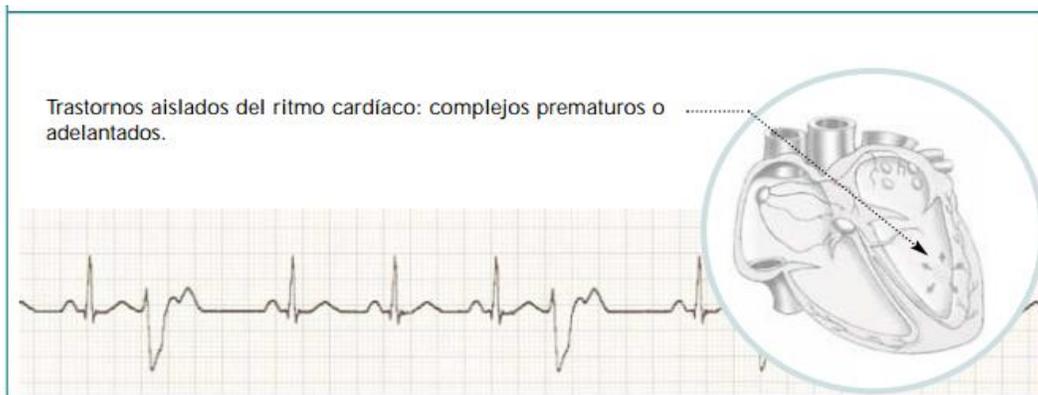


Figura 25. Extrasístole ventricular unifocal. [Gutiérrez, 2002].

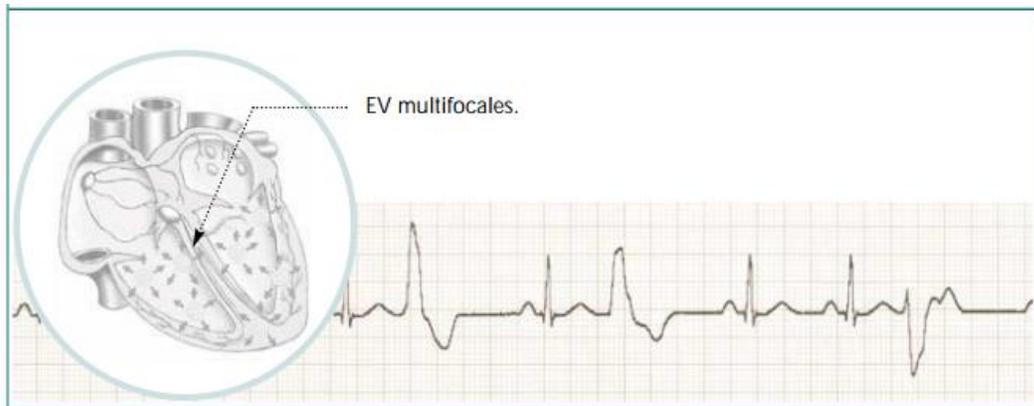


Figura 26. Extrasístole ventricular multifocal. [Gutiérrez, 2002].

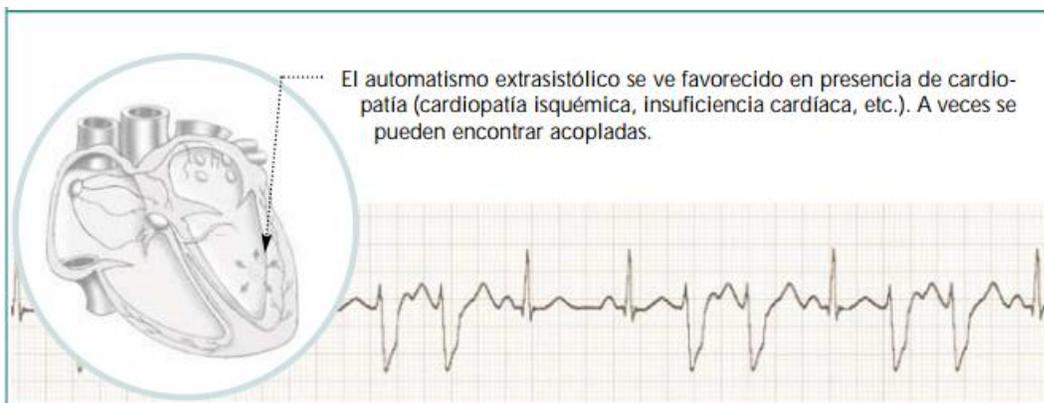


Figura 27. Extrasístole ventricular acoplada. [Gutiérrez, 2002].

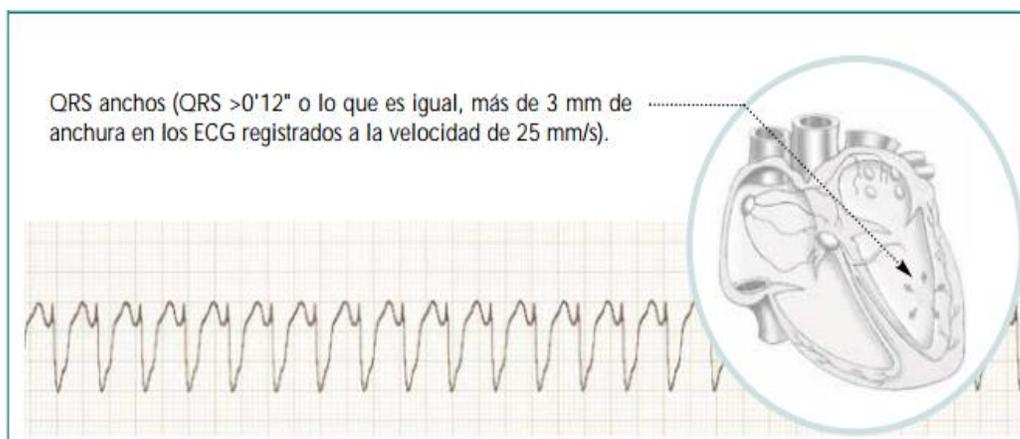


Figura 28. Taquicardia ventricular, 180 latidos por minuto. [Gutiérrez, 2002].

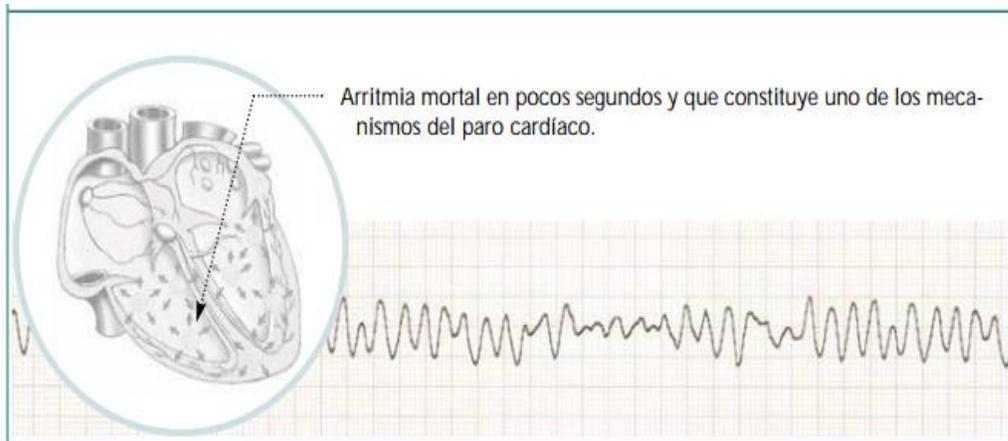


Figura 29. Fibrilación ventricular, 180 latidos por minuto. [Gutiérrez, 2002].

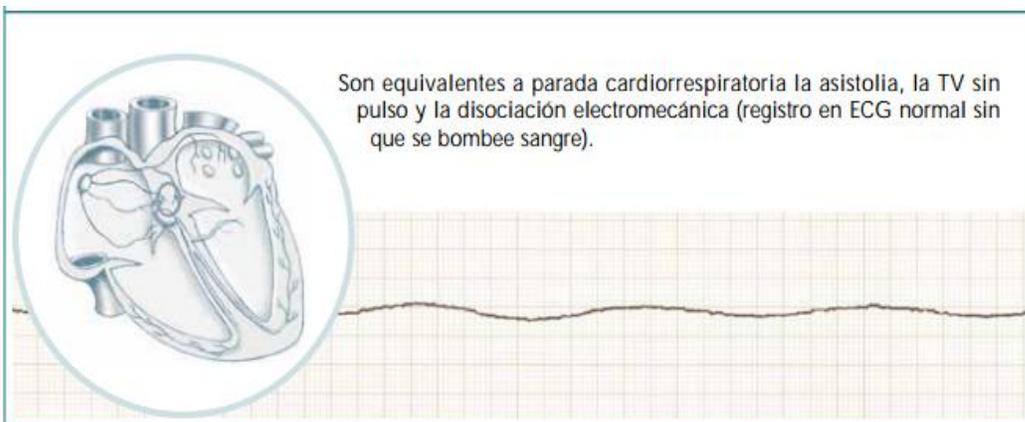


Figura 30. Asistolia. [Gutiérrez, 2002].

3.7. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), es decir, del corazón y de los vasos sanguíneos, son:

- La cardiopatía coronaria – enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el músculo cardíaco (miocardio);
- Las enfermedades cerebrovasculares – enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro;
- Las arteriopatías periféricas – enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan los miembros superiores e inferiores;

- La cardiopatía reumática – lesiones del miocardio y de las válvulas cardíacas debidas a la fiebre reumática, una enfermedad causada por bacterias denominadas estreptococos;
- Las cardiopatías congénitas – malformaciones del corazón presentes desde el nacimiento; y
- Las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares – coágulos de sangre (trombos) en las venas de las piernas, que pueden desprenderse (émbolos) y alojarse en los vasos del corazón y los pulmones.

Los ataques al corazón y los accidentes vasculares cerebrales (AVC) suelen ser fenómenos agudos que se deben sobre todo a obstrucciones que impiden que la sangre fluya hacia el corazón o el cerebro. La causa más frecuente es la formación de depósitos de grasa en las paredes de los vasos sanguíneos que irrigan el corazón o el cerebro. Los AVC también pueden deberse a hemorragias de los vasos cerebrales o coágulos de sangre.

3.7.1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Enfermedad crónica caracterizada por un incremento continuo de las cifras de la presión sanguínea en las arterias. Aunque no hay un umbral estricto que permita definir el límite entre el riesgo y la seguridad, de acuerdo con consensos internacionales, una presión sistólica sostenida por encima de 139 mmHg o una presión diastólica sostenida mayor de 89 mmHg, están asociadas con un aumento medible del riesgo de aterosclerosis y por lo tanto, se considera como una hipertensión clínicamente significativa.

La hipertensión arterial se asocia a tasas de morbilidad y mortalidad considerablemente elevadas, por lo que se considera uno de los problemas más importantes de salud pública, especialmente en los países desarrollados, afectando a cerca de mil millones de personas a nivel mundial. La hipertensión es una enfermedad asintomática y fácil de detectar; sin embargo, causa complicaciones graves y letales si no se trata a tiempo. La hipertensión crónica es el factor de riesgo modificable más importante para desarrollar enfermedades cardiovasculares, así como para la enfermedad cerebrovascular y renal. Se sabe también que los hombres tienen más predisposición a desarrollar hipertensión arterial que las mujeres, situación que se modifica cuando la mujer llega a la menopausia, ya que antes de esta posee hormonas protectoras que desaparecen en este periodo, a partir de ese momento la frecuencia se iguala, por lo tanto la mujer debe ser más vigilada para esta enfermedad en los años de la menopausia.

La hipertensión arterial, de manera silente, produce cambios en el flujo sanguíneo, a nivel macro y microvascular, causados a su vez por disfunción de la capa interna de los vasos sanguíneos y el remodelado de la pared de las arteriolas de resistencia, que son las responsables de mantener el tono vascular periférico. Muchos de estos cambios anteceden en el tiempo a la elevación de la presión arterial y producen lesiones orgánicas específicas.

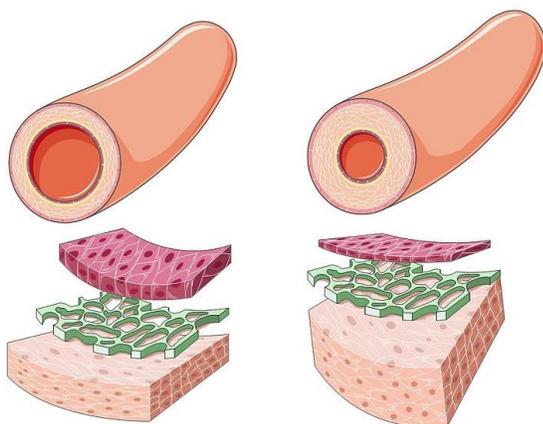


Figura 31. Proceso de remodelado arterial en la hipertensión arterial. Como mecanismos de compensación en la hipertensión arterial se da un engrosamiento de los vasos que permite soportar la resistencia ocasionada por la sangre. A la izquierda podemos ver un vaso con remodelado arterial. [Storad, 2005].

La presión arterial se expresa con dos medidas, la presión arterial sistólica y diastólica, como por ejemplo 120/80 mmHg. La presión arterial sistólica (la primera cifra) es la presión sanguínea en las arterias durante la sístole ventricular, cuando la sangre es expulsada desde el corazón a las arterias; la presión arterial diastólica (el número inferior) es la presión en la diástole, cuando el corazón se relaja y la presión arterial cae.

Las guías clínicas del manejo de la hipertensión arterial clasifican la hipertensión en fases o estadios (ver tabla 2), que tendrán distinto pronóstico y tratamiento. Estas clasificaciones se obtienen haciendo la media de las lecturas de la presión arterial del paciente en reposo tomadas en dos o más visitas. Los individuos mayores de 50 años se clasifican como hipertensos si su presión arterial es de manera consistente al menos 140 mmHg sistólica o 90 mmHg diastólica. La hipertensión es un factor de riesgo cardiovascular; el tratamiento antihipertensivo irá enfocado a reducir el riesgo cardiovascular global, por lo tanto, al instaurar el tratamiento se tendrán en cuenta, además de las cifras de presión arterial, la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular, como enfermedad renal o cardiovascular establecida, diabetes o síndrome metabólico.

Tabla 2. Clasificación de la PA medida en consulta según las distintas guía

3.7.2 CEREBROVASCULARES

Comprenden un conjunto de trastornos de la vasculatura cerebral que conllevan a una disminución del flujo sanguíneo en el cerebro (flujo sanguíneo cerebral o FSC) con la consecuente afectación, de manera transitoria o permanente, de la función de una región generalizada del cerebro o de una zona más pequeña o focal, sin que exista otra causa

Según AHA (2003)	Según ESC (2007)	Según NICE en consulta (2011)	Presión sistólica (mmHg)			Presión diastólica (mmHg)	
			mmHg	kPa		mmHg	kPa
Normal	Óptima	Normal	<120	<16	y	<80	<10.5
Prehipertensión	Normal		120-129	16.0-17.2	ó	80-84	10.7-11.2
	Normal-alta		130-139	17.3-18.5	ó	85-89	11.3-11.9
HTA estadio 1	HTA grado 1	HTA estadio 1	140-159	18.7-21.2	ó	90-99	12.0-13.2
HTA estadio 2	HTA grado 2	HTA estadio 2	160-179	21.3-23.8	ó	100-109	13.3-14.5
	HTA grado 3	HTA grave	≥180	≥23.9	ó	≥110	≥14.6
Hipertensión sistólica aislada			≥140	≥18.7	y	<90	<12.0

aparente que el origen vascular. La enfermedad cerebrovascular trae como consecuencia procesos isquémicos (de falta de sangre) o hemorrágicos (derrames), causando o no la subsecuente aparición de sintomatología o secuelas neurológicas. La hipertensión arterial (HTA) es el principal factor de riesgo de la enfermedad cerebrovascular.

La enfermedad cerebrovascular puede causar desde una aneurisma hasta una diabetes insípida. Incluyen también trastornos vasculares que afectan a los ojos y los oídos. Existen diversas formas de clasificar la enfermedad cerebrovascular. Según el tiempo de evolución de la ECV se agrupan en:

- Accidente isquémico transitorio (AIT). Es cuando los síntomas de la focalidad neurológica se recupera en menos de 24 horas sin secuelas, de inicio súbito que por lo general dura menos de 15 minutos.
- Déficit isquémico neurológico reversible (RIND). Es cuando la duración del déficit persiste por más de 24 h, pero los síntomas desaparecen en un plazo de 7 a 21 días, sin secuelas.
- Accidente cerebrovascular (ACV) establecido: el déficit neurológico de origen vascular persiste y no se modifica por más de tres semanas desde su instauración y deja secuelas.
- ACV estable: el déficit neurológico persiste sin modificaciones por 24 horas (en los casos de origen carotídeo) o 72 horas (en los casos de origen vertebrobasilares), pudiendo luego evolucionar hacia un RIND o ACV establecido.
- ACV en evolución o progresivo: la focalidad neurológica aumenta y el cuadro empeora o aparece nueva clínica en 24 a 48 horas.
- ACV con tendencia a la mejoría o secuelas mínimas: son casos con un curso regresivo de modo que la recuperación al cabo de 3 semanas es mayor al 80%.

