

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

MODIFICACIONES FARMACOLÓGICAS DE LAS  
PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS CARDIACAS.  
ESTUDIO EXPERIMENTAL Y SIMULACIÓN CON  
MODELOS MATEMÁTICOS

ÁNGEL FERRERO DE LOMA-OSORIO

UNIVERSITAT DE VALENCIA  
Servei de Publicacions  
2005

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 25 de Novembre de 2005 davant un tribunal format per:

- D. Juan Antonio Ruipérez Abizanda
- D. Antonio Alberola Aguilar
- D. F.J. Saiz Rodríguez
- D<sup>a</sup>. Marta Monserrat del Ríó
- D. Luis Such Belenguener

Va ser dirigida per:

D. F. J. Chorro Gascó

D. J.M. Ferrero de Loma - Osorio

D. V. López Merino

©Copyright: Servei de Publicacions  
Ángel Ferrero de Loma - Osorio

---

Depòsit legal:

I.S.B.N.:84-370-6388-4

Edita: Universitat de València  
Servei de Publicacions  
C/ Artes Gráficas, 13 bajo  
46010 València  
Spain  
Telèfon: 963864115

**UNIVERSIDAD DE VALENCIA**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



TESIS DOCTORAL

**MODIFICACIONES FARMACOLÓGICAS DE LAS  
PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS CAR-  
DIACAS. ESTUDIO EXPERIMENTAL Y SIMULA-  
CIÓN CON MODELOS MATEMÁTICOS.**

**Presentada por:**

D. Ángel Ferrero de Loma-Osorio

**Dirigida por los profesores:**

Dr. D. Francisco Javier Chorro Gascó

Dr. D. José María Ferrero de Loma-Osorio

Dr. D. Vicente López Merino

**VALENCIA 2005**

Los Doctores:

**D. Francisco Javier Chorro Gascó**, Profesor titular del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia,

**D. Jose María Ferrero de Loma-Osorio**, Catedrático de Tecnología Electrónica del Departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia,

**D. Vicente López Merino**, Catedrático de Cardiología del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada “MODIFICACIONES FARMACOLÓGICAS DE LAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS CARDÍACAS. ESTUDIO EXPERIMENTAL Y SIMULACIÓN CON MODELOS MATEMÁTICOS”, presentada por D. Ángel Ferrero de Loma-Osorio para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía, ha sido realizada bajo su dirección y reúne los requisitos establecidos por la legislación vigente para su presentación y defensa.

Y para que así conste, firman la presente en Valencia a 20 de Junio de dos mil cinco.

Dr. D. FJ Chorro Gascó

Dr. D. JM Ferrero de Loma-Osorio

Dr. D. V López Merino

*A los que quiero...*

*“Si he conseguido ver más lejos, es porque me he aupado en hombros de gigantes...”*

**Isaac Newton**

## AGRADECIMIENTOS

Presento con gran ilusión el trabajo de todos estos años, y parece que ha llegado el momento, ahora que se han cerrado todos los archivos, ahora que la Universidad ha aprobado la defensa de esta Tesis, ahora que las noches vuelven a ser tranquilas... digo que parece que ha llegado el momento de volver la vista atrás y dar gracias, por fin, a tantas personas que se esconden detrás de estas páginas. Porque si he conseguido ver más lejos es porque me he aupado en hombros de gigantes... "gigantes" como son los tres directores de esta Tesis. En primer lugar, gracias al Dr. Francisco Javier Chorro Gascó, director principal de este trabajo, por su atención y apoyo en todos los sentidos, tanto profesional como personal, sin los cuales esta Tesis no hubiera podido llegar a su fin. En segundo lugar, gracias al Dr. Jose María Ferrero de Loma-Osorio, de quien con orgullo puedo decir que es mi hermano, un gran "gigante", un verdadero electrofisiólogo en el campo teórico, una persona a quien admiro y quiero profundamente, no sólo por nuestra relación familiar sino por poseer sin duda una mente maravillosa. Sin sus aportaciones y su constante empeño en que entienda la electrofisiología desde su base, allá donde ya sólo imperan las leyes matemáticas, sé que nunca podré llegar a ser un buen electrofisiólogo. Gracias igualmente al Dr. Vicente López Merino, co-director de esta tesis, porque su enorme conocimiento ha sido siempre para mí una fuente de estímulo y un ejemplo de dedicación "al saber".

Gracias a mi familia más cercana, a mi madre por su cariño, apoyo y comprensión, por su paciencia conmigo y por el continuo interés en mi trabajo. Gracias muy especialmente a mi padre, otro "gigante" de quien he aprendido los valores fundamentales, no sólo en el terreno profesional sino en el personal, por darme una gran lección de paciencia y docilidad en estos últimos meses tan duros para él, y por dibujarme en una pizarra cuando yo apenas tenía 10 años aquel corazón perfecto, con sus válvulas, sus aurículas, sus ventrículos... y que condicionó mi vida para siempre. A él va muy especialmente dedicado este trabajo. Gracias también al resto de mis hermanos; Gabriel y Lupe, Sandra y Pilu, y a mi sobrina y ahijada Marina a los que quiero mucho, por su constante apoyo y dedicación personal y material. Y cómo no iba a acordarme de mis

“tíos valencianos”; los Drs Ildefonso Echanove (algo así como “mi padre” en la Cardiología) y Fina Lanuza, por todos estos años de amistad, apoyo y compañía cuando la familia estaba tan lejos. Ellos forman parte de ella. Gracias a mis amigos, a aquellos que han sido siempre punto de referencia en mi vida; Miguel, Irene, Marián, Rebeca, Marisa Briones y Marisa Blasco (por su amistad y constante dedicación fuera de horas), Consu, Lucía, Juan y Sam, Olmos y Migue, Bego, M<sup>a</sup> Carmen, Ana, Sefa...y otros tantos, por su constante apoyo y cariño.

Gracias a todos los compañeros y amigos del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina, donde se ha desarrollado la mayor parte de esta Tesis. Al Dr. Luis Such, por su afecto e interés constante en el desarrollo de este trabajo, al Dr. Antonio Alberola, al Dr. Luis Such (Jr), a Isabel (pieza fundamental de este trabajo por su colaboración en las figuras y por su constante ánimo), a Paqui, y muy especialmente a mis compañeros Ximo Cánoves, Luis Mainar y Estrella Blasco (“mi compi”), por su constante apoyo y aliento. Gracias igualmente al Dr. Juan Ezquer del Servicio de Farmacia del Hospital por su imprescindible ayuda en la adquisición y preparación del pinacidil.

Gracias a todo el personal del Laboratorio de Bioingeniería de la Universidad Politécnica de Valencia que ha participado en este trabajo. Al Dr. Javier Saiz, a las Dras. Beatriz Trénor, Marta Monserrat y Carmen March, a Lucía Romero y a Karen Cardona. Ellos me han acompañado en mis primeros pasos en este complicado mundo de los modelos matemáticos que tanto me costó al principio. Gracias por su inestimable colaboración y apoyo.

Gracias a todos los compañeros médicos, enfermeras, auxiliares etc...del Hospital (especialmente del Servicio de Cardiología y de Medicina Intensiva) que me han apoyado en este trabajo. A mis compañeros residentes y ex-residentes (Mapi, Alex y Eva, Araceli, Ángel, Julio, Vicente, M<sup>a</sup> Jose... y a todas “mis niñas” de la UCI), a Maritere por sus “cables”, cariño y complicidad, y a mis amigas Carmela Ramos y Anabel Teruel. Gracias muy especialmente a los Drs. Ricardo Ruiz, Salvador Morell y Roberto García Civera, que han apostado tan fuerte por mí en este año brindándome la oportunidad de ser parte de su equipo. Otros “gigantes” y amigos que, lejos de los animales de experimen-



tación, me enseñan cada día la electrofisiología clínica, y hacen que cobre sentido todo esto. Espero no defraudarles nunca. Gracias también al Dr Rafael Sanjuán por su amistad y constante dedicación y guía para la realización de este trabajo.

Gracias a Silvio Rodríguez, Pablo Milanés, Ismael Serrano, Alejandro Sanz, Mark Knopfler por su acompañamiento musical; gracias a Dios, a San Judas Tadeo y a la Beata Inés por abusar de su confianza gracias a “mis niñas” (Mina y Lala) por su compañía, comprensión y cariño incondicional y gratuito.

Y por último, no quería dejar de dar mil gracias a los animales que, involuntariamente, participaron en los experimentos que dieron vida a este trabajo. Ellos son hoy más que nunca, como diría Silvio Rodríguez, los muertos de mi felicidad...

# **ÍNDICE**

**Nº Pag**

1.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.- Interés del tema.....	1
1.2.- Las propiedades electrofisiológicas cardíacas.....	3
1.2.1.- Canales y corrientes iónicas.....	3
1.2.2.- El potencial de acción miocárdico.....	7
1.2.3.- Velocidades de conducción. La anisotropía.....	9
1.2.4.- Refractariedad.....	11
1.2.5.- Longitud de onda del proceso de activación.....	13
1.2.6.- Modificaciones de las propiedades electrofisiológicas durante la fibrilación ventricular.....	13
1.2.7.- Modificaciones de las propiedades electrofisiológicas en isquemia aguda.....	17
1.3.- Los fármacos antiarrítmicos.....	20
1.3.1.- Mecanismos básicos de generación de las arritmias.....	20
1.3.2.- Clasificación de los fármacos antiarrítmicos.....	24
1.3.3.- Efecto proarritmogénico de los fármacos antiarrítmicos.....	27
1.4.- Fármacos objeto de estudio.....	30
1.4.1.- Flecainida.....	30
1.4.2.- Dofetilide.....	36
1.4.3.- Pinacidil.....	40
1.5.- Simulación con modelos matemáticos.....	45
2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	50

3.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	52
3.1.- Preparación experimental.....	52
3.2.- Protocolo experimental.....	55
3.2.1.- Estudio de la flecainida.....	55
3.2.2.- Estudio del dofetilide.....	57
3.2.3.- Estudio del pinacidil.....	58
3.3.- Análisis de los datos.....	64
3.3.1.- Estudio de la flecainida.....	64
3.3.2.- Estudio del dofetilide.....	67
3.3.3.- Estudio del pinacidil.....	73
3.4.- Cálculos estadísticos.....	79
3.5.- Simulación con modelos matemáticos.....	80
3.5.1.- Modelo de corrientes iónicas y potencial de acción.....	80
3.5.2.- Modelo de la acción del pinacidil.....	84
3.5.3.- Modelo de isquemia.....	86
3.5.4.- Modelización del tejido cardíaco.....	87
3.5.5.- Protocolos de simulación.....	90
4.- RESULTADOS.....	95
4.1.- Efectos de la flecainida.....	95
4.1.1.- Efectos de la flecainida sobre las velocidades de conducción ventricular.....	99
4.1.2.- Efecto de las flecainida sobre las velocidades de conducción ventricular en función del intervalo de acoplamiento.....	101
4.1.3.- Efectos de la flecainida sobre las velocidades de conducción longitudinal versus transversal.....	104
4.2.- Efectos del dofetilide.....	107
4.2.1.- Efectos del dofetilide sobre las propiedades electrofisiológicas ventriculares.....	107
4.2.2.- Efectos del dofetilide sobre los patrones	

de activación durante la fibrilación ventricular.....	112
4.3.- Efectos del pinacidil.....	119
4.3.1.- Resultados experimentales.....	119
A) Efectos del pinacidil sobre la refractarie- dad ventricular en condiciones basales y de isquemia aguda.....	119
B) Efectos del pinacidil sobre la induci- bilidad de arritmias en condiciones ba- sales y de isquemia.....	125
C) Efectos del pinacidil sobre el patrón de inicio de la FV.....	128
4.3.2.- Resultados con modelos matemáticos.....	134
A) Resultados con modelo unidimensional.....	134
a) Caracterización del modelo.....	134
b) Validación del modelo.....	139
c) Efectos del pinacidil y de la isquemia aguda sobre los períodos refractarios.....	142
B) Resultados con modelo bidimensional. Efecto del pinacidil sobre la inducibilidad de reentradas en isquemia aguda.....	149
5.- DISCUSIÓN.....	160
5.1.- Efectos de la flecainida.....	160
5.1.1.- Efectos de la flecainida sobre las velocidades de conducción ventricular.....	160
5.1.2.- Efectos de la flecainida sobre las velocidades de conducción ventricular en función del intervalo de acoplamiento.....	162
5.1.3.- Efectos de la flecainida sobre las velocidades de conducción longitudinal versus transversal.....	165
5.2.- Efectos del dofetilide.....	168

5.2.1.- Efectos del dofetilide sobre las propiedades electrofisiológicas ventriculares.....	168
5.2.2.- Efectos del dofetilide sobre los patrones de activación durante la fibrilación ventricular.....	171
5.3.- Efectos del pinacidil.....	173
5.3.1.- Efectos del pinacidil sobre la refractariedad ventricular en condiciones basales y de isquemia.....	173
5.3.2.- Efectos del pinacidil sobre la inducibilidad de arritmias en condiciones basales y de isquemia aguda.....	176
5.3.3.- Efectos del pinacidil sobre el patrón de inicio de la fibrilación ventricular.....	183
6.- CONCLUSIONES.....	186
7.- BIBLIOGRAFÍA.....	188

## LISTADO DE ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS

<b>ADP:</b> adenosín difosfato	<b>I<sub>K1</sub>:</b> corriente de rectificación interna
<b>AMP:</b> adenosín monofosfato	<b>I<sub>K(ATP)</sub>:</b> corriente de potasio dependiente de ATP
<b>ATP:</b> adenosín trifosfato	<b>I<sub>Na</sub>:</b> corriente de entrada rápida de sodio
<b>BR:</b> Beeper & Reuter	<b>I<sub>Na-b</sub>:</b> corriente hipotética de respaldo de sodio
<b>BZ:</b> zona de borde	<b>I<sub>Na/K pump</sub>:</b> corriente dependiente de la bomba de Na/K
<b>Ca<sup>+2</sup>:</b> ion calcio	<b>I<sub>NS</sub>:</b> corriente de entrada transportada por sodio
<b>CB:</b> ciclo base	<b>I<sub>to</sub>:</b> corriente transitoria de salida de potasio
<b>Cl<sup>-</sup>:</b> ion cloro	<b>J:</b> julio
<b>Cm:</b> centímetro	<b>K<sup>+</sup>:</b> ion potasio
<b>Cm<sup>2</sup>:</b> centímetro cuadrado	<b>KHz:</b> kilohertzio
<b>CV:</b> Coeficiente de variación	<b>Kg:</b> kilogramo
<b>CZ:</b> zona central isquémica	<b>λ<sub>o</sub>:</b> longitud de onda del proceso de activación
<b>DPA:</b> duración del potencial de acción	<b>L:</b> litro
<b>ECG:</b> electrocardiograma.	<b>LR-I:</b> modelo de Luo-Rudy fase 1
<b>EE:</b> extraestímulo/s	<b>LR-II:</b> modelo de Luo-Rudy fase 2
<b>FC:</b> frecuencia cardíaca	<b>MD:</b> media
<b>FrD:</b> frecuencia dominante	<b>Mg<sup>+2</sup>:</b> ion magnesio
<b>FRPFV:</b> período refractario funcional durante la fibrilación ventricular	<b>mg:</b> miligramo
<b>FS:</b> factor de seguridad	<b>ml:</b> mililitro
<b>FV:</b> fibrilación ventricular	<b>MNT:</b> McAllister, Noble & Tsien
<b>H<sup>+</sup>:</b> protón	<b>mmol:</b> milimol
<b>HH:</b> Hodgkin & Huxley	<b>mm:</b> milímetro
<b>Hz:</b> Herzio	<b>mmHg:</b> milímetro de mercurio
<b>I<sub>ca-L</sub>:</b> corriente de calcio tipo L	
<b>I<sub>ca-T</sub>:</b> corriente de calcio tipo T	
<b>I<sub>Cl</sub><sup>-</sup>:</b> corriente de cloro	
<b>I<sub>f</sub>:</b> corriente de entrada transportada por sodio y potasio	
<b>I<sub>k</sub>:</b> corriente de rectificación tardía	

**mmol**: milimol  
**MNA**: mediana  
**mV**: milivoltio  
**ms**: milisegundo  
**μmol**: micromol  
**μm**: micrometro  
**μA**: microamperio  
**Na<sup>+</sup>**: ion sodio  
**NAV**: nodo auriculoventricular  
**NSA**: nodo sinoauricular  
**NZ**: zona sana  
**P**: grado de significación estadística  
**PA**: potencial de acción  
**PAL**: porcentaje de acortamiento longitudinal  
**PAT**: porcentaje de acortamiento transversal  
**PR**: período refractario  
**PRA**: período refractario absoluto  
**PRE**: período refractario efectivo  
**PRF**: período refractario funcional  
**PRR**: período refractario relativo  
**S**: segundo  
**SD**: desviación estándar  
**SR**: retículo sarcoplásmico  
**S<sub>0</sub>**: estímulo del tren base de estimulación  
**S<sub>1</sub>**: primer extraestímulo acoplado al tren base de estimulación  
**S<sub>2</sub>**: segundo extraestímulo acoplado al tren base de estimulación  
**S<sub>3</sub>**: tercer extraestímulo acoplado al tren base de estimulación

**TV**: taquicardia ventricular  
**V**: Voltio  
**VC**: velocidad de conducción  
**VD**: ventrículo derecho  
**VELFV**: velocidad de conducción durante la fibrilación ventricular  
**VI**: ventrículo izquierdo  
**VL**: velocidad de conducción longitudinal  
**V<sub>m</sub>**: potencial de membrana  
**VT**: velocidad de conducción transversal  
**VL/VT**: relación entre la velocidad de conducción longitudinal y la transversal  
**VLB**: velocidad de conducción longitudinal basal  
**VLF**: velocidad de conducción longitudinal tras flecainida  
**V<sub>max</sub>**: velocidad de ascenso de la fase 0 del potencial de acción  
**VTB**: velocidad de conducción transversal basal  
**VTF**: velocidad de conducción transversal tras flecainida  
**VV**: ventana vulnerable  
**V/s**: Voltios por segundo  
**WLFV**: longitud de onda durante la fibrilación ventricular  
**[ ]**: concentración  
**[K<sup>+</sup>]<sub>o</sub>**: concentración de potasio extracelular

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 INTERES DEL TEMA

La utilización de fármacos por parte del hombre para tratar de mejorar su salud es algo inherente a su propia historia (López Piñero, 1989). Es un hecho fácil de entender que el hombre primitivo padeció enfermedades y utilizó remedios para enfrentarlas. Buscó para ello sustancias naturales que fue aplicando tentativamente, seleccionando aquellas que producían un efecto positivo, descartando las que consideró inútiles para el resultado deseado y tomando precauciones respecto a las nocivas. Durante siglos, incluso en las civilizaciones antiguas, la atención de las enfermedades estuvo dominada por el empirismo y la magia. En el siglo I, Dioscórides, en su obra “Materia Médica”, describe más de seiscientos remedios naturales con un planteamiento basado en la fuerza curativa de la naturaleza, que se mantendría durante más de un milenio. Paracelso rompe en el siglo XVI este pensamiento al introducir la concepción química de los fármacos, iniciando la aplicación de preparados químico-minerales que fueron los primeros medicamentos de carácter artificial. Desde entonces hasta nuestros días, la farmacología ha evolucionado a una velocidad vertigi-



nosa no sólo descubriendo nuevos fármacos derivados de sustancias naturales, sino sintetizando en laboratorio nuevos agentes terapéuticos.

En el campo de la farmacología cardiovascular, una de las primeras sustancias descritas fue la digital. Aunque fue descrita por primera vez en 1542 por L. Fuchs, es en 1775 cuando William Withering describe cómo pacientes con edemas en los miembros inferiores, mejoraban tras masticar pétalos de flores de la *digitalis purpurea* atribuyéndole un efecto diurético más que un efecto cardiotónico (Acierno L.J, 1994; Rahimtoola SH & Tak T, 1997). Igualmente, Mein en 1881 y Geiger y Hesse en 1883 descubren los efectos de la atropina; sustancia extraída de la *atropa belladonna*. Posteriormente nuevas sustancias fueron agregándose al arsenal de fármacos cardiovasculares hasta llegar a nuestros días en los que los fármacos antiarrítmicos se utilizan en el manejo de diversas alteraciones del ritmo cardíaco, habiendo sido suplantados sólo parcialmente por el uso de métodos no farmacológicos como la ablación por radiofrecuencia y/o el implante de dispositivos antiarrítmicos; métodos que en numerosas ocasiones son complementados por fármacos. (Kowey P. 2000)

En la actualidad, la experimentación de nuevas sustancias como agentes farmacológicos está sujeta a rigurosos ensayos clínicos, que consisten en estudios prospectivos sobre nuevas posibilidades terapéuticas en el ser humano (Armijo J.A y de Cos M.A, 1992). Dichos estudios comienzan con la experimentación animal en la fase 0 y concluyen en la fase IV de evaluación clínica postcomercialización, estimándose que sólo uno de cada diez mil fármacos propuestos que entran en la fase preclínica llegará finalmente a comercializarse.

Los fármacos antiarrítmicos aprobados para su utilización en la actualidad han pasado por todas las fases de los ensayos clínicos, demostrándose con ello dos características fundamentales: su seguridad y su eficacia. Sin embargo, el hecho de que se haya demostrado la eficacia de un determinado fármaco y, por lo tanto, su capacidad de ser utilizado como tal, no implica necesariamente que exista un conocimiento completo de sus más íntimos mecanismos de acción, de con cual o con cuáles receptores específicos interactúa ni de

cuáles son sus efectos electrofisiológicos completos. Así pues, nadie duda en la actualidad de la efectividad de determinados fármacos antiarrítmicos frente a determinadas arritmias, pero sí que existen sin embargo discrepancias y controversias en cuanto a la naturaleza íntima de su mecanismo antiarrítmico, en cómo afectan a cada una de las propiedades electrofisiológicas y cuáles son los mecanismos que subyacen a su efecto adverso más temido: la arritmogénicidad.

En el presente trabajo se estudian los efectos de tres fármacos (la flecainida, el dofetilide y el pinacidil) sobre las propiedades electrofisiológicas cardíacas desde un punto de vista experimental y complementado (en el caso del pinacidil) con modelos matemáticos de simulación. Con ello se pretende analizar los mecanismos de acción de estos fármacos en situación basal y en determinadas circunstancias como son la fibrilación ventricular y la isquemia aguda. Se compararán los resultados con los resultados teóricos que aportan los modelos matemáticos y que permiten explicar los mecanismos iónicos que subyacen a los efectos de dichos fármacos y se contrastarán con los resultados de otros grupos de trabajo. De esta manera, no sólo se analizarán los efectos de los fármacos mencionados, sino que mediante las modificaciones inducidas por estos fármacos sobre las propiedades electrofisiológicas, trataremos de analizar los mecanismos que perpetúan o colaboran en el cese de arritmias como la fibrilación ventricular, así como los mecanismos electrofisiológicos que subyacen a la aparición de arritmias durante la fase aguda de la isquemia.

## **1.2 LAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS CARDÍACAS**

### **1.2.1 CANALES Y CORRIENTES IÓNICAS**

La membrana celular delimita el espacio intracelular de todas las células del organismo y determina su relación con el medio extracelular. Se trata de una estructura delgada y elástica de un grosor de 7.5 a 10 nanómetros, compuesta casi por completo de proteínas y lípidos (Guyton A C. 1986). La estruc-

tura básica de la membrana celular es una doble capa de lípidos entre los que se mezclan grandes moléculas de proteína globular. Estas proteínas (en su mayoría glucoproteínas) constituyen canales iónicos y bombas electrogénicas a través de los cuales circulan gran variedad de corrientes iónicas responsables de los cambios en el potencial bioeléctrico celular.

El estudio de los canales iónicos y las corrientes que generan en las células miocárdicas es de suma importancia debido a que son responsables del desencadenamiento y conformación del potencial de acción transmembrana, y son blanco de numerosos fármacos antiarrítmicos. A continuación, profundizaremos en el estudio de cada uno de estos canales y corrientes a través de la membrana celular de los cardiomiocitos.

#### A) CANALES QUE CREAN CORRIENTES DE ENTRADA A LA CÉLULA

a) CANALES DE SODIO ( $\text{Na}^+$ ): se han aislado más de diez tipos de canales de esta familia (al menos dos de ellas en tejido cardíaco). En el corazón generan dos corrientes de  $\text{Na}^+$  principalmente:

- La corriente rápida de entrada de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ) se produce a través de un canal de  $\text{Na}^+$  voltaje dependiente que según el estado de sus dos compuertas de activación e inactivación, puede encontrarse en tres estados conformacionales: activo, inactivo o en estado de reposo (Tamargo J et al, 1992; Weirich J et al, 1992, Marban E et al, 2000). Produce una rápida despolarización de la célula siendo la responsable del inicio del potencial de acción en las células auriculares, ventriculares y del sistema His-Purkinje. Este canal de  $\text{Na}^+$  está ausente en las células del nodo sinoauricular (NSA) y del nodo auriculoventricular (NAV) (Brown HF, 1982).

- La corriente de respaldo de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na-b}}$ ) es una corriente de  $\text{Na}^+$  hipotética a través de un canal independiente del voltaje y que estaría presente en las células del NSA (Hagiwara N et al, 1992).

b) CANALES DE CALCIO ( $\text{Ca}^{+2}$ ): existen al menos dos tipos de canales de  $\text{Ca}^{+2}$  en el corazón (Pelzer D et al, 1990) que generan dos corrientes de entrada de  $\text{Ca}^{+2}$  respectivamente:

- La corriente de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo L (de larga duración) ( $I_{\text{Ca-L}}$ ) se genera a través de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo L, que son el blanco de los fármacos bloqueantes de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  (García Civera R et al, 1999). Produce despolarización y propagación en las fibras del NSA y NAV y contribuye a la meseta del potencial de acción en las fibras auriculares, ventriculares y del sistema His-Purkinje.

- La corriente de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T (transitoria) ( $I_{\text{Ca-T}}$ ) se genera a través de los canales de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo T y contribuye a la corriente interna en las últimas etapas de despolarización en fase 4 del potencial de acción en las células del NSA y en las del sistema His-Purkinje.

c) OTROS CANALES: se trata de dos canales catiónicos no selectivos y no muy bien caracterizados que permiten que la corriente tenga como portadores iones  $\text{Na}^+$ . Estos canales son responsables de dos corrientes iónicas:

- La corriente de entrada transportada por  $\text{Na}^+$  y potasio ( $\text{K}^+$ ) o “corriente marcapasos” (García Civera R et al, 1999) ( $I_f$ ): presente en las células del NSA, del NAV y del sistema His-Purkinje, participa en la despolarización durante la fase 4 del potencial de acción.

- Corriente de entrada transportada por  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{NS}}$ ): activada en algunas circunstancias por la liberación de  $\text{Ca}^{+2}$  desde el retículo sarcoplásmico. Contribuye a la generación de pospotenciales tardíos.

## B) CANALES QUE CREAN CORRIENTES DE SALIDA DE LA CÉLULA

a) CANALES DE POTASIO: se han aislado varios tipos de canales de  $\text{K}^+$  en el corazón. Se trata de canales dependientes de voltaje y compuestos por cuatro subunidades (Pongs P, 1992). Generan las siguientes corrientes:

- Corriente de rectificación interna ( $I_{K1}$ ): responsable de mantener el potencial de reposo cerca del potencial de equilibrio del  $K^+$  en las fibras auriculares, del NAV, ventriculares y del sistema His-Purkinje.

- Corriente de rectificación tardía ( $I_K$ ): corriente de cinética lenta y máxima responsable de la repolarización. Se ha descubierto que en realidad se trata de la suma de dos corrientes de canales diferentes (Sanguinetti MC & Jurkiewicz NK, 1990); uno rápido ( $I_{Kr}$ ) a través de los canales HERG, y uno lento ( $I_{Ks}$ ) a través de los canales KvLQT1 (Mounsey JP & DiMarco JP, 2000).

-  $I_{to}$ : Corriente de salida de  $K^+$  que se activa sólo momentáneamente tras la despolarización y que se distribuye únicamente por el subepicardio estando ausente en subendocardio (Antzelevitch C et al, 1991).

-  $I_{K(Ach)}$ : Corriente cuyo canal se activa por el receptor muscarínico ( $M_2$ ). Produce hiperpolarización en las células del NSA y NAV.

-  $I_{K(ATP)}$ : Corriente de  $K^+$  dependiente de adenosín trifosfato (ATP), que se activa fuertemente durante la hipoxia y contribuiría al acortamiento de los períodos refractarios durante la isquemia (Ferrero JM (Jr) et al, 1996).

-  $I_{K(Ca)}$ : Corriente de  $K^+$  activada por el aumento de calcio intracelular.

b) CANALES CLORO ( $Cl^-$ ): producen corrientes de  $Cl^-$  ( $I_{Cl}$ ) reguladas por la vía del AMP cíclico y que pueden ser intensas tras estimulación adrenérgica, favoreciendo la repolarización y acortando la duración del potencial de acción (DPA) (Harvey et al, 1990).

### C) BOMBAS E INTERCAMBIADORES IÓNICOS

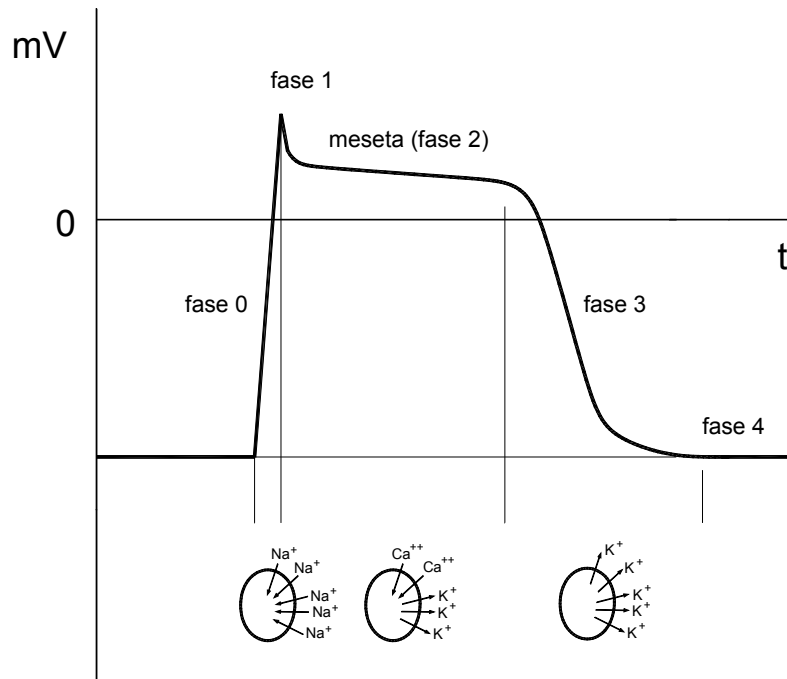
La finalidad principal de estos sistemas de transporte es la de reestablecer a largo plazo las concentraciones homeostáticas alteradas por los procesos iónicos que acaecen durante el potencial de acción.

- a) BOMBA Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>: bomba dependiente de ATP que genera una corriente iónica ( $I_{Na/K \text{ pump}}$ ) al expulsar iones Na<sup>+</sup> de la célula e introducir iones K<sup>+</sup>, con un ratio de 3 iones Na<sup>+</sup> por cada 2 iones K<sup>+</sup>.
- b) BOMBA DE Ca<sup>+2</sup>: bomba dependiente de ATP que expulsa Ca<sup>+2</sup> de la célula.
- c) TRANSPORTADORES: proteínas de membrana que facilitan intercambio iónico sin consumir energía. Destacan el sistema de intercambio Na<sup>+</sup>/Ca<sup>+2</sup>, Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> y Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub>.

### 1.2.2 EL POTENCIAL DE ACCIÓN MIOCÁRDICO

De la interrelación entre las diferentes corrientes iónicas descritas, surge el potencial de acción (PA) en las células cardíacas, es decir, la señal bioeléctrica que mide la diferencia entre el potencial intracelular y extracelular durante la despolarización y que adquiere, en este caso, una morfología característica. El potencial de la membrana en reposo en el músculo cardíaco normal es aproximadamente de -85 a -95 mV (García Civera R et al, 1999). El potencial de acción (PA) que se registra es de alrededor de 105 mV, lo cual significa que el potencial de membrana aumenta desde su valor normal muy negativo a un valor ligeramente positivo de aproximadamente +20 mV. Debido a este cambio de potencial desde lo negativo hasta lo positivo, la parte positiva se denomina "potencial de inversión". A continuación, la membrana se conserva despolarizada durante cerca de 300 ms en el miocardio ventricular humano, hasta que el potencial de membrana vuelve a caer a su potencial de reposo (Guyton A C, 1986)

Se distinguen en la evolución del PA 4 fases diferentes. En la figura 1.1 se muestra una representación del potencial de acción en una célula del miocardio ventricular, así como la importancia relativa de las diferentes corrientes iónicas en el desarrollo de cada una de las fases.



**Figura 1.1:** Representación esquemática donde se muestra un potencial de acción miocárdico y cada una de sus fases, así como los principales flujos de entrada y salida de iones que acontecen en cada una de éstas. mV: milivoltios, t: tiempo.

El análisis de los fenómenos electrofisiológicos que determinan cada una de las fases del PA está basado en experimentos de *voltaje clamp* (Cole W, 1968) y de *patch clamp* (Hamill O et al, 1981).

A) FASE 0 (o de despolarización rápida): corresponde a la despolarización de la célula y se caracteriza por una fuerte pendiente de subida de alrededor de 50 V/s, registrándose una variación desde el potencial de reposo hasta aproximadamente +20 mV. Esta fase se debe fundamentalmente a la activación de la corriente rápida de entrada de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ) que se inactiva cuando el nivel de potencial se aproxima al potencial de equilibrio del  $\text{Na}^+$  aproximadamente a +30 mV (García Civera R et al, 1999) y dura aproximadamente entre 1 y 2 ms.

B) FASE 1 (o de repolarización rápida): se debe a la inactivación de la  $I_{Na}$ , y a la activación de la corriente transitoria de salida de  $K^+$  ( $I_{to}$ ), que se inactiva de forma dependiente del tiempo y del voltaje.

C) FASE 2 (o de meseta del potencial de acción): el potencial se mantiene aproximadamente constante y se debe a la activación voltaje dependiente de la corriente de entrada de  $Ca^{+2}$  a través de los canales L ( $I_{Ca-L}$ ). Su duración es de unos 200 ms en las células ventriculares humanas, variando de una especie a otras y de unas condiciones a otras. Al final de esta fase, la  $I_K$  comienza a activarse.

D) FASE 3: la velocidad de repolarización aumenta de nuevo hasta que el potencial de membrana alcanza el potencial de reposo. Se debe a la inactivación de la  $I_{Ca}$ , a la máxima activación de la corriente de salida de  $K^+$  de rectificación tardía ( $I_K$ ) y a la activación de la corriente de rectificación interna ( $I_{K1}$ ). Su duración aproximada es de 100 ms.

E) FASE 4: recuperado el potencial de reposo, aparece una fase de lenta despolarización diastólica que se debe a la inactivación de las corrientes  $I_K$  e  $I_{K1}$  y a la activación de la corriente  $I_f$ .

Los fenómenos electrofisiológicos descritos corresponden a los PA de las células del miocardio auricular, ventricular y del sistema His-Purkinje, siendo diferentes en los PA originados en las células del NSA y del NAV donde, por ejemplo, la fase de despolarización rápida está protagonizada fundamentalmente por la entrada del ion calcio (Zipes DP, 1980).

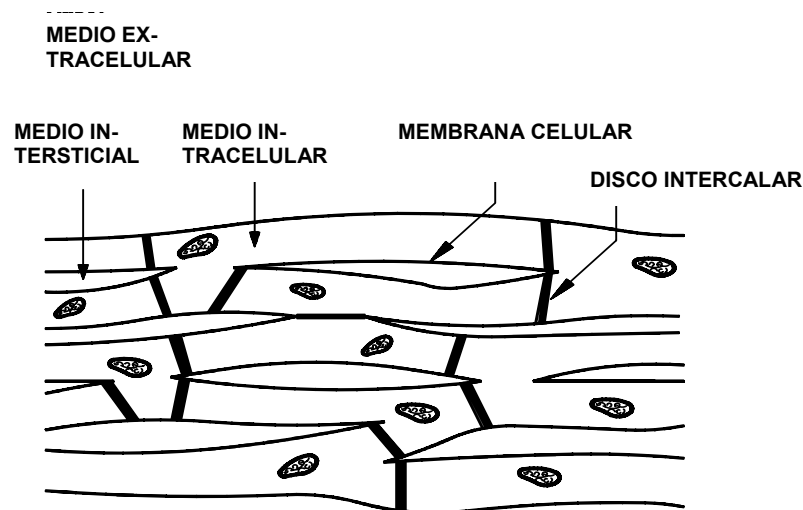
### 1.2.3 VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN. LA ANISOTROPÍA

Estudios microscópicos del tejido muscular del corazón demuestran que el miocardio está constituido por fibras de forma aproximadamente cilíndrica de unas 100  $\mu m$  de longitud y unas 10  $\mu m$  de diámetro (Sommer JR & Johnson EA, 1979). En la figura 1.2 observamos en esquema la organización del tejido,



y podemos observar cómo las fibras no están aisladas unas de otras, sino que se interconectan en serie y en paralelo mediante “túneles” longitudinales y transversales en los cuales existe una membrana celular especial (discos intercalares) que separa los citoplasmas y confiere individualidad a cada fibra.

Las uniones intercelulares o discos intercalares (Guyton AC, 1989) representan zonas de baja resistencia eléctrica (del orden de 400 veces menor que la de una membrana celular convencional) gracias a la existencia en su interior de estructuras conductoras (nexus) con alta conductividad eléctrica.



**Figura 1.2.** Representación esquemática de la estructura histológica del miocardio

Esta característica confiere al tejido miocárdico características de “sincitio”, al fluir las corrientes iónicas de una célula a otra prácticamente sin resistencia.

Saffitz JE et al (Saffitz JE et al, 1994), en estudios ultraestructurales del tejido cardíaco, describen cómo un miocito típico está conectado a una media de otros 11-12 miocitos, y un número equivalente de discos intercalares se producen entre miocitos adyacentes. Como resultado, los frentes de onda que

se propagan a través del músculo cardíaco en dirección transversal (perpendicular al eje mayor de las fibras), encuentran numerosos discos intercalares. Debido a la forma cilíndrica de los miocitos individuales, para recorrer una misma distancia, los frentes de onda durante la propagación transversal encontrarán muchos más discos intercalares que los frentes que se propagan en sentido longitudinal, experimentando, por tanto, mucha mayor resistencia. (Iida M et al, 1996; García Civera R et al, 1999). En consecuencia, la velocidad de conducción (VC) en sentido longitudinal es, en condiciones normales, una 3 veces mayor que en sentido transversal, creando el potencial de acción al propagarse, isócronas elipsoidales (Turgeon PH et al, 1992; Schlij MJ et al, 1992). Este fenómeno denominado “*anisotropía en la conducción*” hace que la propagación de los frentes de onda sea fuertemente dependiente de la orientación y conexiones entre las fibras (Tsuneiro K et al, 1997) y, según diversos autores (Schlij MJ et al, 1992; Spach MJ et al, 1981; Tsuneiro K et al, 1997; García Civera R et al, 1999), se relaciona con la génesis de arritmias por reentrada funcional en determinadas circunstancias, especialmente durante la isquemia (Ranger S & Nattel S, 1995; Restivo M et al, 1995; Heisler BE & Ferrier GR, 1996).

#### 1.2.4 REFRACTARIEDAD

Se define “*periodo refractario*” (PR) como el intervalo de tiempo durante el que la célula cardíaca es inexcitable o sólo puede ser excitada aplicando intensidades de corriente superiores a las necesarias cuando la célula se encuentra en reposo. Durante la fase 2 del PA (García Civera et al, 1999) las células cardíacas permanecen inexcitables cualquiera que sea la intensidad del estímulo que se aplique (*periodo refractario absoluto*). Durante la fase 3, la célula va recobrando poco a poco su excitabilidad pero se necesitan intensidades de estimulación mayores a las de la fase 4 (*periodo refractario relativo*). Durante la fase 4, la célula es ya excitable y la intensidad umbral necesarias para despolarizarla es estable. Cuando trabajamos estimulando a la célula con una intensidad doble del umbral diastólico, se denomina periodo refractario efectivo

(PRE) al intervalo más largo entre estímulos que no produce activación celular, siendo dicho periodo refractario mayor que el PRA y más corto que el límite superior del período refractario relativo (PRR).

El PR es una propiedad que, en las células que generan potenciales de acción dependientes de  $\text{Na}^+$ , viene determinada por la cinética de los canales de  $\text{Na}^+$  (Tamargo J et al, 2001). El PRA viene determinado por el tiempo que la célula necesita para reactivar sus canales de  $\text{Na}^+$ . En condiciones normales, la duración del PR varía con la del PA, pero en determinadas situaciones patológicas, como en isquemia o con fármacos bloqueantes de los canales de  $\text{Na}^+$ , puede alargarse más allá de la duración del potencial de acción (DPA). A este fenómeno se le denomina *refractoriedad postrepolarización* y se considera, sin embargo, normal en células cuyo PA depende de canales de  $\text{Ca}^{+2}$  (como en el NSA y en el NAV) debido a la cinética lenta de estos canales.

El PR normal de las células del miocardio ventricular humano varía con la longitud del ciclo y es, en condiciones fisiológicas, de aproximadamente 250 a 300 ms (Guyton AC, 1989), es decir, aproximadamente la DPA. El PRR es de unos 250 ms. En el caso del miocardio auricular, dichos períodos son más cortos.

Aunque existe controversia al respecto, se ha sugerido la existencia de inhomogeneidades en los PR a través de la pared ventricular (Krishnan SC et al, 1991), circunstancia rebatida por otros autores (Bauer A et al, 1999). En cualquier caso, determinadas variaciones fisiológicas, patológicas o farmacológicas de los PR que conducen a situaciones de dispersión de sus valores, estarían involucradas en la generación de arritmias (Zipes D, 1980; Torp-Pedersen C et al, 2000; Van Opstal J et al, 2001).

### 1.2.5 LONGITUD DE ONDA DEL PROCESO DE ACTIVACIÓN

La longitud de onda ( $\lambda_o$ ) se define como el producto de la VC por PR (García Civera et al, 1999).

$$\lambda_o = VC \times PR$$

La longitud de onda es un concepto que se introdujo para expresar la relación entre las VC y los PR en el contexto de las arritmias por reentrada y reflejaría la relación que han de tener la longitud de un circuito, la VC del frente reentrante y el PR del tejido para que la reentrada sea posible. Para que esto ocurra, la longitud del circuito real debe ser mayor que la longitud de onda del impulso reentrante. De esta manera siempre queda una zona de tejido excitable entre el frente de la onda reentrante y la cola de refractariedad que genera, que se denomina “*gap excitable*”.

### 1.2.6 MODIFICACIONES DE LAS PROPIEDADES ELECTROFI-SIOLÓGICAS DURANTE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR

La fibrilación ventricular (FV) es una arritmia que se caracteriza por la presencia de una actividad eléctrica desorganizada, lo que implica una gran irregularidad en los patrones de activación del miocardio ventricular. Electrocardiográficamente se caracteriza por una actividad rápida e irregular con cambios constantes en la morfología de los complejos ventriculares que son completamente aperiódicos e irregulares. Dadas sus consecuencias deletéreas, se trata de una arritmia estudiada ampliamente por diversos autores tanto en experimentos con corazón in situ (Zipes DP et al, 1975; Aupetit JF et al, 1993; Chorro FJ et al, 1996; Dorian P & Newman D, 1997), modelos de

corazón aislado (Curtis MJ, 1998; Wolk P et al, 1999, Chorro FJ et al, 1998) o preparaciones con cultivos celulares (Tovar OH & Jones JL, 1997).

La cartografía epicárdica de alta resolución de los procesos fibrilatorios ha aportado gran cantidad de información a cerca de los mecanismos de la FV, habiéndose utilizado por muchos autores (Cha YM et al, 1994; Ideker et al, 1997; Rogers JM et al, 2000; Chorro FJ et al, 2000, 2002 y 2003; Duytschaever M et al, 2001). Los patrones morfológicos de los electrogramas epicárdicos registrados aportan información sobre la actividad reentrante en la superficie ventricular siendo muy sensibles y específicos para reconocer líneas de bloqueo (Chorro FJ et al, 2003). La limitación fundamental de la cartografía de superficie es la visión limitada bidimensional de un proceso que se produce realmente en profundidad de forma tridimensional (Chorro FJ, 2000). La FV, igualmente, puede ser analizada desde dos puntos de vista: en el dominio del tiempo; esto es, analizando los electrogramas obtenidos en el tiempo, y en el dominio de la frecuencia (Chorro FJ et al 2000 y 2002). El análisis en el dominio de la frecuencia o análisis espectral descompone la señal fibrilatoria en diferentes ondas (cada una con amplitud y una frecuencia determinada) de tal manera que el sumatorio de todas ellas dan por resultado la señal fibrilatoria original. De esta manera se puede determinar la frecuencia dominante.

#### A) MECANISMOS DE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR

Los mecanismos de reentrada se consideran los principales responsables de la génesis y mantenimiento de la FV, en un contexto complejo de propiedades electrofisiológicas heterogéneas, en el que la tridimensionalidad y la anisotropía del tejido juega un papel importante (Wit AL et al, 1993). Otros factores están relacionados, como la isquemia, el efecto de diversos fármacos y el estiramiento miocárdico (Chorro FJ et al, 2000).

Se han propuesto varios mecanismos para explicar el fenómeno fibrilatorio (comentado por Davidenko JM & Pertsov AM, 2000). Un primer grupo de autores aboga por la hipótesis de que la FV se produce por frentes de onda múltiples y auto-sostenidos sin que exista un foco común de origen (Moe GK et al, 1959). Así, determinados ritmos ventriculares organizados tales como la ta-

quicardia ventricular, pueden sufrir desestabilización de los patrones de actividad reentrante dando lugar a la fragmentación en múltiples frentes de onda responsables de la fibrilación ventricular (Weiss JN et al, 1999). En el primer caso se trataría de un proceso de reentrada organizada y en el segundo, de un proceso de reentrada aleatoria (Hoffman & Rosen, 1981). Allesie MA et al (1985) en sus experimentos con corazón de perro y utilizando técnicas cartográficas de alta resolución, postularon el concepto de reentrada alrededor de una zona de bloqueo funcional, apoyando la hipótesis de las múltiples ondas postulada por Moe GK en 1964, basándose en experiencias en las que se afirmaba que los múltiples frentes de activación provenían del fraccionamiento de otros frentes al atravesar zonas de tejido en las que las propiedades electrofisiológicas no eran homogéneas.

Un segundo grupo de autores postulan que la FV es el resultado de la propagación de ondas que emanan de un foco de alta frecuencia (Zaitsev A et al, 2000) que podría ser un foco de actividad automática o una onda reentrante como, por ejemplo, una onda espiral (Jalife J, 2000).

Así pues, se considera que la FV puede ser causada por diversos mecanismos: múltiples ondas reentrantes, una onda espiral simple que se desplaza (Lee et al 1994), un rotor tridimensional (Winfree AT et al, 1993) o uno o múltiples focos automáticos irregulares (Garfinkel A et al, 1992).

## B) RELACIÓN DE LOS PROCESOS FIBRILATORIOS CON LAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS

La FV parece ser dependiente de la duración de la refractariedad ventricular (Mac Conail M, 1987) y de la  $\lambda_0$  del proceso de activación ventricular (Reiter MJ et al, 1993) al igual que en la fibrilación auricular. Esto es debido, probablemente, a que el tamaño y el número de ondas reentrantes funcionales viene determinado por la longitud de onda miocárdica (Allessie 1990). Fármacos que acortan el PR como el cromakalim (Uchida T et al, 1999) facilitan la inducción de reentrada funcional induciendo la transición desde una espiral reentrante simple y estable, a una activación en forma de fibrilación con múltiples ondas espirales. La dilatación ventricular activa una serie de mecanorreceptores que

facilita una serie de cambios en las corrientes iónicas transmembrana acortando la DPA y, por tanto, la refractariedad y la  $\lambda_0$ , facilitando la aparición de arritmias por reentrada (Chorro FJ et al, 2000)

El estudio de las propiedades electrofisiológicas durante la FV así como de los mapas de activación registrados durante la misma, aporta información útil a cerca de los mecanismos que perpetúan la arritmia y posibles mecanismos que favorecen su cese. Se han realizado estudios variando los patrones de activación ventricular mediante fármacos (Carlisle EJ et al, 1990; Chorro FJ et al, 1996; Kwan YY et al, 1998; Chorro FJ et al, 2000), mediante la reducción aguda de la temperatura (Chorro FJ et al, 2002) o tras estiramiento miocárdico (Chorro FJ et al, 2002).

La determinación de la refractariedad durante la FV es compleja y puede ser realizada mediante diferentes técnicas. Duytschaever M et al, en un trabajo publicado en 2001, muestran diferentes métodos para estudiar la refractariedad en fibrilación auricular. Entre ellos destaca la detección mediante técnicas cartográficas, de patrones radiales de propagación durante la aplicación de estímulos prematuros únicos sincronizados a las ondas de fibrilación. Arbitrariamente definen el PR como el acoplamiento más corto que captura al miocardio en más del 20% de los casos. Otra técnica que proponen los autores es mediante la sobreestimulación de la aurícula a una frecuencia fija baja (1 Hz) con lo que resultan una serie de estímulos acoplados de forma randomizada, de forma que el intervalo de acoplamiento más corto que produce variación en el ciclo de la fibrilación se define como el PR. El estudio muestra que el PR durante la fibrilación auricular tiene una considerable variabilidad temporal debido probablemente a las variaciones latido a latido del ciclo de la arritmia y de la dirección de propagación. El percentil 5 de los valores de longitud de ciclo medidos durante la fibrilación ha sido considerado como un índice del PRE, asumiendo que en el ciclo más corto de la fibrilación no existe prácticamente GAP excitable (Chorro FJ et al, 2000; Duytschaever M et al, 2001). Otros autores han determinado el PR en FV relacionando los intervalos previos asociados con conducción y los intervalos previos asociados a líneas de bloqueo (Cha YM et al, 1994).

La VC durante la FV puede ser calculada a partir del análisis de los mapas de activación epicárdicos cuando un frente de onda atraviesa la placa electrodo. La VC se determinaría dividiendo una distancia fija entre la diferencia en los tiempos de activación de dos electrodos separados por dicha distancia (Cha et al, 1994; Chorro FJ et al, 2000). Calculados la VC y el PR, se calcula la longitud de onda del proceso fibrilatorio.

### 1.2.7 MODIFICACIONES DE LAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS EN ISQUEMIA AGUDA

El término “isquemia” significa literalmente detención de la sangre. Desde un punto de vista funcional, podríamos definirla como una situación de reducción del flujo de sangre arterial con un insuficiente aporte de oxígeno que obliga a la puesta en marcha de un metabolismo anaerobio (Jennings RB, 1970). Sin embargo, a parte de la privación de oxígeno, otros dos factores importantes se producen durante la isquemia: la reducción en el aporte de nutrientes y la inadecuada extracción o “lavado” de catabolitos derivados del metabolismo celular, dada la reducción de la perfusión (Braunwald E & Sobel BE, 1992).

#### A) ALTERACIONES EN EL METABOLISMO CELULAR

Durante los episodios de isquemia se producen una serie de alteraciones en el metabolismo celular que se traducen a su vez en alteraciones en el potencial de acción celular y en su propagación, susceptibles de generar arritmias. (Wit & Janse 1993).

La reducción del metabolismo oxidativo que se produce por la falta de aporte de oxígeno durante la isquemia, favorece la glucólisis anaerobia produciendo una acumulación intracelular de lactato e hidrogeniones que a su vez genera una reducción en el pH intracelular de hasta una unidad en los primeros 10 minutos (Kirkels J et al, 1989). Igualmente, la concentración de ATP intracelular disminuye, aumentando la concentración de adenosín di-fosfato (ADP). El



metabolismo lipídico también se ve afectado dado que la falta de oxígeno impide la oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria con el consiguiente acúmulo de acetil-CoA (Marín-García J & Goldenthal MJ, 2002) en el citosol, molécula con efecto “detergente” que altera la membrana con su consiguiente efecto arritmogénico.

A nivel iónico, uno de los efectos más inmediatos e indiscutibles de la isquemia es el aumento en la concentración de  $K^+$  extracelular ( $[K^+]_o$ ) (Harris AS, 1996; Gettes LS, 1986) hecho claramente arritmogénico. A los 5 minutos de isquemia, la  $[K^+]_o$  prácticamente se duplica (Kléber AG, 1984; Wilde AAM, 1988; Wit AL & Janse J, 1993), estabilizándose en torno a 10-12 mmol/L para seguir aumentando unos minutos más tarde. La razón de este aumento en la  $[K^+]_o$  es motivo de gran controversia. En primer lugar, la falta de “lavado” producida por la reducción en la corriente sanguínea tiene un papel clave en este fenómeno (Yan GX et al, 1993). En segundo lugar, es conocido que durante la isquemia existe un flujo neto de salida de  $K^+$  al exterior de la célula, pero el mecanismo que subyace a dicho flujo no está aclarado (Billman GE, 1994). Para algunos autores se debería a un aumento de la permeabilidad al  $K^+$  de la membrana celular afectada por la isquemia; para otros, la reducción en la actividad de la bomba de  $Na^+/K^+$  dependiente de ATP (Allen DG et al, 1987) tendría un papel fundamental; y para otros autores, se debería a un aumento de la  $I_{K(ATP)}$  producida por una activación de los canales  $K(ATP)$  (Noma A, 1983; Nichols CG et al, 1991) o al intercambio de  $K^+$  por otros aniones que se acumulan en la célula por el efecto de la isquemia como el lactato (Kléber 1984).

Con respecto a los iones  $Na^+$ , en los primeros 10 minutos de isquemia se observa un aumento en su concentración intracelular, que llega hasta el 50% (Pike MM et al, 1993). Debido a este aumento en la concentración intracelular de  $Na^+$ , se reduce la actividad de la bomba  $Na^+/Ca^{+2}$ , mecanismo (entre otros) que eleva los niveles de  $Ca^{+2}$  intracelular. Esta sobrecarga de calcio origina la activación de enzimas como las fosfolipasas que producen un acúmulo de sustancias como la lisofosfatidilcolina que, probablemente por su carácter anfifílico, tiene efectos arritmogénicos (Opie L, 1984). Igualmente la concentración intracelular de  $Mg^{+2}$  se encuentra aumentada en isquemia (Kirkels J et al,

1989), hecho que parece estar en relación directa a la reducción del nivel de ATP.

## B) ALTERACIONES EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN Y SU PROPAGACIÓN. IMPLICACIONES EN LA ARRITMOGÉNESIS.

Todas estas alteraciones en el metabolismo iónico afectan a la configuración del PA y a su propagación, creando un ambiente idóneo para la génesis de arritmias favorecidas por la dispersión de dichas alteraciones entre el miocardio sano, la zona de borde isquémico y la zona central de isquemia. En cuanto a las alteraciones que se producen en el potencial de acción cabría resaltar las siguientes: la isquemia, por su efecto despolarizante sobre la membrana celular (debido fundamentalmente al aumento en la  $[K^+]_o$ ) (Kleber AG, 1983), eleva el potencial de reposo a valores menos negativos. En cuanto a la duración del PA (DPA), en los primeros minutos de isquemia se produce una disminución en la misma y, consiguientemente una reducción en el PR en probable relación al aumento de la  $I_{K(ATP)}$  (Nichols et al, 1991). Por otro lado, la amplitud máxima del potencial de acción y la máxima pendiente de subida se ven reducidas, hecho que reduce las VC.

Todos los fenómenos referidos tienen efecto directo en la arritmogénia de la fase aguda de la isquemia. El mecanismo arritmogénico más frecuente en los primeros minutos de isquemia es la reentrada funcional (Wiggers CJ et al 1940; Wit & Janse 1993, Rosen MR et al, 1990). La reducción de los períodos refractarios y su dispersión espacial en isquemia (Han J & Moe GK, 1963) junto al enlentecimiento de las VC (producida por la despolarización diastólica de la célula secundaria al aumento de la  $[K^+]_o$ ) produce una reducción a su vez en la  $\lambda_o$  que favorece la aparición de reentradas.

## **1.3 LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS**

### **1.3.1 MECANISMOS BÁSICOS DE GENERACIÓN DE LAS ARRITMIAS**

El conocimiento de los mecanismos de acción de los fármacos antiarrítmicos exige una revisión de los mecanismos básicos de las arritmias. Estos mecanismos son los siguientes:

#### **A) ALTERACIONES EN EL AUTOMATISMO CELULAR**

a) Alteración del automatismo normal: el sistema nervioso vegetativo ejerce una poderosa influencia sobre el NSA produciendo taquicardia o bradicardia sinusal. Las células con automatismo normal del NAV y del sistema His-Purkinje están, en condiciones normales, inhibidas por la frecuencia sinusal (*overdrive supresión*) (García Civera R et al, 1999). Cuando la frecuencia sinusal disminuye de forma importante o cuando se bloquea el paso de impulsos a los ventrículos, aparecen “ritmos de escape” de marcapasos subsidiarios habitualmente inhibidos (Tamargo J, 2001). Otras veces, en circunstancias especiales, la frecuencia de disparo de los marcapasos subsidiarios supera la del NSA pasando a actuar como marcapasos cardíacos. Este fenómeno podría considerarse mediado por aumento del automatismo normal (Hoffman BF & Rosen MR, 1981).

b) Automatismo anormal: fenómeno por el que células que en condiciones normales no son automáticas adquieren propiedades de automatismo. Se basa en la aparición de potenciales diastólicos anormalmente disminuidos (entre  $-50$  mV y  $-60$  mV) y, dado que a estos potenciales de membrana la  $I_{Na}$  está inhibida, se producen por la activación de corrientes de  $Ca^{+2}$  y no están influenciadas por el fenómeno de *overdrive supresión* (Breithardt G et al, 1994; García Civera R, et al 1999). Parece ser el mecanismo responsable de algunas taquicardias auriculares ectópicas y de episodios de taquicardias ventriculares en los primeros días post infarto.

B) ACTIVIDAD DESENCADENADA (Triggered activity): consiste en la aparición de oscilaciones anormales en el PA que si alcanzan un cierto umbral pueden dar lugar a otro PA (pospotencial). Se diferencia del automatismo anormal en que se trata de una actividad que siempre depende de un PA previo (García Civera R et al, 1999).

a) Pospotenciales precoces: aparecen durante las fases 2 ó 3 del PA y se ha relacionado con el incremento de las corrientes de entrada de  $\text{Ca}^{+2}$  o  $\text{Na}^{+}$  o con la disminución de las corrientes de salida de  $\text{K}^{+}$ , situaciones que alargan la DPA. Dichas situaciones pueden darse en el contexto de fármacos que prolongan el intervalo QT, síndrome de QT largo congénito, hipopotasemia, hipoxia y, en general, ritmos lentos. Se cree que constituyen el mecanismo de las taquicardias ventriculares (TV) del tipo *torsades de pointes*.

b) Pospotenciales tardíos: pospotenciales que aparecen durante la fase 4 del PA y que se relacionan con el aumento de la frecuencia cardíaca o de la concentración intracelular de  $\text{Ca}^{+2}$  (Tamargo J, 2001); situaciones como la intoxicación digitalica, aumento de catecolaminas o isquemia-reperfusión. Este mecanismo puede ser responsable de arritmias por intoxicación digitalica, ritmos idioventriculares acelerados, bigeminismo, TV sensible a adenosina y ciertas taquicardias auriculares.

### C) REENTRADA

La reentrada es un mecanismo generador de arritmias que se basa en la conducción anormal del impulso eléctrico a través del miocardio y consiste en la falta de extinción natural del frente de onda de activación en una zona de tejido durante el tiempo suficiente para que el tejido vecino recupere su excitabilidad. Con ello, el impulso inicial, vuelve a excitar total o parcialmente el corazón. En 1981 Hoffman & Rosen clasifican el mecanismo de reentrada en dos grandes grupos: la reentrada aleatoria y la reentrada organizada. En el primer caso, existirían varios circuitos reentrantes de tamaño y localización cambiantes dando lugar a arritmias tales como la fibrilación auricular o ventricular. En el segundo existiría un único frente de onda reentrante y circunscrito a un circuito anatómico finito. Se considera que la reentrada organizada es el mecanismo

implicado en la mayor parte de las taquicardias que se producen en el hombre (García Civera R et al, 1999) y en especial durante los primeros minutos de la isquemia aguda (Wiggers CJ et al 1940; Wit & Janse 1993, Rosen MR et al, 1990).

Entre los mecanismos que pueden producir una reentrada organizada se ha de distinguir la reentrada determinada anatómicamente de la reentrada funcional (no determinada anatómicamente).

a) Reentrada determinada anatómicamente: el circuito de reentrada viene definido por la anatomía del tejido y sus principios básicos fueron enunciados por Mines en sus estudios realizados con tejidos de tortuga (Mines GR, 1913 y 1914). Las condiciones necesarias para que se produzca reentrada en el modelo de Mines serían: 1) la existencia de un circuito anatómico; 2) la presencia en el circuito de una zona de bloqueo unidireccional fija o funcional; 3) una relación entre la longitud del circuito, la velocidad de propagación del frente reentrante y el período refractario que permita que el tejido sea nuevamente excitable cuando el frente de activación vuelva a su origen. Es decir, que la  $\lambda_0$  del proceso de activación sea menor que la del circuito de reentrada permitiendo de esta manera la existencia de un gap excitable.

b) Reentrada no determinada anatómicamente o reentrada funcional: se han propuesto a lo largo del tiempo diferentes modelos que describen el mecanismo de reentrada sin la necesidad de un circuito anatómico fijo. En 1928, Schmidt y Erlangen proponen un modelo de reentrada basado en la disociación longitudinal de un grupo de fibras paralelas con propiedades electrofisiológicas no homogéneas, concepto revisado más tarde por Wit y Cranefield en 1978.

El concepto de “leading circle” o “circuito guía” fue introducido por Allesie y colaboradores en sus trabajos con tejido auricular de conejo utilizando técnicas cartográficas (Allesie M et al, 1976 y 1977). Mediante estimulación, estos autores fueron capaces de inducir reentradas en las que las cartografías mostraban un tipo de reentrada en la que el circuito se completaba en la periferia, mientras que en la parte central la activación se producía por “ondas hijas” no reentrantes. En este tipo de reentrada la longitud del circuito guía depende

de las propiedades electrofisiológicas del tejido (es igual a la longitud de onda), no existe gap excitable y el tiempo de revolución es proporcional al período refractario.

Otro mecanismo descrito de reentrada funcional lo constituye la reentrada anisotrópica (Spach MS et al, 1981 y 1982). Estos autores demostraron la existencia en los tejidos cardíacos de una anisotropía uniforme que consiste en que en un haz de fibras dispuestas en paralelo siguiendo una misma dirección, la VC en sentido longitudinal es mucho mayor que en sentido transversal. Sin embargo, en este tipo de tejido, los estímulos prematuros se bloquean con más facilidad en sentido longitudinal que transversal. A su vez, la anisotropía del tejido puede verse exagerada por circunstancias tales como los cambios en la orientación de las fibras, la existencia de tejido fibroso etc. En estas circunstancias de hablaría de anisotropía no uniforme (Spach et al, 1981 y 1982). Ambos tipos de anisotropía pueden producir reentrada tanto en tejido auricular como ventricular (Schaliy MJ et al, 1992) con potenciales de membrana y períodos refractarios normales así como bajo el efecto de fármacos antiarrítmicos que podrían facilitar este mecanismo de reentrada (Coromilas J et al, 1995; Kondo T et al, 1997).

En 1991 se describió un nuevo modelo de reentrada funcional basado en la formación de ondas espirales (Jalife J et al, 1991; Davidenko JM et al, 1991) apoyado más tarde por otros autores (Janse MJ et al, 1999). El modelo describe un mecanismo de reentrada que se aleja del punto de vista de la electrofisiología cardíaca convencional y que se deriva de predicciones hechas por un pequeño grupo de biólogos matemáticos y físicos (Winfree AT, 1972; Pertsov AM et al, 1984; Zykov VS, 1987) sobre el reciente conocimiento de un fenómeno omnipresente en la naturaleza: la formación de ondas espirales en medios excitables homogéneos bidimensionales. La observación de ondas espirales en determinadas reacciones químicas como la reacción de Belousov-Khabotinski descubierta por Pavlovich en 1959 (citado por Jalife J et al, 1991) permite demostrar cómo en el tejido miocárdico podrían formarse ondas espirales responsables de fenómenos de reentrada, dada la similitud de propiedades que presenta el miocardio con dicha reacción química. Mediante técnicas de

mapeo óptico se ha podido demostrar la presencia de ondas espirales en pequeñas piezas de tejido ventricular ( Jalife J et al, 1991).

### 1.3.2 CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS

La clasificación de los fármacos antiarrítmicos actualmente más aceptada y vigente es la clasificación de Vaughan Williams (Vaughan Williams EM et al, 1970) que divide a los fármacos antiarrítmicos en 4 grupos atendiendo a su mecanismo de acción. Esta clasificación, sin embargo, está limitada en cuanto a que no tiene en cuenta que determinados fármacos tienen múltiples efectos electrofisiológicos y no pueden ser englobados en un único grupo (Kowey PR et al, 2000). Igualmente, la clasificación de Vaughan Williams no toma en cuenta la acción de los metabolitos de los fármacos que pueden tener diferentes efectos electrofisiológicos. Algunos clínicos e investigadores básicos, con el objetivo de mejorar esta clasificación idearon un nuevo sistema denominado “El Gambito Siciliano” (Task Force of the working group on arrhythmias of the European Society of cardiology, 1991). Con este sistema los fármacos se clasifican en base a sus efectos sobre una variedad de canales y receptores cardíacos incluyendo los muscarínicos y purinérgicos, describiendo así mismo su relación con la cinética de cada canal. Fármacos como la adenosina y la digital son contemplados en esta clasificación (lo que no ocurre en la clasificación de Vaughan Williams). “El Gambito Siciliano” no tuvo, por su complejidad, mucho impacto en la práctica clínica.

Vaughan Williams clasifica los antiarrítmicos según su mecanismo fundamental de acción en cuatro grupos:

#### A) FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS DEL GRUPO I

Su efecto se basa en el bloqueo del canal de  $\text{Na}^+$  voltaje-dependiente con lo que deprimen la  $I_{\text{Na}}$  a nivel auricular y ventricular. Reducen, por tanto, la velocidad de despolarización de la fase 0 y, por consiguiente, la VC y la excitabilidad (Tamargo J & Valenzuela C, 1992). De acuerdo con la cinética de bloqueo

(velocidad de asociación-disociación) del canal de  $\text{Na}^+$  (que se explicará más adelante), los fármacos de este grupo se subdividen en tres subgrupos:

-Fármacos Ia (cinética intermedia): QUINIDINA, PROCAINAMIDA, DISOPIRAMIDA. Presentan mayor afinidad por el estado inactivo del canal de  $\text{Na}^+$  y su cinética es de velocidad intermedia entre la de los subgrupos Ib y Ic. Prolongan el intervalo QT y la duración del complejo QRS en el electrocardiograma (ECG) así como el PRE, al aumentar la duración del PA (por efecto bloqueante de los canales de  $\text{K}^+$ ). Su efecto sobre el canal de  $\text{Na}^+$  es modesto, por lo que sus efectos sobre la VC son moderados.

- Fármacos Ib (cinética rápida): LIDOCAINA, MEXILETINA, TOCAINIDA. Fármacos que presentan mayor afinidad por el estado activo del canal y su cinética de bloqueo es rápida. Acortan ligeramente la DPA pero sus efectos sobre el PRE y sobre la VC son escasos.

