

# **ELECTRO-FÁRMACO-FISIOPATOLOGÍA DE LOS CANALES IÓNICOS CARDÍACOS E IMPACTO SOBRE EL ELECTROCARDIOGRAMA**

**Dr. Andrés Ricardo Pérez Riera**

**Jefe del Sector de Electrocardiografía, Facultad de Medicina, Fundación ABC,  
Santo André – San Pablo – Brasil.**

---

**Palabras clave:** Canales iónicos – canalopatías – electrocardiograma.

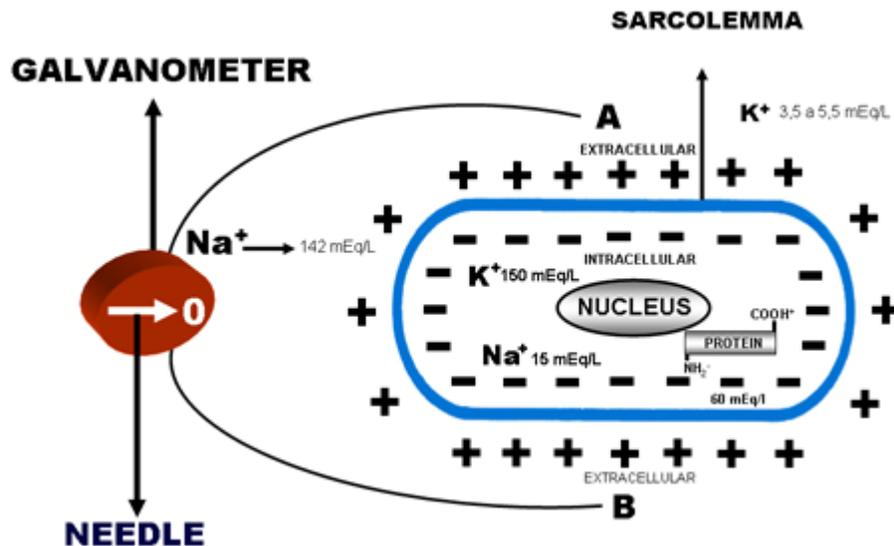
## **POTENCIAL DE REPOSO, CONCENTRACIÓN ELECTROLÍTICA, FIBRAS RÁPIDAS Y LENTAS, FASES DEL POTENCIAL DE ACCIÓN, CANALES SARCOLÉMICOS E INTRACELULARES**

### **Introducción**

Si colocamos ambos electrodos o derivaciones (A y B) desde el galvanómetro (*dispositivo que registra la diferencia en el potencial eléctrico entre dos puntos*) en el exterior (medio extracelular) de una célula cardíaca en reposo o polarizada, veríamos que la aguja del dispositivo no se mueve (indica cero), puesto que ambos electrodos están sensando el mismo medio (extracelular). Es decir, no hay diferencias en el potencial entre ambos extremos de los electrodos del galvanómetro. Figura 1.

Figura 1

Ilustración del potencial transmembrana en reposo o diastólico en una célula cardíaca y medición con galvanómetro



En reposo, el medio extracelular es predominantemente positivo en comparación con el medio intracelular como consecuencia del predominio de cargas positivas (cationes) en el primero en comparación con el intracelular. ¿Cuál es la razón para que el medio extracelular sea predominantemente positivo en comparación con el intracelular? Respuesta: la razón yace en la mayor concentración de proteínas existentes en el medio intracelular en comparación con el extracelular. Las proteínas tienen una carga doble (positiva o negativa) y por esta razón se las llama anfóteras (*anfótera es cualquier sustancia que se comporta como un ácido o como una base, dependiendo del agente reactivo presente. Si se encuentra en presencia de un ácido se comporta como base; en presencia de una base, se comporta como un ácido*); por lo tanto, en el pH intracelular las cargas negativas están predominantemente disociadas; es decir, las proteínas se comportan como aniones (-) en el medio intracelular.

La Tabla 1 muestra las concentraciones normales de cationes y aniones en los medios extra e intracelulares. En esta tabla, se observa que el catión predominante dentro de la célula es  $K^+$  y en el medio extracelular,  $Na^+$ .

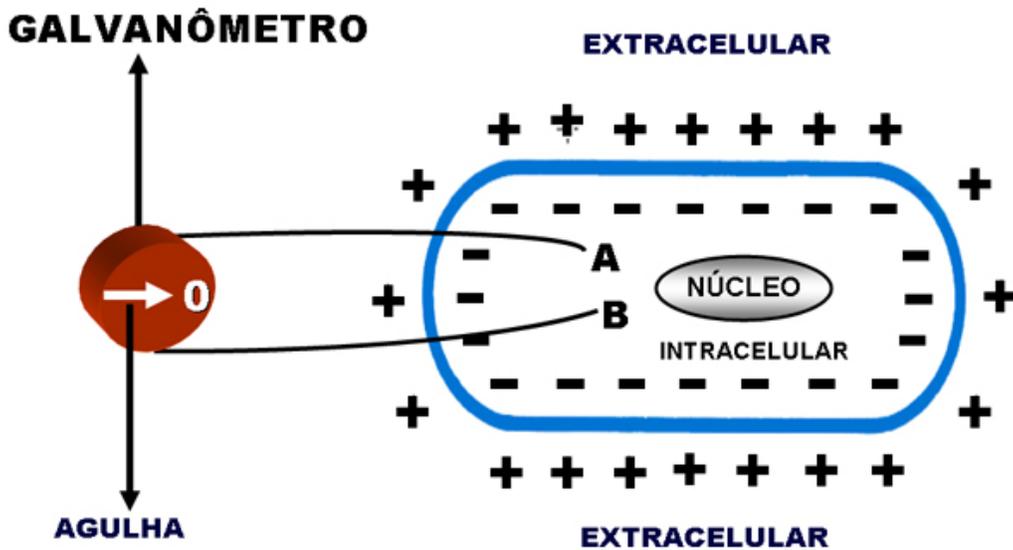
**Tabla 1****Concentración electrolítica normal en los medios extra e intracelulares**

<b>ELECTROLITO</b>	<b>EXTRACELULAR</b>	<b>INTRACELULAR</b>	<b>Extracelular/ intracelular proporción E/I</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>135 a 145 mEq/L</b>	<b>10 mEq/L</b>	<b>14:1</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>3.5 a 5.5 mEq/L</b>	<b>155 mEq/l</b>	<b>1: 30</b>
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>2 mEq/L</b>	<b>10<sup>-4</sup></b>  <i>Aunque la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular es 2 mM, la mayor parte está adosada o aislada en la mitocondria y el RS.</i>	<b>2 x 10<sup>-4</sup> = 1.</b>
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>2 mEq/L</b>	<b>15 mEq/L</b>	<b>0.1333</b>
<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>95 a 110 mEq/L</b>	<b>20 a 30 mEq/L</b>	<b>4:1</b>
<b>CO<sub>3</sub>H<sup>+</sup></b>	<b>27 mEq/L</b>	<b>8 mEq/L</b>	<b>3.3</b>
<b>Proteínas</b>	<b>2 mEq/L</b>	<b>90 mEq/l</b>	<b>0.022</b>

Si colocamos los extremos de ambos electrodos (A y B) en el medio intracelular, la aguja del galvanómetro permanecerá en cero (Figura 2), porque ambos electrodos están en el mismo medio. Figura 2.

Figura 2

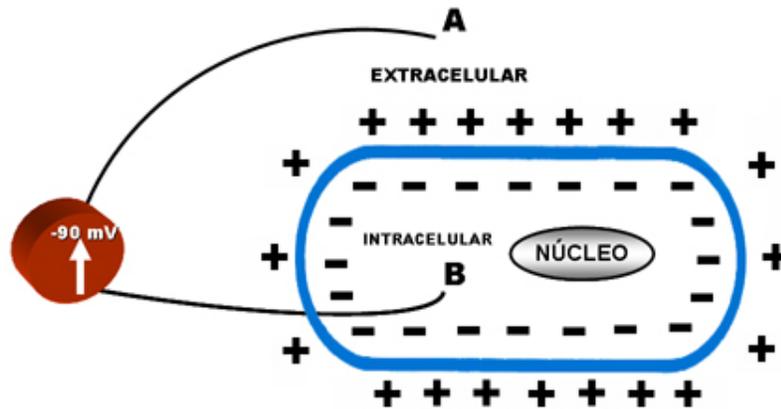
Ilustración del potencial transmembrana de reposo en las células cardíacas y medición con galvanómetro



Finalmente, si uno de los extremos se coloca dentro de la célula (electrodo B) y el otro en el medio extracelular (electrodo A), observamos que la aguja se mueve, indicando la diferencia en potenciales entre los medios extracelular (+) e intracelular (-), con un valor de  $\approx -90$  mV, lo que indica la existencia de una diferencia en potenciales de -90 mV. Figura 3.

**Figura 3**

**Ilustración del potencial transmembrana diastólico o de reposo en las células cardíacas y medición con galvanómetro**



Este valor de -90 mV representa la diferencia en el **Potencial Transmembrana Diastólico** (PTD) o potencial de reposo; es decir, la diferencia en el potencial existente durante la diástole entre el medio extracelular con cargas predominantemente positivas (+) y el medio intracelular con cargas predominantemente negativas (-).

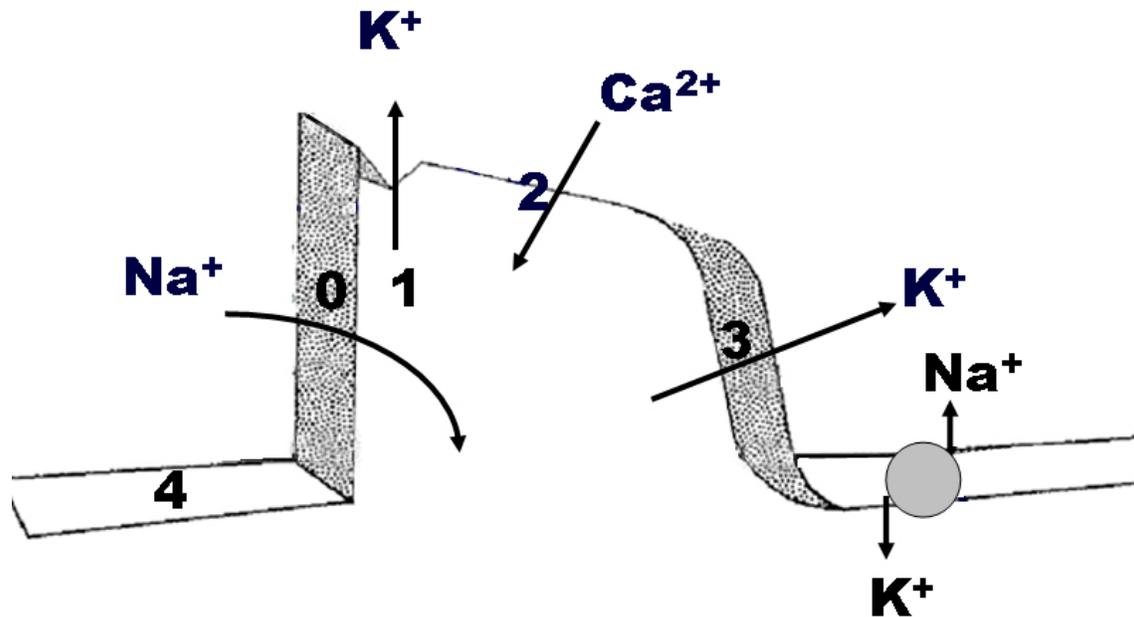
Considerando el aspecto del perfil del potencial de acción (PA) de las células o fibras cardíacas, éstas se categorizan en rápidas y lentas:

**I) Células rápidas:**

Presentes en las células automáticas de Purkinje y no automáticas del miocardio contráctil ventricular y auricular (**células musculares ordinarias**). En la Figura 4 se resumen las características del perfil del PA de las fibras rápidas y sus principales canales iónicos responsables.

Figura 4

Perfil del PA de las fibras rápidas y sus principales canales iónicos



- $\text{Na}^+$  rápido de entrada (en fase 0).
- $\text{K}^+$  precoz de entrada por el canal  $I_{\text{to}}$  en fase 1.
- $\text{Ca}^{2+}$  lento de entrada en fase 2.
- $\text{K}^+$  de entrada final con retardo en fase 3, constituido por dos o tres canales  $\text{K}^+$  lentos de salida con retardo: lento ( $I_{\text{ks}}$ ), rápido ( $I_{\text{kr}}$ ) y ultra-rápido ( $I_{\text{kur}}$ ). Los últimos se originan en el canal hKv1.5 (1). Los canales Kv1.5 conducen la corriente ultra-rápida de retardo del canal  $\text{K}^+$  rectificador,  $I_{\text{kur}}$ . En humanos, los canales Kv1.5 se expresan profusamente (están presentes) en la aurícula, pero son escasos (o ausentes) en los ventrículos (2).
- Finalmente, la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}_{\text{asa}}$  actúa en la fase 4. Esta bomba, con el consumo de energía, ubica los tres cationes  $\text{Na}^+$  en el medio extracelular, e introduce un ion  $\text{K}^+$ . La bomba se inhibe con digital (3).
- Corriente de marcapasos,  $I_f$  o *funny*: opera exclusivamente en la porción inicial de la fase 4 (actúa solamente en un rango potencial de -60/-70 mV a -40 mV) y contribuye en un 20% a determinar la frecuencia cardíaca (FC) de las células P del nódulo SA (4), al controlar la despolarización diastólica y la actividad espontánea

de P, células de marcapasos. Los determinantes moleculares del canal  $I_f$  pertenecen a la familia de los canales activados en la hiperpolarización, conocidos como canales HCN, y constituidos por 4 isoformas (HCN1, HCN2, HCN3, HCN4), con HCN2 (cromosoma 19p13.3) y HCN4, siendo los principales en el corazón (*Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide-gated channels family (HCN)*). En base a la secuencia de canales HCN, los mismos se clasifican como miembros de una superfamilia de canales  $K^+$  activados por voltaje (Kv) y CNG (5;6). Una investigación mostró que inhibir la corriente  $I_f$  puede usarse para disminuir la incidencia de coronariopatía en un subgrupo de pacientes con  $FC \geq 70$  lpm (7;8). Las mutaciones en las isoformas HCN4 (cromosoma 15q24-125.3) y CNBD (S672R) se asocian con bradicardia hereditaria familiar, puesto que causan un efecto similar al estímulo parasimpático, al reducir la actividad del canal  $I_f$  (9). Hay micro-dominios de la membrana, ricos en colesterol y esfingolípidos en los cardiomiocitos, llamados caveolas. En la caveolina-3 (CAV3), se han localizado varios canales, como el tipo-L  $Ca^{2+}$ ,  $I_{Na^+}$  (Na(v)1.5), canal  $I_f$  de marcapasos (HCN4) o intercambiador de  $Na^+/Ca^{2+}$  (NCX1) y otros. Las mutaciones en CAV3 pueden originar la variante 9 del síndrome de QT prolongado (LQT9) y otras arritmias heredadas. En patologías adquiridas que conducen a insuficiencia cardíaca congestiva, CAV3 puede verse afectado, originando arritmias (10). La corriente tipo-T  $Ca^{2+}$  rápida o canal tipo-T  $Ca^{2+}$ , corriente transitoria de  $I_{Ca-T}$  o canal de conductancia pequeña o *tiny*, canal tipo-T de calcio dependiente de voltaje y canales de calcio (tipo-T) activados por bajo voltaje son responsables del ingreso de  $Ca^{2+}$  en la parte final de la fase 4 en el nódulo SA, en la región N del nódulo AV y en el sistema de His-Purkinje. El canal tipo rápido de  $Ca^{2+}$  es bloqueado de manera selectiva por el antagonista de  $Ca^{2+}$  mibefradil (**componente sensible al mibefradil**) y otras drogas como el bepridil, flunarizina y pimozida, que se unen con el canal receptor de manera dependiente de concentración, bloqueando así la entrada del catión  $Ca^{2+}$ . El mibefradil disminuye la FC, sin afectar la contractilidad (11). La gran eficacia del bepridil para terminar con la fibrilación o el aleteo auricular se debe en parte al bloqueo de este canal  $Ca^{2+}$  tipo rápido (12).  $I_{Ca-T}$  no es sensible a la dihidropiridina. El  $I_{Ca-T}$  aumenta su función

con noradrenalina, el agonista alfa adrenérgico fenilefrina, la proporción de ATP extracelular y endotelina-1 (ET-1).

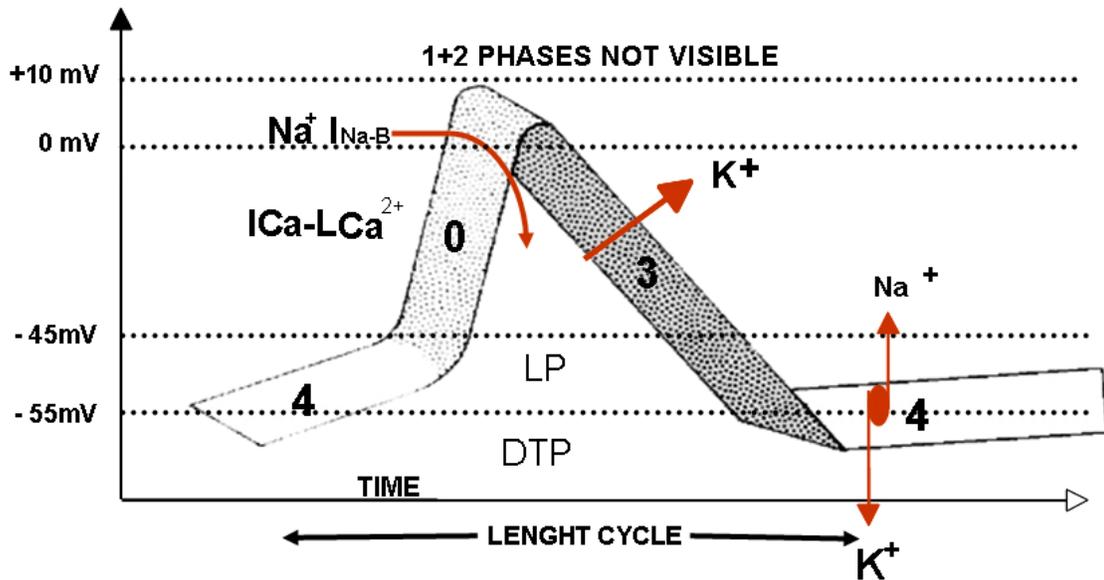
## II) Células lentas:

Se ubican dentro de los límites del nódulo SA de Keith y Flack, nódulo aurículoventricular y en los anillos mitro-tricuspidéos. Se caracterizan por presentar un potencial de reposo no tan negativo ( $\approx -55$  mV), una fase 0 no tan ancha, dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ - lento, y con entrada final adicional de  $\text{Na}^+$  a través del canal independiente de voltaje, llamada  $I_{\text{Na}^+ \text{B}}$  y ausencia de fases 2 y 3 identificables.

La Figura 5 muestra el perfil típico de una fibra lenta, con los principales canales que operan allí.

**Figura 5**

**Perfil del PA de fibra lenta y principales canales iónicos**



Las diferencias principales entre las fibras lentas y rápidas se resumen en la Tabla 2. Las fibras rápidas son células de Purkinje y células musculares de las aurículas y ventrículos, y las fibras lentas están constituidas por células P del nódulo SA, células nodales, aurículoventriculares o del nódulo AV, y anillos mitro-tricuspidéos.

**Tabla 2****Principales diferencias entre fibras lentas y rápidas**

	<b>FIBRAS RÁPIDAS</b>	<b>FIBRAS LENTAS</b>
<b>Ubicación:</b>	Músculo auricular y ventricular, vías preferenciales internodales (de Bachmann, Wenckebach y Thorel), sistema His -Purkinje.	Nódulo SA, nódulo AV, y anillos mitro-tricuspídeos.
<b>Cinética:</b>	Rápida: activación e inactivación <1 ms.	<5 ms e inactivación entre 3 -80 ms.
<b>Potencial diastólico de reposo:</b>	-90 a -80 mV.	-60 mV
<b>Potencial de activación o umbral</b>	-70 a -55 mV.	-55 a -30 mV.
<b>Amplitud del PA en mV:</b>	100 a 130 mV.	A 35 a 70 mV.
<b>Activación en ms:</b>	<1 ms.	<5 ms.
<b>Inactivación en ms:</b>	<1 ms	3-80 ms.
<b>Bloqueadores de fase 0:</b>	Tetrodotoxina (TTX)  Agentes antiarrítmicos clase I: IA, IB y IC.	Antagonistas de Ca <sup>2+</sup> , algunos cationes divalentes como cadmio (Cd), manganeso (Mn), cobalto

		(Co) y níquel (Ni).
<b>Tipo de respuesta a estímulo:</b>	Tipo todo o nada ( <i>all-or-nothing</i> ).	Dependiente de la intensidad del estímulo aplicado.
<b>Dromotropismo:</b>	0.3 a 3 o 5 M/s (metros por segundo)	0.01 a 0.10 M/s.
<b>Overshoot:</b>	+20 mV.	Puede estar ausente o hasta +15 mV.
<b>Nódulo SA:</b>	Ausente.	Presente.
<b>Miocardio auricular</b>	Presente.	Ausente.
<b>Vías interauriculares preferenciales:</b>	Presente.	Ausente.
<b>Nódulo AV:</b>	Ausente.	Presente.
<b>Sistema His Purkinje:</b>	Presente.	Ausente.
<b>Influencia por agentes <math>\beta</math>-adrenérgicos:</b>	Nula.	Significativa.
<b>Influencia por agentes muscarínicos colinérgicos:</b>	Nula.	Disminuye en las aurículas y los ventrículos.

En el PA de las fibras rápidas podemos diferenciar cinco fases sucesivas y bien definidas, llamadas 0, 1, 2, 3 y 4.

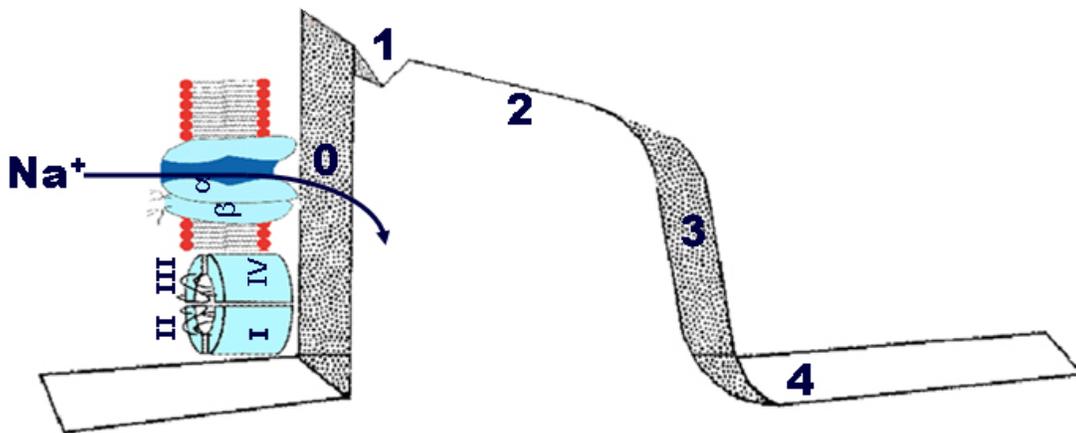
### Fase 0 (cero), rápida o despolarización ascendente

Corresponde a una entrada rápida del catión de sodio ( $\text{Na}^+$ ). Esta fase es concomitante en el ECG de superficie para las aurículas, con la despolarización auricular (onda P) y para los ventrículos, con la despolarización ventricular (complejo QRS).

