

Diferencias relacionadas al sexo y la edad bajo los efectos de mutaciones y el fármaco Dofetilide

RODOLFO SERAFÍN GONZÁLEZ GARZA

EDITORIAL
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Departamento de Ingeniería Electrónica

**Instituto Interuniversitario de Investigación en
Bioingeniería y Tecnología Orientada al Ser Humano**



**DIFERENCIAS RELACIONADAS AL SEXO
Y LA EDAD BAJO LOS EFECTOS DE
MUTACIONES Y EL FÁRMACO
DOFETILIDE**

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR:

Rodolfo Serafín González Garza

DIRIGIDA POR:

Dr. Francisco Javier Sáiz Rodríguez

Valencia, JULIO 2011



Esta editorial es miembro de la UNE, lo que garantiza la difusión y comercialización de sus publicaciones a nivel nacional e internacional.

© Rodolfo Serafín González Garza

Primera edición, 2012

© de la presente edición:
Editorial Universitat Politècnica de València
www.editorial.upv.es

ISBN: 978-84-8363-988-7 (versión impresa)

Ref. editorial: 5594 (versión impresa)

5595 (versión electrónica)

Queda prohibida la reproducción, distribución, comercialización, transformación, y en general, cualquier otra forma de explotación, por cualquier procedimiento, de todo o parte de los contenidos de esta obra sin autorización expresa y por escrito de sus autores.

“Observa con la curiosidad de un niño, reflexiona con la paciencia de un
viejo”

Libro del Heteronymous

Lecciones de la vida

Apartado 3:101

“(…) parecía que habíamos llegado al final del camino y resulta que era
sólo una curva abierta a otro paisaje y a nuevas curiosidades”

José Saramago

El año de la muerte de Ricardo Reis

Agradecimientos

Lo mejor que me ha pasado en esta vida, es vivirla con Filo; sus ojos son mi ventana al mundo.

Más que un hijo, Joao ha sido un compañero de vida.

Dicen que me parezco a mi padre, pero de mi madre Alicia aprendí a valorar el esfuerzo diario, el trabajo cotidiano, el que sin aspavientos te va forjando.

A la memoria de mi padre Juan por sus lecciones de vida.

A mis hermanas, Alicia, Aurora y Elizabeth, quiénes siempre me han demostrado su amor y su apoyo incondicional en todo momento. A mis hermanos, Juan y Angel por su presencia y respaldo siempre. En suma, gracias a la familia González Garza, sobrinos, tíos, primos y sobrinos nietos por ser al fin y al cabo una familia.

A Javier Saiz por su amistad y consejos en este tiempo.

A todos los compañeros y compañeras de Gbio y Ginmuno de la UPV: Chema, Julio, Lucia, Bea I, Javi, Gema, Karen, Cata, Berna, Lydia, Bea II, Rafa, Juan Francisco, Pepe, Yiyao, Xavi, Francesc, Jaime, Enrique, Carlos, Angel, Juanjo y Carmen por su amistad y buenos momentos en esta aventura doctoral.

A los amigos del Tec, Juan y Vicky, Orlando y Sol, Juan Manuel, Ignacio, Lizbeth, Miguelangel, Adriana, Edgar, Rene y compañeros del Departamento de Ingeniería Electrónica que hicieron posible esta tesis.

Al Instituto Tecnológico de Morelia, a la DGEST y Promep por el apoyo económico para realizar esta investigación.

RESUMEN

Hay una concienciación cada vez mayor de la importancia de diferencias entre los hombres y las mujeres, en edad adulta y preadolescencia, en la fisiología y la fisiopatología del sistema cardiovascular. Una de las diferencias más importantes entre los hombres y las mujeres con respecto a sexo y a arritmias es el mayor riesgo en mujeres de una taquicardia ventricular polimórfica, conocida como Torsade de Pointes (TdP), inducida por los fármacos que prolongan la repolarización. Además, el género femenino es un factor de riesgo independiente para el síncope y la muerte súbita en el síndrome de QT largo congénito (SQTL), mientras los preadolescentes varones presentan un mayor número de eventos cardíacos cuya letalidad es más alta que en preadolescentes del sexo femenino.

En este trabajo se han formulado nuevos modelos computacionales que permiten simular las diferencias relacionadas al sexo y la edad en mamíferos. Los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra incluyen las características electrofisiológicas de tejidos epicárdico, midmiocárdico y endocárdico haciendo posible la simulación de la heterogeneidad transmural del ventrículo. Se modelizaron los efectos del fármaco antiarrítmico dofetilide con la formulación de Markov y se simuló la acción de este fármaco en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra, tanto en células de cardiomiocitos como células del canal hERG, incluidas tipo silvestre y de mutaciones en condiciones normales como en condiciones patológicas.

En esta investigación se observó como el dofetilide redujo la componente rápida de la corriente de rectificación tardía produciendo una mayor prolongación en la duración del potencial de acción (APD), incrementando la incidencia de postdepolarizaciones tempranas (EADs) y aumentando la dispersión transmural de repolarización (DOR) en todos los modelos. En base a los resultados en las diferencias relacionadas al sexo y la edad con respecto a las mutaciones en el canal hERG (SQTL congénito) y el producido por la prolongación de la APD, EADs y DOR debido a la aplicación del dofetilide (SQTL adquirido o inducido por fármacos) se puede indicar que la prevalencia de las hembras adultas a desarrollar el síndrome de QT largo, tanto congénito como inducido por fármacos, es muy notoria con respecto a los machos adultos. Con respecto a los resultados en preadolescentes, éstos muestran efectos muy similares en la prolongación de la APD, EADs y DOR entre machos y hembras, aunque con una cierta prevalencia en los preadolescentes machos principalmente en algunos de los efectos electrofisiológicos reportados en mutaciones y con la aplicación de algunas concentraciones del fármaco dofetilide, haciendo reversible la diferencia relacionada al sexo con respecto a los adultos.

Palabras clave: modelos matemáticos, simulación computacional, fármacos antiarrítmicos, dofetilide, síndrome de QT largo, sexo, edad, duración del potencial de acción, postdepolarizaciones tempranas, dispersión transmural de repolarización.

ABSTRACT

There is an ever-increasing awareness of the importance of differences between men and women, in adulthood and preadolescence, in the physiology and pathophysiology of the cardiovascular system. One of the most important differences between men and women regarding sex and arrhythmia is the greater risk in women of a polymorphic ventricular tachycardia known as Torsade de Pointes (TdP), induced by drugs that prolong repolarization. Additionally, female gender is an independent risk ventricular factor for syncope and sudden death in the congenital long QT syndrome (LQTS), whilst prepubertal males have higher risk of lethal cardiac events than prepubertal females.

In this work, have been formulated new computational models that allow to simulate sex- and age-related differences in mammals: adult male, adult female, prepubertal male and prepubertal female models comprising electrophysiological characteristics of epicardial, midmyocardial and endocardial cells making possible the simulation of transmural ventricular heterogeneity. A model of dofetilide, an antiarrhythmic drug, was developed with markovian formulation and incorporated into aforementioned ventricular cell models, which include cardiomyocytes as hERG channel cells, wild type and mutations, in normal and pathological conditions.

The results shown how dofetilide reduced the rapid component of delayed rectifier current which contributed to longer prolongation of action potential duration (APD), higher incidence of early postdepolarizations (EAD) and increasing the transmural dispersion of repolarization (DOR) in all models. Based results on sex- and age-related differences regarding hERG mutations (congenital LQTS) and dofetilide application (acquired LQTS or induced by drugs) pointed out that adult females have higher prevalence than adult males in both LQTS. Prepubertal results shown that males and females had similar effects on APD prolongation, EADs and DOR, however, prepubertal males had certain prevalence than females, on electrophysiological effects in some mutations and several concentrations of dofetilide making reversible the sex related differences compared with adults.

Keywords: mathematical models, computational simulations, antiarrhythmic drugs, dofetilide, long QT syndrome, sex, age, action potential duration, early postdepolarizations, transmural dispersion of repolarization.

RESUM

Hi ha una conscienciació cada vegada més gran de la importància de diferències entre els homes i les dones, en edat adulta i preadolescència, en la fisiologia i la fisiopatologia del sistema cardiovascular. Una de les diferències més importants entre els homes i les dones pel que fa a sexe i arítmies és el major risc en dones d'una taquicàrdia ventricular polimòrfica, coneguda com Torsade de pointes (TDP), induïda pels fàrmacs que prolonguen la repolarització. A més, el gènere femení és un factor de risc independent per la síncope i la mort sobtada en la síndrome de QT llarg congènit (SQTL), mentre els preadolescents homes presenten un major nombre d'esdeveniments cardíacs la letalitat és més alta que a preadolescents del sexe femení.

En aquest treball s'han formulat nous models computacionals que permeten simular les diferències relacionades al sexe i l'edat en mamífers. Els models d'adult mascle, adult femella, preadolescent mascle i preadolescent femella inclouen les característiques electrofisiològiques de teixits epicàrdique, midmiocàrdique i endocàrdique fent possible la simulació de l'heterogeneïtat transmural del ventricle. Es modelitzaren els efectes del fàrmac antiarrítmic dofetilide amb la formulació de Markov i es va simular l'acció d'aquest fàrmac en els models d'adult mascle, adult femella, preadolescent mascle i preadolescent femella, tant en cèl·lules de cardiomiòcits com cèl·lules del canal hERG, incloses tipus silvestre i de mutacions en condicions normals com en condicions patològiques.

En aquesta investigació es va observar com el dofetilide va reduir la component ràpida del corrent de rectificació tardana produint una major prolongació en la durada del potencial d'acció (APD), incrementant la incidència de postdepolaritzacions primerenques (EADS) i augmentant la dispersió transmural de repolarització (DOR) en tots els models. En base als resultats en les diferències relacionades al sexe i l'edat que fa a les mutacions al canal hERG (SQTL congènit) i el produït per la prolongació de l'APD, EADS i DOR causa de l'aplicació del dofetilide (SQTL adquirit o induït per fàrmacs) es pot indicar que la prevalença de les femelles adultes a desenvolupar la síndrome de QT llarg, tant congènit com induït per fàrmacs, és molt notòria pel que fa als mascles adults. Pel que fa als resultats en preadolescents, aquests mostren efectes molt similars en la prolongació de l'APD, EADS i DOR entre mascles i femelles, encara que amb una certa prevalença en els preadolescents mascles principalment en alguns dels efectes electrofisiològics reportats en mutacions i amb l'aplicació d'algunes concentracions del fàrmac dofetilide, fent reversible la diferència relacionada al sexe pel que fa als adults.

Paraules clau: models matemàtics, simulació computacional, fàrmacs antiarrítmics, dofetilide, síndrome de QT llarg, sexe, edat, durada del potencial d'acció, postdepolaritzacions primerenques, dispersió transmural de repolarització.

Listado de abreviaturas y símbolos

Abreviaturas utilizadas en el texto:

t Constante de tiempo

λ Longitud de onda de excitación

[D] Concentración de fármaco

ADP Adenosín Difosfato

APD *Action potential duration* - Duración del potencial de acción

ATP Adenosín Trifosfato

AV Auriculoventricular

BCL *Basic cycle length* – Ciclo básico de estimulación

Ca^{2+} Ión calcio

CI *Coupling Interval* – Intervalo de acoplamiento

CV *Conduction velocity*- Velocidad de Conducción

DAD *Delayed afterdepolarizations* – Postdespolarizaciones tardías

DI *Diastolic interval* – Intervalo diastólico

DOR *Dispersion of repolarization* – Dispersión de repolarización

EAD *Early afterdepolarizations* – Postdespolarizaciones tempranas

ECG Electrocardiograma

ERC *Electric restitution curve* - Curva de restitución eléctrica

ERP *Effective refractory period* - Período refractario efectivo

FA Fármacos antiarrítmicos

GRT *Guarded Receptor Theory*

H^+ Ión hidrógeno

K^+ Ión potasio

LI Límite inferior

LS Límite superior

MRT *Modulated Receptor Theory*

Na^+ Ión sodio

NP No propagación

PA Potencial de acción

PRA Período refractario absoluto

PRR Período refractario relativo

SA Sinoauricular
SQTl Síndrome de QT largo
TdP Torsade de Pointes
TDR *Transmural dispersion of repolarization* – Dispersión transmural de repolarización
VF Fibrilación ventricular
VT Taquicardia ventricular

Símbolos utilizados en las ecuaciones y en el texto:

[S]_i Concentración intracelular del ión S
[S]_o Concentración extracelular del ión S
C_m Capacidad de membrana
C1 Estado cerrado 1
C2 Estado cerrado 2
C3 Estado cerrado 3
C1D Estado cerrado 1 bloqueado
C2D Estado cerrado 2 bloqueado
C3D Estado cerrado 3 bloqueado
E_S Potencial de equilibrio del ión S
F Constante de Faraday
f_{ATP} Fracción de canales K-ATP activados
g_s Conductancia por unidad de superficie del canal iónico s
G_S Conductancia máxima del ión s
h Constante de Planck
I Estado inactivado
ID Estado inactivado bloqueado
I_c Intensidad que atraviesa la capacidad de membrana
I_{Ca} Componente de la corriente de calcio a través de los canales tipo L
I_{Ca(L)} Corriente de calcio a través de los canales tipo L
I_{Ca(T)} Corriente de Calcio a través de los canales tipo T
I_{Ca,b} Corriente de fondo de calcio
I_{Ca,K} Componente de la corriente de calcio a través de los canales tipo L por iones de potasio

$I_{Ca,Na}$ Componente de la corriente de calcio a través de los canales tipo L por iones de sodio
 I_{est} Corriente de estimulación externa
 I_{ion} Corrientes iónicas
 I_K Corriente diferida de potasio
 $I_{K(ATP)}$ Corriente de potasio dependiente de ATP
 $I_{K(Na)}$ Corriente de potasio dependiente de sodio
 I_{K1} Corriente rectificadora inversa de potasio
 I_{Kp} Corriente de meseta de potasio
 I_{Kr} Componente rápida de la corriente rectificadora tardía de potasio
 I_{Ks} Componente lenta de la corriente rectificadora tardía de potasio
 I_{Na} Corriente rápida de sodio
 I_{NaL} Corriente persistente de sodio
 $I_{Na,b}$ Corriente de fondo de sodio
 $I_{Na,Ca}$ Corriente asociada al intercambiador iónico sodio-calcio
 I_{NaK} Corriente asociada a la bomba sodio-potasio
 I_{ns} Corriente no específica
 $I_{ns(Ca)}$ Corriente no específica activada por calcio
 I_{out} Corriente saliente de la célula
 $I_{p(Ca)}$ Corriente asociada a la bomba de calcio
 I_{rel} Corriente de liberación de calcio del JSR
 I_{to} Corriente transitoria de salida
 I_{up} Corriente de calcio de entrada al retículo sarcoplásmico
 k_B Constante de Boltzmann
 O Estado abierto
 OD Estado abierto bloqueado
 $P(C1)$ Probabilidad total del estado cerrado 1
 $P(C2)$ Probabilidad total del estado cerrado 2
 $P(C3)$ Probabilidad total del estado cerrado 3
 $P(C1D)$ Probabilidad total del estado cerrado 1 bloqueado
 $P(C2D)$ Probabilidad total del estado cerrado 2 bloqueado
 $P(C3D)$ Probabilidad total del estado cerrado 3 bloqueado
 $P(I)$ Probabilidad total del estado inactivado
 $P(ID)$ Probabilidad total del estado inactivado bloqueado

$P(O)$ Probabilidad total del estado abierto
 $P(OD)$ Probabilidad total del estado abierto bloqueado
 R Constante de los Gases
 S Superficie de membrana
 t Tiempo
 T Temperatura
 V_m Potencial de membrana
 Z_s Valencia del ión s
 ΔS_s Cambio en entropía
 ΔH_s Cambio en entalpía

Listado de Figuras

Figura 1.1. Localización del corazón.....	3
Figura 1.2. Partes del corazón.....	4
Figura 1.3. Válvulas del corazón.....	6
Figura 1.4. Sístole cardiaco.....	6
Figura 1.5. Diástole cardiaca.....	7
Figura 1.6. Sistema de conducción del corazón.....	8
Figura 1.7. Potenciales generados en el ciclo cardiaco.....	9
Figura 1.8. Señal de ECG normal.....	10
Figura 1.9. Potencial de acción ventricular y sus corrientes iónicas involucradas....	11
Figura 1.10. Registros de ECG en pacientes de SQT1 tipo 2.....	18
Figura 1.11. Relación fenotipo – genotipo y patrones de ECG de los SQT1, SQT2 y SQT3.....	22
Figura 1.12. Probabilidad de primer evento cardiaco por edad y género.....	26
Figura 1.13. Probabilidad de evento cardiaco grave (parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita) por edad y género	27
Figura 1.14. Localización diagramática de 162 mutaciones en el canal hERG	29
Figura 1.15. Probabilidad acumulada del primer evento cardiaco para mutaciones de sustitución en diferentes localizaciones.....	30
Figura 1.16. Topología del canal de potasio hERG.....	32
Figura 1.17. La conformación del canal hERG es dependiente del voltaje.....	33
Figura 1.18. Canal hERG y algunas mutaciones asociadas a LQTS.....	34
Figura 1.19. El poro del canal hERG y la localización de los residuos asociados a metanesulfonamidas.....	36
Figura 1.20. Diagrama de estados de la formulación de Kiehn para el canal hERG.....	42
Figura 1.21. Diagrama de estados de la formulación de Wang para el canal hERG.....	44
Figura 1.22. Fórmula estructural del dofetilide.....	50
Figura 1.23. Modelo de acción de las compuertas cuando un fármaco bloquea un canal iónico.....	53
Figura 3.1 Diagrama esquemático del modelo Faber-Rudy 2000.....	63
Figura 3.2 Esquema eléctrico general de la membrana celular.....	64
Figura 3.3 Fibra unidimensional con 400 células.....	71
Figura 3.4 Modelo eléctrico 1D de un tejido cardiaco.....	72
Figura 3.5 Propagación unidimensional del PA. Circuito equivalente.....	74
Figura 3.6 Fibra unidimensional y electrodo virtual para el pseudo-ECG.....	79
Figura 3.7 Modelo del bloqueo de I_{Kr} por dofetilide.....	80
Figura 3.8 Modelo del canal hERG propuesto por Clancy CE y Rudy Y.....	82
Figura 3.9 Diagrama de estados del modelo de la interacción de la corriente I_{hERG} con el fármaco dofetilide.....	83

Figura 4.1 Diagrama esquemático del modelo de la interacción dofetilide- I_{Kr} con la formulación de Hodgkin Huxley.....	89
Figura 4.2 Bloqueo de la corriente I_{Kr} con diferentes concentraciones de dofetilide.....	90
Figura 4.3 Potenciales de acción de adulto macho y adulto hembra a una frecuencia de estimulación de 1Hz.....	91
Figura 4.4 Potenciales de acción de preadolescente macho y preadolescente hembra a una frecuencia de estimulación de 1Hz.....	91
Figura 4.5 La APD_{90} en células endocárdicas de los modelos de adulto macho y adulto hembra a diferentes BCLs.....	92
Figura 4.6 La APD_{90} en células endocárdicas de los modelos de preadolescente macho y preadolescente hembra a diferentes BCLs.....	93
Figura 4.7 La APD_{90} en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los modelos de adulto macho y adulto hembra a diferentes BCLs.....	93
Figura 4.8 La APD_{90} en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los modelos de preadolescente macho y preadolescente hembra a diferentes BCLs.....	94
Figura 4.9 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	96
Figura 4.10 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	97
Figura 4.11 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1Hz.....	98
Figura 4.12 Incremento en APD_{90} inducido por las diferentes concentraciones de dofetilide a diversas BCLs en los cuatro modelos para células endocárdicas.....	99
Figura 4.13 Relación entre el aumento de la APD_{90} y los diferentes tipos de cardiomiocitos bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.....	100
Figura 4.14 Potenciales de acción de célula endocárdica con una BCL de estimulación de 1000 ms para los 4 modelos con una reserva de repolarización reducida (0.75 I_{ks}) en condiciones de control y aplicando concentraciones de dofetilide de 30 y 100 nM.....	103
Figura 4.15 Relación de APD_{90} vs BCL para los cuatro modelos con una reserva de repolarización reducida (75% de I_{ks}) en condiciones de control y aplicando 30 y 100 nM de dofetilide.....	105
Figura 4.16 Potenciales de acción endocárdicos de los 4 modelos con una disminución del 50% de la I_{ks} , como reserva de repolarización reducida, en condiciones de control y 30 y 100 nM de dofetilide.....	106
Figura 4.17 Esquema de la fibra heterogénea unidimensional conformada de 400 células ventriculares transversalmente acopladas.....	107