Lo más frecuente es dividirlos en dos grupos según el mecanismo, así suele ser de tipo isquémico (de falta de sangre) o hemorrágico (derrame cerebral):

- Isquémico (85% de los casos).
 - Trombótico
 - Infarto lacunar: oclusión de vasos cerebrales pequeños ocluyendo la irrigación sanguínea de un volumen pequeño de tejido cerebral.
 - Infarto de un gran vaso sanguíneo
 - Embólico
 - Cardioembólico: la embolia proviene del corazón, con frecuencia, de la aurícula cardíaca.
 - Arteria-arteria
 - Criptogénico: la oclusión de un vaso intracraneal sin causa aparente.
 - De otras causas
- Hemorrágico (derrame cerebral).
 - Intraparenquimatoso
 - Subdural
 - Epidural
 - Subaracnoideo

También pueden ser clasificados en función del área en el cerebro donde ocurre el mayor daño o por el territorio vascular afectado y el curso clínico del trastorno.

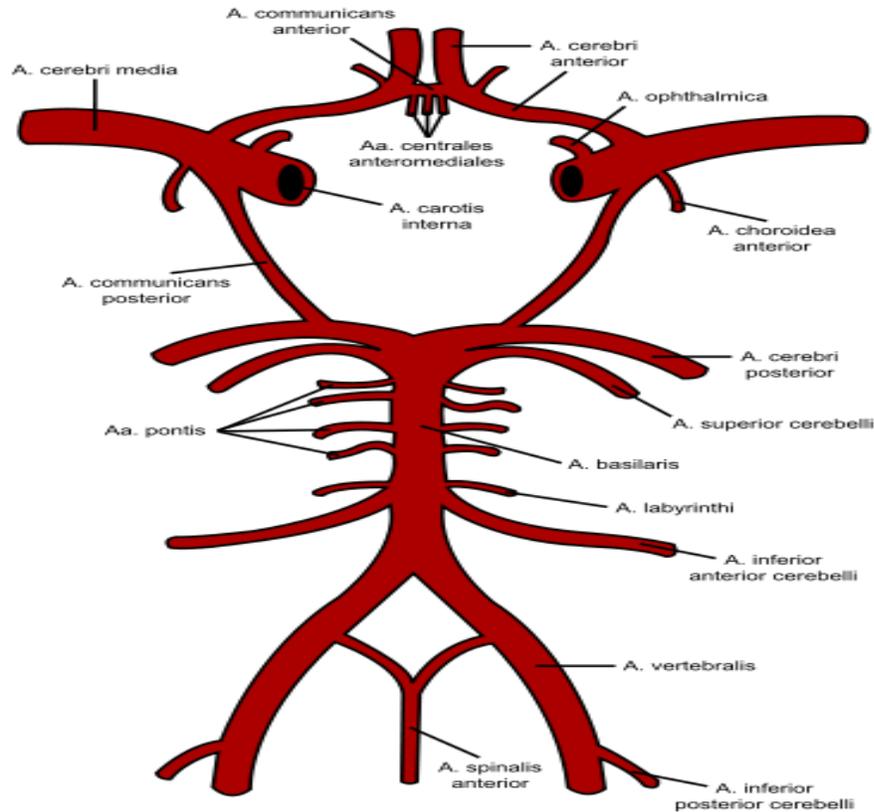


Figura 32. Polígono de Willis, punto de encrucijada de la circulación cerebral. Las vías principales del flujo colateral están marcadas con flechas. No se muestran otras vías procedentes de la circulación extracraneal. [Cottrell, 2003].

3.7.3 INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO

Es la muerte de un segmento mayor o menor del corazón, ocasionado por un desequilibrio entre el abastecimiento y la demanda de oxígeno en el músculo cardíaco por obstrucción transitoria o definitiva de las arterias coronarias.

Puede presentarse en cualquier momento. Conforme envejecemos, las arterias coronarias se van estrechando debido a placas de colesterol depositadas en sus paredes (ateroesclerosis), lo que ocasiona una disminución en el flujo de sangre y de oxígeno al corazón, produciendo un "ataque cardíaco". En ocasiones una placa de grasa obstruye la luz de las arterias coronarias, en otras circunstancias un coágulo puede obstruir los vasos y en otras puede haber espasmo o vasoconstricción coronaria con o sin ateroma.

La función de bombeo de sangre a partir del corazón depende de la integridad del músculo cardíaco, de forma tal que una lesión del miocardio ocasiona un bombeo inadecuado al

organismo. Un infarto puede obstruir una o más ramas coronarias y causar la muerte en uno o varios segmentos del corazón:

- Si una gran parte del músculo cardiaco muere, el corazón es incapaz de bombear la sangre al resto del cuerpo provocando contracciones desordenadas insuficientes para provocar una contracción útil, a las que se les denomina fibrilación.
- La falta de riego sanguíneo puede afectar a las células que forman el marcapaso cardiaco, originando arritmias fatales o paro cardiaco súbito ya que la sincronía del latido cardiaco se debe a este foco de marcapaso, provocando ritmos irregulares, ritmos muy rápidos o ritmos muy lentos, todos ellos incapaces de ofrecer un volumen de sangre útil.
- Algunas veces el músculo cardiaco puede debilitarse (aneurisma) y ocasionar una ruptura que en el peor de los casos puede originar una hemorragia.

Factores para el desarrollo de un infarto:

- Estrés mental.
- Hostilidad.
- Ansiedad.
- Infecciones respiratorias.
- Embolias pulmonares.
- Disminución de la glucosa sanguínea.
- Medicamentos: ergotamina.

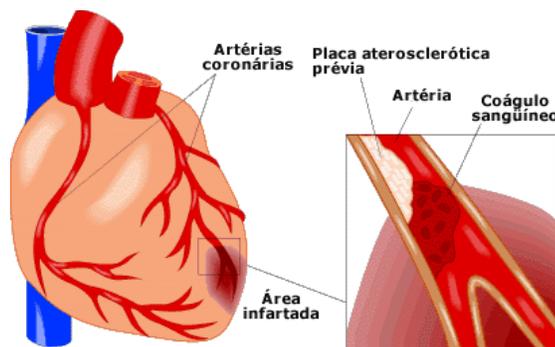


Figura 33. Representación esquemática de un infarto agudo al miocardio. En la imagen se puede observar un IMA característico de la formación de un coágulo, el cual obstruye la arteria coronaria impidiendo la correcta circulación sanguínea, lo cual ocasiona necrosis del área que no está siendo irrigada (área infartada). [Jadaque, 1988].

3.8. FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS

Para las arritmias cardiacas existen dos tipos de tratamientos, los farmacológicos y los no farmacológicos dentro de los no farmacológicos en contratamos a los marcapasos, cardioversión eléctrica, desfibradores implantables y ablación por radiofrecuencia. Estos métodos son de elevado costo y algunos requieren de intervención quirúrgica para poder ser implantados, es por el ello que se ha recurrido al uso de medicamentos con el fin de tratar esta patología, a este grupo de medicamentos se les conoce como antiarrítmicos.

Todos los antiarrítmicos actúan alterando el flujo de iones en los tejidos excitables del miocardio. Los tres iones de mayor importancia son sodio, potasio y calcio. Los antiarrítmicos se clasifican por su capacidad para bloquear directa o indirectamente el flujo de uno o más de estos iones.

Clasificación de los antiarrítmicos según los efectos electrofisiológicos sobre el potencial de acción:

- Clase I: Bloqueadores de canal de sodio
- Clase II: Bloqueadores Beta adrenérgicos
- Clase III: Bloqueadores de canales de potasio
- Clase IV: Antagonistas de calcio
- Clase V: Agentes cuya función es por otros mecanismos o por mecanismos desconocidos: Adenosina, sales de potasio y magnesio.

Para poder estudiar a los antiarrítmicos es necesario conocer el potencial de acción cardiaco, para ello observar la siguiente figura:

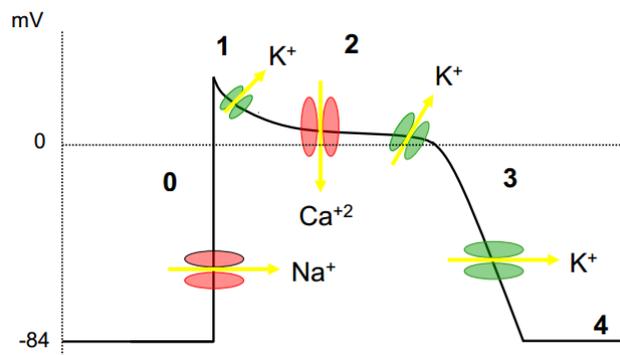


Figura 34. Esquema del potencial de acción cardiaco. En donde los números representan las fases. Tiene 5 fases, numeradas del 0 al 4. La fase 4 es el potencial de reposo de la membrana, y describe el PA cuando la célula no está estimulada. [Gal, 2005].

3.8.1. GRUPO I O BLOQUEADORES DE CANALES DE Na⁺

En la clase encontramos fármacos que bloquean los canales de Na⁺ dependientes del voltaje. Inhiben la corriente de sodio y, por lo tanto, disminuyen la velocidad de conducción y la excitabilidad cardíacas. Se subclasifican en:

- Grupo Ia: fármacos con cinética de recuperación intermedia (quinidina, procainamida, disopiramida).
- Grupo Ib: fármacos con cinética de recuperación rápida (lidocaína, mexiletina, apirindina).
- Grupo Ic: fármacos con una cinética lenta de recuperación del bloqueo (propafenona, flecainida).

La actividad del canal de sodio media el inicio de la despolarización celular en el nervio y en el músculo. Permite la transmisión rápida del estímulo eléctrico en aurículas y ventrículos, en realidad, la apertura del canal de sodio es la base del complejo QRS del ECG que determina la contracción ventricular sincrónica. También funciona como receptor primario para la lidocaína y otros antiarrítmicos de clase I. La presencia de anomalías genéticas en su codificación se traduce en verdaderas entidades clínicas potencialmente letales, como los síndromes de QT prolongado y de Brugada.⁴⁰

En la estructura del canal de sodio se reconoce una macromolécula compuesta por 3 subunidades (una subunidad α y dos β). Las subunidades β permiten el anclaje del conjunto a la membrana. La subunidad α -integrada por los dominios I, II, III y IV- funciona como un poro que selecciona el pasaje de los iones sodio a través del filtro. De manera análoga al modelo de la estructura básica, el filtro está conformado por los segmentos P dispuestos en el extremo citosólico del canal. Un sistema de compuertas (denominadas "m" y "h") se acciona en respuesta a cambios de voltaje de la membrana detectados por un sistema de sensores de voltaje del que participan los segmentos S4 de los 4 dominios. La idea que los sensores actúan en forma equivalente e independiente es incorrecta. Cada segmento S4 contribuye en forma asimétrica con el proceso de activación y algunos residuos participan más que otros, aunque estén ubicados en posiciones homólogas. El resultado final es más que una suma, se trata de un efecto cooperativo. En particular el S4 del IV dominio, experimenta un cambio conformacional y una traslación de 5 Å en respuesta a variaciones del potencial de membrana detectables por el sensor y entonces, se dice que se ha alcanzado el potencial umbral. El movimiento de S4 arrastra por tracción de la compuerta "m" produciéndose la apertura del canal. En estas condiciones, es posible el ingreso de iones en forma masiva (véase figura 35)

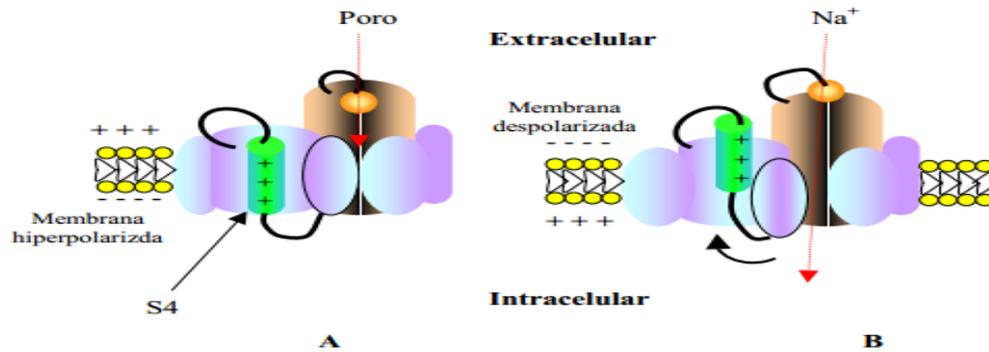


Figura 35. Mecanismo de apertura del canal de sodio. El sensor S4 del dominio IV, frente a variaciones en el voltaje de la membrana, experimenta un cambio conformacional con tracción de la compuerta “m” lo que determina la apertura del poro y el ingreso de iones. La selectividad está a cargo del filtro en el otro extremo del canal. [Gal, 2005].

3.8.2. GRUPO II O BLOQUEADORES BETA-ADRENÉRGICOS

Agentes que se oponen al sistema nervioso simpático la mayoría de ellos β bloqueantes.

En los receptores beta adrenérgicos bajo condiciones fisiológicas, las 4 propiedades cardíacas se pueden mantener por el funcionamiento de los receptores β . Esta influencia tan generalizada se explica por la amplia Administración: Digoxina Digoxina + Quinidina distribución que presentan en el tejido cardíaco. Se han identificado diversas subfamilias de receptores β (β_1 , β_2 , β_3). El receptor β_1 , cumple una función moduladora de la contractilidad que, en condiciones fisiológicas, es compartida con el receptor β_2 .

A su vez -si bien predominan en el tejido adiposo y gastrointestinal- el receptor β_3 también ha sido aislado en el miocito cardíaco y con propiedades antagónicas a los otros 2 en la función contráctil. El mecanismo de acción de los receptores β está mediado por un cambio conformacional de una proteína de la membrana (proteína G) que permite la activación de una enzima (adenil-ciclase o guanidil-ciclase) con elevación de los niveles de AMP cíclico (o GMP cíclico), que actúa como segundo mensajero dentro de la célula y, a través de la activación de otra enzima (kinasa), acondiciona un canal transmembrana que permite el flujo iónico correspondiente (véase figura 36.)

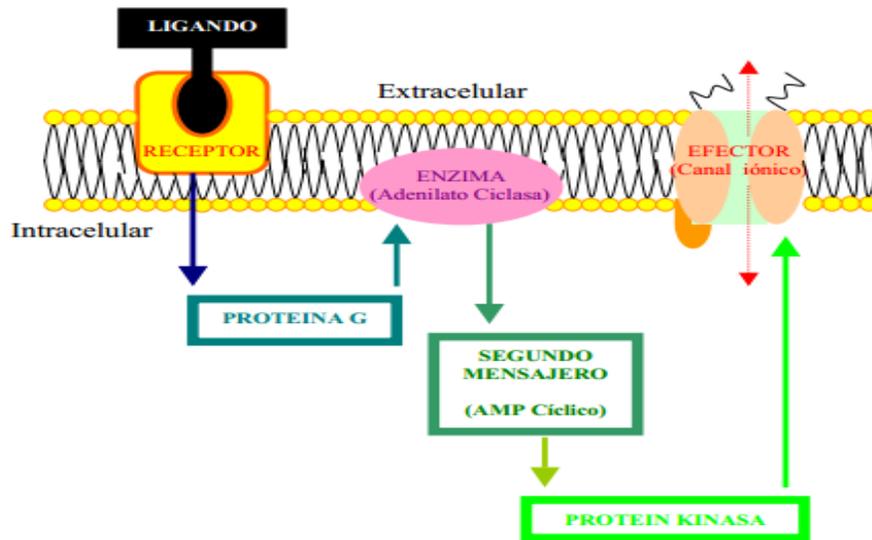


Figura 36. Mecanismo de acción de los receptores beta adrenérgicos. Los receptores beta adrenérgicos desencadenan una vía de señalización cuando se unen a su ligando, dicha vía se esquematiza en la presente imagen, en donde la unión ligando recetor ocasiona la apertura del canal iónico. [Gal, 2005].

3.8.3. GRUPO III O BLOQUEADORES DE CANALES DE K^+

Agentes que afectan la salida de K^+ , por lo tanto son fármacos que producen prolongación del potencial de acción, y por lo tanto, del período refractario (amiodarona, sotalol).

A el canal de potasio lo componen 5 subunidades (una subunidad β y cuatro subunidades α). Las subunidades α en conjunto configuran el poro iónico, aunque en función del voltaje y velocidad de activación e inactivación se han identificado diversos tipos de corrientes de potasio.