La Figura 6 muestra la entrada del catión de  $\text{Na}^+$  durante la fase 0 en una fibra rápida. Cuando el canal se abre, el  $\text{Na}^+$  ingresa repentinamente en el medio intracelular, cuando alcanza el potencial umbral (PU), revirtiendo el potencial de la célula. De este modo, la amplitud de la fase 0 se extiende desde  $\approx -90$  mV a  $+30$  mV (120 mV).

Figura 6

Representación de la entrada de  $\text{Na}^+$  en fase 0 en las células rápidas y reversión del PA



En las fibras rápidas, el potencial diastólico de reposo transmembrana se encuentra entre  $\approx -90$  y  $-80$  mV y el potencial de activación o umbral (PU) entre  $-70$  mV y  $-55$  mV.

La fase 0 en las fibras rápidas es muy amplia y rápida, puesto que se extiende  $\approx$  desde  $-90$  mV a  $+30$  mV (amplitud mediana de 120 mV) y con tiempo de activación e inactivación  $< 1$  ms.

Cuánto mayor es la amplitud de la fase 0, mayor será la velocidad de conducción o dromotropismo de la fibra (directamente proporcional).

La porción de la fase 0 que se extiende desde el potencial de reposo hasta el potencial umbral (PU) se llama “base” de la fase 0 y ocurre lentamente; la porción que se extiende desde el PU hasta el potencial 0 ocurre a una velocidad mayor de  $\text{Na}^+$  de entrada, y se lo conoce como  $V_{\text{max}}$ . Finalmente, la porción de fase 0 que se extiende desde el potencial 0 hasta el ápice de reversión ( $\approx +30$  mV) se denomina *overshoot* o crista de Livaud.

La respuesta de la fibra rápida es del tipo todo o nada, lo que significa que cuando el estímulo alcanza el PU, ocurre una apertura repentina del canal de  $\text{Na}^+$ , con influjo rápido de cationes “llamados” desde el interior de las células por un gradiente eléctrico y osmótico doble.

- 1) **Eléctrico:** porque al ser positivo (catión), busca el medio intracelular opuesto (negativo).
- 2) **Osmótico:** porque hay una mayor concentración de  $\text{Na}^+$  en el medio extracelular (142 mEq/L) que en el intracelular (10 mEq/L); proporción extracelular/intracelular = 14.1 (13).

La fase 0 rápida puede bloquearse por agentes antiarrítmicos clase I (IA, IB y IC) y por una toxina llamada Tetrodotoxina o TTX (anhidrotetrodotoxina 4-epitetrodotoxina, ácido tetrodónico) hallada en varias especies de peces, como el pez globo, el puercoespín de mar, el pez luna y el pez ballesta. Esta toxina bloquea los canales rápidos de  $\text{Na}^+$  de las células contráctiles de los cardiomiocitos (células musculares ordinarias) al inhibir la contracción. De este modo, las personas envenenadas con TTX pueden sufrir parálisis muscular cardíaca sin afectar el PA de las fibras lentas. Este mecanismo fue descubierto por el investigador japonés Toshio Narahashi, mientras trabajaba en la Duke University a principios de la década del 60. Actualmente la TTX es producida por ciertas bacterias, como las pseudoalteromonas tetraodonis y otras.

Los agentes antiarrítmicos de clase I bloquean los canales de  $\text{Na}^+$  de los canales rápidos (14).

Los agentes antiarrítmicos de clase I fueron clasificados en tres categorías por Vaughan-Williams, más tarde modificadas por Harrison, dependiendo de la afinidad de la droga con el canal de  $\text{Na}^+$  (15,16).

**Clase IA:** Las drogas de la clase IA, al fijarse y separarse del canal de sodio lo hacen con una velocidad intermedia (ni rápida ni lenta), de esta forma, reducen la amplitud de la fase 0 ( $V_{\max}$ ) y con ello el dromotropismo y además prolongan la duración del potencial de acción. Sus representantes principales son: quinidina, procainamida, disopiramida y ajmalina. Además tienen un efecto anticolinérgico significativo. Las drogas Clase IA que bloquean tanto el canal rápido de  $\text{Na}^+$  y el canal Ito, como la quinidina y la disopiramida pueden normalizar el supradesnivel del punto J y del segmento ST en las precordiales derechas en el Síndrome de Brugada. Por el contrario, estas drogas de la misma clase IA, como la ajmalina y la procainamida que actúan exclusivamente sobre el canal rápido de  $\text{Na}^+$  sin afectar el canal de Ito, aumentan la elevación del punto J y el segmento ST y pueden desencadenar taquiarritmias fatales en el síndrome de Brugada (17). Por otro lado, la quinidina es muy eficiente para evitar la inducción de fibrilación ventricular, sostenida durante el estudio electrofisiológico en pacientes con fibrilación ventricular idiopática y síndrome de Brugada. Esta eficacia se mantiene a largo plazo; en consecuencia, la terapia con quinidina guiada por el estudio electrofisiológico representa una alternativa valiosa al cardiodesfibrilador en esta población (18).

**Clase IB:** Tienen una cinética de unión y liberación rápida con el canal  $\text{Na}^+$ , de manera que no afectan la duración de QRS y el intervalo JT (desde el punto J hasta el final de la onda T). Reducen  $V_{\max}$  levemente. No modifican o acortan el PA. Las drogas representativas son: mexiletina, tocainida, lidocaína, ampliamente usados para el tratamiento agudo de taquiarritmias ventriculares (19).

**Clase IC:** Tienen una cinética lenta de unión con el canal  $\text{Na}^+$ . Reducen significativamente la  $V_{\max}$ , y en consecuencia la velocidad de conducción: efecto dromotrópico negativo más intenso y sin efecto o disminución de la duración del PA (en el último aspecto, completamente diferente de la clase IA). Como consecuencia de esta cinética lenta, la duración del complejo QRS y el intervalo JT aumentan. Pueden extender la refractariedad mínimamente. Las drogas representativas son la propafenona, flecainida, encainida,

moricizina y lorcainida. La propafenona es la única del grupo con un efecto adicional  $\beta_2$  bloqueante, que compensa la taquicardia por efecto IC.

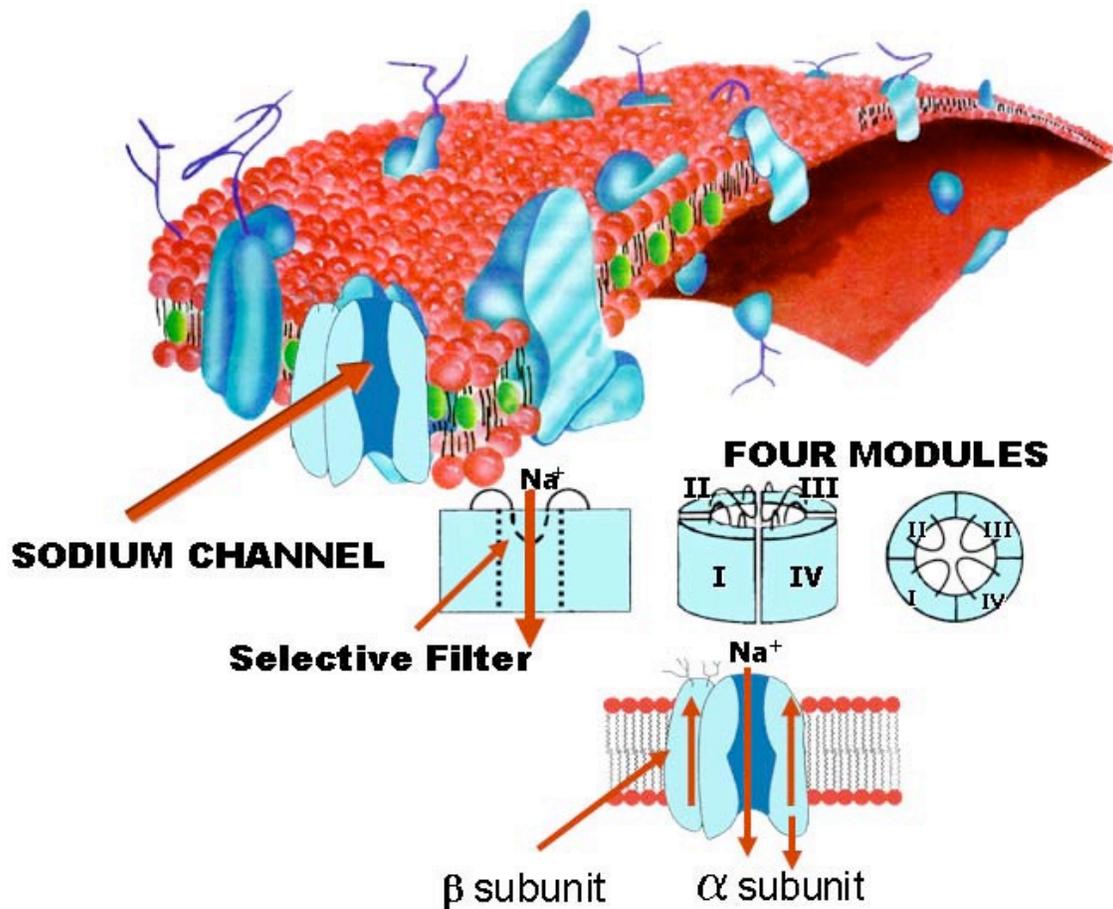
La secuencia de las figuras 7, 8, 9 y 10 muestra las principales características del canal  $\text{Na}^+$  en la fase 0 en el sarcolema de los cardiomiocitos y la estructura del canal de  $\text{Na}^+$  con las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ .

### **Conceptos sobre la estructura del canal de $\text{Na}^+$**

El canal de  $\text{Na}^+$  es una estructura proteica, constituida por cuatro módulos que rodean un poro central. Tiene una unidad principal, llamada subunidad  $\alpha$  y otras dos auxiliares que la rodean,  $\beta_1$  y  $\beta_2$ . El canal de  $\text{Na}^+$  determina la velocidad de conducción del estímulo por la amplitud de su fase 0. La Figura 7 muestra la estructura tetramodular de la subunidad  $\alpha$  del canal de  $\text{Na}^+$ (20,21).

Figura 7

Estructura del canal de  $\text{Na}^+$  con sus cuatro módulos



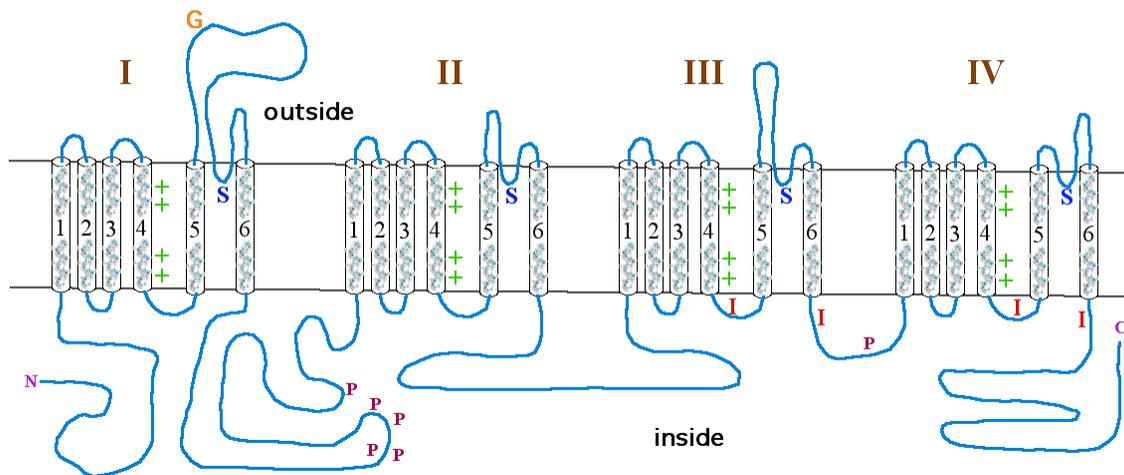
1) **Subunidad  $\alpha$  principal:** constituida por cuatro módulos o dominios (I, II, III y IV), distribuidos en un círculo que rodea un poro central, determinando las propiedades de conductancia, impedancia y translocación del catión de  $\text{Na}^+$ . Cada uno de estos dominios contiene 6 regiones de membrana llamadas S1 a S6. La región S4 actúa como un sensor de voltaje. La región entre S5 y S6 en el dominio IV puede bloquear el poro del canal estableciendo un bucle llamado P, que es el más externo. Ésta es la región más estrecha del poro, y es responsable de la selectividad iónica. La porción interna del poro está formada por una combinación de las regiones S5 y S6 de los 4 dominios. La región entre los dominios III y IV conecta el canal luego de períodos prolongados de activación e inactivación.

La principal subunidad  $\alpha$  es afectada por agentes antiarrítmicos de clase I.

La Figura 8 muestra un diagrama de la subunidad del canal de  $\text{Na}^+$  sensible al voltaje, indicando los puntos de glicosilación, fosforilación, selectividad iónica y sensores de voltaje de cargas positivas en la región S4.

**Figura 8**

**Perfil de la subunidad  $\alpha$  del canal  $\text{Na}^+$  sensible al voltaje**



En las células del nódulo SA, la fase 0 depende del  $\text{Ca}^{2+}$  lento de entrada; sin embargo, en la porción final de la fase 0, un canal  $\text{Na}^+$  independiente de voltaje se activa. El canal se llama  $I_{\text{NaB}}$ .

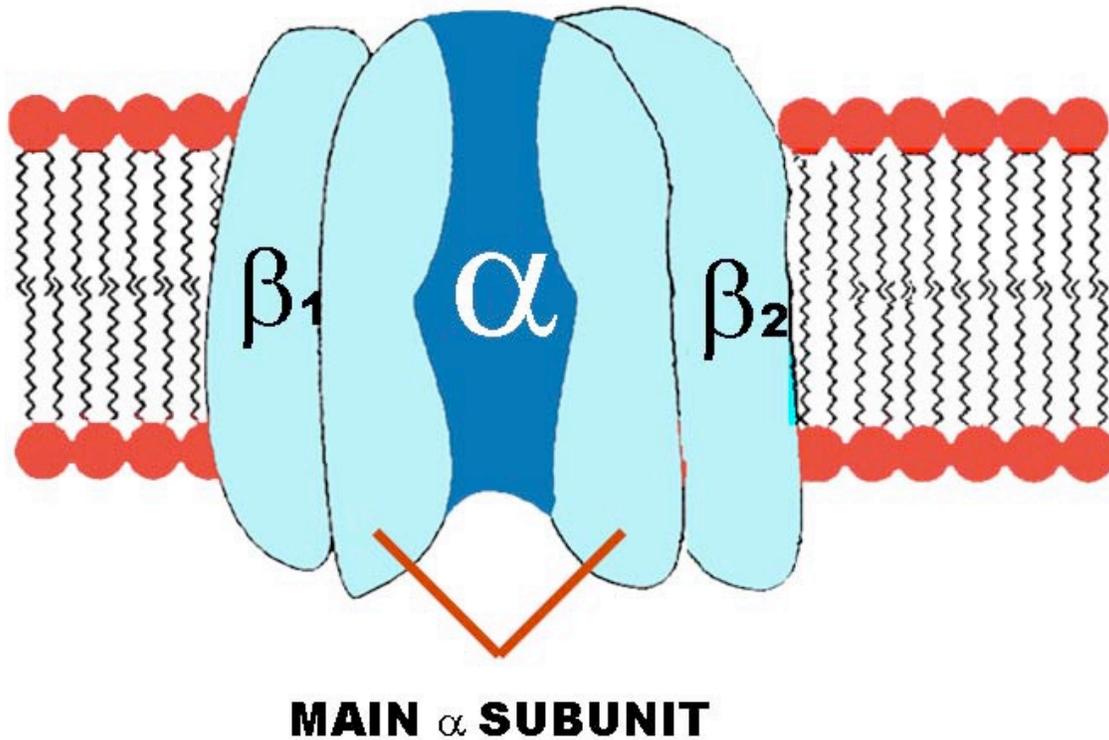
**2) Subunidad  $\beta 1$  auxiliar**

**3) Subunidad  $\beta 2$  auxiliar.**

La Figura 9 muestra las subunidades del canal de  $\text{Na}^+$ :  $\alpha$  es la principal,  $\beta 1$  y  $\beta 2$  son auxiliares.

**Figura 9**

**Imagen de las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_2$  del canal de  $\text{Na}^+$  en el sarcolema**



El canal de  $\text{Na}^+$  tiene tres estados funcionales; dos de ellos son los principales: abierto (permite el pasaje de  $\text{Na}^+$ ) y cerrado (evita el pasaje de  $\text{Na}^+$ ), además de un estado llamado inactivo.

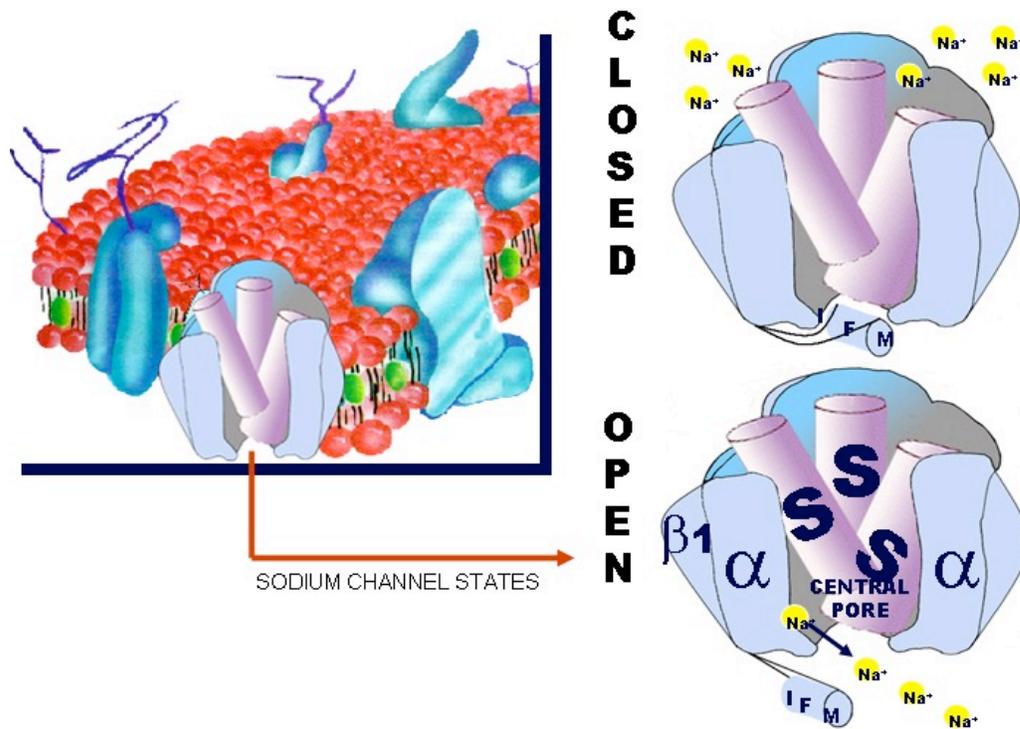
**1) Estado abierto:** permite el pasaje de  $\text{Na}^+$ .

**2) Estado cerrado o en reposo:** durante este estado funcional de reposo, el canal evita el pasaje de  $\text{Na}^+$ , porque un residuo crítico (Phe1489F) cierra la boca intracelular del poro del canal. Este estado corresponde al potencial diastólico transmembrana en reposo, que en la fibra rápida se halla en un valor cercano a  $-90$  mV. En este estado, la llamada “compuerta m” está cerrada, y la “compuerta h” está abierta. El canal de  $\text{Na}^+$  es excitable incluso estando cerrado. El  $\text{Na}^+$  no ingresa rápidamente hasta que el PU se haya alcanzado; es decir desde el potencial de reposo hasta el PU, el influjo de cationes es lento (base de la fase 0).

La Figura 10 muestra el esquema del canal en sus dos principales estados funcionales: abierto y cerrado.

Figura 10

Esquema del canal de  $\text{Na}^+$  y sus dos estados funcionales principales: abierto y cerrado.



**3) Estado inactivado:** El canal está cerrado y no es excitable; en consecuencia, desde este estado el canal no puede abrirse. La compuerta "h" dependiente de voltaje se cierra cuando la célula comienza a volverse positiva internamente. La inactivación del canal de  $\text{Na}^+$  ocurre exclusivamente durante el estado cerrado.

A continuación, las 4 fases de la **repolarización** ocurren en sucesión: 1, 2, 3 y 4.

- I) Fase 1: repolarización rápida inicial.
- II) Fase 2: meseta o domo.
- III) Fase 3: repolarización rápida final.
- IV) Fase 4: despolarización diastólica.

**Fase 1 o fase de repolarización rápida inicial**

Esta fase, siendo incluso polifásica, ocurre principalmente por el flujo de salida transitorio precoz del catión de  $K^+$  o corriente de salida de  $K^+$  transitorio, por un canal conocido como  $I_{to}$ ,  $I_{to1}$ ,  $I_{to-fast}$ ,  $I_{to-f}$  o  $I_{toA}$ . Este canal es dependiente de voltaje (es decir, controlado por voltaje) y su activación ocurre en un rango de -10 mV y +30 mV. Tiene una cinética rápida de activación e inactivación, y es bloqueado entre otros por (sensible a) 4-aminopiridina, y se manifiesta al final de la despolarización ventricular; y al inicio de la repolarización ventricular, que corresponde en el ECG de superficie al punto J (por la palabra *Junction* o Unión), ubicada entre el final del complejo QRS y el inicio del segmento ST.

### Canales que operan en fase 1 y subtipos del canal $I_{to}$

Durante la fase 1, se describen varios canales en funcionamiento: dos canales  $I_{to}$ , conocidos como  $I_{to1}$  e  $I_{to2}$ , y otros como la corriente de cloruro independiente de tiempo, regulada por la vía de cAMP/adenilato ciclasa ( $I_{ClcAMP}$ ).

1) Canal  $I_{to1}$ ,  $I_A$ ,  $I_{to-fast}$ ,  $I_{to-f}$ , corriente de salida transitoria de  $K^+$ , canal sensible o bloqueado por 4-aminopiridina, quinidina y flecainida, activado por voltaje, y modulado por neurotransmisores. Se activa e inactiva rápidamente. La Tabla 3 muestra el principal canal  $I_{to1}$ ; canal principal de la fase 1.

2) Canal  $I_{to2}$ ,  $I_{Cl^-}$  o  $Cl^-$  activado por  $Ca^{2+}$ , lento de salida transitoria de  $K^+$ , resistente a 4-AP, transportado por aniones de  $Cl^-$ : modulado por el porcentaje de  $Ca^{2+}$  intracelular. Presenta activación e inactivación más lentas. Su base iónica puede condicionarse predominantemente por  $Cl^-$  de salida, por el llamado canal  $I_{Cl^-}$ . El canal aumenta por estimulación adrenérgica. Su correlato molecular es la isoforma proteica formadora de poro Kv1.4 (22).