Figura 4.18 APD ₉₀ de la fibra heterogénea unidimensional de cada uno de los 4 modelos (adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra) en cada uno de los tejidos en condiciones de control y con un BCL de 1000 ms.....	108
Figura 4.19 Potenciales de acción de las regiones endocárdicas, midmiocárdicas y epicárdicas de cada fibra unidimensional de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con una BCL de 1000 ms.....	109
Figura 4.20 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con una BCL de 1000 ms.....	111
Figura 4.21 APD ₉₀ de las regiones epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los 4 modelos con un BCL de 1000 ms y una concentración de 10 nM de dofetilide....	112
Figura 4.22 Potenciales de acción de las regiones endocárdicas, midmiocárdicas y epicárdicas de los 4 modelos con la aplicación de 10 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms.....	113
Figura 4.23 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 10 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms.....	114
Figura 4.24 APD ₉₀ de las regiones epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los 4 modelos con un BCL de 1000 ms y una concentración 30 nM de dofetilide.....	115
Figura 4.25 Potenciales de acción de las regiones endocárdicas, midmiocárdicas y epicárdicas de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la aplicación de 30 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms.....	116
Figura 4.26 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 30 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms.....	117
Figura 4.27 APD ₉₀ de los 4 modelos con una concentración de 100 nM de dofetilide y un BCL de 1000 ms.....	118
Figura 4.28 Potenciales de acción de las regiones endocárdicas, midmiocárdicas y epicárdicas de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la aplicación de 100 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 m.....	119
Figura 4.29 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 100 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms.....	120
Figura 4.30 Diagrama de estados del modelo de la interacción de la corriente I _{kr} /hERG con el fármaco dofetilide.....	122
Figura 4.31 Curva en respuesta al protocolo de voltaje de activación.....	123
Figura 4.32 Curva en respuesta al protocolo de voltaje de inactivación.....	124

Figura 4.33 Potencial de acción epicárdico WT, corriente I _{kr} /hERG y probabilidades de estado del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 m.....	125
Figura 4.34 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico WT en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	126
Figura 4.35 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico WT en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	127
Figura 4.36 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico WT en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	128
Figura 4.37 Relación entre el aumento de la APD ₉₀ y los diferentes tipos de células WT bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.....	129
Figura 4.38 Datos experimentales de células WT y de la mutación R56.....	131
Figura 4.39 Potenciales de acción epicárdico de célula WT (línea gruesa) y de la mutación R56Q (línea delgada), corrientes I _{kr} /hERG y probabilidades de estado del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms en estado estacionario.....	132
Figura 4.40 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de la mutación R56Q en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	133
Figura 4.41 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico de la mutación R56Q en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	134
Figura 4.42 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico de la mutación R56Q en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	135
Figura 4.43 Relación entre el aumento de la APD ₉₀ y los diferentes tipos de células de la mutación R56Q bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.....	136
Figura 4.44 Registros de fijación de voltaje por parche (patch clamp) de célula transfectadas de la mutación A561V y WT.....	138
Figura 4.45 Potenciales de acción epicárdico de célula WT (línea gruesa) y de la mutación A561V (línea delgada), corrientes I _{kr} /hERG y probabilidades de estado del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms en estado estacionario.....	139
Figura 4.46 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de la mutación A561V en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	140
Figura 4.47 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico de la mutación A561V en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	141
Figura 4.48 Los potenciales de acción del modelo celular epicárdico de la mutación A561V en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	142

Figura 4.49 Relación entre el aumento de la APD ₉₀ y los diferentes tipos de células de la mutación A561V bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.....	143
Figura 4.50 La dependencia de voltaje de las curvas de activación (4.35-1) y de inactivación (4.35-2) de células WT y de la mutación G604S.....	146
Figura 4.51 Potenciales de acción simulados de una célula epicárdica WT (línea gruesa) y de la mutación G604S (línea delgada) del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms, así como las corrientes I _{kr} /hERG correspondientes y las probabilidades de estados de canal I, O, C1, C2, y C3.....	147
Figura 4.52 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de la mutación G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	148
Figura 4.53 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico de la mutación G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	149
Figura 4.54 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico de la mutación G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	150
Figura 4.55 Relación entre el aumento de la APD ₉₀ y los diferentes tipos de células de la mutación G604S bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.....	152
Figura 4.56 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de las células WT y las mutaciones R56Q, A561V y G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.....	153

Listado de Tablas

Tabla 1.1	Genes involucrados en el síndrome de QT largo.....	21
Tabla 1.2	Modelos existentes para ventrículo en diferentes especies.....	39
Tabla 1.3	Modelos del canal hERG con la formulación de Kiehn.....	42
Tabla 1.4	Valores de los coeficientes de las relación de transición de los diferentes modelos con la formulación de Kiehn.....	43
Tabla 1.5	Modelos del canal hERG con la formulación de Wang.....	44
Tabla 1.6	Valores de los coeficientes de las relación de transición de los diferentes modelos con la formulación de Wang.....	45
Tabla 1.7	Clasificación y efectos de los fármacos antiarrítmicos.....	48
Tabla 3.1	Modificaciones de parámetros de I_{CaL}	68
Tabla 3.2	Parámetros modificados de densidades de corrientes iónicas.....	70
Tabla 3.3	Constantes de relación de asociación y disociación.....	81
Tabla 3.4	Modificaciones en mutaciones con respecto a células WT.....	86
Tabla 4.1	Las APD_{90} de las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los adultos macho y hembra a diferentes BCLs.....	94
Tabla 4.2	Las APD_{90} de las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los preadolescentes macho y hembra a diferentes BCLs.....	95

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I.- Introducción	1
1.1 Fisiología y anatomía del corazón.....	3
1.1.1 El corazón.....	3
1.2 Señales eléctricas cardíacas.....	7
1.2.1 El sistema de conducción.....	7
1.2.2 Secuencia de eventos eléctricos durante el ciclo cardíaco.....	8
1.2.3 Señal del electrocardiograma.....	9
1.3 Potencial de acción cardíaco.....	10
1.4 Diferencias de edad y sexo en la electrocardiografía y electrofisiología.....	14
1.4.1 Variaciones en la frecuencia cardíaca.....	14
1.4.2 Variabilidad de la frecuencia cardíaca.....	14
1.4.3 Intervalo QT.....	15
1.4.4 Voltaje y duración del complejo QRS.....	15
1.4.5 Diferencias de sexo y edad en la repolarización y su significación clínica.....	16
1.5 Síndrome de QT largo (SQTL).....	17
1.5.1 Bases moleculares del SQTL congénito.....	18
1.5.2 Bases clínicas del SQTL.....	19
1.5.3 Clasificación del SQTL.....	20
1.5.4 Edad y género relacionados al SQTL.....	25
1.5.5 Localización y tipo de mutaciones en el SQTL tipo 2 (hERG).....	27
1.5.6 Bases moleculares del SQTL adquirido.....	30
1.6 Canal hERG.....	31
1.6.1 Relación estructura-función del canal hERG.....	31
1.6.2 Compuerta de activación y desactivación.....	32
1.6.3 Inactivación y recuperación de la inactivación.....	33
1.6.4 Papel de las subunidades β en la función del canal hERG.....	34
1.6.5 Asociación de fármacos con el canal hERG.....	35
1.7 Simulación con modelos matemáticos.....	36
1.7.1 Modelos de Markov para actividad electrofisiológica celular.....	40
1.7.2 Modelos de Markov para canal hERG.....	41
1.8 Clasificación de los fármacos antiarrítmicos.....	45

1.9 Efecto proarritmogénico de los fármacos antiarrítmicos.....	47
1.9.1 Mecanismos proarritmogénicos de los fármacos antiarrítmicos.....	47
1.10 El fármaco dofetilide.....	49
1.10.1 Mecanismo de acción.....	49
1.10.2 Efectos electrofisiológicos del dofetilide en el ventrículo.....	50
1.11 Modelización de fármacos.....	51
1.11.1 Teoría del receptor protegido Guarded Receptor Theory.....	53
Capítulo II.- Justificación y objetivos.....	57
Capítulo III.- Métodos.....	61
3.1 Modelo del potencial de acción unicelular.....	63
3.1.1 Modelo de Faber-Rudy.....	63
3.1.2 Modelos de potencial de acción con diferencias de edad y sexo.....	67
3.2 Modelo matemático de propagación 1D.....	71
3.2.1 Ecuación de propagación.....	71
3.2.2 Solución aproximada. Método de diferencias finitas.....	73
3.2.3 Descomposición LU.....	75
3.2.4 Modelo unidimensional.....	78
3.2.5 Pseudo-ECG.....	78
3.3 Modelización de los efectos del dofetilide.....	79
3.3.1 Modelización de la interacción de I_{Kr} -dofetilide.....	79
3.3.2 Estimación de parámetros.....	81
3.3.3 Modelización de la interacción de I_{hERG} -dofetilide.....	82
3.4 Modelización de mutaciones.....	85
Capítulo IV.- Resultados.....	87
4.1 Modelo de dofetilide - I_{Kr}	89
4.2 Diferencias de sexo y edad sobre la actividad eléctrica celular.....	90
4.2.1 Efectos sobre la duración del potencial de acción (APD).....	90
4.2.2 Efectos sobre la curva de restitución.....	92
4.3 Diferencias del sexo y la edad sobre la respuesta celular al fármaco dofetilide.....	95
4.3.1 La respuesta celular al fármaco dofetilide en condiciones normales.....	95
4.3.2 La respuesta celular al fármaco dofetilide en condiciones de reserva de repolarización reducida.....	101

4.4	Influencias del sexo y la edad sobre la dispersión transmural de APD e intervalo QT.....	107
4.4.1	La dispersión transmural de APD e intervalo QT en condiciones normales.....	107
4.4.2	La dispersión transmural de APD e intervalo QT en respuesta al fármaco dofetilide.....	111
4.5	Diferencias del sexo y la edad sobre los efectos de mutaciones.....	121
4.5.1	Efectos sobre células tipo silvestre (WT).....	121
4.5.2	Efectos sobre células de la mutación R56Q.....	130
4.5.3	Efectos sobre células de la mutación A561V.....	137
4.5.4	Efectos sobre células de la mutación G604S.....	144
Capítulo V.- Discusión		155
5.1	Modelos computacionales para evaluar las diferencias en sexo y edad.....	157
5.1.1	Diferencias relacionadas al sexo y edad en especies animales y humanos.....	159
5.2	Modelos computacionales de la interacción dofetilide- I_{Kr}/I_{hERG}	166
5.3	Acción del fármaco dofetilide en los modelos computacionales de adultos y preadolescente.....	167
5.3.1	Acción de fármacos en especies animales.....	170
5.3.2	Acción de fármacos en humanos.....	173
5.4	Diferencias relacionadas al sexo y la edad sobre mutaciones.....	175
5.4.1	Efectos en células tipo silvestre (WT).....	175
5.4.2	Efectos sobre células de la mutación R56Q.....	176
5.4.3	Efectos sobre células de la mutación A561V.....	178
5.4.4	Efectos sobre células de la mutación G604S.....	181
5.4.5	Efectos del bloqueo de I_{Kr}/I_{hERG} por mutaciones y fármacos.....	183
5.5	Limitaciones del estudio.....	187
Capítulo VI.- Conclusiones		189
Anexo I		195
Anexo II		213
Bibliografía		227
Publicaciones		251

CAPÍTULO

I

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I.- INTRODUCCIÓN

1.1 Fisiología y anatomía del corazón

1.1.1 El corazón

El corazón está situado en la parte central del tórax (mediastino), entre los dos pulmones, apoyándose sobre el músculo diafragma y precisamente sobre la parte central fibrosa de este músculo; está en una situación no totalmente medial, ya que en su parte inferior está ligeramente inclinado hacia el lado izquierdo (cerca de un cuarto a la derecha y tres cuartos a la izquierda de la línea medial). En la figura 1.1 se muestra su ubicación.

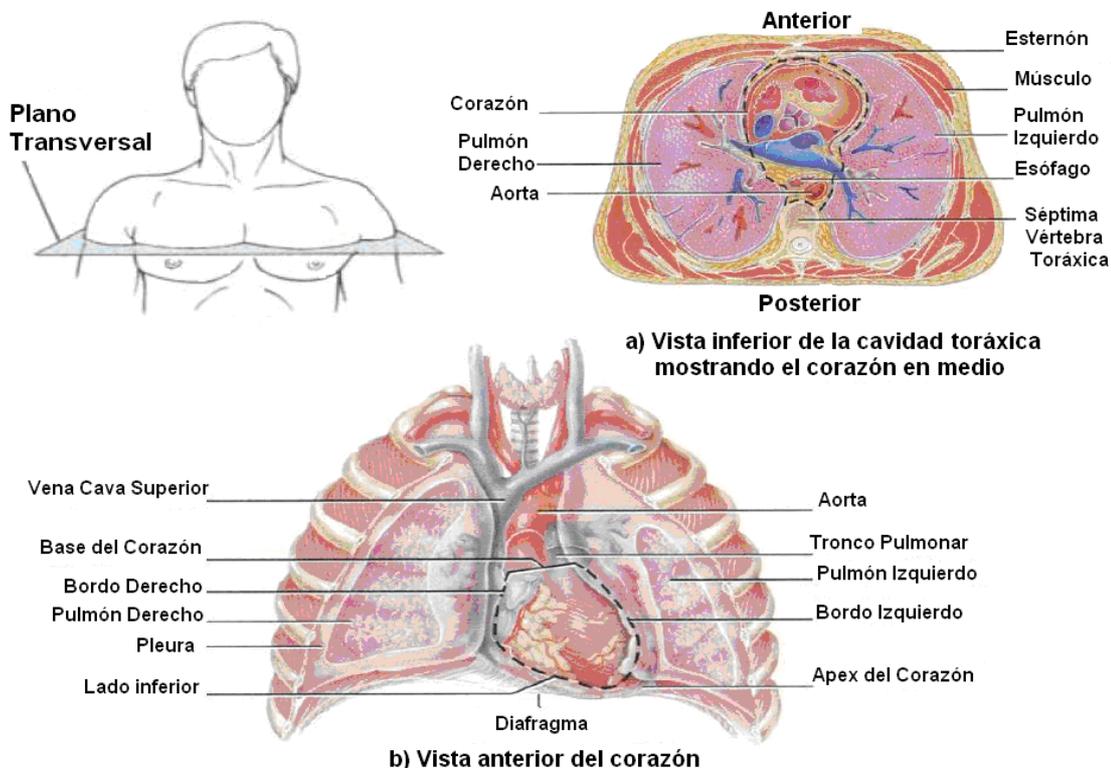


Figura 1.1. Localización del corazón.

Está compuesto esencialmente por tejido muscular (miocardio) y, en menor proporción, por tejido conectivo y fibroso (tejido de sostén, válvulas), y subdividido en cuatro cavidades, dos derechas y dos izquierdas, separadas por un tabique medial; las dos cavidades superiores son llamadas aurículas; las dos cavidades inferiores se denominan ventrículos. Cada aurícula comunica con el ventrículo que se encuentra por debajo mediante un orificio (orificio auriculoventricular), que puede estar cerrado por una válvula: las cavidades izquierdas no comunican con las derechas en el corazón. En la figura 1.2 se muestran las principales partes del corazón.

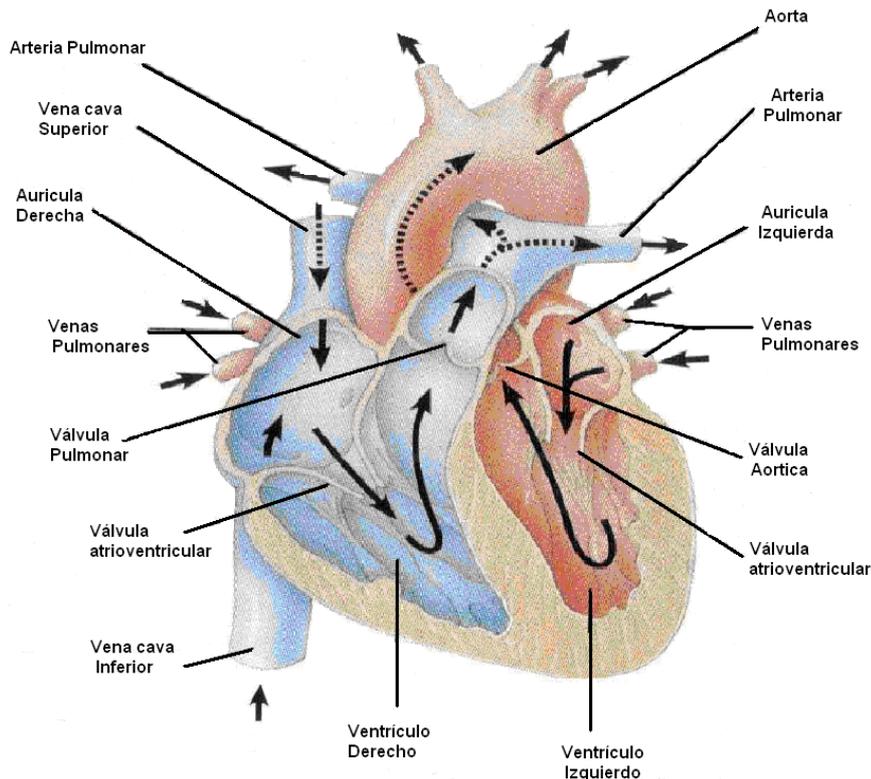


Figura 1.2. Partes del corazón.

Su base continúa con los vasos sanguíneos arteriales y venosos (arteria aorta y pulmonar, venas pulmonares y cava), que contribuyen a mantenerlo y lo contiene, compuesta por dos hojas, una de ellas íntimamente adherida al órgano (epicardio) y otra que, continuándose con la primera, se refleja en la base en torno al corazón para rodearlo completamente (pericardio propiamente dicho); entre las dos hojas, que no están adheridas entre sí, existe una cavidad virtual que permite los libres movimientos de la contracción cardiaca. Al exterior del pericardio existe tejido conectivo, muy laxo y débil, de la parte inferior del mediastino, que facilita todos los movimientos e incluso la colocación del corazón. El corazón está preferentemente formado por la aurícula y por el ventrículo derecho; la aurícula izquierda es totalmente posterior, y del ventrículo se ve sólo una pequeña parte que forma el margen izquierdo del corazón. En la unión de los dos ventrículos se forma un surco (interventricular), en el cual se encuentra la rama descendente de la arteria coronaria anterior. La punta del corazón está formada sólo por el ventrículo izquierdo. El margen derecho está formado por la pared superior de la aurícula derecha, que se continúa hacia arriba con la vena cava superior; el ventrículo derecho, que forma el borde inferior, se continúa hacia arriba con la arteria pulmonar, que sobrepasa el ventrículo izquierdo, dirigiéndose hacia el margen izquierdo del corazón. Entre la vena cava superior y la arteria pulmonar se encuentra la parte inicial de la arteria aorta, que tiene su origen en la parte superior del ventrículo izquierdo y dirigiéndose también hacia la izquierda se cabalga sobre la arteria pulmonar y el bronquio izquierdo. Entre las aurículas y los

ventrículos se forma un surco (aurículo-ventricular), por el cual van las ramas horizontales de las arterias coronarias, destinadas a la nutrición del corazón. El tejido muscular del miocardio está compuesto por células fibrosas estriadas, las cuales, a diferencia de las fibras musculares de los músculos voluntarios, se unen unas a las otras por sus extremos de manera que forman un todo único (sincitio), para poder tener una acción contráctil simultánea; cada fibra contráctil está formada por fibrillas elementales, dispuestas longitudinalmente, que tienen la propiedad de acortarse y alargarse en su diámetro longitudinal. Estas fibras se unen para formar haces musculares, dispuestos en diversas capas, bien en sentido circular, bien en sentido longitudinal y oblicuo (respecto a la base del corazón), de manera que puedan ejercer de la mejor manera la función para la cual está destinado el miocardio, es decir, la expulsión de la sangre cardiaca hacia los vasos arteriales.