- Fármacos Ic (cinética lenta): FLECAINIDA, PROPAFENONA, ENCAINIDA. Presentan mayor afinidad por el estado activo del canal (flecainida) o por el estado inactivo (propafenona). Su cinética lenta sobre el canal de  $\text{Na}^+$  condiciona una potente depresión de la  $I_{\text{Na}}$  lo que produce una importante reducción de la VC. Sus efectos sobre la DPA son prácticamente nulos. En el electrocardiograma, inducen ensanchamiento del complejo QRS.

## B) FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS DEL GRUPO II

Fármacos que producen un bloqueo competitivo y reversible sobre los receptores  $\beta$ -adrenérgicos cardíacos. En consecuencia reducen la frecuencia sinusal y suprimen los marcapasos ectópicos y el automatismo anormal inducido tras la liberación de catecolaminas. Igualmente deprimen la VC y prolongan el PRE del NAV, prolongando los intervalos PR y AH. Su efecto sobre la VC y la conducción intraauricular e intraventricular es discreta por lo que no modifican el intervalo HV. Sin embargo, en el miocardio isquémico, deprimen la VC y aumentan el umbral de fibrilación ventricular (FV). Se incluyen en este grupo todos los fármacos betabloqueantes como el PROPRANOLOL, el ATENOLOL, el BISOPROLOL y el METOPROLOL entre muchos otros.



TABLA 1.1: CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS.

<b>CLASIFICACIÓN Y EFECTOS DE LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS</b>			
<b>CLASE</b>	<b>ECG</b>	<b>CANAL/RECEPTOR</b>	<b>FÁRMACOS</b>
<b>IA</b>	↑ QRS ↑ QT	Bloqueo Canal Na <sup>+</sup> (Cinética Intermedia, Bloqueo Canal de K <sup>+</sup> )	QUINIDINA PROCAINAMIDA DISOPIRAMIDA
<b>IB</b>	= QT = QRS	Bloqueo Canal Na <sup>+</sup> (Cinética rápida)	LIDOCAINA MEXILETINA
<b>IC</b>	↑ QRS	Bloqueo Canal Na <sup>+</sup> (Cinética lenta)	FLECAINIDA PROPAFENONA
<b>II</b>	↓ FC ↑ PR	Bloqueo Receptor β	PROPRANOLOL Y OTROS
<b>III</b>	↑ QT	Bloqueo Canal K <sup>+</sup> (Facilita Canal lento Na <sup>+</sup> )	AMIODARONA SOTALOL DOFETILIDE
<b>IV</b>	↓ FC ↑ PR	Bloqueo Canal Ca <sup>+2</sup>	VERAPAMIL DILTIAZEM

**Tabla 1.1:** Fármacos antiarrítmicos según la Clasificación de Vaughan-Williams y sus principales efectos electrocardiográficos (ECG) y mecanismo de acción. QRS: complejo QRS, QT: intervalo QT, FC: frecuencia cardíaca, PR: intervalo PR. (Adaptado de Kowey PR, 1998)

### C) FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS DEL GRUPO III

Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de los canales de  $K^+$  responsables de la corriente de rectificación tardía de  $K^+$  ( $I_k$ ), por lo que prolongan la DPA y los PR (lo que implica un alargamiento del intervalo QT del electrocardiograma), aumentando la longitud de onda del proceso de activación. Sus efectos sobre las velocidades de conducción son escasos. El principal representante de este grupo es la AMIODARONA, derivado yodado benzofuránico que no sólo bloquea la  $I_k$  sino que además exhibe afinidad por el estado inactivo del canal de  $Na^+$ , propiedades antagonistas del  $Ca^{+2}$  y, a altas dosis, bloquea de forma no competitiva los receptores  $\alpha$  y  $\beta$ -adrenérgicos. Otros fármacos pertenecientes a este grupo son el SOTALOL, el DOFETILIDE y el IBUTILIDE.

### D) FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS DEL GRUPO IV

Son fármacos que bloquean la entrada de  $Ca^{+2}$  a través de los canales tipo L. Los principales fármacos con efecto antiarrítmico de este grupo son el VERAPAMILO y el DILTIAZEM. Su efecto se produce fundamentalmente sobre estructuras cuyos PA son dependientes del  $Ca^{+2}$  como en el NSA y el NAV, produciendo depresión de la frecuencia sinusal y de los marcapasos de la unión aurículo-ventricular.

## 1.3.3. EFEECTO PROARRITMOGÉNICO DE LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS

Hace más de cuatrocientos años Paracelso escribía: “una droga puede ser una sustancia inerte, un veneno o un agente terapéutico dependiendo de cómo se use y de la dosis en la que es administrado”. Esta afirmación es particularmente apropiada en la aplicación de los fármacos antiarrítmicos (Kowey P. 1998). En efecto, la aplicación de dichos fármacos está sujeta a numerosos efectos adversos, siendo el fenómeno proarrítmogénico uno de los más temidos. Este aspecto de los fármacos antiarrítmicos ha sido referenciado y estu-

diado por gran cantidad de autores (Zipes DP, 1980; Hoffman BF & Rosen MR, 1981; Creamer JE et al, 1987; El-Sherif N, 1991; García Civera et al, 1991; Morganroth J, 1992; Tamargo J & Valenzuela C, 1992; Nattel S, 1998) y especialmente aplicado a los fármacos del grupo Ic como la flecainida ( Roden DM & Woosley RL, 1986; Brugada J et al, 1991; El-Sherif N, 1991; Restivo M et al, 1995; Ranger S & Nattel S, 1995; Heisler BE & Ferrier GR, 1996; Tachibana H et al, 1999). En 1989, el estudio CAST (The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial investigators, 1989) en el que se analizaba el efecto de la flecainida y la encainida sobre la mortalidad en pacientes post-infarto de miocardio, tuvo que ser suspendido ante la evidencia de un aumento claro de la mortalidad en estos pacientes tratados con dichos fármacos del grupo Ic.

No existe una definición del concepto de “proarritmia” universalmente aceptada. Dejando a parte las bradiarritmias inducidas por los fármacos antiarrítmicos y normalmente relacionadas con situaciones de intoxicación, podría definirse como proarritmia la aparición de nuevas taquicardias ventriculares, agravamiento de arritmias ventriculares previas y aumento en la incidencia de latidos ventriculares prematuros, todo ello en relación a la introducción de un fármaco antiarrítmico (Morganroth J & Horowitz LN, 1984). La incidencia de los efectos proarritmogénicos no está bien documentada y depende de los métodos que se utilice para su detección. De los pacientes recuperados de una muerte súbita extrahospitalaria, según estudios de Moss AJ et al en 1977 y Vismara LA et al en 1977 (citados por Creamer JE et al, 1987), entre un 30 y un 60 % estaban tomando fármacos antiarrítmicos en el momento de la muerte súbita, aunque es difícil saber si dicho evento estuvo en relación directa con la toma de los fármacos o eran debidos a la patología primaria o a arritmias previamente existentes debidas a baja dosificación.

## MECANISMOS PROARRITMOGÉNICOS DE LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS

Se han propuesto diferentes mecanismos para explicar el potencial proarrítmico de los fármacos antiarrítmicos, que pasaremos a resumir a continuación:

1.- Alteración en los tiempos de conducción: el bloqueo de los canales de  $\text{Na}^+$  por fármacos del grupo I y en especial por los del subgrupo Ic, producen una reducción en las VC sin afectar prácticamente a los PR (El-Sherif N, 1991; Katriotis D et al, 1995; Yamashita T et al, 1995; Wijffels M et al, 2000). Este hecho facilitaría la aparición de bloqueos de la conducción y una reducción en la  $\lambda_0$ , lo que facilitaría la aparición de fenómenos de reentrada (Creamer JE et al, 1987; Nattel S, 1998).

2.- Alteración de la refractariedad: La prolongación de los PR inducida por fármacos de los grupos I y III puede asociarse con dispersión temporal de los mismos lo que facilita la aparición de reentradas (Creamer JE et al, 1987; Rouet R et al, 2000; Wirth KJ & Knobloch K, 2001).

3.- Aumento del automatismo y Actividad desencadenada: el aumento del automatismo se ha relacionado con taquicardias inducidas por fármacos, así como la aparición de pospotenciales precoces en relación a fármacos que prolongan el intervalo QT (Nattel S, 1998) como la procainamida, quinidina o sotalol y pospotenciales tardíos asociados a la toxicidad digitálica (Creamer JE et al, 1987; García Civera R et al, 1991; El-Sherif N, 1991).

4.- Elevación del umbral de desfibrilación: determinados fármacos elevan el umbral de desfibrilación de forma que aumentan la susceptibilidad para la aparición de taquicardias ventriculares malignas o hacen más rebeldes a tratamiento las preexistentes. Tal es el caso del bretilio y de la amiodarona.

5.- Elevación del umbral de estimulación: fármacos como la flecainida, la procainamida o la quinidina elevan el umbral de estimulación endocárdico con lo

que aumenta el riesgo de fallos en la captura de marcapasos (Fornieles H et al, 2002), pudiendo inducir taquicardias dependientes de la bradicardia resultante.

6.- Efectos sobre la conducción atrioventricular: los fármacos antiarrítmicos poseen un potencial efecto proarrítmico por su influencia directa o indirecta sobre la conducción aurículo-ventricular. Por ejemplo, la flecainida puede incrementar el ciclo del flutter auricular favoreciendo la conducción aurículo-ventricular 1:1.

7.- Efecto inotrópico negativo: la disminución del inotropismo inducido por los fármacos antiarrítmicos puede, de manera indirecta, aumentar el riesgo de aparición de taquicardias ventriculares al inducir una situación de insuficiencia cardíaca (El-sherif N, 1991).

## **1.4. FÁRMACOS OBJETO DE ESTUDIO**

### **1.4.1 FLECAINIDA**

La flecainida es un derivado benzamínico perteneciente al grupo Ic de los antiarrítmicos (junto a otros como la propafenona y la encainida) y con probada eficacia para suprimir arritmias auriculares (Roden DM et al, 1986; Wang Z et al, 1990, 1992 y 1993; Katritsis D et al, 1995; Martín CL et al, 1996; Wijffels M et al, 2000; Watanabe H et al, 2001), ventriculares (Holmes B & Heel RC, 1985; Roden DM & Woosley RL 1986; Tamargo J & Valenzuela C, 1992; De Micheli A et al, 1995) y las asociadas al Síndrome de Wolf-Parkinson-White (Neuss H et al, 1983; Camm AJ et al, 1992; Crozier I, 1992; Tamargo J & Valenzuela C, 1992).

Tras la publicación de los resultados del Estudio CAST (The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators, 1989) en el que se demostró un aumento de la mortalidad entre los pacientes que tomaban flecainida como tratamiento preventivo de las arritmias ventriculares postinfarto, su principal utilidad se ha centrado en el tratamiento y prevención de arritmias supraventriculares, reservándose su uso para arritmias ventriculares en casos determina-

dos y resistentes a otros tratamientos (Tamargo J & Valenzuela C, 1992). El hecho de que la flecainida sea un fármaco que reduce las velocidades de conducción sin alterar prácticamente los PR (Vaughan Williams EM, 1970; Holmes B & Heel RC, 1985) hace difícil entender, desde los principios clásicos del fenómeno de reentrada, su beneficio en arritmias por dicho mecanismo, puesto que la reducción aislada de la VC produciría una reducción en la  $\lambda_0$  y, por tanto, favorecería la reentrada (Wang Z et al, 1992). Así pues, los mecanismos por los que la flecainida ejerce sus efectos antiarrítmicos en arritmias como la fibrilación auricular no son aun conocidos en su totalidad (Wang Z et al, 1990, 1992 y 1993; Biffi M et al, 1999; Watanabe H et al, 2001).

#### A) MECANISMO GENERAL DE ACCIÓN DE LA FLECAINIDA

La flecainida bloquea el canal de  $\text{Na}^+$  voltaje-dependiente de forma selectiva siendo su cinética de acción (velocidad asociación-disociación con el canal) lenta (mayor de 8 segundos), propiedad que la clasifica en el grupo Ic. Dicha cinética lenta conlleva una gran depresión de la  $I_{\text{Na}}$  incluso con frecuencias cardíacas lentas (Roden DM & Woosley RL, 1986), lo que produce una disminución en la velocidad de ascenso de la fase 0 del PA y una importante depresión de la VC, prolongando los intervalos PR, AH y HV y ensanchando el complejo QRS en el ECG (Tamargo J & Valenzuela C, 1992). Su efecto más marcado es en la conducción en el sistema His-Purkinje y en la activación ventricular (Holmes B & Heel RC, 1985). Pallandi, en sus estudios con preparaciones de fibras de Purkinje de corazón de perro (Pallandi RT & Campbell TJ, 1988) analizan el efecto de los diferentes tipos de antiarrítmicos del grupo I sobre las velocidades de conducción con intervalos de acoplamiento decrecientes. Los antiarrítmicos del grupo Ib con cinéticas rápidas, deprimen de forma selectiva la conducción de extrasístoles sin afectar a latidos normales ya que, al ser de cinética rápida, su disociación del canal es precoz y no afectan a latidos sucesivos. Sin embargo, en el caso de la flecainida, el mecanismo de asociación-disociación es más lento, por lo que su capacidad de responder a cambios súbitos de frecuencia es menor.

El canal de  $\text{Na}^+$  voltaje-dependiente presenta en su estructura: a) un polo hidrófilo a través del cual fluyen los iones  $\text{Na}^+$ ; b) un sensor de voltaje que detecta cambios en el potencial de membrana; c) un filtro de selectividad para iones  $\text{Na}^+$ , y d) dos compuertas: una de activación y otra de inactivación. La posición de éstas determinará el estado funcional del canal. El canal estará en estado de reposo cuando la compuerta de activación esté cerrada y la de inactivación abierta; en estado activo cuando las dos compuertas se encuentren abiertas, y en estado inactivo cuando la compuerta de activación esté abierta y la de inactivación cerrada (Weirich J et al, 1992). La flecainida tiene especial afinidad por el estado activo del canal.

Otras corrientes iónicas sobre las que actúa la flecainida son la  $I_{\text{to}}$  (Nemeth M et al; 1996; Wang DW et al, 1996), corriente de salida de  $\text{K}^+$  de distribución preferente en la aurícula, que es inhibida por acción de la flecainida; así como la  $I_{\text{Ca}}$  y la  $I_{\text{k}}$  a nivel ventricular, que son igualmente inhibidas (Yamashita T et al, 1995; Nemeth M et al, 1996; Wang DW et al, 1996). Yue L et al, estudian una corriente auricular ultrarrápida de rectificación tardía en el perro (Yue L et al, 2000); la  $I_{\text{Kurd}}$  (equivalente de la  $I_{\text{Kur}}$  en el hombre), demostrando que la flecainida la inhibe selectivamente. Sin embargo, la flecainida no tiene efecto sobre la  $I_{\text{Kur}}$  humana (Wang Z et al, 1995). La  $I_{\text{K(ATP)}}$  es inhibida por la flecainida según los resultados experimentales de algunos autores (Wang DW et al, 1996).

El efecto de la flecainida sobre las VC, es característicamente dependiente de la frecuencia cardíaca o de la frecuencia de estimulación, conociéndose este fenómeno como "*use-dependence effect*" o "*efecto dependiente de la frecuencia*" (Roden DM & Woosley RL, 1986; Tamargo J & Valenzuela C, 1992; Wang Z et al, 1990, 1992 y 1993; Weirich J et al, 1992; Yamashita T et al, 1995; Martín CL et al, 1996; Watanabe H et al, 2001). Este fenómeno puede explicarse en parte por el tipo de cinética de acción sobre el canal de  $\text{Na}^+$  voltaje dependiente, que en el caso de la flecainida sería de tipo lenta y favorecería el acúmulo progresivo de fármaco en el canal, efecto que aumentaría al acortarse la diástole; ésto es, con frecuencias cardíacas altas (Weirich J et al, 1992).

## B) EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS DE LA FLECAINIDA EN LA AURÍCULA

Por sus efectos sobre el canal de  $\text{Na}^+$  voltaje-dependiente, la flecainida a nivel auricular produce una marcada disminución de la VC con un efecto dependiente de la frecuencia. Sin embargo, a pesar de que el fármaco, según la clasificación de Vaughan Williams, afecta a las velocidades de conducción sin afectar prácticamente a los períodos refractarios, a nivel auricular se ha demostrado que también prolonga la DPA y con ello el período refractario con un efecto también dependiente de la frecuencia (Wang Z et al, 1993; Yamashita T et al, 1995; Martin CL et al, 1996; Watanabe H et al, 2001). La inhibición de la  $I_{\text{to}}$  (de distribución preferencialmente auricular) inducida por la flecainida, se ha barajado como el principal mecanismo por el que el fármaco aumenta el PR en la aurícula (Wang Z et al, 1993) y no en el ventrículo. En concordancia con esta afirmación se encuentran los experimentos de Yamashita T et al en 1995 con cardiomiocitos aislados de conejo, que observan cómo en presencia de 4-aminopiridina (un bloqueante selectivo de la  $I_{\text{to}}$ ), la flecainida pierde su efecto sobre el PR auricular. Según trabajos de Watanabe H et al en 2001, el hecho de que con frecuencias de estimulación altas aumente el PR sin afectar prácticamente a la DPA, apoyaría el hecho de que este efecto dependiente de la frecuencia se produjera por refractariedad postrepolarización debido a la cinética lenta del fármaco, que inhibiría la  $I_{\text{Na}}$  por un tiempo mayor a la duración del potencial de acción. Otro mecanismo descrito para explicar el efecto dependiente de la frecuencia de la flecainida sobre la DPA y el PR, sería una reducción de la actividad de la bomba  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPasa inducida por la reducción de la concentración de  $\text{Na}^+$  intracelular secundaria a la acción del fármaco (Wang Z et al, 1993).

Este doble efecto de la flecainida sobre las velocidades de conducción y períodos refractarios en la aurícula, es la base de su acción antifibrilatoria, puesto que aumentaría la  $\lambda_0$  (Yamashita T et al, 1995; Wang Z et al, 1995). Wang Z et al en 1992 en sus experimentos con tejido auricular de perro, demostró cómo a muy altas frecuencias de estimulación (situación semejante a la fibrilación auricular), el efecto de la flecainida aumentando los PR auriculares



era más potente que su efecto depresor de la VC, resultando en un aumento de la longitud de onda, una reducción en la heterogeneidad de PR y una reducción de la complejidad de los mapas de activación que precedieron al cese de la arritmia. Biffi M et al en 1999 con sus estudios clínicos en pacientes con fibrilación auricular paroxística también aboga por el efecto de la flecainida sobre los PR como principal mecanismo implicado en la terminación de la arritmia. Sin embargo, Wijffels M et al, en sus trabajos de fibrilación auricular con corazón de cabra en el 2000, no encuentra variación de los PR auriculares bajo el efecto de flecainida, pero sí un alargamiento en la longitud del ciclo durante la arritmia lo que aumentaría el GAP excitable temporal. El aumento de dicho período excitable disminuye la probabilidad de que las ondas fibrilatorias encuentren áreas de tejido parcialmente refractario por lo que habrá mayor homogeneidad en los PR. Concluye que la flecainida produciría una disminución preferencial de la VC en los frentes de onda de mayor curvatura lo que llevaría a un mayor retraso de la conducción en los puntos de giro de los frentes circulares, prolongando el ciclo de la fibrilación auricular y un ensanchando del gap excitable. Debido a una mejor recuperación de la excitabilidad, los frentes de onda tenderían más a la fusión que a la fragmentación, y la reducción de los frentes de onda resultante, aumentaría la probabilidad de reversión a ritmo sinusal.

### C) EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS DE LA FLECAINIDA EN EL VENTRÍCULO

La flecainida en el ventrículo, reduce las VC sin alterar significativamente los PR (Vaughan Willimas EM, 1970). Dicho efecto se ha comprobado tanto a nivel experimental como en estudios electrofisiológicos en humanos (Holmes B & Heel Rc, 1985; Smallwood JK et al, 1989; Tamargo J & Valenzuela C, 1992; Coromilas J et al, 1995; Katristis D et al, 1995). A pesar del efecto inhibitorio de la flecainida sobre la  $I_K$  (lo que aumentaría la DPA y el PR), la inhibición simultánea de la  $I_{Ca}$  por el fármaco, podría ser la responsable de que el PR finalmente no se prolongara en el ventrículo (Yamashita T et al, 1995).

Sin embargo otros autores sí que han encontrado aumentos significativos del PR ventricular en sus experiencias. Brugada J et al, en 1991, obtienen

un aumento significativo del PR ventricular tras la administración de flecainida a una concentración de 1  $\mu\text{g/ml}$  en corazón aislado de conejo. Usui M et al en 1993, comparan los efectos antiarrítmicos de los fármacos del grupo III con la flecainida, encontrando aumentos significativos del PR ventricular bajo los efectos de dicho fármaco. En 1996, los experimentos de Nemeth M et al y Wang DW et al, con cardiomiocitos de perro y de cerdo respectivamente, demuestran un alargamiento de los PR ventriculares. Aunque ambos grupos de trabajo discrepan con respecto al efecto inhibitorio de la  $I_{K(ATP)}$ , coinciden en el hecho de que la flecainida inhibe fuertemente la  $I_K$  produciendo un alargamiento del PR. Chorro FJ et al (2000) estimulando una preparación de corazón aislado de conejo con un ciclo base de 250 ms, obtienen como resultado una reducción de la VC y un aumento en los PR ventriculares bajo el efecto de la flecainida, barajándose como posible mecanismo la existencia de refractariedad post-repolarización inducida por el fármaco. Así pues, los efectos electrofisiológicos de la flecainida son controvertidos.

Un aspecto importante a destacar sobre el efecto de la flecainida es su interacción con la estructura anisotrópica del ventrículo. Se han realizado estudios de los efectos de la flecainida sobre la velocidad de conducción longitudinal (VL) en comparación con sus efectos sobre la velocidad de conducción transversal (VT) con resultados dispares. Para unos autores, la flecainida produciría una especial reducción de la VL en comparación con la transversal (Turgeon J et al, 1992; Kondo T et al, 1997). Otros autores, sin embargo, concluyen a la vista de sus resultados que la flecainida produciría un efecto similar sobre ambas velocidades (Coromilas J et al, 1995) o reduciría en mayor medida la VT (Lacroix D et al, 1998).

El efecto proarritmogénico de la flecainida es un fenómeno evidente y complejo. La naturaleza anisotrópica de la conducción ventricular, potenciada aún más por el efecto de fármacos como la flecainida, podría ser uno de los mecanismos implicados (Brugada J et al, 1991; Schalij MJ et al, 1992; Kondo T et al, 1997; Lacroix D et al, 1998) y más aun en el caso de corazones post-infarto (The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial investigators, 1989; Ranger S et al, 1995; Coromilas J et al, 1995; Heisler BE & Ferrier GR, 1996). Según los

resultados de estos autores, la interacción de la flecainida sobre la anisotropía ventricular produciría aumentos en los tiempos de conducción y bloqueos de la misma. La disminución de la VC daría lugar a una disminución de la  $\lambda_o$  y, dependiendo de las características de los circuitos de reentrada, aumentaría la ventana de excitabilidad con lo que se favorecería la aparición de fenómenos como las dobles reentradas (Brugada J et al, 1991; Boersma L et al, 1994).

Según otros autores, otro fenómeno implicado en el efecto proarritmogénico de la flecainida sería la dispersión de los PR en corazones post-infarto inducida por el fármaco (Sakai T et al, 1989).

## 1.4.2 DOFETILIDE

### A) INTRODUCCIÓN Y MECANISMO GENERAL DE ACCIÓN

El dofetilide (UK-68,798) es un fármaco de nueva generación con propiedades electrofisiológicas de grupo III, aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en octubre de 1999 con dos indicaciones: la conversión a ritmo sinusal de la fibrilación y el flutter auricular, y el mantenimiento del ritmo sinusal cuando éste se consiga (Mounsey JP & DiMarco JP, 2000; Falk RH & DeCara JM, 2000; Diaz AL & Clifton GD, 2001). Su mecanismo de acción consiste en el bloqueo selectivo del componente rápido de la corriente de rectificación tardía de  $K^+$  ( $I_{Kr}$ ) con lo que prolonga el PR y la DPA sin afectar a las VC, aumentando por tanto, la  $\lambda_o$  (Carmeliet E, 1992; Yuan B et al, 1994; Mounsey JP & DiMarco JP, 2000; Diaz AL & Clifton GD, 2001; Al-Dashti R & Sami M, 2001; Torp-Pedersen C et al, 2000 y 2003). Este efecto es similar tanto en corazones normales como hipertrofiados (Gillis AM et al, 1998), dilatados o isquémicos (Montero M et al, 1996), y es igualmente similar a nivel endocárdico como epicárdico por lo que no produce dispersión de PR entre ambas estructuras (Bauer A et al, 1999). En estos fenómenos se basa su efecto antiarrítmico (Cha Y et al, 1996).

El bloqueo de la  $I_{Kr}$  producido por el dofetilide es dosis y voltaje dependiente, y su efecto es mayor en presencia de potenciales despolarizados (Car-

meliet E, 1992) y menor en situaciones de hiperkalemia (Baskin EP & Lynch JJ, 1994). El lugar específico de unión del fármaco al canal HERG es, por el momento, desconocido (Kiehn J et al, 1996) aunque parece ser que una serina en posición HERG 620, participa directamente en la unión del dofetilide al canal (Ficker E et al, 1998). La concentración de  $K^+$  extracelular podría estar implicada en la modulación de la unión del fármaco con el receptor de alta afinidad del canal (Duff HJ et al, 1997), qué regula la  $I_{Kr}$ .

La utilización de fármacos del grupo I para tratar o prevenir arritmias supraventriculares y ventriculares está limitada en muchos casos por su efecto inotrópico negativo y proarritmogénico, en especial en pacientes isquémicos y con mala función ventricular. Ello ha hecho que los fármacos más empleados en estos casos hayan sido los del grupo III (amiodarona y sotalol). Sin embargo, el efecto de estos fármacos no es exclusivo de clase III, la amiodarona tiene una farmacocinética poco favorable y una toxicidad extracardíaca importante, y el sotalol posee efecto betabloqueante y no es eficaz con frecuencias cardíacas altas. Todo ello ha llevado a la búsqueda de un fármaco con efecto clase III puro (Bashir Y et al, 1995; Baskin EP & Lynch JJ, 1998; Torp-Pedersen C et al, 2003).

El dofetilide ha demostrado ser seguro y efectivo en el control de arritmias auriculares tanto a nivel clínico (Falk RH et al, 1997; Norgaard BL, 1999; Pritchett ELC & Wilkinson WE, 1999; Torp-Pedersen et al, 1999; Diaz AL & Clifton GD, 2001; Pedersen OD, 2001), destacando los dos principales estudios multicéntricos (EMERALD: Dalrymple H et al, 1998; SAFIRE: Singh S et al, 2000), como en estudios experimentales (Cha et al, 1996; Li D et al, 2000; Wirth KJ & Knobloch K, 2001). En el estudio DIAMOND y sus subestudios (DIAMOND-CHF y DIAMOND-MI), se demostró la seguridad del dofetilide para el tratamiento de la fibrilación auricular en pacientes con insuficiencia cardíaca y post-infarto agudo de miocardio (Torp-Pedersen EH, 1999; Pedersen OD et al, 2001). Satoh Y et al en 1999, demostraron igualmente en un modelo de corazón de perro in vivo, que el dofetilide es seguro en estos animales cuando existe disfunción sistólica moderada y severa.

Sin embargo, en arritmias ventriculares, los estudios con dofetilide son más limitados. Estudios clínicos (Yuan S et al, 1994; Bashir Y et al, 1995; Echt DS et al, 1995; y experimentales (Zuanetti G & Corr PB, 1991; Andersen HR et al, 1994; Chen J et al, 1996), sugieren efectividad del fármaco en arritmias ventriculares y concluyen que son necesarios nuevos estudios en esta línea.

## B) EFFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS DEL DOFETILIDE EN LA AURÍCULA

En la aurícula, el dofetilide induce un aumento en el PR, en la DPA y, por tanto un aumento en la  $\lambda_0$ , dado que su efecto sobre la VC es prácticamente nulo. Baskin EP & Lynch JJ (1998) en sus estudios experimentales con tejido auricular y ventricular de tejón, demuestran que el dofetilide tiene un efecto mayor sobre los PR auriculares que sobre los ventriculares. En la aurícula, el dofetilide aumenta el PR con un efecto frecuencia dependiente inverso ("reverse use dependence") de tal manera que su efecto aumenta cuanto mayor es el ciclo de estimulación. Cha Y et al (1996) llegaron a los mismos resultados que Baskin et al confirmando el efecto sobre los PR del dofetilide así como una reducción en la dispersión de los PR inducida por el fármaco. Estudios que comparan el efecto del dofetilide entre aurícula derecha e izquierda (Wirth KJ & Knobloch K, 2001), encuentran un mayor efecto sobre la aurícula derecha. Este efecto predominante sobre la aurícula derecha, unido a su efecto inverso dependiente de la frecuencia podría explicar el por qué de su mayor eficacia en la reversión del flutter auricular (en el que la aurícula derecha juega el papel primordial) que en la reversión de la fibrilación auricular (Mounsey JP & DiMarco JP, 2000; Wirth KJ & Knobloch K, 2001), hecho observado también en estudios clínicos multicéntricos (Falk RH et al, 1997; Norgaard BL et al, 1999). Aunque la mayoría de autores no describen un efecto depresor del automatismo sinusal (Falk RH & DeCara JM, 2000; Torp-Pedersen et al, 2003) excepto a dosis tóxicas (Mounsey JP & DiMarco JP, 2000), los resultados experimentales de Tohse N & Kanno M (1995) con células de nodo sinusal de conejo, sugieren un posible efecto cronotrópico negativo.

Los efectos referidos, con especial selectividad por la aurícula, y la seguridad demostrada con el dofetilide en pacientes con disfunción ventricular y

post-infarto agudo de miocardio (Kober L et al, 2000), han hecho que el dofetilide se apruebe como fármaco para el control de arritmias auriculares como el flutter y la fibrilación auricular (Al-Dashti R & Sami M, 2001).

### C) EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS DEL DOFETILIDE EN EL VENTRÍCULO

Los estudios clínicos y experimentales realizados con dofetilide en ventrículo, confirman el efecto clase III selectivo del fármaco. El dofetilide alarga la DPA y el PR ventricular sin afectar a la VC, aumentando, por tanto, la  $\lambda_o$  del proceso de activación (Yuan B et al, 1994; Bashir Y et al, 1995; Lande G et al, 1998; Baskin EP & Lynch JJ, 1998).

En la mayoría de estudios experimentales se ha comprobado que el efecto del dofetilide sobre las propiedades electrofisiológicas del miocardio ventricular es, al igual que en el auricular, dependiente de la frecuencia cardíaca o de estimulación en un sentido inverso (“reverse use dependence”), de manera que su efecto es mayor a frecuencias de estimulación lentas (Gjini V et al, 1996; Marschang H et al, 1998; Bauer A et al, 1999). Baskin EP & Lynch JJ (1998) en sus experimentos con músculo papilar aislado de tejón, encuentran que este efecto inverso dependiente de la frecuencia está influenciado por la temperatura, de manera que se produce a una temperatura de 37°, pero desaparece al reducir la temperatura a 32°. Según los resultados de otros autores, dicho efecto dependiente de la frecuencia estaría también influenciado por otros factores como la concentración extracelular de potasio (Gjini V et al, 1996), circunstancia no observada por otros como Baskin E & Lynch JJ en 1994.

Este efecto inverso dependiente de la frecuencia descrito en los estudios experimentales resultaría poco beneficioso para el manejo de las taquiarritmias tanto auriculares como ventriculares. Sin embargo existen discrepancias entre los resultados experimentales y los clínicos. Estudios clínicos que miden los PR ventriculares durante la realización de estudios electrofisiológicos bajo el efecto del dofetilide concluyen que el fármaco no presenta dicho efecto inverso dependiente de la frecuencia en humanos (Yuan B et al, 1994; Bashir Y et al,

1995), mientras que otros estudios que se basan en la medida del intervalo QT para analizar el efecto del dofetilide, dan como resultado que el fármaco tiene un comportamiento inverso dependiente de la frecuencia cardíaca al igual que en los estudios experimentales (Démolis JL et al, 1996; Lande G et al, 1998).

El efecto proarritmogénico del dofetilide ha sido documentado (Bauer A et al, 1999; Mounsey JP & DiMarco JP, 2000). Dado que el dofetilide preserva la homogeneidad de PR a nivel subendocárdico (Yuan B et al, 1994) y a nivel transmural (Bauer A et al, 1999), la dispersión de PR no parece ser el fenómeno responsable de su efecto proarritmico. El mecanismo más íntimamente relacionado con dicho efecto, parece ser el alargamiento del intervalo QT a frecuencias bajas lo que se relaciona con la aparición de Torsade de Pointes (Torp-Pedersen C et al, 2000; Falk RH & DeCara JM, 2000; Van Opstal JM et al, 2001; Al-Dashti R & Sami M, 2001). Sin embargo, el fármaco sería más arritmogénico en modelos animales en los que el dofetilide ha demostrado mayor efecto a frecuencias cardíacas lentas, que en humanos (Yuan B et al, 1994).

En modelos animales de isquemia miocárdica aguda, el dofetilide ha demostrado reducir el riesgo de FV (Andersen HR et al, 1994). Rouet R et al (2000) estudiaron el efecto del dofetilide en un modelo de zona de borde entre miocardio normal e isquémico en corazón de cerdo y concluyen que a concentraciones de 5 nmol/L el dofetilide demuestra efecto antiarritmico, mientras que a altas concentraciones (50 nmol/L), puede resultar proarritmico en isquemia aguda.

### 1.4.3 PINACIDIL

#### A) INTRODUCCIÓN. CANALES K (ATP). EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS Y HEMODINÁMICOS DEL PINACIDIL

El pinacidil (4-pyridil cianoguanidina); originariamente conocido como Agente P1134 (Ahnfelt-Ronne I, 1988), es un fármaco activador de los canales

K(ATP) ampliamente estudiado por sus propiedades cardioprotectoras (Lawton JS, 1996; Hoenicke EM et al, 2000) y comercializado por su reconocido efecto antihipertensivo debido a su acción relajante del músculo liso (Bray KM et al, 1987; Ahnfelt-Ronne I, 1988; Andersson KE et al, 1988; Friedel HA & Brogden RN, 1990).

Los canales de  $K^+$  sensibles a ATP [K(ATP)] están presentes en diversos tejidos permaneciendo cerrados en condiciones normales, y activándose en situaciones patológicas en las que disminuye la concentración de ATP intracelular. Otros factores que los modulan son la concentración intracelular de  $Mg^{+2}$ , el pH, la temperatura y los fármacos activadores e inhibidores del canal (Wilde AAM et al, 1994). La corriente de  $K^+$  dependiente de ATP que atraviesa estos canales en el músculo cardíaco fue formulada por Ferrero JM (Jr) et al (Ferrero JM (Jr) et al, 1996). Desde su descripción inicial en tejido cardíaco por Noma (Noma A, 1986), los canales K(ATP) han sido descritos en numerosos tejidos aunque su estudio se ha centrado en el tejido cardíaco y en las células  $\beta$  pancreáticas.

Debido a la dependencia que presentan los canales K(ATP) con respecto a la concentración intracelular de ATP, se les ha asignado un papel importante en los cambios electrofisiológicos que acontecen durante la isquemia aguda. Una prueba de ello es el acortamiento de la DPA durante la isquemia. En efecto, en estudios en los que se administraron bloqueantes de los canales K(ATP) como la glibenclamida y la tolbutamida, se observó cómo la reducción de la DPA en isquemia se veía atenuada (Fosset M et al, 1988; Gasser R et al, 1990). Sin embargo, debido a la alta conductancia de estos canales al  $K^+$  y a su alta densidad en el tejido cardíaco, la activación de únicamente el 0.6% de estos canales es suficiente para acortar la DPA en un 50% (Ferrero JM (Jr) et al, 1996). En este hecho se basa la "Hipótesis de los canales de reserva" enunciada por Cook DL & Hales CN en 1984 para las células  $\beta$  pancreáticas que sostiene que el número de canales K(ATP) es excesivo y la mayor parte de ellos están funcionalmente en reserva; hipótesis confirmada para el tejido cardíaco por Ferrero JM (Jr) et al. Igualmente, se les ha atribuido un papel importante en cuanto a las heterogeneidades de las propiedades electrofisiológicas observa-



das en isquemia aguda entre epicardio y endocardio, postulándose que se debe a una mayor sensibilidad de los canales K(ATP) epicárdicos a los cambios de la concentración de ATP intracelular (Furukawa T et al, 1991).

El pinacidil activa los canales de K<sup>+</sup> dependientes de ATP de forma que aumenta la I<sub>K(ATP)</sub>. Este hecho da como resultado una reducción de la DPA y del PR (Smallwood JK & Steinberg MI, 1988; Wilde AAM et al, 1994) sin afectar a las VC (Smallwood JK & Steinberg MI, 1988; Friedel H et al, 1990, Spinelli W et al, 1990; Uchida T et al, 1999), y una tendencia a la hiperpolarización celular por lo que la célula sería menos excitable y por lo tanto con menor actividad contráctil (Ahnfelt-Ronne I et al, 1988). Este fenómeno produciría una relajación de la musculatura lisa vascular, con el consiguiente efecto antihipertensivo. Su efecto sobre los PR es mas patente en tejido auricular que en ventricular (Wilde A et al, 1994), efecto comprobado por Spinelli W et al (1990) en sus experimentos con perros anestesiados. Hemodinámicamente, el pinacidil produce hipotensión arterial y taquicardia refleja (Ahnfelt-Ronne I et al, 1988; Friedel HA et al, 1990; Spinelli W et al, 1990), y aumenta el flujo coronario como muestran los resultados experimentales de D'Alonzo AJ et al (1993) con inyección intracoronaria de pinacidil en perros. Su acción sobre el automatismo sinusal es controvertida. Los canales K(ATP) están prácticamente ausentes en el NS y en el NAV por lo que su acción directa sobre el automatismo sinusal sería nula (Wilde A et al, 1994). Sin embargo, Friedel HA et al (1990) describen un efecto cronotrope negativo en experimentos in vitro.

## **B) EFECTOS PROARRÍTMICOS VERSUS ANTIARRÍTMICOS DEL PINACIDIL**

Se han realizado multitud de estudios para analizar el potencial proarrítmico y antiarrítmico de los activadores de los canales K(ATP) y del pinacidil en concreto. Sin embargo, los resultados a los que se ha llegado son controvertidos. Como se ha expuesto, el principal efecto electrofisiológico del pinacidil es reducir el PR y con ello la longitud de onda, hecho que favorecería la aparición de arritmias por reentrada. Sin embargo, el efecto proarrítmico versus antiarrítmico del pinacidil es un fenómeno complejo donde es necesario distinguir entre

los diferentes mecanismos de producción de las arritmias y entre los efectos en miocardio sano o isquémico.

En el caso de arritmias producidas por automatismo anormal (tanto en corazones sanos como en el caso de la fase subaguda de la isquemia) en las que existen células auriculares o ventriculares con despolarización diastólica anómala, el pinacidil ha demostrado poseer efecto antiarrítmico ya que produce un estado hiperpolarizante en la célula (Spinelli W et al, 1991). La apertura de los canales K(ATP) produciría un aumento de la conductancia al K<sup>+</sup> provocando una marcada hiperpolarización, llevando a la célula fuera del rango en el que tienen lugar los mecanismos de los marcapasos anormales. En la fase subaguda de la isquemia, las arritmias se deben fundamentalmente a automatismo anormal y son suprimidas por el pinacidil (Kerr MJ et al, 1985) al igual que en corazones no isquémicos (Spinelli W et al, 1991).

Por el mismo mecanismo, las arritmias debidas a actividad desencadenada (triggered activity) serían suprimidas por el pinacidil. En los experimentos in vitro de Liu B et al en 1988 se obtiene como resultado que los fármacos agonistas de los canales K(ATP) y, en concreto el pinacidil (Spinelli W et al, 1991), reducen la aparición de pospotenciales tardíos. Esta circunstancia, sin embargo, no fue observada en los experimentos in vivo de Komori S et al (1985). En el caso de los pospotenciales tempranos, los resultados experimentales tanto in vivo como in vitro coinciden en que los agonistas de los canales K(ATP) reducen su aparición (Fish F et al, 1990; Spinelli W et al, 1991; Carlsson L et al, 1992; D'Alonzo A et al, 1993) sorprendentemente a dosis en las que no afectaban a la DPA (Fish F et al, 1990; Carlsson L et al, 1992).

En el caso de las arritmias por mecanismo de reentrada, el pinacidil sería, en condiciones normales, claramente proarritmogénico al disminuir la  $\lambda_0$ . Spinelli W et al (1990) con experimentos realizados con corazón de perro in vivo, son capaces de inducir arritmias ventriculares bajo el efecto de dosis de pinacidil que resultan hipotensoras, al igual que Padrini R et al, 1992 con corazón aislado de cobaya. Las dosis de pinacidil utilizadas en el hombre (que alcanzan concentraciones en torno a 1  $\mu\text{mol/L}$ ) tienen escaso efecto sobre la

DPA en corazón de cobaya (Nakayama K et al, 1990), pero sí en corazón canino (DiDiego J & Antzelevitch C, 1993). Sin embargo, a pesar de que las dosis utilizadas en el hombre producen alteraciones electrocardiográficas de la repolarización (Shub C et al, 1987), los estudios clínicos no encontraron efecto proarritmogénico a las dosis comúnmente utilizadas. Por lo tanto, a dosis terapéuticas, el pinacidil no es susceptible de inducir arritmias por reentrada en corazones no isquémicos.

En el caso de la isquemia aguda, las alteraciones electrofisiológicas que más predisponen a la reentrada son la reducción de la VC y las heterogeneidades en la excitabilidad producidas principalmente por las heterogeneidades en la concentración extracelular de  $K^+$ . La DPA en las células de la zona central de isquemia parcialmente despolarizadas se reduce, no siendo así su PR debido a la existencia de *refractoriedad postrepolarización* (Downar E et al, 1977). En la zona de borde, sin embargo, los PR se encuentran reducidos con respecto a la zona no isquémica. El pinacidil sería un fármaco proarritmico en estas circunstancias si disminuyera el PR en la zona isquémica, pero no se conoce bien si el fármaco, al acortar la DPA acorta también el PR en estas circunstancias. Los resultados experimentales a los que se ha llegado con modelos de isquemia y reperfusión en animales han sido contradictorios. Chi L et al (Chi L et al, 1990) en sus experimentos en perros con infartos crónicos de miocardio y sometidos a oclusión coronaria aguda, observaron un aumento de la incidencia de fibrilación ventricular. Igualmente, Uchida T et al (Uchida T et al, 1999) trabajando con tejido epicárdico de perros encuentran que otro agonista de los canales  $K(ATP)$ , el cromakalim, aumentaba la ventana vulnerable. Grover G et al (Grover G et al, 1990), sin embargo, no encuentra efecto proarritmico inducido por el pinacidil. En corazón de cerdo sometido a isquemia aguda, D'Alonzo A et al (D'Alonzo A et al, 1994b) encontraron que el pinacidil tenía efecto antifibrilatorio. En otras especies como en el conejo y la rata, los resultados fueron igualmente contradictorios. Mientras que en un modelo de isquemia en ratas in vivo Lu H et al (Lu H et al, 1993) encuentran que el pinacidil hace más inducible la FV, D'Alonzo A et al (D'Alonzo A et al, 1994a) obtienen como resultado un efecto antiarritmico del mismo. Wilde AAM (Wilde AAM et al, 1993) en un modelo de corazón de conejo sometido a isquemia global encuentran que el cro-

makalim resulta tener efecto antiarrítmico o proarrítmico en función de la dosis administrada. Das B & Sarkar C (Das B & Sarkar C, 2003), administrando pinacidil y nicorandil intravenosos en el conejo previamente a la oclusión coronaria observan un claro efecto antiarrítmico, efecto que desaparece tras la administración de 5-hidroxidecanoato, un bloqueante específico de los canales K(ATP) mitocondriales. Concluyen que el canal K(ATP) mitocondrial debe considerarse un elemento de especial importancia de cardioprotección y actividad antiarrítmica.

Los datos tan controvertidos sobre la acción del pinacidil en isquemia aguda que se desprenden de los estudios experimentales, hacen necesaria la realización de nuevos trabajos de investigación a este respecto. Los mecanismos por los que el pinacidil pudiera resultar antiarrítmico en isquemia aguda son, por el momento, desconocidos.

## **1.5. SIMULACIÓN CON MODELOS MATEMÁTICOS**

Desde mediados del siglo pasado, la electrofisiología, la cardiología y la neurología se han enriquecido gracias al desarrollo de modelos matemáticos que simulan las características más relevantes de los potenciales de acción. En sus versiones actuales, estos modelos describen con un grado de detalle asombroso las corrientes iónicas involucradas en el desarrollo de los PA, y se utilizan con profusión en investigación para simular, ratificar y predecir diferentes fenómenos electrofisiológicos.

Los modelos del PA se materializan en un conjunto de ecuaciones diferenciales que describen las corrientes iónicas y el PA de una célula eléctricamente aislada. Actualmente, los modelos incluyen también una descripción matemática detallada de la dinámica del calcio intracelular (liberación y recambio en el retículo sarcoplásmico). Basándose en estas ecuaciones, estos modelos pueden extenderse para simular el comportamiento eléctrico del tejido miocárdico, partiendo de la suposición de que éste está formado por la conexión en serie y en paralelo de cardiomiocitos.

Los pioneros en el desarrollo de un modelo matemático para describir el PA de las células de membrana excitable fueron Hodgkin y Huxley. En su trabajo de 1952, los científicos británicos desarrollaron una teoría matemática aplicable a fibras nerviosas capaz de simular los PA de neuronas aisladas (Hodgkin A & Huxley A, 1952). El modelo HH consta de tres ecuaciones diferenciales no lineales de primer orden que modelizan el comportamiento de los canales iónicos de sodio y potasio, cuyos coeficientes son función del potencial de membrana, además de una cuarta ecuación diferencial que modeliza el comportamiento eléctrico de la membrana. Hodgkin y Huxley utilizaron sus propios experimentos de *clamp* de voltaje para ajustar los coeficientes de las ecuaciones.

Paralelamente a los modelos que describen las corrientes iónicas y los potenciales de acción, se utilizaron otros modelos más simples (pero, precisamente por ello, ampliables a tejidos completos) para estudiar la actividad eléctrica cardíaca desde un punto de vista teórico. En la década de los 60, Moe presentó un modelo por ordenador en el que se simulaba la actividad eléctrica durante la fibrilación auricular (Moe GK et al, 1964). Con este sencillo modelo, Moe demostró que la dispersión espacial del PR podía ser la causa de las re-entradas en fibrilación auricular.

Con posterioridad al primer modelo iónico de Hodgkin-Huxley, el mismo formalismo matemático ha sido utilizado para desarrollar modelos de PA cardíacos. Así han ido surgiendo modelos cada vez más detallados y precisos aplicables a células del nodo sinoauricular, miocardio auricular, fibras de Purkinje y células del miocardio ventricular.

En efecto; en un trabajo posterior, los mismos Hodgkin y Huxley insinuaron la posibilidad de adaptar su modelo a otras células de membrana excitable diferentes de las neuronas mediante la modificación de los coeficientes de las ecuaciones diferenciales. Sin embargo, y a pesar de que tras dichas modificaciones resultaban potenciales de acción que recordaban a los de las fibras de Purkinje (Noble D, 1962), los experimentos de "*clamp*" de voltaje en células miocárdicas y fibras de Purkinje demostraron que los mecanismos iónicos asociados

a este tipo de células eran más complejos que los de las neuronas, interviniendo algunas corrientes adicionales que el modelo HH no contemplaba.

Basándose en los experimentos citados, y manteniendo el formalismo matemático del modelo HH, surgieron modelos posteriores para describir el PA en fibras de Purkinje. El modelo MNT (McAllister, Noble & Tsien, 1975) distinguía ya tres corrientes de potasio diferentes, consideraba el papel de la corriente de calcio y mantenía la formulación HH para el sodio, siendo capaz de simular la meseta de los PA de fibras de Purkinje y el automatismo de éstas. Más adelante, este modelo fue completado con una formulación más precisa de las corrientes de sodio (Ebihara L & Jonson EA, 1980), siendo además modificado posteriormente (Drouhard JP & Roberge FA, 1982a). Finalmente, en 1985, apareció el modelo DN (Di Francesco D & Noble D, 1985), que puede considerarse como el más completo de los desarrollados hasta la fecha para fibras de Purkinje, pues reinterpreta y reformula las corrientes del modelo MNT basándose en los experimentos más recientes de “*clamp*” de voltaje (Colatsky TJ, 1980), considera la bomba de sodio-potasio y el intercambiador sodio-calcio, y además tiene en cuenta los cambios transitorios en las concentraciones de iones en la vecindad de los poros membranales.

Paralelamente, fueron apareciendo modelos que describían el PA de células miocárdicas. Beeler y Reuter establecieron en 1977 el modelo BR que describe el PA en fibras ventriculares cardíacas (Beeler GW & Reuter H, 1977). Este modelo, modificado y completado posteriormente (Ebihara L & Jonson EA, 1980; Drouhard JP & Roberge FA, 1982b; Mogol DJ *et al.*, 1984; Drouhard JP & Roberge FA, 1987), se mantuvo durante década y media como el más completo, hasta que en 1991 Luo y Rudy lo modificaron, adaptándolo a experimentos recientes de “*patch clamp*” referentes a las corrientes de sodio y potasio, incluyendo además el efecto de las variaciones de concentración del potasio sobre las corrientes del mismo ion (modelo LR-I, Luo CH & Rudy Y, 1991).

Más recientemente, los mismos autores publicaron una segunda versión del modelo LR-I (nos referiremos a ella como versión LR-II). Este modelo (Luo CH & Rudy Y, 1994a) es mucho más completo que su predecesor, pues conside-

ra con detalle las corrientes generadas por las bombas e intercambiadores iónicos del sarcolema, la dinámica intracelular del ion calcio (modeliza el proceso de liberación de calcio inducida por calcio) y las variaciones de las concentraciones intracelulares de todos los iones. El modelo LR-II es hoy día el más completo en la descripción matemática de los potenciales de acción miocárdicos.

El modelo LR-II ha ido enriqueciéndose en los últimos años con la formulación de nuevas corrientes iónicas que acercan más los resultados del modelo a la realidad electrofisiológica. Por ejemplo, en un trabajo de 1995 (Zeng J et al, 1995), estos autores dividen la corriente diferida rectificadora de potasio en sus dos componentes (rápido y lento), reformulan la corriente de potasio de meseta en base a datos experimentales más recientes, e introducen en el modelo la corriente por los canales de calcio tipo T. Un año más tarde, Ferrero JM (Jr) et al incluyeron en el modelo una formulación matemática de la corriente  $I_{K(ATP)}$  (Ferrero JM (Jr) et al, 1996), lo cual permitió utilizarlo para estudiar situaciones de isquemia aguda en la que estos canales pueden jugar un papel esencial. En ese mismo trabajo de 1996, y en trabajos posteriores (Thakor NV et al, 1998; Ferrero JM (Jr) et al, 1999; Ferrero JM (Jr) et al, 2000; Rodríguez J et al, 2002), el modelo fue utilizado para investigar los efectos de la hipoxia, la hiperkalemia y la acidosis en episodios agudos de isquemia.

Más recientemente, el grupo del Dr. Rudy ha mejorado el modelo LR-II mediante la reformulación de algunas corrientes iónicas (Viswanathan PC et al, 1999) y la introducción de la corriente de potasio dependiente de sodio junto con una mejora en la descripción de la dinámica del calcio intracelular (Faber GM & Rudy Y, 2000). En adelante, nos referiremos a esta última versión del modelo como LR-2000.

Una posibilidad que ha sido explorada en los últimos años consiste en formular ecuaciones del efecto de determinados fármacos sobre las corrientes iónicas sobre las cuales actúan - por ejemplo, el pinacidil sobre la corriente  $I_{K(ATP)}$  con el fin de arrojar luz sobre su carácter de fármaco proarrítmico o antiarrítmico, o bien con la finalidad de desentrañar sus mecanismos de acción, utilizando para todo ello la técnica de la simulación por ordenador. En general,

puede decirse que, en los últimos años, la modelización matemática y la simulación por ordenador han demostrado ser dos técnicas muy útiles para complementar a las técnicas experimentales clásicas en la interpretación de los fenómenos electrofisiológicos.



## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La utilización experimental de fármacos como la flecainida, el dofetilide y el pinacidil, que modifican de manera específica las propiedades electrofisiológicas cardíacas, permite estudiar los mecanismos responsables de su acción antiarrítmica o proarrítmica. Los tres fármacos seleccionados modifican las propiedades electrofisiológicas cardíacas clásicas en sentidos diferentes:

1.- El efecto del fármaco antiarrítmico del grupo Ic de la clasificación de Vaughan Williams flecainida sobre las velocidades de conducción ventricular longitudinal y transversal, depende del acoplamiento entre estímulos. Si es así, el predominio de los efectos en sentido longitudinal versus transversal, depende de dicho acoplamiento.

2.- El efecto del fármaco antiarrítmico del grupo III de la clasificación de Vaughan Williams dofetilide sobre la refractariedad ventricular depende del intervalo de acoplamiento entre estímulos, de tal modo que disminuye al acortar dicho intervalo o al aumentar la frecuencia de estimulación. Si es así, las modificaciones ejercidas por el fármaco en el patrón fibrilatorio ventricular, deberían ser mínimas salvo que en su efecto intervengan otros factores.

3.- El fármaco agonista de los canales  $K_{ATP}$  pinacidil acorta la refractariedad ventricular sin afectar a las velocidades de conducción. Si el fármaco ejerce un efecto protector contra las arritmias reentrantes que acontecen en la isquemia regional aguda miocárdica, como se desprende de algunos trabajos experimentales publicados, este efecto debe ser independiente de las modificaciones ejercidas por el fármaco en las propiedades electrofisiológicas clásicas.

En relación con lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se han creado tres grupos de estudio con los siguientes objetivos:

1.- Estudiar en un modelo experimental de corazón aislado y perfundido de conejo los efectos del fármaco antiarrítmico flecainida sobre las velocidades de conducción ventricular, haciendo hincapié en el estudio de la variación de sus efectos al considerar la conducción longitudinal y transversal y al modificar el intervalo de acoplamiento entre estímulos.

2.- Estudiar en un modelo experimental de corazón aislado y perfundido de conejo los efectos del fármaco antiarrítmico dofetilide sobre las propiedades electrofisiológicas cardíacas, especialmente la refractariedad a diferentes ciclos de estimulación, así como los efectos de dosis crecientes de fármaco sobre el patrón de activación durante la fibrilación ventricular.

3.- Estudiar en un modelo experimental de corazón aislado y perfundido de conejo los efectos del fármaco agonista de los canales  $K_{ATP}$  pinacidil, tanto en condiciones basales como de isquemia aguda miocárdica regional sobre la refractariedad ventricular, sobre la inducibilidad de fibrilación ventricular y sobre las características de la arritmia en su inicio.

4.- Como último objetivo, dado que el pinacidil no es un fármaco clasificado como antiarrítmico y dada la controversia existente sobre su efecto protector contra las arritmias en la fase aguda de la isquemia miocárdica, se ha profundizado en su estudio mediante el análisis de sus mecanismos de acción con modelos matemáticos de simulación basados en la formulación detallada de las corrientes iónicas individuales, el potencial de acción transmembrana y las propiedades eléctricas del tejido.

## III. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1 PREPARACIÓN EXPERIMENTAL

Los procedimientos seguidos en el presente trabajo cumplen las normas institucionales y las guías para el cuidado y utilización de animales de laboratorio (NIH publication 85-23, revised 1985).

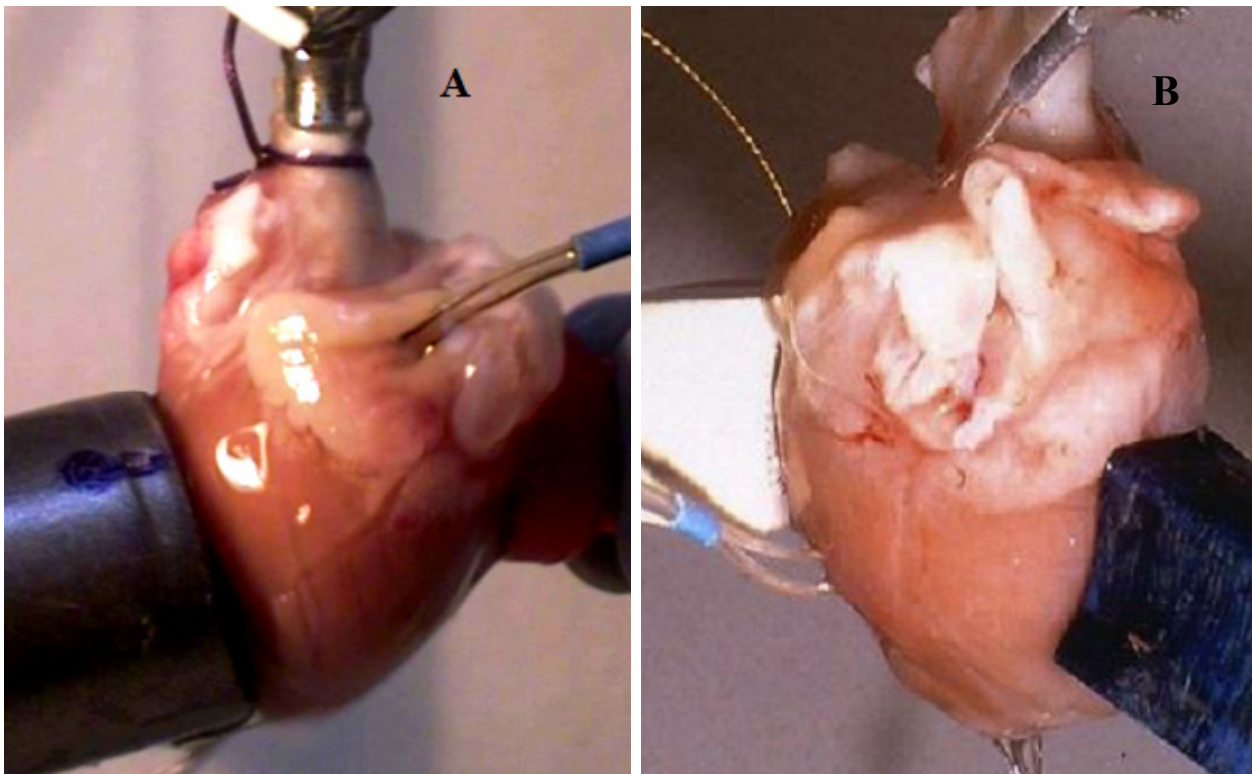
Se han estudiado 56 preparaciones de corazón aislado y perfundido de conejo de raza Nueva Zelanda (*Oryzctolagus cuniculus*) alimentados *ad libitum* con un peso medio de  $3,9 \pm 0,9$  Kg. Tras la anestesia con ketamina (25 mg/kg intravenosa) y la heparinización (0.5 ml 5%) a través de la vena marginal de la oreja, se ha procedido al sacrificio del animal mediante dislocación cervical, extrayéndose el corazón mediante toracotomía medioesternal y pericardioto-  
mía, y sumergiéndolo posteriormente en Tyrode frío (4°C). Una vez aislada la aorta, se ha conectado a un sistema de Langendorff con el objetivo de perfundir retrógradamente el corazón con Tyrode a una presión de 60 mm Hg y una temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C (bomba peristáltica Masterflex®; baños para termosta-

tación Radnoti®). La composición milimolar de la solución perfundida ha sido: NaCl 130; NaHCO<sub>3</sub> 24,2; KCl 4,7; CaCl<sub>2</sub> 2,2; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2; MgCl<sub>2</sub> 0,6 y glucosa 12. La oxigenación se ha efectuado con una mezcla de O<sub>2</sub> (95%) y CO<sub>2</sub> (5%).

Se han recogido los electrogramas ventriculares epicárdicos mediante dos placas electrodo (1,5 x 1,5 cm) compuestas por 121 o 114 electrodos unipolares de acero inoxidable (diámetro = 0,125 mm, distancia interelectrodo = 1 mm) situadas en la pared libre de ambos ventrículos, o bien una placa electrodo compuesta por un total de 235 electrodos unipolares (diámetro = 0.125 mm, distancia interelectrodo = 1 mm) situada en la pared libre del ventrículo izquierdo (VI). En el estudio del pinacidil, la placa electrodo se ha situado entre la zona isquémica y la zona sana (hecho que se ha comprobado posteriormente tras el análisis de la onda de lesión de cada electrodo). El electrodo indiferente ha sido una lámina de plata de 4 x 6 mm situada sobre la aorta (figura 3.1).

La estimulación ventricular se ha efectuado con un electrodo bipolar de acero inoxidable (diámetro = 0,125 mm, distancia interelectrodo = 1 mm) situado en la zona superior de la placa electrodo. La estimulación se ha realizado con un estimulador GRASS S88 (Grass Instruments, Inc., Quincy, MA, U.S.A) provisto de unidad de aislamiento de estímulos (SIU5). Los estímulos han sido impulsos rectangulares con una duración de 2 ms e intensidad doble del umbral diastólico.

Los registros se han obtenido con un sistema de mapeo de la actividad eléctrica cardíaca (MAPTECH®, Waalre, Holanda). Los electrogramas obtenidos se han filtrado (ganancia de 100 a 300, filtros de 1-400 Hz) y se han multiplexado realizando una conversión AD con una frecuencia de muestreo de 1 KHz en cada canal. Los datos obtenidos a lo largo de cada experimento se han almacenado en soporte magnético para su análisis posterior. Se ha utilizado un computador PC con software Pacemap® para medición de propiedades electrofisiológicas y determinación de mapas de activación, y software Matlab® versión 6.5 para medición de frecuencias dominantes durante la FV mediante análisis espectral.



**Figura 3.1:** Fotografías que muestran el corazón aislado y perfundido de conejo según la técnica de Langendorff, con una placa electrodo sobre el epicardio del ventrículo izquierdo (A) o dos placas electrodo; una sobre el epicardio del ventrículo izquierdo y otra sobre el epicardio del ventrículo derecho (B).

## **3.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL**

Se han efectuado tres grupos de estudio: flecainida (n=11), dofetilide (n=17) y pinacidil (n=28).

En el primer grupo, compuesto por 11 experimentos, se han analizado los efectos del fármaco antiarrítmico flecainida del grupo Ic de Vaughan Williams sobre la VC ventricular, haciendo hincapié en el estudio de la variación de sus efectos al considerar la conducción longitudinal o transversal y al modificar el intervalo de acoplamiento entre estímulos.

En el segundo grupo, compuesto por 17 experimentos, se han estudiado los efectos del fármaco antiarrítmico dofetilide del grupo III de Vaughan Williams sobre las propiedades electrofisiológicas ventriculares, especialmente sobre la refractariedad a distintas frecuencias de estimulación, así como los efectos de dosis crecientes del fármaco sobre el patrón de activación durante la FV.

En el tercer grupo, compuesto por 28 experimentos, se han estudiado los efectos del fármaco agonista de los canales K(ATP) pinacidil, tanto en condiciones basales como durante la isquemia aguda miocárdica regional, analizando su efecto sobre la refractariedad ventricular, sobre la inducibilidad de la FV y sobre las características del inicio de la arritmia.

### **3.2.1 ESTUDIO DE LA FLECAINIDA**

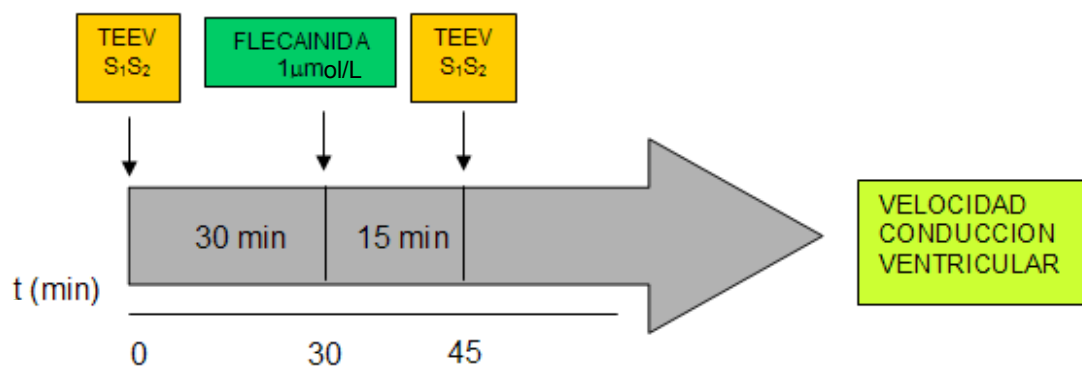
En 11 preparaciones de corazón aislado, treinta minutos después de la colocación de los electrodos, se ha aplicado el test del extraestímulo ventricular acoplado dos extraestímulos ( $S_1$  y  $S_2$ ) al tren básico de estimulación ( $S_0$ - $S_0$ ). El tren básico de estimulación ha consistido en 12 estímulos con un ciclo de 250 ms entre estímulos. El intervalo de acoplamiento del primer extraestímulo ( $S_1$ ) se ha calculado incrementando el intervalo  $S_0$ - $S_1$  en escalones de 2 ms hasta llegar a un intervalo de acoplamiento 10 ms por encima del intervalo mí-

nimo que ha producido captura ventricular. A continuación se ha añadido el segundo extraestímulo ( $S_2$ ) aplicando el mismo procedimiento; es decir, variando en escalones de 2 ms el intervalo  $S_1$ - $S_2$  desde valores inferiores al PRE hasta 10 ms por encima del mínimo intervalo  $S_1$ - $S_2$  que ha producido captura ventricular.

Para analizar las VC, se han examinado los mapas de activación epicárdicos correspondientes al último estímulo del tren base  $S_0$ , al extraestímulo  $S_1$  ( $S_0$ - $S_1$  10 ms mayor que PRE obtenido con  $S_1$ ) y al extraestímulo  $S_2$  ( $S_1$ - $S_2$  10 ms mayor que el PRE obtenido con  $S_2$ ).

Una vez efectuado el estudio control, se ha esperado un período de estabilización de 30 minutos y se ha repetido el estudio a los 15 minutos desde el inicio de la perfusión de flecainida a una concentración de  $1 \mu\text{mol/L}$  (figura 3.2). Se ha utilizado esta concentración de flecainida (Pallandi & Campbell, 1988) por estar dentro del rango en el que se observan sus efectos electrofisiológicos característicos.

FLECAINIDA n=9



**Figura 3.2:** Protocolo para el estudio del efecto de la flecainida sobre las velocidades de conducción. TEEV  $S_1 S_2$ : test de extraestímulo ventricular con 2 extraestímulos.

### 3.2.2 ESTUDIO DEL DOFETILIDE

De los 17 experimentos con el fármaco antiarrítmico dofetilide se han efectuado 2 grupos. En el primer grupo (n = 9) se han estudiado los efectos del fármaco sobre las propiedades electrofisiológicas ventriculares (PR y VC). En el segundo grupo (n = 8), el estudio se ha centrado en el efecto sobre los patrones de activación durante la FV.

#### A) EFFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS VENTRICULARES

En 9 preparaciones de corazón aislado, treinta minutos después de la colocación de los electrodos, se ha aplicado el test del extraestímulo ventricular acoplado un extraestímulo ( $S_1$ ) al tren básico de estimulación ( $S_0$ - $S_0$ ) compuesto por 12 estímulos.  $S_1$  se aplicó con decrementos progresivos (2 ms) del intervalo de acoplamiento al tren base de estimulación. En cada experimento se ha realizado el test del extraestímulo con 4 longitudes distintas del ciclo básico: 300, 250, 200 y 150 ms.