La Tabla 3 muestra las características de las corrientes de  $I_{to1}$  e  $I_{to2}$ .

**Tabla 3**

Canal $I_{to1}$ del PA del miocardio ventricular						
Catión	Canal	Subunidad $\alpha$ proteica	Subunidad $\alpha$ del gen	Fase del PA	CLON	ESTRUCTURA Y ENSAMBLAJE

						<b>MOLECULAR</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	Corriente de salida transitoria rápida de <b>I<sub>to1</sub></b>	<b>Isoformas proteicas formadoras de poros</b> Kv4.3/4.2Kv4.2 y Kv4.3  <b>Probable clon.</b>	<b>KCND2/ KCND3</b>	<b>Fase 1, muesca</b>	Ky4.2/4.3	Poros únicos; 6 dominios transmembrana.  Tetramérica.
<b>K<sup>+</sup></b>	Corriente de salida transitoria lenta de <b>I<sub>to2</sub></b>	<b>Isoformas proteicas formadoras de poros</b> Kv1.4.	<b>KCNA4 KCNA7 KCNC4</b>	<b>Fase 1</b>		Poros únicos; 6 dominios transmembrana.  Tetramérica.

3) **I<sub>Cl-AMPC</sub>** o canal de cloruro (Cl<sup>-</sup>), corriente de Cl<sup>-</sup> activado por cAMP. El canal se activa por el aumento de concentración intracelular de AMPc. Está involucrado en el volumen celular, la regulación del volumen sanguíneo y la regulación de la osmolaridad y respuesta tipo 1 a estímulos químicos celulares (23). El canal despolariza levemente el potencial de reposo, y acorta significativamente la duración del PA y antagoniza la prolongación del PA mediado por β-estimulación.

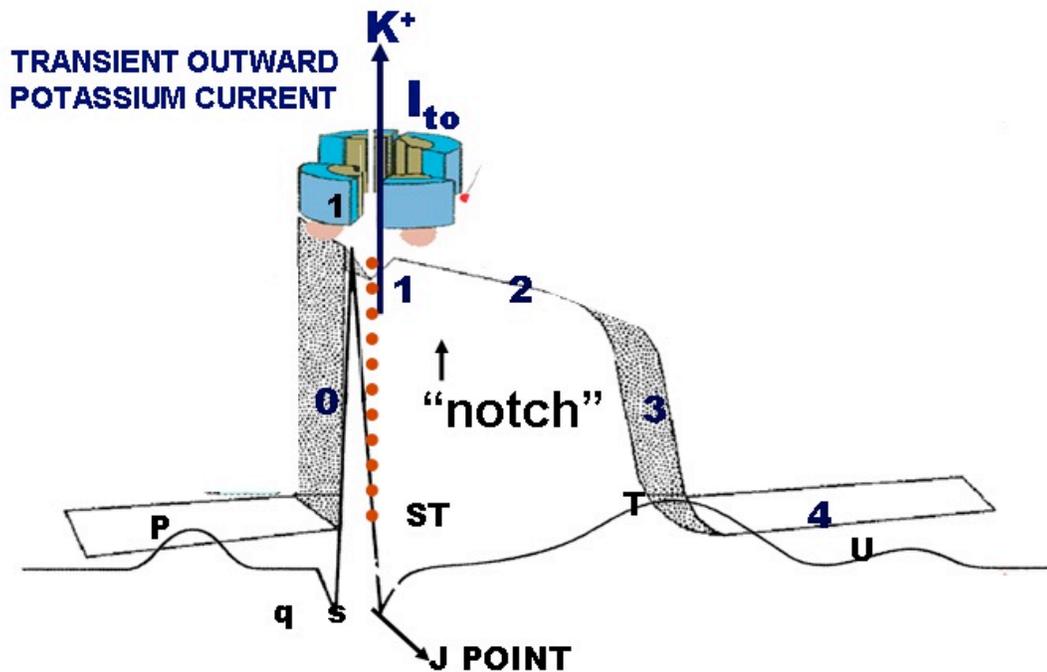
4) **I<sub>Cl-edema</sub>** o **I<sub>Cl-SWELL</sub>**, canal de cloruro activado por edema, canal de salida de cloruro rectificador activado por edema. Este canal pertenece a la categoría de canales iónicos activados por estiramiento. Se inhibe por el ácido antraceno-9-carboxílico, tamoxifeno o precursor B del péptido natriurético (NPPB) y por el ácido disotiocianatostilbeno-2,2'-disulfónico (DDSA) (24). Acorta el PA y causa despolarización.

5) Na<sup>+</sup> de entrada por el canal intercambiador de Na<sup>+</sup>/Ca<sup>+</sup>, que opera de forma reversa.

La Figura 11 muestra el tiempo de salida precoz transitorio de  $K^+$  y su correlación con el ECG de superficie.

Figura 11

Representación del canal de salida precoz de  $K^+$ ,  $I_{to1}$  en fase 2 del PA y correlación temporal con el ECG de superficie



En la fase inicial transitoria o precoz de repolarización rápida (fase 1), ocurre inactivación del canal  $I_{Na^+}$  (disminución de  $Na^+$  de ingreso a través de la bomba intercambiadora  $Na^+/Ca^{2+}$ ) y hay activación concomitante de varios canales de salida, principalmente el canal  $I_{to1}$  e  $I_{to2}$ . El último se conoce como canal de cloruro ( $Cl^-$ ) activado por  $Ca^{2+}$  resistente a 4-AP ( $I_{to2}$  o  $I_{Cl^-}$   $I_{Ca^{2+}}$ ).

El canal  $Cl^-$  también tiene un nivel de activación cercano a -30 mV.

El espesor de la pared ventricular está formado por tres capas funcionales, que tienen perfiles diferentes de PA. En las células epicárdicas y del miocardio medio ventriculares, el PA muestra una muesca significativa, seguida por pendiente en ascenso, conocidos como

morfología de pico y domo (*spike-and-dome*), consecuencia de la concentración del canal  $I_{to}$  en el epicardio y el mesocardio.

En la profundidad de la capa media, es posible hallar las llamadas “células M” que son una subpoblación celular con una gran velocidad de conducción y características electrofisiológicas propias, muy significativas en la fisiopatología de síndromes de QT corto y prolongado, y probablemente en la génesis de la onda U en el ECG en estas entidades (25).

El canal  $I_{to}$  se encuentra en bajas concentraciones o ausente en las células endocárdicas, un hecho que explica la ausencia de muesca en el PA de esta región. Esta diferencia transmural en la concentración del canal  $I_{to}$ , es parcialmente responsable de la dispersión transmural en la repolarización, que condiciona la onda Osborn de hipotermia (26), el supradesnivel del punto J y el segmento ST en las precordiales derechas en el síndrome de Brugada, y las otras situaciones fisiológicas y patológicas en individuos con temperatura normal (27). En resumen, hay un gradiente de concentración en el canal  $I_{to1}$  en el grosor de la pared ventricular (28).

El canal  $I_{to}$  también está presente en las células auriculares.

En el síndrome de Brugada, una canalopatía predominantemente observada en hombres (29) y en adultos jóvenes (30), la concentración del canal  $I_{to}$  es mayor que en la gente normal en el epicardio del tracto de salida del ventrículo derecho, lo que resulta en un aumento en la dispersión de los períodos refractarios, condicionando así el supradesnivel del punto J y el segmento ST en las precordiales derechas, seguido por onda T negativa (patrón ECG de Brugada tipo 1), creando un sustrato ideal para el desarrollo de reentrada en la fase 2, que a su vez estimula el desencadenamiento de taquicardias ventriculares polimórficas muy rápidas con acoplamiento de extrasístoles iniciales muy rápidas, que pueden degenerar en fibrilación ventricular y síncope o muerte súbita, especialmente durante el sueño nocturno.

Delpon et al (31), describieron una mutación en el gen KCNE3, relacionado con la familia del canal  $K^+$  dependiente de voltaje,  $I_{ks}$ , que se co-ensambla con el gen KCND3. El mapa del locus genético de KCND2 y KCND3 se determinó en los cromosomas 7q31 y 1p13.2

respectivamente. La subunidad beta de KCND2 modula los canales de salida  $K^+$  en el corazón humano. Las mutaciones en KCNE3 podrían ser la base del síndrome de Brugada y parálisis hipocalémica. De una población de 105 probandos portadores de síndrome de Brugada, en quienes se realizaron pruebas genéticas, uno presentó una mutación *missense* (R99H) en el gen KCNE3 (MiRP2). La co-transfección de la mutación *missense* R99H KCNE3, resultó en un aumento significativo de la intensidad del canal  $I_{to}$  en comparación con KCNE3+KCND3 tipo *wild*.

Con el uso de tejido aislado de la orejuela de la aurícula izquierda de los corazones humanos, los autores también mostraron que K(v)4.3 y KCNE3, podían co-immunoprecipitarse. Hay evidencias definitivas del rol funcional de KCNE3 en la modulación del canal  $I_{to}$  en el corazón humano, lo que sugiere que la mutación de KCNE3 podría en parte ser la base del síndrome de Brugada.

Experimentalmente en perros, un activador de  $I_{to}$  NS5806, aumenta en la fase 1 la profundidad de la muesca del PA en el epicardio, pero no en el endocardio, y enfatiza la onda J del ECG con colgajos de TVP/FV a través de reentrada en fase 2. La mutación KCNE3 conduce a ganancia en la función del canal de  $I_{to}$ , lo que podría explicar la variante 5 del síndrome de Brugada, en la que el supradesnivel del punto J y el segmento ST son evidentes en las derivaciones derechas a izquierdas (32).

En los pacientes diabéticos, especialmente tipo 1, se observa una mayor tendencia a la muerte súbita y arritmias, y alteraciones ECG, en parte porque el canal  $I_{to}$  está más comprometido. Tal compromiso ocurre en tres niveles:

- 1) Recuperación de inactivación, porque este desencadenante intercambia el canal Kv4.x de recuperación rápida por el Kv1.4 de recuperación lenta.
- 2) La responsabilidad de los reguladores fisiológicos: éstos muestran menor capacidad de respuesta al estímulo simpático.
- 3) La expresión funcional del canal, reduciendo la cantidad de proteínas Kv4.2 y Kv4.3 (33).

Los cambios en la concentración de  $I_{to}$  afectan el perfil del PA, la vulnerabilidad a la aparición de arritmias e influyen sobre el acoplamiento excitación-contracción.

Se observa una disminución de la densidad del canal  $I_{to}$  en corazones inmaduros y en las personas mayores, así como en miocardiopatías e insuficiencia cardíaca. Esta menor densidad causa prolongación del PA, estimulando la entrada y eflujo decreciente de  $Ca^{2+}$  por el intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$ . Ambos hechos favorecen el aumento del contenido de  $Ca^{2+}$  en el retículo sarcoplasmático (RS). Esta acumulación de calcio es un desencadenante de arritmias.

## II) Fase 2, meseta o domo

En el ECG de superficie, corresponde al segmento ST, y también se debe a un mecanismo poliónico; sin embargo, el principal es el catión  $Ca^{2+}$ , que ingresa lentamente por la corriente de calcio de larga duración o tipo-L  $I_{Ca-L}$ .

El perfil de meseta de la fase 2 se mantiene por las fuerzas opuestas de salida de  $K^+$  y  $Cl^-$  que oponen las fuerzas de ingreso lento de  $Ca^{2+}$  por el canal lento  $I_{Ca-L}$  y por la bomba intercambiadora de  $Na^+/Ca^{2+}$ . La Tabla 4 muestra el canal principal de fase 2.

**Tabla 4**

<b>Canal principal durante la fase 2 del PA del miocardio ventricular</b>				
<b>Catión</b>	<b>Canal</b>	<b>Subunidad <math>\alpha</math> proteica</b>	<b>Subunidad <math>\alpha</math> del gen</b>	<b>Fase del PA</b>
$Ca^{2+}$	Corriente $I_{Ca(L)}$ "L-type $Ca^{2+}$ , $Ca_n1.2$ , $\alpha_{1C}$ CCTL	$Ca_n1.2$	CACNA1C	Fase 0 en las fibras lentas y fase 2 en las fibras rápidas.

Las corrientes de  $I_{Ca(L)}$  o  $Ca^{2+}$  tipo-L están constituidas por cuatro dominios homólogos (I a IV) y cada uno a su vez, tiene 6 segmentos transmembranosos de  $S_1$  a  $S_6$ , y el núcleo del poro. El  $S_4$  es el sensor del voltaje principal y el bucle del poro entre  $S_5$  y  $S_6$ . Además hay una larga cola carboxílica.

Los canales  $I_{Ca(L)}$  son bloqueados por los antagonistas o bloqueantes de  $Ca^{2+}$ . Estas drogas se unen a las regiones IIS<sub>5</sub>, IIS<sub>6</sub> e IVS<sub>6</sub> de la subunidad  $\alpha$ . Las mismas se clasifican químicamente en tres grandes grupos: fenilalquilaminas, benzotiazepinas y dihidropiridinas.

- 1) **Fenilalquilaminas (FAA):** Su principal representante es el verapamilo. Esta droga reduce la FC, disminuye la conducción sinoauricular, aurículoventricular e inotrópica negativa, y reduce la resistencia periférica.
- 2) **Benzotiazepinas (BTP):** Su principal representante es el diltiazem (34).; el verapamilo es más potente que el diltiazem en su actividad dromotrópica negativa sobre la unión AV.
- 3) **1,4-dihidropiridinas (DHP):** Vasodilatadores más potentes, que pueden inducir taquicardia refleja, con menor efecto sobre la contractilidad miocárdica y sin propiedades sobre el sistema de conducción. El grupo está formado por: nifedipina, nitrendipina, nisoldipina, isradipina, felodipina, amlodipina, lacidipina y nicardipina.

Los canales de  $Ca^{2+}$  también son bloqueados por ciertos iones divalentes como el manganeso (Mn), cobalto (Co), níquel (Ni), cadmio (Cd) y lantano (La). Al contrario de los canales lentos de  $Ca^{2+}$ , se abren en la fase 2 por norepinefrina, isoproterenol y xantina, que aumentan la proporción intracelular de  $Ca^{2+}$ .

La selectividad del canal  $I_{Ca(L)}$  es 1000 veces mayor para los cationes divalentes que para los monovalentes. Esta selectividad no depende del tamaño, pero sí de un anillo de glutamato en el poro llamado locus EEEE, en el que cada uno de los 4 bucles P contribuye con una E. Así, hay una alta afinidad entre los cationes divalentes y el poro por el locus EEEE.

Otro mecanismo condicionante para el perfil de la fase 2, es la corriente intercambiadora de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ . Esta corriente intercambiadora de cationes se procesa por un mecanismo llamado electrogénico, que intercambia tres moléculas de  $\text{Na}^+$  por una de  $\text{Ca}^{2+}$ . Éste es el mecanismo principal de la remoción de  $\text{Ca}^{2+}$  sarcolémico, fundamental para la relajación del músculo cardíaco, que causa un equilibrio en el  $\text{Ca}^{2+}$  de entrada y de salida, controlando el inotropismo cardíaco. El mecanismo de intercambio puede funcionar en ambas direcciones (de salida y entrada) y esta operación depende de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y el potencial umbral. El canal es dependiente de voltaje y se activa con valores cercanos a  $-40$  mV.

La corriente de intercambio de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  tiene tres genes diferentes:

- NCX1: En el músculo cardíaco, NCX1.1 se expresa en forma exclusiva. Ésta es una molécula con 938 aminoácidos y masa de 110 kD. La corriente intercambiadora de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  tiene 9 segmentos transmembrana y un gran bucle citoplasmático entre los segmentos transmembrana 5 y 6.
- NCX2
- NCX3

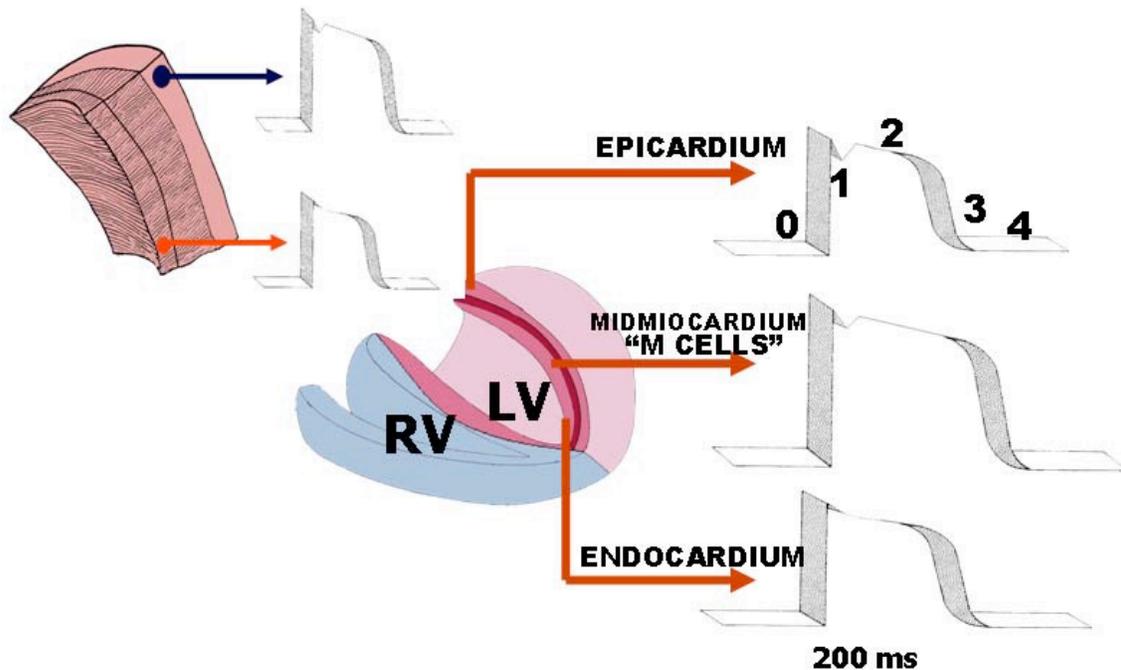
La velocidad y amplitud de  $\text{Ca}^{2+}$  pueden determinar la formación de pos-despolarizaciones tardías (PDT), principalmente por activación de la corriente intercambiadora de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , induciendo arritmias en los ventrículos (35).

Las arritmias causadas por automaticidad anormal, como ritmo idioventricular acelerado, taquicardia de la unión, taquicardia auricular, excluyendo a aquellas causadas por intoxicación por digital y TV durante los primeros cinco días luego de infarto agudo, son en las que hay una reducción del potencial diastólico máximo (PDM), correspondiente al final de la fase 3 y el inicio de la 4, y siempre dependen de la corriente de  $\text{Ca}^{2+}$  lento; por lo tanto, no pueden suprimirse por sobreestimulación. Las arritmias desencadenadas por pos-despolarizaciones precoces (PDP) son fluctuaciones del PA que ocurren al final de las fases 2 y 3, causando actividad desencadenada. Las de la fase 2 responden a un aumento en el  $\text{Ca}^{2+}$  de ingreso por la corriente lenta de  $I_{\text{Ca-L}}$  (36) o por influjo persistente y lento de  $\text{Na}^+$  durante la “meseta”. Los últimos son los de síndrome de QT prolongado congénito,

variante 3 (LQT3). La prolongación de ST observada en esta variante, se acorta con el uso de marcapasos a una FC ligeramente mayor, y con estimulación beta-adrenérgica por mecanismos diferentes (37). Los de la fase de repolarización rápida que ocurren durante la fase 3 del PA por reducción del  $K^+$  de salida por los canales  $I_{k-r}$  o  $I_{k-s}$ , son típicos de síndromes de QT prolongado congénito, variantes 2 y 1 respectivamente. La última se diferencia de la primera al mostrar liberación de  $Ca^{2+}$  desde la corriente de liberación de  $Ca^{2+}$  desde el sarcolema intracelular o el receptor de rianodina (CRC). Además la activación de la corriente intercambiadora de  $I_{Na^+-Ca^{2+}}$  o corriente intercambiadora de cationes se observa por mecanismo electrogénico (tres moléculas de  $Na^+$  se intercambian por una de  $Ca^{2+}$ ). Se caracterizan por ocurrir a frecuencias bajas (dependientes de bradicardia), frente a prolongación del PA y finalizando cuando la repolarización se ha completado, y ocurren en dos niveles del PA: entre 0 y -30 mV y entre -60 a -70 mV. Se suprime por estimulación ventricular rápida. La Figura 12 muestra los diferentes perfiles del PA de las células epicárdicas, del miocardio medio y endocárdicas en el grosor de la pared ventricular.

Figura 12

Perfil del PA de las células contráctiles ventriculares en las células epi, meso y endocárdicas en el grosor de la pared: heterogeneidad



La duración del PA de la capa media del grosor de la pared ventricular es mucho mayor (800 ms) que la de las células epi y endocárdicas (300 ms) (miocardio medio > endocardio > epicardio). Esta mayor duración se debe a la presencia en el miocardio de las células M. Éstas células son anatomopatológicamente indiferenciables y su modulación espacial-dinámica particular indica que las células M se manifiestan solamente durante las circunstancias correctas (38). Este comportamiento electrofisiológico adecuado se caracteriza por:

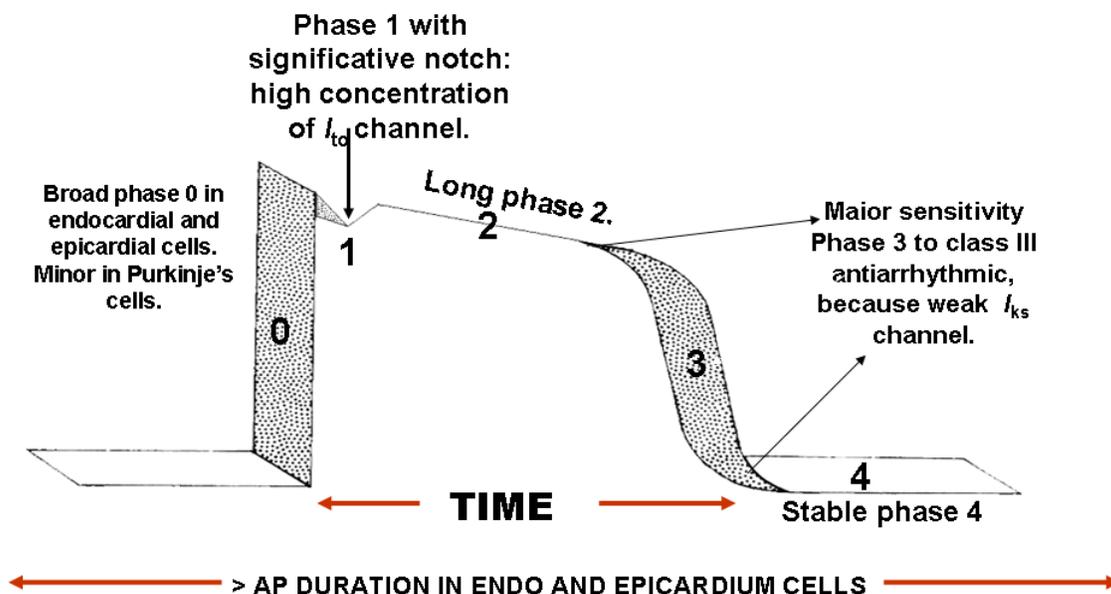
- **Fase 0** amplia (mayor que en las células endo y epicárdicas); sin embargo; un poco menos que las células de Purkinje.
- **Fase 1** con muesca prominente: > concentración del canal  $I_{to}$ .
- **Fase 2** prolongada, mucho mayor que en las células endo y epicárdicas, mayor duración del PA del miocardio medio.