El tejido muscular es más abundante en el ventrículo izquierdo, que debe ejercer el trabajo de expeler la sangre a todo el organismo; un poco menos abundante es en el ventrículo derecho, que se limita a expeler la sangre sólo a la circulación pulmonar; por tanto, la pared del ventrículo izquierdo es de mayor espesor (más del doble) que la del derecho. Las paredes de las aurículas tienen una acción contenedora de la sangre que proviene de las venas y de contracción para expeler la sangre a los ventrículos, por tanto, el espesor de sus paredes es muy inferior al de las paredes de los ventrículos. En el interior, la pared de la cavidad cardiaca está recubierta por una membrana epitelial (endocardio) que reviste todas las anfractuosidades y los salientes y se continúa con aquélla (intima) de las arterias y de las venas; este revestimiento interno de las cavidades que contienen sangre es necesario para evitar que ésta se coagule. El tabique que divide las aurículas y los ventrículos (respectivamente Inter.-auricular e Inter.-ventricular) tiene en su parte auricular, y en la porción supero-anterior de la ventricular, una constitución fibrosa, casi privada de fibras musculares; ello depende del hecho de formación del órgano, en estas zonas existen orificios que se cierran en un segundo tiempo, cuando los haces musculares están ya formados. Otro tejido fibroso forma el perímetro de los orificios aurículo-ventriculares, aórtico y pulmonar, con fuertes anillos que sirven de sostén a las válvulas y de implantación a los haces musculares. Las aurículas tienen una cavidad de forma irregularmente redondeada, más globosa la de la aurícula derecha, más ovoidal la de la aurícula izquierda; las cavidades ventriculares son más anchas hacia la base del corazón (es decir, hacia arriba), mientras que se estrechan hacia la punta: la cavidad ventricular derecha tiene la forma de una pirámide irregular triangular, con el lado medial (hacia el tabique) cóncavo; la del ventrículo izquierdo tiene la forma de un cono aplanado en sentido latero-medial.

Como una bomba, el corazón impulsa la sangre por todo el organismo, realizando su trabajo en fases sucesivas. Primero se llenan las cámaras superiores o aurículas, luego se contraen, se abren las válvulas y la sangre entra en las cavidades inferiores o ventrículos. En la figura 1.3 se muestran las válvulas del corazón. Cuando están llenos, los ventrículos se contraen e impulsan la sangre hacia las arterias. El corazón

late unas setenta veces por minuto y bombea todos los días unos 10.000 litros de sangre.

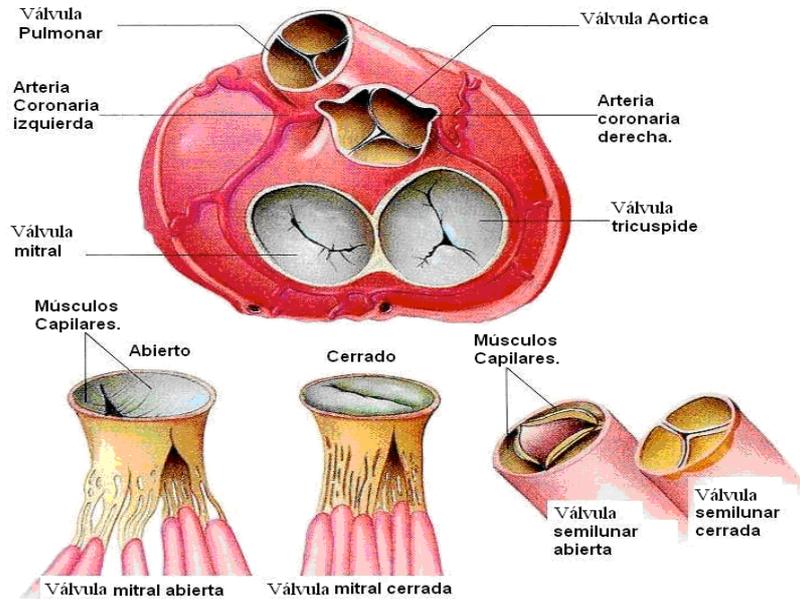


Figura 1.3. Válvulas del corazón

El corazón tiene dos movimientos: Uno de contracción llamado sístole y otro de dilatación llamado diástole. Pero la sístole y la diástole no se realizan a la vez en todo el corazón, se distinguen tres tiempos:

Sístole auricular: se contraen las aurículas y la sangre pasa a los ventrículos que estaban vacíos.

Sístole ventricular: los ventrículos se contraen y la sangre que no puede volver a las aurículas por haberse cerrado las válvulas mitral y tricúspide, sale por las arterias pulmonar y aorta. Estas también tienen, al principio, sus válvulas llamadas válvulas sigmoideas, que evitan el reflujo de la sangre. En la figura 1.4 se muestra tal fenómeno.

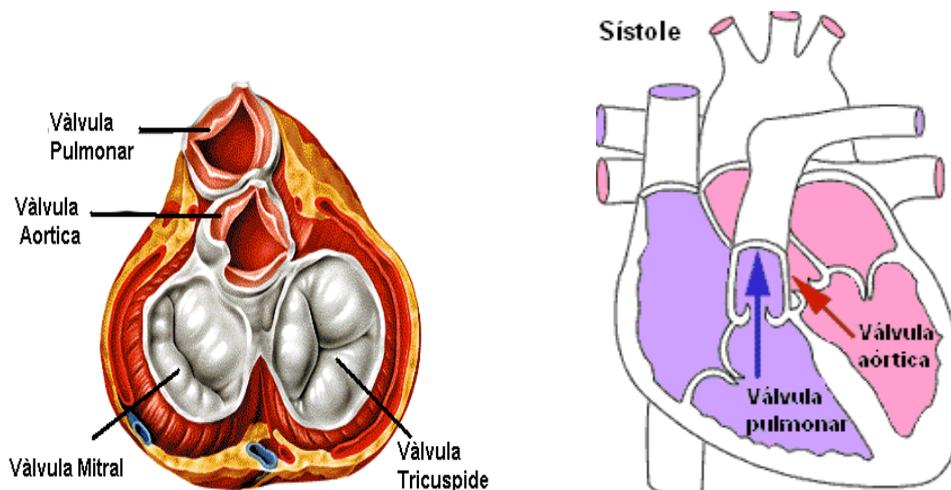


Figura 1.4. Sístole cardiaco.

Diástole general: Las aurículas y los ventrículos se dilatan, al relajarse la musculatura, y la sangre entra de nuevo a las aurículas y de allí a los ventrículos. En la figura 1.5 se muestra la diástole cardiaca.

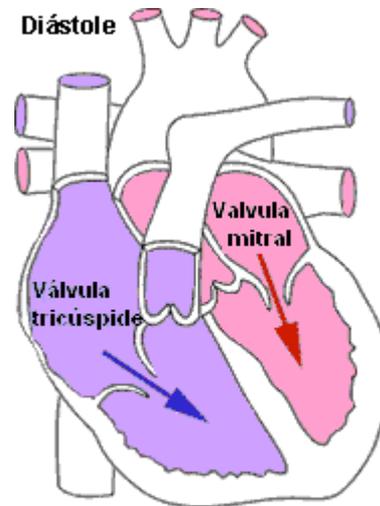


Figura 1.5. Diástole cardiaca.

De lo anterior, es obvio que el corazón realiza un trabajo. Las presiones de las dos bombas del corazón no son iguales: la presión máxima del ventrículo derecho es del orden de 25 mm de Hg, los vasos sanguíneos de los pulmones presentan poca resistencia al paso de la sangre. La presión que genera el ventrículo izquierdo es del orden de 120 mm de Hg, mucho mayor que la anterior, ya que la sangre debe viajar a todo el cuerpo. Durante la fase de recuperación del ciclo cardiaco o diástole, la presión típica es del orden de 80 mm de Hg.

1.2 Señales eléctricas del corazón

El electrocardiograma (ECG) es el registro gráfico, en función del tiempo, de las variaciones de potencial eléctrico generadas por el conjunto de células cardiacas y recogidas en la superficie corporal. Las variaciones de potencial eléctrico durante el ciclo cardiaco producen las ondas características del ECG.

1.2.1 El sistema de conducción

Los impulsos eléctricos generados por el músculo cardíaco (el miocardio) estimulan el latido (contracción) del corazón. Esta señal eléctrica se origina en el nódulo sinoauricular (SA) ubicado en la parte superior de la aurícula derecha. El nódulo SA también se denomina el «marcapasos natural» del corazón. Cuando este marcapasos natural genera un impulso eléctrico, estimula la contracción de las aurículas. En la figura 1.6 se muestra el diagrama del sistema de conducción del corazón.

A continuación, la señal pasa por el nódulo auriculoventricular (AV). El nódulo AV detiene la señal un breve instante y la envía por las fibras musculares de los ventrículos, estimulando su contracción. Aunque el nódulo SA envía impulsos eléctricos a una velocidad determinada, la frecuencia cardíaca podría variar según las demandas físicas o el nivel de estrés o debido a factores hormonales.

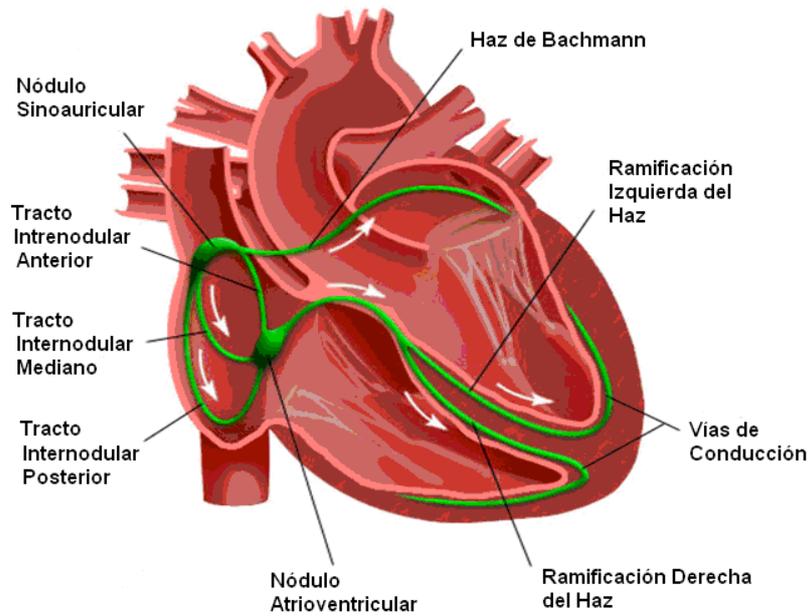


Figura 1.6. Sistema de conducción del corazón.

1.2.2 Secuencia de los eventos eléctricos durante el ciclo cardíaco

A continuación se describen los eventos eléctricos principales, que se hacen presentes durante el ciclo cardíaco.

Despolarización auricular. El impulso se origina en el nodo sinoauricular (SA) y se propaga concéntricamente despolarizando las aurículas y produciendo la onda P del electrocardiograma (ECG). Inicialmente se despolariza la aurícula derecha y posteriormente la aurícula izquierda.

Despolarización ventricular. La despolarización inicial ocurre en la porción medial del septum interventricular, en dirección de izquierda a derecha, luego se despolariza la región anteroseptal y posteriormente ocurre la despolarización principal que es la de los ventrículos (del endocardio al epicardio), con un vector resultante dirigido hacia la izquierda ya que la masa del ventrículo izquierdo es mayor que el derecho. Finalmente se despolarizan las bases ventriculares. La despolarización ventricular determina el complejo QRS del ECG.

Repolarización ventricular. La deflexión generada por la repolarización ventricular sigue la misma dirección, que la deflexión inducida por la despolarización ventricular, es decir, tiene el mismo sentido que el complejo QRS. Esta situación es

debida a que en la repolarización ocurre el fenómeno eléctrico contrario al de la despolarización y orientada en sentido inverso (del epicardio al endocardio). Este fenómeno se visualiza en el ECG como una onda lenta llamada onda T.

1.2.3 Señal del electrocardiograma

La formación del impulso y su conducción generan corrientes eléctricas débiles que se diseminan por todo el cuerpo. En la figura 1.7 se muestran los potenciales generados en las diferentes etapas y sitios del ciclo cardiaco.

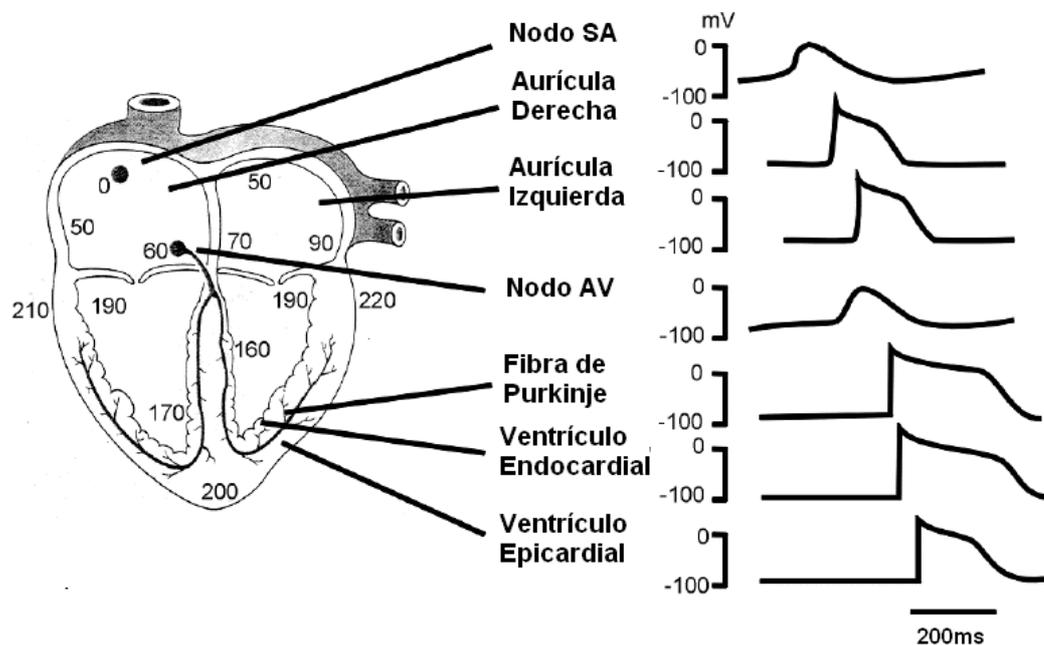


Figura 1.7. Potenciales generados en el ciclo cardiaco.

Al colocar electrodos en diferentes sitios y conectarlos a un instrumento de registro como el electrocardiógrafo se obtiene el trazado característico ECG. Se tiene en cuenta que las derivaciones no registran sólo el potencial eléctrico de la pequeña área del miocardio subyacente sino que registra los eventos eléctricos del ciclo cardiaco desde un sitio seleccionado. En la figura 1.8 se muestra el trazo de la señal del ECG, resultado de los diferentes potenciales generados.

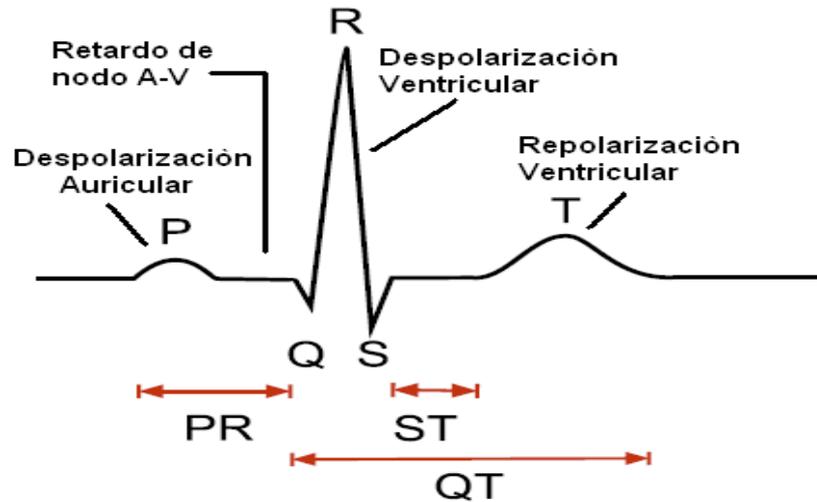


Figura 1.8. Señal de ECG normal.

1.3 Potencial de acción cardíaco

Cuando las células cardíacas son estimuladas se produce un rápido cambio en la polaridad de la membrana que se conoce como potencial de acción. La configuración del potencial de acción cardíaco (PA) está determinada por canales iónicos dependientes de tiempo y voltaje. Cuando la célula es estimulada eléctricamente (normalmente por una corriente eléctrica procedente de una célula adyacente), empieza una secuencia de acciones, que incluyen la entrada y salida de múltiples cationes y aniones, que conjuntamente producen el potencial de acción celular, propagando la estimulación eléctrica a las células adyacentes. De esta manera, la estimulación eléctrica pasa de una célula a todas las células que la rodean, alcanzando a todas las células del corazón. De la interrelación entre las diferentes corrientes iónicas, surge el PA en las células cardíacas, es decir, la señal bioeléctrica que mide la diferencia entre el potencial intracelular y extracelular durante la despolarización y que adquiere, en este caso, una morfología característica. El potencial de la membrana en reposo en el músculo cardíaco normal es aproximadamente de -85 a -95 mV (García Civera R et al, 1999). El potencial de acción (PA) que se registra es de alrededor de 105 mV, lo cual significa que el potencial de membrana aumenta desde su valor normal muy negativo a un valor ligeramente positivo de aproximadamente $+20$ mV. Debido a este cambio de potencial desde lo negativo hasta lo positivo, la parte positiva se denomina “potencial de inversión”. A continuación, la membrana se conserva despolarizada durante cerca de 300 ms en el miocardio ventricular humano, hasta que el potencial de membrana vuelve a caer a su potencial de reposo (Guyton AC, 1986).

El PA tiene 5 fases, numeradas del 0 al 4. La fase 4 es el potencial de reposo de la membrana, y describe el PA cuando la célula no está estimulada, como se muestra en la figura 1.9.

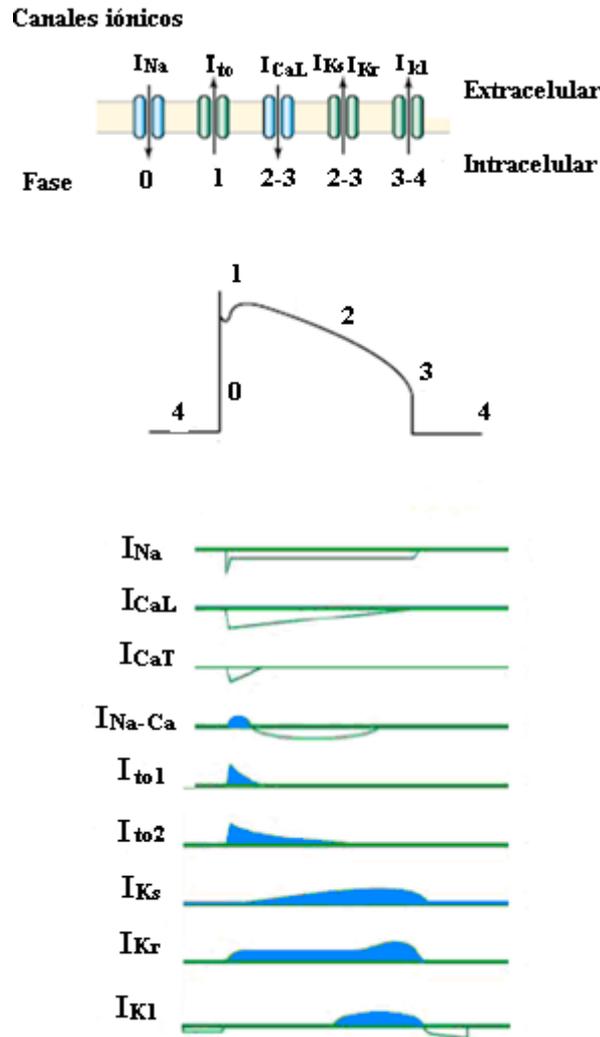


Figura 1.9. Potencial de acción ventricular y sus corrientes iónicas involucradas.

Fase 4

La fase 4 es el potencial de reposo de la membrana. Las células cardiacas permanecen en este periodo hasta que son activadas por un estímulo eléctrico, que proviene normalmente de una célula adyacente. Esta fase del PA es asociada con la diástole de la cámara del corazón.

Al potencial de reposo de la membrana, la conductancia para el potasio (gK^+) es alta en relación a las conductancias para el sodio (gNa^+) y el calcio (gCa^{2+}). En esta fase, la gK^+ se mantiene a través de los canales para el K^+ de tipo rectificadora de entrada (I_{K1}). Cuando el potencial de membrana pasa de -90 mV a -70 mV (debido, por ejemplo, al estímulo de una célula adyacente) se inicia la fase siguiente.