Cuando el proceso de despolarización ha llevado al potencial de membrana hasta los -30 mV, comienza la activación de una corriente dependiente del voltaje denominada ITo-1 (sensible a las concentraciones de 4-adenosín fosfato) que permite la salida del potasio hacia el espacio extracelular e inicia la repolarización de la célula. Contribuye con la salida del potasio una variante denominada ITo-2 gatillada por el ingreso del calcio al compartimento intracelular y su liberación desde el retículo sarcoplásmico. Por esta razón, las drogas bloqueantes de los canales de calcio a su vez dificultan la salida de potasio mediada por la corriente ITo-2. Un tiempo de activación e inactivación más lento que el de la corriente ITo-1 le permiten a la ITo-2 participar en el mantenimiento de la fase 2. Por su parte, la amplitud de la fase 1 depende de la magnitud de las corrientes ITo en los diversos tejidos.

En la segunda mitad de la repolarización, se ha identificado el accionar de otra corriente de salida de potasio denominada "demorada" o IK, que de acuerdo con su velocidad de activación, presenta un componente rápido (IKR) y otro lento (IKS). Ambos inician su

actividad al final de la fase 1: el IK-R lo hace de manera más abrupta y mantiene una actividad sostenida hasta el final de la fase 3, en tanto el IK-S se inicia de manera más paulatina con un pico de actividad durante la fase 3 y se inactiva también en forma gradual durante la fase 4. La codificación genética del IK-R está dada por el genoma HERG -localizado en el cromosoma 7-, mientras que la del IK-S se ha identificado en el KvLQT1 perteneciente al cromosoma 11. Ambas corrientes iónicas son bloqueadas por los antiarrítmicos de clase III, y la identificación de diversas mutaciones constituye el conjunto de enfermedades denominado síndrome del QT prolongado congénito.

La inactivación del canal de potasio se explica por un modelo conocido como "cadena y bola". La oclusión del extremo citosólico del poro está a cargo de un residuo de la cadena próxima al extremo amino terminal.

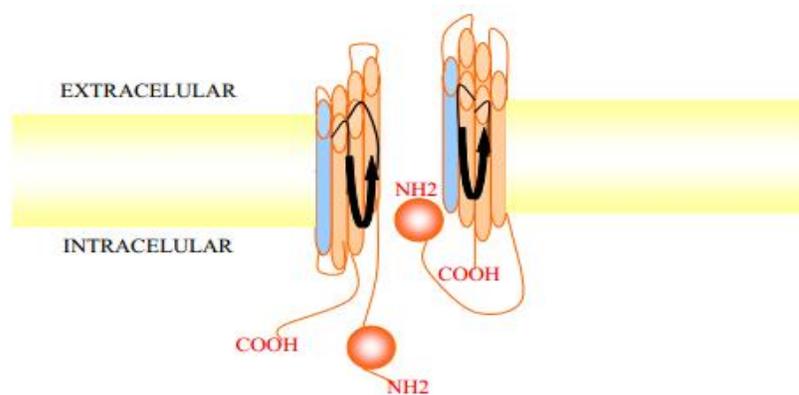


Figura 37. Modelo de inactivación del canal de potasio. El poro está conformado por el ensamblaje de subunidades α (cada una con 6 dominios). El residuo de aminoácidos próximo al extremo amino terminal de cada subunidad, ocluye el polo citosólico del canal; (\rightarrow), residuos de aminoácidos que tapizan el poro; sensor de voltaje. [Gal, 2005].

En células cardíacas aisladas se han descrito otras corrientes de potasio como la corriente rectificadora interna denominada IK-1 que permite -ya desde el final de la fase 3- la restauración de los niveles intra y extracelular de potasio correspondientes al estado de hiperpolarización o de reposo. Por su parte, la caída de la concentración de ATP en las células cardíacas (déficit metabólico del miocardio), activa una corriente de potasio-ATP sensible con un resultado similar.

Asimismo, en presencia de un estímulo vagal se produce un eflujo de iones potasio por la activación de una corriente acetilcolina-sensible que causa hiperpolarización de la membrana plasmática y acortamiento de la duración del potencial de acción.

3.8.4. GRUPO IV O BLOQUEADORES DE CANALES DE Ca^{2+}

Agentes que afectan los canales de Calcio dependientes del voltaje de tipo L, con la excepción de las dihidropiridinas, y son bloqueadores del nódulo auriculoventricular. Al inhibir el flujo de calcio, disminuyen la velocidad de conducción y el período refractario de los nodos sinusal y AV, así como de células cardíacas anormalmente despolarizadas, como el miocardio isquémico cardíacas (verapamilo, diltiazem).

Para entender este grupo de fármacos debemos estudiar al canal de calcio el cual cumple una función compleja. Su apertura determina la actividad de marcapaso del nódulo sinusal o del nódulo A-V-, mantiene la conducción por debajo del nódulo A-V y determina el plateau del potencial de acción. Se reconocen por lo menos 4 canales de calcio, 2 de los cuales se expresan en la superficie de la membrana (tipo L y tipo T), y los otros 2 en el retículo sarcoplásmico.

En la estructura del canal de calcio se reconocen 5 subunidades ($\alpha 1$, $\alpha 2$, β , γ y δ). La subunidad $\alpha 1$ funciona como un poro a través del cual transcurre el ión calcio y, de manera similar al canal de sodio, su activación también depende del voltaje a través de un sensor específico.

El canal tipo L (ICa-L) está presente en todas las células cardíacas, y de manera análoga a la estructura básica, la subunidad $\alpha 1$ consta de 4 dominios homólogos (I, II, III y IV), cada uno integrado por 6 segmentos transmembrana (S1 a S6). Entre los 2 últimos segmentos (S5-S6) se ubica un loop que integra la estructura del poro. Existen por lo menos 3 isoformas de subunidad $\alpha 1$ ($\alpha 1A$, $\alpha 1B$ y $\alpha 1C$), de las cuales $\alpha 1C$ es la detectada con mayor frecuencia en el músculo cardíaco.

También se reconocen isoformas de la subunidad β , $\beta 2a$ ha sido detectada como la forma predominante en el corazón, y está vinculada a modificaciones de las propiedades funcionales de $\alpha 1$. A su vez, $\alpha 2$ y δ se transcriben juntas como una subunidad que se separa por un clivaje postranscripcional del puente disulfuro que las une.

Durante la despolarización, el calcio ingresa a la célula con mayor lentitud que el sodio y en forma análoga, este movimiento está permitido por la actividad de 2 compuertas ("d" de activación y "f" de inactivación), de manera que la apertura de la compuerta "d" permite el pasaje del calcio y el cierre de la compuerta "f" lo impide.⁴⁴

El canal tipo-T ($\text{ICa}^{++} \text{T}$) predominan en la aurícula, las fibras de Purkinje, el nódulo A-V y el músculo liso. El rol más importante se vincula con el automatismo celular⁴⁶.

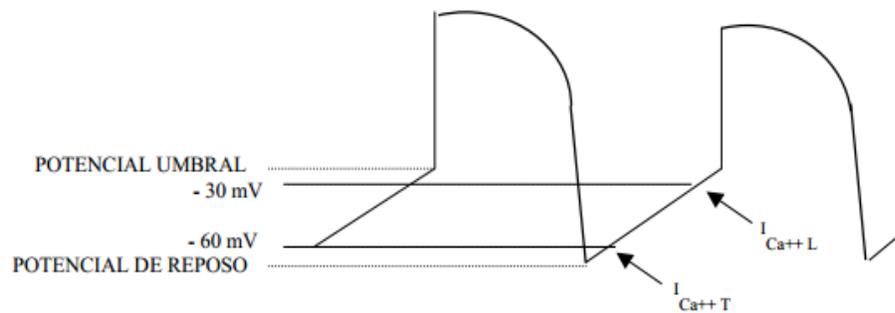


Figura 38. Rol de las dos corrientes de calcio (ICa^{++T} e ICa^{++L}) en la despolarización automática de una célula del nódulo sinusal. Cuando el potencial de membrana se acerca a -60 mV, el ICa^{++T} se activa, a diferencia del ICa^{++L} que lo hace a un potencial menos negativo (-30 mV).⁴⁴ Esto asegura la función de marcapasos de las células con elevada expresión de los canales ICa^{++T} . [Gal, 2005].

La inactivación tampoco se produce de manera simultánea en ambas corrientes. El ICa^{++T} presenta una cinética parecida a la del canal de sodio, con inactivación precoz; el ICa^{++L} finaliza su inactivación sobre el final de la repolarización. Ese lento ingreso de calcio al interior de la célula durante la fase 2 determina la duración del potencial de acción.

3.9. CHANGROLINA COMO AGENTE ANTIARRÍTMICO

Stout y sus colaboradores llevaron a cabo los estudios de la changrolina como un antiarrítmico efectivo en 1979 en la república de China, ésta molécula presentaba una frecuencia estructural con los antiarrítmicos comúnmente conocidos hasta la fecha. Para el análisis de la actividad biológica dividieron la estructura en tres regiones como se muestra en la figura 38. Su investigación consistió en modificar sistemáticamente cada una de ellas para determinar que parte de la molécula era necesaria para mostrar la actividad antiarrítmica.

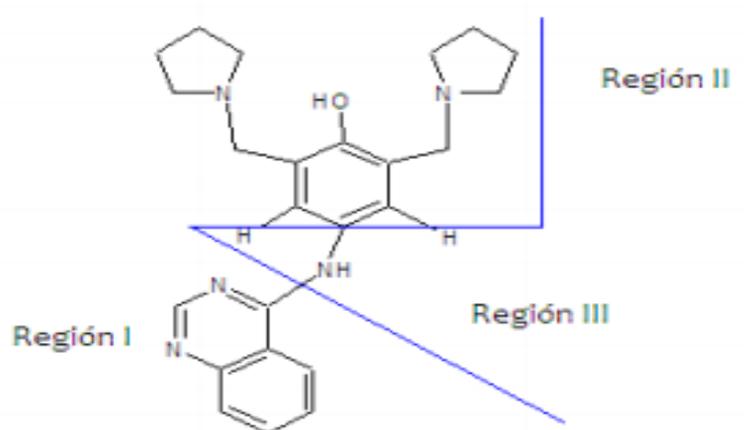


Figura 39. Estructura química y regiones de la Changrolina. La región I denominada heteroatómica consiste en la estructura de quinazolina, la II llamada aromática posee el esqueleto de 2,6-bis (pirolidin-1-il-metil) fenol y la III reconocida como la región de unión entre las dos anteriores. [Mena, 2010].

Las conclusiones obtenidas fueron: en la región I la quinazolina puede reemplazarse por una gran variedad de heterociclos sin perder la actividad antiarrítmica. En la II el esqueleto 2,6-bis (pirolidin-1-il-metil) fenol tetrasustituido presentó la mejor actividad antiarrítmica y sin éste dicha actividad es nula. Por último, en la región III si se incluyen grupos carbonilos la actividad antiarrítmica se ve incrementada mientras la toxicidad disminuye.

Por otro lado, se realizaron los cambios en los sustituyentes de la región II y en los anillos pirrolidínicos de la región III encontrando que podían sustituirse por otros anillos heterociclos, como la morfina, tiomorfolina y la piperadina.

Glöwka y colaboradores retoman esta investigación y concluyen entre otras cosas que existe un puente de hidrógeno intermolecular entre el grupo hidroxilo del fenol y el nitrógeno no protonado de uno de los anillos pirrolidínicos lo que le proporciona una estabilidad a la molécula y le permite actuar como monoamina, característica que se halló en otros antiarrítmicos como la disopiramida. Este tipo de agentes cardiovasculares y como medicamentos antihipertensivos.

3.10. DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS

Debido a la presencia de efectos adversos y secundarios en los fármacos antiarrítmicos ya conocidos, es necesario la investigación y estudio de nuevas moléculas que proporcionen un mejor o igual efecto antiarrítmico con menores efectos no deseados.

Para que un nuevo medicamento pueda salir a la venta y de esta manera pueda ser recetado requiere pasar por una serie de procesos, pruebas y debe ser aprobado por los organismos a los que les correspondan a cada nación.

El centro para la evaluación e investigación de fármacos (CDER, por sus siglas en inglés) de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) es el responsable de supervisar el desarrollo y evaluación a los nuevos fármacos.

Antes de solicitar a la FDA la autorización para las evaluaciones al nuevo fármaco en seres humanos, el laboratorio patrocinador debe realizar todas las evaluaciones pertinentes primero en modelos “in-vitro” y luego en modelos “in vivo” en animales de laboratorio para probar su eficacia y seguridad. Estas pruebas denominadas preclínicas son el primer paso en el desarrollo y aprobación de un nuevo medicamento.

Si el fármaco aprueba las fases preclínicas, entra a la fase de investigación clínica que se ha dividido en cuatro.

3.10.1. ETAPAS O FASES DE LA INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS

Fase I: Esta fase no sirve para probar la eficacia del fármaco sino para evaluar su acción en el metabolismo del humano, su farmacocinética, posología y seguridad. La fase I se efectúa en poblaciones pequeñas de voluntarios sanos (20-100), modificando las dosis del fármaco progresivamente

Fase II: En esta, el fármaco es probado en una población pequeña de pacientes que padecen la enfermedad a la que es eficaz en fármaco, se trata de una primera medida de eficacia, pero esta fase permite evaluar las dosis y las vías de administración como confirmar resultados de la fase I. Dura desde un par de meses hasta dos años e involucran a decenas y cientos de pacientes.

Fase III: Es la primera fase de la investigación clínica en la que el medicamento se administra a una población mayor y su duración va de un año a cinco. Reúnen información adicional y confirmatoria sobre la seguridad y eficacia del fármaco a diferentes dosis, interacciones. Al finalizar esta fase, la compañía farmacéutica busca la autoridad competente la autorización para su puesta en el mercado.

Fase IV: son estudios posteriores a la comercialización y permiten probar al fármaco en una población aún mayor o a una población específica, evaluar los efectos a largo plazo del fármaco.

El desarrollo de nuevos fármacos es un proceso largo y complejo, que involucra intereses económicos, de tiempo, recursos e intereses de investigadores y compañías que como

finalidad se encuentra el mejorar la calidad de vida de los pacientes y en general de la población.

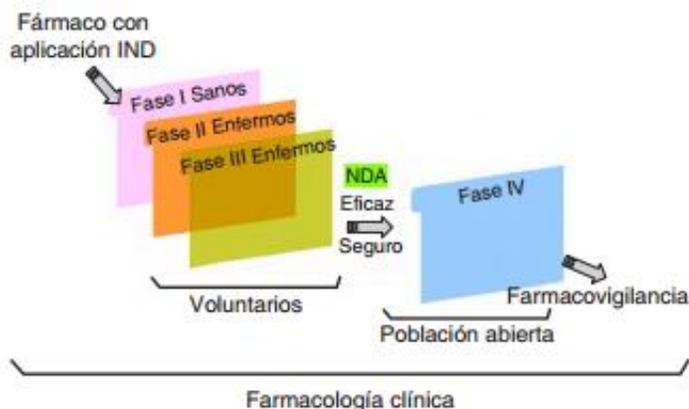


Figura 40. Las cuatro etapas esenciales en el desarrollo de medicamentos. Las fases para el desarrollo de los medicamentos constan de periodos de tiempo prolongados que impactan en el precio del medicamento en el mercado mientras dura la patente. [Roché, 2013].



Figura 41. Predominancia de algunas características generales en las tres fases de los estudios clínicos de un nuevo fármaco. Como se muestra en la presente en la fase I se realizan estudios farmacocinéticos principalmente, en la fase II se evalúa la eficacia, en las tres etapas se evalúa seguridad, en donde se hace un análisis económico es en la fase II y en esta misma etapa se trabaja con un tamaño de muestra mayor. [Roché, 2013].

3.10.2. ESTUDIO DE FÁRMACOS CON POSIBLES EFECTOS ANTIARRÍTMICOS EN LA FESC

En el laboratorio de Química Medicinal ubicado en la Unidad de Posgrado en campo 1, a cargo del Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano se han sintetizado una serie de compuestos derivados de la Changrolina que presentan efectos antiarrítmicos.

Debido a que la región aromática de la Changrolina es la responsable de la actividad antiarrítmica, en el LQM se decidió trabajar sobre la sustitución de esta región quedando el fenol en algunos casos mono, di y hasta trisustituido. Estos sustituyentes le confieren cada compuesto propiedades diferentes.