- **Fase 3** mucho más sensible a los agentes antiarrítmicos de clase II, porque tiene un canal de salida lenta de  $K^+$   $I_{ks}$  más lento.
- **Fase 4** estable (no automática).

La Figura 13 muestra un diagrama con las características principales del PA de las células M. Las células M son una mezcla entre las células de Purkinje y contráctiles.

**Figura 13**

**Características del PA de las células M**

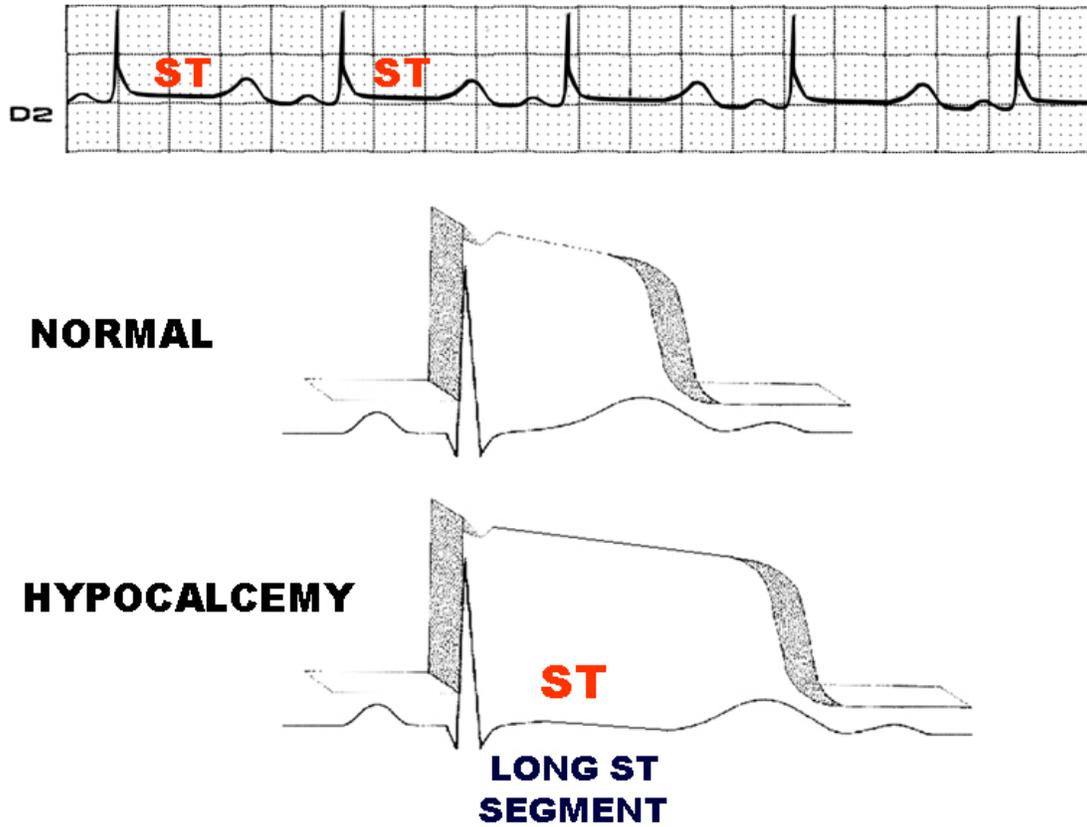


En la hipocalcemia, generalmente las manifestaciones ECG aparecen cuando los niveles de calcio iónico ( $Ca^{2+}$ ) alcanzan valores por debajo de  $\leq 7$  mg/dl. La manifestación electrocardiográfica más significativa es la prolongación del intervalo QT a expensas del aumento en la duración del segmento ST sin cambios en la onda T. La hipocalcemia puede simular síndrome de QT prolongado, variante 3 (LQT3) (39).

La parte superior de la Figura 14 muestra una tira de ECG en DII larga con aumento en la duración del segmento ST por hipocalcemia. En la parte inferior, se muestra un PA y ECG normales correlacionados con hipocalcemia. Hay prolongación de la fase 2 del PA, y en consecuencia prolongación del segmento ST en el ECG.

Figura 14

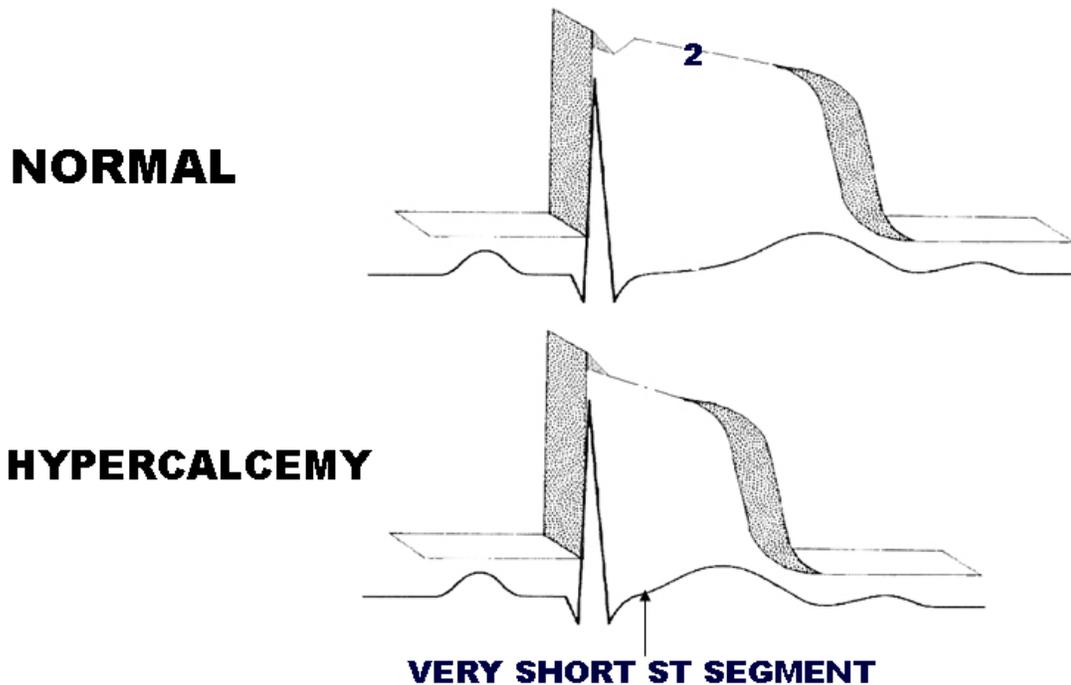
Esquema de las modificaciones en el PA y ECG en la hipocalcemia



Por el contrario, en la hipercalcemia, se observa acortamiento del segmento ST y en consecuencia, acortamiento del intervalo QTc. La Figura 15 compara el PA con ECG de superficie en condiciones normales y en hipercalcemia.

Figura 15

Resumen de modificaciones en el PA y el ECG en la hipercalcemia



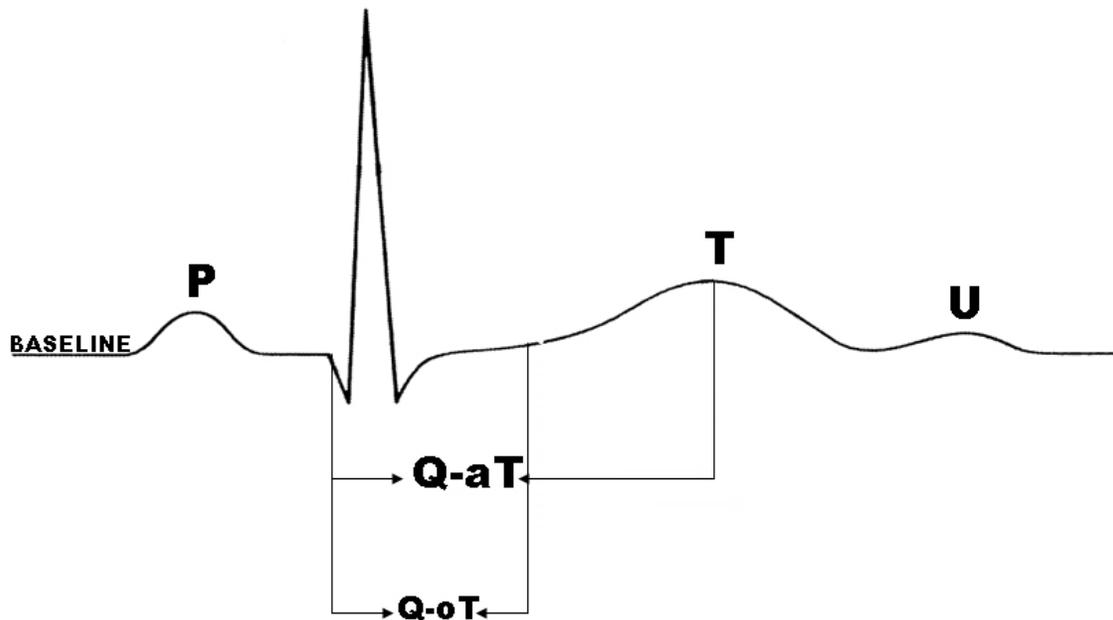
En la hipercalcemia ocurre acortamiento del intervalo Q-oTc. Este intervalo se extiende desde el inicio de la onda Q hasta el inicio de la onda T, corregido según la frecuencia cardíaca.

Además se observa disminución del intervalo Q-aT: intervalo que se extiende entre el inicio de QRS hasta el ápice de la onda T. Valores  $\leq 270$  ms son diagnósticos de hipercalcemia. La sensibilidad de QoTc y QaTc para predecir aumento de  $Ca^{2+}$  fue 83% y 57% respectivamente y la especificidad fue 100% y 100% (40).

La Figura 16 muestra los intervalos Q-oT y Q-aT.

Figura 16

Esquema de los intervalos Q-oT y Q-aT

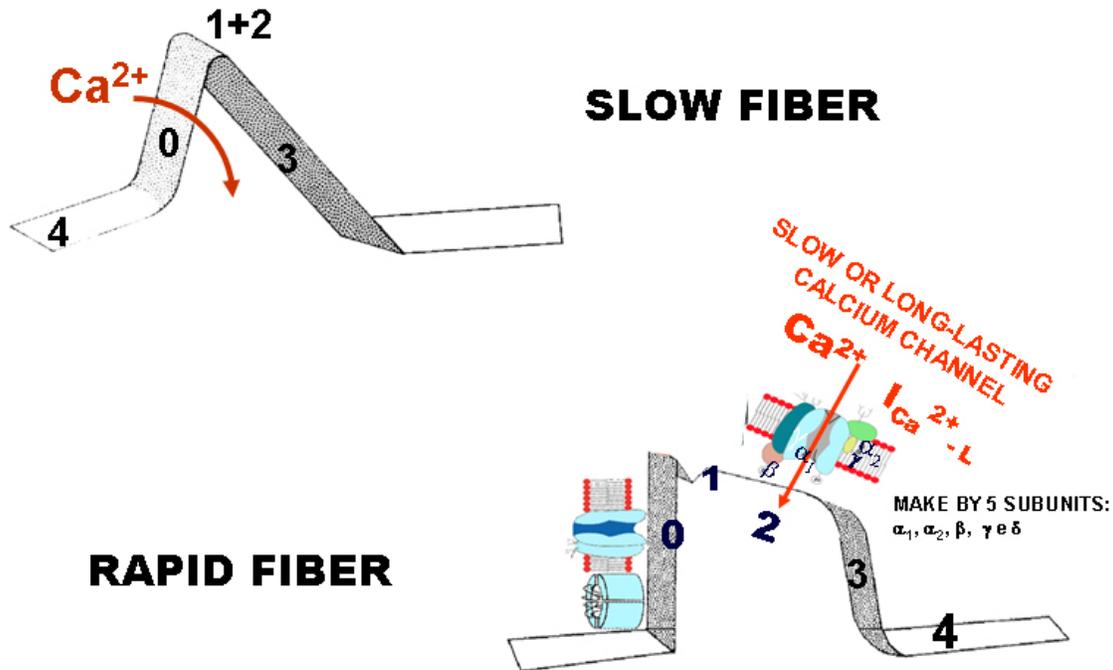


Antzelevitch et al (41) identificaron una mutación que afecta al canal lento de  $\text{Ca}^{2+}$  en la subunidad  $\beta 2$  por mutación en el gen  $\text{CACNB2b.Cavb2b}$ , en el cromosoma 10p12.33 (número OMIM 600003). Los pacientes afectados muestran un ECG caracterizado por supradesnivel del segmento ST en las precordiales derechas e intervalo QTc relativamente corto ( $\leq 370$  ms). La prueba de ajmalina desencadena patrón ECG de Brugada tipo 1. Analizamos el ECG en el trabajo mencionado, y observamos que el intervalo Q-aT es muy corto; en consecuencia esta mutación muestra un fenotipo muy similar a los pacientes con hipercalcemia. Esta variante del síndrome de Brugada es considerada síndrome de Brugada 4.

El canal  $\text{Ca}^{2+}$   $\text{L}_{(\text{ICa-L})}$ , tipo-L (lento o de larga duración), produce despolarización y propagación de la fase 0 en la fase 0 de la fibra lenta del nódulo SA y el nódulo AV, y contribuye a la meseta o fase 2 en las células contráctiles auriculares y ventriculares, y del sistema His-Purkinje. La Figura 17 muestra las características del canal lento de  $\text{Ca}^{2+}$  del sarcolema en las fibras lentas, donde actúa en la fase 0 y en las fibras rápidas, en la fase 2.

Figura 17

Sitio de acción de los canales  $\text{Ca}^{2+} I_{\text{Ca-L}}$ , tipo-L, lento o de larga duración en las células lentas y rápidas



Las corrientes de  $I_{\text{Ca-L}}$  son fuertemente influidas por los neurotransmisores.

Otro sistema que actúa en la fase 2 o meseta es el canal  $I_{\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}}$  o la corriente de intercambio de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ . Sus características son:

- Actúan por un mecanismo llamado electrogénico, que consiste en el intercambio de tres moléculas de  $\text{Na}^+$  por una molécula de  $\text{Ca}^{2+}$ .
- Actúan en la fase 2 o meseta de las fibras rápidas.
- Pueden actuar en dos direcciones, extracelular o intracelular.
- Su operación depende de la concentración intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  y el potencial umbral.
- Su activación depende de voltaje y ocurre en valores cercanos a  $-40$  mV.

Finalmente, en la fase 2, de meseta o domo, el estado estacionario de  $I_{\text{Na}^+}$  tardío o corriente de ventana de  $\text{Na}^+$  actúa. En la enfermedad isquémica, la inhibición de este canal con

ranolazina reduce la isquemia recurrente, la sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  y la disfunción eléctrica y mecánica (42). Los agentes anestésicos locales y la tetrodotoxina bloquean este canal, acortando el PA. La fase 2, meseta o domo del PA, se encuentra prolongada en la variante 3 del síndrome de QT prolongado congénito o LQT3 (OMIM: 600163). Esta variante afecta el canal de  $\text{Na}^+$  por mutación en el cromosoma 3 (3p21-24) en el gen SCN5A, el mismo que afecta el síndrome de Brugada (ambas entidades son alélicas). En el ECG de superficie, se caracteriza por una mayor duración del intervalo QT, a expensas del segmento ST y aparición tardía de la onda T, como consecuencia de prolongación de la fase de PA por influjo de  $\text{Na}^+$  tardío y persistente en la fase 2, por reapertura tardía, lo que explica la prolongación del intervalo QT.

La mexiletina, un agente antiarrítmico clase 1B, tipo lidocaína, es mucho más eficiente para acortar el intervalo QT de esta variante LQT3. En estos pacientes, la mexiletina acorta el QTc en forma significativa, así previniendo la aparición de torsades de pointes (TdP). La droga no acorta el QT prolongado de síndrome de QT prolongado, que afecta el canal  $\text{K}^+$  (defecto HERG de la corriente  $\text{K}^+$ ) o LQT2 (43;44).

La flecainida –un agente antiarrítmico clase IC-, al causar un bloqueo del influjo de  $\text{Na}^+$  retrasado, parece ser prometedora para el tratamiento oral en dosis bajas de LQT3, en pacientes con mutación DeltaKPQ en el SCN5A (45).

### **III) Fase 3, repolarización rápida final**

Corresponde en el ECG de superficie a la onda T, y responde a la salida de  $\text{K}^+$  por apertura tardía de los canales rectificadores de  $\text{K}^+$  tardíos dependientes de voltaje, constituidos por los siguientes componentes:

- 1) Un canal de activación lenta ( $I_{Ks}$ ), que de hecho se activa desde el final de la fase 2;
- 2) Un canal de activación rápido ( $I_{Kr}$ );
- 3) Un canal de activación ultra-rápido ( $I_{Kur}$ );
- 4) Además, durante la fase 3, ocurre la inactivación del canal lento de  $\text{Ca}^{2+}_{Ca-L}$ ;
- 5) Aumento en la actividad de bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPasa, con aumento de la concentración de  $\text{Na}^+$  intracelular;

- 6) Activación del canal de  $K^+$ ,  $I_{K1}$  (corriente continua de ingreso de  $K^+$  de estado estacionario de “fondo” (*background*)), que permanecerán activados durante la fase 4.

La Tabla 5 muestra las principales corrientes rectificadoras de salida tardía de  $K^+$  en la fase 3.

**Tabla 5**

**Corrientes rectificadoras de salida tardía de  $K^+$ . Las tres están constituidas por un único poro, con 6 dominios transmembrana (tetraméricos).**

<b>Catión</b>	<b>Nombre del canal</b>	<b>Subunidad <math>\alpha</math> proteica</b>	<b>GEN Subunidad del gen</b>	<b>Fase del PA</b>	<b>Mecanismo de activación. despolarización.</b>	<b>Clon</b>
$K^+$	$I_{Ks}$ <b>Rectificador a o lenta tardía</b>	$K_V7.1$	KCNQ1	2,3	<b>Dependiente de voltaje. Despolarización.</b>	<b>K<sub>y</sub>LQT 1</b>
$K^+$	$I_{Kr}$ <b>Rectificador a o rápida tardía</b>	$K_V11.1$ (HERG)	KCNH2	3	<b>Dependiente de voltaje. Despolarización.</b>	<b>HERG</b>
$K^+$	$I_{K1}$ <b>Rectificador a o rápida de ingreso intenso</b>	$K_{ir}2.1/2.2/2.3$	KCNJ2/ KCNJ12/ KCN4	3 y 4	<b>Dependiente de voltaje. Despolarización. hiperpolarización</b>	<b>Kir 2.1/2.2</b>

**Nota:** El canal rectificador tardío, dependiente de voltaje, de activación ultra-rápida de  $K^+$ , o  $I_{Kur}$ , se expresa solamente en el miocardio auricular y durante la fase 2 del PA. La inactivación de  $I_{Kur}$  es ultra-lenta, un hecho que lo condiciona para determinar la duración del PA en las aurículas. Su estructura molecular y ensamblaje es igual a la de los canales  $I_{tof}$

e  $I_{tos}$ ; es decir, forman un único poro y seis dominios transmembrana (tetraméricos). El clon del canal de  $I_{Kur}$  es  $K_{y1.5/3.1}$ .

El bloqueo de los canales  $I_{Kur}$  puede ser el sustrato para el desarrollo de fibrilación auricular en aurículas caninas sanas, supuestamente por el acortamiento de la duración del PA (DPA) y un período refractario relativo (PRR) (46).

Una proteína de mutación (KvSQT1 y minK(1sK)), que afecta a la subunidad alfa del canal rectificador lento tardío de potasio (KvLQT1 o KCNQ1) (47), causa una disminución en la función del canal  $I_{Ks}$  y es responsable del síndrome de QT prolongado congénito (LQTS), variante 1 o LQT1 (OMIM 192500). La identificación inicial de LQT1 ocurrió en 1991 por Keating y cols., (48). Estos investigadores identificaron el compromiso del brazo corto del cromosoma 11 (11p15.5), probando por primera vez el origen genético del síndrome de QT prolongado hereditario familiar, LQTS, conocido como el gen Harvey RAS.

La variante 1 de LQTS o LQT1 es más prevalente, puesto que constituye  $\approx 60\%$  del total, y se caracteriza en el ECG por mostrar un QT prolongado con onda T prolongada y de base ancha, y una dependencia moderada de la frecuencia cardíaca del intervalo QT. Ésta es una variedad que se beneficia principalmente con  $\beta$ -bloqueantes. Por el contrario, es la única variante que empeora con estimulación  $\beta$ -adrenérgica. De este modo en LQT1 con intervalo QT normal (6%), conocido como LQT1 oculto, la infusión de epinefrina causa prolongación del intervalo QT (respuesta paradójica); mientras que en los controles y en LQT2 y LQT3, se observó una tendencia a acortamiento del intervalo QTc (49).

Una mutación en el gen KCNQ1, que afecta al canal rectificador lento tardío de salida de  $K^+$  (sustitución g919c en el gen KCNQ1, que codifica el canal I KvLQT1 de  $K^+$ ), causa una ganancia en la función de  $I_{Ks}$ , que es responsable de la variante 2 del síndrome de QT corto congénito (SQTS) (50).

Otros trabajos identifican la mutación HERG+MiRP1 en el cromosoma 7, mutación 7p35-36. El gen kvLQT1 y la proteína IsK(mink) asociados con la subunidad alfa del canal rectificador rápido tardío de potasio ( $I_{kr}$ ) (51,52) son responsables de la variante 2 del síndrome de QT prolongado o LQT2 (OMIM 152427), que constituye 35% del total. La

variante LQT2 en el ECG muestra ondas T con baja amplitud o achatadas, bifásicas, bífidas y con muescas.

Ramón Brugada y cols., (53) trabajando en el Masonic Medical Research Laboratory, detectaron por primera vez, una mutación *missense* (N588K), que afecta el canal rectificador de salida de  $K^+$  o  $I_{Kr}$ , causando una ganancia de función del canal, que conduce a síndrome de QT corto congénito, variante 1, o SQT1, controlado por el gen *HERG* (*Human Ether-a-go-go-Related Gene*) (*KCNH2*). Éste es una imagen en espejo de la variante 2 del LQTS congénito o LQT2.

Finalmente, en la fase 3 también verificamos corrientes de  $K^+$  en dirección de ingreso:

- I)  $I_{ki}$
- II) Canal  $I_{kACh}$ .
- III)  $K_{ATP}$ .