Fase 0

La fase 0 es la fase de despolarización rápida. La pendiente de la fase 0 representa la tasa máxima de despolarización de la célula y se conoce como dV/dt_{max} . La despolarización rápida se debe a la apertura de los canales rápidos de Na^+ , lo que genera un rápido incremento de la conductancia de la membrana para el Na^+ (g_{Na^+}) y por ello una rápida entrada de iones Na^+ (I_{Na}) hacia el interior celular. Al mismo tiempo, la g_{K^+} disminuye. Estos dos cambios en la conductancia modifican el potencial de membrana, alejándose del potencial de equilibrio del potasio (-96 mV) y acercándose al potencial de equilibrio del sodio (+52 mV).

La habilidad de la célula de abrir los canales rápidos de Na^+ durante la fase 0 está en relación con el potencial de membrana en el momento de la excitación. Si el potencial de membrana está en su línea basal (alrededor de -85 mV), todos los canales rápidos de Na^+ están cerrados, la excitación los abrirá todos, causando una gran entrada de iones Na^+ . Sin embargo, si el potencial de membrana es menos negativo (lo que ocurre durante la hipoxia), algunos de los canales rápidos de Na^+ estarán en un estado inactivo, insensibles a la apertura, causando una respuesta menor a la excitación de la membrana celular, y una V_{max} menor. Por esta razón, si el potencial de reposo de la membrana deviene menos negativo, la célula puede ser no excitable, y la conducción a través del corazón puede retrasarse, incrementando el riesgo de arritmias.

Fase 1

La fase 1 del PA tiene lugar con la inactivación de los canales rápidos de sodio. La corriente transitoria hacia el exterior que causa la pequeña repolarización ("notch") del PA es debida al movimiento de los iones K^+ y Cl^- , dirigidos por las corrientes transitorias de salida I_{to1} y I_{to2} , respectivamente. La corriente I_{to1} contribuye particularmente a la depresión de algunos PA de los cardiomiocitos ventriculares.

Se ha sugerido que el movimiento de iones Cl^- a través de la membrana durante la fase 1 es el resultado del cambio en el potencial de membrana, debido a la salida de los iones K^+ , y no es un factor que contribuya a la repolarización inicial ("notch").

Fase 2

La fase de la meseta o "plateau" del PA cardíaco se mantiene principalmente, por un equilibrio entre el movimiento hacia el interior del Ca^{2+} (I_{Ca}) a través de los canales iónicos para el calcio de tipo L (que se abren cuando el potencial de membrana alcanza -40mV) y el movimiento hacia el exterior del K^+ a través de los canales de potasio de la corriente rectificadora tardía, I_K . La corriente debida al intercambiador sodio-calcio ($I_{Na,Ca}$) y la corriente generada por la bomba Na-K ($I_{Na,K}$) también juegan papeles menores durante la fase 2.

Fase 3

Durante la fase 3 (la fase de "repolarización rápida") del PA, los canales voltaje-dependientes para el calcio de tipo L se cierran, mientras que los canales de potasio de la corriente rectificadora tardía (I_K) permanecen abiertos. Esto asegura una corriente hacia fuera, que corresponde al cambio negativo en el potencial de membrana, que permite que más tipos de canales para el K^+ se abran. Estos son principalmente los canales para el K^+ de la corriente rectificadora tardía (I_K). Esta corriente neta positiva hacia fuera (igual a la pérdida de cargas positivas por la célula) causa la repolarización celular. Los canales de K^+ del rectificador tardío se cierran cuando el potencial de membrana recupera un valor de -80 a -85 mV, mientras que I_{K1} permanece funcionando a través de la fase 4, contribuyendo a mantener el potencial de membrana de reposo.

Durante las fases 0, 1, 2 y parte de la 3, la célula es refractaria a la iniciación de un nuevo PA: es incapaz de despolarizarse. Este es el denominado periodo refractario efectivo. Durante este periodo, la célula no puede iniciar un nuevo PA porque los canales están inactivos. Este es un mecanismo de protección, que limita la frecuencia de los potenciales de acción que puede generar el corazón. Esto permite al corazón tener el tiempo necesario para llenarse y expulsar la sangre. El largo periodo refractario también evita que el corazón realice contracciones sostenidas, de tipo tetánico, como ocurre en el músculo esquelético. Al final del periodo refractario efectivo, hay un periodo refractario relativo, en el cual es necesaria una excitación por encima del umbral para desencadenar un PA. En este caso, como no todos los canales para el sodio están en conformación de reposo, los PA generados durante el periodo refractario relativo tienen una pendiente menor y una amplitud menor. Cuando todos los canales para el sodio están en conformación de reposo, la célula deviene completamente activable, y puede generar un PA normal.

La prolongación del potencial de acción, con la resultante prolongación del intervalo QT, ocurre ya sea por el incremento en corrientes despolarizantes o por una disminución en las corrientes repolarizantes (Figura 1.9). Debido a la pequeña corriente neta que fluye durante la fase de meseta, pequeños cambios en la conductancia saliente o entrante pueden ejercer efectos dramáticos en la duración del potencial de acción. De este modo, mutaciones en genes que codifican para los canales de K^+ de rectificación tardía cardiacos, y que producen disminución de su actividad, prolongan la duración del potencial de acción al disminuir la corriente repolarizante durante la fase de meseta. Por otro lado, mutaciones en el gen que codifica para el canal de Na^+ cardiaco que producen una ganancia de función e incrementan la corriente despolarizante durante la fase de meseta prolongan la duración del potencial de acción.

1.4 Diferencias de edad y sexo en la electrocardiografía y electrofisiología

Las diferencias entre sexos en cuanto a la incidencia de varios tipos de arritmias cardíacas son una realidad bien documentada, si bien las causas subyacentes a estas diferencias siguen siendo en muchos casos desconocidas. Se ha propuesto que estas diferencias entre sexos se deben a 2 mecanismos: los efectos hormonales sobre la expresión o función de los canales iónicos y las diferencias en el tono autonómico, o bien una combinación de ambos mecanismos. Este efecto combinado se traduciría en una mayor actividad simpática y una respuesta barorrefleja menor en los varones de cualquier edad, así como en una actividad parasimpática o vagal más pronunciada en las mujeres. La mayor parte de los datos experimentales en relación con las diferencias electrofisiológicas entre sexos se basan en estudios con animales de experimentación, con hembras ovariectomizadas tratadas con distintos esteroides gonadales. Los datos de estos estudios señalan que son los esteroides gonadales los que determinan las diferencias, por sus distintos efectos sobre los canales iónicos de la membrana celular.

En diversos estudios electrocardiográficos realizados hasta el momento se han encontrado diferencias entre sexos respecto a la frecuencia cardíaca basal, la variabilidad de la frecuencia cardíaca, el intervalo QT y la duración y el voltaje del complejo QRS (Bernal O y Moro C, 2006).

1.4.1 Variaciones en la frecuencia cardíaca

Ya en el año 1920, Bazett (Bazett HC, 1920) observó que las mujeres tenían una frecuencia cardíaca media superior a la de los varones. Esta observación fue corroborada en estudios posteriores, como el realizado por Liu et al (Liu K et al, 1989) en una población de 5.116 pacientes. Estos autores encontraron que la frecuencia cardíaca media era entre 3 y 5 lat/min superior en las mujeres. Para evitar las influencias del tono vagal y simpático, Burke et al (Burke JH, 1996) elaboraron un estudio con doble bloqueo autonómico mediante la administración de propanolol y atropina, y observaron que la longitud del ciclo sinusal era más corta en las mujeres, lo que hablaba a favor de una diferencia independiente del equilibrio neurovegetativo. Esta diferencia varón/mujer en cuanto a la frecuencia del automatismo sinusal es independiente de la edad.

1.4.2 Variabilidad de la frecuencia cardíaca

Varios estudios realizados con registros electrocardiográficos ambulatorios en 24 h, con técnica de Holter, mostraron que las mujeres tienen un menor componente de bajas frecuencias y un menor cociente entre las altas y las bajas frecuencias del espectro de la variabilidad del RR (Villareal RP et al, 2001; James AF et al, 2007). Este hallazgo puede explicarse por influencias hormonales y predominio en el tono vagal, como indica el trabajo del grupo de Huikuri et al (Huikuri HV et al, 1996). En esta investigación, realizada en mujeres posmenopáusicas en las que se administraba

tratamiento hormonal sustitutivo con estrógenos, se observó que dicha terapia aumentaba la respuesta a los barorreflejos y la potencia en los dominios de baja y alta frecuencia de la variabilidad del RR, lo que indicaba una influencia hormonal sobre la modulación autonómica cardíaca. Las diferencias entre ambos sexos en cuanto a la variabilidad del RR tienden a desaparecer con la edad.

1.4.3 Intervalo QT

Bazett HC observó que, en el electrocardiograma (ECG), las mujeres presentaban un intervalo QT más largo que los varones, pese a tener frecuencias cardíacas superiores. Las mujeres muestran una duración del intervalo QT de 10 a 20 ms superior que el de los varones en condiciones basales. En especial, esta duración superior se hace más patente en el período perimenstrual, en el que también se ha descrito una exagerada reacción a los fármacos (Villareal RP et al, 2001).

También Bazett HC describió que esta diferencia en la duración del intervalo QT se mantiene tras corregir dicho intervalo para la frecuencia cardíaca (QTc), dato que igualmente confirmaron otros autores, como Stramba-Badiale M et al (Stramba-Badiale M et al, 1997) y Merri M et al (Merri M et al, 1989). Las diferencias en la duración del QT están mediadas por el efecto de las hormonas femeninas sobre la expresión y el funcionamiento de los canales de Ca^{2+} y K^+ , y es posible que también sobre la corriente rápida y persistente de Na y sobre el intercambiador Na/Ca. El límite superior del intervalo QTc en varones es de 450 ms, mientras que en las mujeres se asume un valor normal del intervalo QTc hasta los 470 ms.

1.4.4 Voltaje y duración del complejo QRS

Se ha descrito una menor duración del complejo QRS, así como un menor voltaje de éste en las mujeres. Estas diferencias, que podrían ser atribuidas inicialmente a un corazón de menor tamaño en el cuerpo femenino, se mantienen incluso tras corregir dichos valores para la masa cardíaca y el peso corporal (Rautaharju PM et al, 1992). Asimismo, estas diferencias se mantienen en circunstancias patológicas, como en la hipertrofia ventricular. El desconocimiento de estas diferencias entre sexos en la interpretación del ECG afecta de forma adversa la validez de los criterios diagnósticos en el ECG de las mujeres. Asimismo, no admitir estas diferencias en cuanto a la duración y el voltaje del QRS lleva a que los criterios electrocardiográficos de hipertrofia ventricular sean más específicos, pero menos sensibles en mujeres (Okin PM et al, 1995). También se ha descrito una menor duración en mujeres de la onda P y de la duración del intervalo PR.

1.4.5 Diferencias de sexo y edad en la repolarización y su significación clínica

No solamente es distinta la duración de la repolarización en las mujeres. Los denominados cambios inespecíficos de la repolarización en el trazado electrocardiográfico de 12 derivaciones son mucho más frecuentes en mujeres. Una investigación reciente, llevada a cabo a partir de los parámetros electrocardiográficos obtenidos de 38.000 mujeres posmenopáusicas, derivada del estudio Women Health Initiative, demuestra que dichos cambios en la repolarización son frecuentes y pueden ser un predictor de riesgo cardiovascular en la población femenina en esa etapa vital. Los autores encuentran que el ángulo QRS/T excesivamente abierto, la duración prolongada del complejo QRS, el intervalo QT corregido prolongado y la variabilidad reducida de la frecuencia cardíaca son parámetros eléctricos que pueden ser predictores de mortalidad cardiovascular en la mujer posmenopáusica (Rautaharju PM et al, 2006).

De lo expuesto previamente se resume que la frecuencia sinusal media o cadencia del automatismo sinusal en las mujeres es superior, que la variabilidad de la frecuencia cardíaca en el campo de la frecuencia tiene menos componentes de baja frecuencia, dato estrictamente relacionado con el predominio del sistema nervioso parasimpático. El otro dato electrofisiológico diferenciador es la duración del intervalo QT y QTc, que traduce la duración del período refractario ventricular, también superior en las mujeres. La distinta fisiología causal de estas diferencias es desconocida, pero puede estar relacionada con una relación QT-RR alterada por una distinta morfología de la onda T, las influencias hormonales sobre los canales iónicos de la membrana, el tono autonómico o una combinación de estos factores. Otra característica importante es que la mayor parte de estas diferencias en la electrofisiología cardíaca aparecen después de la pubertad (James AF et al, 2007; Rautaharju PM et al, 1992).

Por ejemplo, en los varones, durante la adolescencia, etapa en la que se produce un aumento de las hormonas masculinas (andrógenos), se observa una disminución del intervalo QT, lo que podría significar un efecto directo hormonal sobre la fisiología de los canales de la membrana que intervienen en la repolarización cardíaca (Krahn AD et al, 1995).

Las mujeres presentan una mayor frecuencia cardíaca intrínseca. Este dato ha sido comprobado con o sin bloqueo autonómico, lo que marca un ciclo sinusal más corto y una variabilidad menor de la frecuencia cardíaca durante el día. Puede atribuirse, por tanto, a un efecto directo de las hormonas femeninas sobre la fisiología cardíaca, ya que la diferencia comienza a manifestarse en la adolescencia (Rautaharju PM et al, 1992), al igual que ocurre con la duración del intervalo QT y QTc, que se acorta en el varón a partir de esa edad (Krahn AD et al, 1995).

La evidencia, según los datos de los estudios publicados hasta el momento, nos muestra que las mujeres tienen una frecuencia cardíaca media superior, un intervalo QT más largo, una menor duración del complejo QRS, así como un menor voltaje de éste respecto a los varones. Asimismo, en las mujeres son más frecuentes la

enfermedad del nódulo sinusal, la taquicardia sinusal inapropiada, la taquicardia supraventricular intranodal, la taquicardia ventricular idiopática del ventrículo derecho, y el síndrome QT largo congénito y adquirido; en cambio, en los varones, la prevalencia de las siguientes arritmias es mayor: bloqueo auriculoventricular, hipersensibilidad del seno carotídeo, fibrilación auricular, taquicardia supraventricular con vía accesoria, síndrome de Wolff-Parkinson-White, taquicardia ventricular por reentrada, fibrilación ventricular y muerte súbita, así como el síndrome de Brugada.

1.5 Síndrome de QT largo (SQTL)

En 1856 Friederich Meissner describió el caso clínico de una jovencita nacida sorda, que murió durante un ataque emocional agudo (Meissner FL, 1856). Un pequeño hurto provocó la presentación de la joven ante el director del asilo en donde vivía, cuando ella vio el disgusto del director causado por el hurto, ella se colapsó y murió. La joven tenía dos hermanos, también nacidos sordos y que murieron un tiempo después por emociones agudas.

Pasarían 100 años para que las claves del síndrome de QT largo (SQTL) se conocieran; Jervell A y Lange-Nielsen F en 1957, reportaron cuatro jóvenes varones en una familia de seis niños, quienes sufrían sordera congénita en asociación con prolongación del intervalo QT y síncope cardíacos (Jervell A y Lange-Nielsen F, 1957). El apelativo síndrome de Jervell–Lange-Nielsen (JLN) quedó enlazado a esta enfermedad autosómica recesiva. Poco tiempo después Romano C y Ward O (Romano C et al, 1963; Ward O, 1964) publicaron reportes independientes de casos de la prolongación del intervalo QT asociados con síncope y muerte súbita, en ausencia de cualquier deficiencia auditiva, hereditaria pero diferente al síndrome JLN. Ahora se conoce que esta forma autosómica dominante, el síndrome de Romano-Ward, es mucho más común que el síndrome JLN.

En estos importantes reportes de casos la asociación de la prolongación del intervalo QT y el síncope fueron establecidos, pero el ritmo sincopal no fue observado. El maravilloso nombre Torsade de Pointes (TdP, torcedura de puntas), al cual el síndrome de QT largo es ahora relacionado, fue registrado y publicado en 1954 (Schwartz S y Hallinger L, 1954), pero no fue totalmente descrito hasta 1966 cuando Dessertenne escribió su trabajo seminal del cual ganó su nombre (Dessertenne F, 1966). Una mujer de 80 años que presentaba un completo bloqueo atrioventricular y su consecuente prolongación del intervalo QT y una forma de taquicardia ventricular polifórmica que se torcía cerca de la línea isoelectrica. Esta completa y cuidadosa descripción aseguró la supervivencia del término descriptivo (Krikler D y Curry P, 1976). Cuatro años más tarde, la asociación entre el SQTL congénito y la TdP quedó establecida (Motté G et al, 1970). Ver detalles en la figura 1.10.

En 1979, un grupo de clínicos, esperando que el SQT1 pudiera ser la “piedra Rosetta” de las arritmias ventriculares relacionadas al sistema simpático (Zipes DP, 1991) estableció el Registro Internacional de SQT1, cuyo objetivo inicial fue recoger y organizar reportes de casos con bien definidos fenotipos clínicos y pedigrees de familias con la idea de ganar conocimientos en la historia natural, curso clínico y eficacia en actuales y noveles terapias (Moss AJ y Schwartz PJ, 2005). Una aportación invaluable del Registro Internacional del SQT1 fue en los años 90s, cuando los bien definidos pedigrees clínicos tuvieron un rol fundamental en el descubrimiento de la genética molecular del SQT1.

1.5.1 Bases moleculares del SQT1 congénito

Mientras una patogénesis no estuvo presente en la descripción inicial del SQT1, la asociación del síncope con tiempos de emoción repentina o ejercicio físico sugirió un rol para el sistema nervioso autónómico.

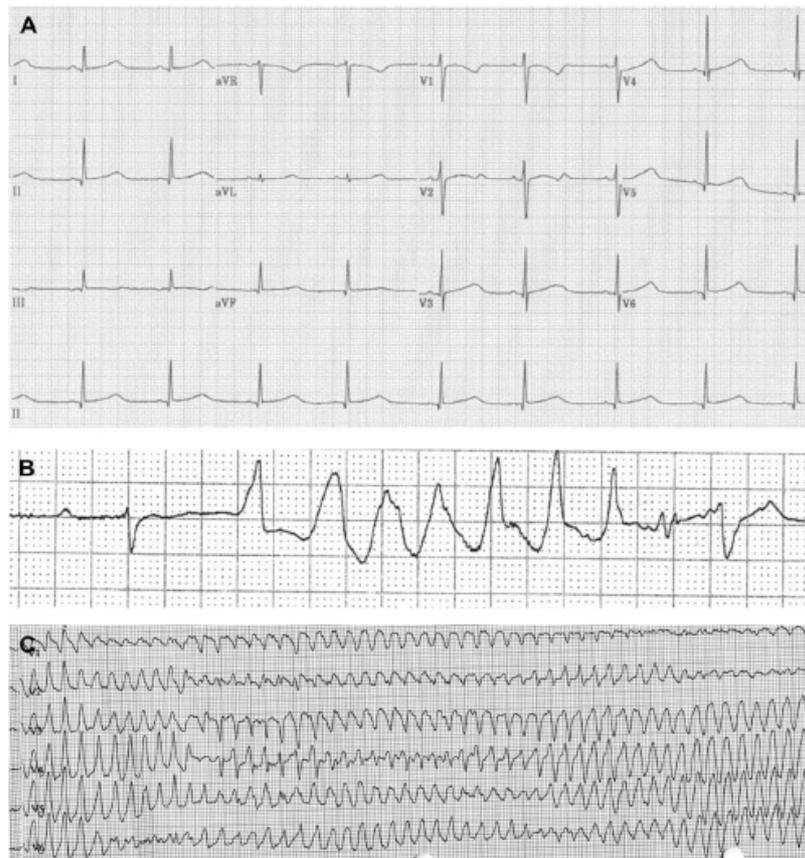


Figura 1.10. Registros de ECG en pacientes de SQT1 tipo 2. (A) ECG de una joven con el intervalo QT prolongado y modificaciones en la onda T, una onda T bifásica en las derivaciones V2 y III correlacionadas a una mutación en hERG. (B) Registro de telemetría cardiaca mostrando el comienzo de TdP, con un iniciación de “R en T”.(C) Secuencia de ECG durante un síncope, ilustrando la apariencia característica de TdP (tomada de Zhang M et al, 2004).

La modulación del intervalo QT a través de la interrupción o estimulación del sistema nervioso autonómico (Yanowitz F et al, 1966), y la reproducción de alternantes de la onda T a través de la estimulación ganglionar (Schwartz P y Malliani A, 1975) respaldaron la hipótesis del desbalance simpático. La fuerte protección producida por los beta bloqueadores hizo que fuera una casi aceptada hipótesis (Schwartz P et al, 1985). No fue sino hasta dos décadas después, que la anterior hipótesis fue desechada y se conoció la genética molecular del SQTl a través de estudios genéticos.