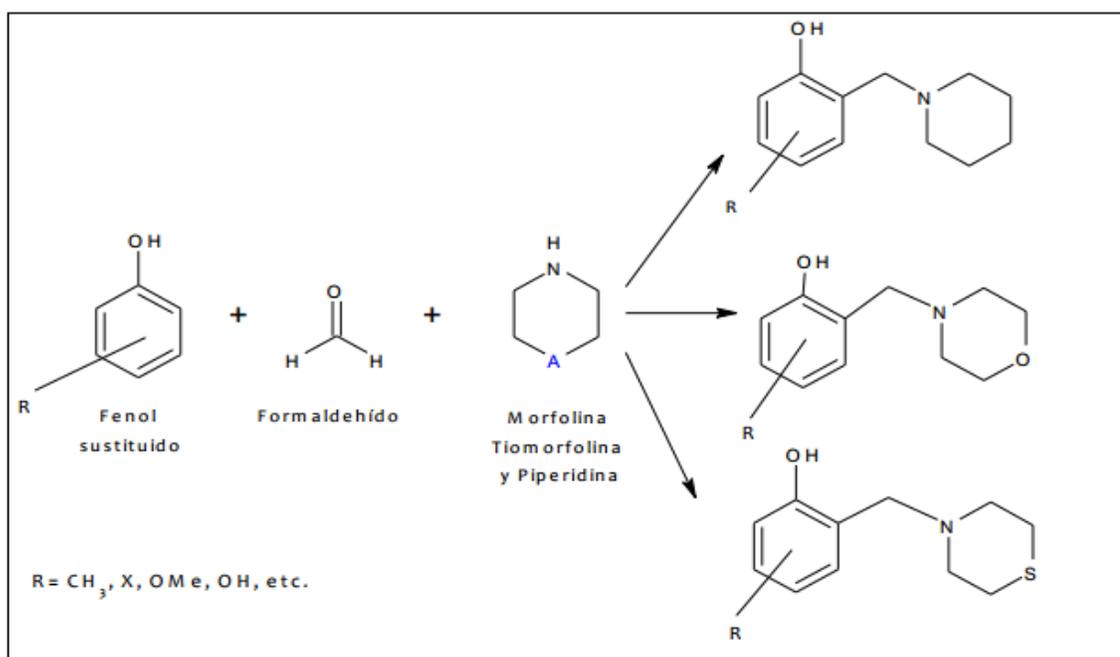


Figura 42. Reacción química para la Síntesis de los compuestos de la serie LQM Morfolínicos, Tiomorfolínicos y Piperidínicos. Al analizar detenidamente esta reacción podemos observar que es una reacción simple que facilita su síntesis y que sobre todo impacta en la economía de los productos. [Mena, 2010].

De modo que proponiendo el estudio de compuestos análogos a la Changrolina en los cuales de acuerdo a su estructura, los grupos pirrolidínicos fueron sustituidos por morfolina, tiomorfolina y piperidina se obtuvieron una serie de compuestos LQM300's, de los cuales ciertos compuestos resultaron tener un mayor efecto antiarrítmico y posteriormente se realizaron estudios farmacológicos en el Laboratorio de farmacología del Miocardio a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar.

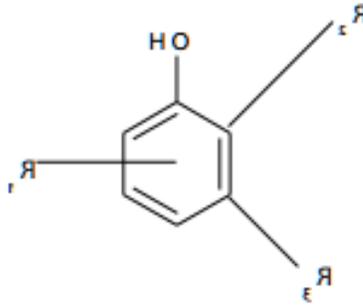
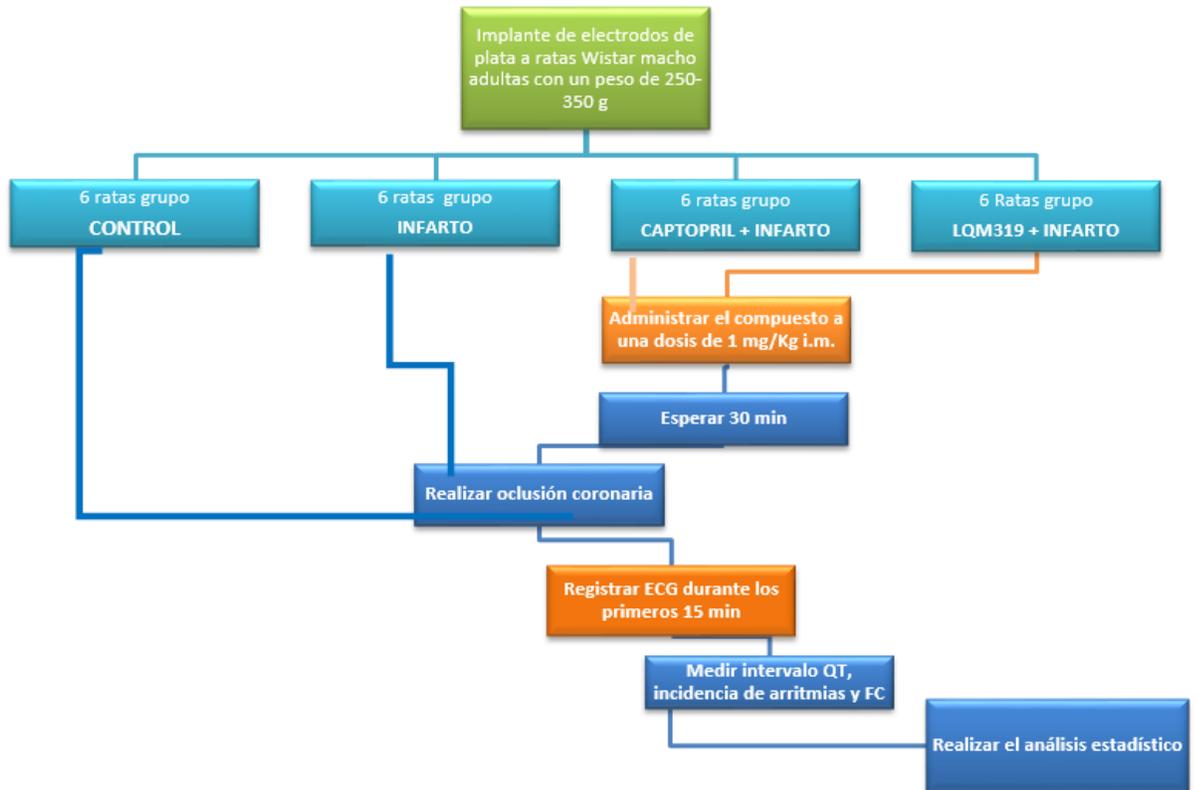


Figura 43. Fenol y las posiciones donde se lleva a cabo la sustitución. La molécula representa un fenol sustituido en la posición 2 y 3 y en las 4, 5 y 6 [Mena, 2010].

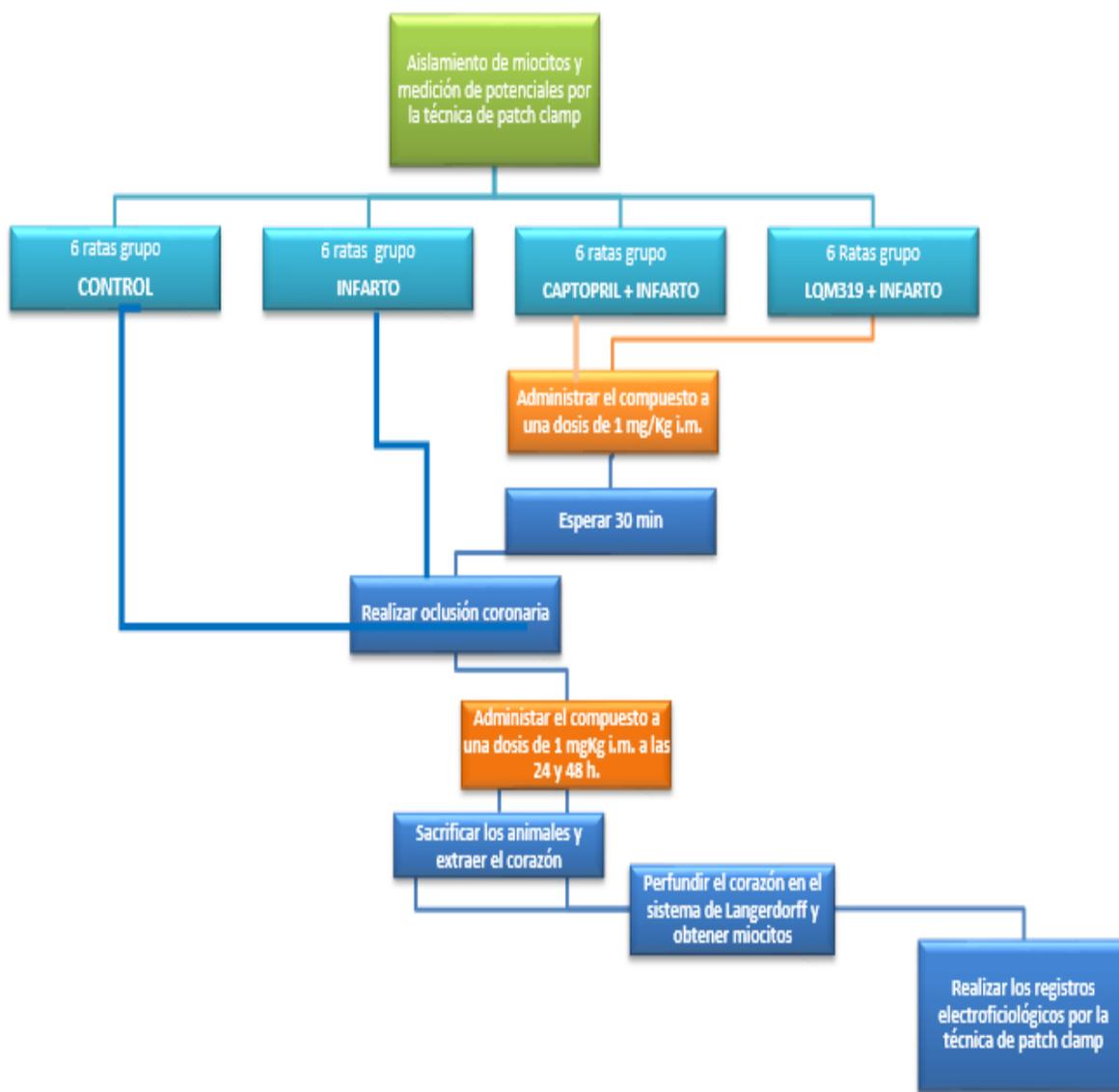
Este tipo de investigaciones son de suma importancia en nuestro país, ya que muchos de los medicamentos que se hallan en el mercado pueden no ser eficaces para la población mexicana debido a que han sido desarrollados y evaluados para poblaciones con diferentes características físicas, biológicas, genéticas y sociales. Por ello es importante alentar a estudiantes e investigadores mexicanos a desarrollar y continuar con estudios que proporcionen a la población nacional obtener beneficios de nuevos fármacos creados específicamente a las necesidades que requieren.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL

4.1. DIAGRAMA DE FLUJO MEDICIÓN ELECTROCARDIOGRÁFICA



4.2. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA MEDICIÓN ELECTROFISIOLÓGICA



• MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas Wistar macho (290-310 g de 10 a 14 semanas) del bioterio del CINVESTAV-IPN (SEDE Sur).

• COMPUESTOS

1. LQM319 (4-tert-butil-2,6-bis(tiomofolin-4-ilmetil)fenol)
2. Captopril.
3. Acetona comercial.
4. Éter etílico.
5. Pentobarbital sódico de uso veterinario (Sedalphorte® 63 mg/mL).

6. Solución salina fisiológica 0.9%
7. Proteasa 5.4 U
8. Colagenasa tipo II 254 U
9. Solución Tyrode.
10. Albúmina sérica bobina
11. Heparina
12. Solución interna para corrientes de potasio.
13. Solución externa para patch clamp
14. Solución de KCl

- MATERIALES

1. Acrílico dental Izta[®]
2. Hilo quirúrgico (para oclusión y sutura)
3. Jeringas BD Plastipak[®] 1 mL
4. Rasuradora eléctrica
5. Tornillos metálicos
6. Electrodo de plata
7. Balanza granataria para animales, OHAUS 919084
8. Cámara para electrofisiología
9. Puente de agar
10. Tubos capilares de vidrio
11. Instrumental quirúrgico variado
12. Material de vidrio variado

- EQUIPO

1. Biopac Systems, Inc, Santa Bárbara, California. Modelo No. MP 1004-CE. Serial 1606A 0005280
2. Balanza analítica, Santorius 1979840
3. Microscopio Nikon
4. Equipo de patch clamp. Software Axon Instruments

4.3. IMPLANTACIÓN DE LOS ELECTRODOS VÍA SUBCUTÁNEA A RATAS WISTAR

Anestesiarse con pentobarbital sódico a una dosis de 40 mg/Kg vía i.p. Realizar una incisión en la cabeza y hacer una horadación en el cráneo, colocar un tornillo pequeño en la horadación, implantar los electrodos subcutáneos conduciendo uno a la pata derecha de la rata y otro al tórax, asegurar el electrodo base al tornillo y sellar con acrílico, dejar recuperar al animal colocándolo en un ambiente libre de estrés con alimento y agua ad libitum.

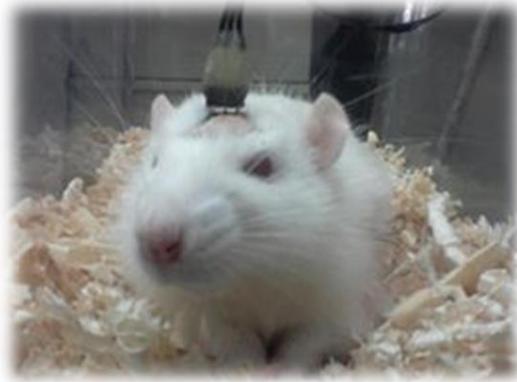


Figura 44. Rata Wistar con implante subcutáneo. Imagen de una rata después del implante de electrodos de plata subcutáneos.

4.4. ADMINISTRACIÓN DEL COMPUESTO LQM319 Y CAPTOPRIL A LA RATA WISTAR

Administrar el compuesto a una dosis de 1 mg/kg por vía i.m. Dejar transcurrir 30 minutos para proceder con la oclusión de la arteria coronaria.

4.5. OCLUSIÓN DE LA ARTERIA CORONARIA DE LA RATA WISTAR Y REGISTRO ELECTROCARDIOGRÁFICO

Anestesiarse al animal introduciéndola en una cámara de anestesia, previamente saturada con éter. Colocar a la rata en posición decúbito dorsal. Realizar una toracotomía entre el cuarto y quinto espacio intercostal para exteriorizar el corazón y de esta forma hacer visible la arteria coronaria descendente anterior izquierda. Ligar la arteria con una aguja curva e hilo seda. Meter el corazón rápidamente y suturar la piel. Conectar a las terminales del electrodo implantado en el equipo BIOPAC y con ayuda del software ACQ Acqknowledge 3.9.0, registrar la actividad electrocardiográfica durante 15 minutos y obtener el registro electrocardiográfico.

4.6. MEDICIÓN DEL INTERVALO QT, RR, FRECUENCIA CARDIACA Y PRESENCIA DE ARRITMIAS

Una vez obtenido el registro electrocardiográfico, se procede a medir la frecuencia cardiaca, el intervalo RR y el intervalo QT, para posterior a ello corregir el intervalo QT mediante la ecuación de Bazett

$$QT_c = \frac{QT}{\sqrt{RR}}$$

La medición se realiza de manera temporal por un periodo de tiempo de 15 min cada minuto, para la realización de una curva temporal de intervalo QTc vs tiempo.

La frecuencia cardiaca al igual que el intervalo QT se mide por un periodo de tiempo de 15 min cada minuto, para la realización de una curva temporal de frecuencia cardiaca vs tiempo.

Además se lo anterior se mide la incidencia de arritmias y se graficaron en una gráfica temporal por un periodo de tiempo de 15 min cada minuto, los resultados se expresan como numero de arritmias vs tiempo.

4.7. AISLAMIENTO DE CARDIOMIOCITOS

Una vez anestesiado el animal se procede a realizar una incisión en la parte anterior desde el segmento traqueal hasta el inicio del abdomen, se expone el corazón y se separa de la cavidad torácica cortando la arteria aorta. Una vez retirado el corazón de la cavidad este se lava con solución Tyrode con la finalidad de eliminar la sangre presente en él y se coloca en la cánula del sistema de Langendorff, se deja perfundir durante 5 min aproximadamente con solución Tyrode y posterior a ello se perfunde durante 30 min aproximadamente con solución enzimática (que contiene colagenasa y proteasa). Completando el ciclo de perfusión se hace una digestión mecánica que consiste en fraccionar los ventrículos en pequeñas fragmentos, los cuales se hacen pasar por una malla de filtración celular y se centrifugan durante 2 min a 800 rpm, de la centrifugación de obtiene el pellet y este se resuspende en solución Tyrode en una serie de tubos con concentración variante de calcio, que va de 0.1 mM, 0.5 mM hasta 1.0, en esta última concentración de calcio se mantienen los miocitos para ser registrados en el equipo de patch clamp.

4.8. ELABORACIÓN DE PIPETAS DE VIDRIO

Se cortan tubos capilares de vidrio de 5 mm de grosor por la mitad con una microforja, tomando como parámetros 20 amperes para estiramiento y 14 para cortado, una vez cortadas la pipetas de vidrio éstas se deben de pulir en una microforja y evaluar su tamaño de poro sumergiéndolas en metanol e inyectándoles aire con una jeringa de vidrio, el tamaño óptimo se establece midiendo la aparición de una burbuja, este oscila entre los 5 y 3 mL.