I) Corriente  $I_{ki}$  o rectificadora de ingreso de  $K^+$  o canal sensible al bario. Otros nombres: corriente rectificadora de ingreso de  $K^+$ , corriente continua de ingreso de estado estacionario de  $K^+$  de “fondo” (*background*), o corriente rectificadora de ingreso sensible al  $Ba^{2+}$  o corriente sensible al  $Ba^{2+}$ .  $I_{ki}$  es responsable de mantener el potencial de reposo en las aurículas, ventrículos y el sistema His-Purkinje. El canal  $I_{ki}$  actúa en la porción final de la fase 3 del PA auricular, y el inicio de la fase 4, en un rango de voltaje entre el potencial de reposo y -30 mV. El canal  $I_{ki}$  parece ser importante en el control de la dinámica de las ondas espirales, responsables de taquicardia ventricular y fibrilación, además de contribuir con la génesis y estabilidad de estas ondas espirales; así siendo un blanco significativo en el tratamiento antiarrítmico (54).

**Función:** Mantener el potencial de reposo en las aurículas, el nódulo AV y el músculo ventricular. **Estímulo:** Hiperpolarización (dependiente de voltaje). **Bloqueantes del canal  $I_{ki}$ :**  $Ba^{2+}$ . Este canal puede ser afectado en el síndrome de Andersen-Timothy (ATS1), un raro trastorno caracterizado por parálisis periódica, arritmia cardíaca y anomalías diferentes que afectan al gen *KCNJ2*, que codifica la subunidad alfa  $I_{ki}$  Kir2.1. En esta entidad, hay una pérdida de función en el canal  $I_{ki}$  o corriente sensible al  $Ba^{2+}$ . Esta mutación causa un desplazamiento del potencial de reposo, causando despolarización(55). Los canales Kir2.x

son componentes críticos del canal  $I_{k1}$ , nativo en los cardiomiocitos de las ratas neonatales, y la supresión del canal  $I_{k1}$  es parte de la patogenia del síndrome de Andersen (56). Una investigación reciente indicó que el canal  $I_{k1}$  regula el voltaje de la onda U (57). En el síndrome ATS1 con alteración genética específica, el patrón de la onda T-U conduce a una disminución en  $I_{k1}$ , por mutación en el gen KCNJ2. El QTc es normal, lo que diferencia el ECG de ATS1 del síndrome de QT prolongado, siendo así incorrecto llamarlo LQT7 (58).

II) Canal  $I_{K_{ACh}}$  o  $K^+$  regulado por el receptor muscarínico M2 en las células auriculares y nodales, o canal auricular de  $K^+$  activado por proteína G. La frecuencia cardíaca depende en parte del canal  $I_{K_{ACh}}$ , canal de  $K^+$  dependiente de acetilcolina, o activación del canal auricular de  $K^+$  activado por la proteína g. Los receptores muscarínicos activados estimulan el canal  $I_{K_{ACh}}$ , por las subunidades  $\beta\gamma$  de la proteína G. El canal  $I_{K_{ACh}}$  es codificado por los genes KCNJ3 y KCNK4, siendo heteromultimérico y constituido por un poro único, 4 dominios transmembrana y dos subunidades (dímeros) o componentes: GIRK1e CIR (59). El canal  $I_{K_{ACh}}$  actúa en la fase 4 del PA, y su activación depende de acetilcolina (tono vagal). Su clon es kir3.1/3.4.

III) Corriente de  $I_{K-ATP}$ ,  $K_{ATP}$  o rectificadora de ingreso de  $K^+$ , activado por receptores muscarínicos (M2) y estimulación por receptores purinérgicos I, vía transducción de señal de regulación por proteína G (GTP) o corriente de  $K^+$  activada por adenosina trifosfato ( $K_{ATP}$ ) o canales de  $K^+$  sensibles a ATP. El estímulo ocurre cuando la proporción de ATP intracelular disminuye. Esto ocurre en clínicas, principalmente en la isquemia miocárdica. La activación de esta corriente causa acortamiento del PA. El pinacidil, el cromakalim y el nicorandil también abren este canal. Las sulfonilureas, como la glibenclamida, inhiben este canal. Son canales  $K^+$  (simbolizados por KCNJ11), que se expresan en el nódulo SA, nódulo AV y el músculo auricular. Cuando se activan, causan una corriente rectificadora de ingreso de  $K^+$ , acortan el PA y causan hiperpolarización y efectos cronotrópicos y dromotrópicos negativos. La activación ocurre en las siguientes circunstancias.

- 1) Estimulación de receptores muscarínicos, M2;
- 2) Estimulación de receptores purinérgicos tipo I, vía reguladores de la transducción de la señal de la proteína G (GTP);
- 3) Isquemia que causa acortamiento del PA durante este estado;

- 4) Caída de la concentración del PA intracelular, un hecho observado durante insuficiencia cardíaca con deficiencia inotrópica;
- 5) Efecto del pinacidil, el cromakalim y el nicorandil;
- 6) Fibrilación ventricular idiopática.

Haissaguerre et al (60;61) identificaron una variante de una mutación missense en el exón 3 (NC-000012) del gen KCNJ8, una subunidad del canal  $K_{ATP}$  2;3. El ADN genómico que secuencia los genes del canal  $K_{ATP}$ , mostraron una variante missense en el exón 3 (NC-000012) del KCNJ8, una subunidad del canal  $K_{ATP}$ , predisponiendo a cambios dramáticos en la repolarización y vulnerabilidad ventricular. En una cohorte multicéntrica de 122 pacientes (90 hombres, con edades entre 37+/-12 años), portadores de fibrilación ventricular idiopática (FVI) y patrón de repolarización precoz (PRP) en las derivaciones ántero-laterales, Haissaguerre y cols, seleccionaron aquellos pacientes con más de tres episodios de fibrilación ventricular, incluyendo aquellos con tormentas eléctricas ( $\geq 3$  FV en 24 h). Múltiples recurrencias de FV ocurrieron en el 27% de pacientes con PRP. Isoproterenol en casos agudos y quinidina en pacientes crónicos resultaron efectivos. La última es necesaria cuando un CDI se implanta, puesto que disminuye la cantidad de descargas realizadas por el dispositivo.

El llamado síndrome de Brugada atípico, se caracteriza por supradesnivel del segmento ST y del punto J en la pared ínfero-lateral. El patrón de repolarización precoz en la pared ínfero-lateral no es raro en el síndrome de Brugada (62). Una alta incidencia de repolarización precoz se observa en las derivaciones ínfero-laterales en pacientes con FVI. Los trazados ECG muestran supradesnivel del punto de la unión QRS-ST  $\geq 0.1$  mV en referencia a la línea basal en derivaciones de la pared ínfero-lateral y muescas en el complejo QRS. Entre estos pacientes con historia de FVI, hay un aumento de prevalencia de repolarización precoz.

Bonakdar y cols., describieron un paciente portador de síndrome de Brugada, con episodios frecuentes de síncope. El paciente mostró supradesnivel alternante del segmento ST en las derivaciones derechas, y en la pared lateral alta (63). Los canales  $K_{ATP}$  contienen una subunidad tipo Kir6.0 y receptores de sulfonilureas (SUR) (64). Por la posición que tienen dentro de la célula se identifican tres grupos:

**1) Sarcolémicas, SarcK<sub>ATP</sub>.** Constituidas por 8 subunidades proteicas; 4 de ellas son miembros de la familia del canal Kir6.0 rectificador de ingreso de potasio, y las otras 4 son receptores de sulfonilureas (SUR1, SUR2A Y SUR2B) (65). Las subunidades Kir tienen 2 alcances transmembrana, y forman el poro del canal. Las subunidades SUR contienen 3 dominios transmembrana adicionales, y 2 dominios de unión con nucleótidos en la superficie citoplasmática (66), con un papel crítico como sensores del estado metabólico. Estas subunidades SUR también son sensibles a las sulfonilureas, MgATP, y otros canales de apertura farmacológica. Aunque todas las sarcK<sub>ATP</sub> están formadas por 8 subunidades en una proporción 4:4, su composición varía con el tipo de tejido (67).

**2) Mitocondriales (mitoK<sub>ATP</sub>):** inicialmente identificados en 1991 como un canal único, ubicado en la porción interna de la membrana mitocondrial (68). La estructura molecular de los canales mitoK<sub>ATP</sub> es menos conocida que la del sarcK<sub>ATP</sub>. Están compuestas por las subunidades Kir6.1 y Kir6.2, pero no SUR1 o SUR2 (69;70). Presentan complejos multiproteicos, ricos en succinato deshidrogenasa, con actividad similar al canal K<sub>ATP</sub> (71).

**3) K<sub>ATP</sub> nuclear (nucK<sub>ATP</sub>):** La presencia de K<sub>ATP</sub> nuclear se confirmó por el descubrimiento de que las porciones aisladas de la membrana nuclear tienen propiedades con cinética y farmacología similar a la del K<sub>ATP</sub> de la membrana sarcolémica (72).

### **Sensor de metabolismo celular y regulación de la expresión genética**

Se han identificado cuatro genes como miembros de la familia K<sub>ATP</sub>. Los genes SUR y kir6.2 se ubican en el cromosoma 11p15.1; mientras los genes kir6.1 y SUR2 se localizan en el cromosoma 12p12.1. El gen kir6.1 codifica la subunidad que constituye el poro del canal K<sub>ATP</sub>, con una subunidad SUR compuesta por el gen sur1, o el gen selectivo SUR2 (SUR2A y SUR2B) (73). Los cambios en la transcripción de estos genes, y así en la producción de canales K<sub>ATP</sub>, se relacionan directamente con cambios en el metabolismo del medio. De este modo, la hiperglucemia causa disminución del kir6.2 a nivel del ARNm. Este hecho puede invertirse por normalización de la glucemia (74). Partiendo de esto, en el tejido del ventrículo izquierdo de ratas, 1 hora de isquemia seguida por 24 a 72 horas de perfusión, aumenta la transcripción de kir6.2 en este tejido (75).

Crawford y cols., (76) propusieron que frente a hipoxia e isquemia, un nivel bajo de  $O_2$  disminuye la tasa metabólica mitocondrial, enlenteciendo el ciclo de Krebs, haciendo que los orgánulos sean incapaces de transferir electrones en forma adecuada, y en consecuencia disminuyendo la tasa intracelular de  $NAD^+$ / $NADH$ . Esta carencia activa el fosfatidilinositol 3-quinasa, que es la señal extracelular regulada por quinasa. El fenómeno aumenta la regulación de transcripción de c-jun, creando una proteína que se une con el promotor sur2. En pacientes diabéticos, los canales  $K_{ATP}$ , muy sensibles a la hipoxia, no pueden operar adecuadamente, resultando en una pérdida de capacidad celular para adaptarse a una condición oxidativa adversa (77).

En una condición de hipoxia en los cardiomiocitos, la mayor cantidad de energía proviene de ácidos grasos de cadena larga, y sus equivalentes de acetyl-CoA, induciendo la apertura de canales  $K_{ATP}$ , siempre y cuando ácidos grasos libres estabilicen la forma cerrada. Esta variación se ha mostrado experimentalmente en ratas transgénicas. En el páncreas, a diferencia de los cardiomiocitos, los canales  $IK_{ATP}$  siempre permanecen abiertos (78,79).

### **$K_{ATP}$ mitocondrial y regulación del metabolismo aeróbico**

En una condición de hipoxia, la mitocondria inicia un sobreproducción de radicales libres (80). En esta situación, los canales mito $K_{ATP}$  se abren y cierran en un intento por regular la concentración interna de  $Ca^{2+}$  y el grado de edema de la membrana. Esto ayuda a restaurar las propiedades potenciales de la membrana con salida de  $H^+$  para suministrar protones para la síntesis de ATP. Sin la contribución de los canales de  $K^+$ , habría un agravamiento del vaciado de fosfato de alta energía, creando un gradiente electroquímico desfavorable de transmembrana (81). Los canales sarcolémicos y nucleares  $K_{ATP}$  también contribuyen al ajuste a estrés metabólico hipóxico. Con el objetivo de ahorrar energía, el canal sarc $K_{ATP}$  se abre, reduciendo la duración del PA siempre y cuando el canal nuc $K_{ATP}$  regule la concentración de  $Ca^{2+}$  dentro del núcleo, con un efecto protector en la expresión de genes (82).

## **Canales cardiovasculares de $K_{ATP}$ y protección contra isquemia/lesión**

La isquemia cardíaca no siempre resulta en muerte inmediata; con frecuencia, conduce a una muerte lenta de cardiomiocitos por apoptosis, causando una lesión permanente en el músculo cardíaco.

Una forma de isquemia descrita inicialmente por Keith Reimer en 1986, se caracteriza por un compromiso rápido y no letal del tejido, con períodos de 3-5 minutos de isquemia, que ocurren antes de insulto isquémico mayor. Esta forma de isquemia comenzó a conocerse como preconditionamiento isquémico (PCI), que depende en parte de la estimulación del  $K_{ATP}$ .

Los canales sarc $K_{ATP}$  y mito $K_{ATP}$  son necesarios para que el PCI logre su efecto máximo. El bloqueo selectivo de mito $K_{ATP}$  con ácido 5-hydroxidecanoato (5-HD) o con MCC-134 (83), inhibe completamente la cardioprotección ofrecida por el PCI, y afecta la expresión genética del canal sarc $K_{ATP}$  (84). La protección basal ofrecida por el canal sarc $K_{ATP}$  se debe a que previene la sobrecarga de  $Ca^{2+}$ , y en consecuencia, evita la depresión inotrópica, ahorrando fuentes de energía (85). La ausencia de sarc $K_{ATP}$  asociada a debilitamiento del beneficio del PCI, hace que los cardiomiocitos pierdan su capacidad de distribuir  $Ca^{2+}$ , disminuyendo la sensibilidad a la señal simpática nerviosa y predisponiendo a arritmias y muerte súbita (86). Asimismo, sarc $K_{ATP}$  regula el tono del músculo liso vascular, y la supresión de los genes kir6.2 o sur2, resulta en espasmo arterial y muerte (87).

Las mutaciones en el canal sarc $K_{ATP}$ , particularmente en la subunidad SUR2, conduce a miocardiopatía dilatada, especialmente luego de isquemia/reperfusión (88).

El papel del canal de  $K_{ATP}$  en la arritmogénesis aun es un enigma. Un aumento en la conductancia de esta canal debe estabilizar el potencial de membrana durante insulto isquémico, reduciendo la extensión del área de infarto y la actividad ectópica de marcapasos. Por el contrario, la apertura del canal y la aceleración de la repolarización del PA habilitaría la inducción de arritmias por reentrada (82).

#### IV) Fase 4 de despolarización diastólica

Corresponde en el ECG de superficie, a onda U inconstante. En ella, la salida energética ocurre por la acción de bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$  (89). La bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ , actuando en la fase 4 por salida energética, reintroduce  $\text{K}^+$  y “expulsa”  $\text{Na}^+$ . Observen que la concentración de  $\text{K}^+$  intracelular es mucho mayor (150 mEq/L) que la extracelular (5 mEq/L). Por el contrario, el  $\text{Na}^+$  predomina en el medio extracelular (142 mEq/L) en comparación con el intracelular (10 mEq/L).

También en la fase 4, actúan los siguientes canales:

I) Canal  $I_f$  o canal de marcapasos en la parte inicial de la fase 4. El canal  $I_f$  es una corriente activada por hiperpolarización, que actúa sobre el nódulo SA, el nódulo AV y el sistema His-Purkinje en la fase 4 de despolarización. Causa un aumento en la frecuencia de impulsos (corriente de marcapasos), de manera que tiene un papel predominante durante los potenciales más negativos o hiperpolarización (porción inicial de la fase 4). El canal  $I_f$  contribuye solamente con 1/5 de la actividad de marcapasos del nódulo SA.

II) Canal rápido tipo-T de  $\text{Ca}^{2+}$ , corriente transitoria de  $\text{Ca}^{2+}$  o corriente de conductancia pequeña de  $\text{Ca}^{2+}$ : actúa causando ingreso de  $\text{Ca}^{2+}$  en la porción final de la fase 4 en el nódulo SA, la región N del nódulo AV y el sistema His-Purkinje. Bloqueado selectivamente por el antagonista de  $\text{Ca}^{2+}$ , mibefradil. No es sensible a los agentes dihidropiridínicos. La función del canal  $I_{\text{Ca-T}}$  es aumentada por noradrenalina; el agonista  $\alpha$  adrenérgico, fenilefrina (90) aumenta el ATP extracelular y la endotelina-1. Los cardiomiocitos en los que hay abundante  $I_{\text{Ca-T}}$ , son los que presentan túbulos T transversales menos extensos. La Tabla 6 muestra los tres tipos principales de  $I_{\text{Ca-T}}$ .

**Tabla 6**

#### Canales de calcio tipo-T o $I_{\text{Ca-T}}$

ISOFORMA	NOMBRE DEL GEN	NOMBRE DEL CANAL	TEJIDO
$\alpha_{1G}$	CACNA1G	$\text{Ca}_v3.1$	Neuronas, Purkinje.

$\alpha_{1H}$	<b>CACNA1H</b>	<b>Ca<sub>n</sub>3.2</b>	Corazón, riñones, hígado
$\alpha_{1I}$	<b>CACNA1I</b>	<b>Ca<sub>n</sub>3.3</b>	Neuronas.

III) Corriente rectificadora de ingreso activada por acetilcolina ( $I_{k(ACH)}$ ), que produce hiperpolarización y bradicardia estimulada. Este canal es fuertemente inhibido por dronedrona, un análogo de la amiodarona en el nódulo SA y el tejido auricular. También inhibe  $I_{k1}$ ,  $L-Ca^{2+}$ ,  $I_{kr}$  y en menor grado  $I_{ks}$ . Esta droga es un alfa y beta antagonista de adrenoreceptores, y a diferencia de la amiodarona, tiene muy poco efecto sobre los receptores tiroideos (91). Por las características de la fase 4, las células cardíacas se clasifican en automáticas y no automáticas.

**1) Automáticas:** Muestran una fase 4 inestable y ascendente, o con despolarización diastólica, automática o rítmica. Ésta es la característica de las células cardíacas, de iniciar un impulso espontáneamente, en ausencia de estímulo externo. La fase 4 de despolarización diastólica se origina por corriente de ingreso del llamado marcapasos o canal  $I_f$ , que es el mecanismo principal por el que el sistema nervioso autónomo regula la automaticidad. De este modo, las catecolaminas abren el canal  $I_f$ , aumentando la frecuencia cardíaca al hacer que la pendiente de la fase 4 sea más pronunciada.  $I_f$ , subunidad de marcapasos o corriente *funny*, es una corriente activada en hiperpolarización, presente en el nódulo SA, nódulo AV y células del sistema His-Purkinje, causando un aumento en la frecuencia de descarga de las células automáticas o marcapasos (92).

La fase 4 del nódulo SA es la que presenta mayor automaticidad por un mecanismo conocido como supresión de sobreestimulación; un fenómeno que consiste en la inhibición de marcapasos subsidiarios por un marcapasos más rápido con descargas espontáneas.

**2) No automáticas:** Caracterizadas por presentar una fase 4 estable; es decir, sin pendiente ascendente espontánea. Esta característica se debe principalmente a la presencia del canal rectificador de ingreso de  $I_{k1}$ , cerrado durante despolarización. Este canal, dependiente de voltaje y bloqueado por  $Ba^{2+}$ , es responsable de mantener el potencial de reposo en las células musculares auriculares y ventriculares (células musculares ordinarias).

La fase 4 corresponde al potencial de reposo transmembrana o solamente potencial de reposo de membrana, que en las células del nódulo SA es  $\approx$  que -50 a -60 mV, en las células musculares auriculares -80 a -90 mV, en las células del nódulo AV -55 a -70 mV, en las fibras de Purkinje -90 a -95 mV, y finalmente en las células musculares ventriculares -80 a -90 mV.

En resumen, las células cardíacas se dividen en dos grupos desde el punto de vista de la ritmicidad, despolarización diastólica o automaticidad. Cuando la fase 4 está horizontal (células musculares auriculares y ventriculares), decimos que las células son no automáticas (no tiene la capacidad de autoestimularse). Cuando la fase 4 es espontáneamente ascendente, como sucede con las células del nódulo SA, nódulo AV y el sistema His-Purkinje, decimos que las células son automáticas o con despolarización diastólica.

La Tabla 7 muestra los canales principales actuando en la fase 4.

**Tabla 7**

<b>Canales principales que actúan en la fase 4</b>				
<b>Catión</b>	<b>Canal</b>	<b>Subunidad <math>\alpha</math> proteica</b>	<b>Subunidad del gen</b>	<b>Fase / responsabilidad</b>
$K^+$	$I_{K1}$	$K_{ir}2.1/2.2/2.3$	KCNJ2KCNJ12KCNJ4	3,4
$I_f$ canal marcapasos			HAC1	4. Contribuye 20% de la función del marcapasos en el nódulo SA.
$Ca^{2+}$ $T(I_{Ca-T})$ ; Canal $Ca^{2+}$ tipo-T		<b>Cav3.2</b>		Porción final de la fase 4 en células del nódulo SA, región N del nódulo AV y sistema His-Purkinje.

Bomba Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATP <sub>asa</sub>				

### **Tipos celulares del corazón según el PA y el comportamiento electro-fisiológico farmacológico**

#### **A) Automáticas: con fase 4 ascendente**

##### **(1A) Las células ubicadas en el nódulo SA: con tres variedades:**

- I) Células marcapasos, P o nodales: a su vez, con dos variedades:
  - a. Células con forma de araña
  - b. Células con forma de huso.
- II) Células transicionales o T
- III) Células auriculares miocárdicas

##### **(2A) Células del nódulo AV**

##### **(3A) Células del sistema His-Purkinje.**

**Nota:** Las células del nódulo SA y el nódulo AV son lentas y las células del sistema His-Purkinje son rápidas.

#### **B) No automáticas: con fase 4 estable.**

##### **(1B) Células miocárdicas auriculares contráctiles**

##### **(2B) Células miocárdicas ventriculares contráctiles**

- 1) Epicárdicas o subepicárdicas
- 2) Del miocardio medio:
  - a. Contráctiles

b. Células M

3) Endocárdicas o subendocárdicas

**Canales con ubicación intracelular o en el retículo sarcoplasmático**

Hasta ahora hemos analizado solamente canales de  $\text{Ca}^{2+}$ , ubicados en el sarcolema o la membrana celular; es decir, canal  $I_{\text{Ca-L}}$ , corriente de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo-L,  $I_{\text{Ca-L}}$  de larga duración, de fase cero y de respuesta lenta, e  $I_{\text{Ca-T}}$  transitorio tipo-T o canales de calcio rápido. Los canales intracelulares o del retículo sarcoplasmático (RS), a su vez tienen cuatro componentes, con los tres primeros siendo de  $\text{Ca}^{2+}$ .

1) Canal de liberación de calcio (CRC), receptor de rianodina o canal hiperfosforilado por proteína quinasa (PKA) del retículo sarcoplasmático intracelular.