Mediante el análisis del test del extraestímulo ventricular se han obtenido los PR. Para analizar la VC, se han examinado los mapas de activación epicárdicos correspondientes al último estímulo del tren base  $S_0$  para cada uno de los diferentes ciclos de estimulación.

Una vez efectuado el estudio control, se ha esperado un período de estabilización de 30 minutos y se ha repetido el estudio a los 15 minutos tras el inicio de la perfusión de dofetilide a una concentración 0.5  $\mu\text{mol/L}$  (figura 3.3). Se ha utilizado esta dosis porque se sitúa en el la parte superior del rango de concentraciones que han demostrado efecto sobre el miocardio ventricular (Baskin EP et al, 1998).



## B) EFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LOS PATRONES DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR

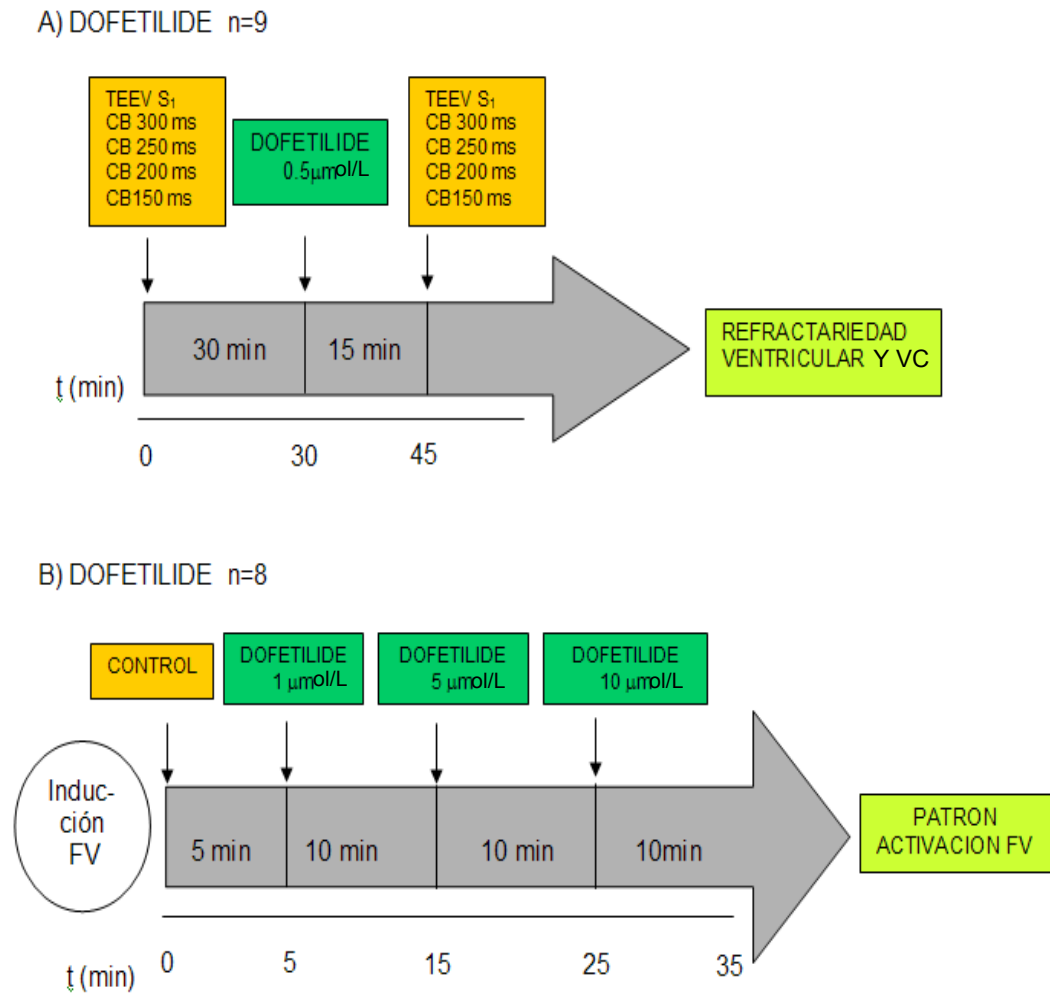
En 8 preparaciones de corazón aislado, treinta minutos después de situar los electrodos, se ha inducido FV mediante estimulación a frecuencias crecientes desde 4 hasta 20 Hz, manteniendo la perfusión coronaria durante la arritmia. La estimulación se ha efectuado incrementando lentamente la frecuencia hasta inducir FV o perder la captura ventricular. En caso de no desencadenarse la arritmia, el procedimiento se ha repetido las veces necesarias hasta conseguirlo. La FV se ha definido como la arritmia caracterizada por la activación rápida e irregular del miocardio ventricular, con intervalos medios entre las activaciones sucesivas en un mismo electrodo inferiores a 100 ms, y en la que el análisis de los mapas de activación epicárdicos ha demostrado patrones de activación persistentemente variables durante el desarrollo de la arritmia.

Los registros de la FV se han obtenido durante un intervalo de 5 minutos y a continuación se ha perfundido dofetilide a concentraciones crecientes (1  $\mu\text{mol/L}$ , 5  $\mu\text{mol/L}$  y 10  $\mu\text{mol/L}$ ), variando la concentración del fármaco en el líquido de perfusión cada 10 minutos si no cedía la arritmia, de tal modo que la duración máxima del período de perfusión del fármaco ha sido de 30 minutos (figura 3.3).

### 3.2.3 ESTUDIO DEL PINACIDIL

Para el estudio de los efectos del fármaco agonista de los canales K(ATP) sobre los PR ventriculares y la inducibilidad de la FV en condiciones basales y de isquemia miocárdica aguda, se han efectuado dos grupos de experimentos (figura 3.4). En el primer grupo (n = 14) se han estudiado dichos parámetros sin efecto del fármaco, perfundiéndose únicamente tyrode (grupo control). En el segundo grupo (n = 14), se han estudiado perfundiendo tyrode con pinacidil a una concentración 10  $\mu\text{mol/L}$  (grupo con pinacidil). Se ha utilizado esta concentración porque se encuentra en el rango de concentraciones que

han demostrado efecto sobre las propiedades electrofisiológicas cardíacas (Nakayama K et al, 1990).



**Figura 3.3:** Protocolo para el estudio de los efectos del dofetilide. A) Estudio de la VC y de la refractariedad ventricular. TEEV: test de extraestímulo ventricular, CB: ciclo básico de estimulación. B) Estudio del patrón fibrilatorio. FV: fibrilación ventricular. T: tiempo, min: minutos.

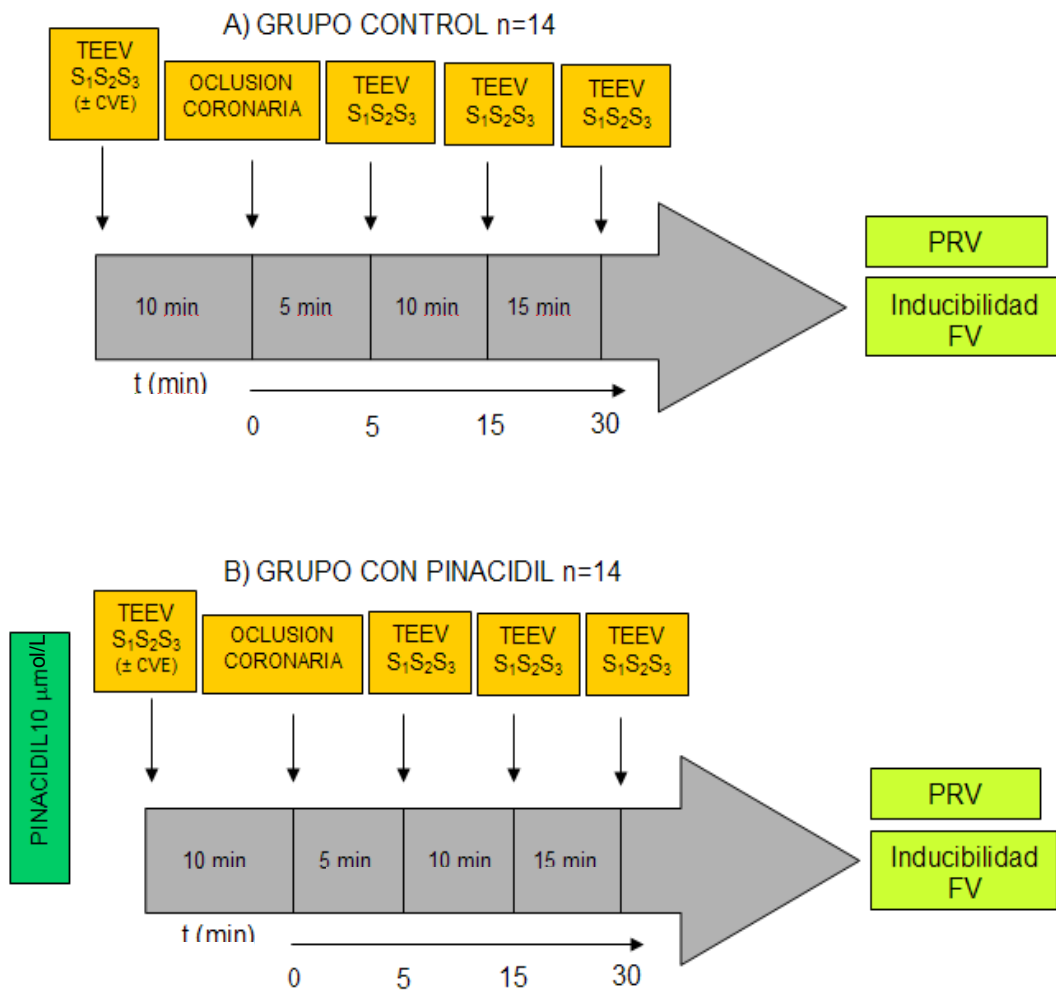
### A) GRUPO CONTROL

En 14 preparaciones de corazón aislado, treinta minutos tras la colocación de los electrodos, se ha aplicado el test del extraestímulo ventricular sobre dos ciclos base ( $S_0-S_0$ ) de 250 y 150 ms cada uno y acoplando uno ( $S_0-S_1$ ), dos ( $S_0-S_1-S_2$ ) y hasta tres ( $S_0-S_1-S_2-S_3$ ) extraestímulos a cada ciclo básico de estimulación (CB). El último extraestímulo se ha aplicado con decrementos progresivos (2 ms) del intervalo de acoplamiento al estímulo precedente. En los casos con dos o más extraestímulos ( $S_0-S_1-S_2$  y  $S_0-S_1-S_2-S_3$ ), los extraestímulos fijos ( $S_1$  y/o  $S_2$ ) se han introducido a un valor 10 ms superior al PRE obtenido con el ciclo y el extraestímulo previo. En el caso de producirse FV durante la realización del test del extraestímulo, se ha interrumpido la arritmia mediante cardioversión eléctrica utilizando palas epicárdicas (2 cm de diámetro) y una energía de 5J.

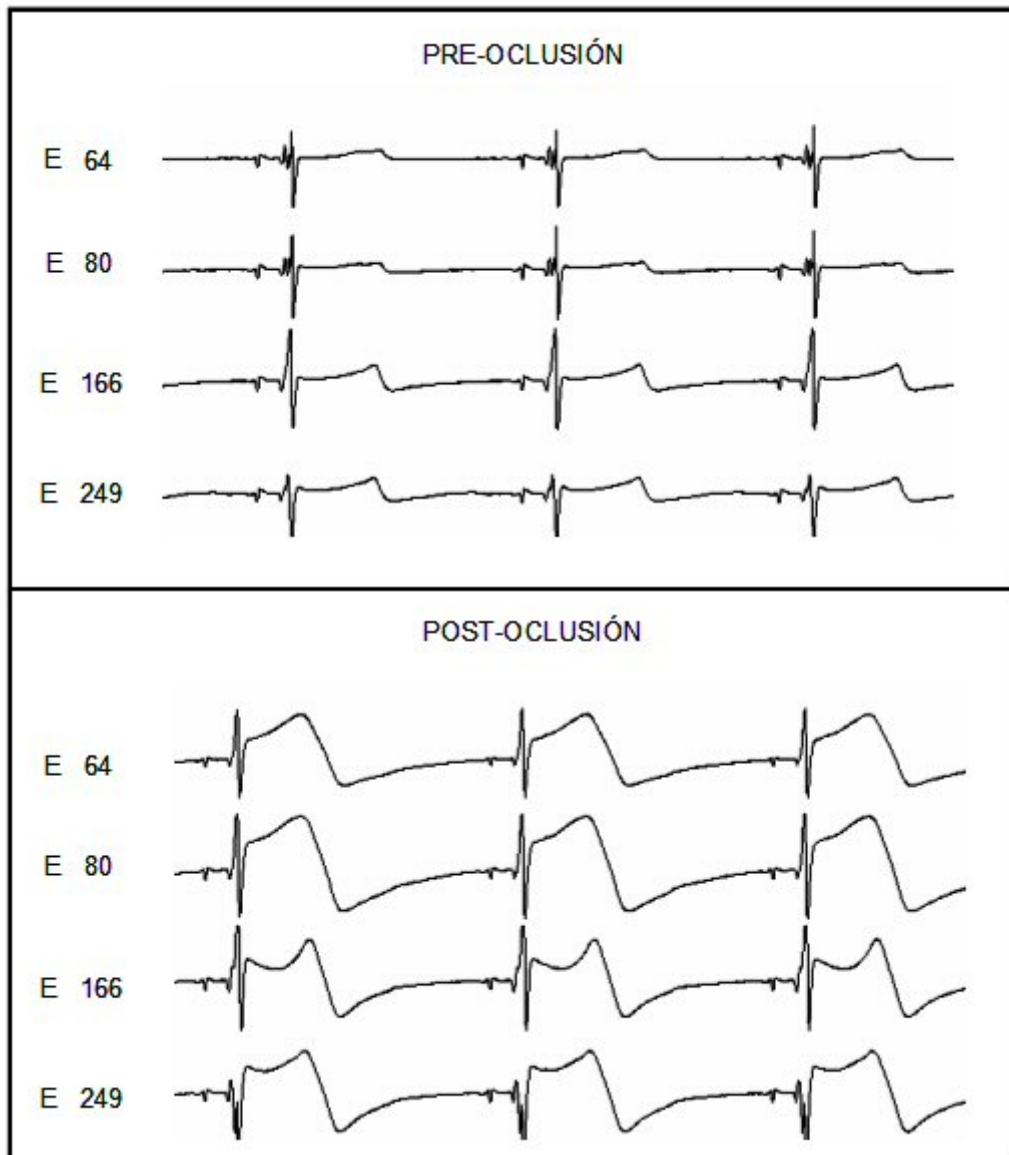
Una vez transcurridos 10 minutos tras la realización del test de extraestímulo o la cardioversión (en el caso de haberse realizado), se ha ocluido mediante ligadura la arteria coronaria circunfleja en su zona media, comprobándose la existencia de onda de lesión en los electrogramas de forma segmentaria (figuras 3.5 y 3.6), y se ha repetido el test del extraestímulo ventricular a los 5, 15 y 30 minutos de la oclusión coronaria.

### B) GRUPO CON PINACIDIL

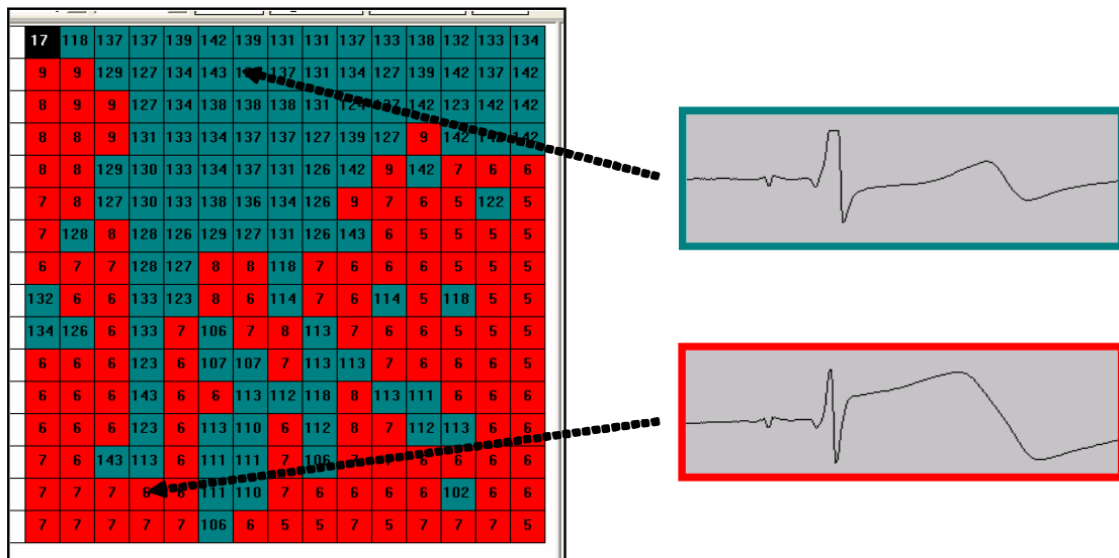
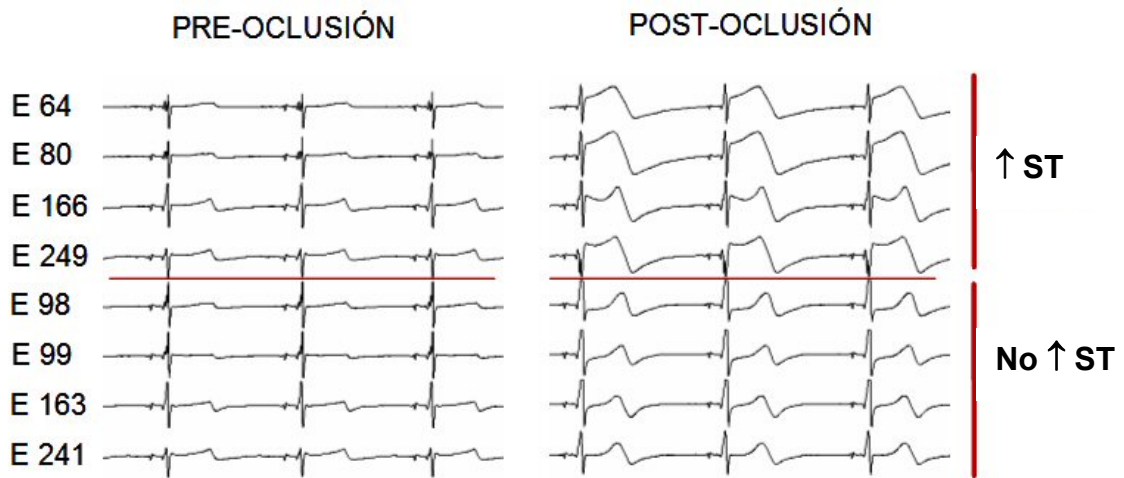
En 14 preparaciones de corazón aislado se ha llevado a cabo el mismo protocolo descrito en el apartado anterior, bajo los efectos de la perfusión continua de una solución de pinacidil (HCl 0.01N) disuelta en la preparación del Tyrode, a una concentración 10  $\mu\text{mol/L}$ .



**Figura 3.4:** Protocolo de estudio de los efectos del pinacidil. A) Grupo control. B) Grupo con pinacidil. TEEV: test de extraestímulo ventricular. PRV: período refractario ventricular, t: tiempo, min: minutos.



**Figura 3.5:** electrogramas correspondientes a los electrodos E64, E80, E166 y E249, antes (arriba) y después (abajo) de la oclusión de la arteria coronaria circunfleja. Obsérvese la onda de lesión que aparece tras la ligadura de la arteria.



**Figura 3.6:** en la parte superior de la figura se muestran los registros correspondientes a los electrogramas E64, E80, E98, E99, E163, E166, E241 y E249 antes (izquierda) y después (derecha) de la ligadura de la arteria coronaria circunfleja. Se observa la distribución segmentaria de la onda de lesión isquémica (electrodos E64, E80, E166 y E249) que se registra en la placa-electrodo. En la parte inferior se muestra el análisis de la dispersión de la onda de lesión (zona isquémica en rojo, zona no isquémica en azul).

### **3.3 ANÁLISIS DE LOS DATOS**

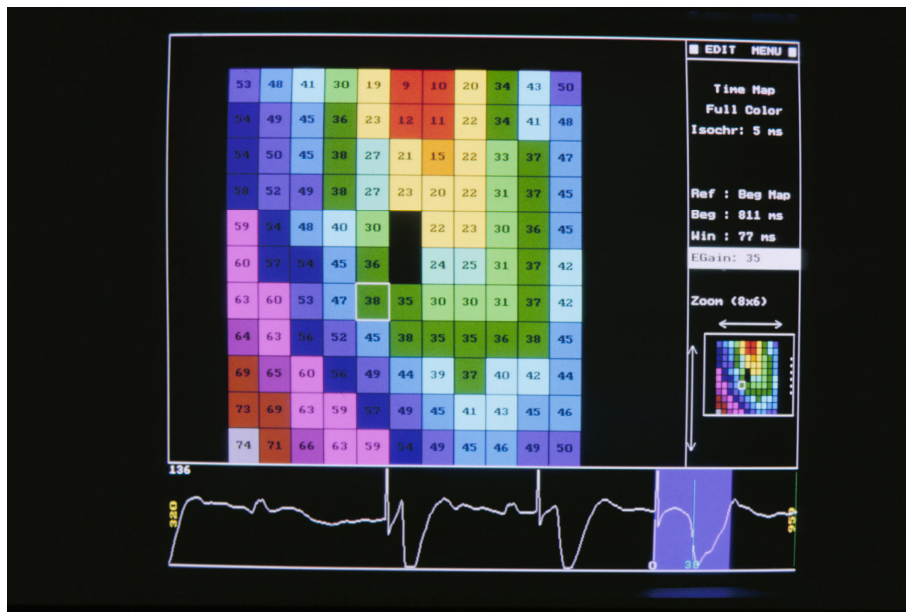
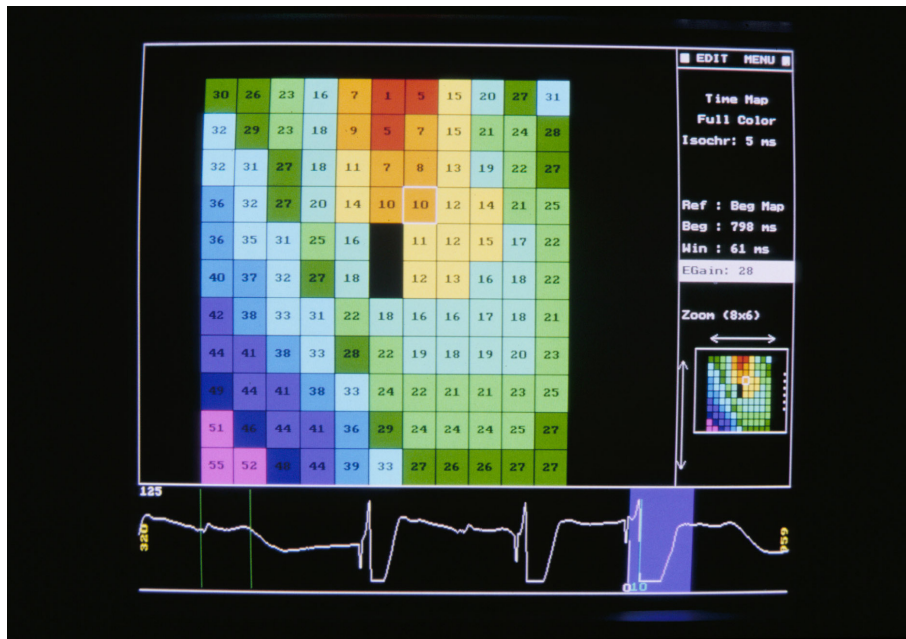
#### **3.3.1 ESTUDIO DE LA FLECAINIDA**

Se han obtenido los mapas de activación epicárdicos correspondientes a la activación ventricular producidos por  $S_0$ ,  $S_1$  y  $S_2$ . Para ello, se han determinado los tiempos de activación para cada electrodo, mediante la identificación de los momentos de máxima pendiente negativa de los electrogramas ventriculares.

En cada una de los 11 experimentos se han calculado las velocidades de conducción longitudinal y transversal del último estímulo del tren básico ( $S_0$ ) y de los dos extraestímulos  $S_1$  y  $S_2$  antes y después de la perfusión de flecainida, dividiendo una distancia fija (5 mm) por la diferencia entre los tiempos de activación de dos electrodos separados por esta distancia y situados en una dirección perpendicular a las isócronas. Se ha considerado la dirección longitudinal de propagación del estímulo (VL) a aquella en la que éste se propagaba con mayor velocidad; y la transversal (VT), a la dirección perpendicular a dicha velocidad longitudinal (figuras 3.7 y 3.8).

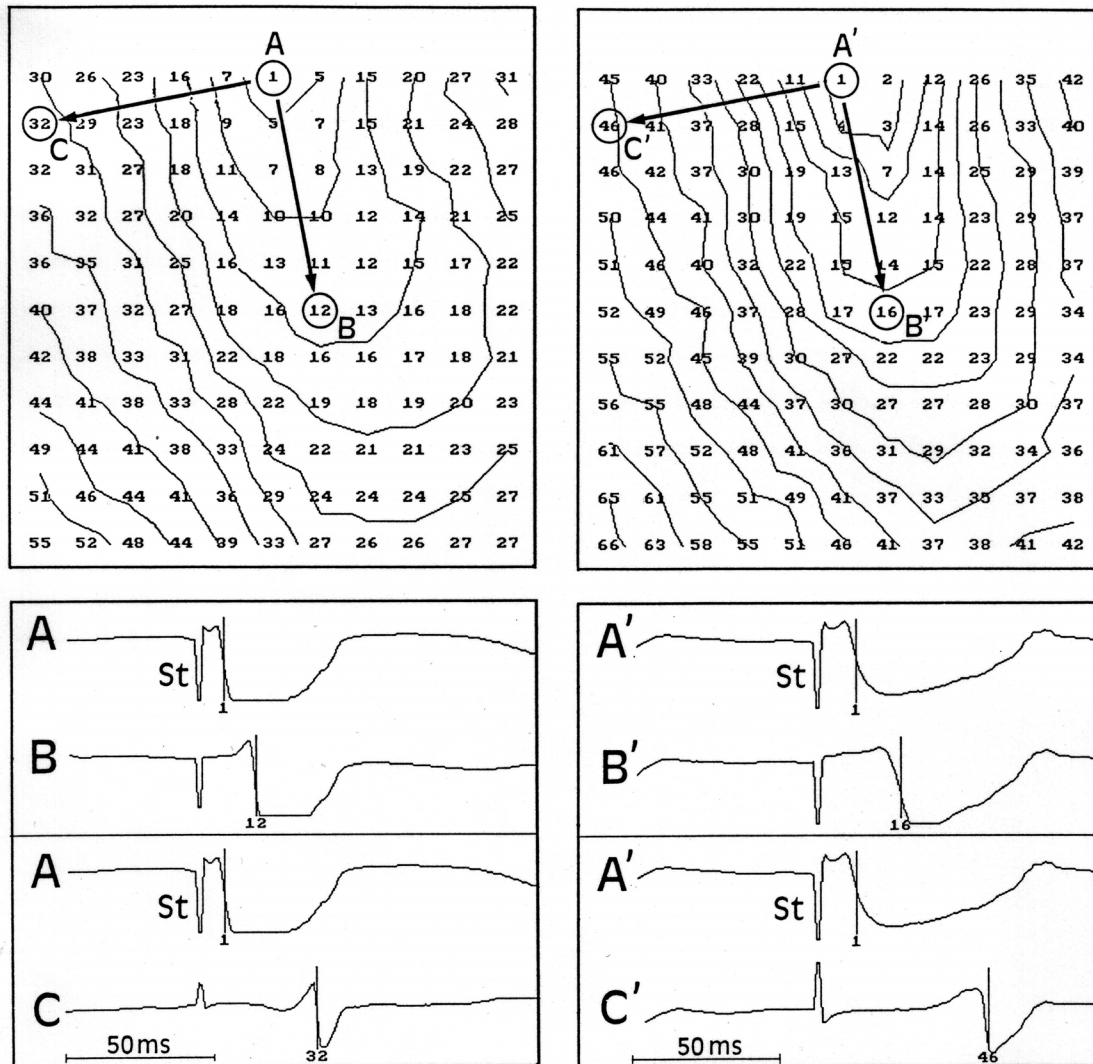
A continuación se ha procedido a calcular el porcentaje de acortamiento de las distintas velocidades tras la administración de flecainida y la relación entre la VL y la velocidad de VT (VL/VT).

La nomenclatura utilizada para designar a cada una de las distintas velocidades y a sus porcentajes de acortamiento ha sido: VLB y VTB (velocidad longitudinal y transversal respectivamente en condiciones basales), VLF y VTF (velocidad longitudinal y transversal respectivamente tras administración de flecainida) y PAL y PAT (porcentajes de acortamiento de las velocidades longitudinal y transversal respectivamente, inducidos por el fármaco).



**Figura 3.7:** se muestran los mapas de activación epicárdica en color antes (arriba) y después de la perfusión de flecainida (abajo)





**Figura 3.8:** se representan los mismos mapas de activación que en la figura 6, con las isócronas representadas por líneas, antes y después de la administración de flecainida (izquierda y derecha respectivamente). Se han señalado las direcciones de las VL y de las VT. A la izquierda, situación basal: VL(AB) = 45,4cm/s; VT(AC) = 16,1 cm/s. A la derecha, tras flecainida: VL(A'B') = 33,3 cm/s; VT(A'C') = 11,1 cm/s. Tras la flecainida, se ha producido un PAL = 26,6% y un PAT = 31,2%.

### 3.3.2 ESTUDIO DEL DOFETILIDE

#### A) ESTIMULACIÓN CONSTANTE CON EL TREN BASE

Durante la estimulación con cada tren base se han determinado los siguientes parámetros electrofisiológicos, tanto en situación basal como tras la perfusión del fármaco:

- El período refractario efectivo ventricular se ha definido como el intervalo de acoplamiento  $S_0 - S_1$  más largo que no produce captura ventricular.

- El período refractario funcional ventricular se ha definido como el intervalo  $V_1 - V_2$  más corto obtenido durante la aplicación del test del extraestímulo.

- La velocidad de conducción ventricular se ha obtenido a partir de los tiempos de activación local de dos puntos del electrodo múltiple localizados en una dirección perpendicular a las isócronas de cada uno de los mapas de activación ( $VC = \text{distancia entre los electrodos} / \text{diferencia entre los tiempos de activación local}$ ). Para calcular este parámetro, se eligieron dos puntos separados por 5 mm, uno de ellos en las proximidades del electrodo de estimulación. El tiempo de activación en cada electrodo unipolar se ha determinado identificando el momento de máxima pendiente negativa de los electrogramas ventriculares.

- La longitud de onda del proceso de activación se ha definido como el producto del período refractario funcional y la velocidad de conducción ( $PRF \times VC$ ).

#### B) FIBRILACIÓN VENTRICULAR

Se ha definido TV como la aparición de tres o más latidos ectópicos ventriculares sucesivos, y FV a la aparición de actividad ventricular desorganizada con intervalos medios entre las activaciones sucesivas en un mismo electrodo inferiores a 100 ms. La FV ha sido analizada durante las condiciones control y durante la perfusión de dofetilide, utilizando tres procedimientos: análisis es-

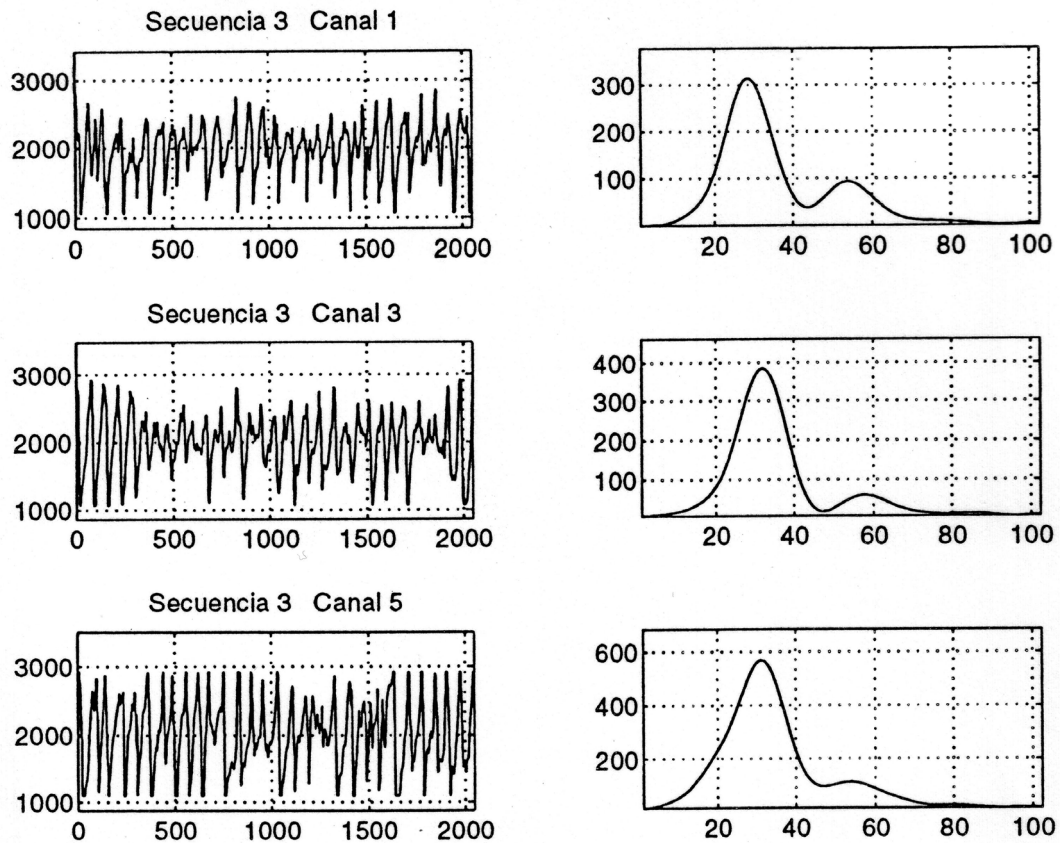
pectral, análisis en el dominio del tiempo y cartografía de la activación epicárdica.

Análisis espectral: Se ha utilizado el método de Welch (Oppenheim A & Schaffer R, 1975), para obtener el espectro de frecuencias de las señales registradas con 5 electrodos, 4 de ellos localizados en la zona media de cada uno de los lados del electrodo múltiple y el quinto electrodo situado en la zona central del mismo. El análisis se ha efectuado utilizando bloques de datos de 2048 puntos (frecuencia de muestreo = 1 kHz), dividiendo el bloque en segmentos de 256 puntos no solapados, eliminando tendencias y aplicando la ventana de Hanning. El periodograma de cada bloque de 2048 puntos corresponde a la media de los periodogramas de cada segmento. Se ha obtenido para cada bloque la frecuencia dominante (FrD), es decir, la frecuencia del espectro correspondiente a la amplitud máxima, y la energía contenida en el segmento del periodograma correspondiente a  $FrD \pm 1$  Hz (figura 3.9).

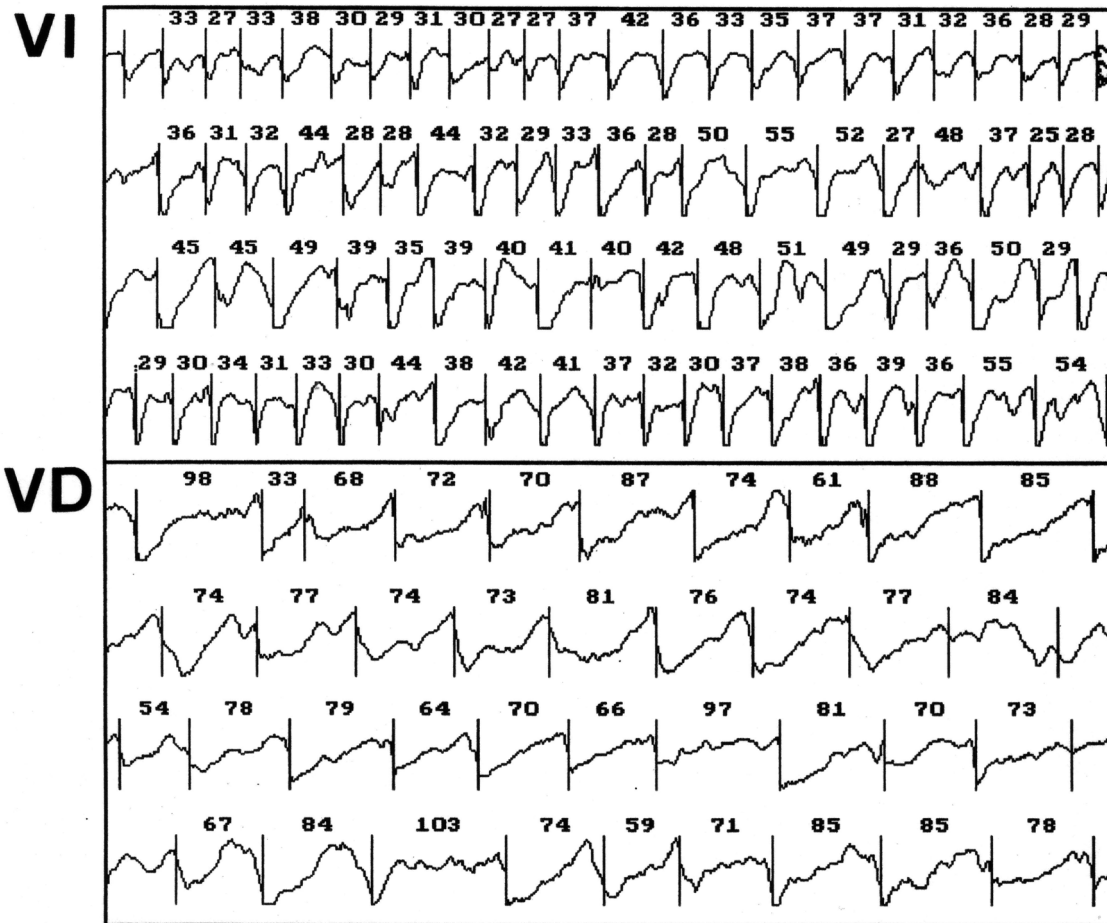
El análisis se ha efectuado básicamente durante un intervalo de tiempo de 5 minutos y tras la administración de las diferentes dosis de fármaco.

El procesamiento de datos fue efectuado mediante software Matlab<sup>®</sup> versión 6.5 en una plataforma Hewlett-Packard 712/80.

Análisis en el dominio del tiempo: en los segmentos de FV analizados mediante la técnica espectral, se han determinados los intervalos entre los electrogramas ventriculares consecutivos (figura 3.10). Los tiempos de activación de cada electrodo se han determinado identificando el momento de la pendiente máxima negativa ( $dv/dt$ ) de los electrogramas ventriculares. El umbral mínimo de este parámetro para ser considerado como una deflexión local ha sido un porcentaje (20%) del máximo valor obtenido con cada electrodo. Cuando los electrogramas mostraban potenciales dobles o múltiples, se ha asignado un único tiempo de activación que ha correspondido a la deflexión con la máxima pendiente negativa.



**Figura 3.9:** Registros de la señal fibrilatoria ventricular obtenidos con electrodos epicárdicos unipolares (derecha) y espectros de frecuencia obtenidos mediante el análisis de las señales con el método de Welch (derecha). Obsérvese el agrupamiento de las frecuencias en torno a un valor máximo o frecuencia dominante del espectro.



**Figura 3.10:** Análisis en el dominio del tiempo de los electrogramas epicárdicos del VI (arriba) y del VD (abajo) registrados durante la FV en uno de los casos. Se han determinado los tiempos de activación local identificando el momento de máxima pendiente negativa ( $dv/dt$ ) de los electrogramas. Como puede observarse, los intervalos VV en el VI son más cortos que los del VD.

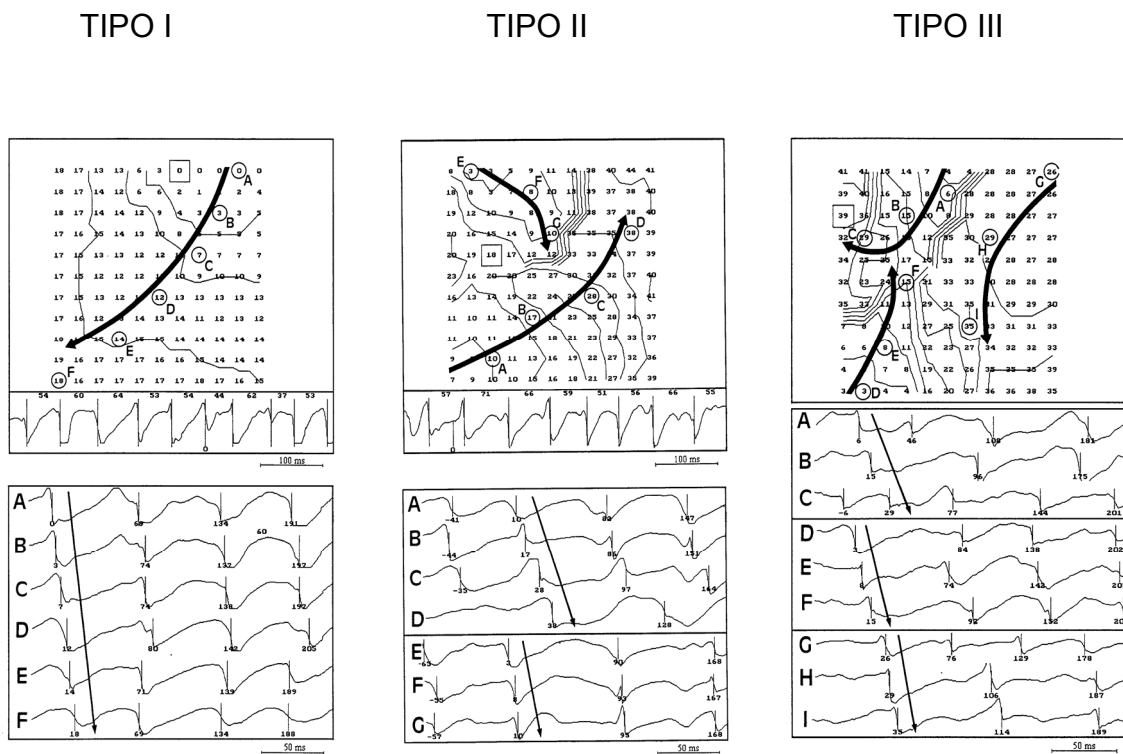
Los histogramas de los intervalos de fibrilación (VV), fueron determinados mediante los registros obtenidos con cada uno de los cinco electrodos utilizados en el análisis espectral o por todos los 121 electrodos unipolares y se calculó la media (MD) de los intervalos VV consecutivos medidos durante las ventanas de tiempo de dos segundos analizados en cada experimento, durante el control, y durante la perfusión del fármaco; la mediana (MNA) de estos intervalos, y la diferencia entre los percentiles 95 y 5 del histograma de los intervalos de fibrilación (P (95-5)).

Análisis de los mapas de activación: se han comparado los mapas de activación a los treinta segundos del inicio de la arritmia en situación basal y tras perfusión de dofetilide 1  $\mu\text{mol/L}$ , teniendo presente que la FV en el modelo utilizado, en el que se impide el deterioro metabólico al mantener la perfusión coronaria, es estable durante el tiempo en el que se ha mantenido la arritmia (Chorro FJ et al, 1996). Para ello se han analizado los registros correspondientes a segmentos de dos segundos. El segmento de tiempo analizado se ha dividido en ventanas de tiempo consecutivas con una duración de 100 ms, y en cada ventana se han identificado los patrones de activación construyendo las isócronas que se han trazado semiautomáticamente a intervalos de 5 ms y utilizando la codificación en color de los tiempos de activación. Se han definido como zonas de bloqueo a aquellas en las que la VC estimada ha sido inferior a 5 cm/seg, delimitando áreas con distinta dirección del proceso de activación. Para identificar la activación reentrante se ha utilizado como guía la visualización en la pantalla de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo codificados en color, desplazando sucesivamente el intervalo de tiempo analizado en escalones de 10 ms.

Cada uno de los 20 mapas correspondientes a cada ventana analizada ha sido clasificado en tres categorías según su complejidad y, siguiendo un esquema similar al descrito por Konings KT et al en 1994 en el análisis de los mapas de activación de la fibrilación auricular: TIPO I: mapas de activación con un frente de onda simple propagándose uniformemente sin retraso significativo de la conducción; TIPO II: mapas de activación con dos frentes de onda, o un frente de onda con áreas de retraso o bloqueo de la conducción; y TIPO III:

mapas de activación con tres o más frentes de onda asociados a áreas de conducción lenta y de bloqueo funcional (Chorro FJ et al, 2000) (figura 3.11).

Así mismo, durante la FV se ha calculado la velocidad de conducción (VELFV) en aquellos mapas en los que los frentes de activación atravesaban el área abarcada por el electrodo sin evidencias de afloramiento (promedio de cinco determinaciones). Se ha calculado la velocidad dividiendo una distancia fija (5mm) por la diferencia entre los tiempos de activación de dos electrodos separados por esta distancia y situados en una dirección perpendicular a las isócronas.



**Figura 3.11:** en los paneles superiores se muestran 3 ejemplos de mapas de activación durante la FV (TIPO I, II y III). Se muestran los tiempos de activación ventricular y las isócronas trazadas a intervalos de 5 ms. En círculo, electrogramas seleccionados a lo largo de la trayectoria de los frentes de onda. En los paneles inferiores se muestran los electrogramas seleccionados a lo largo de la trayectoria de los frentes de activación según se indica en los mapas de la parte superior. Cada uno de los mapas es comentado en el texto.

En el mapa tipo I de la figura 3.11, podemos observar un único frente de onda que atraviesa la placa electrodo desde la esquina superior derecha hacia la inferior izquierda. En el mapa tipo II se observan dos frentes de onda y una línea de bloqueo. En el tipo III observamos dos frentes de onda que entran simultáneamente por la parte superior. El frente que entra desde la zona superior derecha colisiona con otro que entra en la zona explorada por la zona inferior izquierda. Este último no llega a colisionar con el que entra desde la zona superior izquierda por la existencia de una línea de bloqueo funcional.

### 3.3.3 ESTUDIO DEL PINACIDIL

#### A) ESTIMULACIÓN CONSTANTE CON EL TREN BASE. TEST DE EXTRA-ESTIMULO

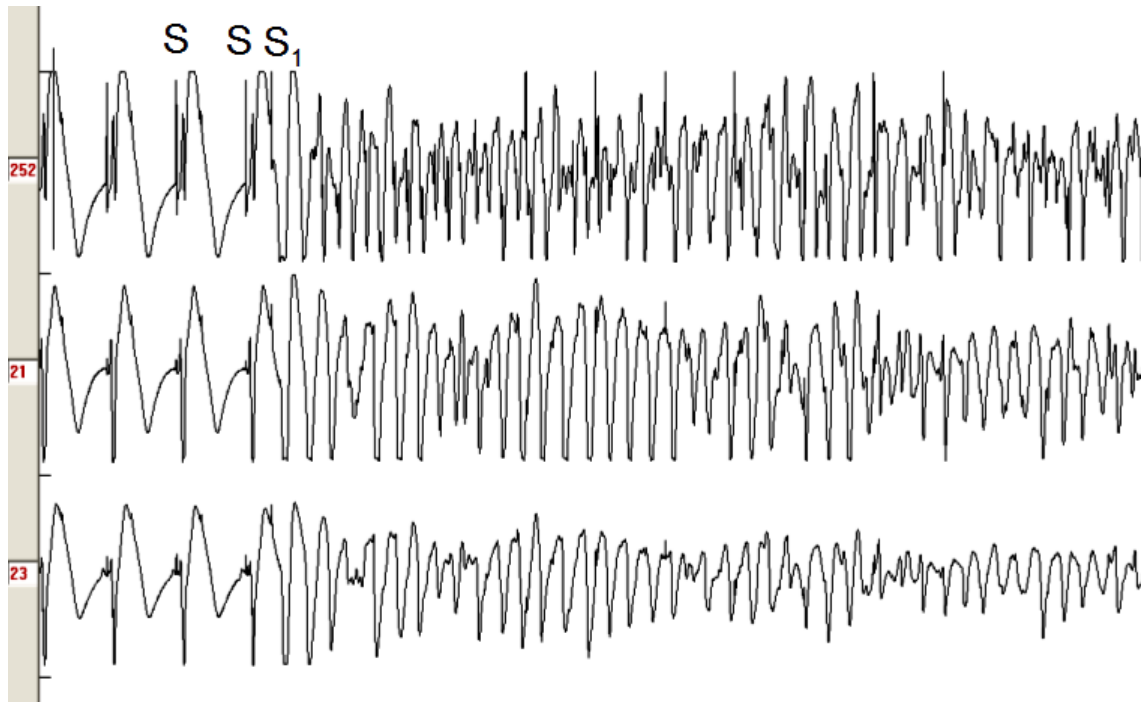
Tanto en situación basal como durante la perfusión de pinacidil, antes y en el minuto 5 de isquemia, se han calculado los PRE y los PRF ventriculares para los dos ciclos base (250 ms y 150 ms) con 1 extraestímulo. Las determinaciones se han realizado según el protocolo descrito para el dofetilide.

#### B) INDUCIBILIDAD DE ARRITMIAS

Con el objeto de comprobar el efecto del pinacidil sobre la inducibilidad de arritmias, se ha comparado la incidencia de taquicardia ventricular (TV) y/o FV tras estimulación en ausencia y en presencia del fármaco. Para ello, se ha realizado el test del extraestímulo en situación basal y a los 5, 15 y 30 minutos de la oclusión coronaria. Las comparaciones se han realizado en valores porcentuales en las siguientes situaciones: basal, en el minuto 5 de isquemia y de forma global durante los 30 minutos de isquemia.

Se ha definido TV como la aparición de tres o más latidos ectópicos ventriculares sucesivos, y FV a la aparición de actividad ventricular desorganizada con intervalos medios entre las activaciones sucesivas en un mismo electrodo inferiores a 100 ms, según se ha descrito anteriormente (figura 3.12).





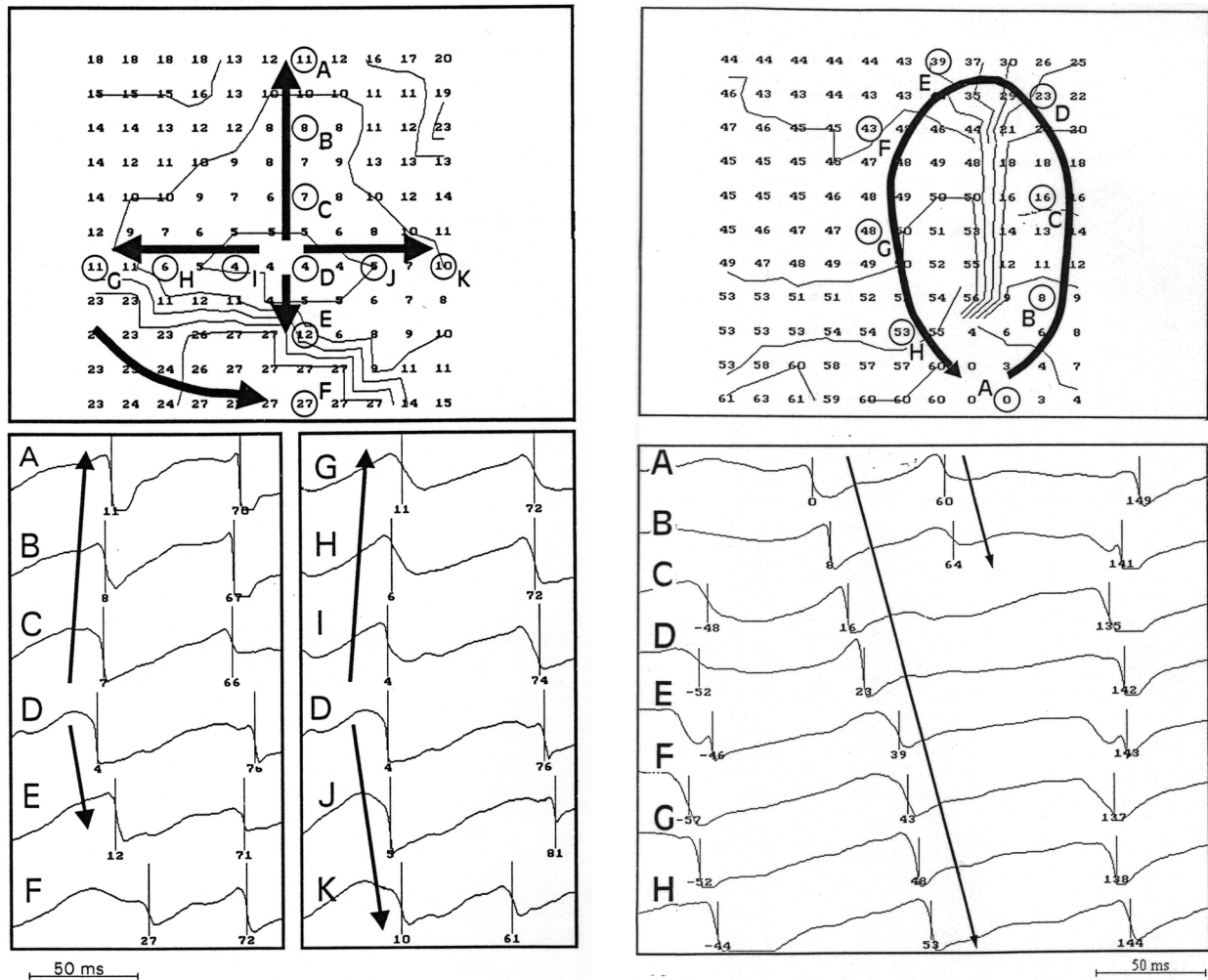
**Figura 3.12:** Registro de la inducción de fibrilación ventricular recogidos desde los electrodos epicárdicos nº 252, 21 y 23. El test del extraestímulo con un ciclo básico de 250 ms (S-S) y un extraestímulo acoplado (S<sub>1</sub>), desencadena un episodio de fibrilación ventricular.

### C) FIBRILACIÓN VENTRICULAR

La FV se ha analizado en el grupo control y en el grupo con pinacidil, estudiándose los siguientes parámetros:

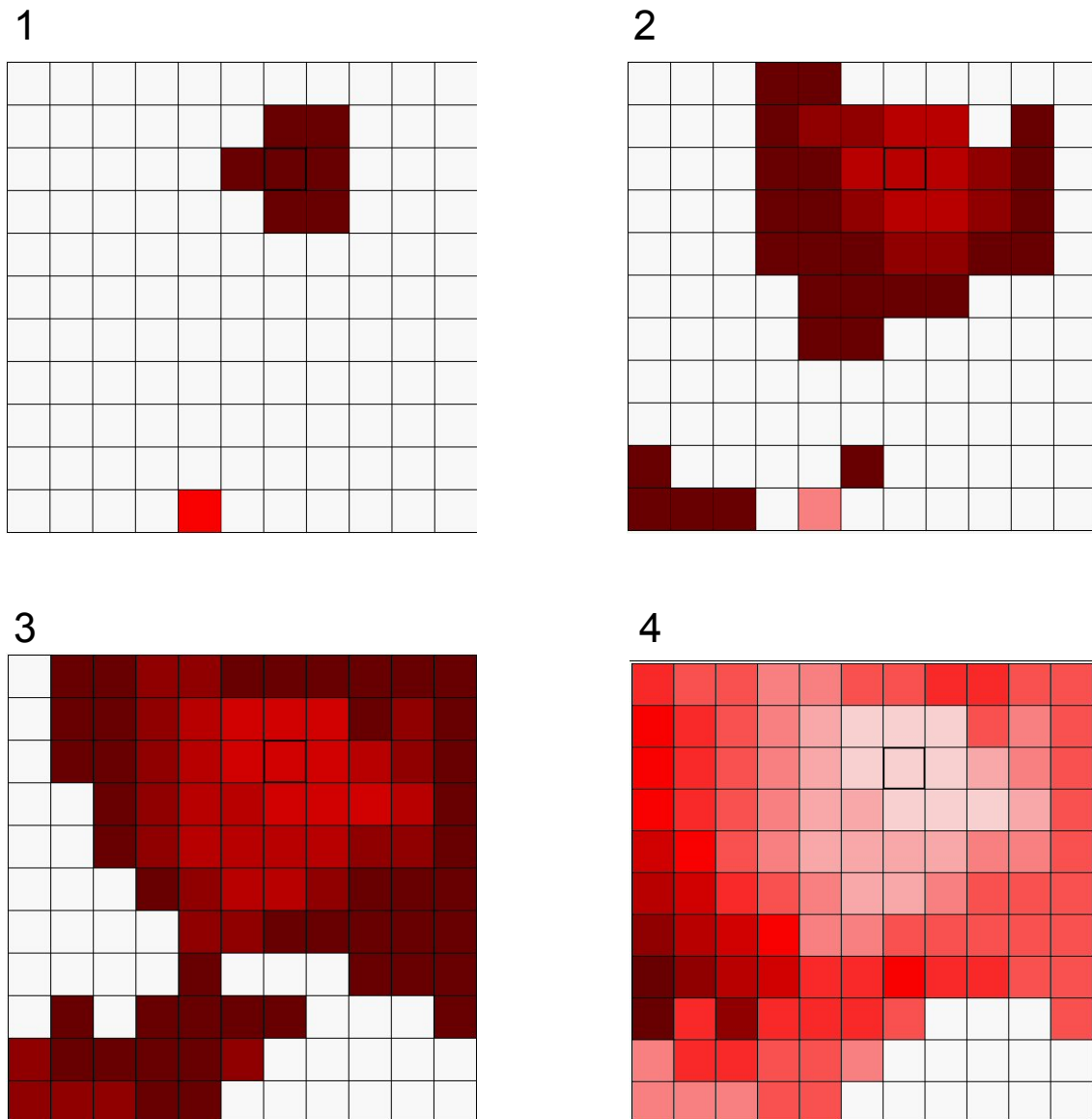
Patrón de inicio de la FV: en ambos grupos se ha estudiado y comparado la forma de inicio de la FV en cuanto a la regularidad o la irregularidad de sus ciclos durante las 10 primeras activaciones epicárdicas. Para ello se han medido los intervalos VV de las 10 primeras activaciones en 5 electrodos seleccionados (4 en la periferia y uno central). Para ambos grupos, se han calculado y comparado las medias de dichos intervalos así como su coeficiente de variación (CV).

Análisis de los mapas de activación durante el inicio de la FV durante la isquemia: en los casos en los que la FV fue desencadenada durante la isquemia, tanto en el grupo control como en el grupo con pinacidil, se han analizado y comparado 7 mapas de activación. Estos mapas, numerados del 1 al 7, han sido los correspondientes al último estímulo del tren base, al último extraestímulo acoplado al tren base y las 5 primeras activaciones espontáneas durante la arritmia. En cada uno de los mapas se han identificado los patrones de activación construyendo las isócronas que se han trazado semiautomáticamente a intervalos de 5 ms y utilizando la codificación en color de los tiempos de activación. Los mapas se han clasificado según su complejidad en mapas tipo I, II y III siguiendo los mismos criterios expuestos para el dofetilide; y mapas con actividad reentrante. Así mismo se han cuantificado los patrones de afloramiento a la superficie epicárdica (figuras 3.13, 3.14 y 3.15).

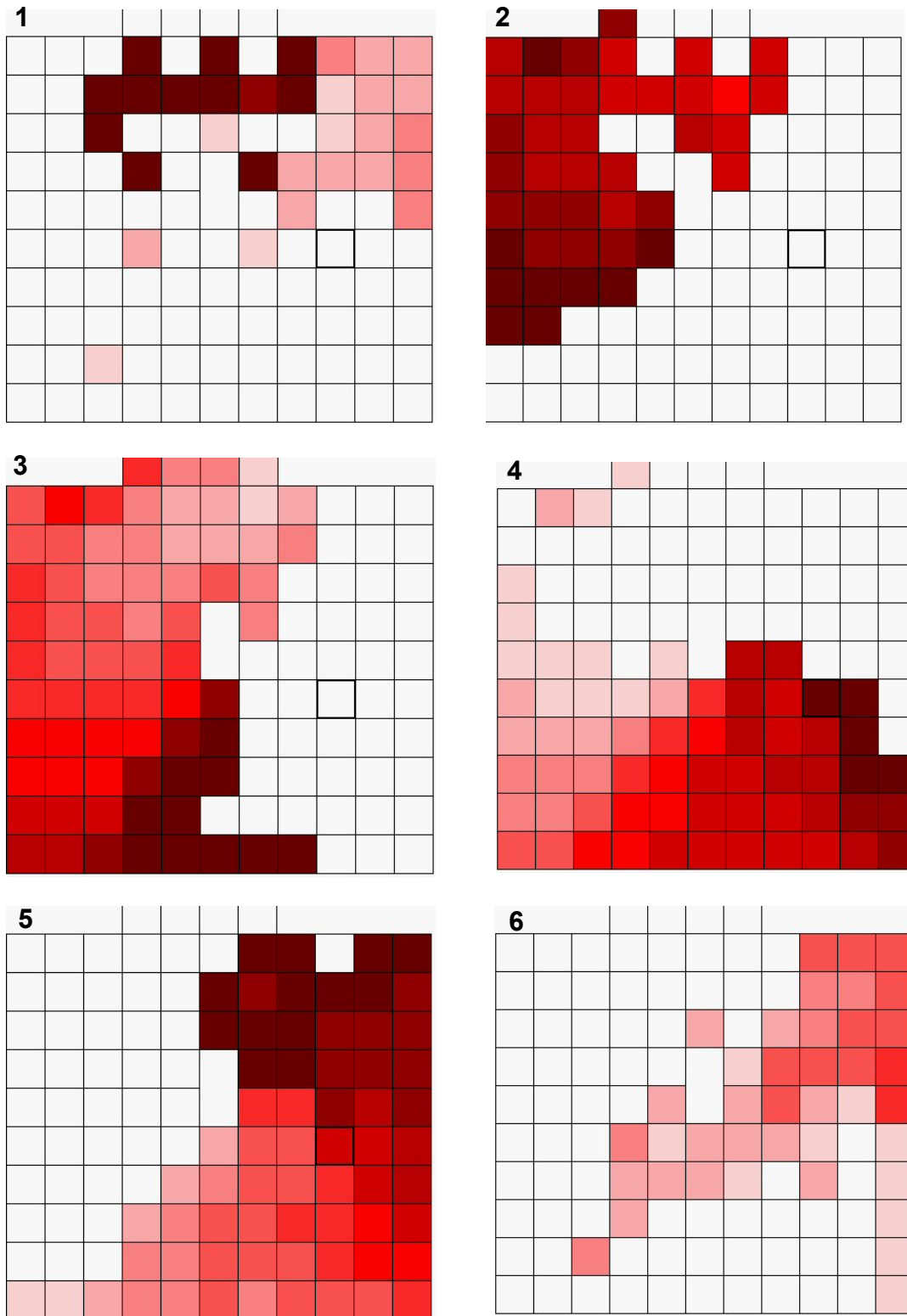


**Figura 3.13:** Mapas de activación epicárdica obtenidos durante la fibrilación ventricular. Se muestran los tiempos de activación ventricular y las isócronas trazadas a intervalos de 5 ms. En círculo, electrogramas seleccionados a lo largo de la trayectoria de los frentes de onda. En los paneles inferiores se muestran los electrogramas seleccionados a lo largo de la trayectoria de los frentes de activación según se indica en los mapas de la parte superior.

A la izquierda, mapa de activación que muestra un patrón de afloramiento a la superficie epicárdica. En la zona inferior el frente se detiene ante una zona de bloqueo funcional por debajo de la cual, el epicardio se activa por otro frente de onda que atraviesa de izquierda a derecha. A la derecha, mapa de activación en el que se objetiva un patrón de reentrada completa.



**Figura 3.14:** mapa de afloramiento a la superficie epicárdica en uno de los casos. Se muestra la secuencia en 4 fotogramas (1ª 4). Se observa como el frente de activación comienza en la zona superior derecha del fotograma 1 y se va extendiendo de forma radial a lo largo de toda la zona de registro de la placa-electrodo (fotogramas 2 a 4). El frente de activación se representa en color rojo oscuro.



**Figura 3.15:** mapa en el que se observa un patrón de reentrada completa en sentido antihorario con la misma codificación que la figura anterior (fotogramas 1 a 6).

### **3.4 CÁLCULOS ESTADÍSTICOS**

Los datos se han presentado como media  $\pm$  SD. En el caso de variables cualitativas los datos se han mostrado en valores porcentuales. Las comparaciones entre medias de dos muestras relacionadas se han realizado mediante tests no paramétricos (Test de Wilcoxon). Las comparaciones entre medias de muestras independientes, se han realizado igualmente con tests no paramétricos (U de Mann-Whitney). En el caso de variables cualitativas, las comparaciones se han realizado mediante el análisis del Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). Para el estudio de la variabilidad de la longitud de ciclos de la FV, se ha utilizado el Coeficiente de Variación (CV), definido como la relación entre la desviación estándar y la media de los ciclos de activación (SD/media).

Se han considerado significativas las diferencias para valores de  $p < 0.05$ .

Para el análisis estadístico se ha utilizado el paquete estadístico SPSS versión 11.5.

### **3.5 SIMULACIÓN CON MODELOS MATEMÁTICOS**

#### **3.5.1 MODELO DE CORRIENTES IÓNICAS Y POTENCIAL DE ACCIÓN**

##### **A) FORMALISMO MATEMÁTICO**

Para simular la actividad eléctrica del corazón, se han utilizado modelos matemáticos modernos basados en el formalismo de Hodgkin y Huxley. Estos modelos describen con alto grado de detalle electrofisiológico las corrientes iónicas transmembrana, los potenciales de acción y la dinámica del calcio intracelular, así como la propagación de los potenciales de acción por el miocardio.

En su modelo matemático del potencial de acción del axón del calamar de 1952, Hodgkin y Huxley utilizaron un formalismo matemático para expresar las propiedades cinéticas de los canales iónicos (Hodgkin & Huxley, 1952) que ha sido adoptado posteriormente por la mayor parte de los modelos cardiacos subsiguientes de PA. El formalismo de HH parte de una hipótesis, demostrada experimentalmente años más tarde, según la cual el poro del canal por el que los iones atraviesan la membrana solo puede estar en dos estados diferentes: abierto o cerrado. Así, la corriente total  $I_S$  asociada a una población de un tipo específico de canales (S) en la membrana celular puede ser descrita como:

$$I_S = f_S I_{S,max} \quad (1)$$

donde  $f_S$  representa la fracción de la población total de canales en estado abierto y  $I_{S,max}$  es la corriente que existiría si todos los canales de tipo S se activaran. Según el formalismo HH, el estado (abierto o cerrado) de un solo canal iónico es controlado por cierto número (N) de subunidades del canal que se comporta como “compuertas”. Un canal iónico estará en el estado abierto si todas las compuertas del canal están abiertas. Además, cada compuerta se comporta de forma independientemente de las otras. Así, la probabilidad de que un canal esté abierto (igual a la fracción de canales de tipo S abiertos en la membrana si el número de canales es suficientemente grande) vendrá dado por:

$$f_S = x_1 x_2 \dots x_N \quad (2)$$

donde  $x_i$  es la probabilidad de apertura de la compuerta  $i$ -ésima. La transición entre el estado abierto y el cerrado sigue un esquema cinético de primer orden, de modo que la probabilidad que una cierta compuerta esté abierta vendrá dado por la ecuación diferencial:

$$\frac{dx_i}{dt} = (1 - \alpha_{xi})x_i - \beta_{xi}x_i \quad (3)$$

donde los coeficientes de transferencia  $\alpha_{xi}$   $\beta_{xi}$  son funciones del potencial de membrana ( $V_m$ ). Estas funciones son obtenidas de forma experimental mediante la técnica de fijación de potencial (*voltage clamp*) y corresponden a funciones del tipo de Boltzmann.