Las bases genéticas del SQTl fue confirmada en estudios de enlace desarrollados a principios de la década de 1990 (Keating M et al, 1991; Jiang C et al, 1994). Los tres genes responsables de la gran mayoría de casos de SQTl fueron identificados en 1995 y 1996; el gen *KCNH2* como causa del síndrome de QT largo tipo 2 (Curran M et al, 1995); el gen *SCN5A* como causa del síndrome de QT largo tipo 3 (Wang Q et al, 1995) y el gen *KCNQ1* como causa del síndrome de QT largo tipo 1 (Wang Q et al, 1996). *KCNQ1* y *KCNH2* codifican como canales de potasio dependientes de voltaje (comúnmente referidos como *KvLQT1* y *hERG* respectivamente), y *SCN5A* codifica los canales de sodio dependientes de voltaje. Un gran cantidad de investigaciones con estos tres genes ha resultado en una copiosa información clínica con nuevos hallazgos moleculares, haciendo al SQTl el paradigma para investigar las bases moleculares de las arritmias ventriculares (Schwartz PJ y Priori SG, 2004).

1.5.2 Bases clínicas del SQTl

El cuadro clínico es muy variable: el paciente puede cursar asintomático, presentar síncope recurrente, crisis convulsivas o muerte súbita como primera manifestación de la enfermedad (Medeiros A et al, 2007). Inicialmente se catalogó como un trastorno raro y, en efecto, la presentación grave de la enfermedad es esporádica, pero la incidencia de las mutaciones se estima en 1 entre 3.000 a 5.000 casos (Ackerman MJ, 2005), cerca del 32% de los portadores asintomáticos puede tener un QT corregido por frecuencia (QTc) en los límites normales, transmiten la enfermedad a un 50% de su descendencia, son más susceptibles a desarrollar arritmias malignas comparados con el resto de la población y hasta un 20% puede volverse sintomático (Priori SG, 2004).

El SQTl presenta gran heterogeneidad genética y se han identificado ya más de 500 mutaciones distribuidas hasta ahora en 12 genes: *KCNQ1*, *HERG*, *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*, *ANKB*, *KCNJ2*, *CACNA1*, *CAV3*, *SCN4B*, *AKAP9* y *SNTA1*. A pesar de los avances en la materia, un 25 - 30% de los pacientes permanece sin diagnóstico genético (Tester DJ et al, 2005; Napolitano C et al, 2005). Es una enfermedad de presentación principalmente monogénica (Priori SG, 2004); las variedades poligénicas o compuestas suelen dar un fenotipo más grave. La penetrancia, los casos que tienen la mutación y el fenotipo, oscila entre el 25% y 90%

(Priori SG et al, 1999); y con menos frecuencia puede haber variaciones en la expresividad de la enfermedad, diversos fenotipos que puede dar una misma mutación.

Los estudios genéticos moleculares desarrollados en los últimos años han permitido realizar una importante correlación genotipo-fenotipo y orientar así el tratamiento; también se han hecho interesantes observaciones en cuanto a susceptibilidad individual a desarrollar arritmias al estudiar los efectos de polimorfismos no sinónimos frecuentes en la población, lo que ha motivado gran interés, sobre todo en el área de la farmacogenómica.

1.5.3 Clasificación del SQTL

La clasificación utilizada en el pasado se basaba en la presentación homocigota o heterocigota de la enfermedad, que dan lugar a los síndromes de Jervell-Lange-Nielsen (con sordera) y Romano Ward (sin sordera), respectivamente. La clasificación actual enfatiza los hallazgos genéticos, como se ilustra en la tabla 1.1. En los años 1995 y 1996 se describieron los 3 principales genes asociados con la enfermedad. Codifican para unidades formadoras del poro de los canales de potasio I_{Ks} e I_{Kr} y de sodio Nav 1,5; explican más del 65% de los casos. Si bien en los años subsecuentes se han añadido 9 genes más a la lista, éstos explican tan sólo cerca del 5% de los casos.

La afección en la función de un canal en el SQTTL se puede dar en estos 2 sitios: en la proteína principal o en las proteínas reguladoras. La afección en la unidad formadora del poro, conocida como alfa, genera los 3 subtipos más comunes de SQTTL: SQTTL1 (afección en el canal de potasio I_{Ks}), SQTTL2 (afección en el canal de potasio I_{Kr}) y SQTTL3 (afección en el canal de sodio). Al ser los más frecuentes, han sido mejor caracterizados clínicamente y genéticamente. El síndrome llamado Jervell-Lange-Nielsen corresponde en la actualidad a las variedades de SQTTL 1 y 5. De manera característica, los pacientes cursan con sordera congénita y tienen mutaciones homocigotas o heterocigotas compuestas que afectan a la corriente I_{Ks} . El síndrome de Romano Ward abarca desde la variedad SQTTL 1 hasta la 12 y no cursa con sordera.

Síndrome de QT largo tipo 1 (SQTTL1)

Los pacientes con SQTTL1 suelen presentar episodios de arritmia ventricular al realizar ejercicio o al estimular el simpático (Schwartz PJ et al, 2001); la natación se ha descrito como un deporte disparador de arritmias en el SQTTL1 (Ackerman MJ et al, 1999). La penetrancia en este subtipo es cercana al 62%. Con frecuencia estos pacientes presentan una onda T de base ancha, con una duración muy prolongada (Zhang L et al, 2000; Zareba W, 2006). Es el subtipo más frecuente y explica 40-45% de los casos. El gen afectado es el $KvLQT1$ (o $KCNQ1$), localizado en el cromosoma 11 (11p15.5), codifica la subunidad α , del canal de potasio I_{Ks} . El potencial de acción

se prolonga por una disminución de la corriente saliente de K^+ durante fase 3 del potencial de acción. Ver la figura 1.11.

Tabla 1.1 Genes involucrados en el síndrome de QT largo.

Tipo	Gen	Proteína	Locus	Corriente efecto	Frecuencia %
Romano-Ward (autosómico dominante)					
LQT1	<i>KCNQ1</i>	KvLQT1 (Kv7.1)	11p15.5	I_{Ks} ↓	40-45
LQT2	<i>KCNH2</i>	hERG (Kv11.1)	7q35-q36	I_{Kr} ↓	35-40
LQT3	<i>SCN5A</i>	Nav1.5	3p24-p21	I_{NaL} ↑	5-10
LQT4	<i>ANK2</i>	Ankyrina-B	4q25-q27	I_{Na}	< 1
LQT5	<i>KCNE1</i>	MinK	21q22.1	I_{Ks} ↓	< 1
LQT6	<i>KCNE2</i>	MiRP1	21q22.1	I_{Kr} ↓	< 1
LQT7	<i>KCNJ2</i>	Kir2.1	17q23	I_{K1} ↓	< 1
LQT8	<i>CACNA1C</i>	Cav1.2	12p13.3	I_{CaL} ↑	< 1
LQT9	<i>CAV3</i>	Caveolina-3	3p25	I_{Na}	< 1
LQT10	<i>SCN4B</i>	Navβ4	11q23.3	I_{NaL} ↑	< 1
LQT11	<i>AKAP9</i>	AKAP9/yotiao	7q21-q22	I_{Ks} ↓	< 1
LQT12	<i>SNTA1</i>	α1-syntrophina	20q11.2	I_{NaL} ↑	< 1
Jervell, Lange-Nielsen (autosómico recesivo)					
JLN1	<i>KCNQ1</i>	KvLQT1	11p15.5	I_{Ks} ↓	> 90.5
JLN2	<i>KCNE1</i>	MinK	21q22.1	I_{Ks} ↓	> 0.5

Síndrome de QT largo tipo 2 (SQTL2)

Los pacientes con SQTL2 suelen presentar arritmias ventriculares en respuesta al estrés emocional o estímulos auditivos súbitos - por ejemplo, al reloj despertador - y

con menos frecuencia durante el sueño o el ejercicio (Schwartz PJ et al,2001). Este subtipo es particularmente susceptible a presentar arritmias en el período posparto (Kositseth A et al, 2004). La penetrancia estimada es del 79% y significa que hasta un 20% de los casos pueden tener un ECG no diagnóstico. En el SQT1, la onda T suele ser de baja amplitud, bifida, con muescas (Zhang L et al, 2000; Zareba W, 2006). Ver figura 1.11. El gen afectado es el KCNH2 o hERG, localizado en el cromosoma 7 (7q35-36), el cual codifica la subunidad α del canal de potasio I_{Kr} ; explica 35-40% de los casos. La disfunción de este canal disminuye la corriente saliente de K^+ durante la fase 3 del potencial de acción, prolongando su duración.

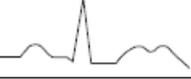
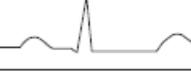
Tipo	Corriente	Efecto funcional	Frecuencia entre los SQT	ECG	Desencadenante de evento cardiaco letal	Penetrancia
SQT1	Potasio I_{Ks}	↓	40-45%		Ejercicio (68%) Emociones (14%) Sueño, descanso (9%) Otros (19%)	62%
SQT2	Potasio I_{Kr}	↓	35-40%		Ejercicio (29%) Emociones (49%) Sueño, descanso (22%)	75%
SQT3	Sodio I_{NaL}	↑	5-10%		Ejercicio (4%) Emociones (12%) Sueño, descanso (64%) Otros (20%)	90%

Figura 1.11. Relación fenotipo – genotipo y patrones de ECG de los SQT1, SQT2 y SQT3.

Síndrome de QT largo tipo 3 (SQT3)

Los casos con SQT3 tienen un riesgo mayor de presentar arritmias malignas durante el reposo (sueño) o bradicardia (Beaufort-Krol GC et al,2005). La penetrancia de las mutaciones en el gen SCN5A es cercana al 90%. El ECG en el SQT3 suele mostrar onda T acuminada, de aparición tardía, que deja observar con claridad el alargamiento del segmento ST (Zhang L et al, 2000; Zareba W, 2006). Ver figura 1.11. Estos pacientes suelen ser menos sintomáticos que los casos con SQT1 o SQT2, pero los eventos son característicamente más letales. El gen afectado en el SQT3 es el *SCN5A*, que codifica para la subunidad α del canal de sodio Nav1.5, localizado en el cromosoma 3 (3p21-24); es causante de la enfermedad en el 5-10% de los casos. La inactivación defectuosa del canal permite la entrada sostenida de Na^+ durante la fase 2 del potencial de acción y prolonga su duración.

Síndrome de QT largo tipo 4 (SQTL4)

Es una variedad rara y explica menos del 1% de los casos. Condiciona un SQTL muy atípico con un gran espectro de arritmias que incluyen taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, fibrilación auricular, trastornos en la conducción intraventricular, disfunción del nódulo sinusal y bradicardia (Mohler PJ et al, 2003; Mohler PJ et al, 2005; Mohler PJ et al, 2004); con frecuencia, los casos tienen incluso el QTc en los límites normales. El gen afectado es el ANKB, localizado en el cromosoma 4 (4q25-27), el cual codifica la síntesis de anquirina- β , una proteína estructural que vincula proteínas de la membrana del cardiomiocito con proteínas del citoesqueleto. Estas proteínas son: la bomba Na/K ATP-asa, el intercambiador Na/Ca y el receptor a inositol trifosfato (InsP3R). Las mutaciones que causan pérdida de la función de anquirina- β resultan en un incremento de la concentración de calcio intracelular, así como en una alteración en la expresión de Na/K ATP-asa y en el intercambiador Na/Ca. La elevación de las concentraciones de calcio da lugar a postdespolarizaciones tempranas y tardías. De esta manera, las arritmias ventriculares observadas en las mutaciones del gen de anquirina- β se deben a despolarizaciones espontáneas generalmente en respuesta a la estimulación catecolaminérgica.

Síndrome de QT largo tipo 5 (SQTL 5)

Está condicionado por cambios de secuencia del gen KCNE1 localizado en el cromosoma 21 (21q22.1- p22) (Splawski I et al,1997). Codifica la síntesis de la subunidad β del canal I_{Ks} , conocida también como subunidad minK que regula al canal I_{Ks} . Explica menos del 1% de los casos.

Síndrome de QT largo tipo 6 (SQTL6)

El gen afectado es el KCNE2 localizado en el cromosoma 21 (21q22.1) (Abbott GW et al,1999). Codifica la subunidad β del canal de potasio, conocida también como subunidad MiRP1, que regula al canal I_{Kr} . Explica menos del 1% de los casos.

Síndrome de QT largo tipo 7 o Andersen-Tawil (SQTL7)

Los hallazgos dismórficos y las alteraciones electrocardiográficas de este síndrome fueron descritos por primera vez en 1971 (Andersen ED et al,1971) y recapitulados en 1994 (Tawil R et al, 1994), pero la descripción genéticomolecul ar se publicó apenas en el año 2001 (Plaster NM et al, 2001). El ahora conocido síndrome de Andersen-Tawil (SAT) es una alteración autosómica dominante que se caracteriza por parálisis periódica, desarrollo esquelético anormal, arritmias ventriculares del tipo de la extrasistolia ventricular frecuente con susceptibilidad particular a desarrollar fibrilación ventricular, sobre todo en el sexo femenino. Los trastornos del ritmo descritos en el SAT son: extrasístoles ventriculares (41%), taquicardia ventricular polimórfica no sostenida (23%), taquicardia ventricular bidireccional (68%) y Torsade de Pointes (3%) (Zhang L et al, 2005). Algunos de los rasgos dismórficos observados incluyen: estatura corta, escoliosis, clinodactilia, hipertelorismo, implantación baja de

orejas, micrognatia y frente amplia. La expresividad de la enfermedad es variable, lo que complica el diagnóstico oportuno (Plaster NM et al, 2001; Yoon G et al, 2006). El 70% de los casos se explica por mutaciones en el gen *KCNJ2* localizado en el cromosoma 17 (17q23) que codifica la síntesis del canal rectificador de potasio Kir 2,1; este canal participa en la fase 4 del potencial de acción. Varios autores cuestionan la inclusión de este gen dentro del grupo causal de SQTl, pues el intervalo QTc en este síndrome se encuentra ligeramente prolongado o incluso normal, pero la onda U suele ser prominente, lo que ha dado lugar a la sobrevaloración del intervalo QT.

Síndrome de QT largo tipo 8 (SQTl8)

Resulta de mutaciones en el gen *CACNA1* que codifica el canal de calcio tipo L Cav1.2, localizado en el cromosoma 12 (12p13.3). Ocasiona el síndrome de Timothy (Splawski I et al, 2005), caracterizado por malformaciones cardíacas, deficiencia inmunológica, hipoglucemia intermitente, trastornos cognitivos incluido el autismo, fusiones interdigitales y QT largo que predispone a arritmias cardíacas y muerte súbita (Splawski I et al, 2005). Explica menos del 0,5% de los casos.

Síndrome de QT largo tipo 9 (SQTl9)

Esta variedad resulta de mutaciones en el gen *CAV3*, localizado en el cromosoma 3 (3p25), que codifica la síntesis de caveolina 3. La caveola es una invaginación de la membrana plasmática implicada en la endocitosis, la homeostasis de lípidos y la transducción de señales. Un importante componente de esta estructura es la caveolina, de la cual se conocen 3 subtipos; el subtipo 3 es específico de músculo esquelético y cardíaco. Algunos canales iónicos se colocan en la caveola, incluida la isoforma cardíaca de canal de sodio Nav1.5; recientemente se describieron diversas mutaciones en esta proteína que alteran las propiedades biofísicas del canal de sodio Nav1,5 *in vitro*, generando un fenotipo similar al observado en el SQTl3 (Vatta M et al, 2006). Se estima que explica menos del 1% de los casos.

Síndrome de QT largo tipo 10 (SQTl10)

Esta variedad fue notificada en un caso muy grave con un QTc > 600 ms, bradicardia fetal y bloqueo auriculoventricular (AV) 2 × 1. Resulta de mutaciones en el gen *SCN4B*, localizado en el cromosoma 11 (11q23) que codifica para la subunidad β4 de canal de sodio. Se han descrito 4 distintos subtipos de subunidades β que interactúan y regulan las diversas isoformas de canal de sodio, pero sólo el subtipo 4 se ha asociado hasta ahora con arritmogénesis (Medeiros A et al, 2006). La incidencia de mutaciones en este gen no ha sido explorada, pero se estima < 1%.

Síndrome de QT largo tipo 11 (SQTL11)

Esta variedad resulta de mutaciones en el gen AKAP9, localizado en el cromosoma 7 (7q21-q22), que codifica la síntesis de yotiao. Reduce la corriente I_{Ks} . La incidencia de mutaciones en este gen no ha sido explorada, pero se estima $< 1\%$.

Síndrome de QT largo tipo 12 (SQTL12)

Esta variedad resulta de mutaciones en el gen SNTA1, localizado en el cromosoma 20 (20q11.2), que codifica la síntesis de $\alpha 1$ -syntrophina. Aumenta la corriente I_{NaL} . La incidencia de mutaciones en este gen no ha sido explorada, pero se estima $< 1\%$.

Mutaciones de la variedad Jervell-Lange-Nielsen

Esta grave forma de SQTL es causada por mutaciones homocigotas (Neyroud N et al,1997) o heterocigotas compuestas en los genes KCNQ1 y/o KCNE1 que codifican la corriente I_{Ks} , es decir, se trata de una variedad muy grave de las formas SQTL1 o SQTL5. Se asocia de manera característica con sordera congénita. Los pacientes suelen tener un $QTc > 500$ ms, síncope recurrente y alto riesgo de muerte súbita. Los progenitores de los pacientes con esta variedad son generalmente heterocigotos y manifiestan una enfermedad menos grave, o incluso pueden ser asintomáticos (Schwartz PJ et al,2006).

1.5.4 Edad y género relacionados al SQTL

Los datos y registros clínicos del Registro Internacional del SQTL ha facilitado recientemente un comprensivo análisis de los factores de riesgo para la parada cardiorespiratoria recuperada o la muerte súbita cardiaca en grupos específicos por edad y género, incluyendo periodos desde la niñez, adolescencia, adultez y mayores de 40 años. Estos análisis han mostrado consistentemente que la expresión fenotípica del SQTL congénito es dependiente del género y la edad.

Los datos clínicos acumulados del Registro Internacional del SQTL han demostrado que la expresión fenotípica del SQTL muestra diferencias relacionadas al género y la edad en los riesgos de eventos cardíacos no-fatales y potencialmente fatales, como se ilustra en las figura 1.12 y 1.13 respectivamente. El estudio de Locati EH et al (Locati EH et al, 1998), reportó que el género masculino está independientemente asociado con un significativo 85% y un 72% de incremento entre probandos y miembros de familia afectados respectivamente, en el riesgo de eventos cardíacos, incluyendo síncope, parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita antes de la edad de 15 años. Mientras que el riesgo se hace reversible en género después de los 14 años, ya que mostró un 87% de incremento en el riesgo de eventos cardíacos en las mujeres comparados con varones entre probandos y 3.3 veces más incremento en el riesgo entre miembros de familia afectados.

El estudio de Zareba et al (Zareba W et al, 2003) reportó que durante la niñez, los varones con síndrome de QT largo tipo 1, exhiben un incremento del 71% en el riesgo de primer evento cardíaco comparados con las correspondientes niñas, mientras que las diferencias relacionadas al sexo no fueron significativas entre los portadores de genes de los síndromes de QT largo tipo 2 y 3 durante el mismo periodo de tiempo.

Consistente con los resultados del estudio de Locati et al (Locati EH et al, 1998), este estudio mostró un riesgo de género reversible después de la edad de 16 años, en el cuál, el riesgo de eventos cardíacos fue más de 3 veces entre mujeres portadoras del síndrome de QT largo tipo 1 y 2 comparadas con los portadores hombres del mismo síndrome.

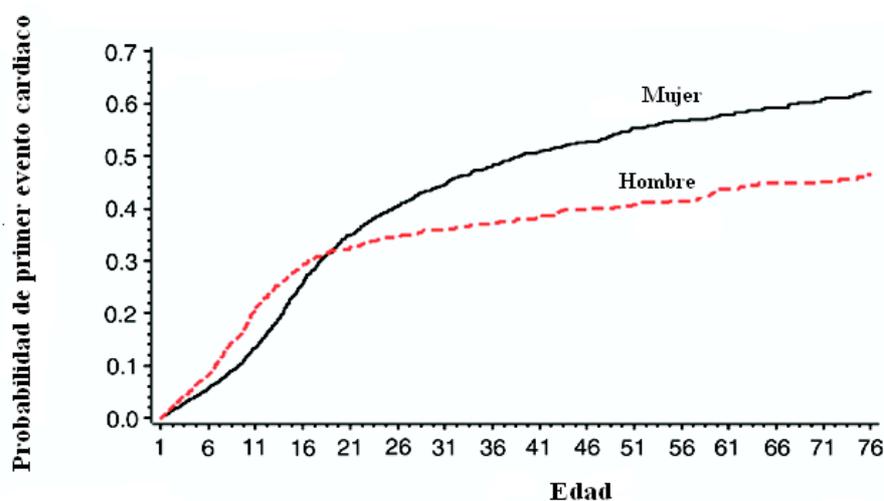


Figura 1.12. Probabilidad de primer evento cardíaco por edad y género (tomada de Goldenberg I y Moss AJ, 2008).