4.9. MEDICIÓN DE LAS CORRIENTES IÓNICAS

Para la medición de las corrientes iónicas de potasio fueron utilizados como solución interna Aspartato de potasio 120 Mm, Cloruro de potasio 20 Mm, HEPES 5 mM, EGTA 0.05 mM, Cloruro de magnesio 1.8 mM y ATP de Magnesio 5 Mm y como solución externa: 1% de BSA, NaCl 136 Mm, KCl 5.4 mM, CaCl₂ 1 Mm, MgCl₂ 2 mM y CdCl₂ 1 mM.

Para la medición de corrientes iónicas de calcio se utilizaron como solución interna NMG-Cl 140 mM, HEPES 10 mM, ATP-Mg 2 mM Y EGTA 10 mM y como solución externa NMG-Cl 140 Mm, BaCl₂ 10 mM, HEPES 10 Mm y Glucosa 10 mM.

Se midieron las Corrientes iónicas de calcio y potasio a 18 °C utilizando en ambos casos una ganancia de 0.5x, utilizando como software de adquisición Axon instruments.

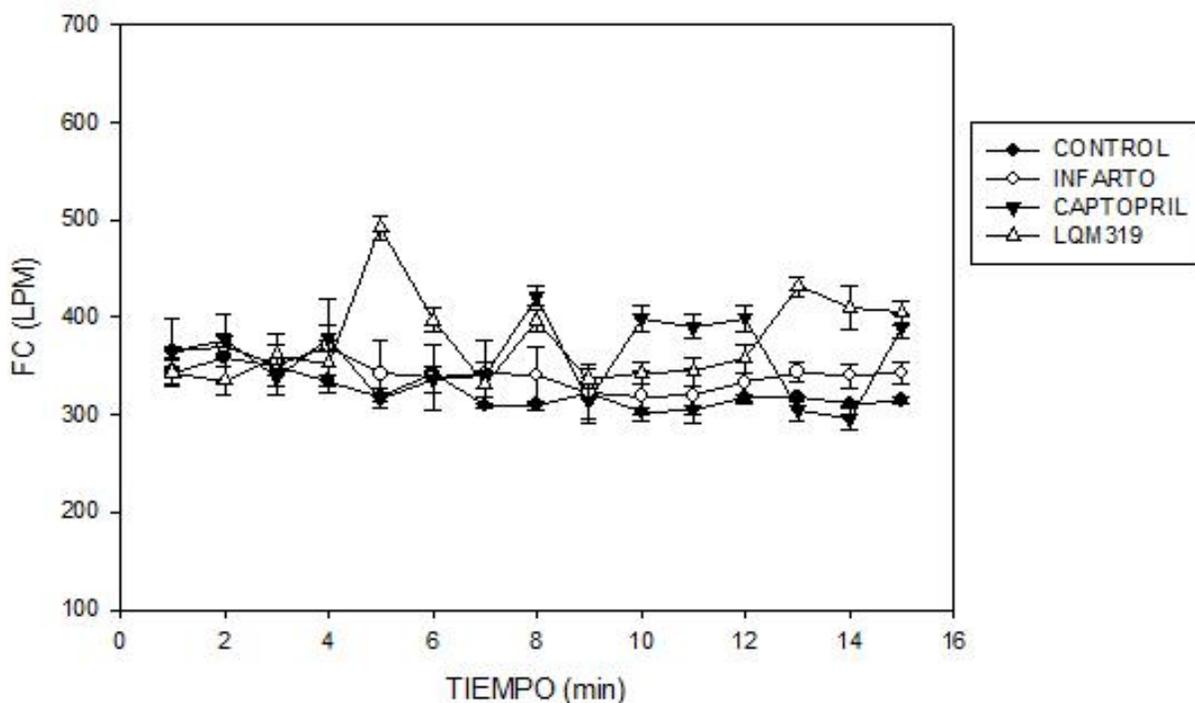
4.10. TRATAMIENTO DE RESULTADOS

Los resultados fueron analizados con el programa sigma plot 10.0 utilizando para su análisis dos transformadas matemáticas, una para calcio y otra para potasio las cuales se encuentran en los anexos.

5. RESULTADOS

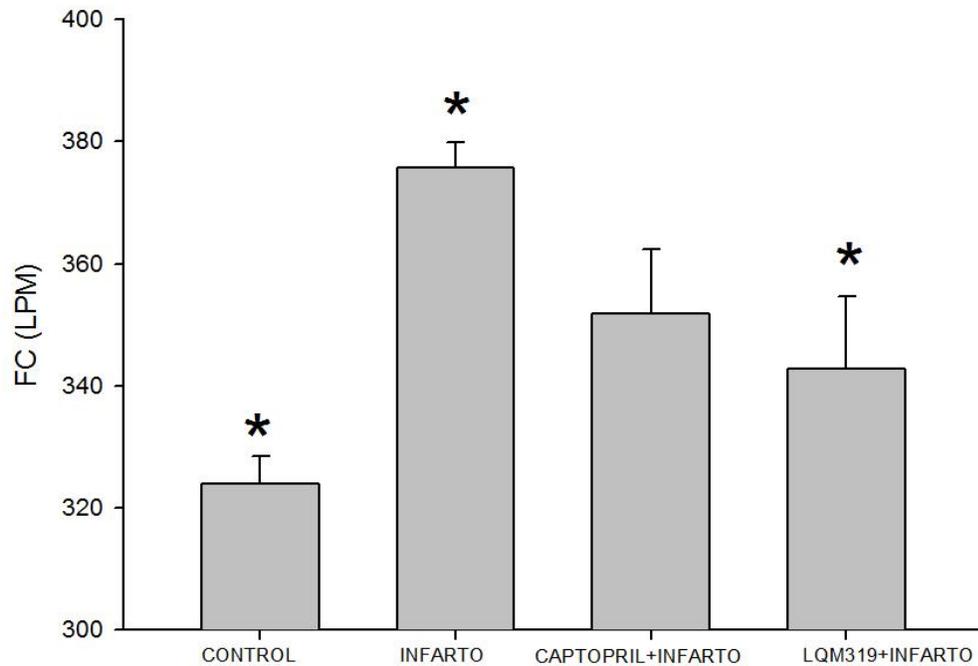
5.1. FRECUENCIA CARDIACA

En la gráfica 1 se muestra los resultados temporales de los diferentes grupos experimentales, se obtiene la frecuencia cardiaca en función del tiempo durante 15 min en intervalos de medición de 1 min. Observándose que el grupo LQM319 disminuye significativamente la frecuencia cardiaca mientras que el captopril presenta una tendencia a disminuirla en comparación con el grupo infarto y el grupo con infarto en comparación con el grupo control presenta un aumento significativo de la frecuencia cardiaca.



Gráfica 1. Frecuencia cardiaca en función del tiempo. Los resultados se expresan como el valor \bar{X} de los datos \pm error estándar. $p < 0.05$ control vs infarto $p < 0.05$ infarto vs LQM319 utilizando una $n=6$ para todos los grupos.

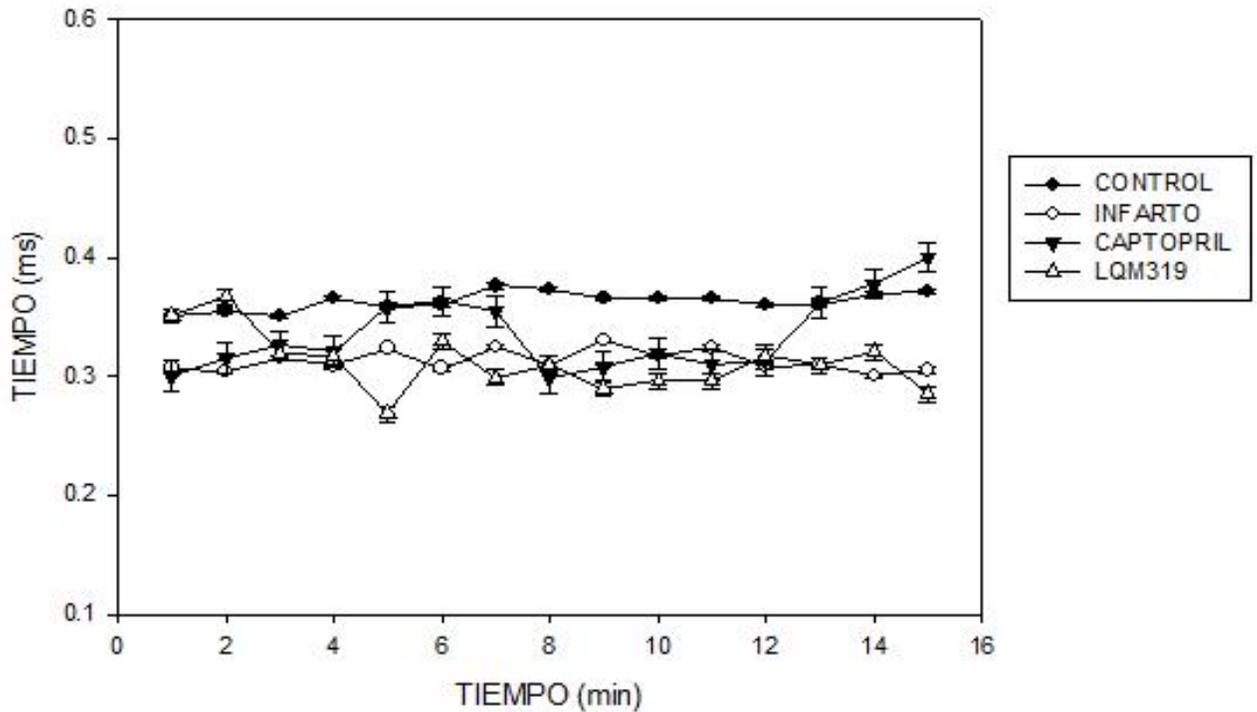
Los resultados de la gráfica 2 corresponden a la media de medias del estudio temporal, en donde se observa que el grupo infarto presenta un aumento significativo de la frecuencia cardiaca en comparación con el grupo control, así mismo el grupo LQM319 presenta una disminución significativa de la frecuencia cardiaca en comparación con el grupo infarto mientras que el captopril tiende a disminuirla.



Gráfica 2. Frecuencia cardiaca de los diferentes grupos. Los resultados se expresan como el \bar{X} de los datos \pm error estándar. $p < 0.05$ control vs infarto $p < 0.05$ infarto vs LQM319 utilizando una $n=6$ para todos los grupos.

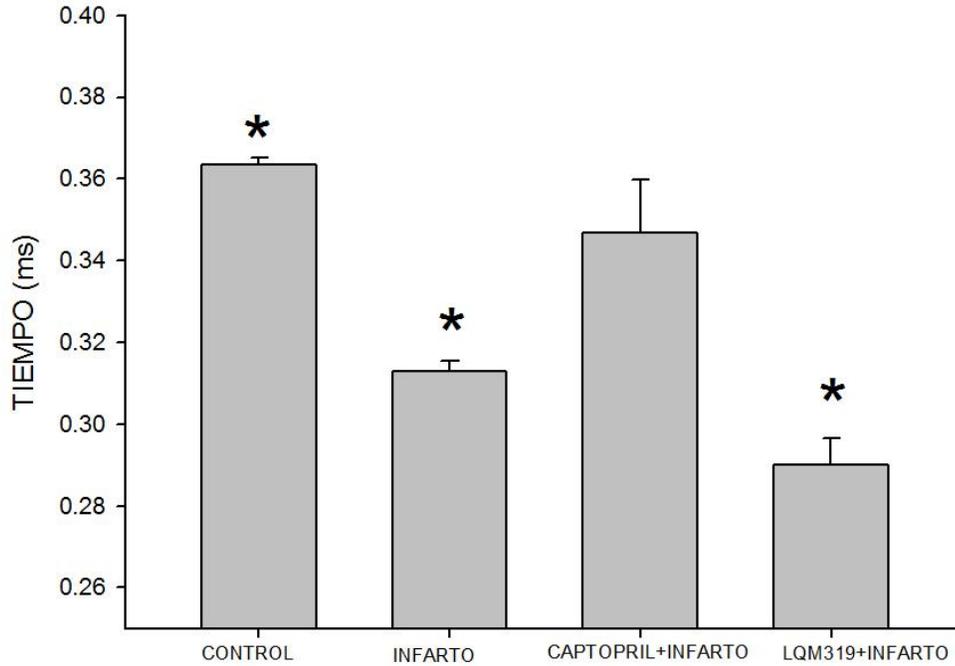
5.2. INTERVALO QTc

En la gráfica 3 se muestra los resultados de la medición del intervalo QT durante un periodo de 15 min en intervalos de 1 min, el intervalo QT se expresa en unidades de tiempo (ms) y se midió para cada grupo experimental, observándose que el grupo LQM319 acorta el intervalo QT de manera significativa en comparación con el grupo infarto, mientras que el grupo captopril tiende a aumentarlo.



Gráfica 3. Intervalo QTc en función del tiempo. Los resultados se expresan como el \bar{X} de los datos \pm error estándar. $p < 0.05$ control vs infarto $p < 0.05$ infarto vs LQM319 utilizando una $n=6$ para todos los grupos

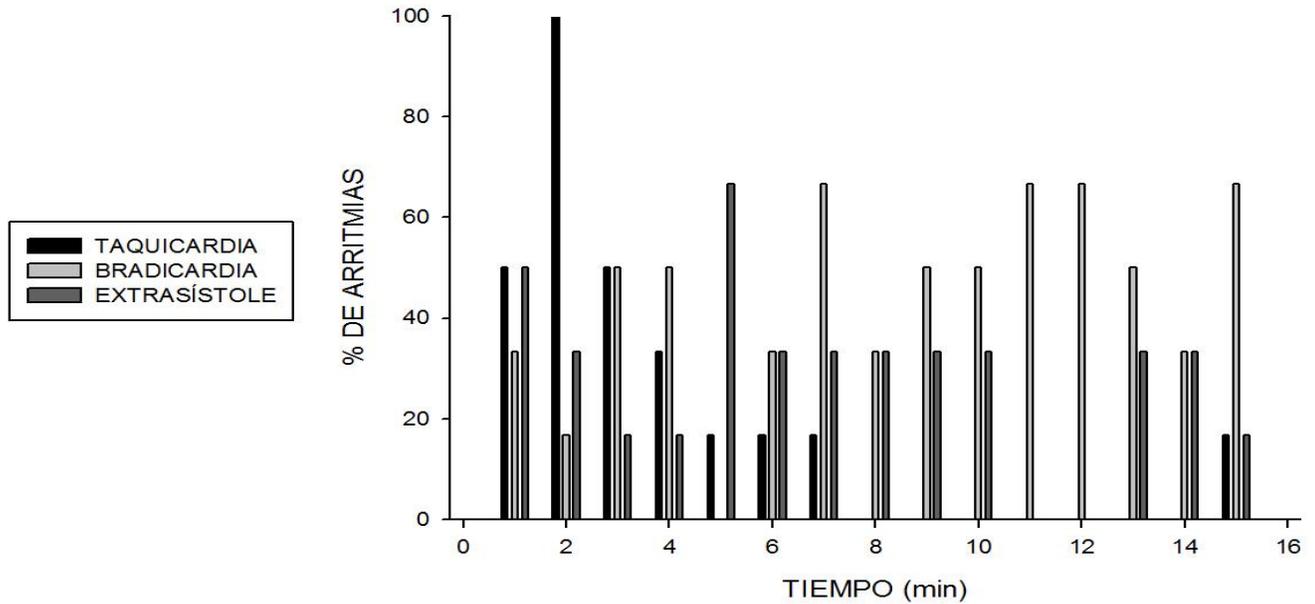
En la gráfica 4 se muestra los resultados de la medición del intervalo QT en los diferentes grupos. Estos resultados corresponden a la media de medias del estudio temporal, observándose que el grupo infarto acorta el intervalo QT significativamente en comparación con el grupo control, de igual manera el grupo LQM319 disminuye significativamente el tiempo del intervalo QT en comparación con el grupo infarto, por otro lado el grupo captopril tiende a aumentar el intervalo QT en comparación con el grupo infarto, siendo no significativo.