La corriente máxima por los canales que aparece en la expresión (1) se calcula generalmente en términos del potencial de membrana ( $V_m$ , igual a la diferencia de potencial entre los medios intra y extracelular) mediante una expresión generalizada de la Ley de Ohm:

$$I_{S,max} = g_{S,max}(V_m - E_S) \quad (4)$$

donde  $g_{S,max}$  es la conductividad específica máxima (igual al producto de la densidad de canales por la conductividad de un solo canal abierto) y  $E_S$  es el potencial de equilibrio del canal, dado por la ecuación de Nernst:

$$E_S = -\frac{RT}{Fz_S} \ln \frac{C_{Si}}{C_{So}} \quad (5)$$

donde  $R$  es la constante de los gases perfectos,  $T$  la temperatura absoluta,  $F$  la constante de Faraday,  $z_S$  la valencia del ion,  $C_{Si}$  la concentración del ion  $S$  en el medio intracelular y  $C_{So}$  la concentración del ion  $S$  en el medio extracelular.

Alternativamente, puede utilizarse la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz (Ferrero JM (Jr) et al, 1994) que expresa directamente la relación tensión-corriente para determinados canales iónicos:



$$I_{S,\max} = P_S \frac{F^2 z_S^2 V_m}{RT} \frac{[S]_i \exp\left(\frac{z_S F V_m}{RT}\right) - [S]_o}{\exp\left(\frac{z_S F V_m}{RT}\right) - 1} \quad (6)$$

Finalmente, la corriente iónica total que atraviesa la membrana ( $I_m$ ) se puede expresar como la suma de todas las corrientes iónicas más la corriente a través de la capacidad equivalente de la membrana celular ( $C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ ):

$$I_m = C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum_S I_S \quad (7)$$

El término  $I_m$  sería igual a cero en una célula aislada, o igualaría a la corriente de estímulo si la célula se estimula eléctricamente. En conjunto, las ecuaciones (1) a (7) forman un sistema no lineal de ecuaciones diferenciales que se pueden utilizar para simular el PA y las corrientes iónicas de una célula. Una selección apropiada de canales iónicos y sus características eléctricas (dependencia del voltaje y del tiempo) pueden usarse entonces para describir con precisión el comportamiento electrofisiológico de los cardiomiocitos. Si estas ecuaciones se completan con una descripción matemática de las características eléctricas del tejido (ver apartado 3.5.4), el sistema resultante se podría usar para simular la propagación del potencial de acción en el tejido cardíaco.

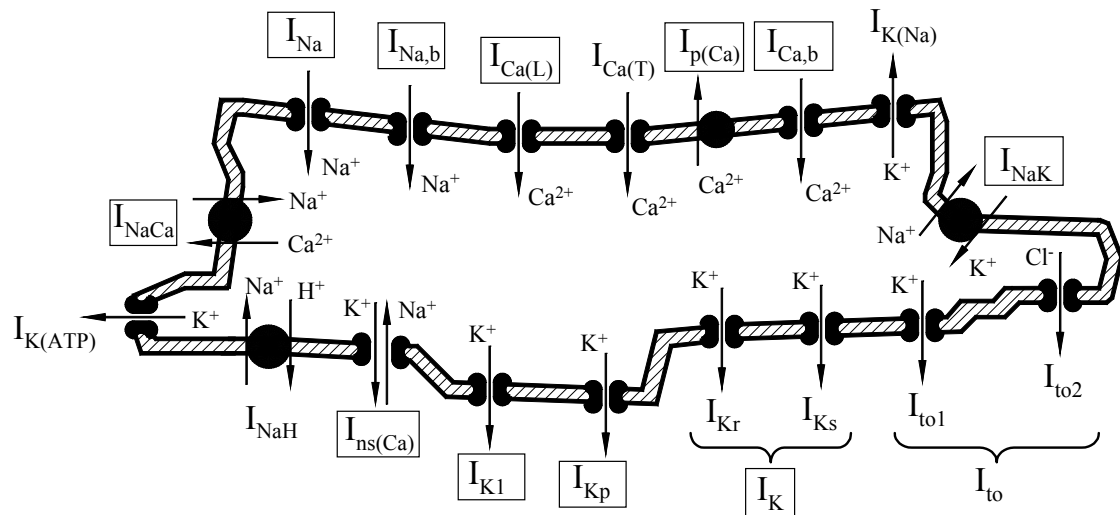
## B) EL MODELO DE LUO-RUDY DEL POTENCIAL DE ACCIÓN VENTRICULAR

Uno de los modelos más recientes que simulan el comportamiento eléctrico de las células ventriculares fue desarrollado en varias fases por Luo y Rudy (Luo CH & Rudy Y, 1991; Luo CH & Rudy Y, 1994; Zeng J et al, 1995; Viswanathan PC et al, 1999; Faber GM & Rudy Y, 2000). El modelo no se limita sólo a describir las características eléctricas de un cierto número de canales iónicos, sino que, además, describe con detalle las transferencias de materia (iones) entre diversos compartimentos funcionales que influyen directamente en el potencial de membrana. Así, el modelo considera tres compartimentos: medio extracelular, medio intersticial y medio intracelular que incluye al retículo

sarcoplásmico (SR). El SR está dividido a su vez en dos compartimentos: compartimento de entrada del SR (NSR, “network SR”) y compartimento de salida del SR (JSR, “junctional SR”). El modelo incluye bombas e intercambiadores iónicos, cambio de concentraciones iónicas, almacenes de calcio y una descripción detallada de la dinámica del calcio dentro de la célula.

La corriente total a través de la membrana (término  $I_m$  en la expresión [7]) comprende las siguientes corrientes: corriente rápida de sodio ( $I_{Na}$ ); corriente de calcio a través de los canales de tipo L ( $I_{Ca(L)}$ ) y tipo T ( $I_{Ca(T)}$ ); corriente diferida de potasio rápida ( $I_{Kr}$ ) y lenta ( $I_{Ks}$ ); corriente rectificadora de potasio ( $I_{K1}$ ); corriente de meseta de potasio ( $I_{Kp}$ ); corriente de la bomba sodio-potasio ( $I_{NaK}$ ); corriente del intercambiador sodio-calcio ( $I_{NaCa}$ ); corriente de la bomba de calcio del sarcolema ( $I_{pCa}$ ); corriente de fondo de sodio ( $I_{Nab}$ ); corriente de fondo de calcio ( $I_{Cab}$ ); corriente no específica activada por calcio ( $I_{nsCa}$ ) y corriente de potasio dependiente de sodio ( $I_{K(Na)}$ ). Además, el modelo formula las corrientes de calcio que circulan entre el citoplasma y el retículo sarcoplásmico. Por último, se ha incluido en el modelo la corriente de potasio sensible a ATP ( $I_{K(ATP)}$ ) formulada por Ferrero JM (Ferrero JM (Jr) et al, 1996)

En la figura 3.16 se muestra un esquema de las corrientes contempladas en el modelo de Luo-Rudy en su versión LR-2000 (Faber GM & Rudy Y, 2000). Para simplificar el esquema, no se han incluido en el mismo las corrientes desde y hacia el retículo sarcoplásmico.



**Figura 3.16** : Representación esquemática de una célula cardíaca ventricular y de las corrientes iónicas más relevantes (Thakor et al, 1998). Las corrientes enmarcadas en un rectángulo pertenecen al modelo de Luo-Rudy original. El resto han sido formuladas con posterioridad (por ejemplo, la corriente  $I_{K(ATP)}$  fue formulada por Ferrero (Jr) et al (Ferrero Jr, et al, 1996).

### 3.5.2 MODELO DE LA ACCIÓN DEL PINACIDIL

Para modelizar el efecto del Pinacidil sobre la actividad eléctrica del corazón, se ha adoptado un modelo reciente (Trénor B & Ferrero JM (Jr), 1999) que tiene en cuenta la influencia del fármaco estudiado sobre la conductancia eléctrica del canal iónico al que afecta específicamente: el canal de potasio sensible a ATP [K(ATP)]. El modelo está basado en los datos experimentales de Fan y colaboradores (Fan Z et al, 1991), que describieron el mecanismo por el cual las moléculas de ATP tienden a cerrar el canal mientras que las de pinacidil tienden a abrirlo. En el modelo adoptado en esta tesis doctoral, la influencia del ADP también ha sido considerada.

De acuerdo con los datos de Fan, el modelo de Trénor y Ferrero establece la siguiente dependencia entre la fracción de canales K(ATP) abiertos ( $f_{ATP}$ ) y las concentraciones intracelulares de pinacidil ([P]), ATP ([A]) y ADP ([D]):

$$f_{ATP} = 1 - \frac{[A]^H}{[A]^H + \frac{k_1 k_{11} k_{13} + [D] k_{11} k_{13} + k_1 k_{13} [P] + k_1 [P][D]}{k_{d1}} + \frac{k_1 k_{11} k_{13}}{k_{d2}} + \frac{k_{11} k_{13} [D]}{k_{d3}} + \frac{k_1 k_{13} [P]}{k_{d4}} + \frac{k_1 [P][D]}{k_{d4}}} \quad (8)$$

Los valores de las constantes de asociación y disociación pueden encontrarse en el artículo original (Trénor B & Ferrero JM (Jr), 1999). Esta ecuación fue incorporada a la de la corriente  $I_{K(ATP)}$  formulada por Ferrero (Ferrero Jr et al, 1996). Un resumen de las ecuaciones que describen las características eléctricas de los canales K(ATP) se muestra a continuación (la lista completa de ecuaciones y el resto de detalles pueden consultarse en el artículo original). En primer lugar, siguiendo la formulación óhmica, la densidad de corriente puede expresarse como:

$$I_{K(ATP)} = g_{K(ATP)} f_{ATP} (V_m - E_K) \quad (9)$$

donde  $g_{K(ATP)}$  es la conductancia de la población de canales si todos estuviesen abiertos,  $f_{ATP}$  la fracción de canales abiertos y  $E_K$  es el potencial de equilibrio del potasio (dado por la ecuación de Nernst). La conductancia máxima del canal puede expresarse como:

$$g_{K(ATP)} = 35.3 \cdot \left( \frac{[K^+]_o}{5.4} \right)^{0.24} \cdot \frac{1}{1 + \frac{[Mg^{2+}]_i}{K_{h,Mg}(V_m, [K^+]_o)}} \cdot \frac{1}{1 + \left( \frac{[Na^+]_i}{K_{h,Na}(V_m)} \right)^2} \quad (10)$$

donde  $K_{h,Mg}$  y  $K_{h,Na}$  son funciones del potencial de membrana y de  $[K^+]_o$ . Por último, la fracción de canales abiertos responde a la ecuación (8).

Una vez adoptado el modelo del efecto del pinacidil, las ecuaciones (8) a (10) fueron introducidas en el modelo de Luo-Rudy. De este modo, los efectos de diferentes dosis de pinacidil sobre la actividad eléctrica del tejido pueden ser estudiadas.

### 3.5.3 MODELO DE ISQUEMIA

Para modelizar el efecto de la isquemia sobre el comportamiento eléctrico de los cardiomiocitos, se ha considerado ésta como una combinación de sus tres componentes principales (Kodama I et al, 1984): la hiperkalemia (elevación de la concentración extracelular de potasio), la hipoxia (disminución de la presión parcial de oxígeno) y la acidosis (reducción del pH intra y extracelular).

La hiperkalemia ha sido simulada aumentando la concentración extracelular de potasio ( $[K^+]_o$ ) en el modelo. Para simular la hipoxia, se ha reducido la concentración intracelular de ATP ( $[ATP]_i$ ) y se ha aumentado la concentración intracelular de ADP ( $[ADP]_i$ ) como consecuencia de la disminución en el aporte de oxígeno. Estos dos parámetros afectan en el modelo a la activación de la corriente  $I_{K(ATP)}$  (ver ecuaciones [8] a [10]). Finalmente, la acidosis se ha simulado mediante su acción sobre las corrientes de entrada de sodio ( $I_{Na}$ ) y de calcio a través de los canales tipo L ( $I_{Ca(L)}$ ), tal como se describe más adelante.

A lo largo del trabajo se han realizado dos tipos de simulaciones, correspondientes a condiciones de normoxia y de 10 minutos de isquemia. En situación de normoxia, el valor adoptado para  $[K^+]_o$  ha sido de 4.5 mmol/L (Coronel R et al, 1992b), mientras que las concentraciones de nucleótidos han sido  $[ATP]_i = 6.8$  mmol/L y  $[ADP]_i = 15$   $\mu$ mol/L (Weiss JN et al, 1992). En el décimo minuto de isquemia, los valores adoptados han sido  $[K^+]_o = 10.5$  mmol/L (Coronel R et al, 1992b),  $[ATP]_i = 4.6$  mmol/L y  $[ADP]_i = 100$   $\mu$ mol/L (Weiss JN et al, 1992). Para simular la acidosis, se han adoptado los datos de Yatani (Yatani A et al, 1993) e Irisawa & Sato (Irisawa H & Sato R, 1994). Según estos autores, la disminución de una unidad de pH (que corresponde a diez minutos de isquemia) reduce la conductividad de los canales de entrada de sodio y los tipo L de calcio en un 25%. Por consiguiente, estas dos corrientes ( $I_{Na}$  e  $I_{Ca(L)}$ ) se han reducido multiplicándolas por sendos factores  $p_{Na}$  y  $p_{Ca}$ , respectivamente, con valores de 1.0 en normoxia y 0.75 en el minuto 10 de isquemia.

### 3.5.4 MODELIZACIÓN DEL TEJIDO CARDÍACO

#### A) GENERALIDADES DEL MODELO

Las células cardíacas (miocitos) se encuentran empaquetadas en haces dispuestos en capas discretas que constituyen el tejido cardíaco. Los miocitos tienen entre 30-100  $\mu\text{m}$  de longitud y entre 10-20  $\mu\text{m}$  de anchura y se encuentran rodeados por tejido conectivo extracelular. En tejido ventricular normal, cada miocito se conecta con una media de 11 miocitos vecinos a través de discos intercalares (Spach MS et al, 1986). En los discos intercalares se encuentran unas cadenas de proteínas hexagonales llamadas "gap junctions" cuya función consiste en permitir la propagación del PA en el miocardio. Los gap junctions constituyen canales intercelulares que proporcionan caminos de baja resistencia para el flujo de iones entre células adyacentes. La distribución espacial y la conductancia de los gap junctions tienen una fuerte influencia sobre la velocidad y la anisotropía de la conducción tanto en el miocardio normal como en el miocardio patológico.

En un tejido cardíaco anisótropo, ignorando la estructura microscópica discreta del tejido, la expresión que rige el comportamiento eléctrico del mismo corresponde a la ecuación del tipo reacción-difusión siguiente (Malmivuo J & Plonsey R, 1995):

$$\frac{1}{S_v} \left( \frac{1}{\rho_x} \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} + \frac{1}{\rho_y} \frac{\partial^2 V_m}{\partial y^2} + \frac{1}{\rho_z} \frac{\partial^2 V_m}{\partial z^2} \right) = C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + \sum I_{ion} + I_{st} \quad (11)$$

donde  $S_v$  es la relación superficie-volumen de un miocito,  $\rho_x$ ,  $\rho_y$  y  $\rho_z$  son las resistividades celulares en los tres ejes del espacio (diferentes entre sí en un tejido anisótropo),  $V_m$  es el potencial de membrana,  $C_m$  es la capacidad específica de membrana,  $I_{ion}$  es la suma de todas las densidades de corriente iónicas descritas por el modelo de Luo-Rudy (ver apartado 3.5.1B), e  $I_{st}$  es la densidad de corriente de estimulación.

Con el fin de evitar un coste computacional elevadísimo que haría inviable la simulación, la estructura irregular del tejido cardíaco ha de regularizarse.

De este modo, los miocitos se simulan como estructuras interconectados tanto longitudinal como transversalmente, manteniendo (eso sí) el carácter anisótropo del tejido. Además, el tejido simulado es representado como una estructura unidimensional (fibra) o bidimensional con el fin de reducir más aún el coste computacional. Las simulaciones unidimensionales son apropiadas y suficientes para realizar estudios sobre las propiedades del potencial de acción (como, por ejemplo, la duración del mismo o del período refractario) y de la propagación (por ejemplo, la velocidad de conducción). Por otro lado, las estructuras bidimensionales son necesarias para simular y estudiar las reentradas. Hoy en día, sólo pueden realizarse simulaciones tridimensionales utilizando estaciones de trabajo muy potentes (supercomputadores).

## B) EL MODELO UNIDIMENSIONAL

Con el fin de estudiar el efecto del fármaco pinacidil sobre la duración del potencial de acción, la velocidad de conducción y la duración del período refractario, se ha simulado la actividad de una fibra cardíaca unidimensional formada por 200 miocitos cilíndricos de 100  $\mu\text{m}$  de longitud y 11  $\mu\text{m}$  de diámetro. La longitud de la fibra simulada ha sido por tanto de 2 cm. La ecuación que rige la actividad de tal tejido es una adaptación unidimensional de la expresión (11):

$$\frac{1}{S_v \rho_x} \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} = C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + \sum I_{ion} + I_{st} \quad (12)$$

La resistividad celular ( $\rho_x$ ), que incluye a los *gap-junctions* intercelulares, se fijó en 250  $\Omega \cdot \text{cm}$ , valor para el cual se ha obtenido una velocidad de conducción de aproximadamente 48 cm/s, muy cercana a la velocidad longitudinal obtenida experimentalmente (Leon L et al, 1994b). Para la relación superficie-volumen de un miocito ( $S_v$ ) se ha adoptado un valor de 0.3  $\mu\text{m}^{-1}$  (Luo CH & Rudy Y, 1994), y la capacidad específica de la membrana se fijó en 1  $\mu\text{F}/\text{cm}^2$  (Malmivuo J & Plonsey R, 1995). El conjunto de corrientes iónicas adoptado ha sido el correspondiente al modelo LR2000 (Faber GM & Rudy Y, 2000) junto con la corriente K(ATP) afectada por el pinacidil (ver apartado 3.5.2).

La ecuación (12) se ha resuelto usando el método de diferencias finitas. La ecuación resultante de la difusión se ha resuelto usando un esquema implícito “alternating-direction”, mientras para la resolución de la ecuación de reacción se ha utilizado un método de Euler explícito. Se ha escogido un paso de tiempo de  $10\mu\text{s}$  para satisfacer el criterio de estabilidad de von Neumann. Las condiciones de contorno han correspondido a flujo nulo a través de los extremos del tejido.

### C) EL MODELO BIDIMENSIONAL

Para simular el efecto del pinacidil sobre la probabilidad de aparición de reentradas, se ha simulado la actividad de un tejido anisótropo de  $5.5 \times 5.5 \text{ cm}$  de tamaño. La ecuación que rige el comportamiento eléctrico del tejido es, de nuevo, una adaptación de la expresión (11); en este caso, tendremos:

$$\frac{1}{S_v} \left( \frac{1}{\rho_x} \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} + \frac{1}{\rho_y} \frac{\partial^2 V_m}{\partial y^2} \right) = C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + \sum I_{ion} + I_{st} \quad (13)$$

Las condiciones de contorno han correspondido a flujo nulo a través de las fronteras del tejido. Para propósitos computacionales, el tejido se ha discretizado en elementos de  $100 \times 100\mu\text{m}$ . En cuanto a las resistividades celulares, se han escogido valores apropiados para obtener una VC longitudinal  $50 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  (bajo condiciones normales) con una razón anisótropa de velocidad de 4:1 (Leon L et al, 1994b). El conjunto de corrientes iónicas adoptado y el método de resolución del sistema de ecuaciones diferenciales han sido los mismos descritos para el caso de simulaciones unidimensionales.

Al simular condiciones de normoxia, se han asignado a los parámetros del modelo LR-2000 sus valores normales. Para simular isquemia regional (del tipo de la que se produce al ocluir una arteria coronaria), se han definido en el tejido diferentes zonas correspondientes a partes del tejido afectadas por la isquemia en diferentes grados.

La figura 3.17 muestra un esquema de la estructura electrofisiológica del tejido simulado, en el que han sido representadas las diferentes zonas mencio-



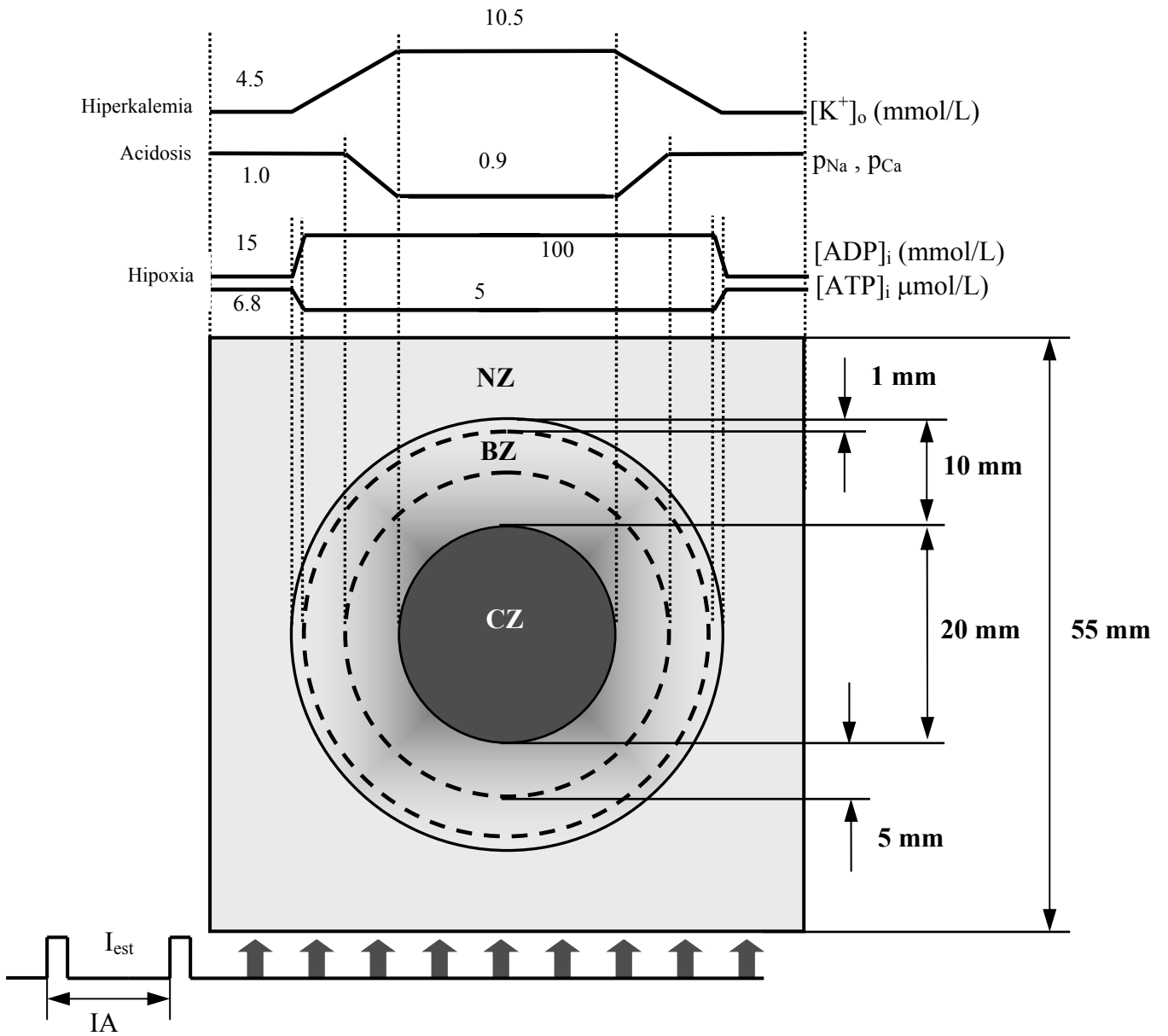
nadas. Los tamaños de estas zonas, así como los valores de los parámetros relevantes pertenecientes al tejido afectado por la isquemia y sus gradientes, se han tomado de datos experimentales reflejados en la literatura científica y revisados por Coronel R (Coronel R, 1996a). De acuerdo con los estudios experimentales, se ha modelizado una zona isquémica central (CZ) de forma circular formada por las células afectadas directamente por la falta de flujo de sangre. La CZ está rodeada por una zona contigua en forma de anillo (zona de borde, BZ), en la cual los valores de los parámetros relevantes afectados por la isquemia sufren una variación espacial como la mostrada en la parte superior de la figura. Por último, el tejido normal (que constituye la zona normal, NZ) rodea el anillo de BZ.

En la CZ, los valores de los parámetros relevantes han adoptado valores típicos de 5 minutos de isquemia (Coronel R et al, 1992b; Weis JN et al, 1992; Yatani A et al, 1993). En el interior de la BZ, los parámetros han sufrido variaciones lineales adaptando su valor paulatinamente desde sus valores normales hasta los isquémicos. La anchura de las zonas de borde hipóxico, hiperkalémico y acidótico (1 mm, 1 cm y 5 mm, respectivamente) se ha elegido de acuerdo con resultados experimentales (Coronel, 1996a y Coronel, 1996b). Igualmente, la situación de estas zonas de borde dentro de la BZ se ha realizado siguiendo los datos de Coronel. Todo ello se refleja esquemáticamente en la figura 3.17.

### 3.5.5 PROTOCOLOS DE SIMULACIÓN

#### A) SIMULACIONES UNIDIMENSIONALES: VALIDACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL MODELO DE PINACIDIL

En una primera serie de simulaciones y con el fin de validar el modelo de pinacidil adoptado, se ha estudiado el efecto de diferentes dosis de pinacidil sobre las propiedades electrofisiológicas del tejido cardíaco, tanto en condiciones de normoxia como en condiciones de isquemia (minuto 10). Se ha utilizado para ello el modelo unidimensional descrito anteriormente. En las simulaciones conducentes a medir el efecto del fármaco sobre la duración del potencial de



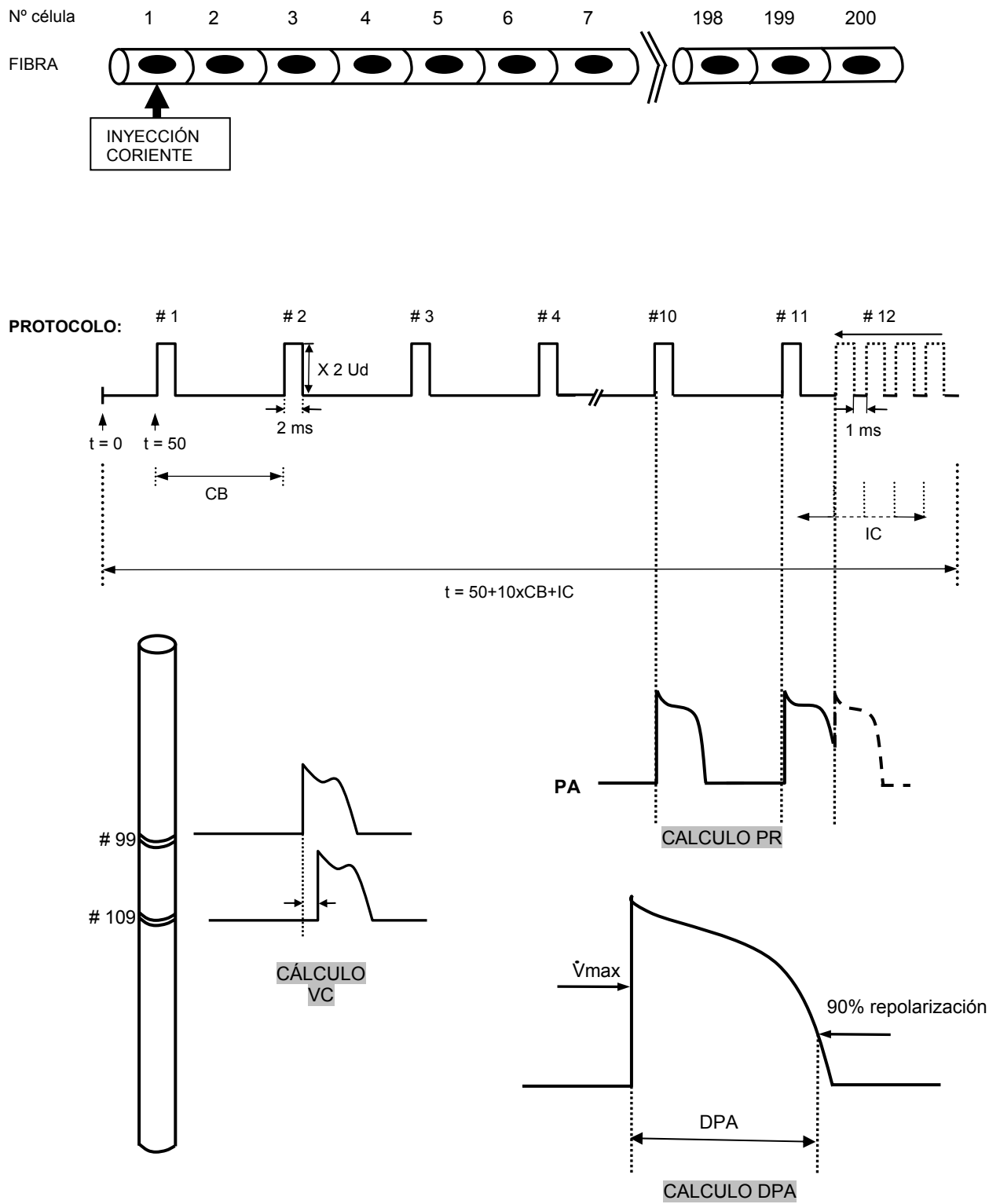
**Figura 3.17** Esquema de un tejido cardíaco virtual bidimensional y los valores de los parámetros relevantes en isquemia. Una zona circular central isquémica (CZ), una zona de borde isquémica (BZ) y una zona normal (NZ) son consideradas en el modelo. Las gráficas superiores muestran las variaciones espaciales de  $[K^+]_o$ ,  $p_{Na}$ ,  $p_{Ca}$ ,  $[ATP]_i$  and  $[ADP]_i$  a lo largo de cada zona (ver el texto para más detalles)

acción (DPA) y la velocidad de conducción (VC), el protocolo de estimulación ha consistido en la inyección de un tren de pulsos de corriente de 2 ms de duración y amplitud doble a la del umbral diastólico en la primera célula de la fibra (célula nº 0). El inicio de la estimulación se ha fijado a los 50 ms del inicio de la simulación con el objetivo de que los parámetros matemáticos del modelo llegaran a estabilizarse. Los registros y medidas del PA y de las corrientes iónicas de interés se han realizado en la célula nº 99 de la fibra y la VC se ha determinado analizando los tiempos de activación entre el momento de máxima pendiente de la fase 0 del PA entre la célula nº 99 y la nº 109 (separadas por 1 mm). Se ha considerado la DPA como el tiempo transcurrido entre el momento de máxima pendiente de la fase 0 del PA y aquel en el que la célula había completado el 90% de su repolarización. Estas medidas se han realizado en los PA correspondientes al décimo estímulo del tren básico tras estimular con dos longitudes distintas de ciclo básico (250 y 400 ms respectivamente), en condiciones basales y de isquemia (10 minutos), así como en presencia de concentraciones de pinacidil de 0, 5, 10, 50 y 200  $\mu\text{mol/L}$ .

Con el fin de estudiar el efecto del pinacidil sobre el período refractario (PR), ha realizado el test de extraestímulo acoplado un extraestímulo ( $S_1$ ) al tren básico de estimulación ( $S_0$ - $S_0$ ) compuesto por 11 estímulos.  $S_1$  se ha aplicado con decrementos progresivos (1 ms) del intervalo de acoplamiento al tren base de estimulación. El test se ha realizado en las mismas condiciones basales y de isquemia y con las mismas dosis de pinacidil descritas en el párrafo anterior.

Los protocolos utilizados se resumen en la figura 3.18.

Por último, se han realizado algunas simulaciones en los que se ha estudiado el efecto de dos dosis de pinacidil (0 y 10  $\mu\text{mol/L}$ ) sobre el PR en condiciones correspondientes al minuto 5 de isquemia. Las condiciones metabólicas en este instante se han elegido de acuerdo con resultados experimentales publicados en la literatura científica (Coronel R et al, 1992b; Weiss JN et al, 1992; Yatani A et al, 1993), adoptándose los siguientes valores: fueron  $[\text{K}^+]_o = 10.5 \text{ mmol/L}$ ,  $[\text{ATP}]_i = 5.0 \text{ mmol/L}$   $[\text{ADP}]_i = 100 \mu\text{mol/L}$ , y  $p_{\text{Na}} = p_{\text{Ca}} = 0.9$ .



**Figura 3.18:** Protocolo de simulación y cálculo de la VC, de la DPA y del PR. En la parte superior se muestra un esquema de la preparación simulada. En el centro de la figura se esquematiza el protocolo utilizado. # impulso, IC: intervalo de acoplamiento,  $U_d$ : umbral diastólico, t: tiempo,  $\dot{V}_{max}$ : máxima pendiente de subida de la fase 0 del PA.

## B) SIMULACIONES BIDIMENSIONALES: EFECTO DEL PINACIDIL SOBRE LA PROBABILIDAD DE REENTRADAS

En una segunda serie de simulaciones, se ha estudiado el efecto del pinacidil sobre la probabilidad de aparición de reentradas en tejido sometido a condiciones de isquemia regional (décimo minuto). Para ello se ha utilizado el tejido bidimensional descrito en el apartado 3.5.4(C) (ver figura 3.17) y se ha cuantificado la anchura de la ventana vulnerable (VV), definida como el rango de intervalos de acoplamiento para los cuales un extraestímulo es capaz de generar una reentrada en el tejido. La VV así definida es una medida indirecta de la probabilidad de arritmias por reentrada (Rudy Y & Quan WL, 1987). Para ello, se han realizado simulaciones con distintas dosis del fármaco (0, 1, 3, 5, 7, 10, 20, 50 y 100  $\mu\text{mol/L}$ ), consistiendo el protocolo de estimulación en la inyección de un estímulo  $S_0$  de 2 ms de duración y amplitud doble del umbral diastólico a los 150 ms de iniciada la simulación, seguido de un extraestímulo  $S_1$  aplicado a diferentes intervalos de acoplamiento. Los dos estímulos se han administrado en la frontera inferior del tejido (ver figura 3.17) de modo que han creado un frente de onda de propagación plano (sólo curvado al invadir la zona isquémica) que ha avanzado en sentido longitudinal.

La distribución de valores de PR en el seno del tejido bidimensional se ha estimado siguiendo la técnica descrita por Ferrero JM (Jr) et al (Ferrero JM (Jr) et al, 1999), que se basa en tomar como indicador del final del PR el cruce por 0.1 del producto  $h*j$  de las compuertas de inactivación rápida (h) y lenta (j) del canal de entrada de  $\text{Na}^+$ .

## IV. RESULTADOS

### 4.1 EFFECTOS DE LA FLECAINIDA

Se han medido las velocidades longitudinal y transversal de conducción ventricular antes y después de la perfusión de flecainida. Los registros correspondientes al segundo extraestímulo  $S_2$  del sexto caso, han sido invalidados debido a dificultades técnicas en su registro.

Los resultados los vemos reflejados en las tablas 4.1 y 4.2.

Las velocidades medias de conducción ventricular registradas antes de la perfusión de flecainida han sido las siguientes: la VL y VT para el último estímulo del tren base  $S_0$  han sido de  $70.18 \pm 13.47$  cm/s y  $28.64 \pm 8.52$  cm/s respectivamente; para  $S_1$  han sido de  $68.36 \pm 12.58$  cm/s y de  $28.64 \pm 11.77$  cm/s respectivamente; y para  $S_2$ ,  $60.30 \pm 14.22$  cm/s y  $26.90 \pm 10.26$  cm/s respectivamente.

TABLA 4.1: VELOCIDADES BASALES DE CONDUCCION.

CASO N° →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
VL <sub>0</sub>	62	71	83	55	71	80	100	62	62	55	71
VT <sub>0</sub>	23	19	33	45	41	23	35	23	25	23	25
VL <sub>1</sub>	71	55	71	55	71	66	71	55	66	100	71
VT <sub>1</sub>	23	17	26	50	31	14	31	21	26	50	26
VL <sub>2</sub>	71	63	41	55	83	-	71	38	55	71	55
VT <sub>2</sub>	21	17	23	41	41	-	25	16	26	41	18

**Tabla 4.1:** valores de las velocidades de conducción longitudinales (VL) y transversales (VT) medidas para el tren base (0) y los dos extraestímulos (1,2) y expresadas en cm/s, para los 11 casos en situación BASAL.

TABLA 4.2: VELOCIDADES DE CONDUCCION TRAS FLECAINIDA.

CASO N° →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
VL <sub>0</sub>	55	62	45	44	50	42	62	55	55	50	45
VT <sub>0</sub>	13	15	17	15	19	12	18	20	23	16	16
VL <sub>1</sub>	55	45	41	44	42	41	45	33	45	50	45
VT <sub>1</sub>	20	14	15	18	12	13	15	16	20	17	18
VL <sub>2</sub>	50	45	38	33	40	-	45	18	41	41	41
VT <sub>2</sub>	16	14	15	14	30	-	16	11	19	17	13

**Tabla 4.2:** valores de las velocidades de conducción longitudinales (VL) y transversales (VT) medidas para el tren base (0) y los dos extraestímulos (1,2), expresadas en cm/s para los 11 casos tras la administración de FLECAINIDA.

Igualmente se han calculado las velocidades medias de conducción ventricular después de la administración de flecainida que han sido las siguientes: la VL y VT para el último estímulo del tren base  $S_0$  han sido de  $51.36 \pm 7.02$  cm/s y  $16.73 \pm 3.17$  cm/s respectivamente; para  $S_1$  han sido de  $44.18 \pm 5.51$  cm/s y de  $16.18 \pm 2.68$  respectivamente; y para  $S_2$ ,  $39.20 \pm 8.72$  cm/s y  $16.60 \pm 5.19$  cm/s respectivamente.

Todos estos datos los vemos resumidos en la tabla 4.3.

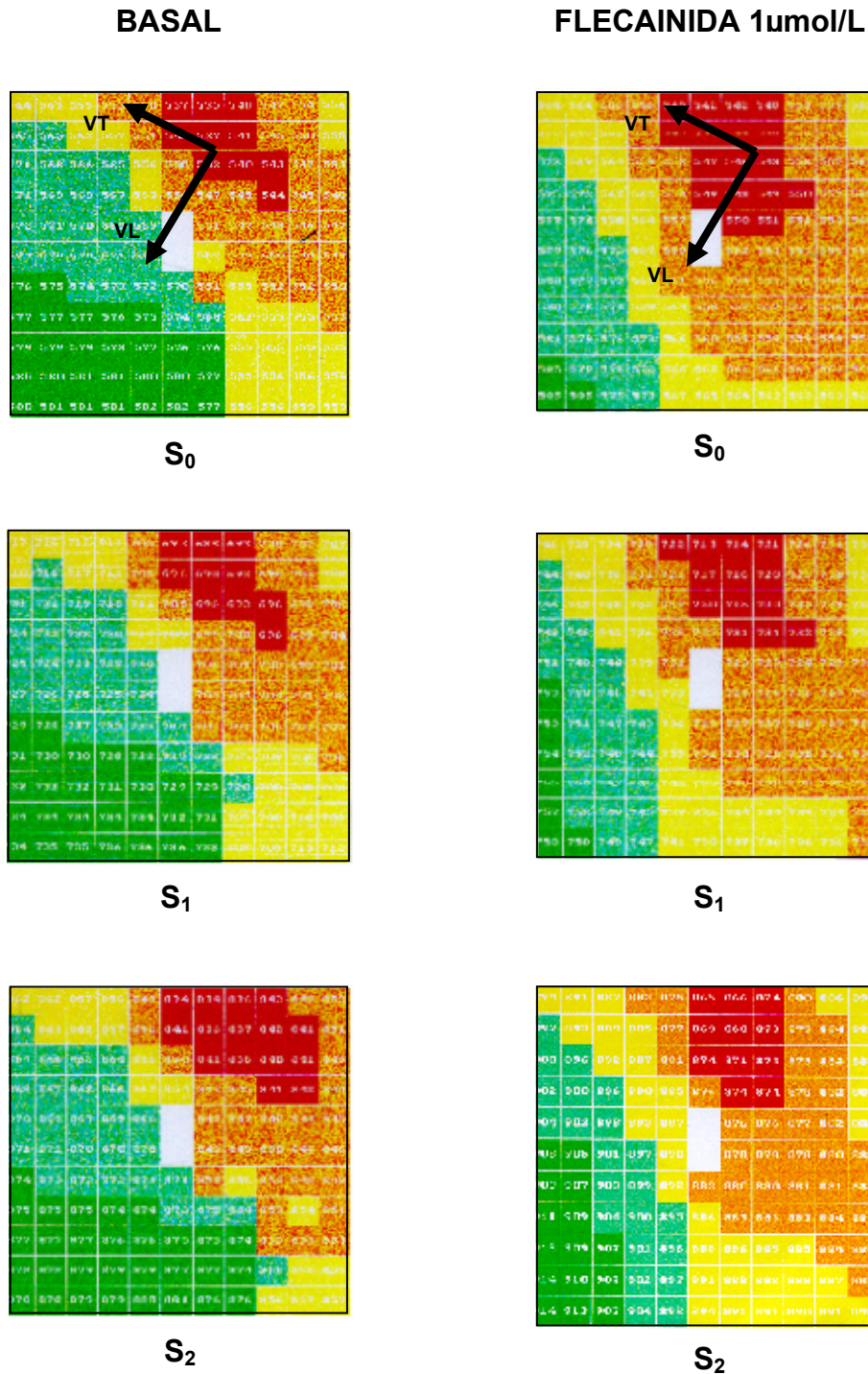
**TABLA 4.3: VL Y VT MEDIAS EN CONDICIONES BASALES Y TRAS FLECAINIDA.**

	$S_0$	$S_1$	$S_2$
<b>VLB (cm/s)</b>	$70.18 \pm 13.47$	$68.36 \pm 12.58$	$60.30 \pm 14.22$
<b>VTB (cm/s)</b>	$28.64 \pm 8.52$	$28.64 \pm 11.77$	$26.90 \pm 10.26$
<b>VLF (cm/s)</b>	$51.36 \pm 7.02$	$44.18 \pm 5.51$	$39.20 \pm 8.72$
<b>VTF (cm/s)</b>	$16.73 \pm 3.17$	$16.18 \pm 2.68$	$16.60 \pm 5.19$

**Tabla 4.3:** velocidades medias de conducción en situación BASAL: longitudinal (VLB) y transversal (VTB), y POST FLECAINIDA: longitudinal (VLF) y transversal (VTF); para el último estímulo del ciclo básico ( $S_0$ ) y los extraestímulos  $S_1$  y  $S_2$ .

En la figura 4.1, podemos observar los mapas codificados en color de la activación epicárdica antes y después de la flecainida para cada uno de los acoplamientos ( $S_0$ - $S_0$ ,  $S_0$ - $S_1$  y  $S_1$ - $S_2$ ) de uno de los casos, con las isócronas representadas en colores, donde puede observarse la reducción ejercida por la flecainida sobre ambas velocidades de conducción.





**Figura 4.1:** mapas de activación epicárdica correspondientes a cada uno de los estímulos ( $S_0$ ,  $S_1$  y  $S_2$ ) en situación basal (a la izquierda) y tras perfusión de flecaïnida a una concentración de 1  $\mu$ mol/L (a la derecha). En los 2 primeros mapas se ha marcado el sentido de propagación longitudinal (VL) y transversal (VT). Obsérvese la reducción de las velocidades de conducción tras la flecaïnida. Los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo se han codificado en color de más precoz a más tardío según la siguiente secuencia: rojo, naranja, amarillo, verde claro y verde oscuro.

#### 4.1.1 EFECTOS DE LA FLECAINIDA SOBRE LAS VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN VENTRICULAR

Se han comparado las VC ventriculares, antes y después de la perfusión de flecainida y, tanto en la VL como en la VT, se ha observado una reducción significativa de las mismas (con un grado de significación  $p \leq 0.05$ ).

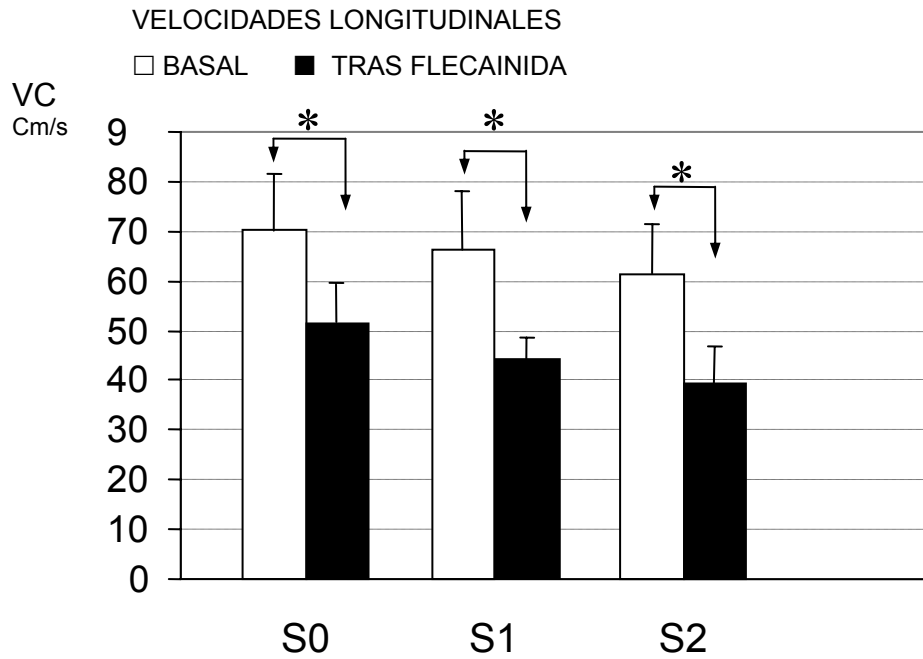
La VL para el estímulo  $S_0$  ha pasado de  $70.18 \pm 13.47$  cm/s a  $51.36 \pm 7.02$  cm/s, y la VT, de  $28.64 \pm 8.52$  a  $16.73 \pm 3.17$  cm/s, lo que supone un porcentaje de acortamiento del  $24.84 \pm 4.53$  % y del  $37.77 \pm 5.45$ % respectivamente.

Como podemos ver de forma resumida en las tablas 4.4 y 4.5, y en las gráficas 4.1 y 4.2, se han producido igualmente reducciones significativas en las velocidades de conducción longitudinal y transversal para los estímulos  $S_1$  y  $S_2$ .

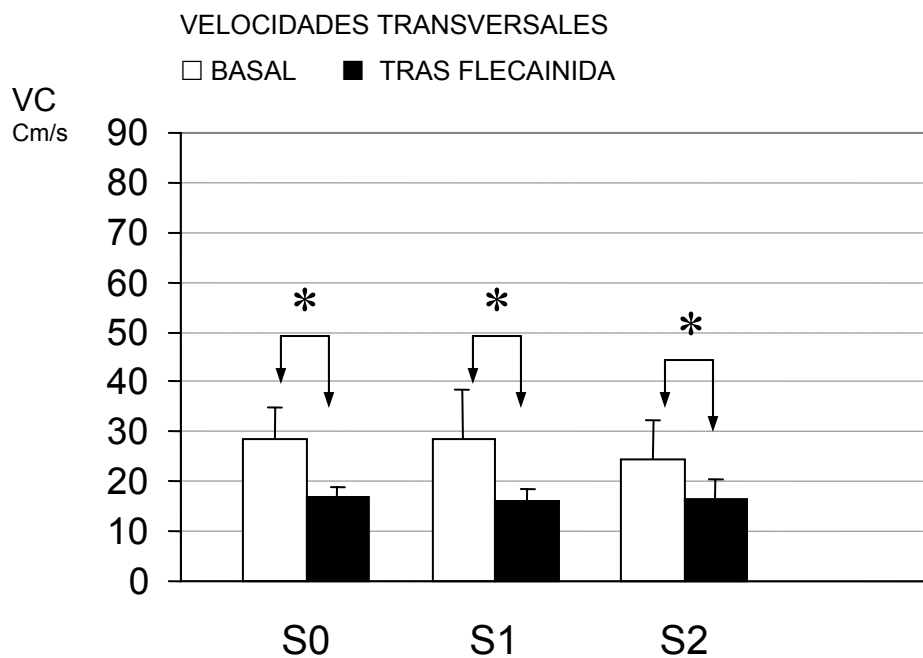
**TABLA 4.4: VC BASALES Y SU ACORTAMIENTO TRAS PERFUSION DE FLECAINIDA.**

	$S_0$	$S_1$	$S_2$
VLB (cm/s)	$70.18 \pm 13.47$	$68.36 \pm 12.58$	$60.30 \pm 14.22$
VLF (cm/s)	$51.36 \pm 7.02$	$44.18 \pm 5.51$	$39.20 \pm 8.72$
PAL (%)	<b><math>24.84 \pm 4.53</math></b>	<b><math>34.29 \pm 3.04</math></b>	<b><math>34.02 \pm 4.32</math></b>
VTB (cm/s)	$28.64 \pm 8.52$	$28.64 \pm 11.77$	$26.90 \pm 10.26$
VTF (cm/s)	$16.73 \pm 3.17$	$16.18 \pm 2.68$	$16.60 \pm 5.19$
PAT (%)	<b><math>37.77 \pm 5.45</math></b>	<b><math>36.47 \pm 6.49</math></b>	<b><math>34.99 \pm 4.86</math></b>

**Tabla 4.4:** velocidades de conducción longitudinal y transversal antes y después de la flecainida, así como los porcentaje de acortamiento longitudinal y transversal (PAL y PAT respectivamente).  $P \leq 0.05$ .



**Gráfica 4.1:** Comparación entre las VL medias, en situación basal y tras la perfusión de flecainida. VC: velocidad de conducción. \*  $p \leq 0.05$ .



**Gráfica 4.2:** Comparación entre las VT medias, en situación basal y tras la perfusión de flecainida. VC: velocidad de conducción. \*  $p \leq 0.05$ .

**TABLA 4.5: GRADOS DE SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA DE ACORTAMIENTO DE VELOCIDADES, BASAL VERSUS FLECAINIDA.**

	(VLBvsVLF) $S_0$	(VLBvsVLF) $S_1$	(VLBvsVLF) $S_2$
SIGNIFICACION	$p = 0.003$	$p = 0.003$	$p = 0.005$
	(VTBvsVTF) $S_0$	(VTBvsVTF) $S_1$	(VTBvsVTF) $S_2$
SIGNIFICACION	$p = 0.003$	$p = 0.003$	$p = 0.005$

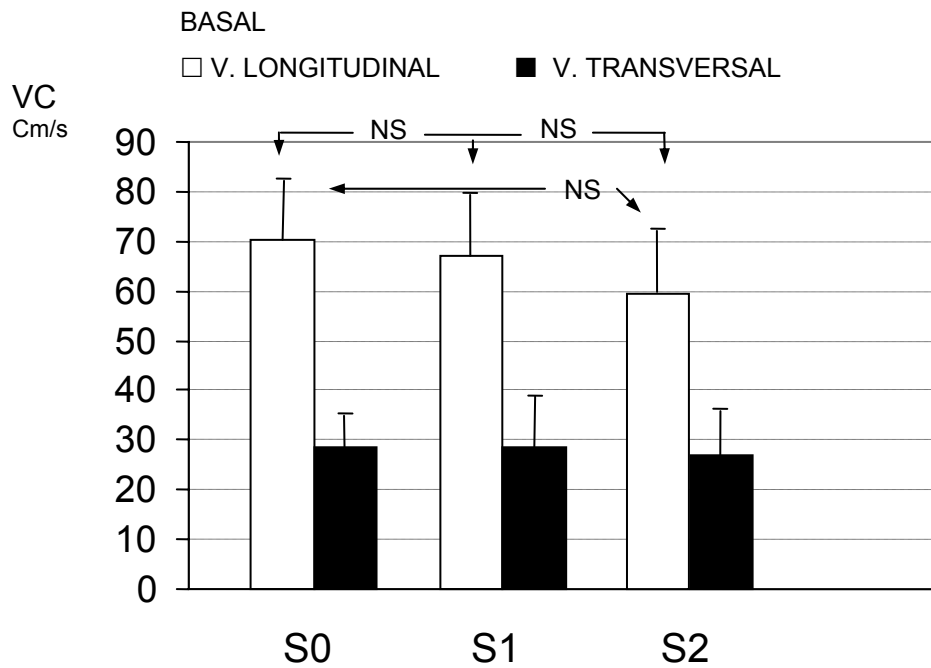
**Tabla 4.5:** grados de significación estadística para los acortamientos longitudinales y transversales en situación basal (VLB y VTB respectivamente) versus los acortamientos longitudinales y transversales post flecainida (VLF y VTF respectivamente) para los estímulos  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ .

#### 4.1.2 EFECTOS DE LA FLECAINIDA SOBRE LAS VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN VENTRICULAR EN FUNCIÓN DEL INTERVALO DE ACOPLAMIENTO.

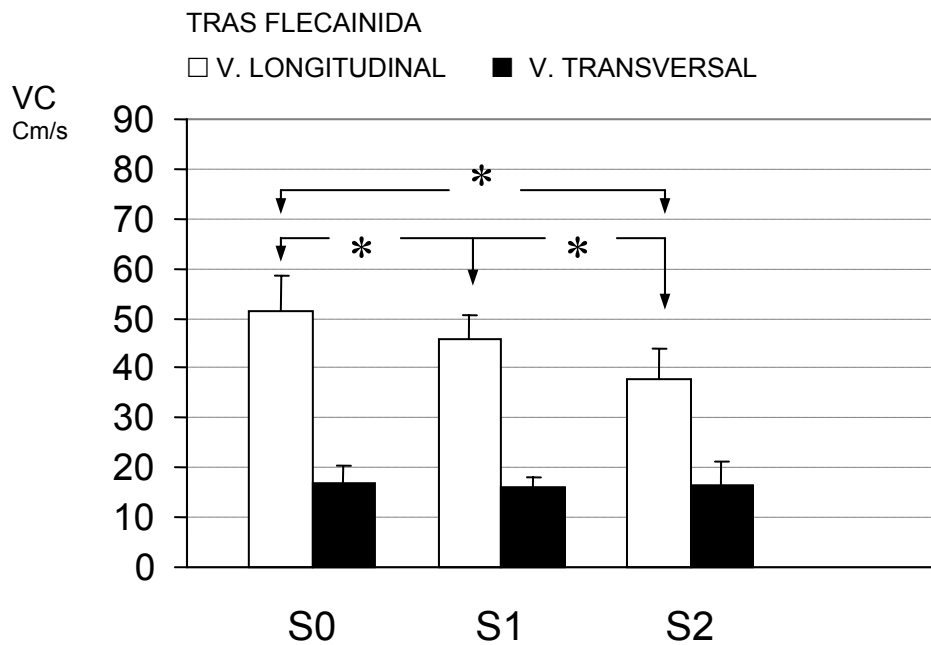
Para estudiar cómo varían las VC con intervalos de acoplamiento decrecientes, y saber si existen o no diferencias entre unas y otras antes y tras la administración de flecainida, se han comparado las VC de los estímulos  $S_0$ ,  $S_1$  y  $S_2$  entre sí antes de la flecainida tanto para las VL como para las VT. A continuación se ha realizado la misma operación para las velocidades obtenidas tras la administración de flecainida.

En las gráficas 4.3 y 4.4, están representadas las comparaciones entre las VL y las VT en situación basal y tras flecainida.

GRÁFICA 4.3



GRÁFICA 4.4



**Gráficas 4.3 y 4.4:** se representan las variaciones de las velocidades de conducción longitudinales y transversales en función de los distintos acoplamientos para los estímulos  $S_0$ ,  $S_1$  y  $S_2$  en situación basal (arriba) y tras flecainida (debajo). Bajo los efectos del fármaco, la reducción de la velocidad longitudinal es significativamente mayor cuanto menor es el intervalo de acoplamiento. VC: velocidad de conducción. \* $P \leq 0.05$ . NS: no significativo.

Como podemos observar, conforme avanzamos de  $S_0$  a  $S_1$  y de  $S_1$  a  $S_2$ ; o lo que es lo mismo, a intervalos de acoplamientos decrecientes, existiría en situación basal una tendencia clara de las VL a reducirse progresivamente; fenómeno que no se observa en las VT. Sin embargo estas diferencias en situación basal, no han sido estadísticamente significativas. Si observamos a continuación las VC post flecainida, la tendencia de las VL a disminuir con intervalos de acoplamientos decrecientes, es más marcada que en situación basal y además, las diferencias son estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ). Sin embargo, no ocurre lo mismo en el caso de las VT que, al igual que en situación basal, tienden a permanecer constantes. En la tabla 4.6 se muestran los grados de significación correspondientes.

**TABLA 4.6: GRADOS DE SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA DE ACORTAMIENTO DE VELOCIDADES TRAS FLECAINIDA.**

	<b>VLF<sub>0</sub> vs VLF<sub>1</sub></b>	<b>VLF<sub>1</sub> vs VLF<sub>2</sub></b>	<b>VLF<sub>0</sub> vs VLF<sub>2</sub></b>
<b>SIGNIFICACION</b>	$p = 0.018$	$p = 0.012$	$p = 0.005$
	<b>VTF<sub>0</sub> vs VTF<sub>1</sub></b>	<b>VTF<sub>1</sub> vs VTF<sub>2</sub></b>	<b>VTF<sub>0</sub> vs VTF<sub>2</sub></b>
<b>SIGNIFICACION</b>	$p = 0.38$	$p = 0.16$	$p = 0.35$

**Tabla 4.6:** se muestran los grados de significación para las comparaciones entre las velocidades longitudinales (VLF) y transversales (VTF) entre sí en el grupo post flecainida para  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ .

Por lo tanto, el intervalo de acoplamiento influye en el acortamiento de la VL inducido por la flecainida, no siendo así en el caso de la VT.

### 4.1.3 EFFECTOS DE LA FLECAINIDA SOBRE LAS VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN LONGITUDINAL VERSUS TRANSVERSAL

A partir de las VC calculadas y, comprobado el decremento de todas ellas tras la perfusión del antiarrítmico, se ha calculado la relación VL/VT para los estímulos  $S_0$ ,  $S_1$  y  $S_2$  antes y después de la administración de flecainida. Los resultados obtenidos están reflejados en la tabla 4.7.

**TABLA 4.7: RELACIÓN VL/VT BASALMENTE Y TRAS FLECAINIDA.**

VL/VT	$S_0$	$S_1$	$S_2$
BASAL	$2.60 \pm 0.6$	$2.60 \pm 0.8$	$2.43 \pm 0.7$
FLECAINIDA	$3.14 \pm 0.61$	$2.77 \pm 0.4$	$2.45 \pm 0.6$

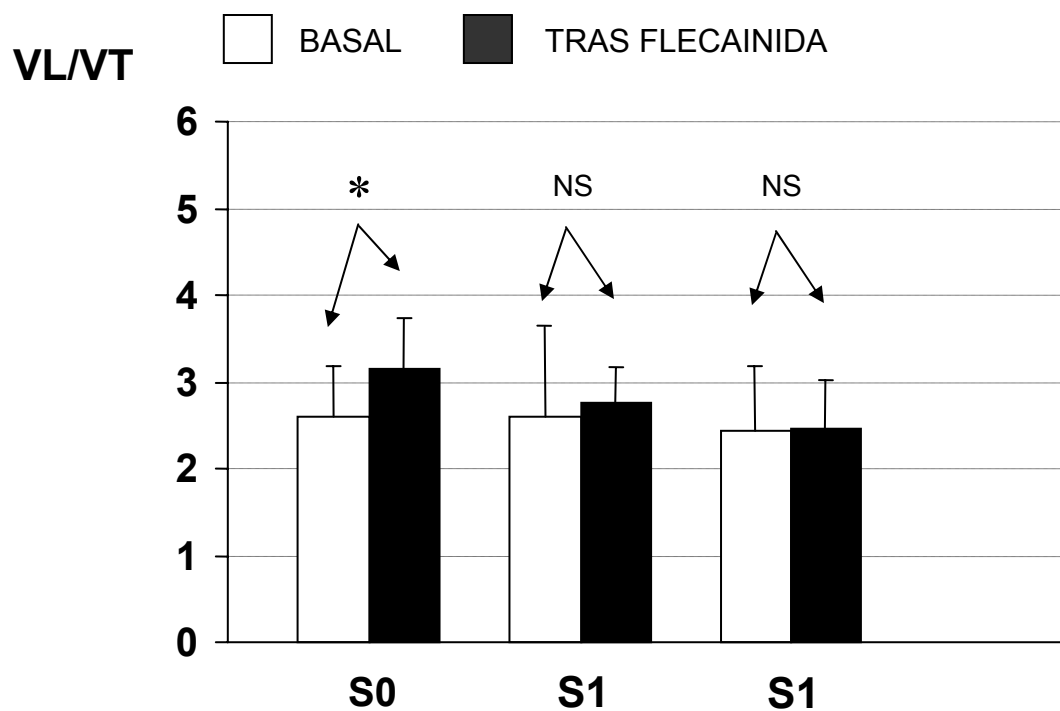
**Tabla 4.7:** se muestra la relación VL/VT para cada estímulo en situación basal y tras flecainida.

La relación VL/VT basal para cada uno de los intervalos de acoplamiento entre estímulos no ha mostrado diferencias significativas. Sin embargo, si comparamos la relación VL/VT antes y después de la flecainida para cada uno de los tres estímulos (gráfica 4.5), encontramos diferencia significativa en el caso de  $S_0$  (tabla 4.8). De esta manera se ha estudiado si la flecainida afecta más a la VL o a la VT así como si este efecto se mantiene con intervalos de acoplamiento diferentes.

TABLA 4.8: GRADOS DE SIGNIFICACIÓN VL/VT PARA  $S_0, S_1$  y  $S_2$ .

VL/VT	GRADO DE SIGNIFICACION
BASAL 0 vs FLECAINIDA 0	$p= 0.01$
BASAL 1 vs FLECAINIDA 1	$p=0.79$
BASAL 2 vs FLECAINIDA 2	$p=0.79$

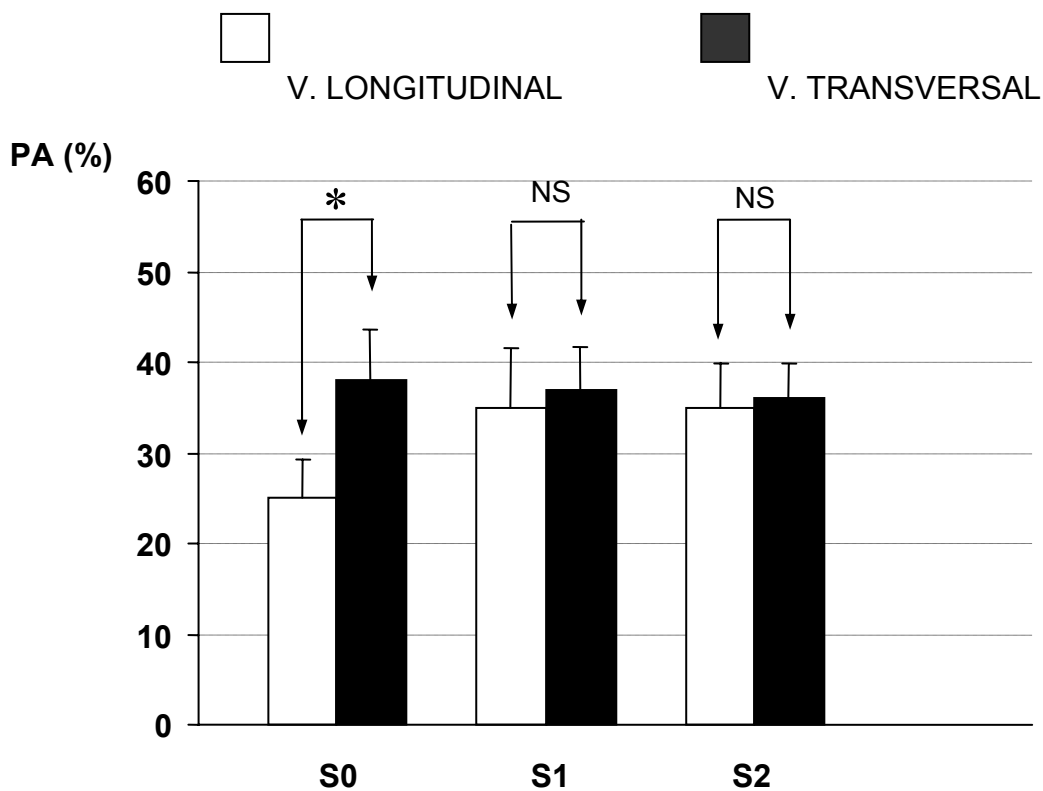
**Tabla 4.8:** grados de significación estadística ( $p$ ) correspondientes a las comparaciones entre la relación VL/VT para los estímulos  $S_0, S_1$  y  $S_2$ .



**Gráfica 4.5:** se compara la relación VL/VT entre situación basal y tras flecaínida para  $S_0, S_1$  y  $S_2$ . VL: velocidad longitudinal, VT: velocidad transversal, NS: no significativo,  $*p \leq 0.05$ .



Como podemos observar la flecainida ha disminuido más la VT que la VL de forma significativa con el mayor intervalo de acoplamiento estudiado (250 ms), mientras que ha ido perdiendo esta capacidad conforme la frecuencia cardíaca ha ido aumentando o los intervalos de acoplamiento han ido disminuyendo. Este mismo efecto se puede comprobar comparando los porcentajes de acortamiento de las distintas velocidades para los tres acoplamientos (gráfica 4.6).



**Gráfica 4.6:** se comparan los porcentajes de acortamiento de las velocidades de conducción tras la administración de flecainida para S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub> y S<sub>2</sub>. PA: porcentaje de acortamiento, NS: no significativo, \* $p \leq 0.05$ .

## **4.2 EFECTOS DEL DOFETILIDE**

### **4.2.1 EFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS VENTRICULARES**

#### **A) EFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN**

Basalmente, las VC longitudinales medias obtenidas para cada uno de los ciclos de estimulación han sido las siguientes:  $97.6 \pm 19.7$  cm/s (ciclo 300 ms),  $98.8 \pm 14$  cm/s (ciclo 250 ms),  $97.1 \pm 16.7$  cm/s (ciclo 200 ms) y  $90.9 \pm 8.6$  cm/s (ciclo 150 ms).

Tras la administración de dofetilide, no se han producido cambios significativos de dichas VC. Estos resultados se ven reflejados en la tabla 4.9.

**TABLA 4.9: VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN BASALES Y TRAS DOFETILIDE.**

	300 ms	250 ms	200 ms	150 ms
BASAL (cm/s)	$97.6 \pm 19.7$	$98.8 \pm 14$	$97.1 \pm 16.7$	$90.9 \pm 8.6$
DOFETILIDE (cm/s)	$98.8 \pm 14$	$92.8 \pm 8.9$	$96.2 \pm 8.2$	$95.7 \pm 9.2$
SIGNIFICACION (p)	NS	NS	NS	NS

**Tabla 4.9:** velocidades de conducción medias (en cm/s) obtenidas para cada uno de los ciclos de estimulación a nivel basal y tras la administración de dofetilide. No existe diferencia estadísticamente significativa entre ambas situaciones (NS).

## B) EFFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LOS PERIODOS REFRACTARIOS

Se han medido los PR ventriculares tanto efectivos como funcionales, en situación basal y tras la perfusión de dofetilide. Los valores medios obtenidos para cada uno de los diferentes ciclos de estimulación se han resumido en la tabla 4.10.