Estudios más recientes del Registro Internacional de SQT, en los cuáles factores de riesgo para eventos cardíacos potencialmente fatales (parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita) fueron investigados (Hobbs JB et al, 2006; Sauer AJ et al, 2007; Goldenberg I et al, 2008) y mostraron que la reversibilidad del riesgo de género dependiente de la edad puede ser más severo y a una edad mayor. Ver figura 1.13. En un estudio de 3.105 niños portadores del síndrome de QT largo, la probabilidad acumulativa del primer evento cardíaco potencialmente fatal entre las edades de 1 a 12 años fue de 5% en niños comparado con solo el 1% en niñas (Goldenberg I et al, 2008). Mientras que la investigación del grupo de Hobbs JB (Hobbs JB et al, 2006), reportó que el riesgo del primer evento cardíaco potencialmente fatal entre las edades de 12 a 20 años no fue significativa en la diferencia relacionada al sexo. La reversibilidad del riesgo a la diferencia relacionada al género con respecto a parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita ocurrió después de los 20 años. En tanto que el estudio del grupo de Sauer AJ (Sauer AJ et al,

2007), reportó que durante la edad adulta, en un análisis de 812 pacientes con mutaciones confirmadas del SQT1, las mujeres tenían un incremento 3 veces mayor en el riesgo de parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita comparadas con los hombres.

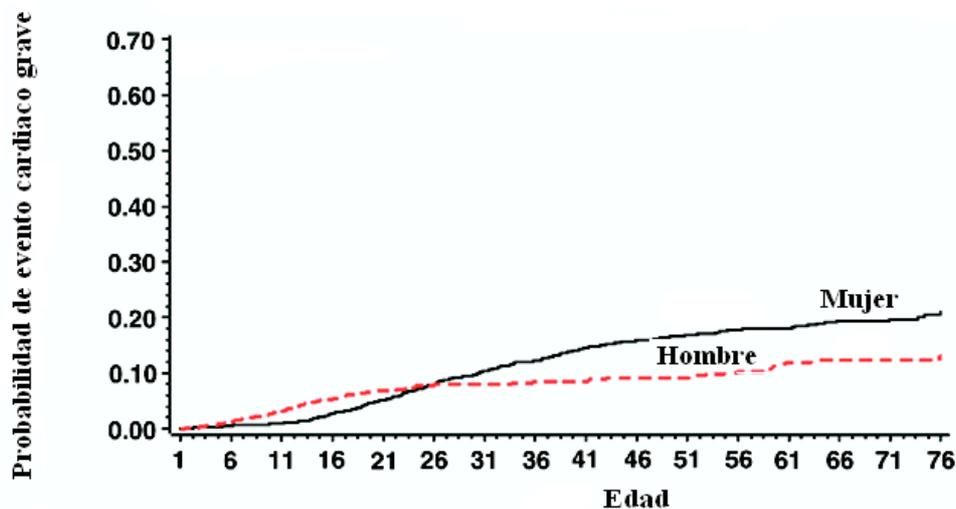


Figura 1.13. Probabilidad de evento cardíaco grave (parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita) por edad y género (tomada de Goldenberg I y Moss AJ, 2008).

El riesgo asociado con el género femenino en el periodo de la postadolescencia puede estar relacionado a factores hormonales. Los andrógenos han mostrado ampliar la prolongación del intervalo QT en respuesta al fármaco quinidina (Drici MD et al, 1996) y también puede estar asociado al acortamiento del intervalo QT en los hombres después de la niñez. En contraste, los estrógenos han mostrado modificar la expresión de los canales de potasio y pueden tener un efecto bloqueador en I_{Ks} dependiente de la concentración o dosis (Boyle M et al, 1987). La posible relación entre las hormonas femeninas y el riesgo proarrítmico es respaldado por un estudio reciente del Registro Internacional de SQT1 (Seth R et al, 2007), en el cual muestra un significativo incremento en el riesgo de eventos cardíacos en el periodo postparto, principalmente entre mujeres que fueron identificadas de ser portadoras del genotipo del síndrome de QT largo tipo 2, debido al canal hERG.

1.5.5. Localización y tipo de mutaciones en el SQT1 tipo 2 (hERG)

Para el caso del SQT1, las mutaciones pueden darse en dos niveles diferentes: molecular (génicas o puntuales) y cromosómico. Las mutaciones a nivel molecular son llamadas génicas o puntuales y afectan la constitución química de los genes. Se originan por:

Sustitución. Donde debería haber un nucleótido se inserta otro. Por ejemplo, en lugar de la citosina se instala una timina.

Inversión. Mediante dos giros de 180° dos segmentos de nucleótidos de hebras complementarias se invierten y se intercambian.

Translocación. Ocurre un traslape de pares de nucleótidos complementarios de una zona del ADN a otra.

Desfasamiento. Al insertarse (inserción) o eliminarse (delección) uno o más nucleótidos se produce un error de lectura durante la traducción que conlleva a la formación de proteínas no funcionales.

Mientras que en las mutaciones cromosómicas el cambio afecta a un segmento de cromosoma (mayor de un gen), por tanto a su estructura. Estas mutaciones pueden ocurrir por:

Delección. Es la pérdida de un segmento cromosómico, que puede ser terminal o intercalar. Cuando ocurre en los dos extremos, la porción que porta el centrómero une sus extremos rotos y forma un cromosoma anular .

Inversión. Cuando un segmento cromosómico rota 180° sobre sí mismo y se coloca en forma invertida, por lo que se altera el orden de los genes en el cromosoma.

Duplicación. Repetición de un segmento cromosómico y se pierde el orden de los genes.

Translocación. Intercambio de segmentos entre cromosomas no homólogos, que puede ser o no recíproca.

La mutación que se presenta en forma más frecuente en el SQTl congénito es la molecular por sustitución. En un estudio clínico del Registro Internacional del SQTl, en donde se investigó la localización, el tipo y la topología de la mutación (Shimizu W et al, 2009), un total de 162 mutaciones diferentes del SQTl tipo 2 (hERG) fueron identificadas en 858 individuos. Las mutaciones fueron predominantemente encontradas en 3 regiones : en la región N-terminal (28%, n=46), en la región C-terminal (30.9%, n=50) y en la región transmembrana (40.7%, n=66). De las 66 mutaciones dentro del dominio transmembrana, 78.8% (n=52) fueron localizadas en la región del poro (dominios S5-S6) y las restantes 14 mutaciones en la región del prepоро, dominios S1-S4. Las mutaciones por sustitución fueron el 61.7% (n=100). Ver figura 1.14.

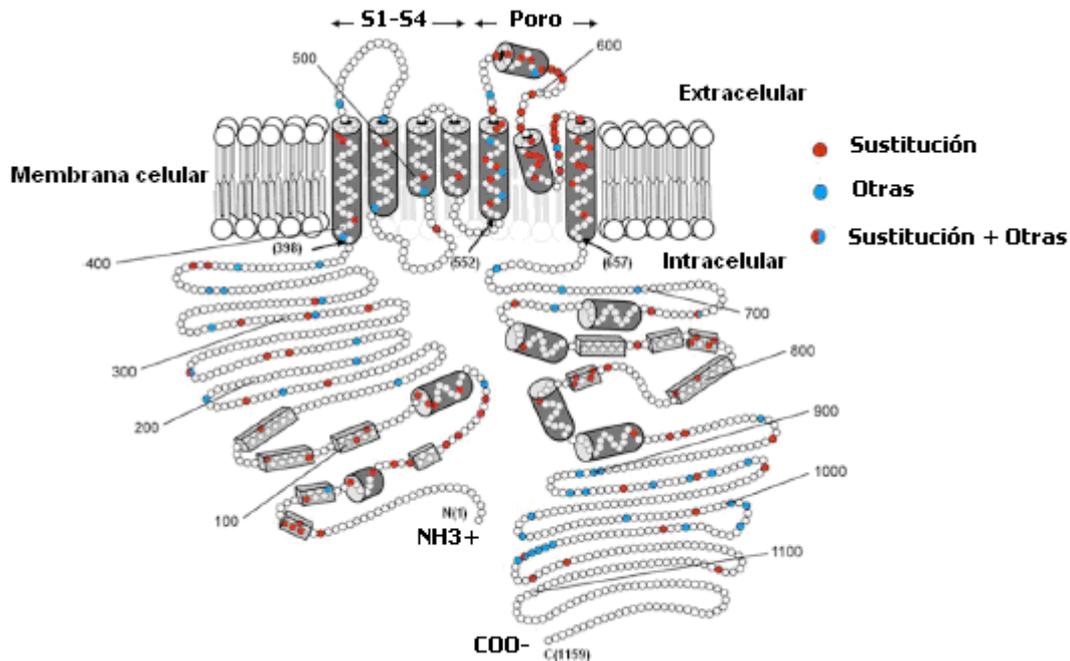


Figura 1.14. Localización diagramática de 162 mutaciones en el canal hERG (tomada de Shimizu W et al, 2009).

La figura 1.14 muestra las 162 mutaciones identificadas en 858 individuos en el estudio de Shimizu W et al. La unidad involucra la región N-terminal (NH₃⁺), 6 segmentos transmembrana, y la región C-terminal (COO⁻). El número entre paréntesis indica la posición del aminoácido comenzando el (1) en la región N-terminal, el inicio de la secuencia transmembrana prepore S1-S4 con el (398), el inicio del poro con el (552) y el final del mismo (657) y por último la posición del final de la región C-terminal con el (1159). Los cilindros indican segmentos α y las barras representan segmentos β .

La interrelación entre localización y tipo de la mutación con respecto a la edad se muestra en la figura 1.15, en donde se indica la probabilidad acumulada del primer evento cardiaco para mutaciones de sustitución en diferentes localizaciones. Mayor número de eventos cardiacos en mutaciones de sustitución fueron localizados en la región transmembrana del poro y en los segmentos α que en mutaciones localizadas en otras regiones.

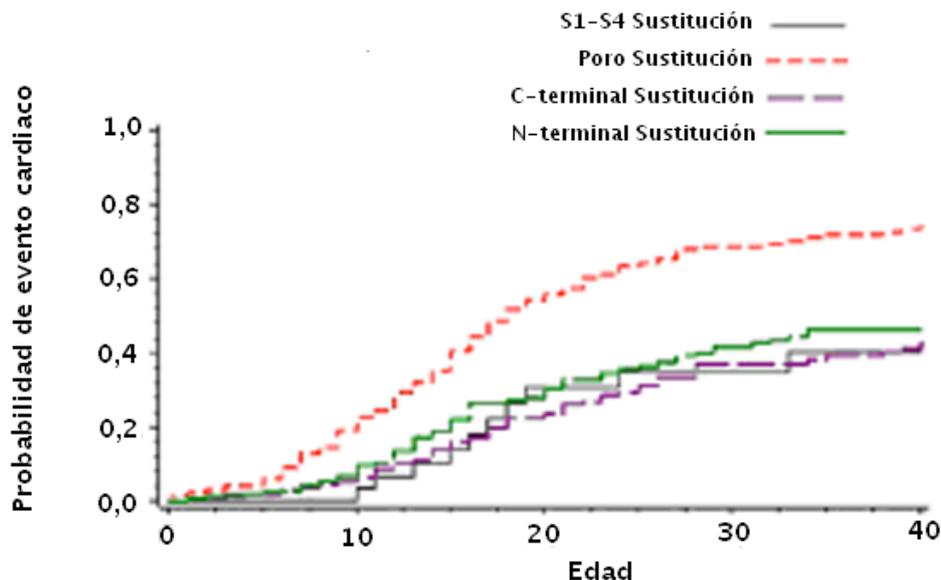


Figura 1.15. Probabilidad acumulada del primer evento cardíaco para mutaciones de sustitución en diferentes localizaciones (tomada de Shimizu W et al, 2009).

Por tanto, la función biofísica, el tipo y la localización de la mutación del canal iónico son actualmente importantes factores en la determinación del genotipo de los pacientes afectados por el SQTl congénito.

1.5.6 Bases moleculares del SQTl adquirido

Hallazgos moleculares como causa de SQTl congénito han aportado un probable mecanismo para la forma adquirida del SQTl. El fármaco quinidina, la causa arquetípica del SQTl adquirido fue inicialmente descrito como causa de síncope en 1922 (Levy R, 1922) y como taquicardia ventricular polifórmica en 1964 (Selzer A y Wray H, 1964). El fármaco thioridazina, un fármaco no cardíaco, produjo el mismo efecto (Schoonmaker FW et al, 1966) y presagiando el amplio rango de fármacos de diferentes estructuras y clases que producirían este síndrome potencialmente fatal. Aunque fármacos asociados al canal hERG fueron los primeros identificados como causa de SQTl adquirido, el conocimiento de los síndromes congénitos sugiere que la interacción de fármacos con múltiples canales iónicos puede subyacer esta patología. De hecho, la heterogeneidad de los síndromes congénitos está en contraste directo a la homogeneidad del SQTl adquirido, la mayoría de fármacos causantes del SQTl adquirido, lo hacen a través de interacciones con el canal hERG (Roden DM et al, 1996; Cavero I et al, 2000; Dennis A et al, 2007). Aunque existen algunos raros ejemplos de fármacos que causan un intervalo QT prolongado sin afectar al canal hERG, entre ellos el fármaco Alfuzozin, que incrementa la corriente de sodio (Lacerda AE et al, 2008).

1.6 Canal hERG

El grupo de Warmke J describió el gen que codifica al canal de K^+ , al que denominaron “ether a go-go” (eag) en una variedad de mosca de la fruta *Drosophila* (Warmke J et al, 1991). En 1994 encontraron el homólogo humano en el hipocampo, localizado en el gen del cromosoma 7 y lo llamaron “ human ether a-go-go related gene o hERG (Warmke J et al, 1994). Estudios de biología molecular y de electrofisiología han permitido identificar que hERG codifica para la subunidad α que constituye el correlato molecular de la corriente I_{Kr} , destacando que hERG es la subunidad formadora del poro que codifica para el canal de potasio de rectificación tardía rápido.

1.6.1 Relación estructura-función del canal hERG

El canal hERG tiene la misma estructura que los otros canales dependientes de voltaje, cada subunidad hERG tiene seis segmentos de transmembrana con una estructura secundaria de α -hélice, el cuarto segmento (S4) presenta 7 cargas positivas distribuidas en cada tercera o cuarta posición, y el segmento de aminoácidos que une la quinta y sexta hélice se introduce parcialmente en la membrana contribuyendo a formar el poro selectivo a potasio. Basado en el análisis estructura-función de otros canales Kv, se ha inferido que cada canal hERG funcional está compuesto de cuatro subunidades que conforman un poro acuoso central . Ver figura 1.16.

Los canales de potasio hERG presentan características cinéticas muy propias, diferentes del resto de los canales Kvs. Si se considera un canal de potasio como un poro selectivo a potasio con dos compuertas (la de activación y la de inactivación), en cada uno de los extremos del poro, que se abren y cierran de manera dependiente de voltaje y de tiempo, se puede explicar la diferencia en la cinética de los canales hERG y Kvs.

Las compuertas son controladas por el potencial de membrana; con la despolarización, la compuerta de activación se abre (proceso conocido como activación), y con la repolarización de la membrana la compuerta de activación se cierra (desactivación). Por otro lado, la compuerta de inactivación se cierra con la despolarización (proceso llamado inactivación), y se abre con la repolarización (recuperación de la inactivación). En los canales hERG la compuerta de inactivación responde más rápido al cambio de voltaje que la compuerta de activación, contrariamente a lo que ocurre con los canales Kv, de ahí que los canales hERG tengan una lenta activación y desactivación pero la inactivación y la recuperación de la inactivación sean muy rápidas.

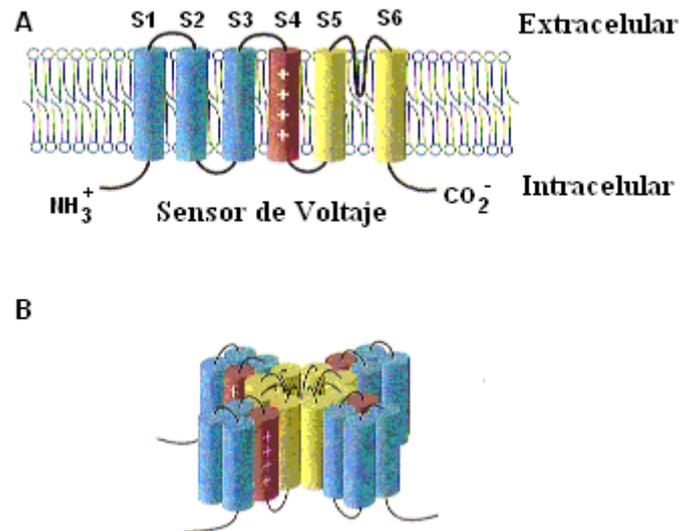


Figura 1.16. (A) Topología del canal de potasio hERG. Una subunidad hERG está formada por 6 segmentos de transmembrana con los segmentos amino- y carboxilo-terminal en la cara citosólica. En el extremo amino terminal el canal presenta un dominio PAS (Per-Arnt-Sim) y en el segmento carboxilo terminal un dominio de unión para nucleótidos cíclicos (cNBD). **(B) Estructura tetramérica propuesta para formar el canal hERG funcional.**

Esto conlleva a que cuando se produce una despolarización sostenida, los canales se van a distribuir entre los estados abierto e inactivados, pero si esta despolarización se produce a potenciales muy positivos (por encima de +20 mV) se va a favorecer el paso de los canales hacia el estado inactivado, lo cual explica la rectificación hacia adentro que presenta el canal hERG. La repolarización de la membrana, produce una rápida (en el rango de milisegundos) recuperación de la inactivación, la cual va seguida por una lenta (en el rango de segundos) desactivación del canal. Esto origina que el canal hERG permita el paso de corrientes pequeñas a potenciales despolarizados y corrientes grandes durante la fase terminal de repolarización del potencial de acción.

1.6.2 Compuerta de activación y desactivación.

Estudios en otros canales Kv han sugerido que la compuerta de activación está formada por el asa que une las hélices S4 y S5 y por la mitad carboxilo del dominio S6. Esta posibilidad también es el caso para el canal hERG. Por lo tanto, mutaciones puntuales en el asa S4-S5 y en la mitad carboxilo del dominio S6 tienen un profundo efecto en la cinética y dependencia al voltaje de la activación y desactivación del canal. Tal arreglo estructural coloca la compuerta de activación cercana a la entrada citoplásmica del poro. Esto explica porqué los bloqueadores de hERG que actúan del lado citoplásmico de la membrana obtienen acceso a su sitio de unión sólo cuando la compuerta de activación está en la posición abierta (bloqueo de canal abierto).

Un determinante importante de la contribución de hERG a la repolarización del potencial de acción es su lento proceso de desactivación, como se ilustra en la figura 1.17. Por lo tanto, algunas mutaciones asociadas al LQT2 reducen las corrientes salientes a través del canal hERG al acelerar la desactivación del canal. El segmento N-terminal de hERG juega un papel importante en el proceso de desactivación. La delección de los aminoácidos 2 al 354 ($\Delta 2-354$) o del 2 al 373 ($\Delta 2-373$) del segmento N-terminal causa una aceleración 10 veces mayor de la desactivación de hERG. Este efecto es mediado por una corta secuencia de aminoácidos (2-16) en el segmento N-terminal de hERG.