Gráfica 4. Intervalo QTc de los diferentes grupos. Los resultados se expresan como el \bar{x} de los datos \pm error estándar. $p < 0.005$ control vs infarto $p < 0.05$ infarto vs LQM319 utilizando una $n=6$ para todos los grupos

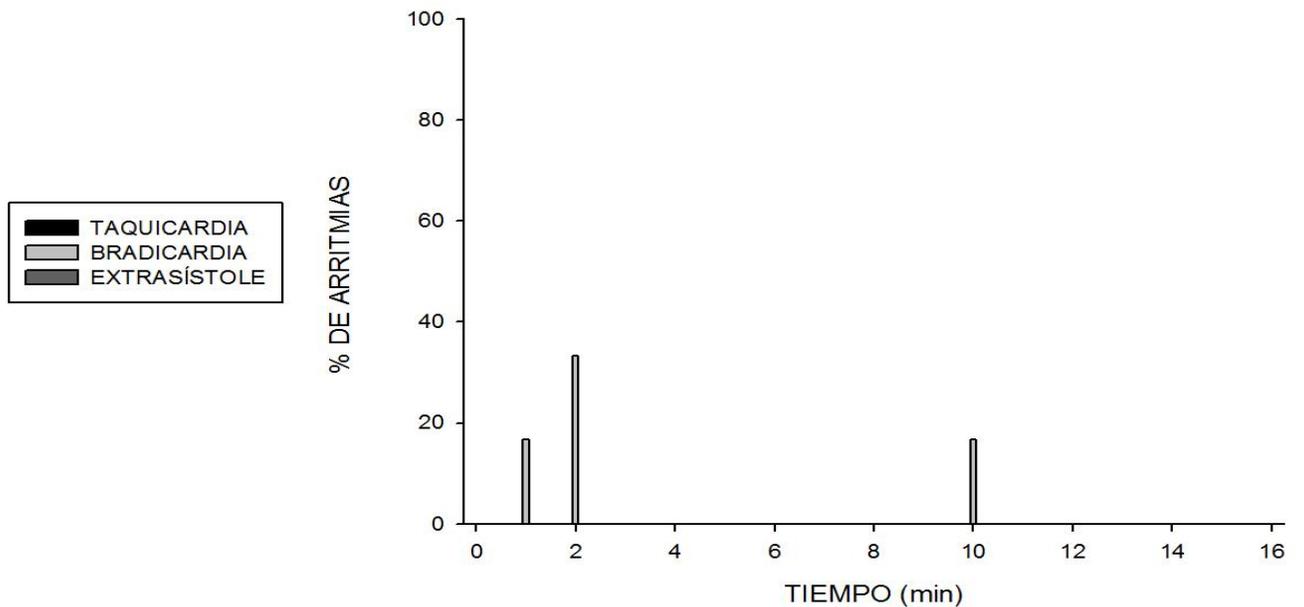
5.3. INCIDENCIA DE ARRITMIAS

Se midió la incidencia de las tres principales arritmias (taquicardia, bradicardia y extrasístoles), durante 15 min por intervalos de un min en el grupo con infarto miocárdico. En la gráfica 5 se observa una mayor prevalencia de taquicardia, seguida de bradicardias y extraístoles, encontrando el mayor número de taquicardias. Por otro lado las extrasístoles aparecen en casi todo el estudio.



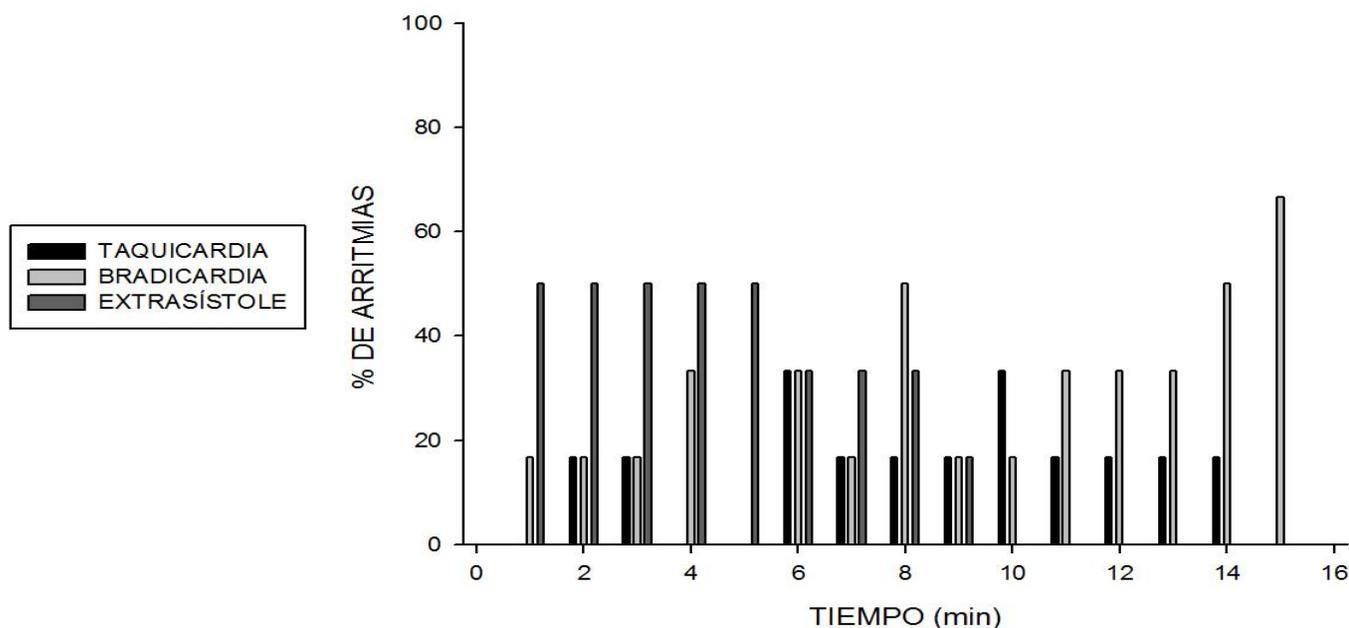
Grafica 5. Incidencia de arritmias temporal del grupo infarto. Los resultados se expresan como el porcentaje de las arritmias vs tiempo de estudio.

Se midió la incidencia de las tres principales arritmias (taquicardia, bradicardia y extrasístoles), durante 15 min por intervalos de un min en el grupo control. En la gráfica 6 se observa que únicamente se encuentra la presencia de bradicardias.



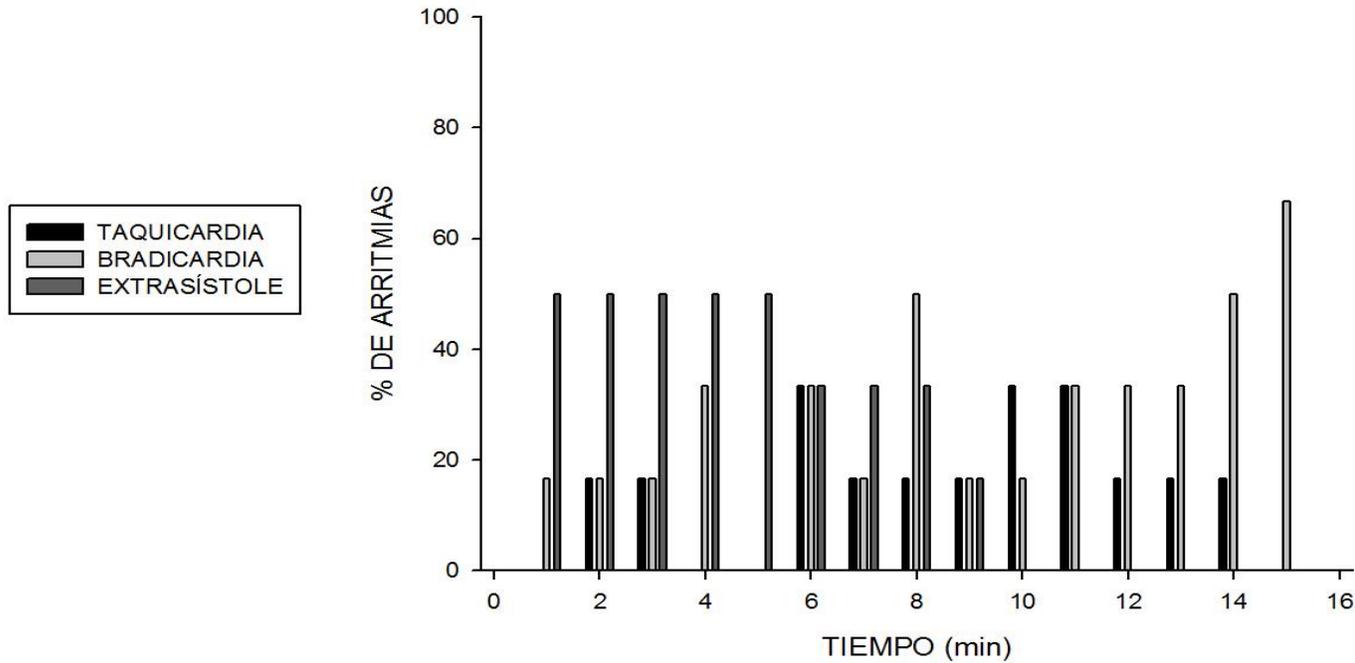
Grafica 6. Incidencia de arritmias temporal del grupo control. Los resultados se expresan como el porcentaje de las arritmias vs tiempo de estudio.

En la gráfica 7 se observa la incidencia de las tres principales arritmias (taquicardia, bradicardia y extrasístoles), durante 15 min por intervalos de un min en el grupo con tratamiento del LQM319. Observándose una mayor incidencia de extrasístoles y se encuentran bradicardias en menor proporción y pocas taquicardias.



Grafica 7. Incidencia de arritmias temporal del grupo LQM319+Infarto. Los resultados se expresan como el porcentaje de las arritmias vs tiempo de estudio.

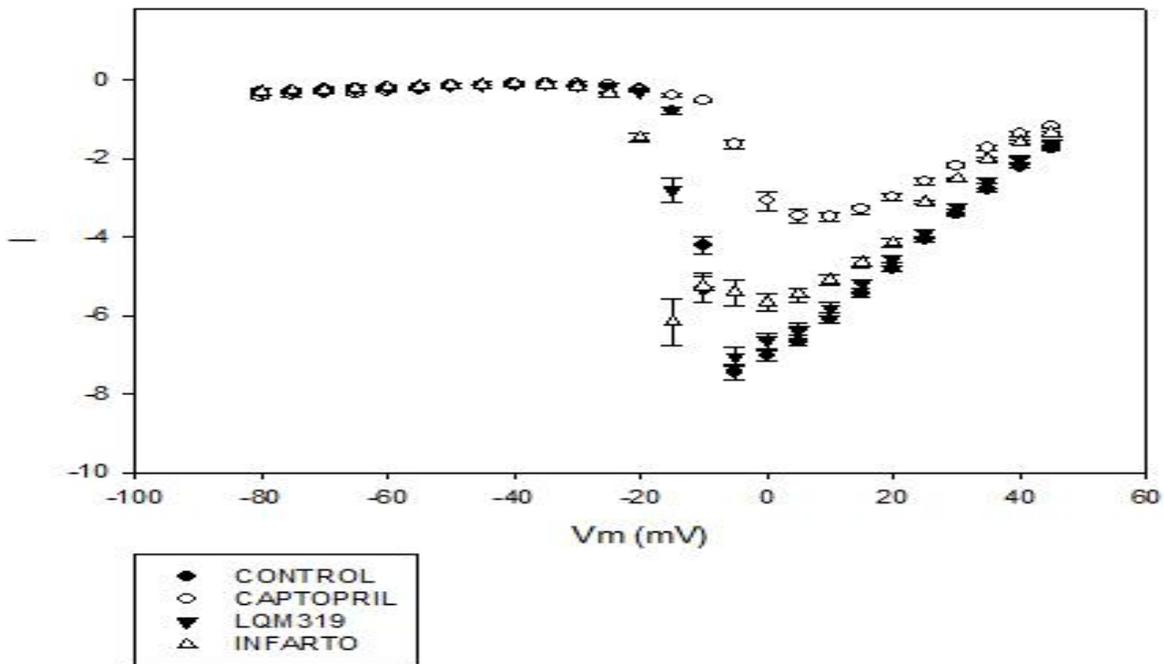
En la gráfica 8 se observa la incidencia de las tres principales arritmias (taquicardia, bradicardia y extrasístoles), durante 15 min por intervalos de un min en el grupo con tratamiento de captopril con infarto. Observándose una mayor incidencia de extrasístoles así como de bradicardia.



Gráfica 8. Incidencia de arritmias temporal del grupo Captopril+Infarto. Los resultados se expresan como el porcentaje de las arritmias vs tiempo de estudio.

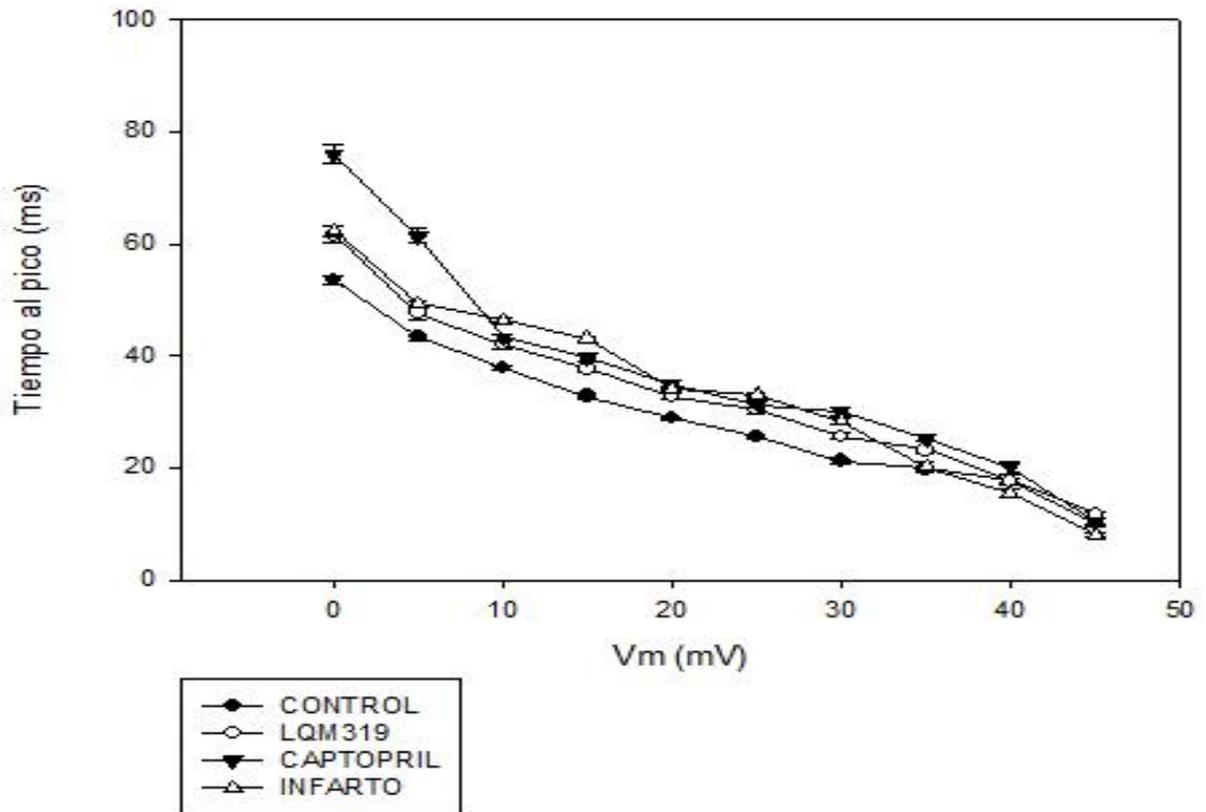
5.4. REGISTROS ELECTROFISIOLÓGICOS

Gráfica 9 se midió la intensidad de corriente de cardiomiocitos para los cuatro grupos experimentales (control, infarto, LQM319+infarto y captopril+infarto) mediante una estimulación eléctrica de -80 mV a 40 mV en intervalo de 5 mV. Observándose que el grupo Captopril+Infarto presenta un aumento significativo de la intensidad de corriente en comparación con el grupo Infarto, con el grupo LQM319+Infarto y con el grupo Control. Además el grupo LQM319+Infarto tiende a disminuir la intensidad de corriente en comparación con el grupo Infarto.