2) Bomba de captación de  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{ATP}_{\text{asa}}$ ; SERCA o proteína conocida como calsecuestrina cardíaca (CASQ2). Esta bomba tiene como función almacenar o captar  $\text{Ca}^{2+}$  dentro del RS. Los investigadores del Departamento de Fisiología, Dorothy M. Davis Heart and Lung Research Institute, en el State of Ohio University Medical Center, Columbus, Ohio (93), estudiaron las mutaciones del gen CASQ2 causados por adenovirus, mostraron relación entre la mutación del gen CASQ2 y predisposición a arritmias ventriculares adrenérgicamente inducidas. Los autores concluyeron que CASQ2 en el RS determina la magnitud y la duración de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  desde las cisternas terminales del RS, suministrando una fuente local de  $\text{Ca}^{2+}$  susceptible de ser liberado por su efecto bloqueante sobre el canal de rianodina RyR2 de  $\text{Ca}^{2+}$ , dependiente de luz, que tiene el efecto contrario de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  en el citosol. Asimismo, las dos mutaciones de CASQ2 y RyR2 son responsables del aumento de los eventos diastólicos de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el RS, y ambos muestran el fenotipo de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (TVPC).

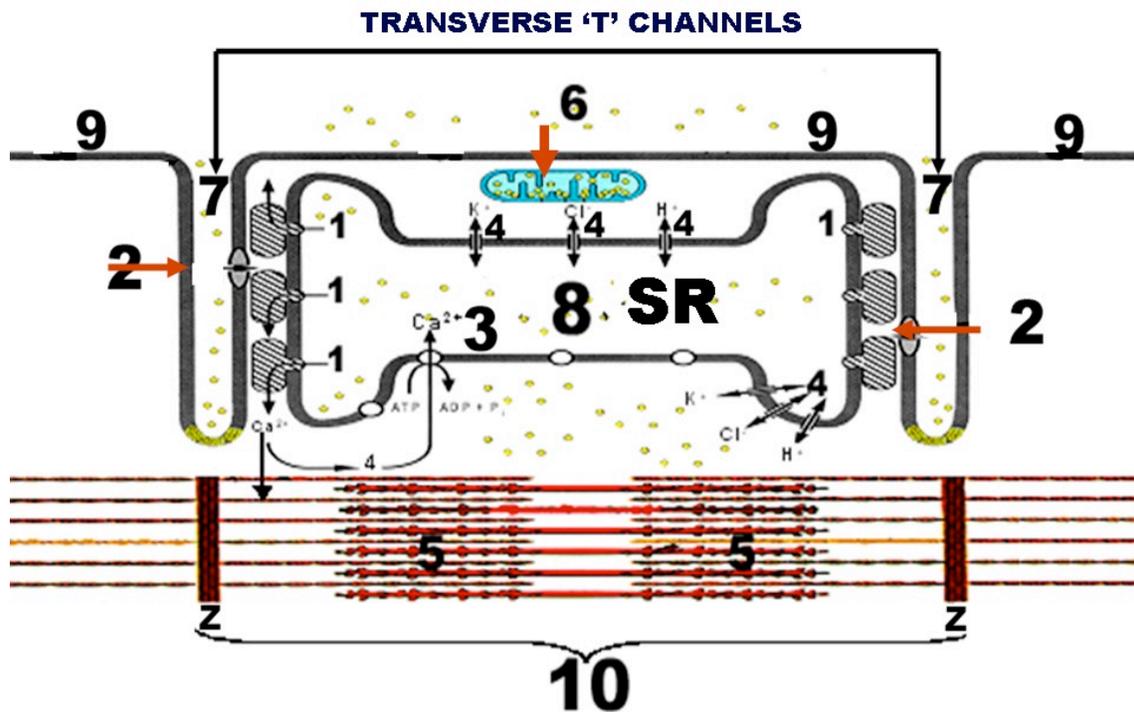
3) Receptor de inositol 1,4,5-trifosfato ( $\text{IP}_3\text{R}$ ), canal hiperfosforilado por la proteína quinasa (PKA) del retículo sarcoplasmático o inositol trifosfato  $\text{IP}_3$ . El mismo se forma con fosfatidilinositol-bifosfato, que por acción de la enzima fosfolipasa C, se vuelve inositol trifosfato o  $\text{IP}_3$ . A su vez, esta enzima puede activarse por angiotensina II (94), y

estimulación  $\alpha$  adrenérgica. Se ubica en las células de Purkinje, discos intercalares, sistema de conducción y músculo liso.

4) Canales o vías permeables a iones monovalentes de:  $H^+$ ,  $Cl^-$ ,  $K^+$  y  $Na^+$ . En la Figura 18 se muestran los componentes del sistema de activación intracelular compuesto.

**Figura 18**

**Componentes del sistema de activación celular necesario para la contracción cardíaca.**



1-Figura 18: canal de liberación de  $Ca^{2+}$ , receptor de rianodina o canal hiperfosforilado por proteína quinasa (PKA) desde el retículo sarcoplásmico intracelular.

Este canal, localizado y adherido a la membrana del retículo sarcoplásmico (RS) es una estructura intracelular clave en la contracción muscular y el proceso de relajación, por su capacidad de liberación rápida y captación del ion de  $Ca^{2+}$  desde el mioplasma, por medio del CRC o receptor de rianodina. Cada canal es una proteína grande y compleja, 30S, compuesto por cuatro subunidades polipeptídicas, fuertemente asociadas con  $Mr \sim 560.000$  con morfología de trébol de cuatro hojas (tetramérico), que rodean un único poro, selectivo de cationes e hidrofílico, con conductancia por iones divalentes de 100 a 150 pS, con 50

mM  $\text{Ca}^{2+}$ , y por iones monovalentes de  $\sim 750$  pS con 250 mM  $\text{K}^+$ , que se encuentra en la membrana del RS, y cumple su rol al liberar el catión desde la luz del RS hacia el citosol (eflujo). Se halla muy cerca de los canales sarcolémicos tipo  $I_{\text{Ca-L}}$ , puesto que es dependiente de voltaje y de tiempo. Cada canal tipo  $I_{\text{Ca-L}}$  puede bloquearse por rianodina, una toxina derivada de una planta alcaloide con afinidad nanomolar. Por esta razón también se lo conoce como receptor de rianodina (RyR2). Las sustancias que estimulan este canal mejoran la contractilidad, y los que la bloquean, empeoran la contractilidad. Parece ser el canal más importante en los corazones insuficientes, puesto que sufre un aumento dramático en la fosforilación (hiperfosforilación) en pacientes con insuficiencia cardíaca terminal, lo que ofrecería otra base para el uso de  $\beta$ -bloqueantes en esta condición. Los estudios de hipertrofia cardíaca en modelos animales sugieren que una desestabilización en la interacción entre la terminal N y el dominio central (RyR2) se vuelve un factor de hipertrofia (95). La perturbación de la interacción entre el interdominio central y la terminal N dentro de RyR2 es una causa de hipertrofia cardíaca (96).

Los pacientes portadores de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica familiar pueden tener una mutación *missense* del RS en el CRC, en el receptor de rianodina tipo 2 (RyR2), donde se observaron tres mutaciones (P2328S, Q4201R, V4653F). Estas mutaciones no se hallaron en miembros no afectados de la misma familia, y en 100 controles normales. La herencia puede ser autosómica dominante (mutaciones en el receptor de rianodina RyR2) o recesiva, asociada a mutación homocigota en el gen que codifica la isoforma calsequestrina (CASQ2), generalmente de alta penetrancia (97). Esta rara entidad, con inicio clínico precoz y frecuencia de mortalidad promedio de 30% hasta 30 años, se mapeó en el cromosoma 1 (1q42-q43 y 1p11.13.3). Hasta este momento, las siguientes formas genético-familiares de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (TVPC) se han descrito (30% de los casos) y se muestran en la Tabla 8. La primera mutación además de eventos inducidos por estrés, puede presentar disfunción sinusal, fibrilación auricular, paro auricular, disfunción AV y miocardiopatía dilatada (98). Caracterizada por salvas de VT bidireccional y VT polimórfica relacionadas con ejercicio; es decir, dependiente de catecolaminas y sin evidencias de cardiopatía estructural, manifiesta por episodios recurrentes de síncope por causa desconocida, que ocurren durante o luego de ejercicio o emociones, generalmente en el grupo pediátrico o joven. Puede

causar muerte súbita. El síndrome de muerte infantil súbita causa un gran impacto social porque su ocurrencia es tan inesperada (99). La TVPC es una causa significativa de síncope o muerte súbita inducida por estrés o emociones en niños o jóvenes (100).

**Tabla 8**

**Genética de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (TVPC)**

Variante	Locus cromosómico	Gen	Proteína	Herencia	Fenotipo
TVPC1	1q42-q43	RYR2 <sup>1</sup>	RyR cardíaco	AD	TVPC, FVI
TVPC2	1p11.13.3	CASQ2	Calsequestrina	AR	TVPC
TVPC3?	7P14-22	Desconoc	?	AD	TVPC, QT prolong.
<b>TVPC-Fenotipos relacionados</b>					
LQT4	4q25-26	ANK2		AD	FVI, prolongación atípica de QT, TBV inducida por estrés
SAT	17q23.1-q24.2	KCNJ2		AD	Ondas U, TBV Parálisis periódica Dimorfismos faciales
TVPC/DAVD	1q42-43	RYR2		AD	TV inducida por estrés, Disfunción del nódulo sinusal DAVD

**AD= autosómico dominante; AR = autosómico recesivo; FVI = fibrilación ventricular idiopática;**

Nota: Displasia arritmogénica del ventrículo derecho tipo 2 (DAVD2, OMIM 600996) es una miocardiopatía autosómica dominante, caracterizada por degeneración parcial del ventrículo derecho, inestabilidad eléctrica y tendencia a la muerte súbita, con mutación mapeada en el gen RYR2, en el cromosoma 1q42-q43 (101).

2-El canal de entrada lenta de  $\text{Ca}^{2+}$  de la membrana sarcolémica actúa en la fase del PA y en la fase 0 de las fibras lentas, tipo-L, fase 0 de respuesta lenta o canal de larga duración  $\text{I}_{\text{Ca}^{2+}}\text{-L}$ , y se ilustra con el número 2 en la Figura 18.

3-En la membrana del sistema del retículo sarcoplasmático en la Figura 18, la bomba SERCA o de captación de  $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}_{\text{asa}}$ ,  $\text{Ca}^{2+}\text{-(ATP}_{\text{asa}}\text{ SERCA)}$  del retículo sarcoplasmático,  $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}_{\text{asa}}$  del retículo sarco/endoplasmático, calcio  $\text{ATP}_{\text{asa}}$  tipo P- $\text{ATP}_{\text{asa}}$  o  $\text{Ca}^{2+}\text{ ATP}_{\text{asa}}$  del retículo sarcoplasmático cardíaco se ilustra con el número 3 (102).

**Función:** SERCA es una bomba enzimática, ubicada en el medio intracelular en el retículo sarcoplasmático. Es una  $\text{Ca}^{2+}\text{ATP}_{\text{asa}}$  enzimática compleja, cuya función es transferir  $\text{Ca}^{2+}$  desde el citosol celular hacia el RS por hidrólisis de ATP durante la relajación muscular. Hay tres dominios mayores en la superficie citoplasmática del SERCA: el dominio donde ocurre la fosforilación, el dominio de unión con un nucleótido con función catalítica, y el dominio llamado “actuador”, involucrado en la transmisión de cambios de composición. Además, SERCA1 es termogénico en algunos adipocitos (103).

**Regulación:** El complejo enzimático SERCA, es inhibido por una proteína llamada fosfolamban, con la que es muy cercano y muy asociado.

Otra proteína relacionada con el SERCA es la calsecuestrina. Se une con  $\text{Ca}^{2+}$  dentro del RS, contribuyendo con la reducción de la concentración de cationes libres de  $\text{Ca}^{2+}$  dentro del RS. Por esta razón, se considera que ayuda a SERCA al hacer que reduzca el  $\text{Ca}^{2+}$  dentro del RS, y así sirviendo como un asistente de SERCA. La proteína calsecuestrina 2 (CASQ2) es para el almacenamiento de  $\text{Ca}^{2+}$  en el RS. Una enfermedad recesiva autosómica se identificó en una familia de beduinos con una mutación *missense*, que

consiste en el intercambio de ácido aspártico por histidina en la calsequestrina 2 (CASQ2), así originando una tendencia a la aparición de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica con un efecto deletéreo para el almacenamiento del catión  $\text{Ca}^{2+}$ . Viatchenko-Karpinski y cols., al estudiar CASQ2 con mutaciones causadas por adenovirus, probaron a nivel celular, la relación entre la mutación en CASQ2 y una predisposición a arritmias ventriculares adrenérgicamente inducidas, observadas en pacientes portadores de este defecto en CASQ2. La concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  dentro del RS es mucho mayor que en el medio intracelular. La frecuencia con la que SERCA cambia  $\text{Ca}^{2+}$  a través de la membrana del RS puede controlarse mediante el fosfolamban (PLB/PLN) bajo estimulación  $\beta$ -adrenérgica. Cuando el PLB se asocia con SERCA, la tasa de movimiento de  $\text{Ca}^{2+}$  es menor, y cuando ambos se disocian, el movimiento de  $\text{Ca}^{2+}$  aumenta.

**Parálogos:** Son genes relacionados con la duplicación dentro de un genoma. A diferencia de los llamados ortólogos, que mantienen la misma función durante el curso de evolución, los parálogos evolucionan hacia funciones nuevas, incluso estando relacionadas con la función original. Hay 3 parálogos mayores, SERCA1-3, que se expresan a varios niveles en diferentes tipos de células, ATP2A1-SERCA1, ATP2A2-SERCA2, ATP2A2-SERCA3. También hay isoformas post-traducción adicionales (en biología, la traducción se define como el proceso por el que el ARN mensajero afecta la secuencia de aminoácidos durante la síntesis de la proteína) de SERCA2 y 3, que sirve para reintroducir la posibilidad de un tipo celular específico de recaptación de  $\text{Ca}^{2+}$ , que también puede responder con un aumento de complejidad global que también puede responder con un aumento de la complejidad global del mecanismo de señalización de  $\text{Ca}^{2+}$ .

4-Los canales iónicos monovalentes  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$  se ilustran con el número 4 en la Figura 18.

5-Los filamentos delgados de actina y gruesos de miosina se ilustran en el número 5 en la Figura 18: ambos se integran durante la contracción y relajación muscular.

6-Las mitocondrias se ilustran con el número 6 de la Figura 18. Ofrecen energía para la contracción a través de M ATP: las mitocondrias son consideradas como las “centrales eléctricas” celulares.

7-Sistema tubular T: este sistema se ilustra con el número 7 de la Figura 18. Su función básica es transmitir la señal eléctrica sarcolémica hacia el interior de la célula, penetrando dentro de la misma a través de las líneas Z.

8-Retículo sarcoplasmático (RS): cisterna intracelular que capta (bomba de  $\text{Ca}^{2+}$ ) y libera  $\text{Ca}^{2+}$  (RyR2), que tiene una función esencial en el mecanismo de contracción/relajación, se ilustra con el número 8 en la Figura 18.

9-La membrana sarcolémica se ilustra con el número 9 en la Figura 18. Esta estructura tiene un rol en el control de gradientes iónicos, tiene canales iónicos (PA), permite la integridad celular y tiene receptores de drogas y hormonas.

10-Sarcómero: La unidad anatómo-funcional en el músculo se ilustra con el número 10 de la Figura 18. Es la distancia entre las dos líneas Z.

### **Canales intracelulares integrados en la membrana del retículo sarcoplasmático**

I) Canal de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$ , receptor de rianodina hiperfosforilado por proteína quinasa A (PKA) del retículo sarcoplasmático intracelular, o canal de liberación de calcio (CRC).

II) SERCA o bomba de captación de  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{ATP}_{\text{asa}}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ( $\text{ATP}_{\text{asa}}$  SERCA) del retículo sarcoplasmático,  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{ATP}_{\text{asa}}$  del retículo sarco/endoplasmático, calcio  $\text{ATP}_{\text{asa}}$  tipo  $\text{PATP}_{\text{asa}}$ , o  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{ATP}_{\text{asa}}$  del retículo sarcoplasmático cardíaco.

Función: SERCA es una bomba enzimática ubicada en el medio intracelular en el retículo sarcoplasmático. Es una enzima de  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{ATP}_{\text{asa}}$ , cuya función consiste en transferir  $\text{Ca}^{2+}$  desde el citosol de la célula hacia el RS por hidrólisis de ATP durante la relajación muscular. Hay tres dominios mayores en la superficie citoplasmática de SERCA: dominio donde ocurre la fosforilación, el dominio de unión con un nucleótido con función catalítica, y el dominio llamado “acting”, involucrado en la transmisión de cambios de forma. Además, SERCA1 es termogénico en algunos adipocitos (103).

Regulación: el complejo enzimático, SERCA, es inhibido por una proteína llamada fosfolamban, con el que está muy cerca y altamente asociado. Cuando el fosfolamban se fosforila por la proteína quinasa A (PKA), pierde su capacidad de inhibir la bomba SR

SERCA. De este modo, la activación PKA como aquella por acción de la epinefrina beta-agonista puede aumentar el índice de relajación miocítica. Asimismo, puesto que el SERCA es más activo, el siguiente PA causará un aumento en la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$ , llevando a un aumento del efecto inotrópico positivo. Cuando el fosfolamban no está fosforilado, como ocurre cuando la PKA está inactiva, puede interactuar inhibiendo el SERCA. El efecto total del fosfolamban es la aceleración de la relajación muscular y el aumento de la contractilidad, que aumenta de esta manera, la frecuencia cardíaca y el volumen sistólico respectivamente (104).

III) IP3 o receptor de inositol trifosfato, canal receptor de 1,4,5-trifosfato (IP3), receptor de inositol trifosfato (IP3R), canales receptores de trifosfato inositol de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  (105).

Éste es otro canal con estructura de glicoproteína de PM 315.000, y compuesto por 2749 aminoácidos, selectivos de  $\text{Ca}^{2+}$ , integrados a la membrana del RS, que pertenece a la familia de canales de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$ , con un alto grado de homología con el receptor de rianodina. Constituido por 3 parálogos que pueden formar homo-oligómeros o hetero-oligómeros. El que tiene mayor expresión, llamado IP3R-1, se distribuye en todos los tipos de tejido y en todas las etapas del desarrollo de vida. El receptor de IP3 tiene 4 sitios de unión con 9 exones diferentes. Estas combinaciones permiten la transcripción para modular su actividad farmacológica.

Función: liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  dentro del citoplasma (citosol) desde el RS como respuesta a varios estímulos. Su desencadenante principal es  $\text{InsP}_3$ , inositol trifosfato o IP3. Se lo conoce como el segundo mensajero celular, formado por fosfatidilinositol-bifosfato, por acción de la enzima fosfolipasa C, que se transforma en inositol trifosfato o IP3. A su vez, esta enzima puede activarse por angiotensina II y estimulación  $\alpha$  adrenérgica. Se ubica en las células de Purkinje, discos intercalares, sistema de conducción y el músculo liso. El IP3 regula varias funciones fisiológicas, como la transcripción, secreción, aprendizaje y memoria genética.

IV) Canales iónicos monovalentes:  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ .

## Uniones gap

Los discos intercalares son los sitios de la membrana donde los cardiomiocitos se conectan. Las uniones gap, adherens o desmosomas se ubican en los discos intercalares y aseguran el acoplamiento mecánico, así habilitando que el impulso cardíaco eléctrico se disemine.

La displasia arritmogénica del ventrículo derecho (DAVD) es una entidad que afecta estas estructuras, y en consecuencia el acoplamiento mecánico con deficiencia orgánica eléctrica, y una tendencia a la ocurrencia de arritmias fatales (106). En los perros bóxer, uno de los modelos animales de DAVD, modificaciones mecánicas y eléctricas graves se observaron en la interacción célula a célula, con una reducción significativa de la densidad de las uniones gap, un factor que promueve la aparición de arritmias ventriculares malignas. Este modelo puede ayudar en el avance de nuestra comprensión de la base molecular, fisiopatología y enfoque terapéutico potencial en pacientes portadores de DAVD (107).

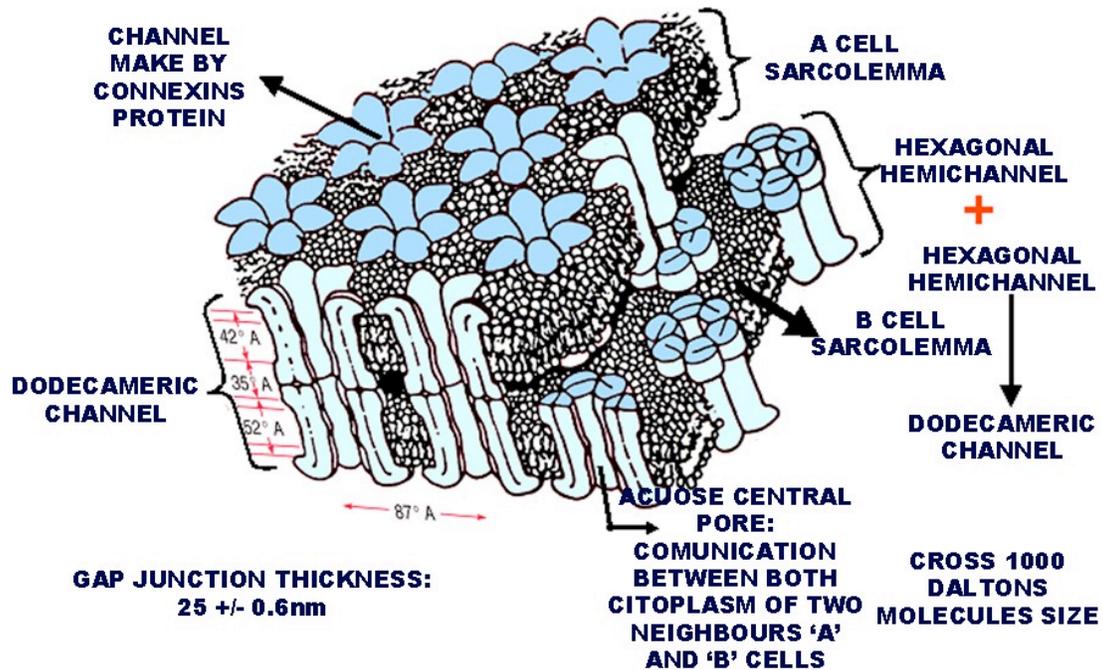
Las uniones gap son puntos eléctricos de continuidad entre células cardíacas y entre fibras de músculo liso.

Estas estructuras son canales proteicos con una baja resistencia, dodecaméricos (12 estructuras), constituidos por hemicanales hexagonales, dispuestos alrededor de un poro central acuoso con un diámetro de 9 a 11, y ubicados en el sarcolema de células vecinas. Este poro permite el pasaje de moléculas de hasta 1000 daltons y suministra un acceso al citoplasma de las dos células vecinas.

La Figura 19 muestra una estructura dodecamérica de uniones gap, compuesta por hemicanales hexagonales que rodean un poro central acuoso, que permite el pasaje de moléculas pequeñas. Estas estructuras están formadas por proteínas llamadas conexinas (108).

Figura 19

Esquema de la unión gap



¿Cuáles son las funciones de las uniones gap?