El dofetilide produjo alargamientos significativos en los PRE y en los PRF para todos los ciclos de estimulación. El incremento absoluto en milisegundos se muestra en las gráficas 4.7 y 4.8. Estos incrementos son estadísticamente significativos para cada una de las longitudes de ciclo utilizadas. Sin embargo, comparando el incremento del PR entre los diferentes ciclos, el efecto tiende a disminuir conforme se acortan los ciclos de estimulación, alcanzándose significación estadística únicamente en el caso del PRF con ciclo de estimulación de 150 ms (gráfica 4.8).

Los incrementos del PRE expresado en valores porcentuales para cada uno de los ciclos de estimulación utilizados han sido los siguientes: ciclo 300 ms:  $24 \pm 12\%$ ; ciclo 250 ms:  $25 \pm 16\%$ ; ciclo 200 ms:  $20 \pm 12\%$ ; ciclo 150 ms:  $18 \pm 12\%$ .

En el caso de los PRF, los incrementos han sido los siguientes: ciclo 300 ms:  $23 \pm 10\%$ ; ciclo 250 ms:  $23 \pm 7\%$ ; ciclo 200 ms:  $18 \pm 6\%$ ; ciclo 150 ms:  $14 \pm 5\%$  ( $p < 0.05$  versus ciclo 300 ms).

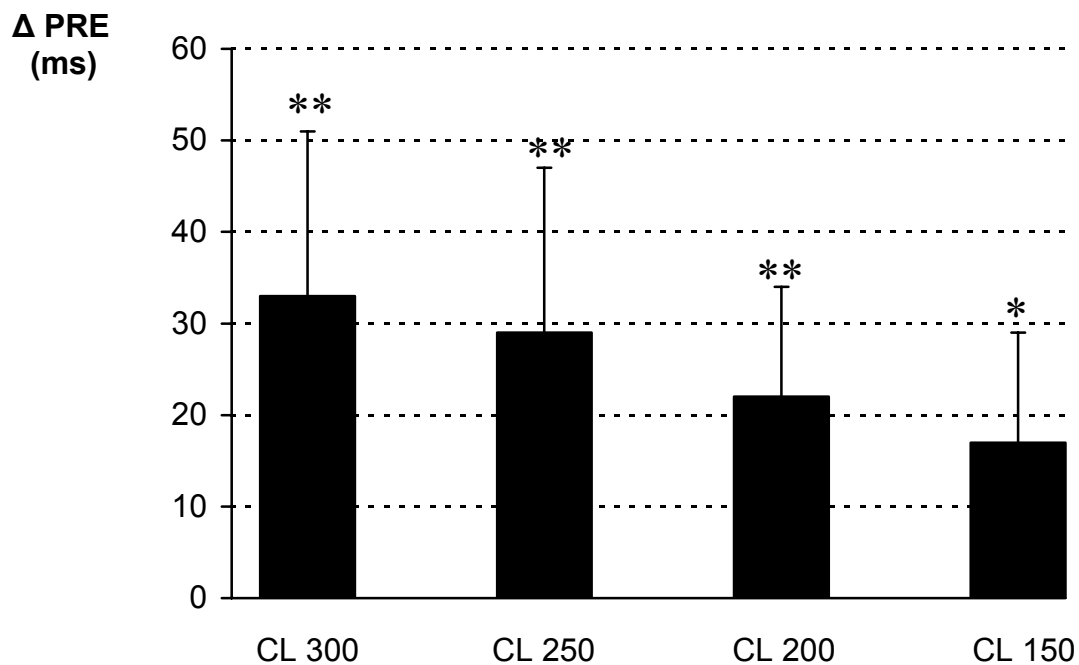
## C) EFFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LA LONGITUD DE ONDA

El dofetilide ha alargado significativamente los PR ventriculares sin modificar de forma significativa las VC. La longitud de onda del proceso de activación ( $\lambda_o$ ), por tanto, ha aumentado para cada uno de los ciclos de estimulación.

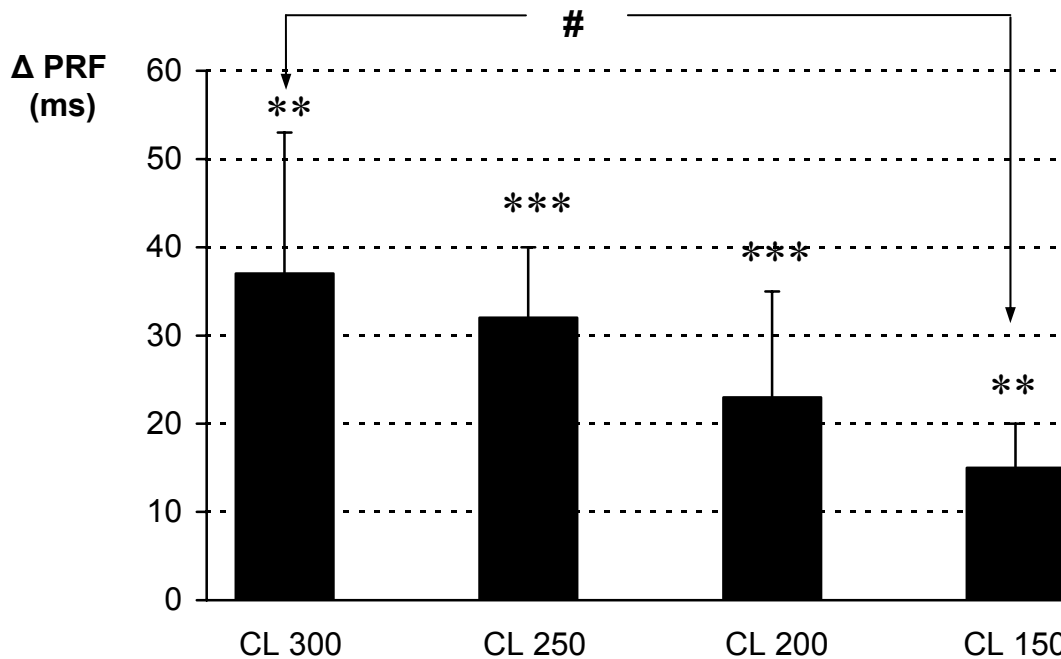
TABLA 4.10: PR BASALES Y TRAS DOFETILIDE.

		300 ms	250 ms	200 ms	150 ms
PRE (ms)	BASAL	140 ± 23	127 ± 32	117 ± 29	102 ± 32
	DOFETILIDE	173 ± 40 **	157 ± 40 **	139 ± 35 **	119 ± 33 *
PRF (ms)	BASAL	157 ± 25	145 ± 33	135 ± 31	111 ± 31
	DOFETILIDE	194 ± 39 **	172 ± 36 ***	158 ± 32 ***	126 ± 32 **

**Tabla 4.10:** Valores de los períodos refractarios efectivos (PRE) y funcionales (PRF) en milisegundos, para cada uno de los ciclos base utilizados, basalmente y tras perfusión de dofetilide. Diferencias entre situación basal y tras dofetilide: \*p < 0.05; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001.



**Gráfica 4.7:** se muestra el incremento absoluto en milisegundos de la media de los PRE producido por el dofetilide para cada ciclo básico de estimulación. \*p < 0.05; \*\*p < 0,01.



**Gráfica 4.8:** se muestra el incremento absoluto en milisegundos de la media de los PRF producido por el dofetilide para cada ciclo básico de estimulación. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ . El efecto tiende a disminuir conforme se acorta la longitud del ciclo de estimulación, alcanzándose significación estadística en el caso del PRF con ciclo de estimulación de 150 ms (#).

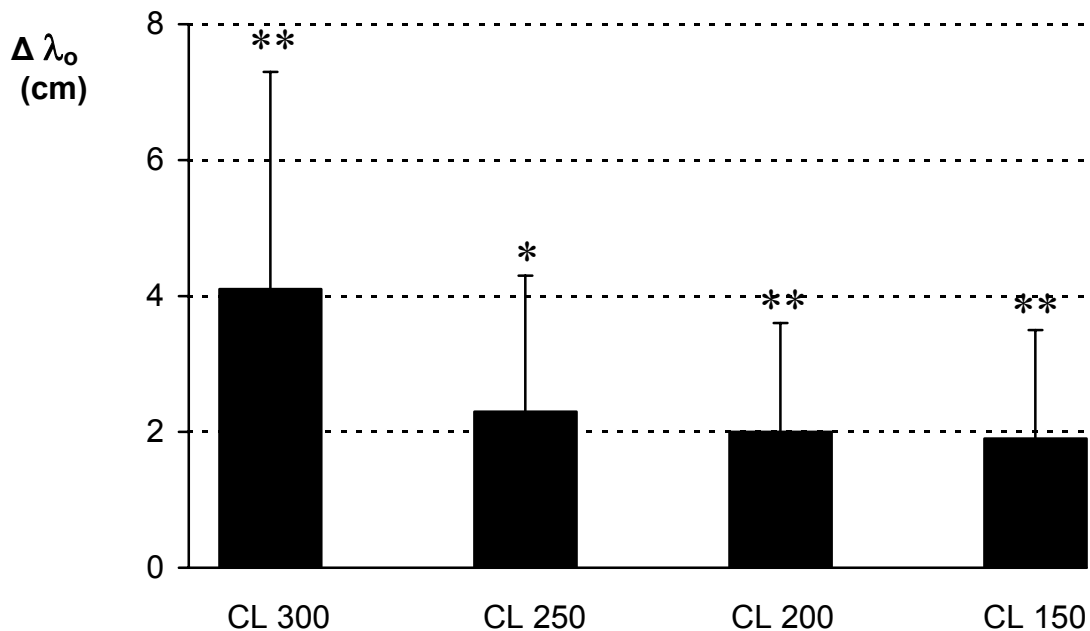
Los valores medios de  $\lambda_o$  basales y tras perfusión de dofetilide se muestran en la tabla 4.11. Los incrementos observados para cada ciclo en valores porcentuales han sido los siguientes: ciclo 300 ms:  $27 \pm 20\%$ ; ciclo 250 ms:  $18 \pm 16\%$ ; ciclo 200 ms:  $15 \pm 7\%$  y ciclo 150 ms:  $17 \pm 10\%$ .

En la gráfica 4.9 se muestra el incremento absoluto de la  $\lambda_o$  en cm.

TABLA 4.11: LONGITUDES DE ONDA BASALES Y TRAS DOFETILIDE.

	300 ms	250 ms	200 ms	150 ms
BASAL (cm)	15.2 ± 3.4	14.2 ± 3.2	13.5 ± 2.5	10.2 ± 3.1
DOFETILIDE (cm)	19.3 ± 5.6	16.6 ± 2.9	15.4 ± 3.4	12.1 ± 2.9
SIGNIFICACION (p)	< 0.01	< 0.05	< 0.01	< 0.01

**Tabla 4.11:** se muestran los valores medios de longitud de onda en cm para cada uno de los ciclos de estimulación, en situación basal y tras perfusión de dofetilide. Existe diferencia estadísticamente significativa para todos los ciclos de estimulación.



**Gráfica 4.9:** se muestra el incremento absoluto en cm de la media de las  $\lambda_0$  producido por el dofetilide para cada ciclo básico de estimulación. \*p< 0.05; \*\*p< 0,01.

## 4.2.2 EFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LOS PATRONES DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR

Durante la perfusión de dofetilide, la FV se ha interrumpido en tres experimentos. En dos de ellos la concentración de dofetilide era 1  $\mu\text{mol/L}$  y en el tercero era 5  $\mu\text{mol/L}$ . En cuatro de los cinco experimentos restantes, la FV no ha cedido durante la realización del protocolo experimental completo. En uno de los experimentos, la FV se ha convertido en una taquicardia uniforme al aplicar la concentración de dofetilide 1  $\mu\text{mol/L}$ .

### A) ANÁLISIS ESPECTRAL DE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR. EFECTOS DEL DOFETILIDE.

Se ha medido la frecuencia dominante (FrD) del proceso de activación durante la fibrilación ventricular en el ventrículo derecho e izquierdo simultáneamente. Las mediciones se han realizado en situación basal y durante la perfusión de dofetilide 1, 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$ . Basalmente la FrD del ventrículo izquierdo fue de  $21.8 \pm 4.5$  Hz y del ventrículo derecho de  $18.1 \pm 4.4$  Hz.

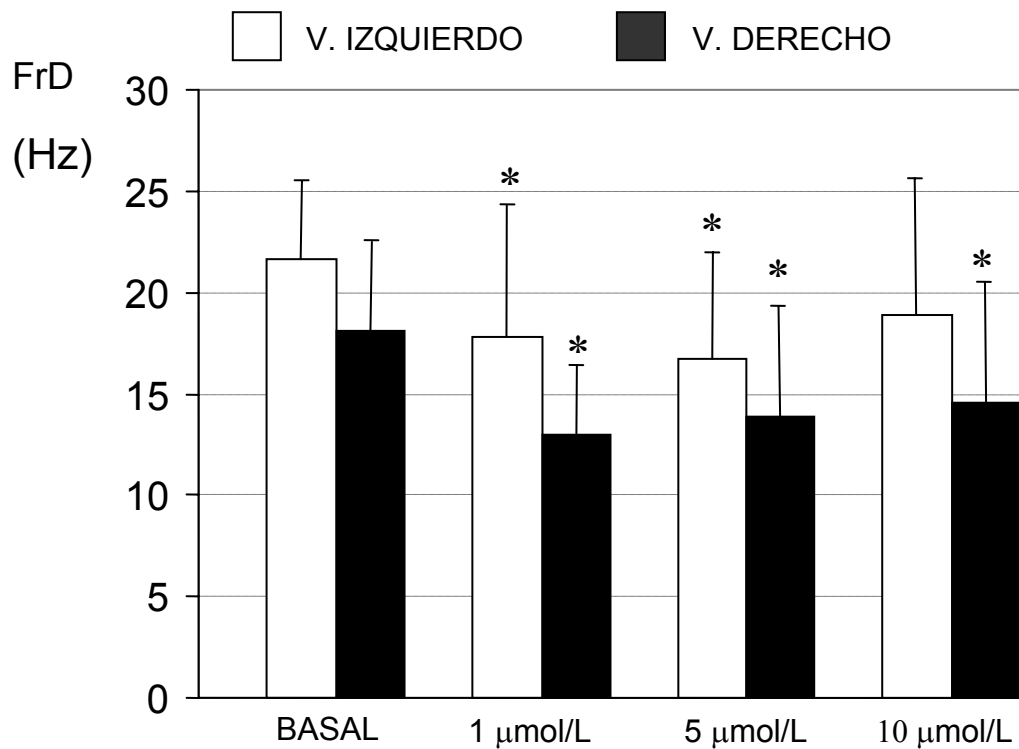
En la tabla 4.12 se muestra el valor de FrD en situación basal y para cada una de las concentraciones del fármaco. Como podemos observar, con respecto a la situación basal, se ha producido una reducción estadísticamente significativa de la FrD en ambos ventrículos para la concentración de 1 y 5  $\mu\text{mol/L}$  de dofetilide, pasando de  $21.8 \pm 4.5$  Hz a  $17.8 \pm 6.1$  Hz y a  $16.4 \pm 7.0$  Hz respectivamente en el ventrículo izquierdo, y de  $18.1 \pm 4.4$  Hz a  $13.5 \pm 3.1$  Hz y a  $13.9 \pm 4.7$  Hz respectivamente en el ventrículo derecho. En el caso de dofetilide 10  $\mu\text{mol/L}$ , las diferencias son significativas únicamente en los registros correspondientes al ventrículo derecho, donde la FrD obtenida ha sido de  $14.6 \pm 6.8$  Hz.

Estos resultados, también los vemos reflejados en la gráfica 4.10.

**TABLA 4.12: FrD EN AMBOS VENTRÍCULOS BASALMENTE Y TRAS PERFUSIÓN DE DOFETILIDE**

	BASAL	1 $\mu\text{mol/L}$	5 $\mu\text{mol/L}$	10 $\mu\text{mol/L}$
FrD V.I (Hz)	21.8 $\pm$ 4.5	17.8 $\pm$ 6.1	16.4 $\pm$ 7.0	19.1 $\pm$ 7.1
FrD V.D (Hz)	18.1 $\pm$ 4.4	13.5 $\pm$ 3.1	13.9 $\pm$ 4.7	14.6 $\pm$ 6.8

**Tabla 4.12:** se muestran los valores medios de la frecuencia dominante expresada en Hz para el ventrículo izquierdo (V.I) y derecho (V.D) en situación basal y durante la perfusión de dofetilide de 1, 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$ .



**Gráfica 4.10:** se muestran los valores medios  $\pm$  DS de la frecuencia dominante (FrD) en Hz durante la fibrilación ventricular en ambos ventrículos, obtenidos basalmente y durante la perfusión de dofetilide a las concentraciones de 1, 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$ . (\*) diferencias significativas con respecto a los valores basales  $p < 0.05$ .



## B) ANÁLISIS EN EL DOMINIO DEL TIEMPO DE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR. EFECTOS DEL DOFETILIDE.

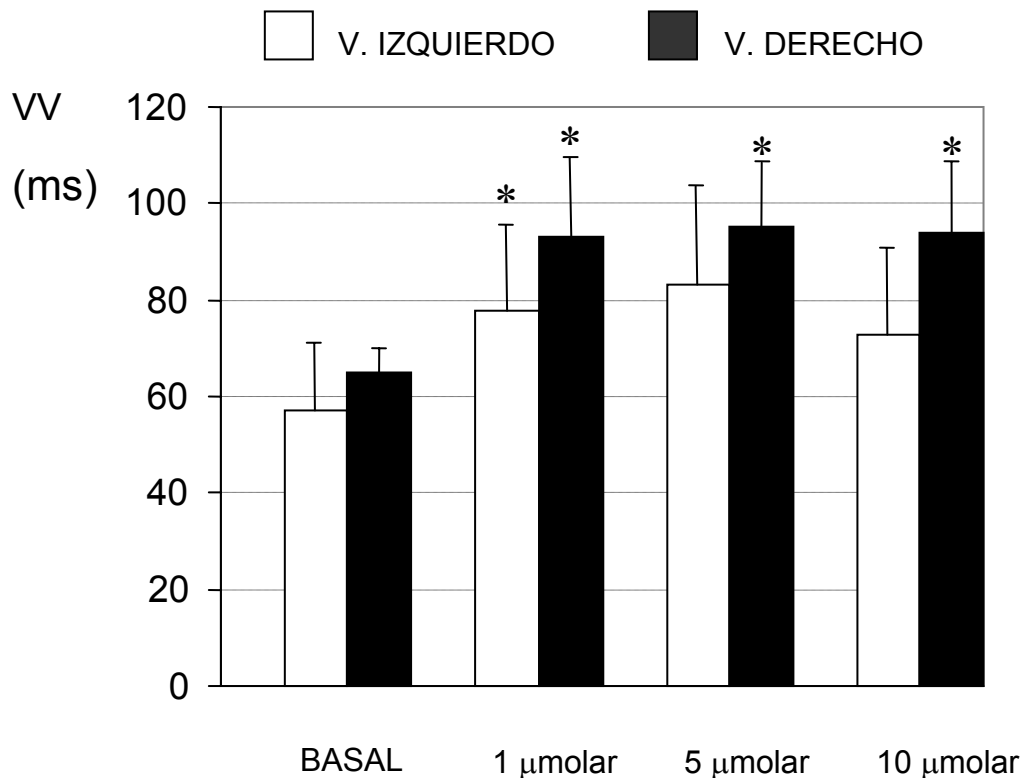
Se han medido los intervalos VV en ambos ventrículos durante la fibrilación ventricular, en situación basal y durante la perfusión de dofetilide 1, 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$ . Los valores medios de dichos intervalos se muestran en la tabla 4.13. Como podemos observar, en el ventrículo izquierdo, los intervalos VV en situación basal son de  $59 \pm 15.1$  ms y pasan a  $79 \pm 18.1$  ms,  $81 \pm 20.0$  ms y a  $73 \pm 19.3$  ms para cada una de las concentraciones del fármaco respectivamente. En el ventrículo derecho, se aprecian unos intervalos VV medios de  $65 \pm 7.2$  ms en situación basal, aumentando a  $93 \pm 18.7$  ms,  $95 \pm 14.8$  ms y a  $94 \pm 18.1$  ms respectivamente durante cada una de las concentraciones de dofetilide.

En la gráfica 4.11 se observa cómo las diferencias son estadísticamente significativas para ambos ventrículos a la concentración de 1  $\mu\text{mol/L}$ . Con concentraciones de 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$ , sin embargo, las diferencias sólo son significativas para el ventrículo derecho.

**TABLA 4.13: INTERVALOS VV DURANTE LA FV BASALMENTE Y TRAS DOFETILDE**

	BASAL	1 $\mu\text{mol/L}$	5 $\mu\text{mol/L}$	10 $\mu\text{mol/L}$
V.I (ms)	$59 \pm 15.1$	$79 \pm 18.1$	$81 \pm 20.0$	$73 \pm 19.3$
V.D (ms)	$65 \pm 7.2$	$93 \pm 18.7$	$95 \pm 14.8$	$94 \pm 18.1$

**Tabla 4.13:** se muestran los valores medios de los intervalos VV (en ms) para el ventrículo izquierdo (V.I) y derecho (V.D) en situación basal y durante la perfusión de dofetilide 1, 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$ .

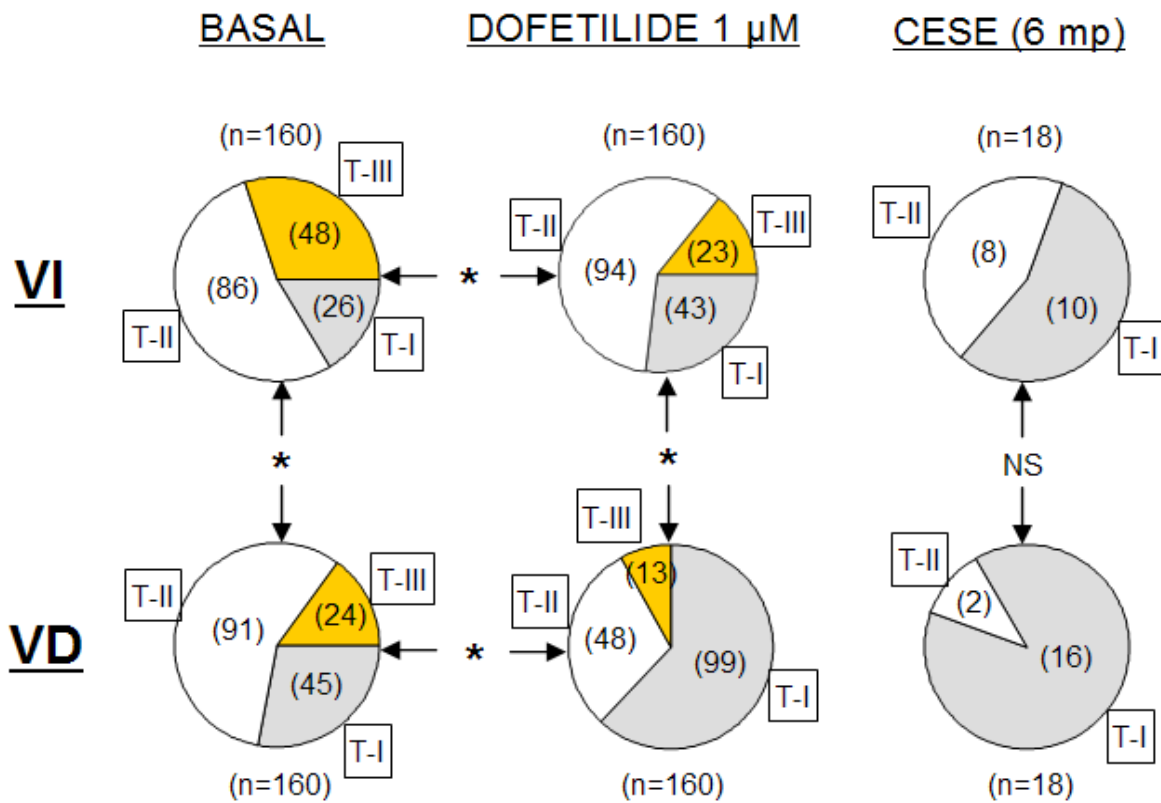


**Gráfica 4.11:** se muestran los valores medios  $\pm$  SD de los intervalos VV en ms durante la fibrilación ventricular en ambos ventrículos, obtenidos basalmente y durante la perfusión de dofetilide a las concentraciones de 1, 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$ . (\*) diferencias significativas con respecto a los valores basales  $p < 0.05$ .

### C) ANÁLISIS DE LOS MAPAS DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR. EFECTOS DEL DOFETILIDE

En la figura 4.2 se muestran los tipos de mapas de activación obtenidos basalmente y durante la perfusión de dofetilide a la concentración de 1  $\mu\text{mol/L}$ . Basalmente la activación es menos compleja en el VD que en el VI ya que los porcentajes de mapas tipo III son menores y los de tipo I son mayores. Durante la perfusión de dofetilide se observa una variación significativa en ambos ventrículos, con disminución de los mapas complejos tipo III y aumento de los tipo

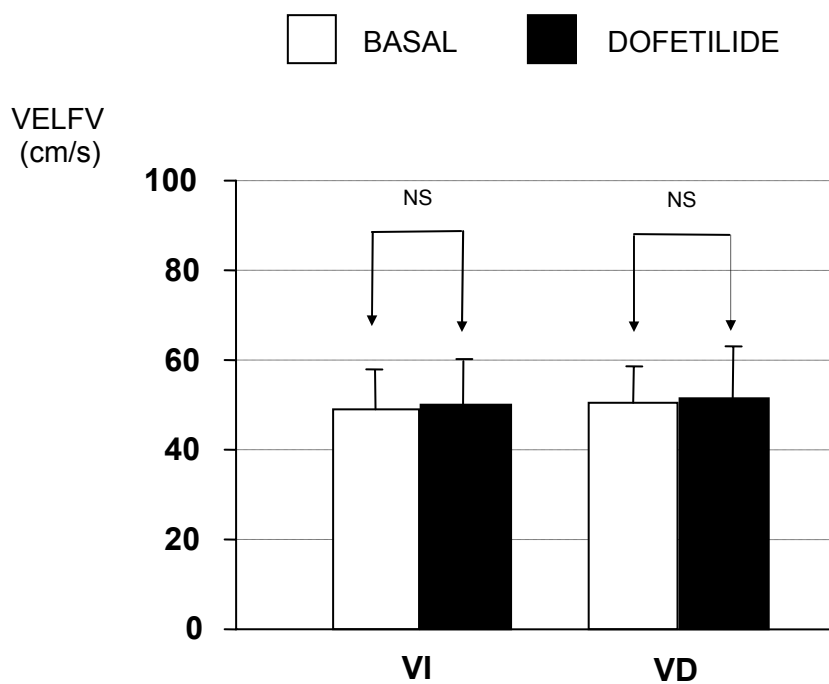
I, especialmente en los registros del VD en donde el porcentaje de este tipo de mapas supera el 50%. En la misma figura se han representado los porcentajes de mapas obtenidos inmediatamente antes del cese de la FV en los tres experimentos en los que se ha interrumpido la arritmia durante la perfusión de dofetilide. Se han representado los porcentajes correspondientes a los seis últimos mapas y en los registros de ambos ventrículos predominan los mapas tipo I y no se observan mapas tipo III. En estos tres casos, en el último mapa se observa extinción del frente de activación en el área explorada.



**Figura 4.2:** tipos de mapas de activación según su complejidad obtenidos basalmente, durante la perfusión de dofetilide 1 µM (µmol/L) e inmediatamente antes del cese de la FV (últimos 6 mapas). Se indican los mapas correspondientes a ambos ventrículos y entre paréntesis se muestra el número total de mapas analizados (n) y el de cada uno de los tipos. (\*) Diferencias significativas con respecto a las determinaciones basales y también entre ambos ventrículos.

En la figura 4.3 se muestran los mapas de activación correspondientes a uno de los últimos latidos previo al cese de la arritmia en VI y VD.

Se ha determinado también la VELFV basalmente y durante la perfusión de dofetilide 1  $\mu\text{mol/L}$ . Basalmente los valores medios son  $49.2 \pm 6.8$  cm/s en el VI y  $50.6 \pm 8.2$  en el VD. Durante la perfusión de dofetilide no se observaron variaciones significativas de este parámetro ( $50.2 \pm 10$  cm/s en el VI y  $51.5 \pm 11.1$  cm/s en el VD). Estos datos los vemos reflejados en la gráfica 4.12.



**Gráfica 4.12:** se muestran los valores medios de las velocidades de conducción durante la FV en ambos ventrículos (cm/s), en situación basal y durante la perfusión de dofetilide 1  $\mu\text{mol/L}$ . En ninguno de los dos ventrículos se han observado diferencias significativas. NS: diferencias no significativas.

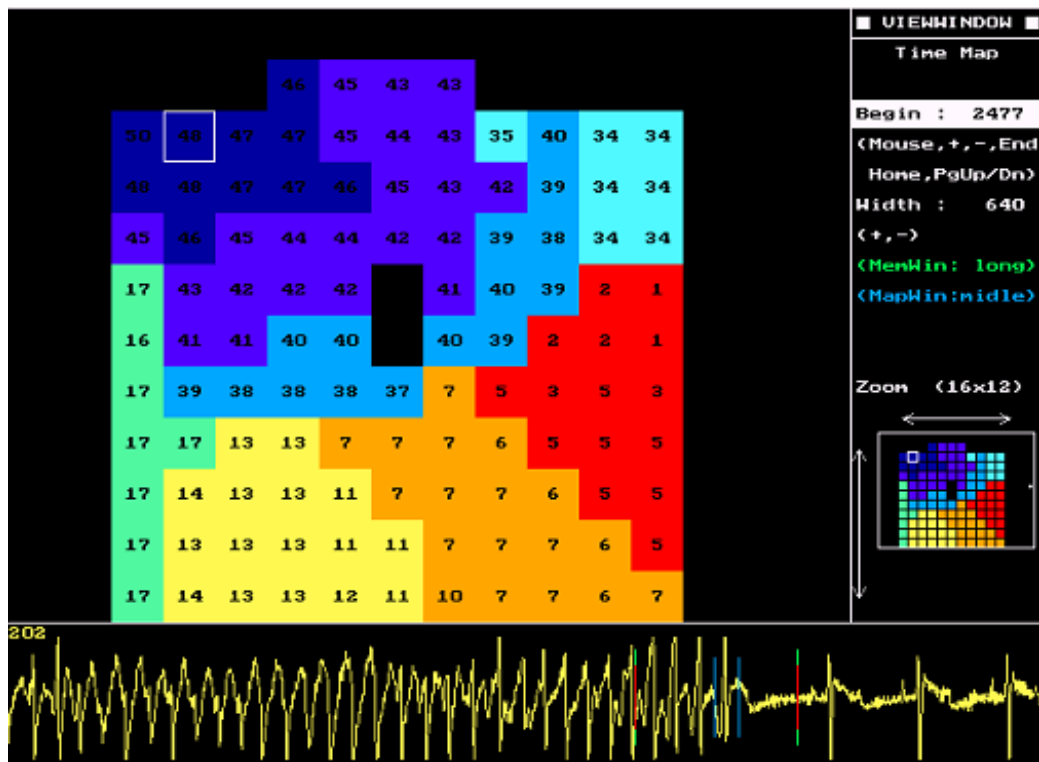
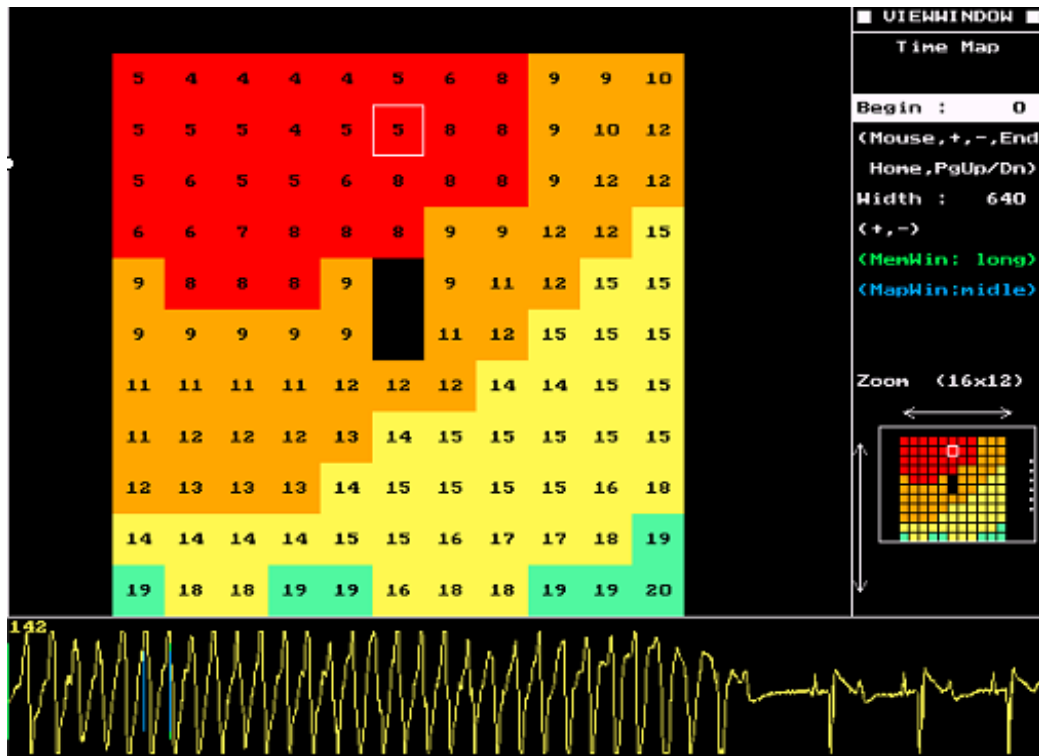


Figura 4.3: Mapas de activación epicárdica de uno de los últimos latidos de la fibrilación ventricular codificados en color obtenidos en el ventrículo izquierdo (arriba) y en el ventrículo derecho (abajo).

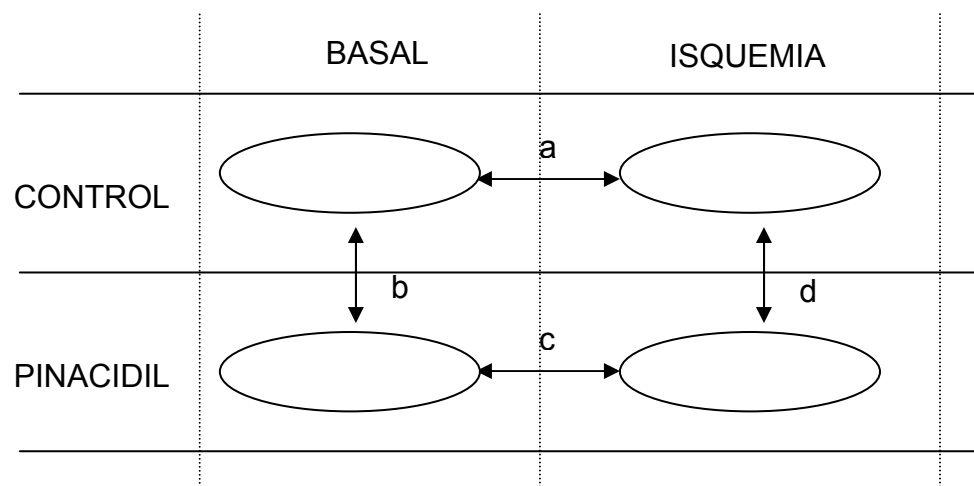
### 4.3 EFECTOS DEL PINACIDIL

#### 4.3.1 RESULTADOS EXPERIMENTALES

##### A) EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA REFRACTARIEDAD VENTRICULAR EN CONDICIONES BASALES Y DE ISQUEMIA

Se han medido los PR ventriculares (PRE y PRF) con dos ciclos base (CB) de estimulación de 250 ms y 150 ms respectivamente, tanto en condiciones basales como de isquemia. Los resultados expresados en forma de media  $\pm$  desviación estándar se muestran en la tabla 4.14.

En la figura 4.4 se muestran, en esquema, las comparaciones realizadas y que a continuación se desarrollan.



**Figura 4.4** →

- a) Efectos de la isquemia sobre la refractariedad.
- b) Efectos del pinacidil sobre la refractariedad.
- c) Efectos de la isquemia sobre la refractariedad en presencia de pinacidil.
- d) Efectos del pinacidil en condiciones de isquemia

**TABLA 4.14: PERIODOS REFRACTARIOS EN CONDICIONES BASALES Y EN ISQUEMIA AGUDA EN EL GRUPO CONTROL Y EN EL GRUPO CON PINACIDIL**

<b>PR GRUPO CONTROL</b>				
<b>BASAL</b>			<b>ISQUEMIA</b>	
	<b>PRE</b>	<b>PRF</b>	<b>PRE</b>	<b>PRF</b>
<b>CB 250</b>	125.19 ± 12.12	138.19 ± 9.18	105.33 ± 14.57	120.93 ± 16.15
<b>CB 150</b>	105.33 ± 12.74	116.53 ± 9.07	87.22 ± 10.63	100.89 ± 15.11
<b>PR GRUPO PINACIDIL</b>				
<b>BASAL</b>			<b>ISQUEMIA</b>	
	<b>PRE</b>	<b>PRF</b>	<b>PRE</b>	<b>PRF</b>
<b>CB 250</b>	114.29 ± 12.38	128.27 ± 8.98	98.75 ± 14.48	110.25 ± 13.47
<b>CB 150</b>	90.00 ± 11.54	104.75 ± 6.63	91.00 ± 12.20	103.38 ± 12.44

**Tabla 4.14:** valores de los PRE y PRF (ms) en forma de Media ± SD en el grupo control y en el grupo con pinacidil para los dos CB de estimulación con 1 extraestímulo. En la columna de la izquierda en condiciones basales; en la columna de la derecha en isquemia.

### A.1) EFFECTOS DE LA ISQUEMIA SOBRE LA REFRACTARIEDAD

Para analizar el efecto de la isquemia sobre los PR, se han comparado los PR medios antes y después de la oclusión de la arteria coronaria en el grupo control. Los PRE medios en situación basal fueron  $125.19 \pm 12.12$  ms (CB 250 ms) y  $105.33 \pm 12.74$  ms (CB 150 ms), siendo los PRF de  $138.19 \pm 9.18$  ms y de  $116.53 \pm 9.07$  ms respectivamente.

Tras la oclusión coronaria se produjo una reducción significativa de los PRE y de los PRF con CB de 250 ms, que pasaron a ser de  $105.33 \pm 14.57$  ms ( $p= 0.002$ ) y de  $120.93 \pm 16.15$  ms ( $p= 0.004$ ) respectivamente. En el caso de los PR obtenidos con ciclos básicos de 150 ms, únicamente alcanzaron significación estadística las reducciones de los PRE que pasaron a ser de  $87.22 \pm 10.63$  ms ( $p= 0.04$ ), no siendo así en el caso de los PRF, que fueron de  $100.89 \pm 15.11$  ms ( $p= 0.11$ ).

Estos datos se ven resumidos en la gráfica 4.13

### A.2) EFFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA REFRACTARIEDAD VENTRICULAR

Para estudiar el efecto del pinacidil sobre la refractariedad ventricular en ausencia de isquemia, se han comparado los PRE y PRF en situación basal en el grupo control y el grupo con pinacidil. Para los dos CB de estimulación se ha producido una reducción significativa de los PRE y PRF en el grupo al que se le administró pinacidil con respecto al grupo control.

Así, para el CB 250 ms, el PRE pasó de  $125.19 \pm 12.12$  ms a  $114.29 \pm 12.38$  ms ( $p= 0.04$ ), y el PRF de  $138.19 \pm 9.18$  ms a  $128.27 \pm 8.98$  ms ( $p= 0.005$ ). En el caso del CB 150 ms, como hemos comentado, la reducción de ambos PR fue igualmente significativa, pasando el PRE de  $105.33 \pm 12.74$  ms a  $90.00 \pm 11.54$  ms ( $p= 0.001$ ), y el PRF de  $116.53 \pm 9.07$  ms a  $104.75 \pm 6.63$  ms ( $p= 0.0001$ ). Estos resultados los vemos reflejados en la gráficas 4.14.

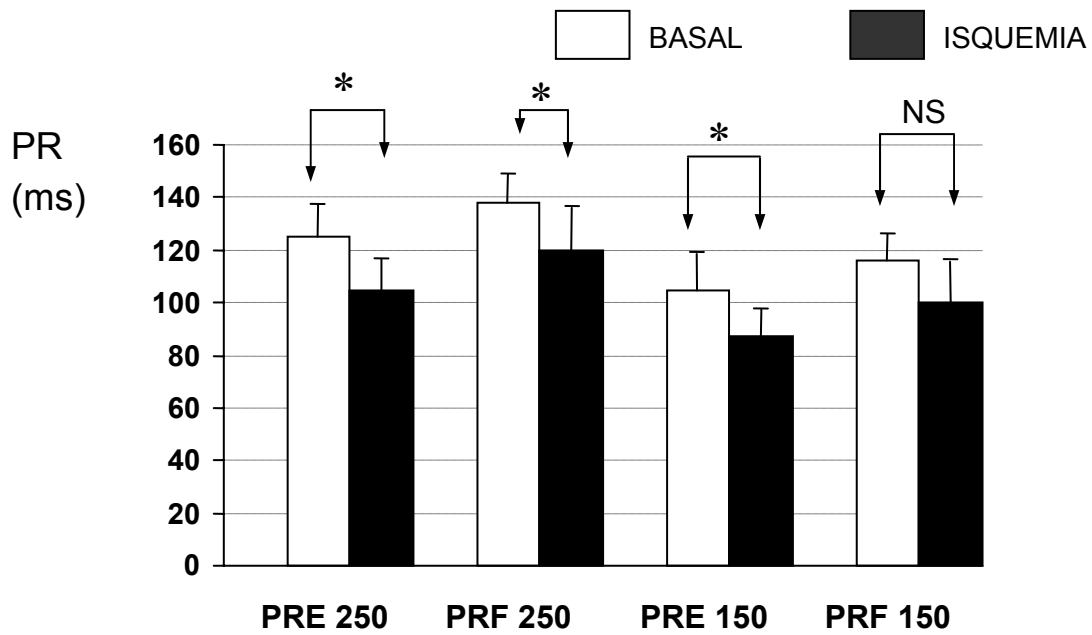


### A.3) EFECTOS DE LA ISQUEMIA SOBRE LA REFRACTARIEDAD VENTRICULAR EN PRESENCIA DE PINACIDIL. EFECTOS DEL PINACIDIL EN CONDICIONES DE ISQUEMIA.

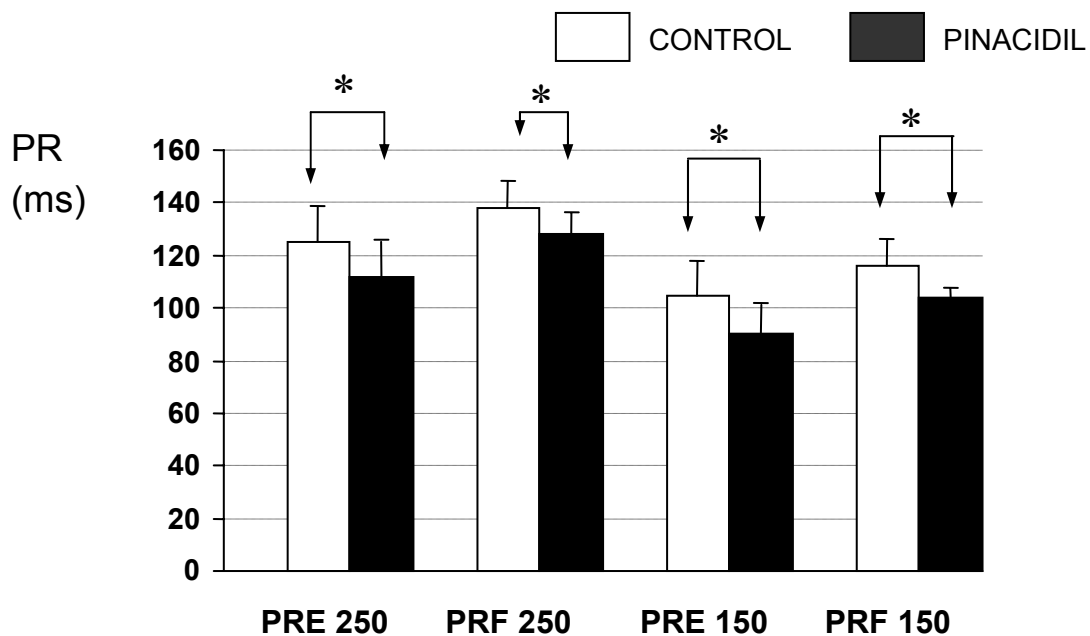
Con el objetivo de estudiar cómo varía el efecto del pinacidil sobre la refractariedad ventricular al pasar de una situación basal a otra de isquemia, se han comparado los PR antes y después de la oclusión coronaria en el grupo con pinacidil. En general, tras realizarse la oclusión coronaria, no se ha producido variación significativa en los PR (exceptuando el caso del PRF con CB 250 ms). En el caso del CB 250, tras la oclusión coronaria el PRE pasó de  $114.29 \pm 12.38$  a  $98.75 \pm 14.48$  ms ( $p= 0.08$ ) y el PRF de  $128.27 \pm 8.98$  ms a  $110.25 \pm 13.47$  ms ( $p= 0.01$ ). Con CB 150 ms, el PRE pasó de  $90.00 \pm 11.54$  ms a  $91.00 \pm 12.20$  ms ( $p= 0.70$ ) y el PRF de  $104.75 \pm 6.63$  ms a  $103.38 \pm 12.44$  ms ( $p= 0.50$ ).

De igual modo, hemos comparado las dos situaciones de isquemia; una sin fármaco (grupo control) y otra con fármaco (grupo con pinacidil). Así estudiamos el efecto del pinacidil en condiciones de isquemia establecida. De forma similar al caso anterior, no hemos encontrado una reducción significativa adicional de los PR en situación de isquemia en presencia del fármaco.

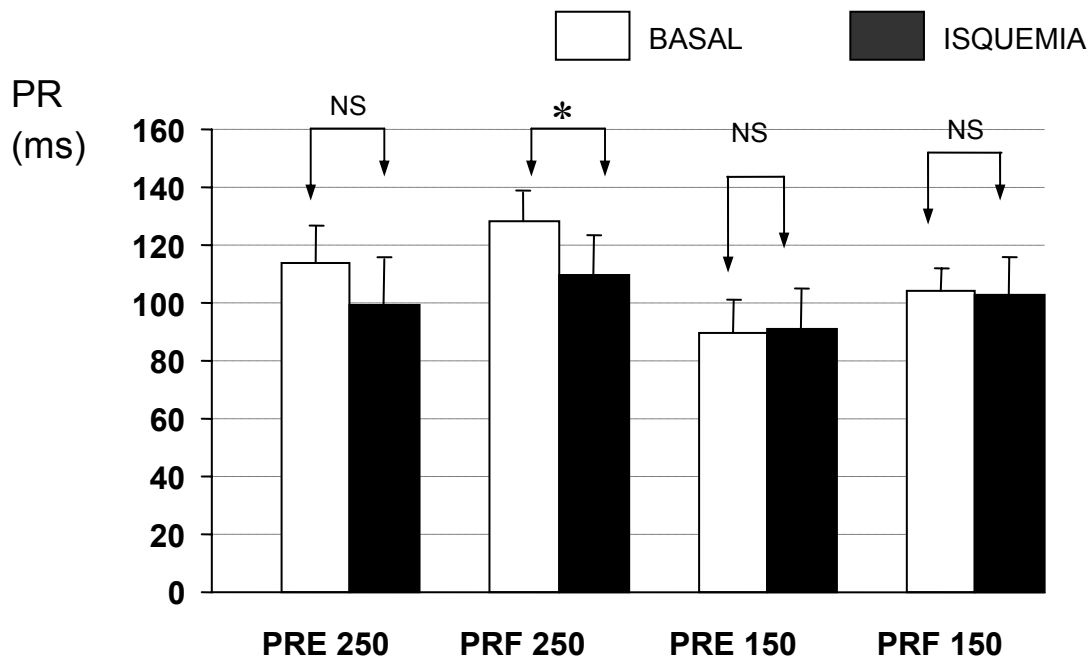
Todos estos datos los vemos resumidos en las gráficas 4.15 y 4.16.



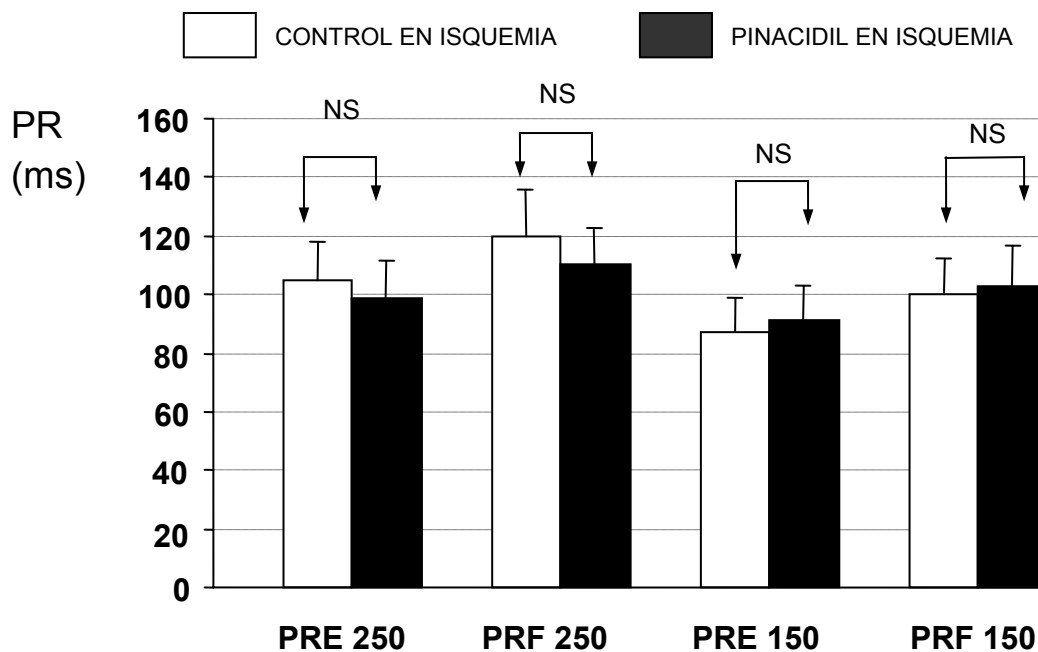
**Gráfica 4.13:** se muestran los valores de los PRE y PRF en ms para los dos CB de 250 y 150 ms respectivamente en el GRUPO CONTROL, en situación basal y de isquemia. Resultados en forma de Media  $\pm$  SD. \*  $p \leq 0.05$ ; NS: diferencia no significativa.



**Gráfica 4.14:** se muestran los valores de los PRE y PRF en ms para los dos CB de 250 y 150 ms respectivamente en SITUACIÓN BASAL, para el grupo control y con pinacidil. Resultados en forma de Media  $\pm$  SD. \*  $p \leq 0.05$ .



**Gráfica 4.15:** comparaciones de los PRE y PRF medios (en ms) del GRUPO CON PINACIDIL, para cada uno de los 2 CB, antes y después de la oclusión coronaria. Resultados en forma de Media  $\pm$  SD. \*  $p \leq 0.05$ ; NS: diferencia no significativa.



**Gráfica 4.16:** se muestran las comparaciones de los PRE y PRF medios (ms) entre grupo control y pinacidil EN SITUACIÓN DE ISQUEMIA, para los 2 CB. Resultados en forma de Media  $\pm$  SD. NS: diferencia no significativa.

## B) EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA INDUCIBILIDAD DE ARRITMIAS EN CONDICIONES BASALES Y DE ISQUEMIA AGUDA

Se ha estudiado el efecto del pinacidil sobre la inducibilidad de arritmias mediante la aplicación del test de extraestímulo ventricular utilizando dos ciclos de estimulación y hasta tres extraestímulos; basalmente y a los 5, 15 y 30 minutos de isquemia aguda. En la tabla 4.15 se muestra el número de casos en los que se induce FV en cada una de las distintas condiciones y para cada uno de los ciclos base y cada uno de los extraestímulos. En la tabla 4.16 se muestra el porcentaje de casos en los que se consigue inducir FV en condiciones basales y a los 5, 15 y 30 minutos de isquemia, así como el porcentaje de casos de FV cuando se realiza el análisis de forma global durante los 30 minutos de isquemia.

### B.1) EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA INDUCIBILIDAD DE ARRITMIAS EN SITUACIÓN BASAL

Como observamos en las tablas 4.15 y 4.16, en el grupo control, la estimulación ventricular programada no indujo arritmias significativas en situación basal. En el grupo con pinacidil, sin embargo, pudo inducirse FV en 5 preparaciones (35.7% de los casos). No se indujeron episodios de TV en ninguno de los dos grupos. Existe, por tanto una diferencia significativa entre ambos grupos en situación basal ( $p= 0.041$ ).

### B.2) EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA INDUCIBILIDAD DE ARRITMIAS EN ISQUEMIA AGUDA

Tras 5 minutos de isquemia, el test de extraestímulo ventricular indujo FV en 11 preparaciones del grupo control, lo que supuso el 78.5% de los casos. En 4 de ellos, antes de la inducción de FV, se indujo una TV monomorfa sostenida, que en 2 de los casos precisó estimulación ventricular para revertir a ritmo sinusal. Sin embargo, en el grupo con pinacidil tras 5 minutos de isquemia, se indujo FV únicamente en 4 de los casos (28.5%), existiendo diferencia significativa con respecto al grupo control ( $p= 0.021$ ).

TABLA 4.15: NÚMERO TOTAL DE EPISODIOS DE FV.

		CONTROL	PINACIDIL
BASAL		250.1	0
		250.2	0
		250.3	0
		150.1	0
		150.2	0
		150.3	0
ISQUEMIA	MINUTO 5	250.1	1
		250.2	2
		250.3	4
		150.1	1
		150.2	1
		150.3	2
	MINUTO 15	250.1	1
		250.2	1
		250.3	
		150.1	
		150.2	
		150.3	2
	MINUTO 30	250.1	
		250.2	
		250.3	1
		150.1	
		150.2	
		150.3	1

**Tabla 4.15:** Número total de episodios de FV en ambos grupos y en las diferentes condiciones: basal, 5, 15 y 30 minutos de isquemia; para cada uno de los ciclos base de estimulación.

TABLA 4.16: PORCENTAJE DE EPISODIOS DE FV

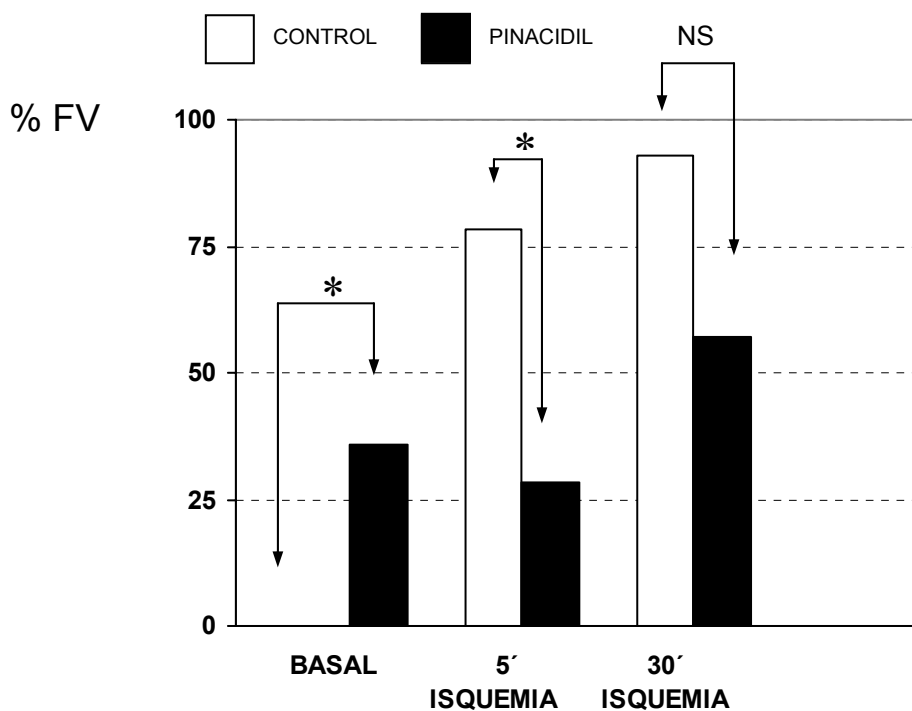
	BASAL	ISQUEMIA			FV TOTAL (isquemia)
		Minuto 5	Minuto 15	Minuto 30	
CONTROL	0%	78.5%	14.2%		92.8%
PINACIDIL	35%	28.5%	14.2%	14.2%	57.1%

**Tabla 4.16:** Porcentaje de preparaciones en las que se indujo FV basalmente y en isquemia.

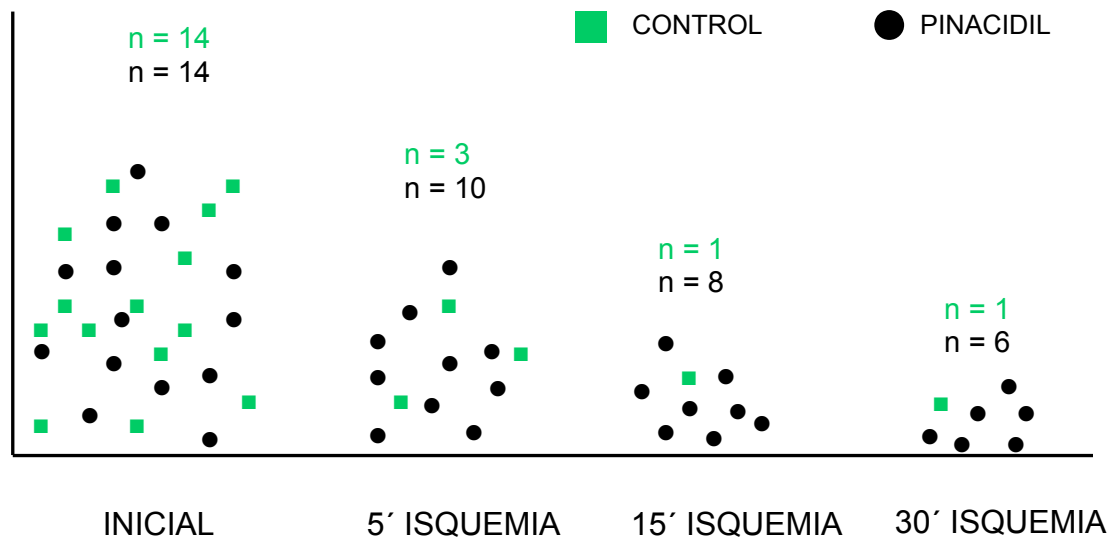
A los 15 minutos de la oclusión coronaria se indujo FV en 2 casos más del grupo control, así como en otros 2 del grupo con pinacidil. Tras el test de extraestímulo del minuto 30 de isquemia, sólo 1 preparación del grupo control permanecía sin fibrilar (7.2%), mientras que en el grupo con pinacidil permanecían sin fibrilar 6 casos (42.86%)

Analizando el fenómeno a lo largo de los 30 minutos de isquemia de forma global, la estimulación ventricular programada indujo FV en el 92.8% de los casos del grupo control, y en el 57.14% de los casos del grupo con pinacidil. Sin embargo, en este caso, las diferencias no alcanzaron significación estadística ( $p= 0.077$ ).

Estos datos los vemos reflejados en la gráfica 4.17 y en la figura 4.5.



**Gráfica 4.17:** Porcentaje de casos en los que se produjo FV en el grupo control y en el grupo con pinacidil en situación basal, a los 5 minutos de isquemia y globalmente una vez transcurridos 30 minutos de isquemia.



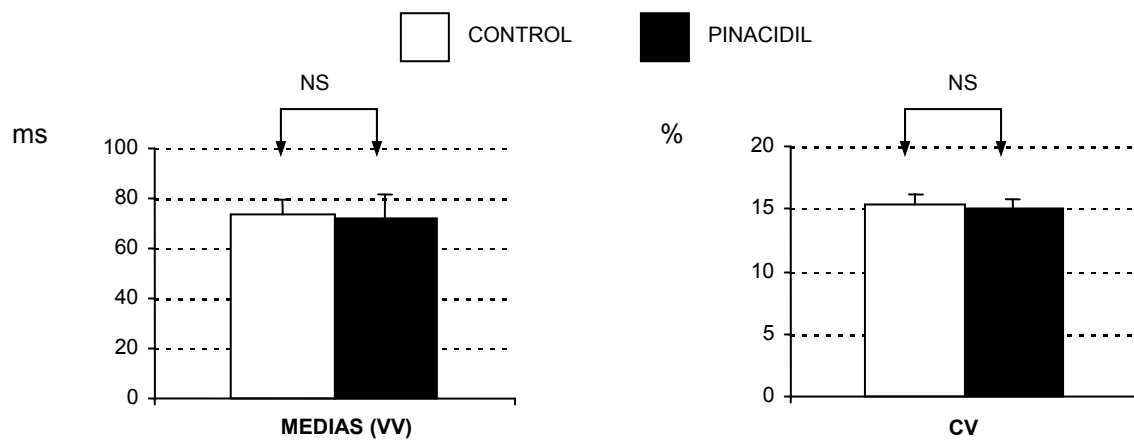
**Figura 4.5:** Figura en la que se muestra el número de casos de cada grupo en los que NO ha producido FV a los 5, 15 y 30 minutos de isquemia.

### C) EFFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE EL PATRÓN DE INICIO DE LA FV

#### C.1) REGULARIDAD DE INICIO DE LA FV DURANTE LA ISQUEMIA:

Conforme se ha descrito en el apartado de material y métodos, en los casos en los que se indujo FV durante la isquemia, se han calculado las medias de los intervalos VV y los CV de las 10 primeras activaciones de cada uno de los 5 electrodos seleccionados en cada uno de los casos. A continuación se han realizado las comparaciones entre los dos grupos de estudio (control y pinacidil). Estos resultados los vemos resumidos en la gráficas 4.18 y 4.19.

Como podemos observar, no existen diferencias significativas entre ambos grupos ni en cuanto a las medias de los ciclos al inicio de la FV ni en cuanto a los CV. En el grupo control, la media de los ciclos al inicio de la arritmia fue de  $73.39 \pm 9.1$  ms y en el grupo con pinacidil fue de  $72.10 \pm 12.5$  ms ( $p=0.88$ ). El CV medio en control fue de  $15.43 \pm 4.1\%$  y con pinacidil de  $15.02 \pm 3.4\%$  ( $p=0.84$ ).



**Gráficas 4.18 y 4.19:** se muestran las comparaciones de las medias de los intervalos VV al inicio de FV y sus Coeficientes de Variación (CV) entre los grupos control y pinacidil. NS: diferencia sin significación estadística. ms: milisegundos.

## C.2) ANÁLISIS DE LOS MAPAS DE ACTIVACIÓN DURANTE EL INICIO DE LA FV EN ISQUEMIA

Se han estudiado los 7 mapas de activación epicárdicos correspondientes al último estímulo del tren base, al último extraestímulo y a los 5 primeros latidos espontáneos de la arritmia. Se han clasificado según su complejidad en mapas tipo I, II y III, y se han cuantificado la cantidad de mapas con actividad reentrante y mapas con patrón de afloramiento a la superficie epicárdica (ver apartado de material y métodos). Los datos se muestran resumidos en las tablas 4.17 y 4.18. En la figura 4.6 se muestra un ejemplo de los mapas de activación obtenidos.

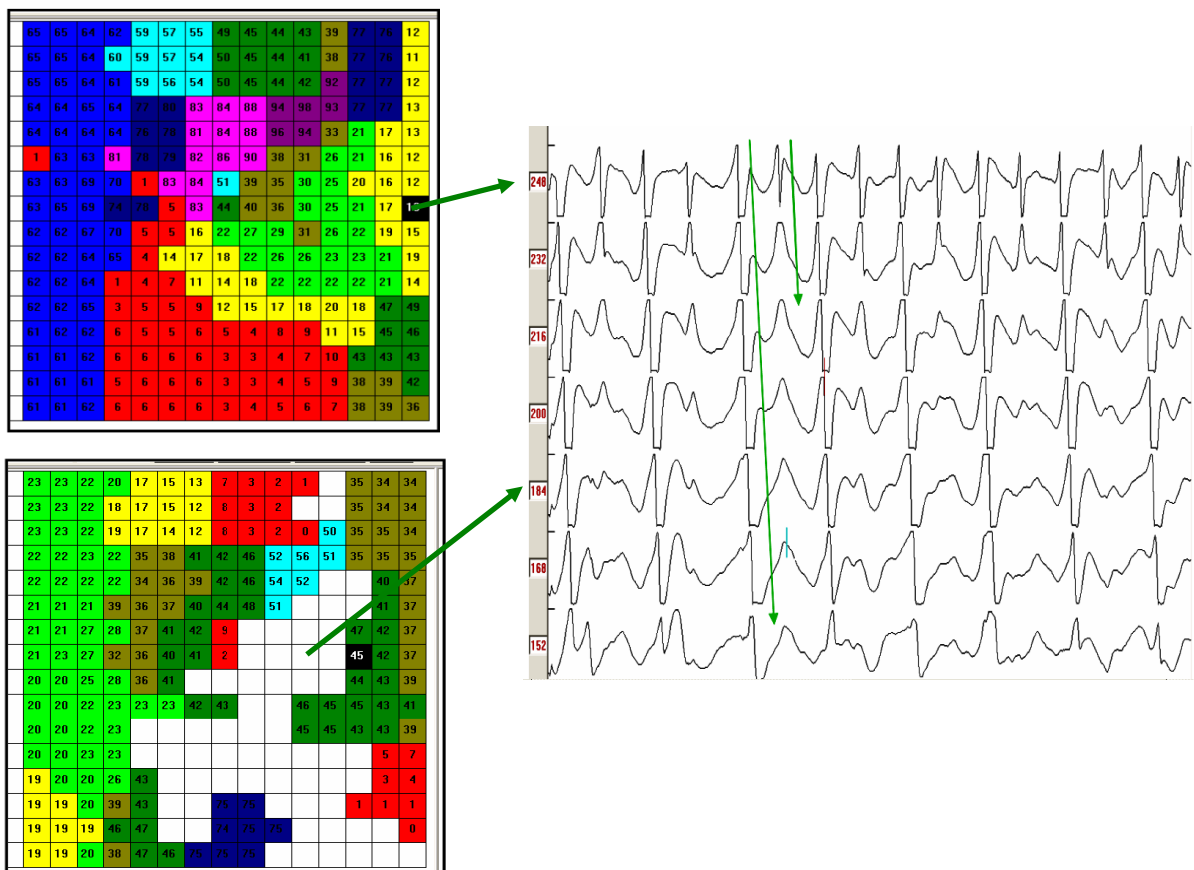
Como observamos en la figura 4.7, en cada uno de los grupos por separado, los mapas de activación van haciéndose significativamente más complejos conforme avanzamos del número 1 al número 7, de tal forma que van reduciéndose los mapas tipo I y va aumentando la proporción de los mapas tipo III, de los mapas con reentrada y, especialmente, de los tipo II. Sin embargo, no se



han encontrado diferencias estadísticamente significativas al comparar los mapas de activación del grupo control con respecto a los del grupo con pinacidil.