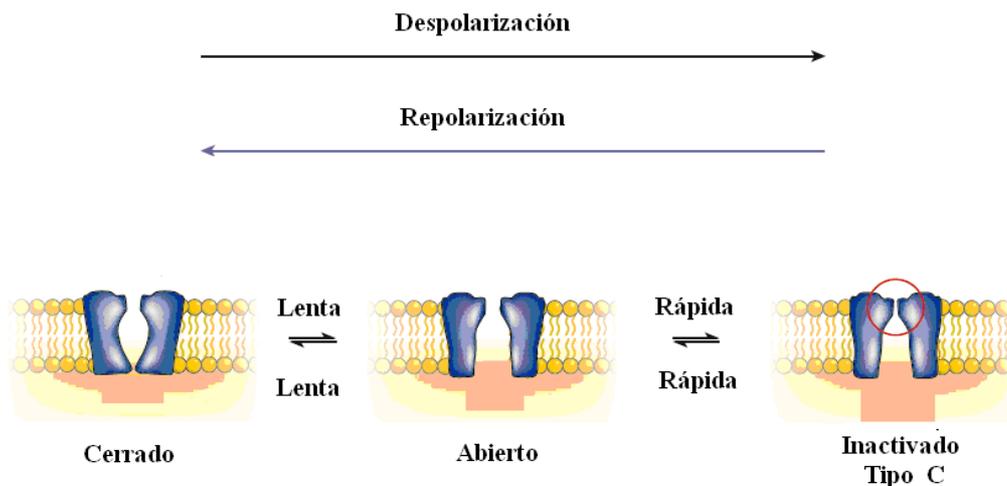


Figura 1.17. La conformación del canal hERG es dependiente del voltaje

1.6.3 Inactivación y recuperación de la inactivación.

Una importante característica de los canales hERG es su rectificación que limita la corriente saliente a través del canal a voltajes positivos. Esto reduce la cantidad de corriente entrante necesaria para mantener la fase de meseta del potencial de acción. La rectificación es debida a un rápido proceso de inactivación. Mutaciones en el asa del poro y en la mitad amino terminal del dominio S6 del canal hERG pueden interrumpir el proceso de inactivación rápida. La cinética de inactivación del canal hERG es muy rápida, la boca externa del canal es estrecha y flexible, con esta estructura el proceso de inactivación requiere solo un pequeño movimiento molecular por lo que se lleva a cabo rápidamente.

El asa S5-P del canal hERG (39 aminoácidos) es más grande que la de otros canales Kv (5-10 aminoácidos). Algunas mutaciones asociadas al LQT2 ocurren en este sitio y permiten la maduración y el transporte del canal a la superficie celular, pero causan defectos en la función del canal. Por lo tanto el asa S5-P juega un importante papel en la función del canal. Estudios de mutaciones hechas en el centro

del asa S5-P del canal hERG sugieren que esta asa puede interactuar con la boca externa del poro, y participar en el proceso de inactivación. Ver figura 1.18.

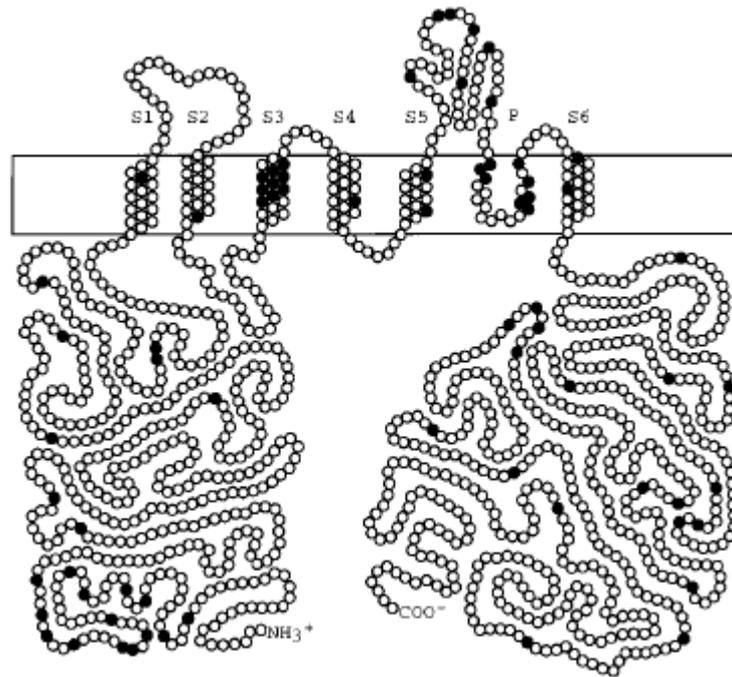


Figura 1.18. Canal hERG y algunas mutaciones asociadas a LQTS.

1.6.4 Papel de las subunidades β en la función del canal hERG.

La primera indicación de que pudiera haber subunidades reguladoras (β) que modularan el canal hERG provienen de estudios en la línea de células auriculares de ratón (AT-1 cells). I_{Kr} es la principal corriente saliente en las células AT-1. Al tratar estas células con oligonucleótidos antisentido contra minK (subunidad accesoria del dominio transmembranal 1), y por lo tanto suprimiendo la expresión de minK, se reduce la amplitud de la corriente I_{Kr} . Además, se ha mostrado que cuando se coexpresan en líneas de células de mamíferos de riñón embrionario de hamster HEK 293, hERG y minK pueden formar un complejo estable, y la amplitud de la corriente hERG es aumentada relativamente en comparación con células que expresan solamente hERG.

En 1999 se identificaron tres familias de genes que codifican para los péptidos relacionados a minK (MiRPs). Estas subunidades MiRP, junto con minK, constituyen cuatro familias KCNE (KCNE1 a KCNE4, codificando para minK y MiRP1 a MiRP3) (Abbott GW et al, 1999). Se ha visto que in vitro MiRP1 y hERG pueden formar un complejo estable y se ha sugerido que MiRP1 es la subunidad β del canal I_{Kr} nativo en miocitos cardiacos.

Sin embargo, estudios más recientes sugieren que la coexpresión de MIRP1 y hERG no recapitulan la corriente I_{Kr} nativa. Weerapura et al (Weerapura M et al, 2002b) mostraron que al coexpresar MIRP1 con hERG no se alteran las respuestas farmacológicas de la corriente hERG por tres fármacos antiarrítmicos (dofetilide, quinidine y E-4031) que bloquean I_{Kr} . La dependencia de concentración del bloqueo de la corriente hERG fue prácticamente igual a la de I_{Kr} . Estos autores encontraron algunas diferencias en la cinética de bloqueo entre la corriente hERG expresada en células CHO (células de ovario de hamster chino) e I_{Kr} , pero estas diferencias no fueron reducidas al coexpresar hERG con MIRP1. Esta coexpresión tampoco redujo las diferencias entre la corriente hERG e I_{Kr} en cuanto a cinéticas de activación y desactivación de las corrientes de cola.

1.6.5 Asociación de fármacos con el canal hERG

Los canales de potasio hERG dependientes de voltaje son importantes para la repolarización del potencial de acción cardiaco y tiene un específico rol en la supresión de excitaciones prematuras. Los bloqueadores de canales hERG son utilizados en el tratamiento de arritmias atriales. No obstante, el uso de bloqueadores del canal hERG, además de un gran número de fármacos no cardiacos que también se asocian al canal hERG, son asociados a un incrementado riesgo de arritmias del tipo Torsade de Pointes y muerte súbita. Las autoridades regulatorias del uso de fármacos se han preocupado por el efecto colateral potencialmente fatal de fármacos cardiacos y no cardiacos, y han exigido a las compañías farmacéuticas una investigación más profunda en base a cada caso de fármaco para valorar si el potencial beneficio de uso de estos fármacos no sobrepasa el riesgo de complicaciones proarrítmicas.

La explicación para la especial sensibilidad de los canales hERG a los fármacos puede tener tres razones: primera, los canales hERG realizan una rápida inactivación, la cuál estabiliza la asociación de fármacos; segunda, el poro de los canales hERG al parecer tiene una gran cavidad en la cuál se pueden acomodar una cantidad de tipos de fármacos y tercera, la presencia de múltiples anillos aromáticos en el poro de los canales hERG, parece facilitar una asociación de gran afinidad para fármacos que contengan ellos mismos anillos aromáticos.

El grupo de Lees-Miller JP reportó que el residuo Phe656 era necesario, pero no suficiente para la alta afinidad del dofetilide y quinidine con el canal hERG (Lees-Miller JP et al, 2000). Este resultado fue confirmado y extendido por el grupo de Mitcheson JS, quienes identificaron 4 residuos, además del Phe656, que eran cruciales para la asociación de alta afinidad por las metanesulfonamidas: Tyr652, Gly648, Val625 y Thr623 (Mitcheson JS et al, 2000). Ver el poro del canal hERG ilustrado en la figura 1.19 y la localización de los residuos descritos.

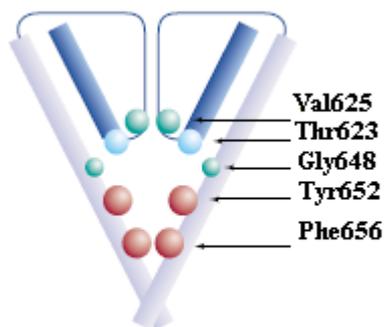


Figura 1.19. El poro del canal hERG y la localización de los residuos asociados a metanesulfonamidas.

Utilizando un modelo similar homólogo de los canales hERG, basado en la estructura cristalina de KcsA, estos investigadores mostraron que los anillos aromáticos de las metanesulfonamidas podían realizar un asociación pi con los anillos aromáticos de Tyr652 y Phe656. El rol fundamental de los residuos Tyr652 y Phe656 fueron confirmados con estudios utilizando terfenadine y cisapride, en los cuáles, la asociación de alta afinidad fue reducida drásticamente para mutaciones Tyr652Ala y Phe656Ala, y afectó menos a las mutaciones Gly648Ala, Val625Ala y Thr623Ala. Lo anterior sugiere que los residuos Gly648, Val625 y Thr623 podrían ser específicos para las metanesulfonamidas (Mitcheson JS et al, 2000).

1.7 Simulación con modelos matemáticos

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

Los modelos del potenciales de acción se materializan en un conjunto de ecuaciones diferenciales que describen las corrientes iónicas y el potencial de acción de una célula eléctricamente aislada. Actualmente, los modelos incluyen también una descripción matemática detallada de la dinámica del calcio intracelular (liberación y recambio en el retículo sarcoplásmico). Basándose en estas ecuaciones, estos modelos pueden extenderse para simular el comportamiento eléctrico del tejido miocárdico, partiendo de la suposición de que éste está formado por la conexión en serie y en paralelo de cardiomiocitos. Los pioneros en el desarrollo de un modelo matemático para describir el potencial de acción de las células de membrana excitable fueron Hodgkin y Huxley (HH). En su trabajo de 1952, los científicos británicos

desarrollaron una teoría matemática aplicable a fibras nerviosas capaz de simular los PA de neuronas aisladas (Hodgkin A y Huxley A, 1952). El modelo HH consta de tres ecuaciones diferenciales no lineales de primer orden que modelizan el comportamiento de los canales iónicos de sodio y potasio, cuyos coeficientes son función del potencial de membrana, además de una cuarta ecuación diferencial que modeliza el comportamiento eléctrico de la membrana. Hodgkin y Huxley utilizaron sus propios experimentos de fijación de voltaje “voltage clamp”, para ajustar los coeficientes de las ecuaciones.

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

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

En efecto, en un trabajo posterior, los mismos Hodgkin y Huxley insinuaron la posibilidad de adaptar su modelo a otras células de membrana excitable diferentes de las neuronas mediante la modificación de los coeficientes de las ecuaciones diferenciales. Sin embargo, y a pesar de que tras dichas modificaciones resultaban potenciales de acción que recordaban a los de las fibras de Purkinje (Noble D, 1962), los experimentos de fijación de voltaje en células miocárdicas y fibras de Purkinje demostraron que los mecanismos iónicos asociados a este tipo de células eran más complejos que los de las neuronas, interviniendo algunas corrientes adicionales que el modelo HH no contemplaba.

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

calcio, y además tiene en cuenta los cambios transitorios en las concentraciones de iones en la vecindad de los poros membranales.

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

Más recientemente, los mismos autores publicaron una segunda versión del modelo LR-I (versión LR-II). Este modelo (Luo CH y Rudy Y, 1994*a*) es mucho más completo que su predecesor, pues considera con detalle las corrientes generadas por las bombas e intercambiadores iónicos del sarcolema, la dinámica intracelular del ion calcio (modeliza el proceso de liberación de calcio inducida por calcio) y las variaciones de las concentraciones intracelulares de todos los iones.

El modelo LR-II ha ido enriqueciéndose en los últimos años con la formulación de nuevas corrientes iónicas que acercan más los resultados del modelo a la realidad electrofisiológica. Por ejemplo, en un trabajo de 1995 (Zeng J *et al.*, 1995), estos autores dividen la corriente rectificadora tardía de potasio en sus dos componentes (rápida y lenta), reformulan la corriente de potasio de meseta en base a datos experimentales más recientes, e introducen en el modelo la corriente por los canales de calcio tipo T.

Más recientemente, el grupo del Rudy Y ha mejorado el modelo LR-II mediante la reformulación de algunas corrientes iónicas (Viswanathan PC *et al.*, 1999) y la introducción de la corriente de potasio dependiente de sodio junto con una mejora en la descripción de la dinámica del calcio intracelular, modelo Faber-Rudy (Faber GM y Rudy Y, 2000).

A mediados de los 90's, los modelos matemáticos integraron los datos obtenidos mediante fijación de voltaje de diferentes especies con los datos capturados en células aisladas para cada especie. En 1995, estudios electrofisiológicos mostraron diferencias en las formas de potencial de acción y de las corrientes iónicas en las diferentes especies utilizadas. Por ejemplo, en rata la corriente I_{to} es la mayor componente de las corrientes iónicas mientras que en cobaya esta corriente no existe. Otra diferencia que se encontró con respecto a las especies fue las corrientes de potasio I_{Kr} e I_{Ks} , ya que difieren de las encontradas en conejo (Salata M *et al.* 1996), de esta forma, se fueron creando modelos para diferentes especies. Demir SS y Pandit SV desarrollaron modelos de ratas (Demir SS *et al.* 1994; Pandit SV *et al.* 2001, 2003). Para conejos fueron los grupos de investigación de Winslow L, Cabo N y

Boyden CH los que desarrollaron dichos modelos para las diferentes células del músculo cardiaco, células ventriculares (Winslow L et al, 1999; Greenstein JL et al, 2000; Shannon TR et al, 2004; Mahajan A et al, 2008), células auriculares (Ramirez RJ et al, 2000; Kneller J et al, 2002), y para células del epicardio (Cabo N y Boyden CH, 2003).

También han sido publicados algunos modelos para humano, aunque éstos incorporan la dificultad de la validez de sus datos debido a la problemática en la toma de datos experimentales. Los modelos publicados han sido desarrollados por Nygren A et al, Courtemanche M et al, Priebe L y Beuckelmann DJ, Ten Tusscher KH et al, Iyer V et al, Grandi L et al y O'Hara y Rudy (Nygren A et al. 1998; Courtemanche M et al. 1998; Priebe L y Beuckelmann DJ, 1998; Ten Tusscher KH et al, 2004; 2006; Iyer V et al, 2004; Grandi L et al, 2010; O'Hara T y Rudy Y, 2011). En la tabla 1.2 se puede apreciar un resumen de los modelos existentes para ventrículo en diferentes especies.

Tabla 1.2 Modelos existentes para ventrículo en diferentes especies.

Autores	Especie	Referencia
Beeler-Reuter	Canino	(Beeler GW y Reuter H, 1977)
Noble	Cobaya	(Noble D et al, 1991)
Puglisi-Bers	Conejo	(Puglisi JL et al, 2001)
Faber-Rudy	Cobaya	(Luo CH y Rudy Y, 1994a;b; Visnawathan PC et al, 1999; Faber GM y Rudy Y, 2000)
Jafri -Rice-Winslow	Cobaya	(Jafri MS et al, 1998)
Shannon	Conejo	(Shannon TR et al, 2004)
Mahajan	Conejo	(Mahajan A et al, 2008)
Hund - Rudy	Canino	(Hund TJ y Rudy Y, 2004)
Priebe	Humano	(Priebe L y Beuckelmann DJ, 1998)
Ten Tusscher	Humano	(Ten Tusscher KH et al, 2004;2006)
Iyer – Winslow	Humano	(Iyer V et al, 2004)
Grandi	Humano	(Grandi L et al, 2010)
O'Hara - Rudy	Humano	(O'Hara T et al, 2011)

Una posibilidad que ha sido explorada en los últimos años consiste en formular ecuaciones del efecto de determinados fármacos sobre las corrientes iónicas sobre las cuales actúan con el fin de arrojar luz sobre su carácter de fármaco proarrítmico o antiarrítmico, o bien con la finalidad de desentrañar sus mecanismos de acción, utilizando para todo ello la técnica de la simulación por ordenador. En general, puede decirse que, en los últimos años, la modelización matemática y la simulación por ordenador han demostrado ser dos técnicas muy útiles para complementar a las técnicas experimentales clásicas en la interpretación de los fenómenos electrofisiológicos.

1.7.1 Modelos de Markov para actividad electrofisiológica celular

Aunque la formulación de canales iónicos de Hodgkin Huxley ha tenido gran éxito para replicar la dinámica de los canales iónicos, los experimentos de cinética de corrientes realizados por Benzanilla y Armstrong a finales de la década de 1970 plantearon que las transiciones de estado son, con frecuencia, dependientes del estado del canal (Benzanilla F y Armstrong CM, 1977). En estos casos, la formulación de Hodgkin Huxley para canales iónicos es insuficiente, ya que se requiere un modelo que pueda representar los estados conformacionales individuales y las dinámicas de transición asociadas.

Los modelos de Markov de tiempo continuo cumplen ese perfil, ya que están basados en la propiedad de Markov, que dice que las transiciones entre estados dependen en la formación actual del canal y no en su conducta previa. Modelos de Markov de corrientes iónicas que incluyen la descripción de los estados moleculares específicos de la proteína y las transiciones entre ellos, como se ha identificado experimentalmente, se han desarrollado exitosamente para modelizar diversos canales iónicos cardiacos, incluyendo I_{Na} , I_{Kr} e I_{Ks} (Rudy Y y Silva JR, 2006). No obstante, la principal desventaja de la formulación de Markov en los canales iónicos es la incrementada complejidad del modelo y la gran cantidad de parámetros que se necesita determinar, con frecuencia limitados por los datos experimentales.

Una manera intuitiva de comprender la aplicación de los modelos de Markov de tiempo continuo a los canales iónicos es considerar que sobre cualquier estado de entrada i , un temporizador $T_{ij} \approx e^{q_{ij}}$ es iniciado por cada posible transición de un estado i , a un estado j , y que q_{ij} es la asociada relación de transición de los estados. Los temporizadores son independientes uno de otro, y cuando el primer temporizador termina, el canal iónico hace su correspondiente transición entre estados. En presencia de una gran cantidad de canales idénticos, el cambio en la probabilidad de la ocupancia de estados puede ser expresada en términos de relaciones de transición de los estados (Colquhoun y Hawkes, 1981). Si T_i es el tiempo transcurrido entre el estado i y el j y $q_i = \sum_{j \neq i} q_{ij}$, entonces $T_i \approx e^{q_i}$. Por tanto, la probabilidad de salto de un estado i a un estado j puede estar definida como q_{ij}/q_i .

Para los canales iónicos cardiacos, las relaciones de transición de estado son dependientes del potencial de membrana V_m y están formuladas en base a los principios termodinámicos como sigue:

$$q_{ij} = \frac{k_B \cdot T}{h} \exp\left(\frac{\Delta S_s}{R} - \frac{\Delta H_s}{R \cdot T} + \frac{Z_s \cdot F \cdot V_m}{R \cdot T}\right) \quad (1)$$

Donde T es la temperatura absoluta, ΔS_s es el cambio en entropía, ΔH_s es el cambio en entalpía, Z_s es la valencia efectiva de la carga, V_m es el potencial de membrana, k_B , h , F y R son las constantes de Boltzmann, Planck, Faraday y de los Gases respectivamente (Hille B, 2001).

Para calcular la corriente iónica macroscópica, es necesario considerar la probabilidad total en el estado abierto o conductor. El cambio en la probabilidad de los estados del canal P_i para N estados discretos se describe por medio de la ecuación diferencial de primer orden.

$$\frac{dP_i}{dt} = \sum_{j=1}^N [q_{ij} \cdot P_j(t)] - \sum_{j=1}^N [q_{ji} \cdot P_i(t)] \quad (2)$$

$$\text{para } i = 1, 2, \dots, N-1; \quad i \neq j \quad \text{y} \quad \sum_{j=1}^N P_j = 1$$

La corriente macroscópica quedará como:

$$I = G_s \cdot P(O) \cdot (V_m - E_s) \quad (3)$$

Donde I es la corriente transmembrana ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$) y G_s es la máxima conductancia de la corriente (mS/cm^2), conformada por el producto de la densidad de canales y la conductancia unitaria del canal, $P(O)$ es la probabilidad total del estado abierto, V_m es el potencial transmembrana, y E_s es el potencial de equilibrio para el ión específico.