- 1) Permitir la unión eléctrica entre dos células adyacentes; de este modo, el PA se extiende más fácilmente de fibra a fibra.
- 2) Los canales de unión gap cardíacos son cruciales para conducir el impulso eléctrico entre cardiomiocitos.
- 3) Estructuralmente, pueden estar constituidos por conexina40 (Cx40), conexina43 (Cx43) y conexina45 (Cx45). Una cuarta isoforma, Cx37, se expresa en el endotelio.
- 4) Permitir una mayor velocidad de conducción en el sitio donde están. Puesto que se localizan en dirección longitudinal a la fibra, la velocidad de conducción es de dos a tres veces mayor en dirección longitudinal que en dirección transversal (conducción anisotrópica). Esta disposición longitudinal de uniones gap, explica por qué los trastornos dromotrópicos y bloqueos ocurren con mayor frecuencia en dirección longitudinal.

- 5) Ofrecer un acoplamiento bioquímico al permitir el movimiento célula a célula de moléculas pequeñas como fosfatos de alta energía (soporte energético, control de crecimiento y embriogénesis); por ej. ATP. Éstas son moléculas pequeñas que pueden pasar, porque las uniones gap habilitan el pasaje de elementos de hasta 1000 daltons.
- 6) Suprimir genes tumorales (Cx43, Cx32 y Cx36).
- 7) Función de adhesión, independiente de propiedades dromotrópicas.

Las proteínas que forman las uniones gap se conocen como conexinas. La conexina más abundante se halla en el corazón, y es la conexina 43, y en menor grado, la conexina 40 (Cx40) y 45 (Cx45) (109).

En los ventrículos hay una gran cantidad de conexinas 43 y 45, y una cantidad muy pequeña de conexina 40. Los nódulos SA y AV solamente tienen conexinas 40 y 45, y en las aurículas hay una gran cantidad de los tres tipos; sin embargo, la conexina 40 (Cx40) y la mayor proteína de unión gap se encuentra en el tejido muscular auricular. La Cx40 expresada anormalmente aumenta la vulnerabilidad a la ocurrencia de fibrilación auricular, que se desencadena por alteración en la formación genética de venas torácicas( 110).

La conexina 43 es el principal factor decisivo entre las propiedades eléctricas del músculo cardíaco (111). El cierre de las uniones gap al nivel de esta conexina causa dromotropismo negativo.

Las células de Purkinje tienen una mayor concentración de uniones gap en comparación con las células de haz, lo que explica por qué el fascículo septal de la rama izquierda del haz de His activa la superficie media izquierda en forma más precoz que el fascículo anterior (FA) y el fascículo posterior (FP). Esta célula de Purkinje tiene uniones gap muy prominentes y abundantes, con una rápida transmisión término-terminal y lado a lado. La término-terminal está constituida principalmente por la conexina 43.

Las entidades que obstaculizan la conducción de la unión gap presentan potencial arritmogénico. Por el contrario, las drogas que abren estas estructuras pueden potencialmente usarse como otra estrategia de tratamiento para arritmias. El péptido ZP123 aumenta la conductancia en uniones gap, disminuyendo significativamente su cierre

durante acidosis. Esta propiedad de disminuir la unión intracelular en estas condiciones, muestra el potencial antiarrítmico de la droga en condiciones de acidosis.

Las uniones gap están correctamente desarrolladas en las células de Purkinje y en las células con las que las fibras de haz se unen, y células ventriculares miocárdicas; son muy prominentes y abundantes, con transmisión rápida termino-terminal y de lado a lado. La primera está principalmente constituida por conexina45.

Nota: Las células de Purkinje usualmente conforman grupos de tres, produciendo un aspecto de Y. Esta disposición es la base anatómica para el mecanismo principal de arritmias: reentrada anatómica.

Estas células se ubican en el haz de His, las ramas y arborizaciones de Purkinje, con menor densidad en la región basal de los ventrículos y la punta de los músculos papilares. Además, se observan en una cantidad baja en las vías preferenciales o haces interauriculares.

## Tabla 9

### Resumen de los canales iónicos sarcolémicos e intracelulares

#### A) Sarcolema:

- 1) Canal rápido de  $\text{Na}^+$ : corriente activada por voltaje de  $\text{Na}^+$ , sensible a la tetrodotoxina (TTX).
- 2)  $I_{\text{Na-B}}$ : corriente de ingreso de  $\text{Na}^+$  por un canal independiente de voltaje, en la parte final de la fase 0 del PA de las células del nódulo SA.
- 3) Corriente transitoria de salida de  $\text{K}^+$ ,  $I_{\text{to}}$ ,  $I_{\text{to-fast}}$ ,  $I_{\text{to-f}}$ ,  $I_{\text{toA}}$ , corriente de salida de  $\text{K}^+$  sensible a la 4-aminopiridina.
- 4)  $I_{\text{to2}}$ ,  $\text{IC}^{-1}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  o canal de  $\text{Cl}^-$  activado por  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  transitorio de salida resistente a la 4-AP, transportado por aniones  $\text{Cl}^-$  y modulado por el porcentaje de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular.
- 5)  $I_{\text{CLcAMP}}$  o canal de cloruro independiente de tiempo ( $\text{Cl}^-$ ), regulado por la vía cíclica de AMP.

6)  $I_{Cl\text{-edema}}$  o canal de salida de  $Cl^-$  activado (rectificado) por edema, canal de cloruro activado por edema,  $I_{Cl\text{-SWELL}}$ , canal rectificador de salida de cloruro activado por edema. Este canal pertenece a la categoría de canales iónicos activados por estiramiento. El canal  $I_{Cl\text{-edema}}$  es inhibido por ácido antraceno-9-carboxílico, tamoxifeno y precursor B del péptido natriurético (NPPB) y ácido diisotiocianatostilbeno-2,2''-disulfónico (DIDS) (112). Acorta el PA y causa despolarización.

7) Corrientes de larga duración, de  $Ca^{2+}$  tipo-L. Canales de ingreso de  $Ca^{2+}$ , que opera en la fase 2 de la fibra rápida y fase 0 de fibra lenta en el nódulo SA y nódulo AV. Bloqueados por antagonistas de  $Ca^{2+}$  dihidropiridínicos, fenilalquilaminas, benzotiacepinas y por iones divalentes como el manganeso (Mn), cobalto (Co), níquel (Ni) y lantano (La).

8) Canal de ingreso de  $Na^+$  con retardo en fase 2,  $I_{Na}$  tardío. En enfermedad isquémica, la inhibición de este canal por ranolazina, reduce isquemia recurrente, sobrecarga de  $Ca^{2+}$  y disfunción eléctrica y mecánica (113).

9) Canales rectificadores de  $K^+$ , canales rectificadores tardíos.

(9-1) Canal de activación lenta ( $I_{Ks}$ ).

(9-2) Canal de activación rápida ( $I_{Kr}$ ).

(9-3) Canal de activación ultra-rápida ( $I_{Kur}$ ).

10) Canal  $K^+$ ,  $I_{K1}$ , corriente rectificadora de ingreso de  $K^+$ , corriente continuada de ingreso de  $K^+$  de estado estacionario de "fondo" (*background*), corriente rectificadora de ingreso sensible al  $Ba^{2+}$ , corriente sensible a  $Ba^{2+}$ , corriente de ingreso continuado de  $K^+$  de estado estacionario o ingreso rectificador de  $K^+$   $I_{K1}$ .  $I_{K1}$  es responsable del mantenimiento del potencial de reposo de las aurículas, ventrículos y el sistema His-Purkinje.  $I_{K1}$  actúa en la porción final de la fase 3 y el inicio de la fase 4 del PA auricular, en un rango de voltaje entre el potencial de reposo y -30 mV.

11) Corriente rectificadora de ingreso de  $K^+$ ,  $I_{K(Ado)}$ , corrientes de  $K^+$  activadas por acetilcolina, activados por estimulación de receptores muscarínicos M2 parasimpáticos con liberación de acetilcolina y por estimulación de los receptores purinérgicos tipo I vía

reguladores de la transducción de señal de la proteína G (GTP). La corriente también se abre por acción de estimulación del receptor de adenosina (canales de  $K^+$  sensibles a adenosina trifosfato (ATP)). La droga levosimendan pertenece a la categoría de “sensibilizador de calcio”, que aumenta la sensibilidad del corazón al  $Ca^{2+}$  sin aumentar el porcentaje de  $Ca^{2+}$  intracelular al unirse con troponina C de manera dependiente de calcio (114). La droga también presenta un efecto vasodilatador al abrir los canales en el músculo liso de los vasos. Ambos efectos combinados llevan a un aumento de la fuerza de contracción, disminuyendo la pre-carga y la pos-carga, además de un efecto cardioprotector, actuando sobre los canales mitocondriales de  $K^+$  sensibles a ATP. Se expresan en el nódulo SA, nódulo AV y el músculo auricular, donde causan hiperpolarización y acortamiento del PA (115).

12) Corriente de marcapasos o  $I_f$  activado por hiperpolarización de la membrana permeable a  $K^+$  y  $Na^+$ , siendo 4 veces más permeable que el anterior. Son modulados por nucleótidos cíclicos llamados HCN. Se conocen cuatro tipos de cinética, dependiente de la temperatura y llamados:

- HCN1: se activa más rápidamente entre 30 y 300 ms. Los potenciales de activación varían entre -70 mV y -140 mV.
- HCN2: cinética de activación intermedia entre 200 y 500 ms.
- HCN3: cinética de activación intermedia entre 200 y 500 ms.
- HCN4: cinética de activación lenta entre 300 ms y varios segundos. Los potenciales de activación varían entre -75 mV y -110 mV.

13) Canal rápido de  $Ca^{2+}$ ,  $I_{Ca-t}$ , rápido tipo T, corriente transitoria o conductancia pequeña. Causa influjo de  $Ca^{2+}$  en la parte final de la fase 4 en el nódulo SA, región N del nódulo AV y sistema de His-Purkinje. Selectivamente bloqueado por el antagonista de  $Ca^{2+}$  mibefradil. No es sensible a la dihidropiridina. Aumentan su función con noradrenalina, el agonista  $\alpha$ -adrenérgico fenilefrina, porcentaje de ATP extracelular y endotelina 1.

14) Sistema de intercambio de  $I_{Na^+/Ca^{2+}}$  o de contratransporte de sodio/calcio. Es una corriente intercambiadora electrogénica de cationes en direcciones opuestas: tres iones de salida de  $Na^+$  intercambiados por un ion de entrada de  $Ca^{2+}$ . Esta corriente contribuye a la

despolarización, extiende la fase 2 del PA y contribuye con la despolarización durante la diástole. Su función consiste en colocar el  $\text{Ca}^{2+}$  que ingresó en la fase 2 en el medio extracelular y así usarse principalmente en condiciones de sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Más raramente, este intercambio puede ser opuesto; es decir, influjo de  $\text{Na}^+$  a través de la corriente de intercambio de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , que opera de manera reversa.

15) Bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATP}_{\text{asa}}$ : actúa en la fase 4 con gasto energético. Coloca tres cationes de  $\text{Na}^+$  en el medio extracelular e introduce un ion de  $\text{K}^+$ . Esta bomba es inhibida por digital.

16)  $\text{Ca}^{2+}\text{ATP}_{\text{asa}}$ : elimina  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico, colocándolo en el medio extracelular por gasto energético, transformando ATP en ADP + Pi.

17)  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ : canal de co-transporte, bloqueado por amilorida. Ésta es otra proteína electroneutral de intercambio de iones (116).

## **B) Intracitoplasmático.**

18) SERCA o bomba de captación de  $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}_{\text{asa}}$  o  $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{ATP}_{\text{asa}}$ ; SERCA  $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}_{\text{asa}}$  del retículo sarcoplasmático,  $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}_{\text{asa}}$  del retículo sarco/endoplasmático, calcio  $\text{ATP}_{\text{asa}}$  tipo P- $\text{ATP}_{\text{asa}}$ , o  $\text{Ca}^{2+} \text{ATP}_{\text{asa}}$  del retículo sarcoplasmático cardíaco. Transfiere  $\text{Ca}^{2+}$  desde el citosol de la célula hacia el interior del RS por hidrólisis de ATP durante relajación muscular.

19) IP<sub>3</sub>, receptor de inositol trifosfato o IP<sub>3</sub>, canal receptor de 1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>R), receptor de inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>R), canal receptor de inositol trifosfato y liberación de  $\text{Ca}^{2+}$ .

20) Canales iónicos monovalentes:  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  adheridos a la membrana del retículo sarcoplasmático.

21) Proteína electroneutral de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ; de intercambio de cationes de  $\text{H}^+$  intracelular por  $\text{Na}^+$  extracelular. Los cardiomiocitos expresan la isoforma NHE1. Su inhibición causa acidificación dentro de la célula. Inhibida por los derivados de benzilguanidina.

## **C) Corrientes de entrada de $\text{K}^+$ sarcolémico e intracelular.**

22)  $I_{K1}$ , corriente continua de entrada de  $K^+$  de estado estacionario de “fondo” (*background*), corriente rectificadora de entrada de  $K^+$  en un rango de voltaje entre el potencial de reposo y -30 mV. Actúa en la porción final de la fase 3 del PA desde las aurículas, nódulo AV, sistema His-Purkinje y células ventriculares miocárdicas. **Función:** mantener el potencial de reposo en las aurículas, nódulo AV y músculo ventricular. **Estímulos:** Hiperpolarización. **Bloqueantes de canal:**  $Ba^{2+}$ ,  $I_{KArch}$ .

23)  $K_{-ATP}$  o  $I_{K-ATP}$ , corriente de  $K^+$  activada por adenosina trifosfato, canales de  $K(+)$  sensibles a ATP. Corriente rectificadora de entrada de  $K^+$ , activada por receptores muscarínicos M2 y estimulación de los receptores I purinérgicos vía reguladores de transducción de señales de proteína G (GTP). El estímulo ocurre cuando el porcentaje intracelular de ATP disminuye. Esto ocurre en situaciones clínicas, principalmente en isquemia miocárdica. La activación de esta corriente causa acortamiento del PA. Pinacidil, cromakalim y nicorandil también abren este canal. Las sulfonilúreas, como la glibenclamida, inhiben este canal. Según la posición que tiene dentro de la célula, se identifican tres grupos.

- 1) Sarcolémica,  $SarcK_{ATP}$ ;
- 2) Mitocondrial,  $MitoK_{ATP}$ ;
- 3) KATP nuclear,  $nucK_{ATP}$ .

### **Conclusión:**

El potencial diastólico de las fibras cardíacas en reposo se mantiene por una concentración aniónica y catiónica diferente entre los medios intracelular y extracelular. La predominancia de cargas negativas interiores se debe a una gran cantidad de proteínas anfóteras, que en el pH intracelular disocian sus cargas negativas predominantemente.

Por las características de su fase 0, los cardiomiocitos se clasifican en rápidos (dependientes de sodio), ubicados en las células contráctiles ventriculares y auriculares, en los haces internodales y el sistema His-Purkinje, y lentos (dependientes de calcio) en el nódulo SA, nódulo AV y anillos mitro-tricuspidéos.

El potencial de acción de los cardiomiocitos presenta cinco fases sucesivas: fase 0 de despolarización (QRS), fase 1 de repolarización rápida (punto J), fase 2 (segmento ST) principalmente dependiente de entrada lenta de calcio, fase 3 de repolarización rápida (onda T) y fase 4, que puede ser estable (células no automáticas) o ascendente espontáneamente (automática), coincidiendo con la onda U.

El sarcolema presenta numerosos canales de  $\text{Na}^+$  transmembrana de salida inicial de  $\text{K}^+$  en la fase 1,  $I_{\text{Ca(L)}}$  (fase 2), canales rectificadores tardíos lentos ( $I_{\text{Ks}}$ ), rápidos ( $I_{\text{Kr}}$ ) y ultra-rápidos ( $I_{\text{Kur}}$ ) de fase 3. Finalmente el canal marcapasos ( $I_{\text{f}}$ ) y el canal rápido de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $I_{\text{Ca-T}}$ ), la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$   $\text{ATPasa}$  con gasto energético y el canal  $I_{\text{K1}}$  o corriente rectificadora de entrada actúan inicialmente en las fases 3 y 4. El canal  $I_{\text{KAch}}$  de fase 4 depende de la acetilcolina. La corriente  $\text{K}_{\text{ATP}}$  o rectificadora de entrada de  $\text{K}^+$  se activa por receptores muscarínicos M2 I.

Hay canales intracelulares ubicados en el retículo sarcoplasmático y la mitocondria, como el canal de liberación de  $\text{Ca}^{2+}$ , receptor de rianodina (RyR2), bomba de captación de  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{ATP}_{\text{asa}}$ ; SERCA o calsequestrina cardíaca (CASQ2) o receptor de inositol 1,4,5 trifosfato (IP3R) y vías permeables a iones monovalentes:  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ .

Finalmente hay estructuras llamadas uniones gap, con baja resistencia, dodecaméricas, ubicadas en el sarcolema de dos células vecinas, que permiten el pasaje de moléculas y ofrecen acceso al citoplasma de dos células vecinas, permitiendo una mejor propagación del impulso.

Los numerosos canales iónicos pueden presentar mutaciones genéticas que originarán diferentes canalopatías, como los síndromes de QT prolongado y corto, síndrome de Brugada y taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica familiar. Diferentes drogas actúan sobre estos canales, modificando sus propiedades electrofisiológicas y electrofarmacológicas.

## Referencias

- 1) Caballero R, Gómez R, Núñez L, Moreno I, Tamargo J, Delpón E. Diltiazem inhibits hKv1.5 and Kv4.3 currents at therapeutic concentrations. Cardiovasc Res. 2004 Dec 1; 64:457-466.

- 2) Wu J, Ding WG, Matsuura H, Tsuji K, Zang WJ, Horie M. Inhibitory actions of the phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor LY294002 on the human Kv1.5 channel. *Br J Pharmacol.* 2009 Jan; 156:377-387.
- 3) Krstić D, Krinulović K, Spasojević-Tisma V, Joksić G, Momić T, Vasić V. Effects of digoxin and gitoxin on the enzymatic activity and kinetic parameters of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2004 Oct; 19:409-415.
- 4) Lakatta EG, DiFrancesco D. What keeps us ticking: a funny current, a calcium clock, or both? *J Mol Cell Cardiol.* 2009 Aug; 47: 157-170.
- 5) Baruscotti, M., Bucchi, A., DiFrancesco, D. (2005). Physiology and pharmacology of the cardiac pacemaker ("funny") current. *Pharmacology & Therapeutics*, 107, 59-79.
- 6) Barbuti A, Baruscotti M, DiFrancesco D. The pacemaker current: from basics to the clinics. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2007 Mar; 18: 342-347.
- 7) Fox K, Ford I, Steg PG, Tendera M, Ferrari R; BEAUTIFUL Investigators Ivabradine for patients with stable coronary artery disease and left-ventricular systolic dysfunction (BEAUTIFUL): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2008; 372:807-816.
- 8) Ferrari R, Ford I, Fox K, Steg PG, Tendera M. The BEAUTIFUL Study Group,: randomized trial of ivabradine in patients with stable coronary artery disease and left ventricular systolic dysfunction – baseline characteristics of the study population. *Cardiology.* 2008; 110: 271-282.
- 9) Milanese, R., Baruscotti, M., Gneschi-Ruscione, T, DiFrancesco, D. Familial sinus bradycardia associated with a mutation in the cardiac pacemaker channel. *The New England Journal of Medicine*, 2006; 354,151-157.
- 10) Balijepalli RC, Kamp TJ. Caveolae, ion channels and cardiac arrhythmias. *Prog Biophys Mol Biol.* 2008 Oct-Nov; 98:149-160.
- 11) Palatini P. Heart rate as a risk factor for atherosclerosis and cardiovascular mortality: the effect of antihypertensive drugs. *Drugs* 1999 May; 57: 713-724.
- 12) Uchino T, Lee TS, Kaku T, Yamashita N, Noguchi T, Ono K. Voltage-dependent and frequency-independent inhibition of recombinant Cav3.2 T-type Ca<sup>2+</sup> channel by bepridil. *Pharmacology.* 2005 Jul; 74:174-181.
- 13) Fozzard HA, January CT, Makielski JC. New studies of the excitatory sodium currents in heart muscle. *Circ Res.* 1985 Apr; 56: 475-485.
- 14) Balsler JR. The cardiac sodium channel: gating function and molecular pharmacology. *J Mol Cel Cardiol.* 2001 Apr; 33: 599-613.
- 15) Vaughan-Williams E A, A classification of antiarrhythmic actions reassessed after a decade of new drugs. *J Clin Pharmacol.* 1984 Apr; 24: 129-147.
- 16) Harrison DC. Antiarrhythmic drug classification: new science and practical applications. *Am J Cardiol.* 1985 Jul 1; 56:185-187.
- 17) Mandelburger D, Teubl A, Röggl G. Ajmaline challenge in Brugada syndrome. *Resuscitation.* 2007 Aug; 74(2): 393-394.
- 18) Belhassen B, Glick A, Viskin S. Excellent long-term reproducibility of the electrophysiologic efficacy of quinidine in patients with idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndrome. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2009 Mar; 32: 294-301.
- 19) Chaudhry GM, Haffajee CI. Antiarrhythmic agents and proarrhythmia. *Crit Care Med.* 2000 Oct; 28(10 Suppl):N158-164.
- 20) Abriel H. Cardiac sodium channel Nav1.5 and its associated proteins. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2007 Sep; 100:787-793.
- 21) Abriel H. Roles and regulation of the cardiac sodium channel Na(v)1.5: Recent insights from experimental studies. *Cardiovasc Res.* 2007 Dec 1; 76: 381-389.
- 22) Bassani RA. Transient outward potassium current and Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the heart: beyond the action potential. *Braz J Med Biol Res.* 2006 Mar; 39(3): 393-403.