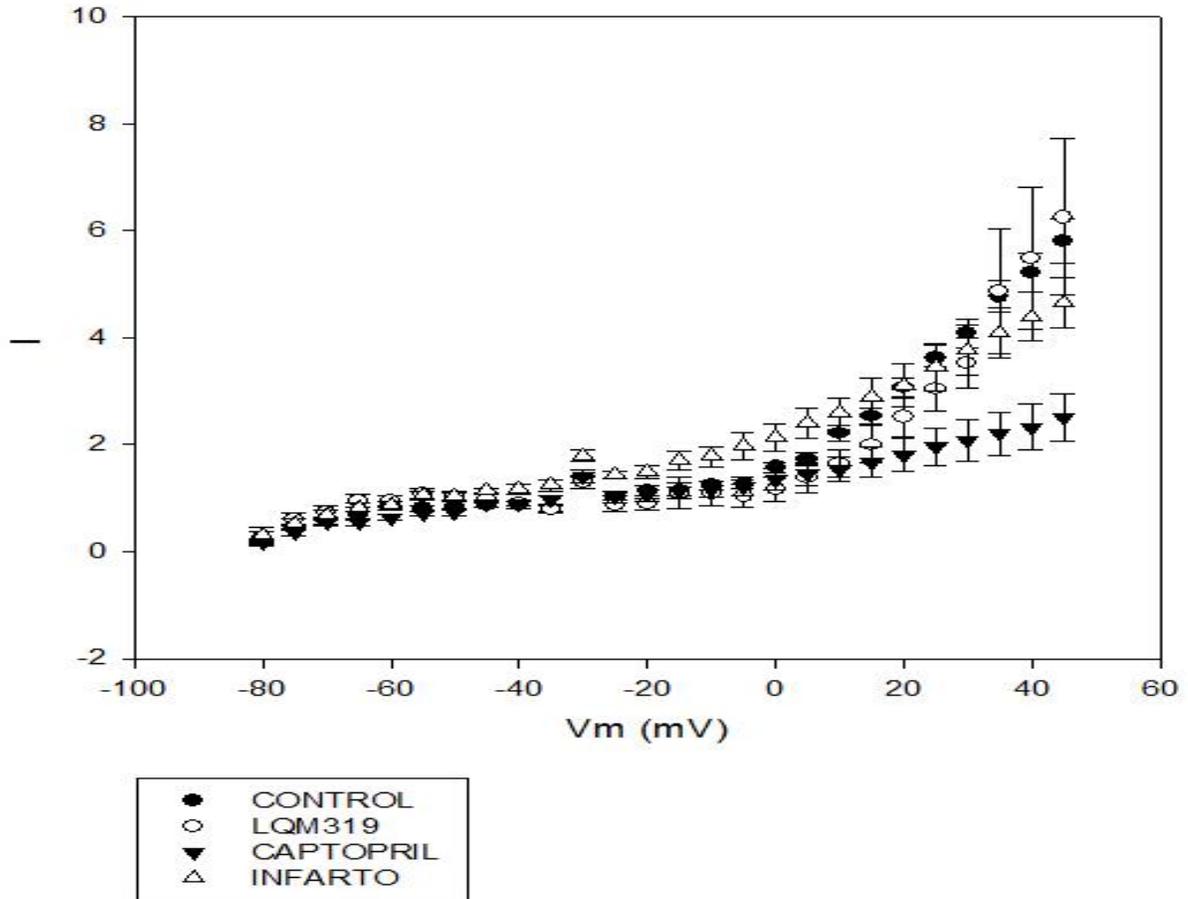
Gráfica. 9 Curva I/V canal de calcio tipo L en los dif. Grupos. Los resultados se expresan como el promedio de los datos \pm error estándar con una $p < 0.05$ CAPTOPRIL vs INFARTO, CAPTOPRIL vs LQM319 CAPTOPRIL vs CONTROL $n=13$ para grupo control $n=10$ para grupo captopril $n=17$ para grupo LQM319 $n=12$ para infarto

Gráfica 10 se midió el tiempo al pico expresado en ms *versus* voltaje con un intervalo de voltaje de 0 a 45 mV. Observándose que todos los grupos presentan la misma cinética de apertura del canal, no entrándose diferencia significativa entre los grupos.



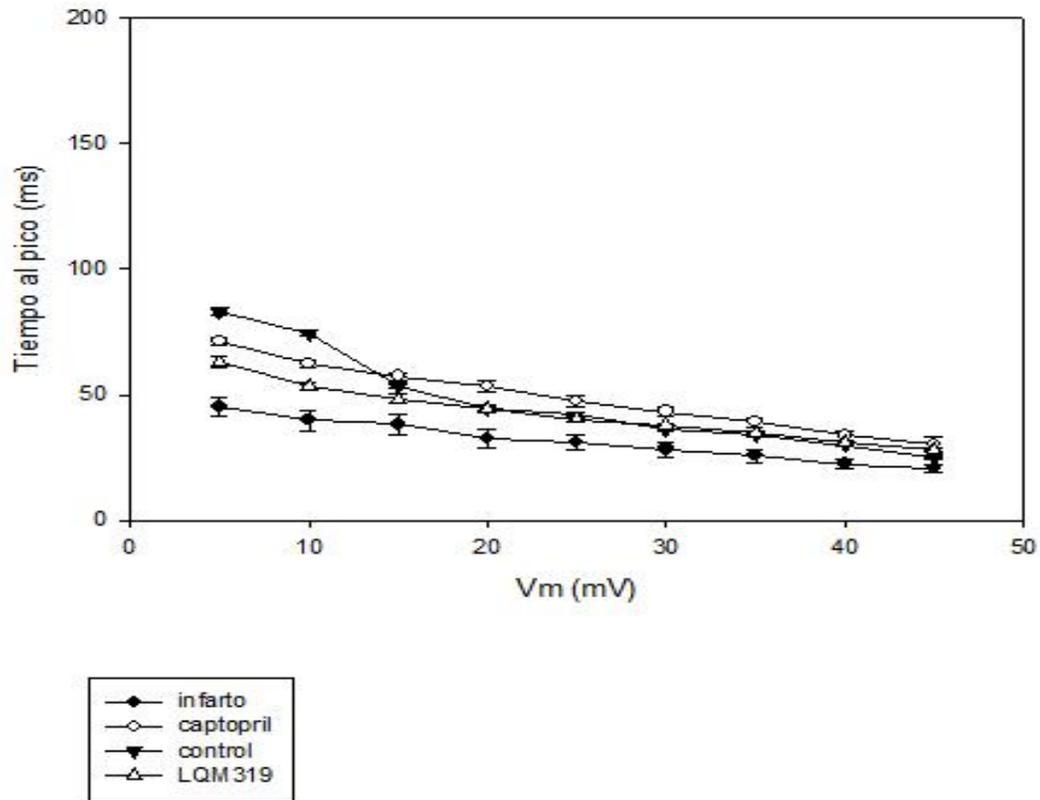
Gráfica 10 “Cinética del canal de calcio tipo L en los dif. grupos”. Los resultados se expresan como el \bar{x} de los datos \pm error estándar. No hubo diferencia significativa entre los grupos $p < 0.05$ $n=13$ para grupo control $n=10$ para grupo captopril $n=17$ para grupo LQM319 $n=12$ para infarto

En la gráfica 11 se midió la intensidad de corriente de cardiomiocitos para los cuatro grupos experimentales (control, infarto, LQM319+infarto y captopril+infarto) mediante una estimulación eléctrica de -80 mV a 40 mV en intervalo de 5 mV. Observándose que el grupo Captopril+Infarto presentó una disminución significativa de la intensidad de corriente al compararse con el grupo control. Los demás grupos no presentaron diferencia alguna.



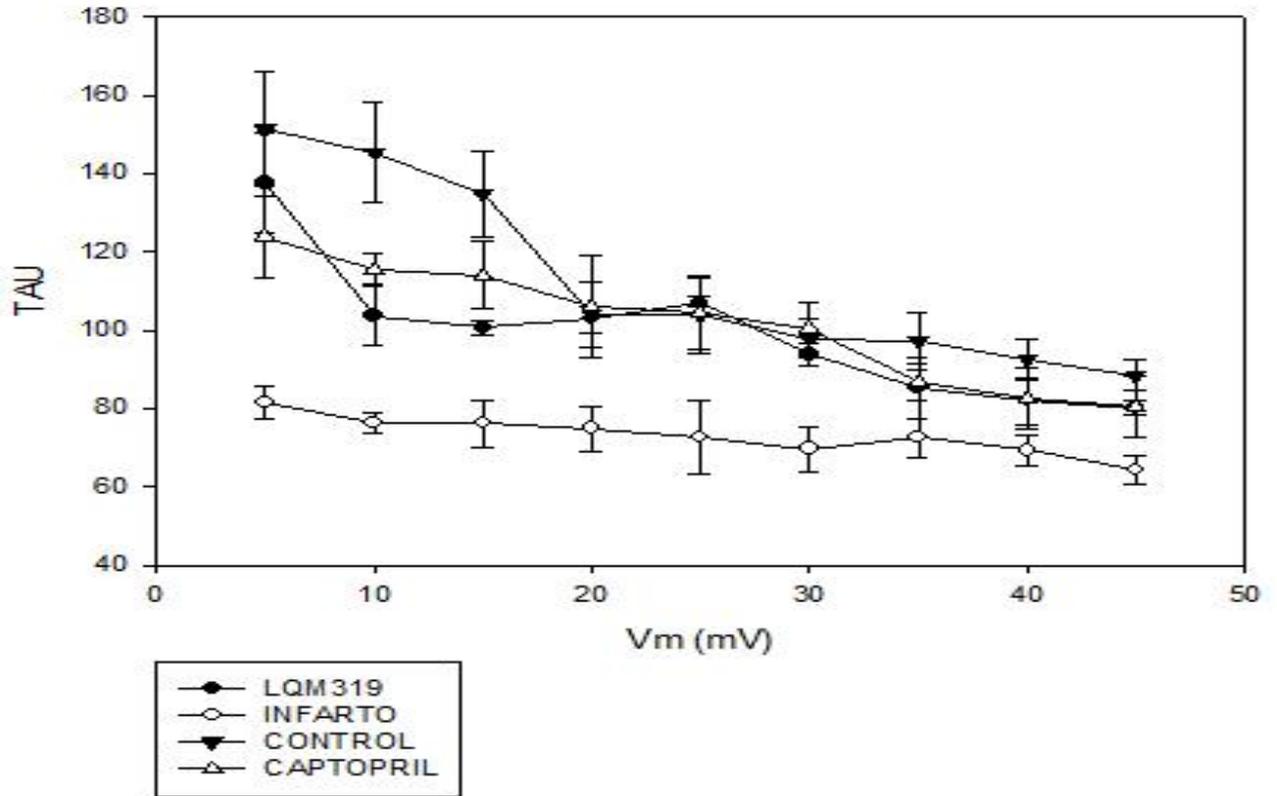
Gráfica 11 “Curva I/V del canal de potasio rectificador de entrada lenta en los dif. grupos”. Los resultados se expresan como el \bar{X} de los datos \pm error estándar. $p < 0.05$ Captopril vs Control $n=13$ para grupo control $n=10$ para grupo captopril $n=17$ para grupo LQM319 $n=12$ para infarto.

En la gráfica 12 se muestra los resultados de tiempo al pico (ms) vs voltaje en un intervalo de 5 mV a 45 mV para las corrientes del canal de potasio, observándose un aumento significativo de la cinética del canal en el grupo de captopril en comparación con el grupo infartado. Sin embargo en los demás grupos este aumento fue no significativo.



Gráfica 12 “Cinética del canal de potasio rectificador de entrada lenta en los dif. grupos”. Los resultados se expresan como el \bar{X} de los datos \pm error estándar. $p < 0.05$ Captopril vs Infarto $n=13$ para grupo control $n=10$ para grupo captopril $n=17$ para grupo LQM319 $n=12$ para infarto.

Gráfica 13 se muestra los resultados de la constante de caída TAU para el canal de potasio tomándose como valores de voltaje para el estudio de 5 mV a 45 mV. Observándose un aumento significativo de la constante entre el grupo infartado y los grupos captopril o LQM319. Mientras que el grupo infartado presenta una disminución significativa en comparación con el grupo control.



Gráfica 13 “Los resultados se expresan como el \bar{X} de los datos \pm error estándar. $p < 0.05$ Captopril vs INFARTO; LQM319 vs INFARTO; INFARTO vs CONTROL n=13 para grupo control n=10 para grupo captopril n=17 para grupo LQM319 n=12 para infarto

6. Análisis de resultados

Los resultados indican que el compuesto LQM319 disminuye frecuencia cardíaca de manera significativa en comparación con el grupo infartado, se sabe que la disminución en la frecuencia cardíaca representa que se vea disminuida la fuerza con la cual el miocardio se contrae a corto plazo, favoreciendo así que a largo plazo este tipo de fármacos ayuden a evitar la presencia de insuficiencia cardíaca y también a fortalecer el corazón. Son pocos los fármacos que han comprobado disminuir la frecuencia cardíaca, entre los cuales se encuentran los Beta bloqueadores que retardan la frecuencia cardíaca (38)

Además en el infarto agudo al miocardio se produce un desequilibrio entre la oferta y la demanda miocárdica de oxígeno. La frecuencia cardíaca es uno de los factores principales de la demanda de oxígeno del miocardio y actúa como regulador de la oferta. Los estudios experimentales han demostrado que una frecuencia cardíaca cada vez mayor, incrementa la demanda de oxígeno aún cuando el trabajo externo realizado por el corazón se mantenga constante, siendo de suma importancia en estudios crónicos. Sin embargo en un estudio agudo como el presente una disminución en la frecuencia cardíaca contribuye a disminuir la sobrecarga cardíaca y con ello a estabilizar el ritmo cardíaco, lo cual beneficia de manera significativa la presencia de arritmias (40)

Por otro lado en los resultados de la medición del intervalo QT se puede observar que compuesto LQM319 lo acorta significativamente en comparación con el grupo infartado, cabe destacar que el intervalo QT es un marcador del estado de la repolarización ventricular. El aumento de la heterogeneidad en la repolarización de los ventrículos, se asocia a un mayor riesgo para la aparición de arritmias ventriculares malignas y puede ser expresado a través de la dispersión del intervalo QT. La heterogeneidad espacial de la fase de repolarización del potencial de acción, puede ser causada por diferencias en su duración, es decir, heterogeneidad en la repolarización, la conducción o en ambas. La excesiva dispersión en el tiempo de repolarización, trae como resultado una prolongación del período vulnerable y un aumento en la susceptibilidad a las arritmias malignas. Su aumento es un signo de inestabilidad eléctrica, que reduce el umbral para la fibrilación ventricular y facilita la aparición de arritmias ventriculares, es por ello que fármacos capaces de acortar el intervalo QT como es el caso del LQM319 disminuyen la aparición de arritmias malignas. Las arritmias que se presentan en la fase aguda y que pueden causar la muerte del individuo son la fibrilación ventricular y la taquicardia ventricular principalmente, además cuando se manifiestan con frecuencia las extrasístoles ventriculares en un individuo que ha tenido un infarto, pueden representar el inicio de arritmias más peligrosas, como una fibrilación ventricular y producir la muerte súbita. Es por ello que nos dimos a la tarea de medir la incidencia de arritmias de forma temporal para cada grupo experimental por un período de 15 min en intervalos de un min. En este estudio de incidencia de arritmias se puede ver que el LQM319 presenta una menor incidencia de extrasístoles ventriculares y taquicardias y una mayor incidencia de bradicardia en comparación con el grupo infarto y captopril, desde el punto de vista electrocardiográfico se sabe que la bradicardia generalmente se asocia a un resultado favorable después del infarto al miocardio, mientras que con la aparición de taquicardias se observa lo contrario. Habitualmente la bradicardia es transitoria y se produce con más frecuencia durante el infarto al miocardio inferior que durante el anterior. Es por ello que en base a todos estos resultados nos preguntamos si el LQM319 presenta efecto antiarrítmico y sobre que canales iónicos se encuentra participando. Para responder a esa pregunta se realizaron estudios de patch clamp de medición de corrientes iónicas del canal de Calcio tipo L y del canal de potasio rectificador de entrada lenta (36). Debido a que el canal de calcio participa en la regulación homeostática del flujo iónico de la célula, y participa en la fase II del potencial de acción, por otro lado se midió la corriente del canal de potasio debido a que el potencial de acción de las células miocárdicas se caracteriza por ser marcadamente prolongado cuando existe frecuencia cardiaca lenta como el caso de los grupos tratados con el LQM319, o agentes que prolonguen el potencial de acción. En este sentido las bases iónicas están dadas por el retraso o bloqueo de las corrientes de iones K^+ y el aumento de las corrientes de iones Na^+ . Cuando los canales de K^+ son bloqueados ocurre una prolongación preferencial del potencial de acción de las células miocárdicas, que deriva en un marcado aumento de la dispersión transmural de la repolarización. Efectos similares ocurren con agentes que prolongan la duración del potencial de acción, como los bloqueadores de iones K^+ (sotalol, eritromicina) y aquellos que aumentan el flujo de Na^+ . Las diferencias regionales en la repolarización de las células miocárdicas, son la razón fundamental de la dispersión del QT y esto se incrementa bajo condiciones de infarto agudo al miocardio a causa de la amplificación de la heterogeneidad (37)

Como resultado de la medición de las corrientes iónicas del canal de calcio, se observa claramente que las corrientes iónicas de dicho canal se ven disminuidas significativamente cuando se presenta el tratamiento con captopril, mientras que con el LQM319 se observa que lleva las corrientes iónicas hasta niveles del control, lo cual implica que dicho fármaco cuando se administra previamente y

posterior a un infarto miocárdico, es capaz de restablecer la corriente iónica del canal de calcio tipo L.