En cuanto a los patrones de reentrada y de afloramiento a la superficie epicárdica, igualmente, conforme avanzamos en un mismo grupo desde el mapa 1 hasta el 7, el porcentaje va aumentando, aunque una vez establecida la arritmia los porcentajes son muy variables. Cuando se compara el porcentaje medio de patrones de reentrada y de afloramiento entre los dos grupos (control y con pinacidil) de forma global, tampoco se han encontrado diferencias significativas. Estos datos los vemos reflejados en la tabla 4.19 en la gráfica 4.20.

### MAPAS DE ACTIVACIÓN



**Figura 4.6:** mapas de activación epicárdica codificados en color obtenidos en uno de los casos. En la parte inferior izquierda se muestra un mapa en el que existe una zona de bloqueo de la conducción. A la derecha, electrogramas registrados en los electrogramas seleccionados.

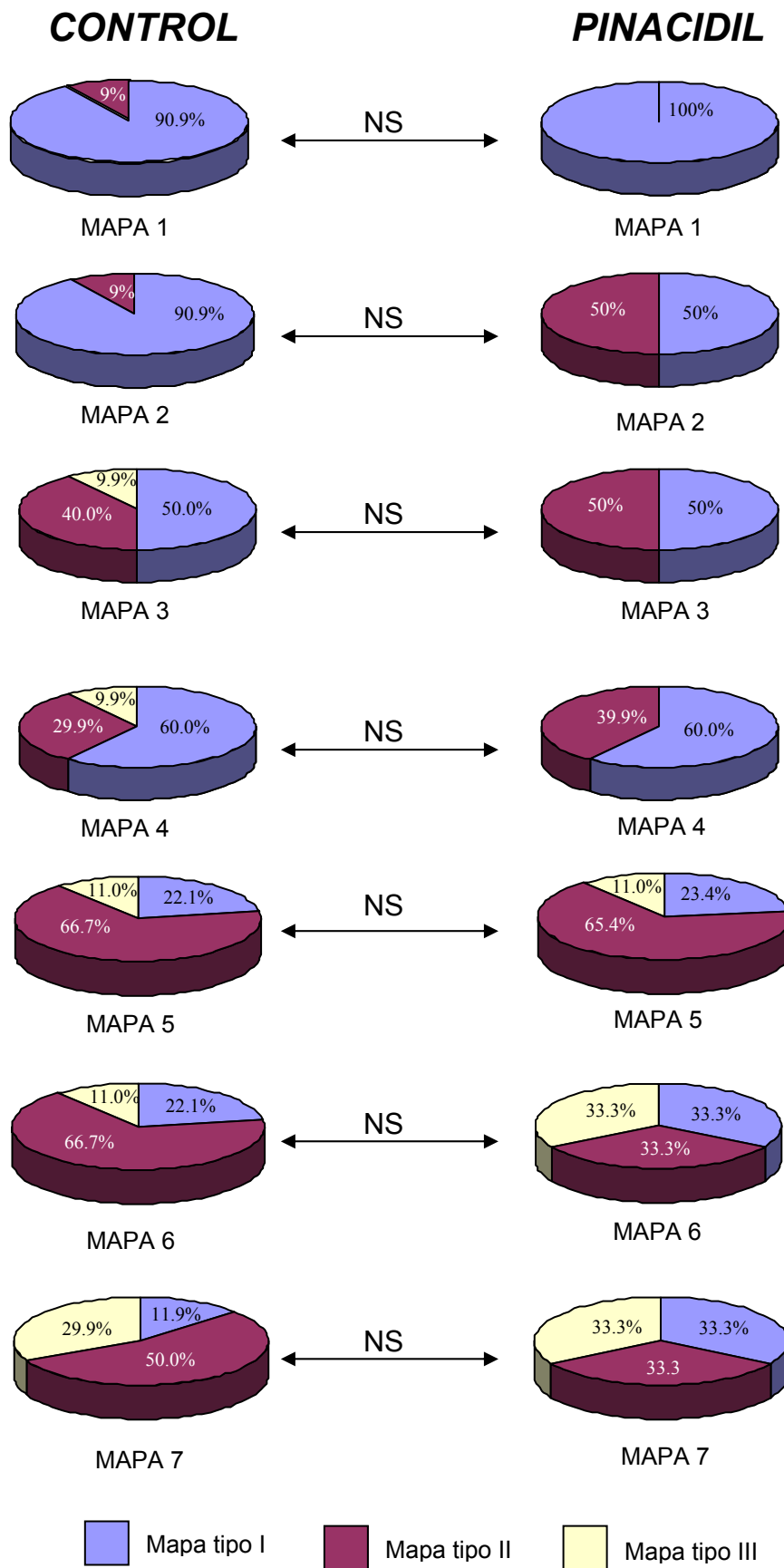
**TABLA 4.17: MAPAS DE ACTIVACIÓN AL INICIO DE LA ARRITMIA. GRUPO CONTROL**

	Tipo I	Tipo II	Tipo III	REENTRADA	AFLORAMIENTO
MAPA 1	90.9%	9.0%	0%	0%	0%
MAPA 2	90.9%	9%	0%	0%	0%
MAPA 3	50.0%	40.0%	9.9%	9%	30%
MAPA 4	60.0%	29.9%	9.9%	20%	10%
MAPA 5	22.1%	66.7%	11.0%	20%	10%
MAPA 6	22.1%	66.7%	11.0%	18.1%	18.1%
MAPA 7	19.9%	50.0%	29.9%	9%	0%

**TABLA 4.18: MAPAS DE ACTIVACIÓN AL INICIO DE LA ARRITMIA. GRUPO CON PINACIDIL**

	Tipo I	Tipo II	Tipo III	REENTRADA	AFLORAMIENTO
MAPA 1	100%	0%	0%	0%	0%
MAPA 2	50.0%	50.0%	0%	0%	14.2%
MAPA 3	50.0%	50.0%	0%	0%	14.2%
MAPA 4	60.0%	39.9%	0%	28.5%	28.5%
MAPA 5	23.4%	65.4%	11.0%	28.5%	14.2%
MAPA 6	33.3%	33.3%	33.3%	14.2%	14.2%
MAPA 7	33.3%	33.3%	33.3%	14.2%	0%

**Tablas 4.17 y 4.18:** tablas que muestran los porcentajes de los diferentes tipos de mapas de activación durante el inicio de la FV así como el porcentaje de patrones de reentrada y afloramiento de la activación a la superficie epicárdica; en el grupo control (arriba) y en el grupo con pinacidil (abajo).

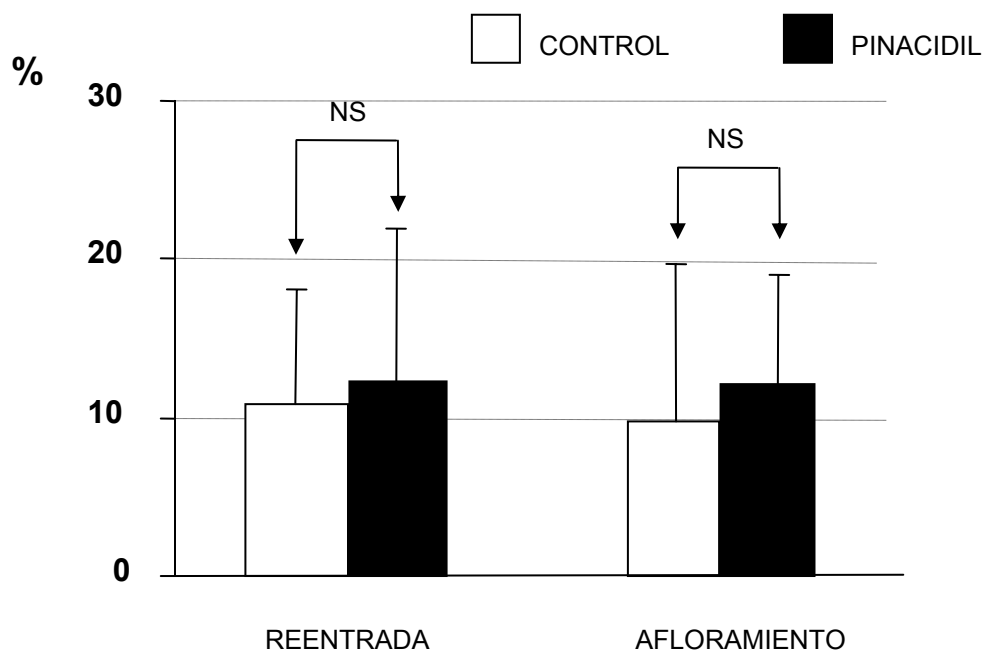


**Figura 4.7:** Comparaciones entre grupo control y con pinacidil para cada uno de los 7 mapas estudiados según su complejidad. NS: no significativo ( $p > 0.05$ ).

TABLA 4.20: PATRONES DE REENTRADA Y DE AFLORAMIENTO.

	% REENTRADA	% AFLORAMIENTO
CONTROL	10.8 ± 8.7	9.7 ± 11
PINACIDIL	12.2 ± 12	10.8 ± 9.5
Significación (p)	p = 1	P = 0.62

**Tabla 4.19:** Porcentaje de patrones de reentrada y afloramiento en los 7 mapas analizados en el grupo control y con pinacidil.



**Gráfica 4.20:** Porcentaje total de mapas con patrones de reentrada y afloramiento. Comparación entre grupo control y grupo con pinacidil. NS: no significativo ( $p > 0.05$ ).

### 4.3.2 RESULTADOS CON MODELOS MATEMÁTICOS

#### A) RESULTADOS CON MODELO UNIDIMENSIONAL

##### a) CARACTERIZACIÓN DEL MODELO

Con el objetivo de caracterizar el modelo matemático utilizado, se han realizado simulaciones unidimensionales en fibras de 200 miocitos para determinar la DPA y las VC con una dosis nula de fármaco en situación basal y de isquemia aguda (minuto 10); así como para concentraciones crecientes del mismo (5, 10, 50 y 200  $\mu\text{mol/L}$ ) en ambas situaciones. Las condiciones electrofisiológicas para simular situación de normoxia y de isquemia han sido las referidas en el apartado de Material y Métodos. Los resultados de las simulaciones se han obtenido con dos ciclos básicos de estimulación (250 ms y 400 ms).

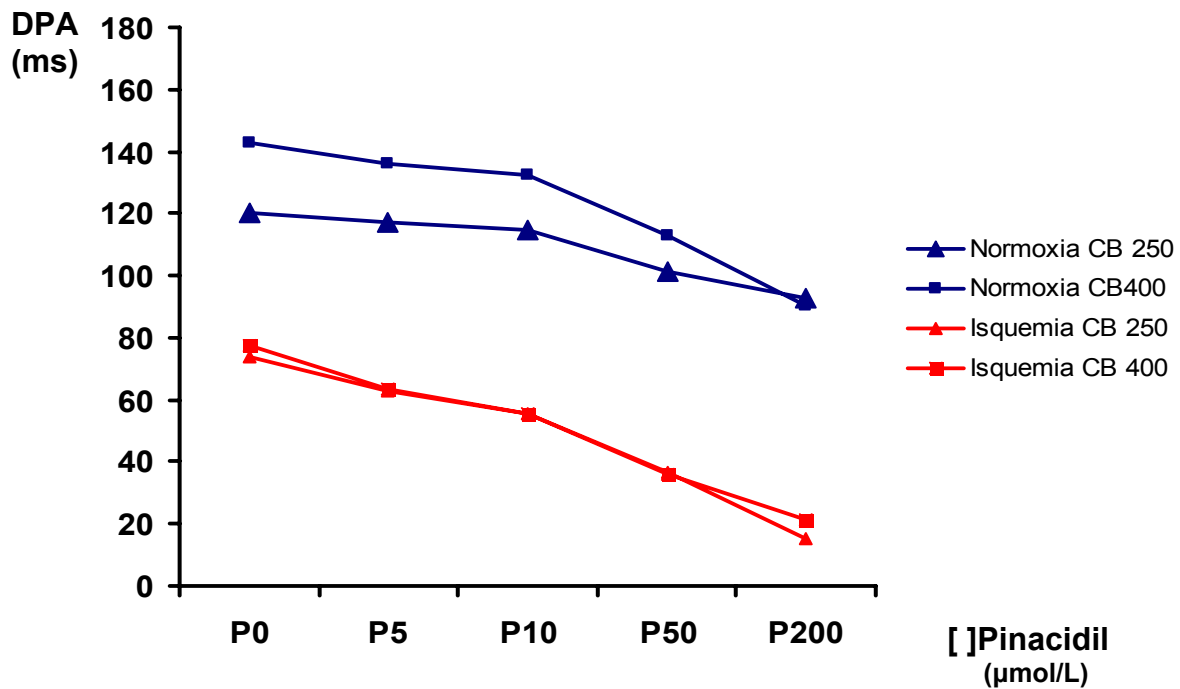
##### a.1) Efectos del pinacidil sobre la duración del potencial de acción

Tanto la isquemia como el pinacidil han producido un claro acortamiento en la DPA. Los resultados los vemos expuestos en la tabla 4.20 y en la gráfica 4.21.

**TABLA 4.20: DPA EN CONDICIONES BASALES Y EN ISQUEMIA.**

	P0	P5	P10	P50	P200
N 250	120.2	117.4	114.8	101.1	92.6
N 400	142.5	136.2	132.5	113.0	90.1
I 250	74.1	63.1	55.8	36.6	15.0
I 400	77.3	63.5	55.3	35.9	21.1

**Tabla 4.20:** se muestran los valores de la DPA (ms) para los dos ciclos base (250 y 400 ms) en condiciones normales (N) y de isquemia (I), para cada una de las concentraciones de pinacidil (P) en  $\mu\text{mol/L}$ .



**Gráfica 4.21:** Valores de las DPA (ms) para las diferentes concentraciones de pinacidil simuladas en condiciones de normoxia e isquemia y para los dos ciclos base de estimulación. [ ]: concentración.

Las tablas 4.21, 4.22 y 4.23 muestran las DPA en valores porcentuales respecto al basal obtenidos con el modelo; en isquemia (sin fármaco), en presencia de fármaco (sin isquemia) y en presencia de fármaco y de isquemia.

En las figuras 4.8 y 4.9 se muestran los PA obtenidos en normoxia e isquemia para concentraciones de pinacidil 0, 10 y 200 μmol/L. Se muestran igualmente las corrientes  $I_{K(ATP)}$  e  $I_{KT}$  (suma de corrientes de salida de  $K^+$  excepto la  $I_{K(ATP)}$ ). Obsérvese la reducción de la DPA con concentraciones crecientes de pinacidil, así como la evolución de las diferentes corrientes iónicas. En isquemia, en ausencia de pinacidil (figura 4.9), la  $I_{K(ATP)}$  se encuentra activa.

**TABLA 4.21: DPA EN NORMOXIA E ISQUEMIA.**

<i>Ciclo Base (ms)</i>	<i>% DPA NORMOXIA</i>	<i>% DPA ISQUEMIA</i>
250	100%	61.6%
400	100%	54.3%

**Tabla 4.21:** valor porcentual de la DPA en normoxia e isquemia para los dos ciclos base.

**TABLA 4.22: DPA CON PINACIDIL EN NORMOXIA.**

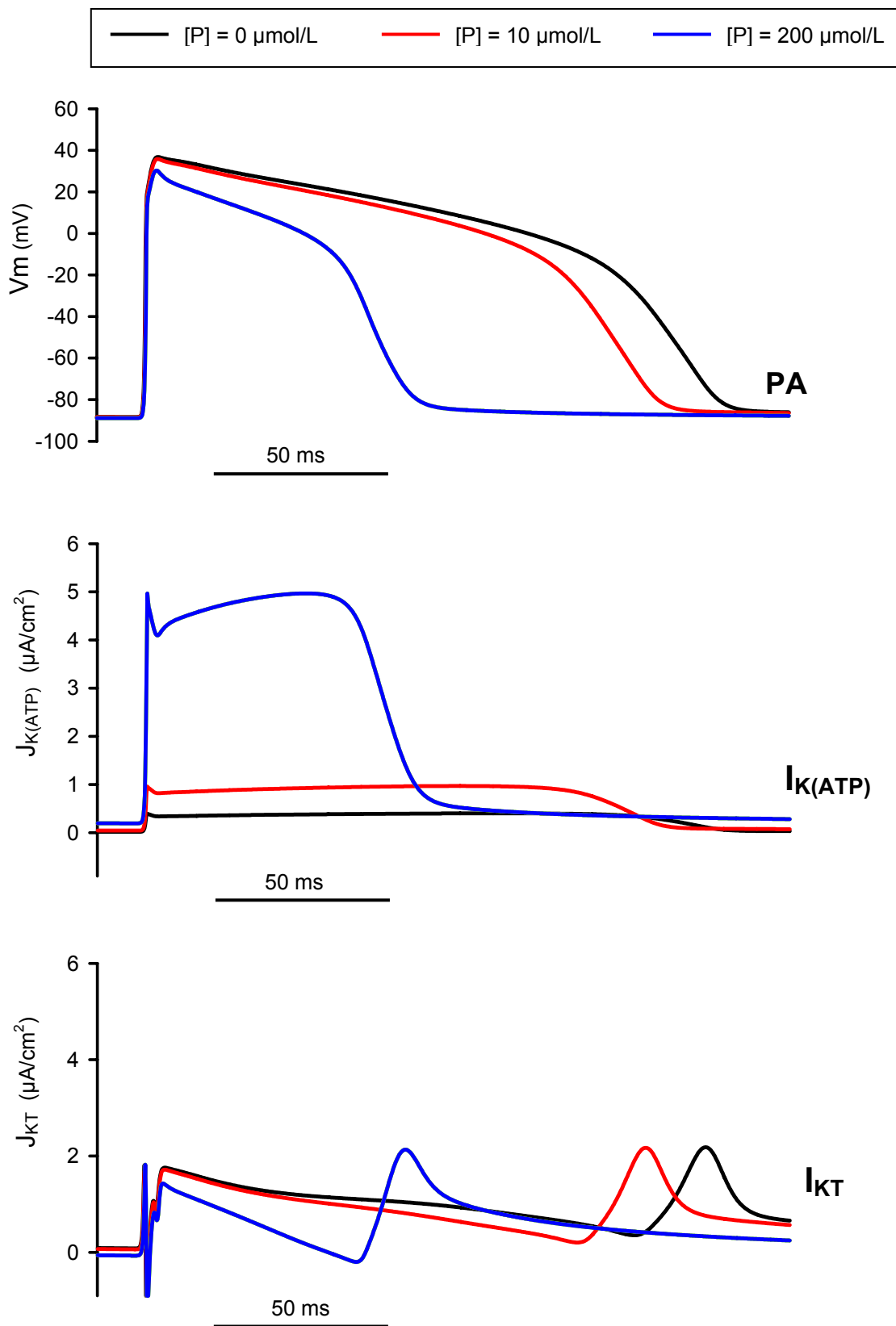
<i>[ ] PINACIDIL →</i>	<i>0 μmol/L</i>	<i>5 μmol/L</i>	<i>10 μmol/L</i>	<i>50 μmol/L</i>	<i>200 μmol/L</i>
CB 250 ms	100%	97.6%	95.5%	84.1%	77.1%
CB 400 ms	100%	95.5%	92.98%	79.3%	63.3%

**Tabla 4.22:** valor porcentual de la DPA para distintas concentraciones de pinacidil en normoxia.  
[ ]: concentración.

**TABLA 4.23: DPA CON PINACIDIL EN ISQUEMIA.**

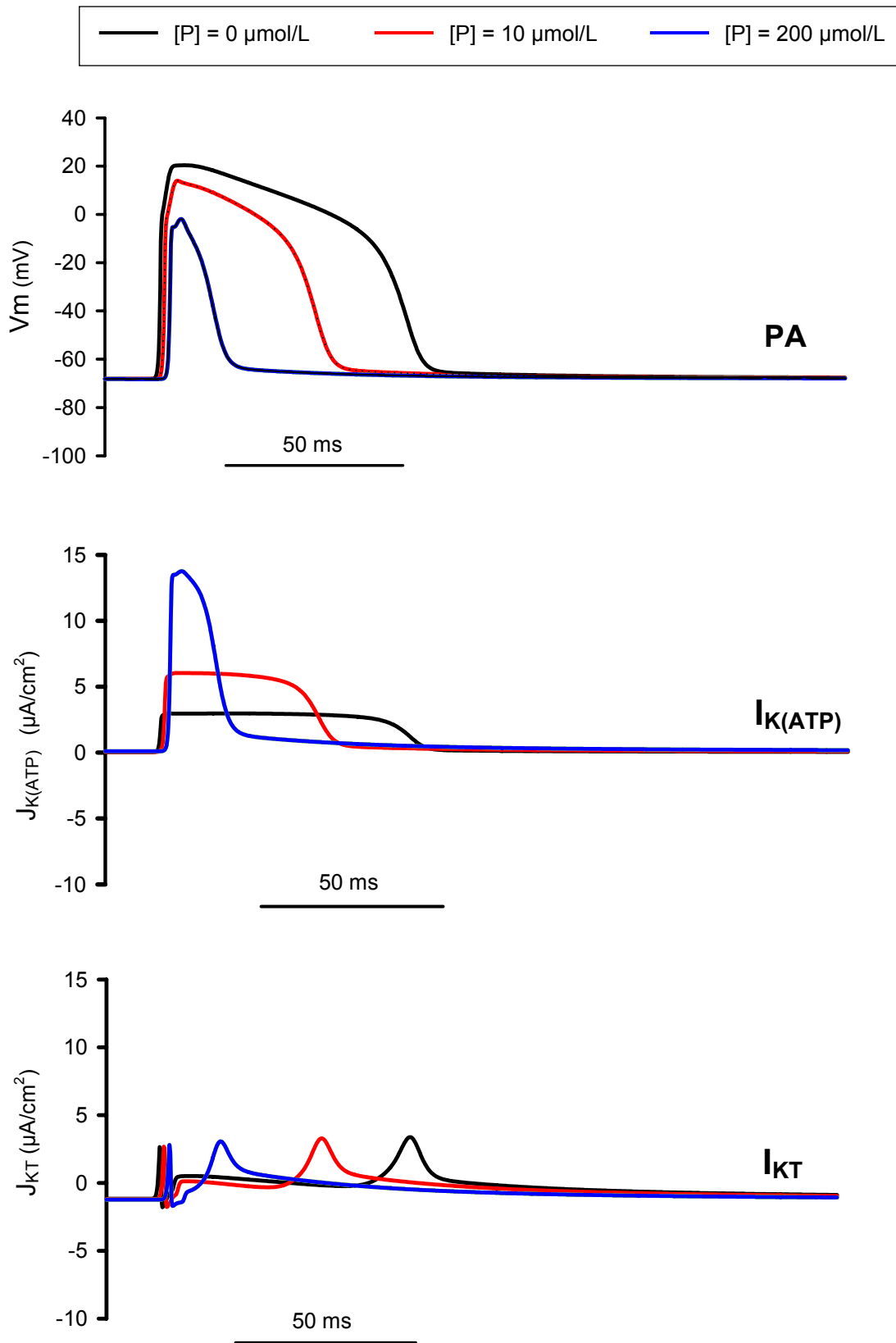
<i>[ ] PINACIDIL →</i>	<i>0 μmol/L</i>	<i>5 μmol/L</i>	<i>10 μmol/L</i>	<i>50 μmol/L</i>	<i>200 μmol/L</i>
CB 250 ms	100%	85.2%	75.4%	49.4%	20.3%
CB 400 ms	100%	82.2%	71.6%	46.5%	27.3%

**Tabla 4.23:** valor porcentual de la DPA para distintas concentraciones de pinacidil en isquemia.  
[ ]: concentración.



**Figura 4.8:** Acortamiento del PA con diferentes concentraciones de pinacidil y evolución de las corrientes  $I_{K(ATP)}$  e  $I_{KT}$ , en condiciones de NORMOXIA. J: densidad de corriente.  $V_m$ : potencial de membrana





**Figura 4.9:** Acortamiento del PA con diferentes concentraciones de pinacidil y evolución de las corrientes  $I_{K(ATP)}$  e  $I_{KT}$ , en condiciones de ISQUEMIA. J: densidad de corriente.  $V_m$ : potencial de membrana

### a.2) Efectos del pinacidil sobre la Velocidad de conducción

En la gráfica 4.22 y en la tabla 4.24 se muestran los valores de VC obtenidos por las simulaciones. Al igual que con la DPA, en las tablas 4.25, 4.26 y 4.27 se muestran las variaciones en valores porcentuales respecto al basal. Como podemos observar, la isquemia ha producido una marcada reducción de las VC. El pinacidil, sin embargo, no muestra tendencia a producir una reducción significativa de las VC (a excepción del caso con CB 400 ms en condiciones de isquemia, en el que se observa una tendencia hacia valores de VC superiores).

### b) VALIDACION DEL MODELO MATEMATICO

Con el objetivo de validar el modelo matemático utilizado, se han comparado los resultados de las simulaciones realizadas y expuestos en el apartado anterior con resultados experimentales obtenidos por otros autores, comparándose las DPA y las VC correspondientes al ciclo de estimulación simulado más cercano al utilizado por dichos autores (400 ms). Los experimentos elegidos para dichas comparaciones han sido, en lo posible, aquellos realizados con células ventriculares de cobaya, puesto que el modelo del PA utilizado (LR-2000), es un modelo basado en datos experimentales de esta especie animal. Para comparaciones en los que no se hallaron trabajos experimentales con cobaya (especialmente de VC), la comparación se ha realizado con trabajos experimentales que utilizaban otra especie animal.

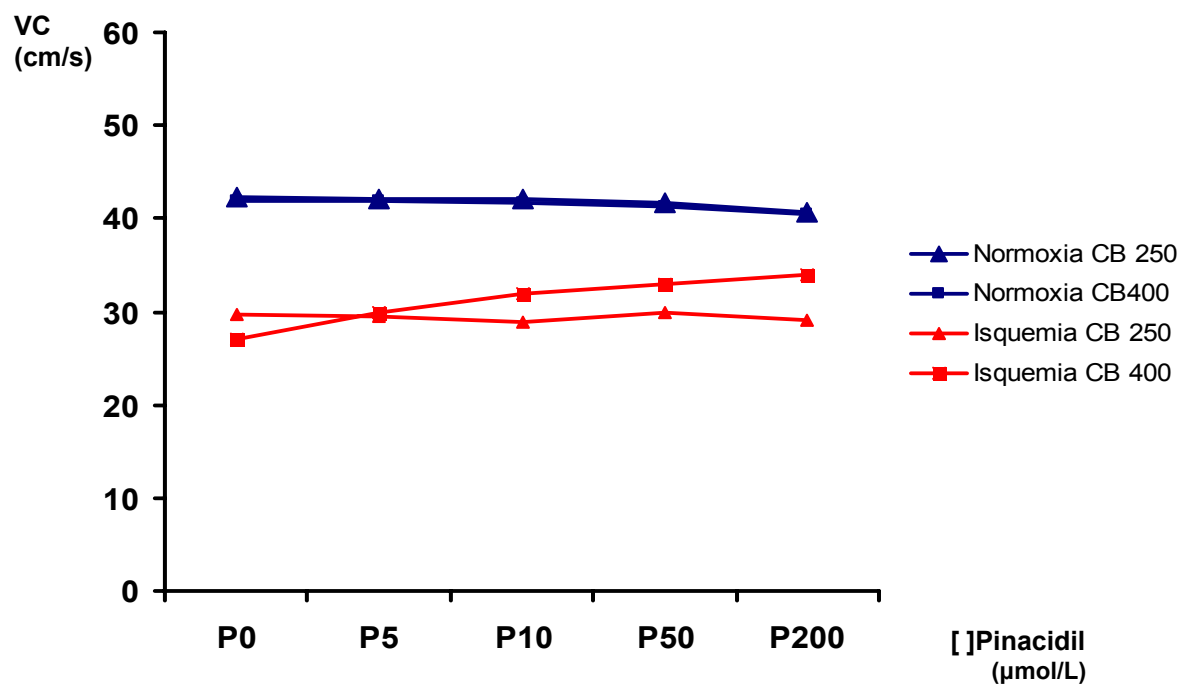
#### b.1) Efectos del pinacidil sobre la duración del potencial de acción

En primer lugar se ha validado el modelo para una dosis nula de fármaco en condiciones de normoxia e isquemia. El acortamiento de la DPA inducida por la isquemia en el modelo (sin presencia de fármaco) ha sido del 38.4% y del 45.7% para el ciclo base de 250 y 400 ms respectivamente. En los experimentos llevados a cabo por Weiss J (Weiss J et al, 1992), la isquemia redujo la DPA en un 38%; resultados similares a los obtenidos por el modelo.

TABLA 4.24: VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN EN NORMOXIA E ISQUEMIA.

	P0	P5	P10	P50	P200
N 250	42.3	42.2	42.1	41.6	40.7
N 400	41.8	41.8	41.7	41.2	40.5
I 250	29.6	29.5	28.9	30.0	28.0
I 400	26.3	29.8	32.8	34.8	35.3

**Tabla 4.24:** VC (cm/s) para los dos ciclos base (250 y 400 ms) en condiciones normales (N) y de isquemia (I), para cada una de las concentraciones de pinacidil (P) en  $\mu\text{mol/L}$ .



**Gráfica 4.22:** VC (cm/s) para las diferentes concentraciones de pinacidil simuladas en condiciones de normoxia e isquemia y para los dos ciclos base de estimulación

**TABLA 4.25: REDUCCIÓN DE LAS VC INDUCIDA POR LA ISQUEMIA.**

<i>Ciclo Base (ms)</i>	<i>% DPA NORMOXIA</i>	<i>% DPA ISQUEMIA</i>
250	100%	69.9%
400	100%	62.9%

**Tabla 4.25:** valor porcentual de la VC en normoxia e isquemia para los dos ciclos base, donde se aprecia la reducción de las mismas producidas por la isquemia.

**TABLA 4.26: REDUCCIÓN DE LAS VC INDUCIDAS POR EL PINACIDIL.**

<i>[ ] PINACIDIL →</i>	<i>0 μmol/L</i>	<i>5 μmol/L</i>	<i>10 μmol/L</i>	<i>50 μmol/L</i>	<i>200 μmol/L</i>
CB 250 ms	100%	99.7%	99.5%	98.3%	96.2%
CB 400 ms	100%	100%	99.7%	98.5%	96.8%

**Tabla 4.26:** valor porcentual de la VC para distintas concentraciones de pinacidil en normoxia, donde se aprecia el escaso efecto del pinacidil sobre las ellas.

**TABLA 4.27: REDUCCIÓN DE LAS VC INDUCIDAS POR EL PINACIDIL EN ISQUEMIA**

<i>[ ] PINACIDIL →</i>	<i>0 μmol/L</i>	<i>5 μmol/L</i>	<i>10 μmol/L</i>	<i>50 μmol/L</i>	<i>200 μmol/L</i>
CB 250 ms	100%	99.6%	97.6%	101.3%	94.5%
CB 400 ms	100%	113.3%	124.7%	132.3%	134.2%

**Tabla 4.27:** valor porcentual de la VC para distintas concentraciones de pinacidil en isquemia, donde se aprecia la variación de las mismas por efecto de distintas concentraciones de pinacidil en isquemia.

Por otra parte las reducciones en la DPA inducidas por distintas concentraciones de pinacidil en condiciones de normoxia obtenidas con el modelo se han comparado con los resultados experimentales de Cole W et al que utilizaban un ciclo base de 500 ms (Cole W et al 1991), comprobándose una clara semejanza con nuestros resultados (tabla 4.28).

Finalmente se han simulado las condiciones metabólicas descritas por Nakayama K et al (Nakayama K et al, 1990) para distintas concentraciones de pinacidil. En la tabla 4.29 se muestran contrastados los resultados experimentales y los resultados con el modelo.

#### b.2) Efectos del pinacidil sobre la velocidad de conducción

Se han comparado las VC obtenidas con el modelo con resultados experimentales de otros autores.

En normoxia, las VC resultantes del modelo no han mostrado tendencia a variar. Estos resultados muestran una elevada concordancia con resultados experimentales, en los que las VC no sufrieron variaciones significativas, independientemente de la concentración de fármaco administrado así como del ciclo de estimulación utilizado. Las comparaciones se han realizado utilizando la VC media simulada para las distintas concentraciones de pinacidil y los dos ciclos de estimulación utilizados (puesto que dichos parámetros no han mostrado afectar al valor final de las VC), y se muestran en la tabla 4.30.

#### c) EFFECTOS DEL PINACIDIL Y DE LA ISQUEMIA AGUDA SOBRE LOS PERIODOS REFRACTARIOS

Con el fin de caracterizar los efectos del pinacidil y de la isquemia sobre los PR, se ha simulado el efecto de distintas concentraciones de fármaco sobre los PR en condiciones de normoxia así como con las condiciones metabólicas correspondientes al minuto 10 de isquemia; conforme se describe en apartado de Material y Métodos.

**TABLAS 4.28 Y 4.29: ACORTAMIENTO DE LA DPA. COMPARACIÓN ENTRE RESULTADOS CON MODELOS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES.**

<i>[Pinacidil]</i> $\mu\text{mol/L}$	% DPA experimental	DPA (ms) simulado	% DPA simulado
0	100%	142.5	100%
1	Sin efecto		
10	<b>95 <math>\pm</math> 3.4%</b>	132.5	<b>92.98%</b>

**Tabla 4.28:** Acortamiento de la DPA en Normoxia. Comparación de los resultados del modelo con los resultados experimentales de Cole W et al, 1999.

<i>[ATP]</i> mmol/L	<i>[ADP]</i> mmol/L	<i>[pinacidil]</i> $\mu\text{mol/L}$	% DPA exp.	DPA (ms) sim.	% DPA sim.
2	15	0	100%	101.88	100%
2	15	5	<b>60 25%</b>	75.37	<b>73.9%</b>
2	15	10	<b>34 <math>\pm</math>27%</b>	59.88	<b>57.77%</b>
5	15	0	100%	145.02	100%
5	15	5	<b>100%</b>	144.59	<b>99.7%</b>
5	15	10	<b>82<math>\pm</math> 9%</b>	130.19	<b>89.7%</b>

**Tabla 4.29:** Acortamiento de la DPA. Comparación de los resultados del modelo con los resultados experimentales de Nakayama K et al, 1990. Exp: experimental; Sim: simulado.

**TABLA 4.30: VC. COMPARACIÓN DE RESULTADOS CON MODELOS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES.**

<i>VC media (cm/s)</i> <i>Simulada</i>	<i>% VC media</i> <i>Simulada</i>	<i>% VC experimental</i> <i>Spinelli W et al</i>	<i>% VC experimental</i> <i>Smallwood JK et al</i>	<i>% VC experimental</i> <i>Chi L et al</i>
41.59	<b>98.5%</b>	95%	100%	104%

**Tabla 4.30:** Acortamiento de la VC. Comparación de los resultados del modelo con los resultados experimentales de Spinelli W et al, 1990; Smallwood JK & Steinberg MI, 1988 y Chi L et al, 1990.

Las simulaciones se han llevado a cabo con dos ciclos base de 250 y 400 ms respectivamente. Los resultados los vemos resumidos en la tabla 4.31 y en la gráfica 4.23.

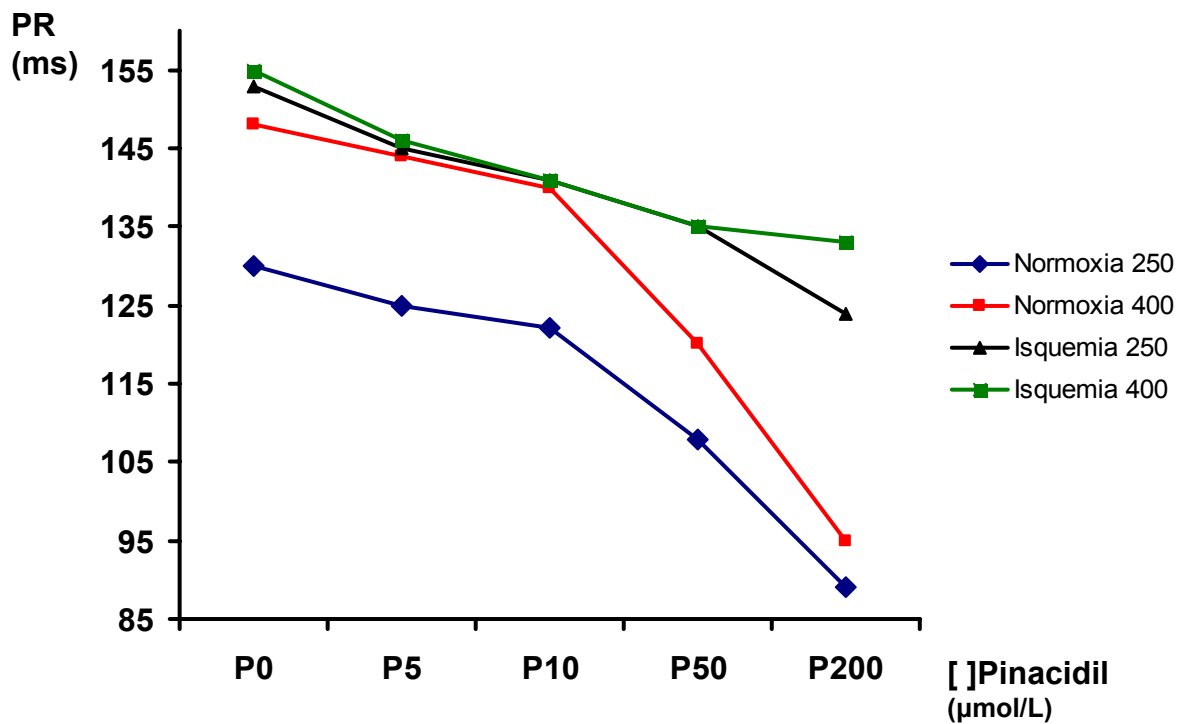
Finalmente, se han simulado las condiciones metabólicas tal y como se han llevado a cabo en la parte experimental con un CB de 250 ms; es decir, en ausencia de fármaco y en presencia de pinacidil 10  $\mu$ M, tanto en situación de normoxia como a los 5 minutos de isquemia. Los resultados los vemos reflejados en la tabla 4.32.

Como podemos observar, el pinacidil ha producido en condiciones de normoxia, una reducción del PR de 130 ms a 107 ms, lo que supone un acortamiento del 17.6%. Así mismo, la isquemia *per se* (sin fármaco), ha reducido el PR de 130 ms a 122 ms. Sin embargo, al igual que en los resultados experimentales, los efectos del fármaco y de la isquemia sobre el PR no resultan sumatorios, puesto que el valor del PR en isquemia (107 ms), sólo se ha acortado un 0.5% más (106 ms) al añadirse el efecto de pinacidil 10  $\mu$ mol/L.

TABLA 4.31: PERIODOS REFRACTARIOS EN CONDICIONES BASALES Y DE ISQUEMIA

	P0	P5	P10	P50	P200
N 250	130	125	122	108	89
N 400	148	144	140	120	95
I 250	153	145	141	135	124
I 400	155	146	141	135	133

**Tabla 4.31:** se muestran los valores de los PR (ms) para los dos ciclos base (250 y 400 ms) en condiciones normales (N) y de isquemia (I), para cada una de las concentraciones de pinacidil (P) en  $\mu\text{mol/L}$ .



**Gráfica 4.23:** valor de los PR para diferentes concentraciones de pinacidil (P) en  $\mu\text{mol/L}$ , en normoxia y a los 10 minutos de isquemia para los dos ciclos base. [ ]: concentración.

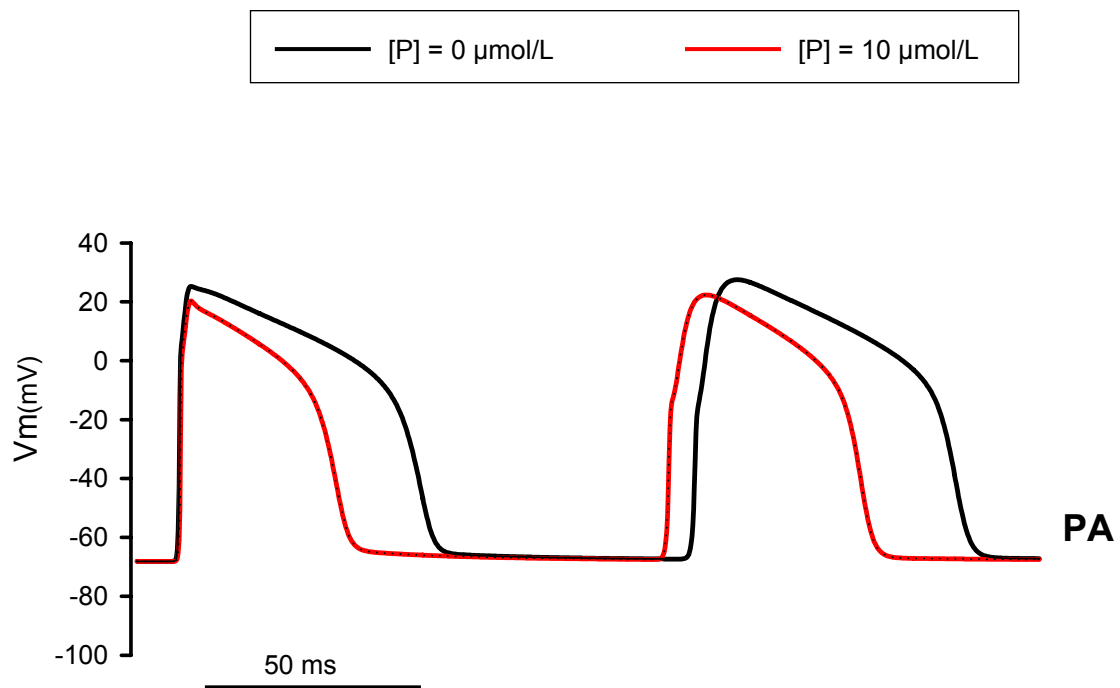


**TABLA 4.32: PR EN NORMOXIA Y EN EL MINUTO 5 DE ISQUEMIA. PINACIDIL 10  $\mu\text{M}$ .**

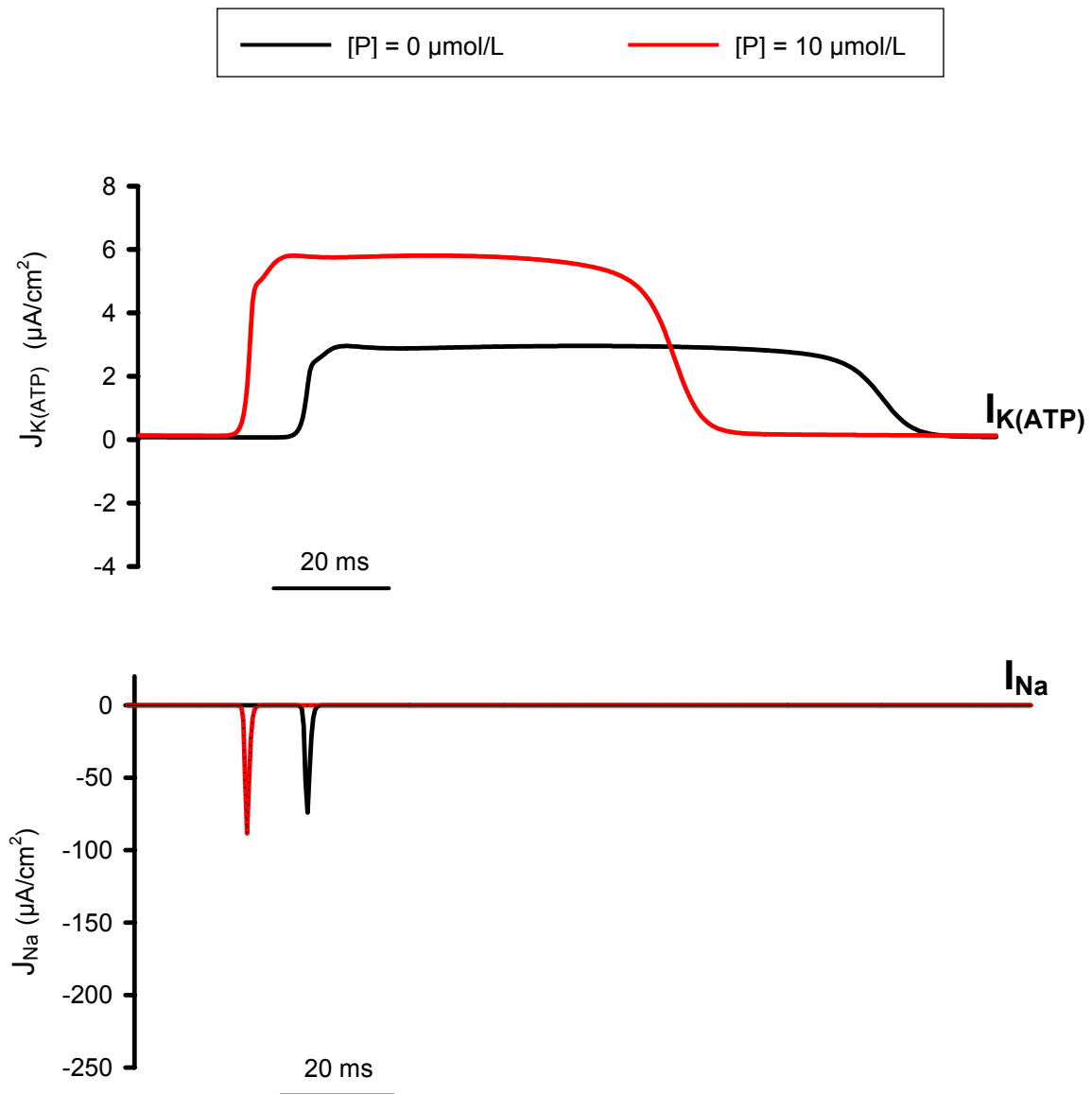
<i>[P]</i> ( $\mu\text{mol/L}$ )	<i>PR Normoxia</i> (ms)	<i>PR isquemia</i> (ms)	<i>PR Normoxia</i> (%)	<i>PR Isquemia</i> (%)
0	<b>130</b> (125)	<b>107</b> (105)	100% (100%)	82.4% (84%)
10	<b>122</b> (114)	<b>106</b> (98)	93.8% (91.2%)	81.9% (78.4%)

**Tabla 4.32:** Valor absoluto (ms) y porcentual de los PR en situación de normoxia y en el minuto 5 de isquemia, en ausencia de pinacidil y bajo los efectos de una concentración de fármaco 10  $\mu\text{mol/L}$ . Entre paréntesis se muestran los valores medios de PR obtenidos experimentalmente (ver tabla 4.14).

Como podemos observar en la figura 4.10, el pinacidil ha reducido de forma severa la DPA en condiciones de isquemia. Igualmente, como era de esperar, la isquemia ha acortado la DPA en presencia y en ausencia de pinacidil. De los resultados obtenidos se deduce que el acortamiento del PR producido por el pinacidil en condiciones de isquemia es mucho menor del que cabría esperar a la luz de sus efectos sobre la DPA, al igual que se observó en condiciones experimentales. Con el objetivo de intentar explicar este fenómeno, se han analizado las corrientes iónicas  $I_{K(ATP)}$  e  $I_{Na}$ . En la figura 4.11 se muestra la evolución de dichas corrientes en el tiempo en isquemia, para una concentración 0 y 10  $\mu\text{mol/L}$  de pinacidil. El aumento de la actividad de la corriente  $I_{K(ATP)}$  inducido por la isquemia, se ve incrementado por el efecto del pinacidil. La actividad de la  $I_{Na}$ , ya disminuida por el efecto de la isquemia, debe alcanzar un nivel mucho más alto que en ausencia del fármaco para conseguir la despolarización del PA y su propagación.



**Figura 4.10:** potenciales de acción correspondientes al último estímulo del CB y al último extraestímulo propagado durante el test del extraestímulo en el minuto 5 de isquemia, en ausencia y presencia de pinacidil 10  $\mu\text{mol/L}$ . Vm: potencial de membrana.



**Figura 4.11:** corrientes  $I_{K(ATP)}$  e  $I_{Na}$  en el minuto 5 de isquemia correspondientes al último extra-estímulo propagado durante el test del extraestímulo, en ausencia y presencia de pinacidil 10  $\mu mol/L$ . J: densidad de corriente.

## B) RESULTADOS CON MODELO BIDIMENSIONAL. EFECTO DEL PINACIDIL SOBRE LA INDUCIBILIDAD DE REENTRADAS EN ISQUEMIA AGUDA

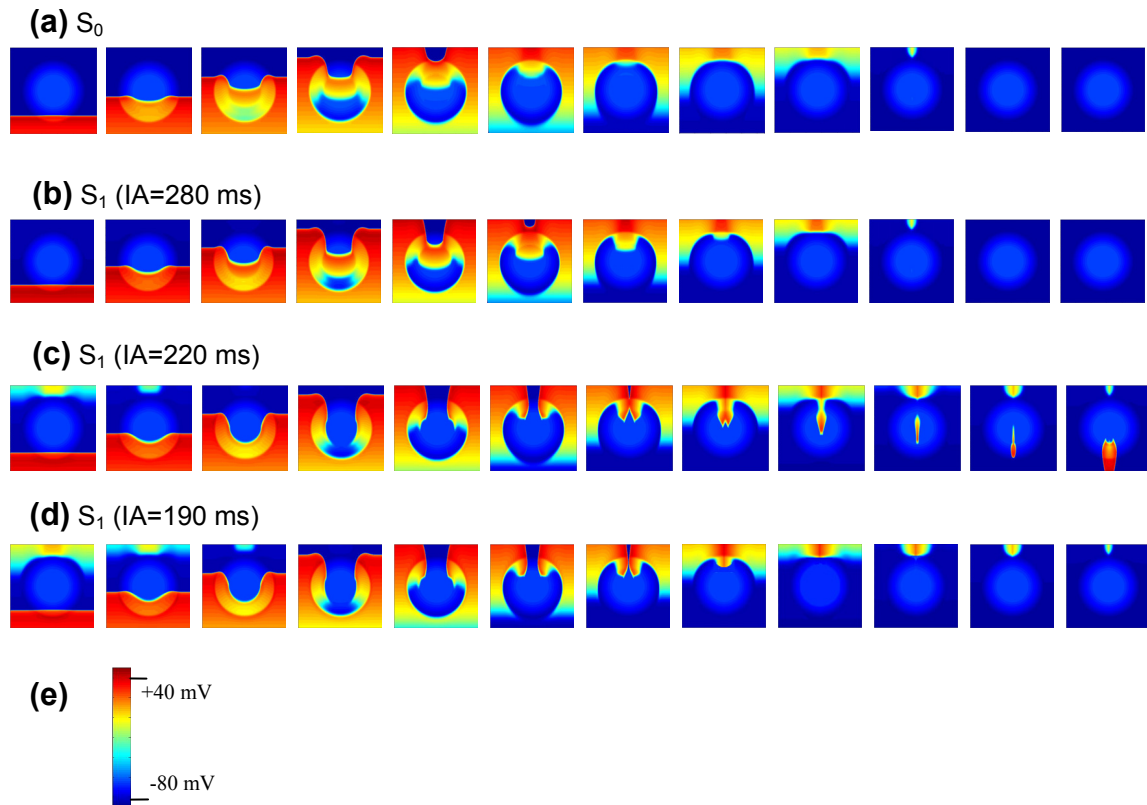
En el estudio experimental sobre la inducibilidad de arritmias en condiciones de isquemia en presencia de pinacidil, se ha puesto de manifiesto el posible efecto protector del fármaco en la fase intermedia de la isquemia aguda (alrededor del minuto 5). Con el fin de analizar este hecho desde el punto de vista teórico, se ha utilizado el modelo de tejido bidimensional isquémico (descrito en el apartado 3.5.4.C y esquematizado en la figura 3.17) y el modelo de la acción del pinacidil para tratar de simular actividad reentrante tras la aplicación de extraestímulos siguiendo un protocolo semejante al utilizado en los experimentos. Las simulaciones realizadas han estado encaminadas a los siguientes objetivos:

(a) comprobar que, bajo ciertas circunstancias, la aplicación de extraestímulos en el modelo de corrientes iónicas, potencial de acción y tejido regionalmente isquémico utilizado es capaz de provocar la aparición de actividad reentrante,

(b) cuantificar la ventana vulnerable (definida en el apartado 3.5.5.B) en condiciones de isquemia regional en ausencia y en presencia de pinacidil, así como estudiar el efecto de la dosis de fármaco sobre la misma, y

(c) estudiar los mecanismos iónicos responsables de dicho efecto.

En la figura 4.12 se han representado los mapas de potencial correspondientes a diferentes instantes después de la aplicación de un estímulo básico  $S_0$  (panel *a*) y un extraestímulo  $S_1$  con distintos intervalos de acoplamiento (paneles *b*, *c* y *d*) a un tejido sin pinacidil. Ambos estímulos se han aplicado en el borde inferior del tejido bidimensional, tal y como se explica en “Materiales y Métodos” (apartado 3.5.5B). En cada mapa, el potencial transmembrana de cada punto está codificado mediante un color tal como aparece reflejado en el panel (*e*), de manera que azul oscuro corresponde a -80 mV y rojo oscuro a +40 mV. El intervalo entre dos fotogramas consecutivos es de 25 ms.



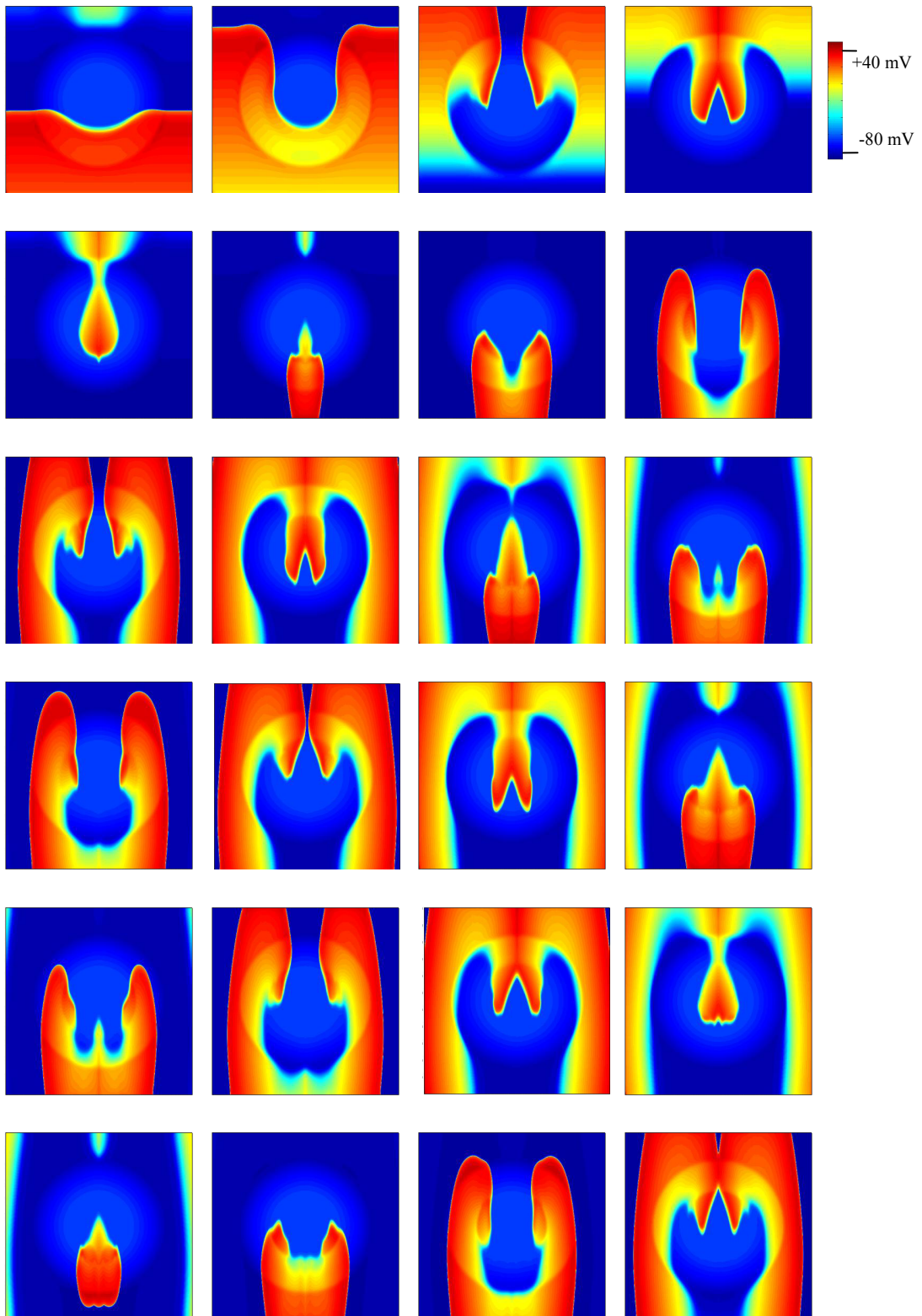
**Figura 4.12:** Mapas instantáneos de potencial transmembrana (“fotogramas”) correspondientes a diferentes instantes de tiempo tras la aplicación del último estímulo del tren básico ( $S_0$ , panel a) y el extraestímulo  $S_1$  (paneles b, c y d) a un tejido bidimensional sometido a isquemia regional en ausencia de pinacidil. El intervalo entre fotogramas es de 25 ms. En el panel (e) se muestra el código de colores para representar el potencial. IA: intervalo de acoplamiento.

En el panel (a) se observa como, tras la aplicación de  $S_0$ , un frente de onda plano se propaga por el tejido, curvándose al alcanzar la BZ y la CZ, debido al enlentecimiento de la velocidad de conducción en estas zonas. La BZ y la CZ son fácilmente identificables en el primer fotograma por su tono más suave de azul, que corresponde con un potencial de reposo más elevado que el de la zona normal (lo cual es esperable como consecuencia de la hiperkalemia). El frente de onda atraviesa la BZ y la CZ (fotogramas 2 a 5), tiempo durante el cual la CZ se repolariza antes que la NZ circundante (CZ azul frente a NZ roja en fotogramas 4 a 7), lo cual es lógico si se tiene en cuenta que la activación de los canales K(ATP) acorta el PA en la CZ. Por último, transcurrido un cierto tiempo, todo el tejido vuelve a estar repolarizado y las células retornan a su potencial de reposo (últimos tres fotogramas).

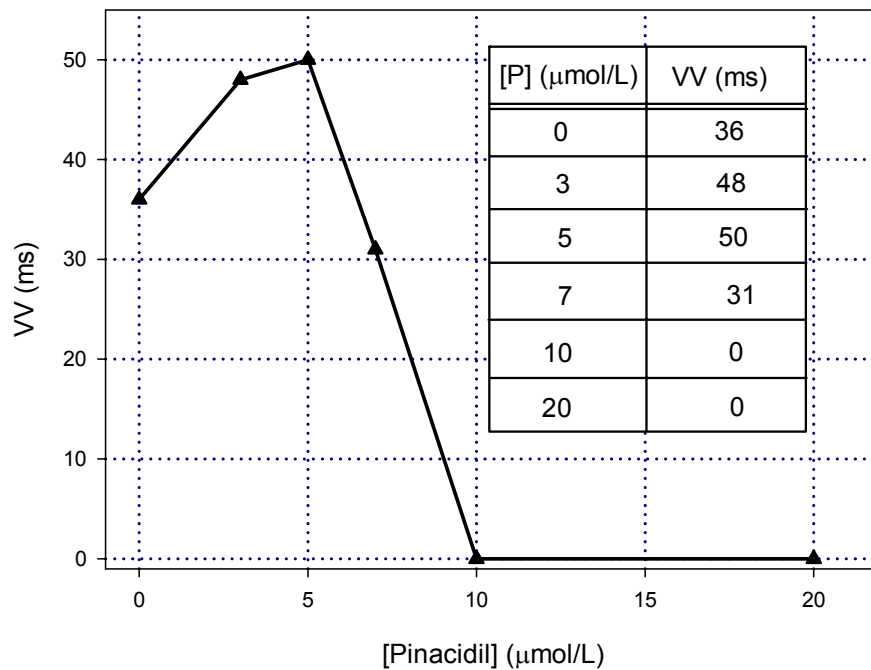
En los paneles (b), (c) y (d) se muestra la evolución de la situación eléctrica del tejido tras aplicar un extraestímulo  $S_1$  en el mismo lugar que  $S_0$  con tres intervalos de acoplamiento diferentes: 280 ms (panel b), 220 ms (panel c) y 190 ms (panel d). En el caso del intervalo de acoplamiento más largo, se observa como el frente de onda se propaga por el tejido de forma muy similar al estímulo básico, con la diferencia de que la VC en la CZ es ligeramente inferior. En cambio, la actividad eléctrica es muy distinta en el caso del intervalo de acoplamiento intermedio (panel c). En efecto, cuando el frente de onda trata de penetrar en la CZ, aparece una línea de bloqueo (tercer fotograma del panel c). La línea de bloqueo coincide aproximadamente con el lado proximal de la CZ adyacente a la BZ. El frente de onda rodea el tejido isquémico refractario siguiendo dos caminos alternativos (fotogramas 4, 5 y 6), y re-excita la CZ en sentido retrógrado después que ésta haya recuperado su excitabilidad (fotogramas 8, 9, 10 y 11), entrando por la zona distal de la misma. Más adelante (último fotograma), el frente de onda reentra en la NZ, estableciéndose así un bloqueo unidireccional que da lugar a una reentrada.

En la figura 4.13 se muestra con más detalle un caso de reentrada similar, ampliándose el número de fotogramas. En este caso, el intervalo de acoplamiento entre estímulos fue de 235 ms. Se observa como la actividad reentrante es automantenida durante al menos cuatro ciclos de reentrada. A la vista de las imágenes, es claro que se ha establecido una reentrada en “figura de ocho”, con dos frentes de onda viajando especularmente por el tejido. Este patrón de reentrada es muy similar a los observados experimentalmente por algunos autores (véase, por ejemplo, Janse MJ et al, 1980; Janse MJ et al, 1981; Costeas C et al, 1997).

Volviendo a la figura 4.12, la última fila de fotogramas (panel d) muestra como, tras la aplicación de un extraestímulo con un intervalo de acoplamiento de 190 ms, el frente de onda que intenta invadir la CZ de forma retrógrada es bloqueado (fotogramas 7 y 8). Por ello, y a diferencia del caso anterior, el bloqueo en la CZ es bidireccional y la reentrada no se establece.



**Figura 4.13:** Fotogramas correspondientes a un intervalo de acoplamiento entre estímulos de 235 ms. Las imágenes muestran la propagación de la actividad eléctrica por el tejido en ausencia de pinacidil tras la aplicación del extraestímulo. El intervalo entre fotogramas es de 50 ms en este caso. El código de colores para representar el potencial es el mismo que el de la figura 4.12.



**Gráfica 4.24:** Variación de la anchura de la ventana vulnerable (VV, en ordenadas) frente a concentración de pinacidil (en abscisas) en el tejido bidimensional sometido a condiciones de isquemia regional. [P]: concentración de pinacidil.

En ausencia de pinacidil, las simulaciones han arrojado actividad reentrante si el intervalo de acoplamiento entre estímulos estaba comprendido en el intervalo 210-246 ms. Por ello, la VV tendrá un valor de 36 milisegundos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Trenor B (2002).

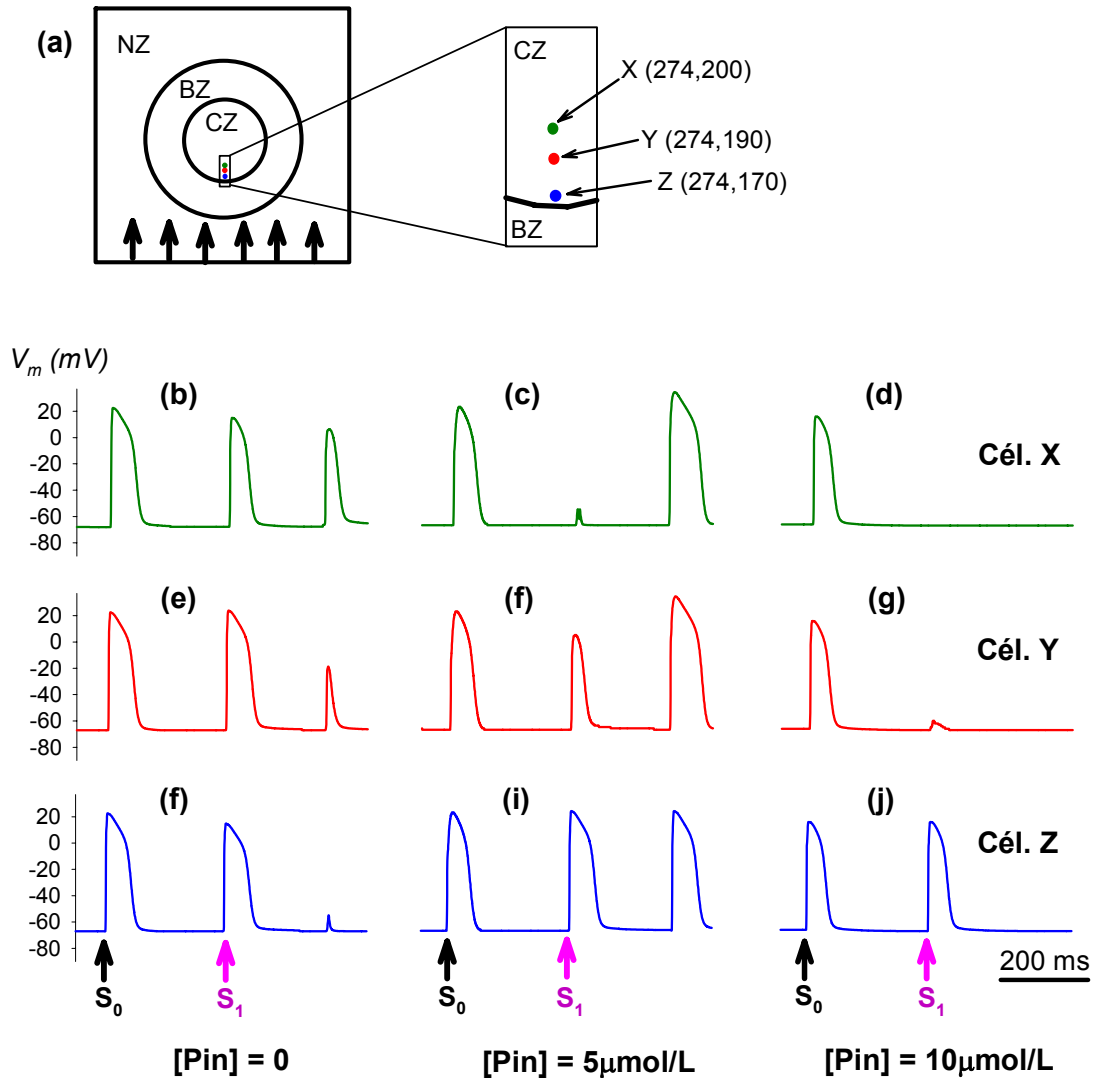
Al repetir las simulaciones en presencia de diferentes dosis de pinacidil (administrado homogéneamente a todo el tejido), la anchura de la VV ha cambiado de valor, alcanzando un máximo de 50 ms para una concentración de 5 μmol/L y un mínimo de 0 ms para concentraciones iguales o mayores de 10 μmol/L. La gráfica 4.24 muestra la variación de la anchura de la VV con la concentración de pinacidil. Si la VV se toma como indicador de la inducibilidad de reentradas (a mayor anchura de VV mayor probabilidad de actividad reentrante), los resultados sugerirían la existencia de una dosis crítica de pinacidil (entre 7 y 10 μmol/L) por encima de la cual la probabilidad de inducción de reentradas mediante un extraestímulo es muy baja (teóricamente nula). Este resul-



tado está de acuerdo con el obtenido experimentalmente (menor incidencia de fibrilación ventricular tras un extraestímulo en presencia de  $10 \mu\text{mol/L}$  de pinacidil que en ausencia del fármaco).