- 23) Carpenter E, Peers C. Swelling- and cAMP-activated Cl<sup>-</sup> currents in isolated rat carotid body type I cells. *J Physiol*. 1997 Sep 15; 503: 497-511.
- 24) Wang J, Xu H, Sun X, Niu W. Pharmacological and biophysical properties of swelling-activated chloride channel in mouse cardiac myocytes. *Chin J Physiol*. 2006 Jun 30; 49: 126-131.
- 25) Antzelevitch C, Sicuri S, Litovsky, Lukas A, Krishnan SC, Di Diego JM, Gintant GA, Liu DW. Heterogeneity within the ventricular wall: Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial and M cells. *Circ Res* 1991; 69: 1427-1449.
- 26) Bonnet A, Rimmelé T, Afkir M, Baillon JJ, Christin F, Ber CE. Osborn J wave and cardiac rhythm disorders *Presse Med*. 2009 Jun; 38: 1023-1027.
- 27) Kérébel S, Jégo C, Barbou F, Cellarier G, Laurent P, Bouchiat C, Carlioz R. Osborn J wave. A new "channel pathology"? A case report. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2006 Oct; 55: 282-285.
- 28) Morita H, Zipes DP, Fukushima-Kusano K, Nagase S, Nakamura K, Morita ST, Ohe T, Wu J. Repolarization heterogeneity in the right ventricular outflow tract: correlation with ventricular arrhythmias in Brugada patients and in an in vitro canine Brugada model. *Heart Rhythm*. 2008 May; 5: 725-733.
- 29) Benito B, Sarkozy A, Mont L, Henkens S, Berruezo A, Tamborero D, Arzamendi D, Berne P, Brugada R, Brugada P, Brugada J. Gender differences in clinical manifestations of Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Nov 4; 52:1567-1573.
- 30) Serwer G. Ventricular arrhythmia in children: diagnosis and management. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2008 Sep; 10: 442-447.
- 31) Delpón E, Cordeiro JM, Núñez L, Bloch Trhomsen PE, Guerchicoff A, Pollevick GD, Wu Y, Kanters JK, Larsen CT, Burashnikow E, Christiansen M, Antzelevitch C. "Functional Effects of KCNE3 Mutation and Its Role in the Development of Brugada Syndrome". *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology*. 2008; 1: 209-218.
- 32) Calloe K, Cordeiro JM, Di Diego JM, Hansen RS, Grunnet M, Olesen SP, Antzelevitch C A transient outward potassium current activator recapitulates the electrocardiographic manifestations of Brugada syndrome. *Cardiovasc Res*. 2009 Mar 1; 81: 686-694.
- 33) Gallego M, Alday A, Urrutia J, Casis O. Transient outward potassium channel regulation in healthy and diabetic hearts. *Can J Physiol Pharmacol*. 2009 Feb; 87: 77-83.
- 34) Niimi Y, Hino N, Ochi R. Diltiazem facilitates inactivation of single L-type calcium channels in guinea pig ventricular myocytes. *Jpn Heart J*. 2003 Nov; 44:1005-1014.
- 35) Sugai Y, Miura M, Hirose M, Wakayama Y, Endoh H, Nishio T, Watanabe J, ter Keurs HE, Shirato K, Shimokawa H. Contribution of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange current to the formation of delayed afterdepolarizations in intact rat ventricular muscle. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009 Jun; 53: 517-522.
- 36) Yamada M, Ohta K, Niwa A, Tsujino N, Nakada T, Hirose M. Contribution of L-type Ca<sup>2+</sup> channels to early afterdepolarizations induced by I<sub>Kr</sub> and I<sub>Ks</sub> channel suppression in guinea pig ventricular myocytes. *J Membr Biol*. 2008 Apr; 222: 151-166.
- 37) Tsurugi T, Nagatomo T, Abe H, Oginosawa Y, Takemasa H, Kohno R, Makita N, Makielski JC, Otsuji Y. Differential modulation of late sodium current by protein kinase A in R1623Q mutant of LQT3. *Life Sci*. 2009 Mar 13; 84: 380-387.
- 38) Ueda N, Zipes DP, Wu J. Functional and transmural modulation of M cell behavior in canine ventricular wall. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Dec; 287: H2569-2575.
- 39) Mangat JS, Till J, Bridges N. Hypocalcaemia mimicking long QT syndrome: case report. *Eur J Pediatr*. 2008 Feb; 167: 233-235.
- 40) Saikawa T, Tsumabuki S, Nakagawa M, Takakura T, Tamura M, Maeda T, Ito S, Ito M. QT intervals as an index of high serum calcium in hypercalcemia. *Clin Cardiol*. 1988 Feb; 11:75-78.
- 41) Antzelevitch C, Pollevick GD, Cordeiro JM, Casis O, Sanguinetti MC, Aizawa Y, Guerchicoff A, Pfeiffer R, Oliva A, Wollnik B, Gelber P, Bonaros EP Jr, Burashnikov E, Wu Y, Sargent

- JD, Schickel S, Oberheiden R, Bhatia A, Hsu LF, Haïssaguerre M, Schimpf R, Borggreffe M, Wolpert C. Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. *Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology* 2007; Jan 30; 115: 442-449.
- 42) Shryock JC, Belardinelli L. Inhibition of late sodium current to reduce electrical and mechanical dysfunction of ischaemic myocardium *Br J Pharmacol.* 2008 March; 153: 1128–1132.
  - 43) Shimizu W, Antzelevitch C: Sodium channel block with mexiletine is effective in reducing dispersion of repolarization and preventing torsade de pointes in LQT2 and LQT3 models of long QT syndrome 1997; 33:307-313.
  - 44) Priori SG, Napolitano C, Paganini V, et al: molecular biology of QT long syndrome; Impact on management *Pacing Clin Electrophysiol* 1997; Aug; 20:2052-2057.
  - 45) Nagatomo T, January CT, Makielski JC. Preferential block of late sodium current in the LQT3 DeltaKPQ mutant by the class I(C) antiarrhythmic flecainide. *Mol Pharmacol* 2000; 57: 101-107.
  - 46) Burashnikov A, Antzelevitch C. Can inhibition of  $I_{Kur}$  promote atrial fibrillation? *Heart Rhythm.* 2008 Sep; 5: 1304-1309.
  - 47) Wang Q, Curran ME, Splawski I et al. Positional cloning of a novel potassium channel gene:  $KvLQT1$  mutations cause cardiac arrhythmias. *Nat Genet* 1996; 12:17-23.
  - 48) Keating M, Atkinson D, Dunn C et al. Linkage of a cardiac arrhythmia, the long QT syndrome, and the Harvey ras-1 gene. *Science* 1991; 252: 704-706.
  - 49) Ackerman MJ, Khositseth A, Tester DJ, et al. Epinephrine-induced QT interval prolongation: a gene-specific paradoxical response. *Mayo Clin Proc.* 2002 May; 77: 413-421.
  - 50) Bellocq C, van Ginneken AC, Bezzina CR, et al. Mutation in the  $KCNQ1$  gene leading to the short QT-interval syndrome. *Circulation* 2004; 109: 2394-2397.
  - 51) Curran ME, Splawski I, Timothy KW, et al. A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell* 1995; 80:795-803.
  - 52) Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, et al. A mechanistic link between an inherited and acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the  $I_{Kr}$  potassium channel. *Cell* 1995; 81: 299-307.
  - 53) Brugada R, Hong K, Dumaine R, et al. Sudden Death Associated With Short-QT Syndrome Linked to Mutations in HERG. *Circulation.* *Circulation* 2004; 109: 30-35.
  - 54) Sekar RB, Kizana E, Cho HC, Molitoris JM, Hesketh GG, Eaton BP, Marbán E, Tung L.  $IK1$  heterogeneity affects genesis and stability of spiral waves in cardiac myocyte monolayers. *Circ Res.* 2009 Feb 13; 104: 355-364.
  - 55) Sacconi S, Simkin D, Arrighi N, Chapon F, Larroque MM, Vicart S, Sternberg D, Fontaine B, Barhanin J, Desnuelle C, Bendahhou S. Mechanisms underlying Andersen's syndrome pathology in skeletal muscle are revealed in human myotubes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009 Jul 1. [Epub ahead of print].
  - 56) Lange PS, Er F, Gassanov N, Hoppe UC. Andersen mutations of  $KCNJ2$  suppress the native inward rectifier current  $IK1$  in a dominant-negative fashion. *Cardiovasc Res.* 2003 Aug 1; 59: 321-327.
  - 57) Postema PG, Ritsema van Eck HJ, Opthof T, van Herpen G, van Dessel PF, Priori SG, Wolpert C, Borggreffe M, Kors JA, Wilde AA.  $IK1$  modulates the U-wave: insights in a 100-year-old enigma. *Heart Rhythm.* 2009 Mar; 6:393-400.
  - 58) Zhang L, Benson DW, Tristani-Firouzi M, Ptacek LJ, Tawil R, Schwartz PJ, George AL, Horie M, Andelfinger G, Snow GL, Fu YH, Ackerman MJ, Vincent GM. Electrocardiographic features in Andersen-Tawil syndrome patients with  $KCNJ2$  mutations: characteristic T-U-wave patterns predict the  $KCNJ2$  genotype. *Circulation.* 2005 May 31; 111: 2720-2726.
  - 59) Krapivinsky G, Gordon EA, Wickman K, Velimirović B, Krapivinsky L, Clapham DE. The G-protein-gated atrial  $K^+$  channel  $IK_ACh$  is a heteromultimer of two inwardly rectifying  $K(+)$ -channel proteins. *Nature.* 1995 Mar 9; 374: 135-141.

- 60) Haïssaguerre M, Derval N, Sacher F, Jesel L, Deisenhofer I, de Roy L, Pasquié JL, Nogami A, Babuty D, Yli-Mayry S, De Chillou C, Scanu P, Mabo P, Matsuo S, Probst V, Le Scouarnec S, Defaye P, Schlaepfer J, Rostock T, Lacroix D, Lamaison D, Lavergne T, Aizawa Y, Englund A, Anselme F, O'Neill M, Hocini M, Lim KT, Knecht S, Veenhuyzen GD, Bordachar P, Chauvin M, Jais P, Coureau G, Chene G, Klein GJ, Clémenty J. Sudden cardiac arrest associated with early repolarization. *N Engl J Med.* 2008 May 8; 358: 2016-202.
- 61) Haïssaguerre M, Sacher F, Nogami A, Komiya N, Bernard A, Probst V, Yli-Mayry S, Defaye P, Aizawa Y, Frank R, Mantovan R, Cappato R, Wolpert C, Leenhardt A, de Roy L, Heïdbuchel H, Deisenhofer I, Arentz T, Pasquié JL, Weerasooriya R, Hocini M, Jais P, Derval N, Bordachar P, Clémenty J. Characteristics of recurrent ventricular fibrillation associated with inferolateral early repolarization role of drug therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Feb 17; 53: 612-619.
- 62) Letsas KP, Sacher F, Probst V, Weber R, Knecht S, Kalusche D, Haïssaguerre M, Arentz T. Prevalence of early repolarization pattern in inferolateral leads in patients with Brugada syndrome *Heart Rhythm.* 2008 Dec; 5: 1685-1689.
- 63) Bonakdar H, Haghjoo M, Sadr-Ameli MA. Brugada Syndrome Manifested by the Typical Electrocardiographic Pattern both in the Right Precordial and the High Lateral Leads. *Indian Pacing Electrophysiol J.* 2008 Apr 1; 8: 137-140.
- 64) Stephan D, Winkler M, Kühner P, Russ U, Quast U (2006). "Selectivity of repaglinide and glibenclamide for the pancreatic over the cardiovascular K(ATP) channels.". *Diabetologia* 49 (9): 2039–2048.
- 65) Inagaki N, Gonoï T, Clement JP4th, Namba N, Inazawa J, Gonzalez G, et al. "Reconstitution of IKATP: An inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor". *Science.* 1995; 270: 1166–1170.
- 66) Seino, S, Miki T. "Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels.". *Progress in Biophysics and Molecular Biology* . 2003; 81: 133–176.
- 67) Zhuo ML, Huang Y, Liu DP, Liang CC. "KATP channel: relation with cell metabolism and role in the cardiovascular system". *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* 2005; 73: 751–764.
- 68) Inoue I, Nagase H, Kishi K, Higuti T. "ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel in the mitochondrial inner membrane.". *Nature.* 1991; 352: 244–247.
- 69) Lacza Z, Snipes JA, Miller AW, Szabo C, Grover G, Busija DW. Heart mitochondria contain functional ATP-dependent K<sup>+</sup> channels. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* . 2003; 35: 1339–1347.
- 70) Mironova GD, Grigoriev SM, Skarga YY, Negoda AE, Kolomytkin OV. ATP-dependent potassium channel from rat liver mitochondria: Inhibitory analysis, channel clusterization.". *Membrane and Cellular Biology* .1997; 10: 583–591.
- 71) Quesada, I., Rovira, J. M., Martin, F., Roche, E., Nadal, A., & Soria, B. (2002). "Nuclear KATP channels trigger nuclear Ca(2<sup>+</sup>) transients that modulate nuclear function.". *Proceedings of the National Academy of Science USA* 99 (14): 9544–9549.
- 72) Ardehali H, Chen Z, Ko Y, Mejia-Alvarez R, Marban E. Multiprotein complex containing succinate dehydrogenase confers mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel activity. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 101. 2004 Aug; 101: 11880–11885.
- 73) Aguilar-Bryan L, Clement JP4th, Gonzalez G, Kunjilwar K, Babenko A, Bryan J. Toward understanding the assembly and structure of KATP channels. *Physiological Reviews* 1998 Jan; 78: 227–245.
- 74) Moritz W, Leech CA, Ferrer J, Habener JF. Regulated expression of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel subunits in pancreatic beta-cells. *Endocrinology Journal.* 2001 Jan; 142: 129–138.

- 75) Akao M, Ohler A, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circulation Research*. 2001 Jun 22; 88: 1267–1275.
- 76) Crawford RM, Jovanović S, Budas GR, Davies AM, Lad H, Wenger RH, Robertson KA, Roy DJ, Ranki HJ, Jovanović A. Chronic mild hypoxia protects heart-derived H9c2 cells against acute hypoxia/reoxygenation by regulating expression of the SUR2A subunit of the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel. *Journal of Biological Chemistry*. 2003 Aug 15; 278: 31444–31455.
- 77) Ren Y, Xu X, Wang X. Altered mRNA expression of ATP-sensitive and inward rectifier potassium channel subunits in streptozotocin-induced diabetic rat heart and aorta. *Journal of Pharmacological Science*. 2003 Dec; 93: 478–483.
- 78) Koster JC, Marshall BA, Ensor N, Corbett JA, Nichols CG. Targeted overactivity of beta cell K(ATP) channels induces profound neonatal diabetes. *Cell* 2000;100: 645–654.
- 79) Koster JC, Knopp A, Flagg TP, Markova KP, Sha Q, Enkvetchakul D, Enkvetchakul D, Betsuyaku T, Yamada KA, Nichols CG. (2001). Tolerance for ATP-insensitive K(ATP) channels in transgenic mice. *Circulation Research*. 2001 Nov 23; 89:1022-1029.
- 80) Zhuo ML, Huang Y, Liu DP, Liang CC. KATP channel: relation with cell metabolism and role in the cardiovascular system. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005 Apr; 37: 751-764.
- 81) Xu M, Wang Y, Ayub, A., & Ashraf, M. Mitochondrial K(ATP) channel activation reduces anoxic injury by restoring mitochondrial membrane potential. *American Journal of Physiology and Heart Circulation and Physiology* 2001; 281: H1295–H1303.
- 82) Zhuo ML, Huang Y, Liu DP, Liang CC. "KATP channel: relation with cell metabolism and role in the cardiovascular system". *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* .2005; 73: 751–764.
- 83) Mubagwa K, Flameng W. "Adenosine, adenosine receptors and myocardial protection: An updated overview. *Cardiovascular Research*. 2001; 52: 25–39.
- 84) Suzuki M, Saito T, Sato T, Tamagawa M, Miki T, Seino S, Nakayama H. Cardioprotective effect of diazoxide is mediated by activation of sarcolemmal but not mitochondrial ATP-sensitive potassium channels in mice. *Circulation*. 2003; 107: 682–685.
- 85) Gong, B., Miki, T., Seino, S., & Renaud, J. M. (2000). "A K(ATP) channel deficiency affects resting tension, not contractile force, during fatigue in skeletal muscle.". *American Journal of Physiology and Cell Physiology* 279 (5): C1351–C1358. ).
- 86) (Zingman, L. V., Hodgson, D. M., Bast, P. H., Kane, G. C., Perez- Terzic, C., Gumina, R. J., et al. (2002). "Kir6.2 is required for adaptation to stress.". *Proceedings of the National Academy of Science USA* 99 (20): 13278–13283. ).
- 87) Chutkow, W. A., Pu, J., Wheeler, M. T., Wada, T., Makielski, J. C., Burant, C. F., et al. (2002). "Episodic coronary artery vasospasm and hypertension develop in the absence of Sur2 K(ATP) channels.". *Journal of Clinical Investigation* 110 (2): 203–208. ).
- 88) (Bienengraeber, M., Olson, (.T. M., Selivanov, V. A., Kathmann, E. C., O'Coirlain, F., Gao, F., et al. (2004). "ABCC9 mutations identified in human dilated cardiomyopathy disrupt catalytic KATP channel gating.". *Nature Genetics* 36 (4): 382–387. )
- 89) (Friedrich T, Bamberg E, Nagel G Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>)-ATPase pump currents in giant excised patches activated by an ATP concentration jump. *Biophys J* 1996 Nov;71(5): 2486-2500.).
- 90) (Liu QY, Karpinski E, Pang PK. The L-type calcium channel current is increased by alpha-1 adrenoceptor activation in neonatal rat ventricular cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994 Nov;271(2):935-943.
- 91) (Doggrell SA, Hancox JC. Dronedronone: an amiodarone analogue. *Expert Opin Investig Drugs*. 2004 Apr; 13(4): 415-426.)
- 92) (Yeh YH, Burstein B, Qi XY, Sakabe M, Chartier D, Comtois P, Wang Z, Kuo CT, Nattel S. Funny current downregulation and sinus node dysfunction associated with atrial tachyarrhythmia: a molecular basis for tachycardia-bradycardia syndrome. *Circulation*. 2009 Mar 31;119(12):1576-85.).

- 93) (Terentyev D, Kubalova Z, Valle G, Nori A, Vedamoorthyrao S, Terentyeva R, Viatchenko-Karpinski S, Bers DM, Williams SC, Volpe P, Gyorke S. Modulation of SR Ca release by luminal Ca and calsequestrin in cardiac myocytes: effects of CASQ2 mutations linked to sudden cardiac death. *Biophys J*. 2008 Aug; 95: 2037-2048.
- 94) (Sonoyama K, Igawa O, Miake J, Yamamoto Y, Sugihara S, Sasaki N, Shimoyama M, Hamada T, Taniguchi S, Yoshida A, Ogino K, Shigemasa C, Hoshikawa Y, Kurata Y, Shiota G, Narahashi T, Horiuchi M, Matsubara H, Ninomiya H, Hisatome I. Effects of angiotensin II on the action potential durations of atrial myocytes in hypertensive rats. *Hypertens Res*. 2005 Feb;28(2):173-179.)
- 95) (Oda, M. Yano, T. Yamamoto, T. Tokuhis S. Okuda, M. Doi, T. Ohkusa, Y. Ikeda, S. Kobayashi, N. Ikemoto, M. Matsuzaki, Defective regulation of inter-domain interactions within the ryanodine receptor plays a key role in the pathogenesis of heart failure, *Circulation*. 2005; 111 3400-3410.)
- 96) (Hamada T, Gangopadhyay JP, Mandl A, Erhardt P, Ikemoto N. Defective regulation of the ryanodine receptor induces hypertrophy in cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Mar 13; 380(3): 493-497.)
- 97) (Laitinen PJ, Swan H, Piippo K, Viitasalo M, Toivonen L, Kontula K. Genes, exercise and sudden death: molecular basis of familial catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Ann Med*. 2004; 36 Suppl 1:81-86.)
- 98) (Bhuiyan ZA, van den Berg MP, van Tintelen JP, Bink-Boelkens MT, Wiesfeld AC, Alders M, Postma AV, van Langen I, Mannens MM, Wilde AA. Expanding spectrum of human RYR2-related disease: new electrocardiographic, structural, and genetic features. *Circulation*. 2007 Oct 2; 116:1569-1576.
- 99) Carturan E, Basso C, Thiene G. Molecular investigation of sudden death. *G Ital Cardiol (Rome)*. 2007;8:752-759.
- 100) Massin M, Leroy P, Misson JP, Lepage P. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in a child: an often unrecognized diagnosis. *Arch Pediatr*. 2003; 10: 524-526.)
- 101) Tiso N, Stephan D, Devaney JM, Stanchi F, Larderet G, Brahmabhatt B, Brown K, Bauce B, Muriago M, Basso C, Thiene G, Danieli GA, Rampazzo A. Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). *Hum Mol Genet*. 2001 Feb 1; 10(3): 189-194.
- 102) Inesi G, Prasad AM, Pilankatta R. The Ca<sup>2+</sup> ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum: Physiological role and relevance to diseases. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Apr 25; 369:182-187
- 103) de Meis L, Oliveira GM, Arruda AP, Santos R, Costa RM, Benchimol M. "The thermogenic activity of rat brown adipose tissue and rabbit white muscle Ca<sup>2+</sup>-ATPase". *IUBMB Life* 57 2005; 337-345.
- 104) (Rodriguez P, Kranias EG. Phospholamban: a key determinant of cardiac function and dysfunction. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2005 Dec; 98(12): 1239-1243.)
- 105) (Foskett JK, White C, Cheung KH, Mak DO. Inositol trisphosphate receptor Ca<sup>2+</sup> release channels. *Physiol Rev*. 2007 Apr;87(2):593-658.)
- 106) Noorman M, van der Heyden MA, van Veen TA, Cox MG, Hauer RN, de Bakker JM, van Rijen HV. Cardiac cell-cell junctions in health and disease: Electrical versus mechanical coupling. *J Mol Cell Cardiol*. 2009 Jul; 47(1):23-31.
- 107) Oxford EM, Everitt M, Coombs W, Fox PR, Kraus M, Gelzer AR, Saffitz J, Taffet SM, Moïse NS, Delmar M. Molecular composition of the intercalated disc in a spontaneous canine animal model of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Heart Rhythm*. 2007 Sep;4(9):1196-1205.
- 108) van Veen TA, van Rijen HV, Jongsma HJ. Physiology of cardiovascular gap junctions. *Adv Cardiol*. 2006; 42: 18-40.

- 109) Teunissen BE, Jansen AT, Mutsaers NA, Vuerhard MJ, Vos MA, Bierhuizen MF. Primary structure, organization, and expression of the rat connexin45 gene. *DNA Cell Biol.* 2007 Feb;26:108-115.
- 110) Chaldoupi SM, Loh P, Hauer RN, de Bakker JM, van Rijen HV. The role of connexin40 in atrial fibrillation. *The role of connexin40 in atrial fibrillation. Cardiovasc Res.* 2009 Jul 7. [Epub ahead of print]
- 111) Xia Y, Gong KZ, Xu M, Zhang YY, Guo JH, Song Y, Zhang P. Regulation of gap-junction protein connexin 43 by beta-adrenergic receptor stimulation in rat cardiomyocytes. *Acta Pharmacol Sin.* 2009 Jul;30:928-934.
- 112) ( Wang J, Xu H, Sun X, Niu W. Pharmacological and biophysical properties of swelling-activated chloride channel in mouse cardiac myocytes. *Chin J Physiol.* 2006 Jun 30;49(3):126-31.)
- 113) Shryock JC, and L Belardinelli L. Inhibition of late sodium current to reduce electrical and mechanical dysfunction of ischaemic myocardium *Br J Pharmacol.* 2008 March; 153: 1128–1132.
- 114) Lehtonen LA. Levosimendan: a parenteral calcium-sensitising drug with additional vasodilatory properties. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001 May; 10: 955-970.
- 115) Tanaka H, Namekata I, Nouchi H, Shigenobu K, Kawanishi T, Takahara A. New aspects for the treatment of cardiac diseases based on the diversity of functional controls on cardiac muscles: diversity in the excitation-contraction mechanisms of the heart. *J Pharmacol Sci.* 2009 Mar; 109: 327-333.
- 116) Falck G, Schjøtt J, Bruvold M, Krane J, Skarra S, Jynge P. Hyperosmotic perfusion of the beating rat heart and the role of the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup> co-transporter and the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger. *Basic Res Cardiol.* 2000 Feb; 95: 19-27.