Se sabe que la Ang II regula las actividades de la proteína quinasa. Las respuestas entremezcladas de estas quinasas se asocian con modificaciones en los canales iónicos que están mediadas principalmente a través de la proteína activada por mitógeno 3-quinasa (PI3K) de activación (MAP) quinasa y fosfatidilinositol. Estudios han comprobado que la Ang II actúa por la vía de Ang II/PI3K lo cual contribuye a una activación de la $I_{Ca, L}$. En estudios previos se han comprobado que al administrar un inhibidor de la ECA como el captopril se invierte el efecto de la Ang II en $I_{Ca, L}$, aparentemente a través de un efector aguas arriba PI3K, donde se observa una disminución en la intensidad de corriente del canal de Calcio L. El captopril al ser un IECA inhibe la formación de Ang II, la cual actúa regulando negativamente la vía de PI3K, por lo que se piensa que el captopril actúa corriente arriba de la vía PI3K lo cual suprime las corrientes de calcio tipo L (44)

Sin embargo el LQM319 presenta una tendencia igual al grupo sham o control, esto quiere decir que este fármaco es capaz de normalizar la corriente del canal de calcio tipo L a niveles normales, el mecanismo implicado es difícil de conocer puesto que estudios realizados previamente sugieren que actúa como un IECA, sin embargo se puede encontrar en la literatura que la formación de Ang II no solo se lleva a cabo por acción de la ECA sino que puede ser debido a la vía de las catepsinas G, dicha vía solo se activa cuando hay un proceso inflamatorio, y es un mecanismo compensatorio que forma parte del sistema local generador de angiotensina II (SLGAI). Por esta razón y en base en los resultados se supone que el LQM319 puede estar implicado en esta vía y con ello llevar los valores de corriente de calcio a nivel del grupo control.

La angiotensina II se ha convertido en una señal humoral central en la fisiopatología de infarto al miocardio. Por lo tanto, la participación de la ANG II en la baja regulación de la expresión de los canales iónicos cardíacos es una hipótesis atractiva.

El rectificador de entrada lenta de la corriente de K^+ (I_K) es el principal en la repolarización de los potenciales de acción ventriculares en especies de mamíferos. Wang y col., (47) demostraron una reducción marcada en las corrientes K^+ de cola durante la repolarización bajo la influencia de la ANG II mediada a través de la activación del receptor AT_1 por la activación de la proteína quinasa C (PKC).

En base a los antecedentes se propone que el captopril al ser un IECA bloquea la formación de Ang II ocasionando un bloqueo sobre las corrientes del canal de potasio. Por lo que se puede decir que, en el tratamiento con captopril se revela un efecto negativo de la ANG II en la I_{K^+} , que es independiente PI3-K. Sin embargo, Zankov y col., (46) demostraron que la ANG II en concentraciones nanomolares potencia a la corriente de K^+ a través de un mecanismo que implica la activación de la proteína acoplada a la fosfolipasa C (PLC) vía PKC-T. Es por ello que en base a lo anterior se propone la participación de la vía de la catepsina G en la formación de Ang II cuando se administra el LQM319 ocasionando la regulación de las corrientes a valores normales.

7. CONCLUSIONES

En base a los resultados se propone que el LQM319 actúa sobre una vía alterna de generación de ANG II (la vía de la catepsina G) la cual tiene un efecto compensatorio sobre los canales iónicos de

potasio y calcio en infarto agudo al miocardio, razón por la cual disminuye arritmias cardíacas malignas, acorta el intervalo QT y disminuye frecuencia cardíaca cuando existe un daño agudo como el infarto.

8. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud (2009). El día mundial del corazón. Documento revisado el 5 de agosto de 2013 de http://www.who.int/mediacentre/events/annual/world_heart_day/es/index.html.
2. Velázquez, A. (2007). Diseño asistido por computadora, síntesis y actividad antihipertensiva de derivados morfolínicos de fenol. Tesis de doctorado para la obtención del título de Doctor en Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
3. Mena Y, Sánchez, A. (2010). Determinación del efecto vasodilatador de los compuestos morfolínicos (LQM301, LQM302, LQM304, LQM308, LQM309, LQM310, LQM312, LQM341, LQM353), tiomorfolínicos (LQM319, LQM324, LQM328, LQM337, LQM343) y piperidínicos (LQM345) en aorta de rata hipertensa espontánea. Tesis de licenciatura para la obtención de licenciado en Químico Farmacéutico Biólogo, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
4. Flores, M. (2005). Efecto del LQM301, LQM304, LQM308, LQM310, LQM318, LQM319, LQM320, LQM323 sobre la frecuencia cardíaca y el intervalo P-R en rata anestesiada. Tesis de licenciatura para la obtención de título de Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
5. CORDOBA, G, RODRÍGUEZ, Z. (2010). Determinación del efecto de los compuestos Monomorfolínicos, Dimorfolínicos, Monotiomorfolínicos y ditiomorfolínicos en arritmias post-infarto miocárdico. Tesis de licenciatura para la obtención de título de Químico Farmacéutico biólogo. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
6. 12º Congreso Nacional de Hipertensión Arterial, Cd. de México, 2004; V Congreso Internacional de Química e ingeniería Química, Habana, 2004.
7. Hartzema, A. (1987). Anual Pharmacotherapy. Washington: PMA
8. ALCOCER, L. (2002). El electrocardiograma. Barcelona: Ediciones Médicas Actualizadas.
9. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Documento revisado el 12 de agosto de 2013 http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/enfermeria/2005359/contenido/cardiovasc/8_4.html
10. Miller, C. (1992). Ion Channel Structure and Function Science 258:240-241

11. Lilly Y, Yuh J. (1994). Potassium channels and their evolving gates *Nature* 258:119-122
12. LUCIAN M. (2005). Capítulo 5. Propiedades fundamentales del miocario. escrito en México. En René Drucker Colin. *Fisiología médica*. México: El manual moderno. junio 2005. pp. 87-102. ISBN 970-729-069-2.
13. Montgomery H, Hunter S, Morris S, Naunton-Morgan, Marshall R. Interpretation of electrocardiograms by doctors. *BMJ*1994; 309: 1551-2.
14. Al-Khatib SM, Lapointe NMA, Kramer JM, Chen AY, Hammill BG, DeLong L et al. A survey of health care practitioners' knowledge of the QT interval. *J Gen Intern Med* 2005; 20: 392-6.
15. Viskin S, Rosovski U, Sands AJ et al. Inaccurate electrocardiographic interpretation of long QT: The majority of physicians cannot recognize a long QT when they see one. *Heart Rhythm* 2005; 2: 569-74.
16. Goldenberg I, Moss A, Zareba W. QT interval: How to measure it and what is "Normal". *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006; 17: 333-6.
17. Al-Khatib SM, Lapointe NMA, Kramer JM, Califf R. GAT clinicians should know about the QT interval. *JAMA* 2003; 289: 2120-7.
18. Braunwald E (ed). *Tratado de Cardiología* (4ª ed). Madrid: Interamericana Mc.Graw-Hill: 1993.
19. Esteban de la Torre A., Portero Fraile MP. *Manual de técnicas de Enfermería* (3ª ed). Barcelona: Ed Rol, 1993.
20. Sotillo Martí JF, López de Sá E. Diagnóstico y tratamiento de las arritmias. En: Juárez Alonso S (Coo). *Manual de Urgencias médicas*. Madrid: Centro Publicaciones Ministerio de Sanidad y Consumo, 1986: 59-63.
21. García Fernández C, Cano Sánchez L, Goig Abarca A, Lucas Imbernón FJ. ECG básica en urgencias: Arritmias. En: Peñalver Pardines C (Ed.) *Manual práctico de Enfermería de Urgencias*. Madrid: Aula Médica, 1999: 25-9.
22. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva, World Health Organization, 2011.
23. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva, World Health Organization, 2011.
24. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 2006, 3(11):e442.
25. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 2012, 380(9859):2224–2260.
26. The global burden of disease: 2004 update. Geneva, World Health Organization, 2008.
27. Kumar, MBBS, MD, FRCPath, V.; Abul K. Abbas, MBBS, Nelson Fausto, MD and Jon Aster, MD (2009). «Cap. 11 Hypertensive vascular disease». En Saunders

- (Elsevier). Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease (8th edición). ISBN 978-1-4160-3121-5.
28. Dreisbach, Albert W; Sat Sharma y Claude Kortas (feb de 2010). «Hypertension» (en inglés). Nephrology: Hypertension and the Kidney. eMedicine.com. Consultado el 5 de julio de 2010.
 29. José F. Guadalajara Boo (jefe de Servicio Clínico del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez). Programa de actualización continua para Cardiología. pp. p8.
 30. DÍAZ, Mónica. ¿Cómo comenzar el tratamiento del paciente hipertenso?. Revista Argentina de Cardiología [online]. 2006, vol.74, n.3 [citado 2010-07-23], pp. 191-193. ISSN 1850-3748.
 31. Sigerist, Henry E. (1965). Große Ärzte. Múnich (Alemania): J. F. Lehmanns Verlag (5. Auflage) (1. Auflage 1958). plate 26, pág. 120.
 32. Girish DWIVEDI y Shridhar Dwivedi (2007): History of Medicine: Sushruta, the clinician-teacher par excellence, en National Informatics Centre (Gobierno de India).
 33. Esunge PM (octubre 1991). «From blood pressure to hypertension: the history of research». J. R. Soc. Med. 84 (10): pp. 621. PMID 1744849.
 34. Harrison Principios de Medicina Interna 16a edición (2006). Capítulo 230. Vasculopatía hipertensiva» (en español). Harrison online en español. McGraw-Hill. Consultado el 16 de junio de 2008.
 35. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. (December 2003). Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Hypertension 42:pp. 1206–52. doi:10.1161/01.HYP.0000107251.49515.c2. PMID 14656957.
 36. Mancia G, De Backer G, Dominiczack A, et al. (2007). 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension (en inglés). European Heart Journal (28): pp. 1462-1536.
 37. Plumacher R., Zayda, Ferrer-Ocando, Olmedo, Arteaga-Vizcanio, Melvis et al. Enfermedades cerebrovasculares en pacientes con anemia falciforme (en español), en la revista Invest. Clín., volumen 45, n.º 1, págs. 43-51, 2004. ISSN 0535-5133. Consultado el 13 de julio de 2010.
 38. Pacheco Rodríguez, Andrés (2001) (en español). Manual de emergencia médica prehospitalaria. Arán Ediciones. pp. 243. ISBN 8486725941.
 39. Atención primaria: conceptos, organización y práctica (5ta edición). España: Elsevier. 2003. pp. 765. ISBN 8481746509.
 40. Rodríguez Rueda, Juan Miguel et al. Comportamiento de la enfermedad cerebrovascular en un período de dos años, en revista Rev. Cub. Med. Mil. volumen 35, n.º 4, 2006. ISSN 0138-6557. Consultado el 13 de julio de 2010.
 41. H. P. Adams Jr.: «Guidelines for the management of patients with acute ischemic stroke: a synopsis. A Special Writing Group of the Stroke Council, American Heart

Association, en revista Heart Dis Stroke, 3 (6): págs. 407-411, nov.-dic. de 1994. Consultado el 13 de julio de 2010.

42. Flynn RW, MacWalter RS, Doney AS. The cost of cerebral ischaemia, en revista Neuropharmacology. Sep 2008;55(3):250-6. Último acceso 13 de julio de 2010.
43. Yano N, Suzuki D, Endoh M, et al. A novel phosphoinositide 3-kinase-dependent pathway for angiotensin II/AT-1 receptor-mediated induction of collagen synthesis in MES-13 mesangial cells. J Biol Chem. 2007;282(26):18819-30.
44. Liu HW, Cheng B, Yu WL, et al. Angiotensin II regulates phosphoinositide 3 kinase/Akt cascade via a negative crosstalk between AT1 and AT2 receptors in skin fibroblasts of human hypertrophic scars. Life Sci. 2006;79(5):475-83.
45. Bartnicki P, Majewska E, Wilk R, et al. Captopril and losartan modify mitogen-induced proliferative response and expression of some differentiation antigens on peripheral blood mononuclear cells in chronic uraemic patients. Arch Med Sci. 2009;5(3):401-7.
46. Zankov DP, Omatsu-Kanbe M, Isono T, et al. Angiotensin II potentiates the slow component of delayed rectifier K⁺ current via the AT1 receptor in guinea pig atrial myocytes. Circulation. 2006;113(10):1278-86.
47. Wang YH, Shi CX, Dong F, et al. Inhibition of the rapid component of the delayed rectifier potassium current in ventricular myocytes by angiotensin II via the AT1 receptor. Br J Pharmacol. 2008;154(2):429-39.

9. ANEXOS

ANOVA DE LA FRECUENCIA CARDIACA

Table Analyzed	Data 1		
Kruskal-Wallis test			
P value	0.3916		
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation		
P value summary	*		
Do the medians vary signif. (P < 0.05)	Yes		
Number of groups	4		
Kruskal-Wallis statistic	3.000		
Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?	Summary
CONTROL vs INFARTO	-3.000	Si	*
CONTROL vs CAPTOPRIL	-2.000	No	ns
CONTROL vs LQM319	-1.000	No	ns
INFARTO vs CAPTOPRIL	1.000	No	ns
INFARTO vs LQM319	2.000	Si	*
CAPTOPRIL vs LQM319	1.000	No	ns

ANOVA INTERVALO QTc

Table Analyzed Data 1

Kruskal-Wallis test
 P value 0.3916
 Exact or approximate P value? Gaussian Approximation
 P value summary *
 Do the medians vary signif. (P < 0.05) Yes
 Number of groups 4
 Kruskal-Wallis statistic 3.000

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?	Summary
CONTROL vs INFARTO	2.000	Yes	*
CONTROL vs CAPTOPRIL	1.000	No	ns
CONTROL vs LQM319	3.000	No	ns
INFARTO vs CAPTOPRIL	-1.000	No	ns
INFARTO vs LQM319	1.000	Yes	*
CAPTOPRIL vs LQM319	2.000	No	ns

ANOVA CURVA I/V CALCIO

Table Analyzed Data 1

Kruskal-Wallis test
 P value 0.8616
 Exact or approximate P value? Gaussian Approximation
 P value summary *
 Do the medians vary signif. (P < 0.05) Yes
 Number of groups 4
 Kruskal-Wallis statistic 0.7489

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?	Summary
CONTROL vs CAPTOPRIL+INFARTO	-5.231	Yes	*
CONTROL vs LQM319+INFARTO	1.000	No	ns
CONTROL vs INFARTO	0.8462	Yes	*
CAPTOPRIL+INFARTO vs LQM319+INFARTO	6.231	Yes	*
CAPTOPRIL+INFARTO vs INFARTO	6.077	No	ns
LQM319+INFARTO vs INFARTO	-0.1538	No	ns

ANOVA CINÉTICA CALCIO

Table Analyzed Data 1

Kruskal-Wallis test
 P value 0.8088
 Exact or approximate P value? Gaussian Approximation

P value summary	ns
Do the medians vary signif. (P < 0.05)	No
Number of groups	4
Kruskal-Wallis statistic	0.9688

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?	Summary
CONTROL vs LQM319+INFARTO	-2.800	No	ns
CONTROL vs CAPTOPRIL+INFARTO	-4.800	No	ns
CONTROL vs INFARTO	-4.000	No	ns
LQM319+INFARTO vs CAPTOPRIL+INFARTO	-2.000	No	ns
LQM319+INFARTO vs INFARTO	-1.200	No	ns
CAPTOPRIL+INFARTO vs INFARTO	0.8000	No	ns

ANOVA IV POTASIO

Table Analyzed	Data 1
----------------	--------

Kruskal-Wallis test	
P value	0.2311
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
P value summary	*
Do the medians vary signif. (P < 0.05)	Yes
Number of groups	4
Kruskal-Wallis statistic	4.298

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?	Summary
CONTROL vs LQM319+INFARTO	0.9615	No	ns
CONTROL vs CAPTOPRIL+INFARTO	6.808	Yes	*
CONTROL vs INFARTO	-10.23	No	ns
LQM319+INFARTO vs CAPTOPRIL+INFARTO	5.846	No	ns
LQM319+INFARTO vs INFARTO	-11.19	No	ns
CAPTOPRIL+INFARTO vs INFARTO	-17.04	No	ns

ANOVA CINÉTICA POTASIO

Table Analyzed	Data 1
----------------	--------

Kruskal-Wallis test	
P value	0.0519
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
P value summary	*
Do the medians vary signif. (P < 0.05)	Yes
Number of groups	4
Kruskal-Wallis statistic	7.731

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?	Summary
INFARTO vs CAPTOPRIL+INFARTO	-13.11	Yes	*
INFARTO vs CONTROL	-10.00	No	ns
INFARTO vs LQM319+INFARTO	-9.111	No	ns
CAPTOPRIL+INFARTO vs CONTROL	3.111	No	ns
CAPTOPRIL+INFARTO vs LQM319+INFARTO	4.000	No	ns
CONTROL vs LQM319+INFARTO	0.8889	No	ns

ANOVA TAU POTASIO

Table Analyzed Data 1

Kruskal-Wallis test
P value P<0.0001
Exact or approximate P value? Gaussian Approximation
P value summary ***
Do the medians vary signif. (P < 0.05) Yes
Number of groups 4
Kruskal-Wallis statistic 22.38

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?	Summary
LQM319 vs INFARTO	13.33	Yes	*
LQM319 vs CONTROL	-6.556	No	ns
LQM319 vs CAPTOPRIL	-7.444	No	ns
INFARTO vs CONTROL	-19.89	Yes	***
INFARTO vs CAPTOPRIL	-20.78	Yes	***
CONTROL vs CAPTOPRIL	-0.8889	No	ns