Una vez comprobado que el modelo es capaz de simular correctamente actividad reentrante, se ha utilizado el mismo para intentar explicar la dependencia observada en la anchura de la VV con la concentración de pinacidil. Esta tarea se ha realizado observando los PA, las corrientes iónicas y los períodos refractarios del tejido para diferentes concentraciones del fármaco. En primer lugar, se ha elegido un intervalo de acoplamiento entre estímulos que produzca actividad reentrante para una concentración de pinacidil de  $5 \mu\text{mol/L}$  (para la cual la VV tiene su máxima anchura), pero que no lo haga en ausencia de pinacidil (por estar dicho intervalo de acoplamiento fuera de la VV) ni a una concentración de  $10 \mu\text{mol/L}$  (por tener anchura 0 la VV a esta concentración). Una vez escogido el intervalo de acoplamiento (255 ms), se han realizado tres simulaciones (una para cada dosis) y se han analizado los PA resultantes.

En la figura 4.14 se muestran los PA en tres puntos seleccionados del tejido en las proximidades de la línea de bloqueo. Los tres puntos (de coordenadas [274,200] (verde), [274,190] (rojo) y [274,170] (azul)) se encuentran en la zona proximal de la CZ, muy cerca de la BZ (ver panel *a*). La primera columna (paneles *b*, *e*, *h*) corresponde a una dosis nula del fármaco, la segunda (paneles *c*, *f*, *i*) muestra los potenciales para una dosis de  $5 \mu\text{mol/L}$ , mientras que la tercera (paneles *d*, *g*, *j*) corresponde a  $10 \mu\text{mol/L}$ . En cada panel, los primeros PA corresponden a la respuesta al estímulo  $S_0$ ; los segundos (en caso de existir) son la respuesta al extraestímulo  $S_1$ ; por último, los terceros PA (en caso de existir) corresponden a la circulación retrógrada del frente de onda.

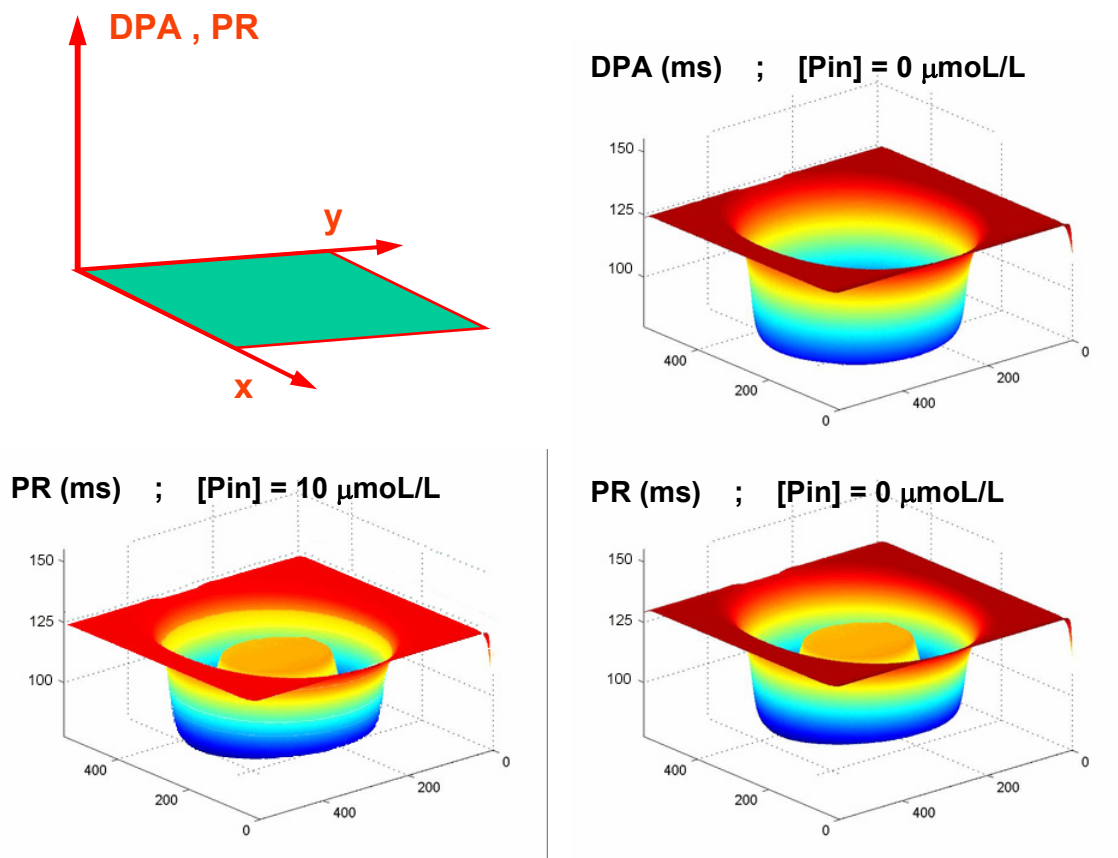


**Figura 4.14:** Potenciales de acción en tres puntos del tejido (X, Y y Z, posiciones indicadas en el panel a) cercanos a la línea de bloqueo. Cada columna de potenciales corresponde a una dosis diferente de pinacidil (indicada en la parte inferior). Cada fila corresponde a los PA de uno de los puntos seleccionados (indicados en la parte derecha). Los primeros PA de cada panel corresponden a la respuesta al estímulo básico ( $S_0$ ); los segundos (en su caso), al estímulo prematuro ( $S_1$ ) aplicado con un intervalo de acoplamiento de 255 ms; los terceros (en su caso), a conducción retrógrada. [Pin]: concentración de pinacidil.

En los tres casos estudiados, la aplicación del estímulo  $S_0$  conduce a la propagación de los PA (los primeros de cada panel) a través de todo el tejido. En cuanto al extraestímulo, los PA generados por  $S_1$  se propagan hacia arriba (en sentido anterógrado) en ausencia de pinacidil (columna izquierda). Aunque el frente de onda será finalmente bloqueado en el centro de la CZ (no se muestra en la figura), todavía es capaz de alcanzar la célula X (segundo PA en el panel *b*). Paralelamente, el frente de onda está rodeando la CZ viajando por tejido normal, de modo que la célula X desarrolla un tercer potencial de acción (panel *b*) que intenta ser conducido hacia abajo en sentido retrógrado. Sin embargo, la propagación de este PA se bloquea a la altura de las células Y y Z (respuestas subumbrales en los paneles *e* y *f*).

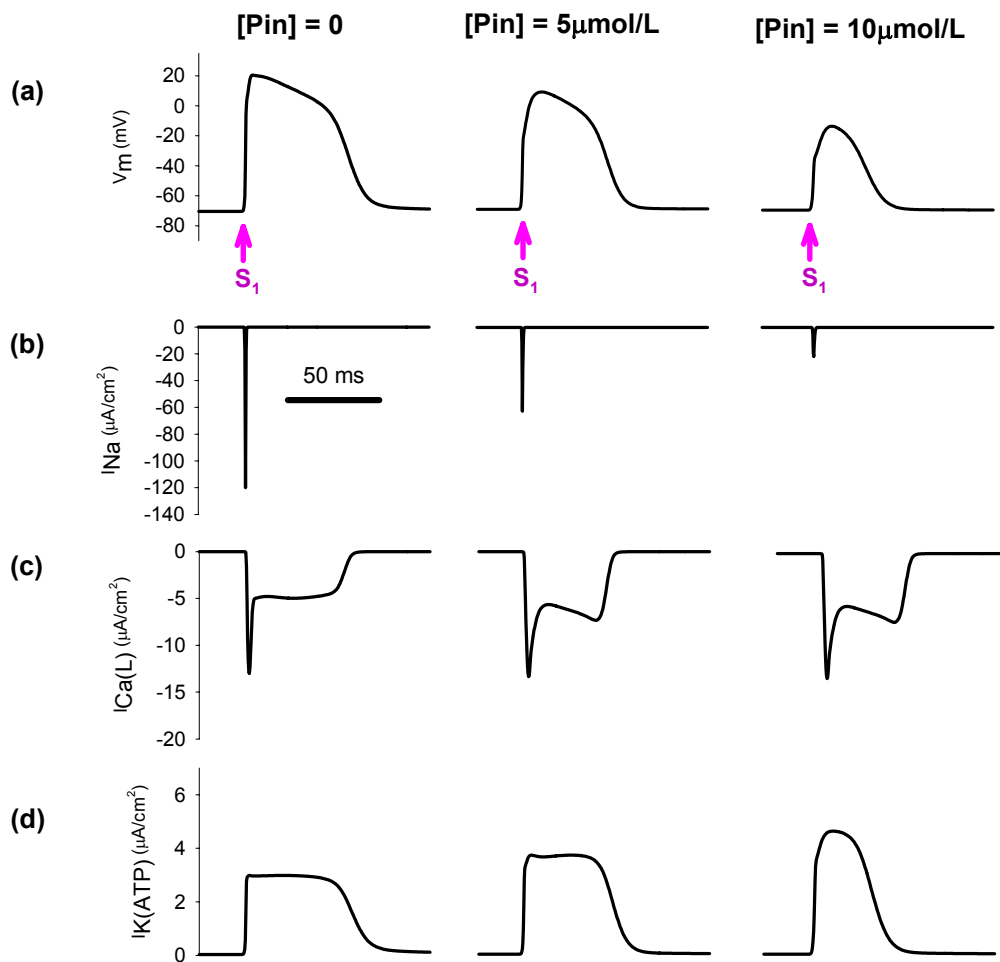
Sin embargo, en el caso de la dosis de 5  $\mu\text{mol/L}$  (paneles *c*, *f*, *i* de la figura 4.14), el PA conducido anterógradamente (segundo PA en el panel *f* y el panel *i*) como respuesta al extraestímulo se bloquea cerca de la célula X (respuesta subumbral en el panel *c*), mientras que en este caso el PA propagado retrógradamente consigue atravesar la CZ (tercer PA en los paneles *c*, *f* e *i*) generando una reentrada completa. Finalmente, en el caso de la dosis alta (10  $\mu\text{mol/L}$ , paneles *d*, *g* y *j*), el PA generado por el extraestímulo  $S_1$  se bloquea cerca de la célula Y, mientras que la (incipiente) actividad retrógrada también es bloqueada y ni siquiera llega a observarse en las gráficas. De este modo, no se genera reentrada para esta dosis de pinacidil.

Para las tres dosis estudiadas, la aplicación del estímulo  $S_0$  conduce a la propagación de los PA (los primeros de cada panel) a través de todo el tejido. Para determinar si las diferencias entre los períodos refractarios y la refractariedad post-repolarización juegan un papel importante en la generación de los bloqueos en los frentes de onda subsiguientes a  $S_1$  (analizados en el párrafo anterior), se han medido las distribuciones de DPA y PR a lo largo del tejido bidimensional. Los valores de DPA se muestra en la figura 4.15 (panel superior derecho) para dosis nula de fármaco, mientras que las distribuciones de PR en ausencia y presencia del fármaco se muestran en los paneles inferiores.



**Figura 4.15:** Distribución de duraciones de potencial de acción (DPA, panel superior derecho) y períodos refractarios (PR, paneles inferiores) en el tejido bidimensional simulado (representado esquemáticamente en verde en el panel superior izquierdo).

En la figura 4.15 se observa que la DPA en el tejido decrece de forma monótona al adentrarnos en la zona central isquémica (CZ), mientras que el PR sigue una distribución diferente, disminuyendo al entrar en la zona de borde (BZ) pero aumentando posteriormente dentro de la CZ (como consecuencia de la refractariedad post-repolarización). Por otro lado, y en concordancia con los resultados mostrados en el apartado 4.3.1.A3 (experimentos) y 4.3.2Ac (modelos), no se observan diferencias significativas entre los PR dentro de la CZ correspondientes a la ausencia y a la presencia del fármaco, encontrándose una diferencia significativa pero pequeña entre los valores del PR en la zona normal (130 ms para  $0 \mu\text{mol/L}$  de pinacidil y 123 ms para  $10 \mu\text{mol/L}$ ). Puede concluirse, por tanto, que las diferencias en los PR no explican el efecto de la dosis de fármaco sobre la generación de bloqueos y la inducibilidad de reentradas.



**Figura 4.16:** Potenciales de acción (panel a), corriente de entrada de sodio (panel b), corriente de calcio a través de los canales tipo L (panel c) y corriente de potasio sensible a ATP (panel d) en la célula de coordenadas (274,180) del tejido simulado. Dicha célula se encuentra en la zona proximal de la CZ, entre las células Y y Z de la figura 4.14(a). Cada columna corresponde a una dosis diferente de pinacidil, indicada en la parte superior de la figura. [Pin]: concentración de pinacidil.

Con el fin de analizar el papel jugado por las diferentes corrientes iónicas subyacentes al potencial de acción en la generación de los bloqueos y las reentradas, se han estudiado las corrientes más relevantes en una célula cercana a la línea de bloqueo en la zona proximal de la CZ (célula de coordenadas [274,180], situada entre las células Y y Z en la figura 4.14a). En la figura 4.16(a) se muestra la evolución temporal del potencial de acción en dicha célula-

---

la que resulta de la aplicación del extraestímulo ( $S_1$ ). En los paneles inferiores aparece la evolución temporal de las corrientes iónicas más relevantes en el estudio: la corriente de entrada de sodio ( $I_{Na}$ ) en el panel (b), la corriente de entrada de calcio a través de los canales tipo L ( $I_{Ca(L)}$ ) en el panel (c) y la corriente de potasio sensible a ATP ( $I_{K(ATP)}$ ) en el panel (d). Finalmente, cada columna corresponde a los resultados para una dosis de pinacidil distinta (0, 5 y 10  $\mu\text{mol/L}$  respectivamente).

De los resultados se deduce que la corriente  $I_{Na}$  disminuye drásticamente al aumentar la dosis de pinacidil, mientras que la corriente  $I_{K(ATP)}$  sufre el efecto contrario. En el caso de la dosis alta de fármaco, el pico de la  $I_{Na}$  (21  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ) es comparable al valor máximo de la  $I_{K(ATP)}$  (5  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ).

## V. DISCUSIÓN

### 5.1 EFFECTOS DE LA FLECAINIDA

#### 5.1.1 EFFECTOS DE LA FLECAINIDA SOBRE LAS VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN VENTRICULAR

Basalmente, las velocidades de conducción longitudinal y transversal medias obtenidas para cada uno de los intervalos de acoplamiento, son las referidas en el apartado 4.1 (tabla 4.3). La relación VL/VT ha sido de 2.45 para  $S_0$  y no se ha demostrado variación significativa de dicho cociente al modificar el intervalo de acoplamiento.

Estos resultados son concordantes con la práctica totalidad de autores, que encuentran basalmente una relación VL/VT entre 2 y 3, como resultado de la conducción anisotrópica en el miocardio (Schalij MJ et al, 1992; Boersma L et al, 1994; Restivo M et al, 1995; Coromilas J et al, 1995; Iida M et al, 1996; Lacroix D et al, 1998; Furukawa Y et al, 2000; Koura T et al, 2002). La existencia de conducción anisotrópica basal se justificaría por la existencia de una menor resistencia axial a la corriente (menor en sentido longitudinal que en sentido transversal), debido a que los frentes de onda que se propagan paralelos al eje mayor de las fibras encuentran menor número de discos intercalares

(resistencias) que los que se propagan perpendicularmente (transversales) para una misma distancia (Iida M et al, 1996; García Civera R et al, 1999)

En nuestro estudio, la flecainida ha reducido de forma significativa ambas velocidades de conducción para todos y cada uno de los intervalos de acoplamiento utilizados. La reducción de las velocidades de conducción producida por la flecainida se explica por su potente efecto inhibitor de la  $I_{Na}$  (Tamargo J & Valenzuela C, 1992) que lo clasifica en el grupo Ic de Vaughan-Williams (Vaughan Williams EM et al, 1970). La flecainida presenta una alta afinidad por el estado activo del canal y su cinética de disociación es lenta, lo que produce una gran depresión de la  $I_{Na}$ . El resultado es una reducción en la velocidad de ascenso de la fase 0 del PAT de las células auriculares, ventriculares y del sistema His-Purkinje, que se manifiesta como un aumento en los tiempos de activación intracardíacos. Esto explica el ensanchamiento del complejo QRS en el ECG de superficie que induce la administración de flecainida (Hellestrand KJ et al, 1982; Holmes B & Heel RC, 1985; Tamargo J & Valenzuela C, 1992; Katrictis D et al, 1995).

Casi la totalidad de autores han llegado a la misma conclusión en sus trabajos. Así, la flecainida ha demostrado reducir ambas velocidades de conducción tanto en corazones sanos (Kadish AH, 1986; Restivo M, 1995; Iida M et al, 1996; Lacroix D, 1998) como isquémicos (Coromilas J et al, 1995; Restivo M, 1995). Sin embargo Heisler BE et al, son prácticamente los únicos autores que describen un efecto de la flecainida únicamente sobre la velocidad de conducción transversal (Heisler BE et al, 1996).

Igualmente, la flecainida ha demostrado que reduce la velocidad de conducción en estudios electrofisiológicos en humanos (Smallwood JK et al, 1989; Katrictis D et al, 1995; Watanabe H et al, 2001), efecto patente en las vías accesorias auriculoventriculares tanto en conducción anterógrada como en retrógrada (Neus H et al, 1983).

Este efecto de la flecainida ha sido comprobado y comparado entre distintas especies animales (Wang Z, 1990) y con respecto a otros fármacos del grupo Ic como la propafenona (Kadish AH et al, 1986).



### 5.1.2 EFECTOS DE LA FLECAINIDA SOBRE LAS VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN EN FUNCIÓN DEL INTERVALO DE ACOPLAMIENTO

De los resultados obtenidos se desprende que el intervalo de acoplamiento influye en los efectos de la flecainida sobre la VL, no siendo así en el caso de la VT. El efecto de la flecainida aumenta cuanto menor es el intervalo de acoplamiento entre estímulos. A menor acoplamiento, por tanto, la flecainida produciría un efecto depresor progresivamente mayor únicamente sobre la VL.

Basalmente, en ausencia de fármaco, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativa entre las VT al variar el intervalo de acoplamiento. En el caso de las VL se observa una tendencia a decrecer, pero las diferencias no han resultado estadísticamente significativas. Estos hallazgos basales coinciden con los resultados de otros grupos de trabajo (Kadish AH et al, 1986; Lacroix D et al, 1998).

Tras la administración de flecainida se ha producido un mayor decremento de las VL al acortarse el ciclo. A este efecto que depende del intervalo de acoplamiento, se le conoce como “use-dependent effect” cuando se estudia aplicando frecuencias cardíacas crecientes (“efecto dependiente de la frecuencia”), y consiste en un incremento en la acción del antiarrítmico con frecuencias cardíacas progresivamente mayores (con ciclos de estimulación progresivamente menores).

Nuestros resultados son coincidentes con la mayoría de trabajos publicados. Prácticamente la totalidad de autores han descrito este efecto para la flecainida, tanto en estudios clínicos (Katristsis D et al, 1995; Watanabe H et al, 2001) como experimentales, en los que se han analizado los efectos sobre la VL en aurícula (Wang Z et al, 1990 y 1992) y en ventrículo (Usui M et al, 1993; lida M et al, 1996; Kondo T et al, 1997). Sin embargo, coincidiendo con nuestros resultados, ninguno de estos autores ha descrito este efecto para las VT, que permanecerían constantes al variar el acoplamiento bajo los efectos de la flecainida. La aparición de bloqueos en la conducción transversal relacionados con una mayor frecuencia de estimulación en presencia de flecainida descrita por algunos autores (Coromilas J et al, 1995; Ranger S & Nattel S, 1995), contradirían nuestros resultados al sugerir un mayor efecto sobre la VT con ciclos

cortos de estimulación. Ambos estudios tienen en común que se realizan en corazones sometidos a isquemia. La explicación de este fenómeno podría estar en relación con una inversión de los factores de seguridad para la conducción longitudinal y transversal en condiciones de isquemia. En corazones sanos, el factor de seguridad es mayor para la conducción transversal que para la longitudinal (Spach MS & Kootsey JM, 1983). Sin embargo, en condiciones alteradas de membrana, se ha comprobado que el factor de seguridad para la conducción transversal se reduce significativamente (Delgado C et al, 1990), favoreciendo así la aparición de bloqueos en esta dirección y, en mayor medida, bajo los efectos de la flecainida. Es decir, los bloqueos transversales que encuentran estos autores no estarían en relacionados con un mayor efecto de la flecainida sobre la conducción transversal, sino con un menor factor de seguridad para la conducción transversal en condiciones de isquemia. Así, Turgeon J et al (1992), al igual que Kondo T et al (1997), en sus experimentos con corazón de perro sin isquemia, encuentran que la flecainida induce más bloqueos de la conducción longitudinal que de la transversal.

La disminución de la velocidad de conducción con intervalos de acoplamiento decrecientes bajo los efectos de la flecainida (efecto dependiente de la frecuencia) es común a los fármacos del grupo I de la clasificación de Vaughan-Williams (Kadish AH et al, 1986; Pallandi RT & Campbell TJ 1998) y ha sido estudiado también en condiciones de isquemia en el corazón de perro. Restivo M et al (1995) comparan este efecto entre un grupo control y un grupo de corazones isquémicos, llegando a la conclusión de que es mucho más marcado en corazones isquémicos que en los no isquémicos.

El efecto dependiente del intervalo de acoplamiento para la flecainida puede explicarse por su afinidad por el estado activo del canal de  $\text{Na}^+$  sobre el que interactúa. En concordancia con la teoría del receptor modulado, según la cual la afinidad de los fármacos por su receptor puede variar en función del estado conformacional del canal, la flecainida tiene mayor afinidad por su receptor cuando el canal de  $\text{Na}^+$  se encuentra en estado activo (Tamargo J & Valenzuela C, 1992). Cuanto mayor es la frecuencia de estimulación, los canales de  $\text{Na}^+$

estarían en estado activo más veces por unidad de tiempo, por lo que el tiempo total de unión del fármaco a su receptor sería mayor y, por tanto, mayor el efecto del fármaco. En esta línea, Rouet R & Ducouret P (1994), justifican el efecto frecuencia dependiente de la flecainida como el resultado de un acúmulo del efecto del fármaco inducido por un uso (y por tanto, un bloqueo) repetitivo de los canales de  $\text{Na}^+$ , sugiriendo la existencia de una afinidad por el estado activo del canal. Esta explicación es la más aceptada por los diferentes grupos de trabajo (Rouet R & Ducouret P, 1994; Iida M et al, 1996; Kondo T et al, 1997; Lacroix D et al, 1998). Sin embargo Liu H et al (2002), sugieren que la apertura de los canales de  $\text{Na}^+$  (estado activo), sería necesaria pero no suficiente para justificar el efecto dependiente del acoplamiento para la flecainida, ya que dicho efecto estaría más en relación con la inactivación que ocurre tras la apertura del canal.

Los argumentos anteriormente expuestos, sin embargo, no serían suficientes para explicar la influencia del intervalo de acoplamiento sobre la acción del fármaco, puesto que en nuestro protocolo no se ha estudiado este efecto mediante estimulación a frecuencias crecientes sino con extraestímulos, lo que impediría que el fármaco alcanzara el "steady state". Deberían ser considerados otros factores como el tipo de cinética de asociación-disociación de la flecainida con el canal para explicar el fenómeno en nuestro modelo. La flecainida posee una cinética de acción lenta (lo que la clasifica en el subgrupo Ic) (Tamargo J & Valenzuela C, 1992); es decir, el tiempo que precisa para disociarse del canal es relativamente largo. Si se acopla un extraestímulo precoz, la flecainida actuaría sobre un canal que aún se encuentra parcialmente bloqueado por el efecto producido durante el estímulo anterior, por lo que el efecto final del fármaco aumentaría. (Tamargo J & Valenzuela C, 1992; Weirich J et al, 1992; Iida M et al, 1996). Pallandi RT et al (1988) en sus estudios con preparaciones de fibras de Purkinje de corazón de perro, analizan el efecto de los diferentes tipos de antiarrítmicos (grupos Ia, Ib y Ic) sobre las velocidades de conducción con intervalos de acoplamientos decrecientes y apoyarían este argumento. Según ellos, esto explicaría por ejemplo, por qué los antiarrítmicos del grupo Ib con cinéticas rápidas, deprimirían de forma selectiva la conducción de latidos prematuros sin afectar a latidos normales, ya que su disociación precoz del ca-

nal haría que no afectara a latidos sucesivos; no siendo así en el caso de la flecainida.

Así pues, el efecto dependiente de la frecuencia para la flecainida podría estar relacionado de forma combinada por un lado con su afinidad por el estado activo del canal (que se activa mayor número de veces por unidad de tiempo cuando la frecuencia de estimulación es alta), y por otro con su cinética de interacción lenta con el canal de  $\text{Na}^+$ . Otro argumento que podría explicar el efecto dependiente del intervalo de acoplamiento en nuestro modelo sería el siguiente: Chen C & Gettes LS (1976) comprueban cómo en el músculo papilar del cobaya, a menor intervalo de acoplamiento, la  $\dot{V}_{\text{max}}$  del PAT es más lenta (es decir, la fase 0 del PAT es de mayor duración). Si el PAT generado por el extraestímulo presenta una fase 0 de mayor duración que durante el tren base y, por tanto, los canales de  $\text{Na}^+$  permanecen más tiempo activados, el efecto de la flecainida sería mayor sobre la conducción generada por el extraestímulo.

El hecho de que el efecto dependiente de la frecuencia se produzca de forma predominante en la conducción longitudinal y no en la transversal es poco discutido, en general, por los diferentes grupos de investigación experimental. La razón de este fenómeno podría estar en relación con el efecto diferencial de la flecainida sobre las velocidades de conducción longitudinales versus transversales que se discutirá en el apartado siguiente.

### 5.1.3 EFECTOS DE LA FLECAINIDA SOBRE LAS VELOCIDADES DE CONDUCCIÓN LONGITUDINAL VERSUS TRANSVERSAL

Los efectos de la flecainida sobre las velocidades de conducción longitudinal versus transversal ha sido estudiada por numerosos grupos de investigación, llegando a resultados dispares.

Según nuestros resultados, con intervalos de acoplamiento de 250 ms ( $S_0$ ), la flecainida tendría un mayor efecto sobre la VT. Sin embargo, conforme acortamos el intervalo de acoplamiento ( $S_1$ ,  $S_2$ ), estas diferencias se pierden pasando a tener un efecto similar sobre ambas velocidades. Este resultado está en concordancia con el hecho de que a menor intervalo de acoplamiento, se magnifique el efecto de la flecainida sobre la VL y no sobre la VT como veíamos en el apartado anterior. Es decir; inicialmente, el efecto es mayor sobre la

VT, pero gracias a que el efecto sobre la VL va aumentando conforme se acorta el acoplamiento (no así en la VT), los efectos, finalmente, se igualan.

Los resultados de otros grupos de trabajo a este respecto son, como ya se ha comentado, muy dispares. Unos grupos obtienen un mayor efecto de la flecainida sobre la VL (Turgeon J et al, 1992; Iida M et al, 1996; Kondo T et al, 1997; Bauer A et al, 2001), otros no obtienen diferencias significativas entre los efectos sobre ambas velocidades (Brugada J et al, 1991; Restivo M et al, 1995; Coromilas J et al, 1995; Ranger S & Nattel S, 1995) y otros, sin embargo, al igual que en nuestro trabajo a ciclo 250 ms, obtienen mayor efecto sobre la VT (Yamashita T et al, 1992; Heisler BE et al, 1996; Lacroix D et al, 1998). Revisando todos estos trabajos, no hemos encontrado relación significativa entre la dosis o la vía de administración del fármaco, ciclo de estimulación ni especie animal, y un mayor o menor efecto sobre ambas velocidades de conducción.

Según nuestros resultados, el efecto sobre la VL versus la VT habría que relativizarlo al acoplamiento utilizado. Con intervalo de acoplamiento de 250 ms, la flecainida tendría mayor efecto sobre la VT. Lacroix D et al, en sus experimentos con corazón aislado de cerdo, obtienen un mayor efecto de la flecainida sobre la VT precisamente a intervalos de acoplamiento de 300 ms y 250 ms. A iguales resultados llegaron Heisler et al (1996). Yamashita T et al (1992) demuestran cómo la flecainida es capaz de revertir a ritmo sinusal un flutter auricular inducido en corazón de perro in situ, por deprimir de manera preferencial la conducción en la zona lenta del circuito en donde la propagación de los frentes de onda era transversal al eje mayor de las fibras. Para intervalos de acoplamiento menores ( $S_1$  y  $S_2$ ) el efecto de la flecainida sobre la VL y sobre la VT no muestra, en nuestro estudio, diferencias significativas. Brugada J et al (1991), en un modelo de corazón aislado de conejo, describen cómo con intervalos de acoplamiento cortos (170-80 ms) la flecainida muestra igual efecto sobre ambas velocidades. Este efecto de la flecainida también ha sido comprobado en corazones isquémicos de perro (Coromilas J et al, 1995; Ranger S & Nattel S, 1995).

Así pues, según nuestro estudio, no deberíamos hablar de efecto de la flecainida sobre las velocidades de conducción longitudinal versus transversal, sino que deberíamos relativizarlo al intervalo de acoplamiento.

De los resultados obtenidos podemos concluir que la conducción longitudinal es más sensible que la transversal a los cambios de acoplamiento especialmente bajo los efectos de la flecainida. Esta mayor sensibilidad de la VL a los efectos de la flecainida cuando se reduce el intervalo de acoplamiento podría deberse a varios factores que a continuación planteamos. Cuando se registra el PAT de un cardiomiocito a través del cual se está produciendo la conducción de forma longitudinal (paralela a su eje mayor), la velocidad de ascenso de la fase 0 ( $V_{max}$ ) de dicho PAT es menor que cuando la conducción se produce de forma transversal (Spach MS et al, 1987). Debido a esto, a pesar de ser la conducción longitudinal más rápida que la transversal, el factor de seguridad es mayor en éste sentido que en aquel. Esta aparente paradoja postulada y demostrada por Spach MS et al ha sido comprobada por otros grupos experimentales (Iida M et al, 1996). Así pues, durante la conducción longitudinal, la fase 0 del PAT es de mayor duración que en sentido transversal, por lo que los canales de  $Na^+$  se encuentran abiertos durante mayor espacio de tiempo. Esto haría que la velocidad de conducción longitudinal fuera más dependiente de la  $I_{Na}$  que la transversal, qué sería mucho mas dependiente de la geometría y de las uniones célula a célula (Spach MS et al, 1985). Además, conforme acortamos el acoplamiento, la  $V_{max}$  del PAT va, a su vez, haciéndose menor (Chen C & Gettes LS, 1976) por lo que aumentaría aun más la duración de la fase 0 y los canales de  $Na^+$  permanecerían aun más tiempo abiertos. Dado que la flecainida es un potente bloqueante de los canales de  $Na^+$ , y debido a su alta afinidad por el estado activo del canal, su efecto sería más pronunciado sobre la conducción longitudinal (Turgeon J et al, 1992; Iida M et al, 1996; Kondo T et al, 1997) especialmente a menor intervalo de acoplamiento. Según este razonamiento, la conducción longitudinal sería más sensible a los efectos de la flecainida conforme acortamos el acoplamiento entre estímulos que la transversal, pudiendo explicar nuestros resultados.

La importancia del estudio de las variaciones del ratio anisotrópico (VL/VT) inducido por la flecainida, se debe a que a través de la compleja interacción del fármaco con el tejido ventricular peculiarmente anisotrópico, podría explicarse su efecto proarritmogénico (Brugada J et al, 1991; Schalij MJ et al, 1992; Kondo T et al, 1997; Lacroix D et al, 1998). La aparición de zonas de bloqueo funcional inducidas por la flecainida se relaciona con la aparición de arritmias por reentrada (Morganroth J & Horowitz LN, 1984; Brugada J et al, 1991; Usui M et al, 1993; Katristis D et al, 1995; Kondo T et al, 1997), especialmente en condiciones de isquemia (Ranger S et al, 1995; Coromilas J, 1995; Restivo M et al, 1995; Heisler BE et al, 1996).

## **5.2 EFECTOS DEL DOFETILIDE**

### **5.2.1 EFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS VENTRICULARES**

El dofetilide ha producido un alargamiento de los PR para todos los ciclos de estimulación, sin afectar de manera significativa a la VC. Estos dos fenómenos han conducido a un alargamiento de la  $\lambda_o$  del proceso de activación, que se ha producido igualmente con todos los ciclos de estimulación.

El dofetilide bloquea de forma selectiva el componente rápido de la corriente de rectificación tardía de  $K^+$  ( $I_{Kr}$ ), alargando la DPA y, por tanto, los períodos refractarios (Carmeliet E, 1992; Tohse N & Karmo M, 1995; Bauer A et al, 1999; Falk RH & De Cara JM, 2000; Mounsey JP & Di Marco JP, 2000; Sing S et al, 2000; Torp-Pedersen CH et al, 2000; Diaz AL & Clifton GD, 2001); efecto que sitúa al fármaco en la clase III de la Clasificación de Vaughan Williams.

Nuestros resultados son concordantes con los resultados de los demás grupos de trabajo que obtienen una prolongación de la refractariedad sin afectar la VC, hechos que provocan un alargamiento de la  $\lambda_o$ . Estos efectos se han obtenido tanto en tejido auricular (Cha Y et al, 1996; Wirth KJ & Knobloch K, 2001); con un efecto predominante sobre la aurícula derecha (Knobloch K et al,

2002), como en tejido ventricular; tanto en experimentación animal (Tande PM et al, 1990; Gwilt M et al, 1991; Carmeliet E, 1992; Yuan S et al, 1994; Baskin EP & Lynch JJ, 1998; Bauer A et al, 1999; Van Opstal JM et al, 2001) como en estudios electrofisiológicos en humanos (Bashir Y et al, 1995; Echt DS et al, 1995; Demolis JL et al, 1996). Yuan S et al (1994) estudian el efecto del dofetilide sobre la refractariedad ventricular en humanos y observan cómo el fármaco alarga la DPA medida desde el inicio del PA hasta el 50 y el 90% de su duración total ( $DPA_{50}$  y  $DPA_{90}$ ), pero no la  $DPA_{25}$ . Este fenómeno parece estar en relación con una mayor contribución de la  $I_{Kr}$  durante la fase 3 del PA que en durante la fase 2. El efecto del dofetilide sobre la refractariedad auricular es más potente que sobre la refractariedad ventricular (Baskin EP & Lynch JJ, 1998; Falk RH & De Cara JM, 2000).

Este efecto selectivo del dofetilide sobre la refractariedad sin afectar a la VC, es el responsable de su efecto antiarrítmico al alargar la  $\lambda_o$  (Andersen HR et al, 1994). Además, su efecto en el miocardio ventricular se produce de forma homogénea, por lo que contribuye a homogeneizar los PR (Bauer A et al, 1999), efecto que se mantendría en condiciones de isquemia aguda (Rouet R et al, 2000) y crónica (Chen J et al, 1996).

Así pues, el alargamiento de la refractariedad ventricular obtenida en nuestro trabajo se explica por el mecanismo de acción de la droga sobre la  $I_{Kr}$ . Aunque el lugar específico de unión del dofetilide al canal HERG es desconocido (Kiehn J et al, 1996), Ficker E et al (1998) relacionan una serina en posición HERG 620 con el lugar específico de acción de la droga sobre el canal. La interacción del dofetilide con el canal es voltaje y dosis dependiente (Falk RH & De Cara JM, 2000; Mounsey JP & Di Marco JP, 2000; Rouet R et al, 2000), y su efecto es mayor en presencia de potenciales despolarizados (Carmeliet E, 1992). El aumento en la concentración extracelular de  $K^+$  es un factor que se ha relacionado con un menor efecto del dofetilide (Baskin EP et al, 1994; Duf HJ et al, 1997).

En nuestro trabajo, durante la estimulación con CB 300 ms, los PR y la  $\lambda_o$  se incrementaron en un 20-30%. Estos incrementos son similares a los comunicados por otros grupos que analizan los efectos del dofetilide sobre el



miocardio ventricular y son inferiores a los encontrados en miocardio auricular (Baskin EP & Lynch JJ, 1998).

El efecto dependiente de la frecuencia para el dofetilide es un hecho también descrito. Según nuestros resultados, el dofetilide muestra de forma progresiva una tendencia a disminuir su efecto sobre la refractariedad conforme se acorta el ciclo de estimulación; tendencia que alcanza significación estadística para ciclos de 150 (PRF). Este efecto descrito por prácticamente la totalidad de autores en estudios experimentales se ha denominado “efecto inverso dependiente de la frecuencia” (reverse use-dependence) (Baskin EP et al, 1994; Gjini V et al, 1996; Marschang H et al, 1998; Satoh Y et al, 1999; Mounsey JP & Di Marco, 2000). Este efecto de produciría tanto en miocardio auricular como ventricular. Sin embargo, en ventrículo es un efecto menos marcado y que podría desaparecer bajo determinadas condiciones como la reducción de la temperatura (Baskin EP & Lynch JJ, 1998). En estudios en humanos, sin embargo, este efecto inverso dependiente de la frecuencia es controvertido. Demolis JL et al (1996) describen este efecto en ventrículo de pacientes sometidos a estudio electrofisiológico, no siendo así en el caso de los estudios de Yuan S et al (1994) y Bashir Y et al (1995).

La explicación de este fenómeno dependiente de la frecuencia (opuesto al que describíamos para la flecainida) no está del todo clara. Carmeliet E (1992) y otros autores como Jurkiewicz N & Sanguinetti M (1993) han descrito cómo el bloqueo de la  $I_{Kr}$  por el dofetilide no cambia en función de la frecuencia de estimulación, por lo que podríamos deducir que el fenómeno no parece estar en relación a un efecto modulador de la frecuencia de estimulación sobre la interacción de la droga con el canal. La disminución del efecto del dofetilide sobre los PR con la reducción del ciclo podría estar relacionada con el cambio en la contribución de los dos componentes de la  $I_K$  a frecuencias altas de estimulación. Con frecuencias de estimulación normales, la  $I_{Kr}$  y la  $I_{Ks}$  contribuyen de forma similar a la repolarización (Sanguinetti M & Jurkiewicz N, 1990). Por otro lado, según los trabajos de Zeng et al (1995) con modelos matemáticos simulando miocitos de cobjaya, la  $I_{Ks}$  contribuye de manera predominante en la fase 2 del PA mientras que la  $I_{Kr}$  lo hace en la fase 3. Según los trabajos de

Sanguinetti M & Jurkiewicz N (1990) en cobayas, con frecuencias de estimulación altas, cuando la longitud de ciclo es menor que el tiempo de desactivación de la  $I_{Ks}$ , el efecto de la  $I_{Ks}$  se acumularía y contribuiría a la repolarización en mayor medida que la  $I_{Kr}$ , por lo que el bloqueo de ésta última (dofetilide) perdería repercusión sobre la DPA y, por tanto, sobre la duración del PR. Además, según los experimentos de Kiehn J et al (1994) con técnicas de “patch-clamp” en miocitos ventriculares de cobaya, el dofetilide produciría un enlentecimiento en la constante de desactivación de la  $I_{Ks}$ , efecto que otorgaría aun más importancia a dicha corriente en la DPA en presencia de dofetilide y, especialmente, a altas frecuencias. Por otro lado, el aumento de la concentración de calcio intracelular a frecuencias de estimulación altas, podrían aumentar aun más la conductancia de la  $I_{Kr}$  (Nitta J et al, 1994). Todos estos argumentos podrían explicar la reducción del efecto de un bloqueante específico de la  $I_{Kr}$  como el dofetilide, a frecuencias altas de estimulación.

Sin embargo, este razonamiento no sería válido en nuestro caso, puesto que en el corazón de conejo, la contribución de la  $I_{Ks}$  en la repolarización es mínima (Sanguinetti M et al, 1995), por lo que deben de estar implicados otros factores en el fenómeno. El aumento en la concentración de  $K^+$  extracelular producido por el aumento de la frecuencia de estimulación, aumentaría la conductancia a las corrientes de salida de  $K^+$ , y podría ser otra explicación al efecto inverso dependiente de la frecuencia. Gjini V et al (1996) encuentran un aumento en el efecto inverso dependiente de la frecuencia del dofetilide cuando se aumenta progresivamente la concentración extracelular de  $K^+$ , lo que apoyaría esta tesis.

### 5.2.2 EFECTOS DEL DOFETILIDE SOBRE LOS PATRONES DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR

El dofetilide ha disminuido la complejidad de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular y ha provocado un enlentecimiento de la arritmia, aunque sólo ha producido su cese en menos de la mitad de los casos. Las FrD medias se han acortado tras la administración de dofetilide, y se ha producido un alargamiento de los intervalos VV. Estos efectos han sido más patentes en VD. Los mapas de activación tras perfusión de dofetilide 1  $\mu\text{mol/L}$  se han

simplificado de forma significativa, disminuyendo la complejidad de la activación.

La velocidad de conducción, sin embargo, no ha mostrado variación significativa tras la administración del fármaco.

El efecto del dofetilide como fármaco efectivo en la prevención de la FV es conocido, en condiciones normales y de isquemia. Anderesen HR et al, (1994) estudian el efecto del dofetilide en isquemia, demostrando un menor número de episodios de FV con respecto al grupo control, así como un mayor número de reversiones espontáneas en el grupo con dofetilide. Este efecto se ha relacionado con un aumento en la longitud de onda del proceso de activación durante la FV secundario al efecto del dofetilide sobre el PR (Andersen HR et al, 1994; Chen J et al, 1996; Chorro FJ et al, 2000). Falk RH & De Cara JM (2000) comprueban en un modelo canino cómo el dofetilide, al igual que en nuestro trabajo, favorece la organización y cese de la arritmia; resultados igualmente concordantes con los trabajos de Amitzur G et al (2003) en modelo de corazón aislado de gato.

Los efectos de otros antiarrítmicos del grupo III sobre el patrón fibrilatorio en el ventrículo, han sido estudiados con anterioridad. En esta línea, Chorro et al (2000) analizan el efecto del d,l-sotalol (antiarrítmico de grupo III) sobre el patrón fibrilatorio, encontrando efectos similares a los obtenidos en nuestro estudio con dofetilide sobre la FrD, los intervalos VV y los mapas de activación, relacionando los efectos del fármaco con el aumento de los PR durante la FV. Similares efectos se habían comprobado con anterioridad para otro fármaco de clase III, la amiodarona, sobre el patrón fibrilatorio en el ventrículo (Chorro FJ et al, 1996)

Sin embargo, teniendo en cuenta las altas frecuencias de activación de las células miocárdicas durante la FV y el efecto inverso dependiente de la frecuencia del dofetilide comprobado por nosotros, cabría esperar una disminución o anulación de los efectos del fármaco durante la arritmia. Sin embargo este fenómeno no se ha observado en trabajos en los que se explica el aumento de la longitud de ciclo de la FV producido por fármacos con efectos de clase III (d,l-sotalol) por aumentos concomitantes de la refractariedad durante las rá-

pidas frecuencias de activación que ocurren durante la FV (Dorian P & Newman D, 1993).

Por otro lado, los posibles efectos del fármaco sobre el factor de seguridad de la transmisión de impulsos y sobre la capacidad de transmisión de los mismos, podrían estar involucrados en su mecanismo de acción sobre el patrón de activación fibrilatorio. Se ha comprobado que en los puntos de giro de los frentes de onda reentrantes, el factor de seguridad (FS) para la transmisión de impulsos está disminuido por la alta curvatura que adquiere el frente en este punto. Esta disminución del FS se debe a que por la alta curvatura, la corriente excitatoria se distribuye en un área de tejido mayor, por lo que las células distales al punto de giro reciben menos corriente axial por  $\text{mm}^2$  de membrana (Danse PW et al, 2001). El posible efecto del dofetilide sobre dicho FS de la transmisión de impulsos, especialmente en las zonas de máximo giro, puede tener un papel determinante en la activación miocárdica y en la determinación de la existencia y la magnitud de las ventanas de excitabilidad (“gaps excitables”), que a su vez juegan un importante papel en la perpetuación de los procesos fibrilatorios (Wijffels M et al, 2000; Danse PW et al, 2001).

### **5.3 EFECTOS DEL PINACIDIL**

#### **5.3.1. EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA REFRACTARIEDAD VENTRICULAR EN CONDICIONES BASALES Y DE ISQUEMIA**

En el grupo control, libre del efecto del fármaco, la isquemia aguda ha acortado los PRE y los PRF ventriculares para todos los ciclos de estimulación. Este acortamiento de los PR, propio de los primeros minutos de isquemia (Gettes LS, 1986), se relaciona con la activación de la  $I_{K(ATP)}$  (Nichols et al, 1991)

Al comparar el grupo control y el grupo con pinacidil en situación basal (sin mediación de isquemia), el pinacidil ha acortado de forma significativa tanto los PRE como los PRF ventriculares para los dos ciclos de estimulación.

Este acortamiento de los periodos refractarios se debe al efecto agonista del pinacidil sobre los canales  $K(ATP)$  (Smallwood JK & Steinberg MI, 1988; Tseng GN & Hoffman BF, 1990; Nakayama K et al, 1990; Noma A & Tacaño M, 1991). La activación de la  $I_{K(ATP)}$  conlleva la aparición de un flujo de salida de  $K^+$  de la célula con lo que se reduce la DPA y con ello la duración del PR en condiciones normales. Este acortamiento de la refractariedad inducido por el pinacidil no es homogéneo sino que se produce de forma desigual entre epicardio y endocardio. En estas diferencias en la respuesta al pinacidil se encuentra implicada la distribución también heterogénea de la  $I_{to}$  (Antzelevitch C & Di Diego JM, 1992; Di Diego JM & Antzelevitch C, 1993).

El acortamiento de los períodos refractarios ventriculares inducido por el pinacidil que encontramos en nuestro trabajo, es concordante con el grado de acortamiento de otros grupos de trabajo (Smallwood JK & Steinberg MI, 1988; Chi L et al, 1990; Nakayama K et al, 1990; Spinelli W et al, 1990; DiDiego JM & Antzelevitch C, 1993; Friedrichs GS et al, 1994). Otros fármacos agonistas de la  $I_{K(ATP)}$  han demostrado igualmente que acortan la refractariedad ventricular, como es el caso del cromakalim (D'Alonzo AJ, 1994; Uchida T et al, 1999) o del bimakalim (Yao Z & Gross GJ, 1994).

Sin embargo, cuando comparamos los valores de los PRE y PRF ventriculares en circunstancias en las que confluyen pinacidil e isquemia, encontramos que no se produce el efecto sumatorio que cabría esperar por la acción de estos dos factores en cuanto al acortamiento de la refractariedad. Así, el acortamiento de los PR inducidos por la isquemia aguda no se incrementa tras añadir pinacidil, y viceversa: en presencia de pinacidil, el acortamiento de la refractariedad inducida por la droga no aumenta si sometemos la preparación a condiciones de isquemia.

A pesar de la observación que hacen Wilde AAM et al (1994) de que los canales  $K(ATP)$  durante la isquemia estarían más sensibilizados a la acción de los agonistas de la  $I_{K(ATP)}$  por lo que se potenciaría el efecto de éstos, otros autores obtienen resultados similares a los nuestros. Así, Chi L (1990) en un modelo de isquemia aguda en corazón de perro in situ, encuentran que el pinacidil

no es capaz de incrementar el acortamiento de los PRF inducidos por la isquemia. Igualmente Yao Z (1994) en un modelo similar al anterior encuentran que el bimakalim no aumenta la reducción de la DPA inducida por la isquemia. Coromilas J et al (2002) sin embargo, encuentran que el pinacidil sí que produce un mayor acortamiento de los PR, pero sus experimentos se realizan en el contexto de isquemia crónica.

La explicación de este fenómeno no es fácil. Tan HL et al (1993) comentan que debe de existir un límite en la capacidad de protección debida a la reducción de la DPA vía  $I_{K(ATP)}$  inducida por isquemia o por agonistas  $I_{K(ATP)}$ . Dicho agotamiento podría, en un principio, explicarnos el por qué de que el pinacidil no pudiera aumentar aun más el acortamiento de la refractariedad inducida por isquemia y viceversa.

La simulación con modelos matemáticos nos ha permitido aclarar el mecanismo iónico responsable de este fenómeno. Como observamos en la figura 4.11, la isquemia en ausencia de fármaco activa la  $I_{K(ATP)}$ , corriente que se opone a la  $I_{Na}$  para el desarrollo de la fase 0 del PA. La consecuencia de la interacción simultánea de estas dos corrientes es la aparición de un fenómeno de **refractariedad postrepolarización** (Downar et al, 1977) puesto que la  $I_{Na}$ , ya reducida por efecto de la isquemia, precisa alcanzar valores mayores para que se desencadene el PA, lo que implica un mayor tiempo de recuperación de los canales de  $Na^+$ . Debido a este fenómeno, a pesar del acortamiento de la DPA debida a la activación de la  $I_{K(ATP)}$ , el PR ventricular se alarga más allá de la misma (refractariedad postrepolarización). Al sumarse al efecto de la isquemia el efecto de pinacidil 10  $\mu\text{mol/L}$ , este fenómeno se magnifica de tal manera que, a pesar de la potente reducción de la DPA producida por los dos factores activadores de la  $I_{K(ATP)}$ , el PR finalmente no se ve afectado debido a la existencia de una refractariedad postrepolarización muy prolongada.

### 5.3.2. EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA INDUCIBILIDAD DE ARRITMIAS EN CONDICIONES BASALES Y DE ISQUEMIA AGUDA

#### A) EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA INDUCIBILIDAD DE ARRITMIAS EN SITUACIÓN BASAL

Basalmente, en nuestro modelo, el pinacidil aumentó la incidencia de arritmias ventriculares provocadas por estimulación ventricular programada con respecto al grupo sin pinacidil.

Cuando las arritmias se producen por automatismo anormal o por actividad desencadenada, el pinacidil ha demostrado claramente que tiene un efecto antiarrítmico al reducir la DPA y favorecer un estado de hiperpolarización del cardiomiocito (Kerr MJ et al, 1985; Fish FA et al, 1990; Spinelli W et al, 1991; Carlsson L et al, 1992; Wilde AAM et al, 1994). Sin embargo, cuando las arritmias se producen por mecanismos reentrantes, la situación es diferente. El pinacidil, como sabemos, acorta la refractariedad ventricular sin producir alteraciones significativas de las velocidades de conducción. Este efecto lleva a una reducción en la longitud de onda del proceso de activación lo que favorecería la aparición de arritmias por reentrada (Friedel HA et al, 1990; Wilde AAM et al, 1994).

Los resultados experimentales de otros grupos de trabajo concuerdan con los nuestros. Padrini R et al (1992) en sus experimentos con preparaciones de corazón aislado de cobaya y utilizando disoluciones de pinacidil 10  $\mu\text{mol/L}$  (al igual que en nuestro estudio) en ausencia de isquemia, relacionan la presencia del fármaco con una mayor inducibilidad de TV/FV mediante estimulación ventricular programada. Uchida T et al (1999) mediante simulación con modelos matemáticos de tejido de corazón de perro encuentran que el cromakalim (fármaco agonista de la  $I_{K(ATP)}$ ) aumenta la vulnerabilidad para la reentrada en ausencia de isquemia.

## B) EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE LA INDUCIBILIDAD DE ARRITMIAS DURANTE LA ISQUEMIA AGUDA

Según nuestros resultados, el pinacidil reduce de forma significativa la inducibilidad de arritmias ventriculares a los 5 minutos de isquemia. Sin embargo, al analizar el fenómeno globalmente a lo largo de los 30 minutos de isquemia, estas diferencias pierden significación estadística. En otras palabras; el pinacidil retrasaría pero no impediría la aparición de TV/FV en los primeros 30 minutos de isquemia. Aun así, tampoco aumentaría su incidencia con respecto al grupo control.

El efecto pro/antiarritmogénico del pinacidil durante la isquemia es un tema de gran controversia, y se ha considerado un efecto especie, dosis y modelo dependiente (Lynch JJ et al, 1992; Hearse D, 1995). En los 25-30 primeros minutos de isquemia (fases Ia y Ib), las arritmias son en su mayor parte debidas a mecanismos reentrantes (Wiggers CJ et al 1940; Wit & Janse 1993, Rosen MR et al, 1990) y, especialmente cuando se trata de arritmias inducidas por estimulación como es nuestro caso. En estas circunstancias, el pinacidil debería de aumentar la incidencia de arritmias ventriculares inducidas por estimulación al igual que ocurría en situación basal. Más allá del minuto 30, sin embargo, las arritmias se producen más frecuentemente por mecanismos de automatismo anormal y actividad desencadenada. En este caso, el pinacidil, por su efecto hiperpolarizante, disminuiría claramente la incidencia de arritmias (Kerr MJ et al, 1985; Fish FA et al, 1990; Spinelli W et al, 1991; Carlsson L et al, 1992; Wilde A et al, 1994).

En la literatura se han comunicado resultados contradictorios en cuanto a los efectos del pinacidil durante la isquemia aguda. Determinados grupos de trabajo comunican que el pinacidil aumenta la incidencia de arritmias ventriculares en dichas circunstancias (Wolleben CD et al, 1989; Chi L et al, 1990; Friedrichs GS et al, 1994; D'Alonzo AJ et al, 1998). Estos resultados contradicen los nuestros, lo que podría explicarse por razones tales como la utilización de diferentes concentraciones de fármaco, diferentes especies, así como de diferentes modelos de isquemia. D'Alonzo AJ et al, por ejemplo, trabajan con pinacidil 30  $\mu\text{mol/L}$ ; concentraciones muy superiores a las nuestras. Por otro lado, Wolleben CD et al (1989) utilizan un modelo de isquemia global lo que, dado la



severidad de la isquemia, podría predisponer a un estado proarrítmico *per se* que falseara los resultados finales. El trabajo más referenciado por los diferentes autores en cuanto a la proarritmogenicidad del pinacidil en isquemia aguda es el de Chi L et al (1990). Sin embargo, estos autores trabajan con un modelo de isquemia aguda sobre un corazón con cicatriz post-infarto de miocardio antiguo. La presencia de cicatrices antiguas y de remodelado ventricular, podría justificar una mayor incidencia de arritmias ventriculares en las que las alteraciones estructurales preexistentes jugarían un papel fundamental.

Sin embargo, al igual que nosotros, otros autores, obtienen un efecto protector del pinacidil en los primeros minutos de isquemia. Lepran I et al (1996) en un modelo de isquemia aguda en corazón de rata, observan que el pinacidil disminuye la incidencia de TV/FV a los 5 minutos de oclusión coronaria. En la misma línea Das B & Sarkar C obtienen que el pinacidil (Das B & Sarkar C, 2003a) así como el cromakalim y el nicorandil (Das B & Sarkar C, 2003b) disminuyen el número y la duración de los episodios de TV/FV en los primeros 10 minutos de isquemia. Igualmente, Horinaka S et al (2004) en un modelo de isquemia aguda de rata, encuentran que el nicorandil disminuye el número de episodios de TV y FV durante los primeros minutos de isquemia.

En nuestro trabajo, a los 30 minutos de isquemia, el pinacidil ya no muestra efecto protector, pero tampoco aumenta la incidencia de TV/FV respecto al grupo control. En los experimentos de D'Alonzo AJ et al (1994 y 1998), el pinacidil a concentración 10  $\mu\text{mol/L}$ , retrasa la aparición de FV pero no reduce su incidencia con respecto al control al igual que en nuestro trabajo al considerar los efectos durante los treinta minutos de isquemia.

El mecanismo por el cual el pinacidil protege contra las arritmias inducidas por estimulación durante la isquemia aguda, tanto en nuestro modelo como en los trabajos referenciados, no está aclarado. Se han propuesto diversas hipótesis:

- 1.- Los efectos hemodinámicos del pinacidil derivados de su efecto vasodilatador tales como la disminución de la presión arterial y el aumento del flujo coronario, reducirían el territorio isquémico y reducirían la incidencia de arritmias (Kerr MJ et al, 1985; Hearse D, 1995; Lepran I et al, 1996, Coromilas J et al,

2002). Sin embargo, en nuestro modelo de corazón aislado de conejo, los efectos sistémicos de la vasodilatación no se presentan puesto que precarga y postcarga se mantienen constantes y, dado que el corazón de conejo presenta una circulación terminal con prácticamente ausencia de colaterales (Coker SJ, 1989) y la oclusión coronaria es total, el efecto vasodilatador coronario del pinacidil tampoco influye en los resultados.

La taquicardia refleja producida por la reducción de las resistencias vasculares periféricas inducidas por pinacidil, también se ha barajado como mecanismo antiarrítmico por “*overdrive supresión*” (Lepran I, 1996). Sin embargo, añadiendo propranolol a sus preparaciones, Kerr MJ et al (1985) no encuentran que el beta-bloqueo reduzca el efecto protector del pinacidil, lo que hace poco probable este mecanismo que, en cualquier caso, tampoco puede producirse en nuestro modelo.

2.- La reducción de la DPA inducida por pinacidil y, en general, por los agonistas  $I_{K(ATP)}$ , produce una limitación de la entrada de  $Ca^{+2}$  en el miocito a través del canal de  $Ca^{+2}$  voltaje dependiente. La disminución de la concentración de ión  $Ca^{+2}$  intracelular, reduciría la contractilidad, el consumo de  $O_2$  y la utilización de ATP, produciendo todo ello un efecto protector contra la injuria isquémica y, por tanto, antiarrítmico (D’Alonzo AJ, 1994; Hearse D, 1995; Das B & Sarkar C, 2003-a; Horinaka S et al, 2004).

En las simulaciones llevadas a cabo en este trabajo, se observa efectivamente una disminución en la entrada de  $Ca^{+2}$  en la célula. En la figura 4.16(c) puede apreciarse como el tiempo durante el cual están activos los canales de  $Ca^{+2}$  tipo L se reduce al aumentar la dosis de pinacidil, si bien el valor máximo alcanzado por la corriente apenas se altera.

3.- Aunque la disminución de los PR inducidos por el pinacidil reduce la longitud de onda y, por tanto, favorecería las reentradas, se ha barajado que durante la isquemia aguda, el pinacidil podría actuar selectivamente en zonas no isquémicas, acortando los PR en esta zona, y homogeneizando así los PR y la concentración de  $K^+$  extracelular en la zona isquémica y la no isquémica (efecto evidentemente antiarrítmico) (Hearse D, 1995; Leprán I et al, 1996). Este me-

canismo sí que es compatible con nuestros resultados, donde encontramos que el pinacidil acorta los PR en el miocardio sano pero no aumenta la reducción de los mismos producida por la isquemia.

En las simulaciones mono y bidimensionales llevadas a cabo en este trabajo, se ha constatado el mencionado efecto homogeneizador del pinacidil. En la tabla 4.32 se observa cómo tras añadir pinacidil 10  $\mu\text{mol/L}$  a un tejido monodimensional en el minuto 5 de isquemia, el PR no sufre variaciones significativas. La explicación al fenómeno se basa en la existencia de una importante refractariedad postrepolarización favorecida por el fármaco y se expone en la figura 4.11. En la figura 4.15 se observa como la administración de pinacidil a un tejido con isquemia aguda regional disminuye el PR de la NZ (no isquémica), sin apenas afectar a la CZ (isquémica). Sin embargo, la BZ genera una fuerte heterogeneidad en los PR tanto en presencia como en ausencia del fármaco. Según indica el modelo teórico, los valores de los PR en zona normal tienen un valor aproximadamente igual a la DPA en esa zona, como era de esperar. En la zona más externa de la BZ, la abrupta activación de los canales  $\text{K(ATP)}$  (la zona de borde para la presión parcial de oxígeno es de sólo 1mm) produce un descenso brusco de la DPA (panel superior derecho de la figura 4.15) y, con él, un descenso igual de abrupto del PR pues en esa zona la hiperkalemia es todavía moderada. Al acercarnos al centro del tejido avanzando por la BZ, la hiperkalemia progresiva (su zona de borde es de 1 cm) comienza a provocar refractariedad post-repolarización (Downar E et al, 1977; Janse M et al, 1986). Como consecuencia de ello, el PR se eleva muy por encima de la DPA (paneles inferiores de la figura 4.15) alcanzando en la CZ valores próximos (aunque inferiores, en el estadio de la isquemia simulado) a los de la NZ. Todo ello conduce a un escenario en el que la dispersión de refractariedad es grande en el tejido, y la presencia o ausencia de pinacidil apenas tiene efecto en este sentido (figura 4.15).

4.- Se ha relacionado la presencia de los agonistas de la  $\text{I}_{\text{K(ATP)}}$  con un aumento de la liberación de óxido nítrico (Das B & Sarkar C, 2003-b; Horinaka S et al, 2004). Dicho aumento en la liberación de óxido nítrico, produciría vasodilata-

ción mejorando la isquemia y reduciendo, por tanto, la incidencia de arritmias inducidas durante la misma.

A la luz de las simulaciones realizadas en un tejido sometido a condiciones de isquemia regional, el efecto protector del pinacidil observado tanto en los experimentos (en el minuto 5 de isquemia) como en las simulaciones ocurrirá siempre que la dosis superara un cierto valor crítico. La dosis experimental utilizada estaría por encima de dicho valor, que de acuerdo con las simulaciones se situaría entre 7 y 10  $\mu\text{mol/L}$  (ver gráfica 4.24). Para concentraciones por debajo de ese valor crítico, el pinacidil podría incluso favorecer la aparición de reentradas (la VV alcanza un máximo para 5  $\mu\text{mol/L}$ , como indica la gráfica 4.24). El hecho de que la concentración de fármaco (en conjunción con las condiciones concretas de isquemia) afecte a su carácter pro o antiarrítmico podría estar detrás de la controversia experimental al respecto.

Las simulaciones realizadas permiten aventurar una hipótesis que explica el efecto dual ejercido por el pinacidil sobre la inducibilidad de reentradas. Antes de explicar la hipótesis, conviene realizar una serie de consideraciones sobre las dos influencias contrapuestas que el pinacidil (y la corriente  $I_{K(ATP)}$ ) ejerce sobre la propagación de los PA en el miocardio. Por un lado, el pinacidil es un potenciador de la  $I_{K(ATP)}$ , una corriente positiva de salida que se activa inmediatamente al inicio de la despolarización (Ferrero JM (Jr) et al, 1996). Así se observa, de hecho, en las figuras 4.8, 4.9 y 4.16. Por ello, el pinacidil contribuye indirectamente a contrarrestar las corrientes entrantes responsables de la despolarización en la CZ (fundamentalmente la  $I_{Na}$  y la  $I_{Ca(L)}$ ). La primera de ellas, además, está deprimida en isquemia, especialmente en PA correspondientes a estímulos prematuros, como se observa en la figura 4.16(b). De este modo, el potencial transmembrana alcanza menores valores al final de la despolarización y en la fase de meseta del PA, lo cual a su vez provoca que el gradiente de potencial en la dirección de propagación disminuya y que la corriente axial que fluye hacia las células adyacentes sea menor (Shaw RM & Rudy Y, 1997a). En estas condiciones, el factor de seguridad en la conducción disminuye y la propagación se ve seriamente comprometida, favoreciendo la aparición de bloqueos (figura 4.14). Por otro lado, la corriente  $I_{K(ATP)}$  potenciada

por el pinacidil reduce la DPA (gráfica 4.21), lo que resulta en una recuperación más rápida de la excitabilidad (Shaw RM & Rudy Y, 1997b). Esto favorece directamente la propagación del frente de onda y dificulta los bloqueos. Los dos efectos contrapuestos explicados interaccionan del siguiente modo: cuanto más temprano recupera la célula la excitabilidad, menos corriente axial es necesaria para iniciar un PA.

Según estos razonamientos, los resultados mostrados en la figura 4.14 pueden ser explicados del siguiente modo. En primer lugar, en ausencia del fármaco puede aparecer un bloqueo bidireccional para un intervalo de acoplamiento dado (por ejemplo, en la figura 4.12b o en la 4.14b,e,f). En estos casos, la propagación del PA resultante de un extraestímulo se bloquea en la dirección anterógrada y también en la retrógrada en la CZ, ya que en ella el factor de seguridad tiene un valor reducido debido (a) a la baja disponibilidad de canales de sodio (causado por la acidosis y a la hiperkalemia) y (b) a la baja corriente axial causada por el antes mencionado primer efecto de la corriente  $I_{K(ATP)}$ . Como consecuencia del carácter bidireccional del bloqueo, la reentrada no ocurre (en un cierto rango de intervalos de acoplamiento). En segundo lugar, con la presencia de  $5 \mu\text{mol/L}$  el bloqueo de la propagación anterógrada se adelanta en la CZ, tal y como pone de manifiesto el bloqueo en la célula X en la figura 4.14(c) que no se observó en ausencia del fármaco (figura 4.14b). Ello se debe a que el pinacidil provoca la reducción en la corriente axial y, consecuentemente, del factor de seguridad como se explicó anteriormente. En cuanto al frente de onda retrógrado posterior, su propagación completa a través de la CZ se ve favorecida por el hecho de que la zona de bloqueo recupera antes la excitabilidad (por efecto de la reducción de la DPA causada por el pinacidil), incluso en una situación en la que la corriente axial está reducida. Ello da lugar a un bloqueo unidireccional y al inicio de la reentrada. Finalmente, en el caso de la dosis alta de pinacidil ( $10 \mu\text{mol/L}$ ), la fuerte reducción de la corriente axial causada por una muy activada corriente  $I_{K(ATP)}$  provoca el fallo de la propagación tanto del frente de onda anterógrado (figura 4.14g) como del retrógrado. Estos mecanismos podrían explicar el aumento de la anchura de la VV para dosis intermedias de pinacidil y su reducción hasta cero para dosis más elevadas.

Finalmente, cabe decir que estudios recientes defienden que los canales  $K_{(ATP)}$  mitocondriales, por sus propiedades de modulación energética, tendrían un papel clave en el efecto antiarrítmico de los agonistas  $I_{K(ATP)}$  durante la isquemia aguda (Das B & Sarkar C, 2003 a y 2003 b). En presencia de 5-hidroxidecanoato (bloqueante selectivo de los canales  $K_{ATP}$  mitocondriales), el efecto antiarrítmico de estos fármacos durante la isquemia aguda desaparece.

### 5.3.3 EFECTOS DEL PINACIDIL SOBRE EL PATRÓN DE INICIO DE LA FV

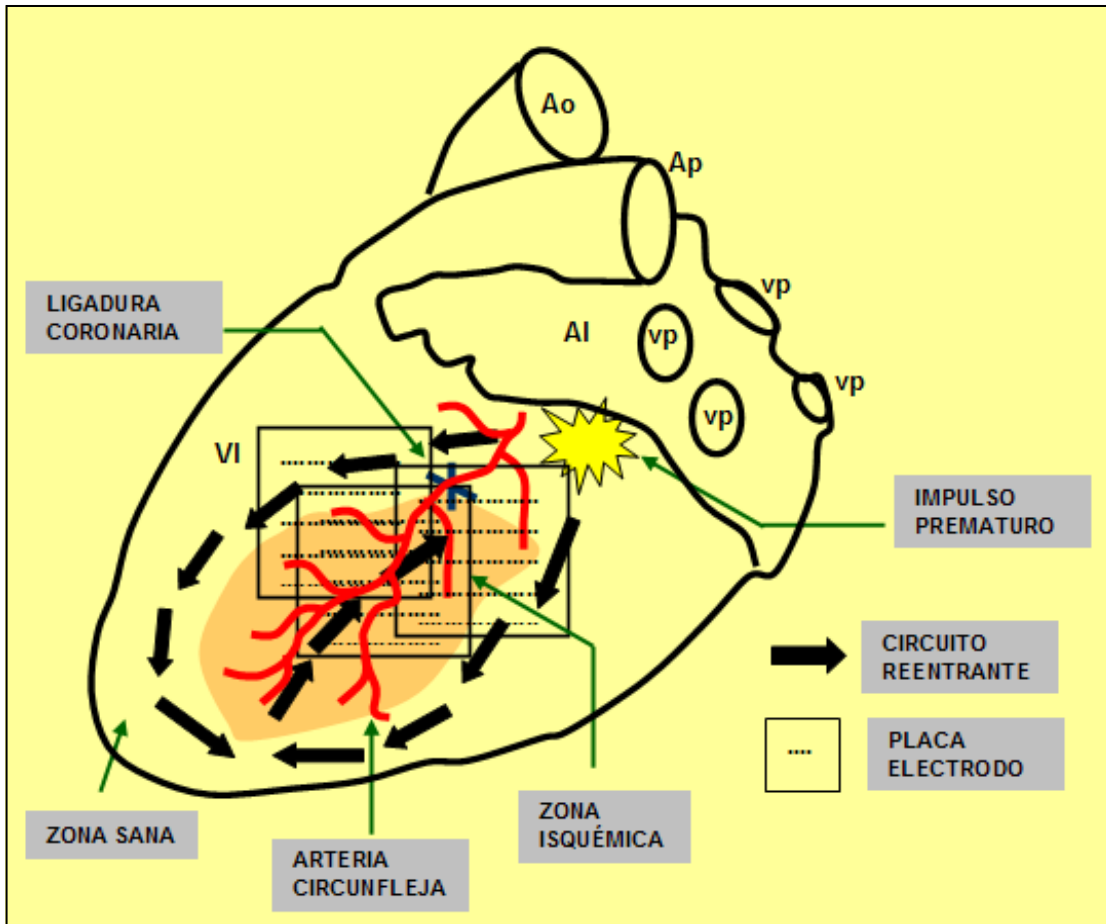
Al compararse la regularidad entre los ciclos VV durante el inicio de la FV, no se han encontrado diferencias significativas entre el grupo control y el grupo con pinacidil. Dichos resultados son congruentes con el hecho de que tampoco se haya encontrado diferencia entre ambos grupos en cuanto al tipo de mapas de activación ni en cuanto a la proporción de patrones de afloramiento y reentrada.

Los modelos matemáticos sugieren como mecanismo de inicio de la FV, la aparición de reentradas “en figura de 8”. Sin embargo, llama la atención la falta de identificación de este patrón en los mapas de activación epicárdica obtenidos en la parte experimental. Una posible explicación a este fenómeno lo observamos en la figura 5.1.

Según los resultados de las simulaciones bidimensionales, la FV se iniciaría con una macroreentrada funcional en la que participarían tanto la zona de isquemia, la zona de borde y la zona sana. Desde las posibles zonas de colocación del electrodo (figura 5.1), dado que el tamaño del circuito reentrante sería mayor que el de la placa electrodo, se registrarían mapas de activación parciales en los que se observaría en su mayoría patrones de tipo II. Esto podría justificar el hecho del predominio de patrones tipo II en la preparación experimental durante los primeros latidos (apartado 4.3.1-C.2). Posteriormente, el frente de onda podría fragmentarse (Weiss JN et al, 1999) dando lugar al patrón característico de la FV (apareciendo en los registros de las preparaciones

experimentales, un mayor número de mapas tipo III, reentradas y afloramientos).

En cualquier caso, la identificación de mapas de activación experimentales “en figura de 8” no resulta sencilla si consideramos el miocardio real como una estructura tridimensional en la que todo tipo de patrones de activación pueden producirse en profundidad, aflorando a la superficie en forma de mapas más o menos complejos, reentradas y patrones de afloramiento. Teniendo esto en cuenta, en multitud de ocasiones no podría identificarse el patrón real que se ha producido en profundidad, analizando únicamente el patrón a través del cual se manifiesta en superficie. El argumento expuesto cobra más trascendencia si consideramos que las simulaciones bidimensionales se producen sobre un tejido simulado que, aunque anisótropo, es muy uniforme. En el corazón real, la particular disposición de las fibras junto a su condición tridimensional, como se ha explicado anteriormente, podría deformar aun más la morfología de los patrones “en figura de 8”, dificultando así su identificación en los mapas de epicárdicos.



**Figura 5.1:** figura de la preparación experimental que muestra de forma superpuesta una macroreentrada “en figura de 8” similar a la obtenida en las simulaciones bidimensionales. Desde las posibles localizaciones de la placa electrodo entre zona isquémica y zona sana, se registrarían principalmente mapas de tipo II.



## VI. CONCLUSIONES

1.- La flecainida acorta tanto la velocidad de conducción longitudinal como la transversal, aumentando este efecto conforme se acorta el acoplamiento entre estímulos en el caso de la velocidad de conducción longitudinal pero no en el de la transversal.

2.- El predominio de los efectos de la flecainida sobre la velocidad de conducción longitudinal versus transversal, varía en función del intervalo de acoplamiento, siendo más sensible a este efecto la velocidad longitudinal. Para intervalos de acoplamiento cortos, la flecainida afecta en la misma proporción a ambas velocidades de conducción.

3.- El dofetilide alarga los períodos refractarios ventriculares de forma inversa al intervalo de acoplamiento utilizado, sin afectar a la velocidad de conducción.

4.- El dofetilide disminuye la frecuencia de activación durante la fibrilación ventricular sin afectar a la velocidad de conducción durante la misma. Estos cambios se acompañan de una disminución de la complejidad del patrón fibrilatorio de manera más acusada en el ventrículo derecho y dan lugar al cese de la arritmia en un número limitado de casos.

5.- El pinacidil acorta la refractariedad ventricular en condiciones basales, pero este efecto queda encubierto por la refractariedad postrepolarización en condiciones de isquemia aguda.

6.- El pinacidil aumenta la inducibilidad de FV en situación basal, pero muestra un efecto protector durante los primeros minutos de isquemia. Este efecto se pierde cuando se analiza el fenómeno globalmente durante los 30 primeros minutos de isquemia, donde el pinacidil no muestra efecto protector, aunque tampoco aumenta la incidencia de FV con respecto al grupo control.

7.- Los resultados obtenidos mediante simulación sugieren que el efecto protector del pinacidil en isquemia aguda regional ocurre cuando su concentración

supera cierto valor crítico (entre 7 y 10  $\mu\text{mol/L}$ ). A dosis inferiores, el fármaco podría ser proarrítmico.

8.- Los resultados de las simulaciones sugieren como mecanismo protector del pinacidil en dosis por encima de la crítica, la tendencia del fármaco a favorecer bloqueos bidireccionales y no unidireccionales, como consecuencia de la reducción de la excitabilidad celular derivada de la fuerte activación de los canales  $K_{\text{ATP}}$  en presencia de corrientes de sodio deprimidas por la isquemia.

---

## VII. BIBLIOGRAFÍA

Acierno LJ (1994). The history of cardiology. 1ªed. Carnforth. Ed Publishing Group. 702 pags.

Ahnfelt-Ronne I. Pinacidil. Preclinical investigations. *Drugs* 1988; 36(7): 4-9.

Al-Dashti R, Sami M. Dofetilide: a new class III antiarrhythmic agent. *Can J Cardiol* 2001; 17(1): 63-67.

Ala- Rami A, Ylitalo KV, Hassinen JE. Ischaemic preconditioning and a mitochondrial  $K_{ATP}$  channel opener both produce cardioprotection accompanied by F1F0-ATPase inhibition in early ischaemia. *Basic Res Cardiol* 2003; 98(4): 250-258.

Allen DG, Orchard CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circ Res* 1987; 60: 153-168.

Allesie MA, Bonke FIM, Schopman FJG. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia II. The role of non-uniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block as studied with multiple microelectrodes. *Circ Res* 1976; 39: 168-177.

Allesie MA, Bonke FIM, Schopman FJG. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. The "leading circle" concept: a new model of circus movement in cardiac tissue without the involvement of anatomical obstacle. *Circ Res* 1977; 41: 9-18.

Allessie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, Hollen J. Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. En: Zipes DP, Jalife J. *Cardiac Electrophysiology and Arrhythmias*. New York, Grune & Stratton 1985; 265-275.

Allessie MA, Schalij MJ, Kirchof CJHJ. Experimental electrophysiology and arrhythmogenicity: anisotropy and ventricular tachycardia. *Eur Heart J* 1989; 10(E): 2-8.

- Allessie MA, Rensma PL, Brugada J, Smets JLRM, Penn O, Kirchhof CJH. Pathophysiology of atrial fibrillation. En: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside*. Philadelphia: WB Saunders Co 1990; 548-559.
- Amitzur G, Shenkar N, Leor J, Novikov I, Eldar M. Modulation of ventricular fibrillation in isolated perfused heart by dofetilide. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41(6): 838-848.
- Andersen HR, Wiggers H, Knudsen LL, Simonsen I, Thomsen PEB, Christiansen N. Dofetilide reduces the incidence of ventricular fibrillation during acute myocardial ischaemia. A randomised study in pigs. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1635-1640.
- Andersson KE, Andersson PO, Fovaeus M, Hedlund H, Malmgren A, Sjogren C. Effects of pinacidil on bladder muscle. *Drugs* 1988; 36(7): 41-49.
- Antzelevitch C, Sicouri S, Litovsky SH, Lukas A. Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial and M cells. *Circ Res* 1991; 69 (6): 1427-1449.
- Antzelevitch C, DiDiego JM. Role of K<sup>+</sup> channel activators in cardiac electrophysiology and arrhythmias. *Circulation* 1992; 85(4): 1627-1629.
- Antzelevitch C, Yan GX, Shimizu W, Burashnikov A. Electrical heterogeneity, the ECG and cardiac arrhythmias. Zipes DP, Jalife J En: *Cardiac Electrophysiology, from Cell to Bedside - 3rd edition*, Zipes DP and Jalife J. eds., W. B. Saunders, New York 1990; 222-238.
- Armijo JA, de Cos M.A. Farmacología clínica: objetivos y metodología. En: J. Flórez, *Farmacología humana* 2ª ed, Barcelona, Ed. Masson-Salvat 1992; 159-178.
- Aupetit JF, Timour Q, Chevrel G, Loufoua-Moundanga J, Omar S, Faucon G. Attenuation of the ischaemia-induced fall of electrical ventricular fibrillation

---

threshold by a calcium antagonist, diltiazem. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1993; 348: 509-514.

Bashir Y, Thomsen PEB, Kingma JH, Moller M, Wong C, Cobbe SM, Jordaens L, Campbell RWF, Rasmussen HS, Cam J. Electrophysiologic profile and efficacy of intravenous dofetilide (UK-68,798), a new class III antiarrhythmic drug, in patients with sustained monomorphic ventricular tachycardia. *Am J Cardiol* 1995; 76: 1040-1044.

Baskin EP, Lynch JJ Jr. Comparative effects of increased extracellular potassium and pacing frequency on the class III activities of methanesulfonanilide  $I_{Kr}$  blockers dofetilide, d-sotalol, E-4031, and MK-499. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24(2): 199-208.

Baskin EP, Lynch JJ Jr. Differential atrial versus ventricular activities of class III potassium channel blockers. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 285: 135-142.

Bauer A, Becker R, Freigang K, Senges J, Voss F, Hansen A, Muller M, Lang H, Gerlach U, Busc A, Ktaft P, Kubler W, Schols W. Rate- and site-dependent effects of propafenone, dofetilide and the new  $I_{Ks}$  blocking agent chromanol 293b on individual muscle layers of the intact canine heart. *Circulation* 1999; 100: 2184-2190.

Beeler GW, Reuter H. Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibers. *J Physiol* 1977; 268: 177-210.

Biffi M, Boriani G, Bronzetti G, Capucci A, Branzi A, Magnani B. Electrophysiological effects of flecainide and propafenone on atrial fibrillation cycle and relation with arrhythmia termination. *Heart* 1999; 82: 176-182.

Billman GE. Role of the ATP sensitive potassium channel in extracellular potassium accumulation and cardiac arrhythmias during myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 762-769.

- Boersma L, Brugada J, Kirchhof C, Allessie M. Mapping of reentry of anatomic and functional reentry in anisotropic rabbit ventricular myocardium. *Circulation* 1994; 89(2): 852-862.
- Braunwald E, Sobel BE. Flujo sanguíneo coronario e isquémica miocárdica. En: Braunwald E. *Enfermedades del corazón. Un libro de texto de medicina cardiovascular*. W.B Saunders Company. Philadelphia 1992; 1161-1199.
- Bray KM, Newgreen DT, Small RC, Southerton JS, Taylor SG, Weir SW, Weston AH. Evidence that the mechanism of the inhibitory action of pinacidil in rat and guinea-pig smooth muscle differs from that of glyceryl trinitrate. *Br J Pharmacol* 1987; 91: 421-429.
- Breithardt G, Camm AJ, Campbell RW, Fozzard HA, Hoffman BF, Janse MJ et al; members of the Sicilian Gambit. *Antiarrhythmic therapy: a pathophysiologic approach*. New York. Ed. Futura Publishing Company 1994; 337 pags.
- Brown HF. Electrophysiology of the sinoatrial node. *Physiol Rev* 1982; 62: 505-530.
- Brugada J, Boersma L, Kirchhof C, Allessie M. Proarrhythmic effects of flecainide. Experimental evidence for increased susceptibility to reentrant arrhythmias. *Circulation* 1991; 84: 1808-1818.
- Camm AJ, Katrystis D, Nunain SO. Effects of flecainide on atrial electrophysiology in the Wolff-Parkinson-White syndrome. *Am J Cardiol* 1992; 70(5): 33-37.
- Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators: preliminary report: Effect of encainide and flecainide on mortality in randomised trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1989; 321: 406-412.
- Carlisle EJ, Allen JD, Kernohan WG, Leahey W, Adgey AA. Pharmacological analysis of established ventricular fibrillation. *Br J Pharmacol* 1990; 100(3):530-4.

- Carlsson L, Abrahamsson, Drews L, Duker G. Antiarrhythmic effect of potassium channel openers in rhythm abnormalities related to delayed repolarizations. *Circulation* 1992; 85: 1491-1500.
- Carmeliet E. Voltage- and time dependent block of the delayed  $K^+$  current in cardiac myocytes by dofetilide. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 262: 809-817.
- Coker SJ. Anesthetized rabbit as a model for ischemia and reperfusion induced arrhythmias: effects of quinidine and bretilium. *J Pharmacol Methods* 1989; 21(4):263-79.
- Colatsky TJ. Voltage clamp measurements of sodium channel properties in rabbit cardiac Purkinje fibers. *J Physiol* 1980; 305: 215-234.
- Cole W. Membranes, ions and impulses: a chapter of classical biophysics. Vol 1 of biophysics series. Berkley 1968. University of California Press.
- Cole W, McPherson C, Sonntag D. ATP-regulated  $K^+$  channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage. *Circ Res* 1991; 69: 571-581.
- Cook DL, Hales CN. Intracellular ATP directly blocks  $K^+$  channels in pancreatic  $\beta$ -cells. *Nature* 1984; 311: 271-273.
- Coromilas J, Saltman AE, Waldecker B, Dillon SM, Wit AL. Electrophysiological effects of flecainide on anisotropic conduction and reentry in infarcted canine hearts. *Circulation* 1995; 91: 2245-2263.
- Coromilas J, Costeas C, Deruyter B, Dillon S, Peter NS, Wit AL. Effects of pinacidil on electrophysiological properties of epicardial border zone on healing canine infarcts. Possible effects of  $K_{ATP}$  channel activation. *Circulation* 2002; 105: 2309-2317.
- Coronel R. Heterogeneity in extracellular potassium concentration during early myocardial ischaemia and reperfusion: implications for arrhythmogenesis. *Cardiovasc Res* 1994; 28(6):770-7.

- Coronel R, Wilms-Schopman FJ, Dekker LR, Janse MJ. Heterogeneities in [K<sup>+</sup>]<sub>o</sub> and TQ potential and the inducibility of ventricular fibrillation during acute regional ischemia in the isolated perfused porcine heart. *Circulation* 1995; 92(1):120-9.
- Costeas C, Peters NS, Waldecker B, Ciaccio EJ, Wit AL, Coromilas J. Mechanisms causing sustained ventricular tachycardia with multiple QRS morphologies. *Circulation* 1997; 96(10): 3721-3731.
- Creamer JE, Nathan AW, Cam AJ. The proarrhythmic effects of antiarrhythmic drugs. *Am Heart J* 1987; 114(2): 397-406.
- Crozier I. Flecainide in the Wolff-Parkinson-White syndrome. *Am J Cardiol* 1992; 70(5): 26-32.
- Curtis MJ. Characterisation, utilisation and clinical relevance of isolated perfused heart models of ischaemia-induced ventricular fibrillation. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 194-215.
- Cha YM, Birgersdotter-Green U, Wolf PL, Peters BB, Chen PS. The mechanisms of termination of reentrant activity in ventricular fibrillation. *Circ Res* 1994; 74: 495-506.
- Cha YM, Wales A, Wolf P, Shahrokni S, Shawhney N, Feld GK. Electrophysiologic effects of the new class III antiarrhythmic drug dofetilide compared to the class IA antiarrhythmic quinidine in experimental canine atrial flutter: role of dispersion of refractoriness in antiarrhythmic efficacy. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1996; 7: 809-827.
- Chen C, Gettes LS. Combined effects of rate membrane potential, and drugs on maximum rate of rise (V<sub>max</sub>) of action potential upstroke of guinea pig papillary muscle. *Circ Res* 1976; 38(6): 464-469.
- Chen J, Xue Y, Eto K, Ni C, Hashimoto K. Effects of dofetilide, a class III antiarrhythmic drug, on various ventricular arrhythmias in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 28: 576-584.



- Chi L, Uprichard A, Licchesi B. Profibrillatory actions of pinacidil in a conscious canine model of sudden death. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 15: 452-464.
- Chorro FJ, Sánchez-Muñoz JJ, Sanchis J, Cortina J, Bataller M, Guerrero J, Espí J, Ruiperez JA, López-Merino V. Modifications in the evolution of the dominant frequency in ventricular fibrillation induced by amiodarone, diltiazem, and flecainide. *J Electrocardiol* 1996; 29: 319-326.
- Chorro FJ, Guerrero J, Cánoves J, Martínez-Sober M, Mainar L, Sanchis J, Calpe J, LLavador E, Espí J, López-Merino V. Quantification of the modifications in the dominant frequency of ventricular fibrillation under conditions of ischemia and reperfusion: an experimental Study. *PACE* 1998; 21: 1716-1723.
- Chorro FJ, Cánoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Such L, López-Merino V. Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol. An experimental study. *Circulation* 2000; 101: 1606-1615.
- Chorro FJ, Cánoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Soria E, Such LM, Rosado A, Such L, López-Merino V. Opposite effects of myocardial stretch and verapamil on the complexity of the ventricular fibrillation pattern: an experimental Study. *PACE* 2000; 23: 1594-1603.
- Chorro FJ, Cánoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, LLavador E, Such LM, López-Merino V. Cartografía epicárdica de la actividad reentrante durante la fibrilación ventricular. Estudio experimental. *Rev Esp Cardiol* 2000; 53: 1356-1364.
- Chorro FJ, Millet J, Ferrero A, Cebrián A, Cánoves J, Martínez A, Mainar L, Porres JC, Sanchis J, López-Merino V, Such L. Efecto del estiramiento miocárdico sobre las frecuencias de activación determinadas mediante análisis espectral durante la fibrilación ventricular. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55(11): 1143-1150.
- Chorro FJ, Guerrero J, Ferrero A, Tormos A, Mainar L, Millet J, Cánoves J, Porres JC, Sanchis J, López-Merino V, Such L. Effects of acute reduction of temperature on ventricular fibrillation activation patterns. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H2331-H2340.

- Chorro FJ, Ferrero A, Cánoves J, Mainar L, Porres JC, Navarro A, Sanchis J, Millet J, Bodí V, López-Merino V, Such L. Significance of the morphological patterns of electrograms recorded during ventricular fibrillation: an experimental Study. *PACE* 2003; 26: 1262-1269.
- D'Alonzo AJ, Hess TA, Darbenzio RB, Sewter JC. Effects of intracoronary cromakalim, pinacidil, or diltiazem on cesium chloride-induced arrhythmias in anesthetized dogs under conditions of controlled coronary blood flow. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 21: 677-683.
- D'Alonzo A, Darbenzio R, Hess T. Effect of potassium on the action of the  $K_{ATP}$  modulators cromakalim, pinacidil or glibenclamide on arrhythmias in isolated perfused heart subjected to regional ischaemia. *Cardiovasc Res* 1994(a); 28: 881-887.
- D'Alonzo A, Hess T, Darbenzio R. Effects of cromakalim or pinacidil on pacing- and ischemia-induced ventricular fibrillation in the anesthetized pig. *Basic Res Cardiol* 1994(b); 89: 162-176.
- D'Alonzo AJ, Zhu JL, Darbenzio RB, Dorso CH, Grover GJ. Proarrhythmic effects of pinacidil are partially mediated through enhancement of catecholamine release in isolated perfused guinea-pig hearts. *J Moll Cardiol* 1998; 30: 415-423.
- Dalrymple H, Campbell T, Channer KS, Kingma JH, Greenbaum RA, Santini M. Maintenance of sinus rhythm by dofetilide improves quality of life. The EMERALD (European and Australian Multicenter Evaluative Research on Atrial Fibrillation Dofetilide) study (Abstr). *Circulation* 1998; 98 (suppl 1): 13-14.
- Danse P, Garrat C, Alessie MA. Flecainide widens the excitable gap at pivot points of premature turning wavefronts in rabbit ventricular myocardium. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001; 12: 1010-1017.
- Das B, Sarkar C (a). Selective mitochondrial  $K_{ATP}$  channel activation by nicorandil and 3-pyridyl pinacidil results in antiarrhythmic effect in an anesthetized rabbit model of myocardial ischemia/reperfusion. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2003 Mar; 25(2):97-110.

- Das B, Sarkar C (b). Mitochondrial  $K_{ATP}$  channel activation is important in the antiarrhythmic and cardioprotective effects of non-hypotensive doses of nicorandil and cromakalim during ischemia/reperfusion: a study in an intact anesthetized rabbit model. *Pharmacol Res* 2003; 47(6): 447-461.
- Davidenko JM, Kent P, Jalife J. Spiral waves in normal isolated ventricular muscle. *Physica D* 1991 (49): 182-197.
- Davidenko JM, Pertsov AM. Understanding ventricular fibrillation by quantifying the complexity of activation patterns. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000; 11: 1372-1374.
- Delgado C, Steinhaus B, Delmar M, Chialvo DR, Jalife J. Directional differences in excitability and margin of safety for propagation in sheep ventricular epicardial muscle. *Circ Res* 1990; 67(1): 97-110.
- De Micheli A, Medrano A, Casanova JM. Acción de la flecainida intravenosa en arritmias ventriculares experimentales. *Arch Inst Cardiol Mex* 1995; 65: 403-412.
- Démolis JL, Funck-Brentano C, Ropers J, Ghadanfar M, Nichols DJ, Jaillon P. Influence of dofetilide on QT-interval duration and dispersion at various heart rates during exercise in humans. *Circulation*. 1996 ;94(7):1592-9.
- Diaz AL, Clifton GD. Dofetilide: a new class III antiarrhythmic for the management of atrial fibrillation. *Prog Cardiovasc Nurs* 2001; 16(3): 126-129.
- DiDiego J, Antzelevitch C. Pinacidil-induced electrical heterogeneity and extrasystolic activity in canine ventricular tissues. *Circulation* 1993; 88: 1177-1189.
- Di Francesco D, Noble D. A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. *Phil Trans R Soc Lond B* 1985; 307: 353-398.
- Dorian P & Newman D. Effect of sotalol on ventricular fibrillation and defibrillation in humans. *Am J Cardiol* 1993; 72: 72A-79A.

- Downar E, Janse M, Durrer D. The Effect of "ischemic" blood on transmembrane potentials of normal porcine ventricular myocardium. *Circulation* 1977; 55(3): 455-462.
- Drouhard JP, Roberge FA. Revised formulation of the Hodgking-Huxley representation of the sodium current in cardiac cells. *Comput Biomed Res* 1987; 20: 333-350.
- Drouhard JP, Roberge FA. The simulation of repolarization events of the cardiac Purkinje fiber action potential. *IEEE Trans Biomed Eng* 1982a; 29: 481-493.
- Drouhard JP, Roberge FA. A simulation study of the ventricular myocardial action potential. *IEEE Trans Biomed Eng* 1982b; 29: 494-502.
- Duff HJ, Feng ZP, Fiset C, Wang L, Lees-Miller J, Sheldon RS. [<sup>3</sup>H] Dofetilide binding to cardiac myocytes: modulation by extracellular potassium. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 183-191.
- Duytschaever M, Mast F, Killian M, Blaauw Y, Wijffels M, Allessie MA. Methods for determining the refractory period and excitable gap during persistent atrial fibrillation in the goat. *Circulation* 2001; 104: 957-962.
- Ebihara L, Johnson EA. Fast sodium current in cardiac muscle. A quantitative description. *Biophys J* 1980; 32: 779-790.
- Echt DS, Lee JT, Murray KT, Vorperian V, Borganelli SM, Crawford DM, Fiedrich T, Roden DM. A randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of dofetilide in patients with inducible sustained ventricular tachyarrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1995; 6(9): 687-699.
- El-Sherif N. Experimental models of reentry, antiarrhythmic, and proarrhythmic actions of drugs. *Circulation* 1991; 84 (4): 1871-1875.
- Faber GM, Rudy Y. Action potential and contractility changes in [Na(+)]<sub>i</sub> overloaded cardiac myocytes: a simulation study. *Biophys J*. 2000; 78(5):2392-2404.

- Falk RH, Pollak A, Singh SN, Friedrich T, for de Intravenous Dofetilide Investigators. Intravenous dofetilide, a class III antiarrhythmic agent, for the termination of sustained atrial fibrillation or flutter. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 385-390.
- Falk RH, DeCara JM. Dofetilide: a new pure class III antiarrhythmic agent. *Am Heart J* 2000; 140: 697-706.
- Fan Z, Sawanobori T, Hiraoka H, Nakayama K. The effects of protons on the open channel properties of ATP-sensitive  $K^+$  channels. *Jpn J Physiol* 1991; 41: S308.
- Ferrero Corral JM, Ferrero Loma-Osorio JM, Saiz J, Arnau A. *Bioelectrónica. Señales bioeléctricas*. Editorial S.P.U.P.V. (Valencia), Primera Edición, 1994.
- Ferrero JM (Jr), Saiz J, Ferrero J, Roa L, Thakor N. Simulation of action potential from metabolically impaired cardiac myocytes: role of ATP-sensitive  $K^+$  current. *Circ Res* 1996; 79: 208-221.
- Ferrero JM (Jr), Saiz J, Ferrero JM (Sr), Thakor NV. Postrepolarization refractoriness in ventricular cardiac cells: a simulation study. *Computers in Cardiology* 1999; 26: 487-490.
- Ferrero JM (Jr), Torres V, Montilla F, Colomar E. Simulation of reentry during acute myocardial ischemia: role of  $K(ATP)$  current and acidosis. *Computers in Cardiology* 2000; 27: 239-242.
- Ficker E, Jarolimek W, Kiehn J, Baumann A, Brown AM. Molecular determinants of dofetilide block of HERG  $K^+$  channels. *Circ Res* 1998; 82: 386-395.
- Fish F, Prakash C, Roden D. Suppression of repolarization related arrhythmias in vitro and in vivo by low-dose potassium channel activator. *Circulation* 1990; 82: 1362-1369.
- Fornieles H, Montoya G, Levine P. Documentation of acute rise in ventricular capture thresholds associated with flecainida acetate. *PACE* 2002; 25: 871-872.

- Fosset M, De Weille J, Green R. Antidiabetic sulphonilureas control action potential properties in heart cells via high affinity receptors that are linked to ATP-dependent K<sup>+</sup> channels. *J Biol Chem* 1988; 263: 7933-7936.
- Friedel HA, Brogden RN. Pinacidil. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in the treatment of hypertension. *Drugs* 1990; 39(6): 929-967.
- Friedrich GS, Chi L, Black SC, Manley PJ, Lucchesi BR. Antiarrhythmic agent MS551 protects against pinacidil + hypoxia-induced ventricular fibrillation in Langendorff-perfused rabbit isolated heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 23: 120-126.
- Furukawa T, Kimura S, Furukawa N, Basset AL, Myerburg RJ. Role of cardiac ATP-regulated potassium channels in differential responses of endocardial and epicardial cells to ischemia. *Circ Res* 1991; 68:1693-1702.
- Furukawa Y, Miyazaki T, Miyoshi S, Moritani K, Ogawa S. Anisotropic conduction prolongs ventricular repolarization and increases its spatial gradient in the intact canine heart. *Jpn Circ J* 2000; 64: 287-294.
- García Civera R, Ruiz R, Morell S, Sanjuan R, Martínez J, Botella S, López Merino V (1999). *Electrofisiología cardíaca clínica y ablación*. 1ª ed. Madrid, Ed McGraw-Hill Interamericana. 378 pags.
- Garfinkel A, Spano ML, Ditto WL, Weiss JN. Controlling cardiac chaos. *Science*. 1992; 257(5074):1230-5.
- Gasser R, Vaughan-jones R. Mechanism of potassium efflux and action potential shortening during ischemia in isolated mammalian cardiac muscle. *J Physiol* 1990; 431: 713-741.
- Gettes LS. Effects of ischemia on cardiac electrophysiology. In: Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Katz AM, Morgan HE (eds). *The Heart and Cardiovascular System*. New York, NY; Raven Press 1986; p 319-1398..

- Gillis AM, Geonzon RA, Mathison HJ, Kulisz E, Lester WM. The effects of barium, dofetilide and 4-aminopyridine (4-AP) on ventricular repolarization in normal and hypertrophied rabbit heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 285: 262-270.
- Gjini V, Korth M, Schreieck J, Weyerbrock S, Schomig A, Schmitt C. Differential class III antiarrhythmic effects of ambasilide and dofetilide at different extracellular potassium and pacing frequencies. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 28: 314-320.
- Greenbaum RA, Campbell TJ, Channer KS, Dalrymple HW, Kingma JM, Santini M. Conversion of atrial fibrillation and maintenance of sinus rhythm by dofetilide. The EMERALD (European and Australian Multicenter Evaluative Research of Atrial Fibrillation Dofetilide) Study. *Circulation* 1998; 17 suppl: I-633-I-633.
- Grover G, Dzwonczyk S, Parham C, Sleph P. The protective effects of cromakalim and pinacidil on reperfusion function and infarct size in isolated perfused rat hearts and anesthetized dogs. *Cardiovasc Drugs Ther* 1990; 4: 465-474.
- Guyton, A.C. (1986). *Tratado de fisiología médica*. 7ª ed. México D.F, Ed Interamericana Mc Graw-Hill. 1051 págs.
- Gwilt M, Arrowsmith JE, Blackburn KJ, Burges RA, Cross PE, Dalrymple HW, Higgins AJ. UK-68,798: a novel, potent and highly selective class III antiarrhythmic agent which blocks potassium channels in cardiac cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 256(1): 318-324.
- Hagiwara N, Irisawa H, Kasanuki H, Hosoda S. Background current in sinoatrial node cells of rabbit heart. *J Physiol* 1992; 448: 53-72.
- Hamil O, Marty A, Neher E. Improved patch clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch Ges Physiol* 1981; 391, 85.
- Han J, Moe GK. Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle. *Circ Res* 1963; 14:44-60.

- Harris AS. Potassium and experimental coronary occlusion. *Am Heart J* 1966; 71: 797-802.
- Harvey RD, Clark CD, Hume JR. Chloride current in mammalian cardiac myocytes. *J Gen Physiol* 1990; 95: 1077-1102.
- Hearse D. Activation of ATP-sensitive potassium channels: a novel pharmacological approach to myocardial protection?. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 1-17.
- Heisler BE, Ferrier GR. Proarrhythmic actions of flecainida in an isolated tissue model of ischemia and reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 279: 317-324.
- Hellestrand KJ, Bexton RS, Nattan AN, Spurrell RAJ, Cam AJ. Acute electrophysiological effects of flecainida acetate on cardiac conduction and refractoriness in man. *Br Heart J* 1982; 48: 140-148.
- Hodking A, Huxley A. A quantitative description of membrane current and its implication to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* 1952; 117 (4): 500-544.
- Hoenicke EM, Peterseim DS, Ducko CT, Sun X, Damiano RJ. Donor heart preservation with the potassium channel opener pinacidil: comparison with University of Wisconsin and St. Thomas' solution. *J Heart Lung Transplant*. 2000;19(3):286-97.
- Hoffman BF, Rosen MR. Cellular mechanisms of cardiac arrhythmias. *Circ Res* 1981; 49(1): 1-15.
- Holmes B, Heel RC. Flecainide: a preliminary review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1985; 29: 1-33.
- Horinaka S, Kobayashi N, Yabe A, Asakawa H, Yagi H, Mori Y, Tsubokou Y, Yoshida K, Nakano S, Matsuoka H. Nicorandil protects against lethal ischenjmic ventricular arrhythmias and up-regulates endothelial nitric oxide synthase expression and sulfonylurea receptor 2mRNA in conscious rats with acute myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 2004; 18: 13-22.



- Ideker RE, Walcott G, Walcott KT. Mapping of ventricular fibrillation. En: Allesie MA, Fromer M, Eds. Atrial and ventricular fibrillation : Mechanisms and device therapy. Armonk NY, Futura Publishing Co 1997; p 63-69.
- Iida M, Kodama I, Toyama J. Negative dromotropic effects of class I antiarrhythmic drugs in anisotropic ventricular muscle. *Cardiovasc Res* 1996; 31: 640-650.
- Irisawa H, Sato R. Intra- and extracellular actions of proton on the calcium current of isolated guinea pig ventricular cells. *Circ Res* 1986; 59(3): 348-355.
- Jalife J, Davidenko JM, Michaels DC. A new perspective on the mechanisms of arrhythmias and sudden cardiac death: spiral waves of excitation in Herat muscle. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1991 (2): 133-152).
- Jalife J. Ventricular fibrillation: mechanisms of initiation and maintenance. *Annu Rev Physiol* 2000; 62: 25-50.
- Janse MJ, Van Capelle FJL, Morsink H, Kleber AG, Wilms-Schopman F, Cardinal R, Naumann C, Durrer D. Flow of "injury current" and patterns of excitation during early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. *Circ Res* 1980; 47(2): 151-165.
- Janse MJ, Kleber AG. Electrophysiological changes and ventricular arrhythmias in the early phase of regional myocardial ischemia. *Circ Res* 1981; 49(5): 1069-1081.
- Janse MJ. Electrophysiological effects of myocardial ischaemia. Relationship with early ventricular arrhythmias. *Eur Heart J* 1986; May;7 Suppl A:35-43.
- Janse MJ. Functional reentry: leading circle or spiral waves?. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10: 621-622.
- Jennings RB, Reimer KA .Destino de la célula miocárdica isquémica. En: Corday D, Suay J. Infarto de miocardio. Ediciones Toray SA 1970; p 13-26.
- Jurkiewicz N, Sanguinetti MC. Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent. Specific

---

block of rapidly activating delayed rectifier K<sup>+</sup> current by dofetilide. *Circ Res* 1993; 72(1): 75-83.

Kadish AH, Spear JF, Levine JH, Moore FN. The effects of procainamide on conduction in anisotropic canine ventricular myocardium. *Circulation* 1986; 74(3): 616-625.

Katritsis D, Rowland E, O'Nunain S, Shakespeare CF, Poloniecki J, Camm AJ. Effect of flecainide on atrial and ventricular refractoriness and conduction in patients with normal left ventricular. Implications for possible antiarrhythmic and proarrhythmic mechanisms. *Eur Heart J* 1995; 16: 1930-1935.

Kerr MJ, Wilson R, Shanks RG. Suppression of ventricular arrhythmias after coronary artery ligation by pinacidil, a vasodilator drug. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7: 875-883.

Kiehn J, Villena P, Beyer T, Brachmann J. Differential effects of the new class III agent dofetilide on potassium currents in guinea pig cardiomyocytes. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24: 566-72.

Kiehn J, Wible B, Lacerda E, Brown M. Mapping the block of a cloned human inward rectifier potassium channel by dofetilide. *Mol Pharmacol* 1996; 50: 380-387.

Kirkels J, Van Echteld C, Ruigrok T. Intracellular magnesium during myocardial ischemia and reperfusion: possible consequences for postischemic recovery. *J. Moll Cell Cardiol* 1989; 21: 1209-1218.

Kleber AG. Resting membrane potential, extracellular potassium activity, and intracellular sodium activity during acute global ischemia in isolated perfused guinea pig hearts. *Circ Res* 1983; 52: 442-450.

Kléber AG. Extracellular potassium accumulation in acute myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1984; 16: 389-394

- Knobloch K, Brendel J, Peukert S, Rosentein B, Bush AE, Wirth KJ. Electrophysiological and antiarrhythmic effects of the novel  $I_{Kur}$  channel blockers, S9947 and S20951, on left versus right pig atrium in vivo in comparison with the  $I_{Kr}$  blockers dofetilide, azimilide, d-l sotalol and ibutilide. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2002; 366: 482-487.
- Kober L, Bloch Thomsen PE, Moller M, Torp-Pedersen C, Carlsen J, Sandoe E, Egstrup K, Agner E, Videbaek J, Marchant B, Camm AJ; Danish Investigations of Arrhythmia and Mortality on Dofetilide (DIAMOND) Study Group. Effect of dofetilide in patients with recent myocardial infarction and left-ventricular dysfunction: a randomised trial. *Lancet*. 2000 Dec 16; 356(9247): 2052-8.
- Kodama I, Wilde A, Janse MJ, Durrer D, Yamada K. Combined effects of hypoxia, hyperkalemia and acidosis on membrane action potential and excitability of guinea-pig ventricular muscle. *J Mol Cell Cardiol* 1984; 16: 247-259.
- Komori S, Ishii M, Hashimoto K. Antiarrhythmic effects of coronary vasodilators on canine ventricular arrhythmia models. *Jpn J Pharmacol* 1988; 337: 203-212.
- Kondo T, Yamaki M, Kubota I, Tachibana H, Tomoike H. Electrophysiological effects of sodium channel blockade on anisotropic conduction block in canine myocardium. Preferential slowing of longitudinal conduction by flecainide versus disopyramide or lidocaine. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 1639-1644.
- Konings KT, Kirchhof CJ, Smeets JR, Wellens HJ, Penn OC, Allessie MA. High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. *Circulation*. 1994 Apr; 89(4): 1665-80.
- Koura T, Hara M, Takeuchi S, Ota K, Miyoshi S, Watanabe A, Shiraiwa K, Mitamura H, Kodama I, Ogawa S. Anisotropic conduction properties in canine atria analyzed by high-resolution optical mapping. Preferential direction block changes from longitudinal to transverse with increasing age. *Circulation* 2002; 105: 2092-2098.
- Kowey P. Pharmacological effects of antiarrhythmic drugs. Review and update. *Arch Intern Med* 1998; 158: 325-332.

- Kowey P, Marinchak R, Rials S, Bharucha D. Classification and pharmacology of antiarrhythmic drugs. *Am Heart J* 2000; 140: 12-20.
- Krishnan SC, Antzeleitch C. Sodium channel blockade produces opposite electrophysiologic effects in canine ventricular epicardium and endocardium. *Circ Res* 1991; 69: 277-291.
- Kwan YY, Fan W, Hough D, Lee JJ, Fishbein MC, Karagueuzian HS, Chen PS. Effects of procainamide on wave-front dynamics during ventricular fibrillation in open-chest dogs. *Circulation* 1998 May 12; 97(18): 1828-36.
- Lacroix D, Delfaut P, Adamantidis M, Cardinal R, Klug D, Kacet S, Dupuis B. Differential effects of quinidine, flecainide, and cibenzoline on anisotropic conduction in the isolated porcine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998; 9: 55-69.
- Lande G, Maison-Blanche P, Fayn J, Ghadanfar M, Coumel P, Funck-Brenta C. Dynamic analysis of dofetilide-induced changes in ventricular repolarization. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64: 312-321.
- Lawton JS, Harrington GC, Allen CT, Hsia PW, Damiano RJ Jr. Myocardial protection with pinacidil cardioplegia in the blood-perfused heart. *Ann Thorac Surg*. 1996 Jun; 61(6): 1680-8.
- Leon L, Roberge F, Vinet A. Simulation of two-dimensional anisotropic cardiac reentry: effects of the wavelength on the reentry characteristics. *Annals of Biomedical Engineering* 1994; 22: 592-609.
- Lepran I, Baczko I, Varro A, Papp J. ATP sensitive potassium channel modulators: both pinacidil and glibenclamide produce antiarrhythmic activity during acute myocardial infarction in conscious rats. *JPET* 1996; 277: 1215-1220.
- Li D, Bénardeau A, Nattel S. Contrasting efficacy of dofetilide in differing experimental models of atrial fibrillation. *Circulation* 2000; 102: 104-112.

- Liu B, Golyan F, McCullough J, Vasalle M. Electrophysiological and antiarrhythmic effects of the postassium channel opener BRL34915 in cardiac Purkinje fibers. *Drug Rev. Res*; vol 14 (2); New York 1988; 123-139.
- Liu H, Tateyama M, Clancy CE, Abriel H, Kass RS. Channel openings are necessary but not sufficient for use-dependent block of cardiac Na<sup>+</sup> channels by flecainide: evidence from the analysis of disease-linked mutations. *J Gen Physiol* 2002; 120: 39-51.
- López Piñero, JM. (1989). Lecciones de historia de la medicina. Valencia. Instituto de estudios documentales e históricos sobre la ciencia. Universitat de Valencia-CSIS .231 pags.
- Lu H, Remeysen O, De Clerc F. The protection by ischemic preconditioning against myocardial ischemia-and reperfusion-induced arrhythmias is not mediated by ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in the rat. *Cor Art Dis* 1993; 4: 649-657.
- Luo CH, Rudy Y. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization and their interaction. *Circ Res* 1991; 68: 1501-1526.
- Luo CH, Rudy Y. A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. Simulation of ionic currents and concentration changes. *Circ res* 1994a; 74: 1071-1096.
- Lynch JJ, Sanguinetti MC, Kimura S, Bassett A. Therapeutic potential of modulation potassium currents in the diseased myocardium. *FASEB J* 1992; 6: 2952-2960.
- Mac Conail M. Ventricular fibrillation thresholds in Langendorff perfused rabbit hearts : all or none effect of low potassium concentration. *Cardiovasc Res* 1987; 21: 463-468.
- Malmivuo J, Plonsey R. Bioelectromagnetism. Principles and applications of bioelectric and biomagnetic fields. Oxford University Press, New York, 1995. 1857 pags.

- Marban E, Tomaselli GF. Molecular biology of sodium channels. En: Zipes DP, Jalife J. Cardiac electrophysiology. From cell to bedside. 3ªed.. WB Saunders Company. Philadelphia 2000. 1111 pags.
- Marín.García J, Goldenthal MJ. La mitocondria y el corazón. Rev Esp Cardiol 2002; 12 (55): 1293-1310
- Marschang H, Beyer T, Karolyi L, Kubler W, Brachmann J. Differential rate and potassium-dependent effects of the class III agents d-sotalol and dofetilide on guinea pig papillary muscle. Cardiovasc Drugs Ther 1998; 12: 573-583.
- Martin CL, Palomo MA, McMahon EG. Comparison of bidisomide, flecainida and dofetilide on action potencial duration in isolates canine atria: effect of isoproterenol. J Pharmacol Exp Ther 1996; 278: 154-162.
- McAllister RE, Noble D, Tsein RW. Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibers. J Physiol 1975; 251: 1-59.
- Mines GR. On dynamic equilibrium in the heart. J Pysiol 1913; 46: 349-383.
- Mines GR. On circulating excitation in heart muscles and their possible relation to tachycardia and fibrillation. Trans R Soc Can (Section IV) 1914; 43:-52.
- Moe GK, Abildskov JA. Atrial fibrillation as a self-sustained arrhythmia independent of local discharge. Am Heart J 1959; 58: 59-70.
- Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA. A computer model of atrial fibrillation. Am Heart J 1964; 67: 200-220.
- Mogul DJ, Thakor NV, McCullough Jr, Myers GA, TenEick RE, Singer DH. Modified Beeler-Reuter model yields improved simulation of myocardial action potentials. Comput in Cardiol 1984; pp: 159-162.
- Montserrat M, Saiz F, Ferrero JM (Jr) Ferrero J, Thakor N. Ectopic Activity in Ventricular Cells Induced by Early Afterdepolarizations Developed in Purkinje Cells. Annals of biomedical engineering 2000; 28(11): 1343-1351.

- Montero M, Schmitt C. Recording of transmembrane action potentials in chronic ischemic heart disease and dilated cardiomyopathy and the effects of the new class III antiarrhythmic agents d-sotalol and dofetilide. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 571-577.
- Morganroth J, Horowitz LN. Flecainide: its proarrhythmic effect and expected changes on the surface electrocardiogram. *Am J Cardiol* 1984; 53: 89B-94B.
- Morganroth J. Proarrhythmic effects of antiarrhythmic drugs: evolving concepts. *Am Heart J* 1992; 123(4 Pt 2): 1137-1139.
- Moro C, Hernández Madrid A, García Cosío F. *Electrocardiografía clínica*. 1ª ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid 2001. 261 pags.
- Mounsey JP, DiMarco JP. Dofetilide. *Circulation* 2000; 102: 2665-2670.
- Nakayama K, Fan Z, Marumo F, Hiraoka M. Interrelation between pinacidil and intracellular ATP concentrations on activation of the ATP sensitive K<sup>+</sup> current in guinea pig ventricular myocytes. *Circ Res* 1990; 67: 1124-1133.
- Nattel S. Experimental evidence for proarrhythmic mechanisms of antiarrhythmic drugs. *Cardiovasc Res* 1998; 37(3): 567-577.
- Nemeth M, Virág L, Varró A, Papp JG. Comparison of the effects of restacorin and flecainida on various cardiac transmembrana potassium currents. *Acta Physiol Hungarica* 1996; 84(3): 317-318.
- Neuss H, Buss J, Schlepper M, Berthold R, Mitrovic V, Kramer A, Musial J. Effects of flecainida on electrophysiological properties of accessory pathways in the Wolff-Parkinson-White syndrome. *Eur Heart J* 1983; 4: 347-353.
- Nichols CG, Lederer WJ. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system. *Am J Physiol* 1991; 261: H1675-1686.
- Noble D. A modification of the Hodgkin-Huxley equations applicable to Purkinje fibers action and pacemaker potentials. *J Physiol* 1962; 160: 317-352.

- Noma A. ATP-regulated  $K^+$  channels in cardiac muscle. *Nature* 1983; 305: 147-148.
- Nitta J, Furukawa T, Marumo F, Sawanobori T, Hiraoka M. Subcellular mechanism for  $Ca(2+)$ -dependent enhancement of delayed rectifier  $K^+$  current in isolated membrane patches of guinea pig ventricular myocytes. *Circ Res* 1994; 74(1): 96-104.
- Noma A, Takano M. The ATP sensitive  $K^+$  channel. *Jpn J Physiol* 1991; 41: 177-187
- Norgaard BL, Wachtell K, Christensen PD, Madsen B, Johanseb JB, Christiansen EH, Graff O, Simonsen EH. Efficacy and safety of intravenously administered dofetilide in acute termination of atrial fibrillation and flutter: a multicenter, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Danish Dofetilide in Atrial Fibrillation and Flutter Study Group. *Am Heart J* 1999; 137(6): 1062-1069.
- Oppenheim A, Schafer R. *Digital Signal Processing*. Prentice Hall Inc.; Englewood Cliffs. New Jersey 1975.
- Opie L. Energy metabolism and ventricular function. In: Opie L. *The heart: physiology, metabolism, pharmacology, therapy*. Grune & Stratton. Orlando 1984; p 111-198.
- Padrini R, Bova S, Cargnelli G. Effects of pinacidil on guinea-pig isolated perfused heart with particular reference to the proarrhythmic effect. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 715-719.
- Pallandi RT, Campbell TJ. Selective depression of conduction of premature action potentials in canine Purkinje fibres by class Ib antiarrhythmic drugs: comparison with Ia y Ic drugs. *Cardiovas Res* 1988; 22: 171-178.
- Pedersen OD, Bagger H, Keller N, Marchant B, Kober L, Torp-Pedersen C. Efficacy of dofetilide in the treatment of atrial fibrillation-flutter in patients with reduced left ventricular function: a Danish investigations of arrhythmia and mortality on dofetilide (DIAMOND) substudy. *Circulation*. 2001 Jul 17;104(3):292-6.



- 
- Pelzer D, Pelzer S, MacDonald TF. Properties and regulation of calcium channels in muscle cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1990; 114: 107-207.
- Pertsov AM, Emarkova EA, Panfilov AV. Rotating spiral waves in modified Fitz-Hugh-Nagumo model. *Physica D* 1984; 14: 117-124.
- Pike MM, Luo CS, Clark D. NMR measurements of sodium and cellular energy in ischemic rat heart: role of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange. *Am J Physiol* 1993; 265 (6 pt2): H2017-H2026.
- Pongs P. Molecular biology of voltage-dependent potassium channels. *Physiol Rev* 1992; 72: 69-88.
- Pritchett ELC, Wilkinson WE. Effect of dofetilide in survival in patients with supraventricular arrhythmias. *Am Heart J* 1999; 138: 994-997.
- Quan W, Rudy Y. Unidirectional block and reentry of cardiac excitation: a model study. *Circ Res* 1990; 66(2): 367-82.
- Rahimtoola SH, Tak T. The use of digitalis in heart failure. *Curr Probl Cardiol* 1996; 21: 781-853.
- Ranger S, Nattel S. Determinants and mechanisms of flecainide-induced promotion of ventricular tachycardia in anesthetized dogs. *Circulation* 1995; 92: 1300-1311.
- Reiter MJ, Mann DE, Williams GR. Interaction of hypokalemia and ventricular fibrillation in isolated rabbit hearts. *Am J Physiol* 1993; 265: H1544-H1550.
- Restivo M, Yin H, Caref EB, Patel AI, Ndrepepa G, Avitable MJ, Assadi MA, Isber N, El-sherif N. Reentrant arrhythmias in the subacute infarction period. The proarrhythmic effect of flecainide acetate on functional reentrant circuits. *Circulation* 1995; 91: 1236-1246.
- Roden DM, Woosley RL. Drug therapy. Flecainide. *N Engl J Med* 1986; 315 (1): 36-41.

- Rodriguez B, Ferrero Jr, Trenor B. Mechanistic investigation of extracellular K<sup>+</sup> accumulation during acute myocardial ischemia: a simulation study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 283(2): 490-500.
- Rosen MR, Janse MJ, Wit AL. *Cardiac electrophysiology: a text book*. Ed. Futura Publishing Co., Mt. Kisko, New York 1990.
- Rouet R & Ducouret P. Use-and concentration-dependent effects of flecainide in guinea pig right ventricular muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24(2):177-83.
- Rouet R, Picard S, Libersa C, Ghadanfar M, Alabaster C, Gérard JL. Electrophysiological effects of dofetilide in an in vitro model of "border zone" between normal and ischemic/reperfused myocardium. *Circulation* 2000; 101: 86-93.
- Rudy Y, Quan WL. A model study of the effects of the discrete cellular structure on electrical propagation in cardiac tissue. *Circ Res* 1987; 61(6): 815-823.
- Saffitz JE, Kanter HL, Gree KG, Tolley TK, Beyer EC. Tissue-specific determinants of anisotropic conduction velocity in canine atrial and ventricular myocardium. *Circ Res* 1994; 74: 1065-1070.
- Sakai T, Ogawa S, Hosokawa M, Miyazaki T, Sakurai K, Nakamura Y. Electrophysiological effects of flecainida in a canine 7 day old myocardial infarction model. *Cardiovasc Res* 1989; 23: 177-183.
- Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK. Two components of cardiac delayed rectifier K<sup>+</sup> current: differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J Gen Physiol* 1990; 96: 195-215.
- Sanguinetti MC, Curran M, Spector P. Block of cardiac delayed rectifier K<sup>+</sup> channels as an antiarrhythmic mechanism. In; Vereecke J, Van Bogaert P, Verdonck F, eds. *Potassium channels in normal and pathological conditions*. Leuven University Pres, Leuven 1995: 103-117.
- Satoh Y, Sugiyama A, Tamura K, Hashimoto K. Effects of a class III antiarrhythmic drug, dofetilide, on the in situ canine heart assessed by the simultaneous

monitoring of hemodynamic and electrophysiological parameters. *Jpn J Pharmacol* 1999; 81: 79-85.

Schalij MJ, Lammers W, Rensma PL, Allessie M. Anisotropic conduction and reentry in perfused epicardium of rabbit left ventricle. *Am J Physiol* 1992; 263: 1466-1478

Schmitt FO, Erlanger J. Directional differences in the conduction of the impulse through heart muscle and their possible relation to extrasystolic and fibrillatory contractions. *Am J Physiol* 1928; 87: 326-347.

Shaw RM, Rudy Y. Electrophysiologic effects of acute myocardial ischemia. A mechanistic investigation of action potential conduction and conduction failure. *Circ Res* 1997; 80(1):124-38. (1997a)

Shaw RM, Rudy Y. Ionic mechanisms of propagation in cardiac tissue. Roles of the sodium and L-type calcium currents during reduced excitability and decreased gap junction coupling. *Circ Res* 1997;81(5):727-41. (1997b).

Shub C, Zachariah PK, Ilstrup DM, Tajik AJ. Effects of pinacidil on the heart: serial electrocardiographic and echocardiographic observations. *Can J Cardiol* 1987; 3(5): 223-229.

Singh S, Zoble RG, Yellen L, Brodsky MA, Feld GK, Berk M, Billing CB Jr. Efficacy and safety of oral dofetilide in converting to and maintaining sinus rhythm in patients with chronic atrial fibrillation or atrial flutter: the symptomatic atrial fibrillation investigative research on dofetilide (SAFIRE-D) study. *Circulation*. 2000 Nov 7;102(19):2385-90.

Smallwood JK, Steinberg MI. Cardiac electrophysiological effects of pinacidil and related pyridylcyanoguanidines: relationship to antihypertensive activity. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988; 12: 102-109.

Smallwood JK, Robertson DW, Steinberg MI. Electrophysiological effects of flecainida enantiomers in canine Purkinje fibres. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1989; 339: 625-629.

Sommer JR, Johnson EA. Ultrastructure of cardiac muscle. En: Handbook of Physiology. Ed: American Physiology Society, Baltimore 1979; p 113-187.

Spach MS, Miller WT, Geselowitz DB, Barr RC, Kootsey JM, Johnson EA. The discontinuous nature of propagation in normal canine cardiac muscle. Evidence for recurrent discontinuities of intracellular resistance that affect the membrane currents. *Circ Res* 1981; 48: 39-54.

Spach MS, Miller WT, Dolber PC, Kootsey JM, Sommer JR, Mosher CE. The functional role of structural complexities in the propagation of depolarization in the atrium of the dog. Cardiac conduction disturbances due to discontinuities of effective axial resistivity. *Circ Res* 1982; 50: 175-191.

Spach MS, Kootsey JM. The nature of electrical propagation in cardiac muscle. *Am J Physiol* 1983; 244: 3-22.

Spach MS, Dolber PC, Sommer JR. Discontinuous propagation: an hypothesis based on known cardiac structural complexities. *Int J Cardiol* 1985; 7: 176-174.

Spach MS, Dolber PC. Relating extracellular potentials and their derivatives to anisotropic propagation at a microscopic level in human cardiac muscle. Evidence for electrical uncoupling of side-to-side fiber connections with increasing age. *Circ Res* 1986 Mar; 58(3): 356-71.

Spach MS, Dolber PC, Heidlage JF, Kootsey JM, Johnson EA. Propagating depolarization in anisotropic human and canine cardiac muscle: apparent directional differences in membrane capacitance. A simplified model for selective directional effects of modifying the sodium conductance on  $V_{max}$ ,  $T_{foot}$  and propagating safety factor. *Circ Res* 1987; 60: 206-219.

Spach MS, Heidlage JF, Darken ER, Hofer E, Raines KH, Starmer F. Cellular  $V_{max}$  reflects both membrane properties and the load presented by adjoining cells. *Am J Physiol* 1992; 263: 1855-1863.

- Spinelli W, Follmer C, Parsons R, Colatsky T. Effects of cromakalim, pinacidil and nicorandil on cardiac refractoriness and arterial pressure in open-chest dogs. *Eur J Pharmacol* 1990; 179: 243-252.
- Spinelli W, Sorota S, Siegal M, Hoffman F. Antiarrhythmic actions of the ATP-regulated  $K^+$  current activated by pinacidil. *Circ Res* 1991; 68: 1127-1137.
- Tachibana H, Yamaki M, Kubota I, Watanabe T, Yamauchi S, Tomoike H. Intracoronary flecainide induces ST alternans and reentrant arrhythmia on intact canine heart. A role of 4-aminopyridine-sensitive current. *Circulation* 1999; 99: 1637-1643.
- Tamargo J, Valenzuela C. Fármacos antiarrítmicos. En: Flórez J, *Farmacología humana* 2ª ed, Ed. Masson-Salvat, Barcelona 1992; p 565-584.
- Tamargo J. *Electrofisiología cardíaca*. En: Moro C, Hernández Madrid A, García Cosío F. *Electrocardiografía clínica*. 1ª ed. Ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid 2001; p 1-22.
- Tan HL, Mazon P, Verberne HJ, Sleeswijk ME, Coronel R, Opthof T, Janse MJ. Ischaemic preconditioning delays ischaemia induced cellular electrical uncoupling in rabbit myocardium by activation of ATP sensitive potassium channels. *Cardiovasc Res* 1993; 27(4): 644-651.
- Tande PM, Bjornstad H, Yang T, Refsum H. Rate-dependent class III antiarrhythmic action, negative chronotropy, and positive inotropy of a novel  $I_K$  blocking drug, UK-68,798: potent in guinea pig but no effect in rat myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 16(3): 401-410.
- Thakor N, Ferrero Jr, Saiz J, gramatikov B, Ferrero J. Electrophysiologic models of heart cells and cell networks. *IEEE Engineering in Medicine and Biology* 1998; 17(5): 73-83.
- Tohse N, Kanno M. Effects of dofetilide on membrane currents in sinoatrial node cells of rabbit. *Jpn J Pharmacol* 1995; 69: 303-309.

- Torp-Pedersen CH, Moller M, Bloch-Thomsen PE, Kober L, Sandoe E, Egstrup K, Agner E, Carlsen J, Videbaek J, Marchant B, Camm AJ. Dofetilide in patients with congestive heart failure and left ventricular dysfunction. Danish Investigations of Arrhythmia and Mortality on Dofetilide Study Group. *N Engl J Med*. 1999 Sep 16;341(12):857-65.
- Torp-Pedersen CH, Brendorp B, Kober L. Dofetilide: a class anti-arrhythmic drug for treatment of atrial fibrillation. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 2000; 9(11): 2695-2704.
- Tovar OH, Jones JL. Epinephrine facilitates cardiac fibrillation by shortening action potential refractoriness. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 1447-1455.
- Trenor B (2001). Modelización matemática y simulación de los efectos del pinacidil y el nicorandil sobre la actividad eléctrica de las células cardíacas en la fase aguda de la isquemia miocárdica. Tesis Doctoral dirigida por el Dr. JM Ferrero (Jr). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Tseng GN, Hoffman BF. Actions of pinacidil on membrane currents in canine ventricular myocytes and their modulation by intracellular ATP and AMPc. *Pflügers Arch* 1990; 415: 414-424.
- Turgeon J, Wisialowsky T, Wong W, Altemeier WA, Wikswo JP, Roden DM. Suppression of longitudinal versus transverse conduction by sodium channel block. Effects of sodium bolus. *Circulation* 1992; 85: 2221-2226.
- Trenor B, Ferrero JM (Jr). Effects of potassium channel openers nicorandil and pinacidil on electrical activity of cardiac cells and cardiac tissues: A simulation study. *Computers in Cardiology* 1999; 26: 105 - 108.
- Uchida T, Yashima M, Gotoh M, Qu Z, Garfinkel A, Weiss JN, Fishbein MC, Mandel WJ, Chen PS, Karagueuzian HS. Mechanism of acceleration of functional reentry in the ventricle. Effects of ATP-sensitive channel opener. *Circulation* 1999; 99: 704-712.

- Usui M, Inoue H, Saihara S, Sugimoto T. Antifibrillatory effects of class III antiarrhythmic drugs: comparative study with flecainide. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 21: 376-383.
- Van Opstal J, Leunissen J, Wellens H, Vos M. Azimilide and dofetilide produces similar electrophysiological and proarrhythmic effects in canine model of torsade de pointes arrhythmias. *Eur J Pharmacol* 2001; 412: 67-76.
- Vaughan Williams EM. Classification of antiarrhythmic drugs. En: Sandone E, Flensted-Jensen E, Olesen KH editors. *Symposium on cardiac arrhythmias*. Stockholm, Sweden: Astra; 1970: 449-472.
- Viswanathan PC, Shaw RM, Rudy Y. Effects of IKr and IKs heterogeneity on action potential duration and its rate dependence: a simulation study” *Circulation* 1999; 99(18):2466-74.
- Wang DW, Kiyosue T, Sato T, Arita M. Comparison of the effects of class I antiarrhythmic drugs, cibenzoline, mexiletine and flecainide on the delayed rectifier K<sup>+</sup> current of guinea-pig ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 893-903.
- Wang Z, Pelletier C, Talajic M, Nattel S. Effects of flecainide and quinidine on human atrial action potentials. Role of rate-dependence and comparison with guinea pig, rabbit, and dog tissues. *Circulation* 1990; 82: 274-283.
- Wang Z, Pagé P, Nattel S. Mechanism of flecainide's antiarrhythmic action in experimental atrial fibrillation. *Circ Res* 1992; 71: 271-287.
- Wang Z, Fermini B, Nattel S. Mechanism of flecainide's rate-dependent actions on action potential duration in canine atrial tissue. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 267(2): 575-581.
- Wang Z, Fermini B, Nattel S. Effects of flecainide, quinidine and 4-aminopyridine on transient outward and ultrarapid delayed rectifier currents in human and atrial myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272: 184-196.

- Watanabe H, Watanabe I, Nakai T, Oshikawa N, Kunimoto S, Masaki R, Kojima T, Saito S, Ozawa Y, Kanmatuse K. Frequency-dependent electrophysiological effects of flecainida, nifekalant and d,l-sotalol on the human atrium. *Jpn Circ J* 2001; 65: 1-6.
- Weiss JN, Venkatesh N, Lamp S. ATP-sensitive  $K^+$  channels and cellular  $K^+$  loss in hypoxic and ischaemic mammalian ventricle. *J Physiol* 1992; 447: 649-673.
- Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Qu Z, Chen PS. Chaos and the transition to ventricular fibrillation: a new approach to antiarrhythmic drug evaluation. *Circulation* 1999; 99(21):2819-26.
- Weirich J, Hohnloser S, Antoni H. Differential analysis of frequency-dependent effects of antiarrhythmic drugs: importance of saturation behavior of frequency-dependent sodium-channel blockade. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20(2):8-16.
- Wiggers CJ, Wegria R. Ventricular fibrillation due to a single localized induction and condenser shocks applied during the vulnerable phase of ventricular systole. *Am J Physiol* 1940; 128; 500-505.
- Wijffels M, Dorland R, Mast F, Allesie MA. Widening of the excitable gap during pharmacological cardioversion of atrial fibrillation in the goat. Effects of cibenzoline, hydroquinidine, flecainida and d-sotalol. *Circulation* 2000; 102: 260-267.
- Wilde AAM (1988). Miocardial ischemia and hypoxia. Cellular ionic and electrical activity. Tesis doctoral, Universidad de Amsterdam. Rodopi, Ámsterdam.
- Wilde AAM. Role of ATP-sensitive  $K^+$  current in ischaemia arrhythmias. *Cardiovasc Drugs Therapy* 1993; 7: 521-526.
- Wilde AAM, Janse MJ. Electrophysiological effects of ATP sensitive potassium channel modulation: implications for arrhythmogenesis. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 16-24.
- Winfree AT. Spiral waves of chemical activity. *Science* 1972; 175: 634-636.



- Winfrey AT. How does ventricular tachycardia decay into ventricular fibrillation?. En: Shenassa M, Borggreffe M. Eds. Cardiac Mapping. Mount Kisko, Futura Publishing Co, Inc; New York 1993: 655-680.
- Wirth KJ, Knobloch K. Differential effects of dofetilide, amiodarona and class Ic drugs on left and right atrial refractoriness and left atrial vulnerability in pigs. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2001; 363: 166-174.
- Wit AL, Cranefield PF. Reentrant excitation as a cause of cardiac arrhythmias. *Am J Physiol* 1978; 235 (1): H1- H17.
- Wit AL, Janse J. The ventricular arrhythmias of ischemia and infarction. Electrophysiological mechanisms. Ed. Futura Publishing Co., Mt. Kisko, NY 1993.
- Wolk P, Kane KA, Cobbe SM, Hicks MN. Facilitation of spontaneous defibrillation by moxonidine during regional ischaemia in an isolated working rabbit heart model. *Eur J Pharmacol* 1999; 367:25-32.
- Wolleben CD, Sanguinetti MC, Siegl PKS. Influence of ATP-sensitive potassium channel modulators on ischemia-induced fibrillation in isolated rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21: 783-788.
- Yamashita T, Nakajima T, Hamada E, Hazama H, Omata M, Kurachi Y. Flecainide inhibits the transient outward current in atrial myocytes isolated from the rabbit heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 315-321.
- Yan GX, Yamada KA, Kleber AG, Mc Howat J, Corr PB. Dissociation between cellular  $K^+$  loss, in repolarization time, and tissue ATP levels during myocardial hypoxia and ischemia. *Circ Res* 1993; 72: 560-570.
- Yao Z, Gross GJ. Effects of  $K_{ATP}$  channel opener bimakalim on coronary blood flow, monophasic action potential duration, and infarct size in dogs. *Circulation* 1994; 89: 1769-1775
- Yatani A, Brown AM, Akaike N. [1984] Effect of extracellular pH on sodium current in isolated, single rat ventricular cells. *J. Membr Bio* 1984; 78(2): 163-168

- Yuan S, Wohlfart B, Rasmussen S, Olsson S, Blomstrom-Lundqvist C. Effect of dofetilide on cardiac repolarization in patients with ventricular tachycardia. A study using simultaneous monophasic action potential recordings from two sites in the right ventricle. *Eur Heart J* 1994; 15: 514-522.
- Yue L, Feng JL, Wang Z, Nattel S. Effects of ambasilide, quinidine, flecainide and verapamil on ultra-rapid delayed rectifier potassium currents in canine atrial myocytes. *Cardiovasc Res* 2000; 46: 151-161.
- Zaitsev A, Berenfeld O, Mironov S, Jalife J, Peterov A. A distribution of excitation frequencies on the epicardic and endocardic surfaces of fibrillating ventricular wall of the sheep heart. *Circ Res* 2000; 86: 408-417.
- Zeng J, Laurita K, Rosenbaum D, Rudy Y. Two components of the delayed rectifier  $K^+$  current in the ventricular myocytes of the guinea pig type. Theoretical formulation and their role in repolarization. *Circ Res* 1995; 77: 140-152.
- Zipes DP, Fisher J, King RM, Nicoll AB, Jolly WW. Termination of ventricular fibrillation in dogs by depolarising a critical amount of myocardium. *Am J Cardiol* 1975; 36: 37-44.
- Zipes DP. Producción de arritmias cardíacas: consideraciones electrofisiológicas. En: Braunwald E., Tratado de cardiología, 5ª ed, Ed McGraw-Hill Interamericana, México DF 1980; p 593-641.
- Zuanetti G, Corr PB. Antiarrhythmic efficacy of a new class III agent, UK-68798, during chronic myocardial infarction: evaluation using three-dimensional mapping. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 256: 325-334.
- Zykov VS. Simulation of wave processes in excitable media. Manchester University Press; New York 1987.