1.7.2 Modelos de Markov para canal hERG

Los modelos matemáticos con la formulación de Markov para el canal hERG están basados en las aproximaciones de Kiehn y de Wang (Kiehn J et al, 1999; Wang S et al, 1997). El modelo de Kiehn incluye tres estados cerrados (C3, C2, C1), un estado abierto (O), y un estado inactivado (I). La transición entre C2 and C1 es independiente del voltaje. La inactivación desde el estado cerrado C1 al inactivado I se realiza directamente (Kiehn J et al, 1999). El diagrama de estados de la formulación de Kiehn se ilustra en la figura 1.20.

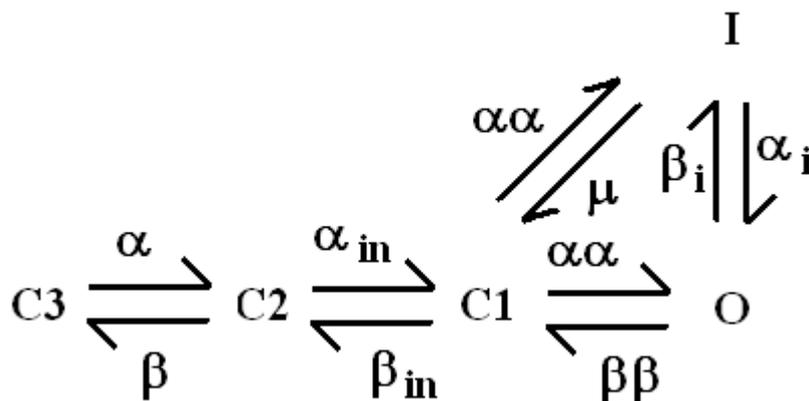


Figura 1.20. Diagrama de estados de la formulación de Kiehn para el canal hERG.

Diferentes autores han desarrollado modelos de Markov basados en la aproximación de Kiehn, con valores de relaciones de transición distintos. En la tabla 1.3 se muestran los autores y diversa información de cada modelo para el canal hERG desarrollado con la formulación de Kiehn. En la tabla también se indica el sistema heterólogo utilizado, ya sea *Xenopus* oocyte o líneas celulares de mamíferos, riñón embrionario de humano (HEK293) y ovario de hamster chino (CHO).

Tabla 1.3 Modelos del canal hERG con la formulación de Kiehn.

Autor	Año	Sistema	Observaciones
Kiehn	1999	<i>Xenopus</i> oocyte	Inactivación de hERG.
Clancy	2001	Cobaya y HEK 293	LQT2 puede prolongar APD
Mazhari	2001	HEK 293	Interacción de hERG y hKCNE2
Lu	2001	CHO	Respuesta a estímulos prematuros
Iyer	2004	HEK 293 y cardiomiocito humano	Cardiomiocito ventricular epicardial humano
Perrin	2008	CHO	Asociación de fármacos a estado inactivo

La tabla 1.4 muestra los valores de los coeficientes de la relación de transición de los diferentes modelos con la formulación de Kiehn.

Tabla 1.4 Valores de los coeficientes de las relación de transición de los diferentes modelos con la formulación de Kiehn.

	Clancy	Mazhari	Lu
Sistema	Cobaya y HEK293	HEK 293	CHO
C3 to C2	$0.0555\exp(0.05547153(V-12))$	$0.0069\exp(0.0272V)$	$0.1161\exp(0.01119V)$
C2 to C3	$0.00235\exp(-0.036588V)$	$0.0227\exp(-0.0431V)$	$0.2442\exp(-0.06V)$
C2 to C1	2.172	0.0266	0.1235
C1 to C2	1.077	0.1348	0.1911
C1 to O	$0.0655\exp(0.05547153(V-36))$	$0.0218\exp(0.0262V)$	$0.0578\exp(0.0363V)$
O to C1	$0.0029357\exp(-0.02158V)$	$0.0009\exp(-0.0269V)$	$0.349e3\exp(-0.0397V)$
O to I	$0.656\exp(0.000942V)(4.5/Ko)^{0.3}$	$0.0059\exp(0.0443V)$	$0.2533\exp(0.0222V)$
I to O	$0.439\exp(-0.02352(V+25))4.5/Ko$	$0.0622\exp(-0.012V)$	$0.0522\exp(-0.03074V)$
C1 to I	$0.0655\exp(0.05547153(V-36))$	$1.29e-5\exp(2.71e-6V)$	$0.052e-3\exp(0.057V)$
I to C1	$1.964e-3\exp(-0.046(V-0.588))$	$0.005e-5\exp(-0.109V)$	$85e-12\exp(-0.0689V)$

Continuación de Tabla 1.4

	Perrin	Iyer
Sistema	CHO	HEK 293
C3 to C2	$0.0387\exp(0.01119V)$	$0.0171\exp(0.033V)$
C2 to C3	$0.0814\exp(-0.06V)$	$0.0397\exp(-0.0431V)$
C2 to C1	0.04116	0.0261
C1 to C2	0.0637	0.1483
C1 to O	$0.0192\exp(0.0363V)$	$0.0206\exp(0.0262V)$
O to C1	$0.116e3\exp(-0.0397V)$	$0.0013\exp(-0.0269V)$
O to I	$0.0844\exp(0.0222V)$	$0.1067\exp(0.0057V)$
I to O	$0.0174\exp(-0.03074V)$	$0.0065\exp(-0.0454V)$
C1 to I	$0.0173e-3\exp(0.057V)$	$8.04e-5\exp(6.98e-7V)$
I to C1	$283e-12\exp(-0.0689V)$	$3.09e-7\exp(-0.1042V)$

La aproximación de Wang contiene los mismos tres estados cerrados (C3, C2, C1), un estado abierto (O), y un estado inactivado (I), pero no existe la inactivación desde el estado cerrado C1 al inactivado I (Wang S et al, 1997). El diagrama de estados del modelo se presenta en la figura 1.21.

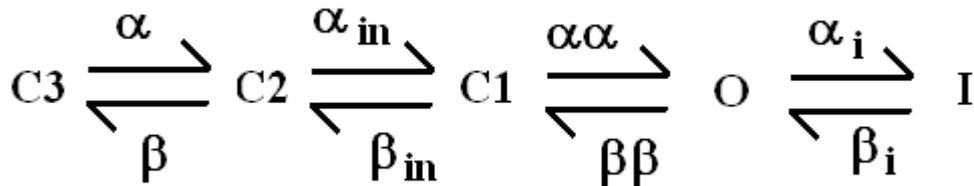


Figura 1.21. Diagrama de estados de la formulación de Wang para el canal hERG .

La tabla 1.5 presenta a los autores que han desarrollado modelos para el canal hERG con la aproximación de Wang con distintos valores de relaciones de transición. Como en la tabla 1.3, también se indica el sistema heterólogo utilizado: *Xenopus* oocyte o líneas celulares de mamíferos, riñón embrionario de humano (HEK293) y ovario de hamster chino (CHO).

Tabla 1.5 Modelos del canal hERG con la formulación de Wang.

Autor	Año	Sistema	Observaciones
Wang	1997	<i>Xenopus</i> oocyte	Caracterización cuantitativa de inactivación
Johnson	1999	CHO	Evidencia de dos distintos sensores de voltaje
Weerapura	2000	<i>Xenopus</i> oocyte	Inactivación rápida minimiza el bloqueo de Bario
Fink	2008	HEK 293	Reserva de repolarización en ventriculo humano

La tabla 1.6 muestra los valores de los coeficientes de las relación de transición de los diferentes modelos con la formulación de Wang.

Tabla 1.6 Valores de los coeficientes de las relación de transición de los diferentes modelos con la formulación de Wang.

	Wang	Johnson	Weerapura	Fink
Sistema	Xenopus oocyte	CHO	Xenopus oocyte	HEK 293
C3 to C2	0.022348exp(0.01176V)	0.0069exp(0.0259V)	0.022348exp(0.0117V)	0.2069exp(0.01119V)
C2 to C3	0.047002exp(-0.0631V)	0.0114exp(-0.0388V)	0.047002exp(-0.0631V)	0.1332exp(-0.0603V)
C2 to C1	0.023761	0.0081	0.023761	0.0421
C1 to C2	0.036778	0.0429	0.036778	0.081
C1 to O	0.01373exp(0.038198V)	0.0114exp(0.0284V)	0.013733exp(0.0381V)	0.022exp(0.0364V)
O to C1	6.89e-5exp(-0.04178V)	0.94e-6exp(-0.0427V)	6.89e-5exp(-0.04178V)	2.26e-4exp(-0.0339V)
O to I	0.0908exp(0.023391V)	0.116exp(0.0147V)	0.3366exp(0.018412V)	0.4183exp(0.0223V)
I to O	0.0064exp(-0.03268V) (2.0/Ko)^0.4	0.014exp(-0.0147V)	0.0167exp(-0.0315V) (2.0/Ko)^0.4	0.0416exp(-0.0312V)

1.8 Clasificación de los fármacos antiarrítmicos

La clasificación de los fármacos antiarrítmicos actualmente más aceptada y vigente es la clasificación de Vaughan Williams (Vaughan Williams EM et al, 1970) que divide a los fármacos antiarrítmicos en 4 grupos atendiendo a su mecanismo de acción. Esta clasificación, sin embargo, está limitada en cuanto a que no tiene en cuenta que determinados fármacos tienen múltiples efectos electrofisiológicos y no pueden ser englobados en un único grupo (Kowey PR et al, 2000). Igualmente, la clasificación de Vaughan Williams no toma en cuenta la acción de los metabolitos de los fármacos que pueden tener diferentes efectos electrofisiológicos.

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

Fármacos antiarrítmicos del grupo I

Su efecto se basa en el bloqueo del canal de Na^+ voltaje-dependiente con lo que deprimen la I_{Na} a nivel auricular y ventricular. Reducen, por tanto, la velocidad de despolarización de la fase 0 y, por consiguiente, la velocidad de conducción (VC) y la excitabilidad (Tamargo J y Valenzuela C, 1992). De acuerdo con la cinética de bloqueo (velocidad de asociación-disociación) del canal de Na^+ , los fármacos de este grupo se subdividen en tres subgrupos:

-Fármacos Ia (cinética intermedia): quinidine, procainamide, disopiramide.

Presentan mayor afinidad por el estado inactivo del canal de Na^+ y su cinética es de velocidad intermedia entre la de los subgrupos Ib y Ic. Prolongan el intervalo QT y la duración del complejo QRS en el electrocardiograma (ECG) así como el periodo refractario efectivo (PRE), al aumentar la duración del PA (por efecto bloqueante de los canales de K^+). Su efecto sobre el canal de Na^+ es modesto, por lo que sus efectos sobre la VC son moderados.

- Fármacos Ib (cinética rápida): lidocaine, mexiletine, tocainide.

Fármacos que presentan mayor afinidad por el estado activo del canal y su cinética de bloqueo es rápida. Acortan ligeramente la duración del potencial de acción (APD) pero sus efectos sobre el PRE y sobre la VC son escasos.

- Fármacos Ic (cinética lenta): flecainide, propafenone, encainide.

Presentan mayor afinidad por el estado activo del canal (flecainide) o por el estado inactivo (propafenone). Su cinética lenta sobre el canal de Na^+ condiciona una potente depresión de la I_{Na} lo que produce una importante reducción de la VC. Sus efectos sobre la APD son prácticamente nulos. En el electrocardiograma, inducen ensanchamiento del complejo QRS.

Fármacos antiarrítmicos del grupo II

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

Fármacos antiarrítmicos del grupo III

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

α y β -adrenérgicos. Otros fármacos pertenecientes a este grupo son el sotalol, el dofetilide y el ibutilide.

Fármacos antiarrítmicos del grupo IV

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

1.9 Efecto proarrítmogénico de los fármacos antiarrítmicos

La aplicación de fármacos antiarrítmicos está sujeta a numerosos efectos adversos, siendo el fenómeno proarrítmogénico uno de los más temidos. Este aspecto de los fármacos antiarrítmicos ha sido referenciado y estudiado por gran cantidad de autores (Zipes DP, 1980; Hoffman BF y Rosen MR, 1981; Creamer JE et al, 1987; El-Sherif N, 1991; García Civera et al, 1991; Morganroth J, 1992; Tamargo J y Valenzuela C, 1992; Nattel S, 1998) y especialmente aplicado a los fármacos del grupo III como el dofetilide (Carmeliet E, 1992; Yuan B et al, 1994; Mounsey JP y DiMarco JP, 2000; Diaz AL y Clifton GD, 2001; Al-Dashti R y Sami M, 2001; Torp-Pedersen C et al, 2000 y 2003, Gillis AM et al, 1998, Baskin EP y Lynch JJ, 1994, Sáiz J et al, 2011).

1.9.1 Mecanismos proarrítmogénicos de los fármacos antiarrítmicos

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

1.- Alteración en los tiempos de conducción: el bloqueo de los canales de Na^{+} por fármacos del grupo I y en especial por los del subgrupo Ic, producen una reducción en las VC sin afectar prácticamente a los PR (El-Sherif N, 1991; Katritsis D et al, 1995; Yamashita T et al, 1995; Wijffels M et al, 2000). Este hecho facilitaría la aparición de bloqueos de la conducción y una reducción en la longitud de onda de activación (λ_0), lo que facilitaría la aparición de fenómenos de reentrada (Creamer JE et al, 1987; Nattel S, 1998, Cardona K et al, 2010). Ver detalles en tabla 1.7.

2.- Alteración de la refractariedad: La prolongación de los PR inducida por fármacos de los grupos I y III puede asociarse con dispersión temporal de los mismos lo que facilita la aparición de reentradas (Creamer JE et al, 1987; Rouet R et al, 2000; Wirth KJ y Knobloch K, 2001; Sáiz J et al, 2011).

3.- Aumento del automatismo y actividad desencadenada: el aumento del automatismo se ha relacionado con taquicardias inducidas por fármacos, así como la aparición de pospotenciales tempranos en relación a fármacos que prolongan el

intervalo QT (Nattel S, 1998) como el dofetilide, procainamide, quinidine o sotalol y pospotenciales tardíos asociados a la toxicidad digitálica (Creamer JE et al, 1987; García Civera R et al, 1991; El-Sherif N, 1991).

Tabla 1.7 Clasificación y efectos de los fármacos antiarrítmicos.

CLASE	ECG	CANAL/RECEPTOR	FÁRMACO
IA	↑QRS ↑QT	Bloqueo Canal Na+ Cinética intermedia	QUINIDINE PROCANAMIDE DISOPIRAMIDE
IB	= QT = QRS	Bloqueo Canal Na+ Cinética rápida	LIDOCAINE MEXILETINE TOCAINIDE
IC	↑QRS	Bloqueo Canal Na+ Cinética lenta	FLECAINIDE PROPAFENONE ENCAINIDE
II	↓FC ↑PR	Bloqueo Receptor β	PROPANOLOL ATENOLOL BISOPROPOL
III	↑QT	Bloqueo Canal K+	SOTALOL DOFETILIDE IBUTILIDE
IV	↓FC ↑PR	Bloqueo Canal Ca ²⁺	VERAPAMIL DILTIAZEM

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

5.- Elevación del umbral de estimulación: fármacos como la flecainide, la procainamide o la quinidine elevan el umbral de estimulación endocárdico con lo que aumenta el riesgo de fallos en la captura de marcapasos (Fornieles H et al, 2002), pudiendo inducir taquicardias dependientes de la bradicardia resultante.

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

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

1.10 El fármaco dofetilide

El dofetilide es un fármaco de nueva generación, aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en octubre de 1999 con dos indicaciones: la conversión a ritmo sinusal de la fibrilación y el flutter auricular, y el mantenimiento del ritmo sinusal cuando éste se consiga (Mounsey JP y DiMarco JP, 2000; Falk RH y DeCara JM, 2000; Diaz AL y Clifton GD, 2001).

1.10.1 Mecanismo de acción

Los fármacos bloqueadores de los canales del potasio suprimen las arritmias cardíacas dependientes de mecanismos reentrantes prolongando la duración del potencial de acción y por lo tanto el período refractario. Este bloqueo de los canales de potasio, da lugar a la prolongación selectiva del período refractario sin afectar a la velocidad de conducción (Gwilt M et al, 1991), aumentando la probabilidad que un impulso reentrante entré en contacto con el tejido que sigue siendo refractario. Lo anterior, determina la terminación de la arritmia y restaura el ritmo normal del nódulo sinusal. Además, este mecanismo promueve aumentos moderados en la contractilidad cardíaca, en comparación con la disminución de la función contráctil del corazón, como hacen la mayoría de las drogas antiarrítmicas. Este perfil farmacológico es específico a la acción de antiarrítmicos de la clase III, según la clasificación de Vaughan Williams.

La utilización de fármacos del grupo I para tratar o prevenir arritmias supraventriculares y ventriculares está limitada en muchos casos por su efecto inotrópico negativo y proarritmogénico, en especial en pacientes isquémicos y con mala función ventricular. Ello ha hecho que los fármacos más empleados en estos casos hayan sido los del grupo III (amiodarone y sotalol). Sin embargo, el efecto de estos fármacos no es exclusivo de clase III, el amiodarone tiene una farmacocinética poco favorable y una toxicidad extracardíaca importante, y el sotalol posee efecto betabloqueante y no es eficaz con frecuencias cardíacas altas. Todo ello ha llevado a la búsqueda de un fármaco con efecto clase III puro (Bashir Y et al, 1995; Baskin EP y Lynch JJ, 1998; Torp-Pedersen C et al, 2003). El dofetilide (UK-68,798) es un fármaco de la clase III puro. La fórmula estructural del dofetilide se muestra en la figura 1.22.

Su mecanismo de acción consiste en el bloqueo selectivo de la componente rápida de la corriente de rectificación tardía de K^+ (I_{Kr})/(I_{hERG}) con lo que prolonga el periodo refractario (PR) y la duración del potencial de acción (APD) sin afectar a la velocidad de conducción (VC), aumentando por tanto, la longitud de onda de activación (λ_0) (Carmeliet E, 1992; Yuan B et al, 1994; Mounsey JP y DiMarco JP, 2000; Diaz AL y Clifton GD, 2001; Al-Dashti R y Sami M, 2001; Torp-Pedersen C et al, 2000 y 2003).

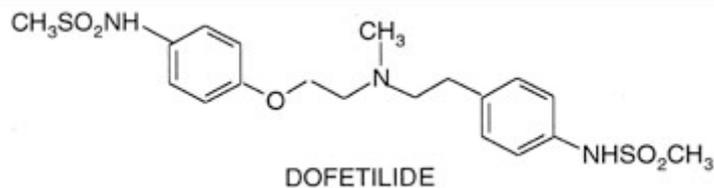


Figura 1.22. Fórmula estructural del dofetilide

Este efecto es similar tanto en corazones normales como hipertrofiados (Gillis AM et al, 1998), dilatados o isquémicos (Montero M et al, 1996), y es igualmente similar a nivel endocárdico como epicárdico por lo que no produce dispersión de PR entre ambas estructuras (Bauer A et al, 1999). En estos fenómenos se basa su efecto antiarrítmico (Cha Y et al, 1996). El bloqueo de la I_{Kr} producido por el dofetilide es dosis y voltaje dependiente, y su efecto es mayor en presencia de potenciales despolarizados (Carmeliet E, 1992) y menor en situaciones de hiperkalemia (Baskin EP y Lynch JJ, 1994). El lugar específico de unión del fármaco al canal hERG es, por el momento, desconocido (Kiehn J et al, 1996) aunque parece ser que una serina en posición hERG 620, participa directamente en la unión del dofetilide al canal (Ficker E et al, 1998). La concentración de K^+ extracelular podría estar implicada en la modulación de la unión del fármaco con el receptor de alta afinidad del canal (Duff HJ et al, 1997), que regula la I_{Kr} .

1.10.2 Efectos electrofisiológicos del dofetilide en el ventrículo

Los estudios clínicos y experimentales realizados con dofetilide en ventrículo, confirman el efecto clase III selectivo del fármaco. El dofetilide alarga la APD y el PR ventricular sin afectar a la VC, aumentando, por tanto, la λ_0 del proceso de activación (Yuan B et al, 1994; Bashir Y et al, 1995; Lande G et al, 1998; Baskin EP y Lynch JJ, 1998).

En la mayoría de estudios experimentales se ha comprobado que el efecto del dofetilide sobre las propiedades electrofisiológicas del miocardio ventricular es, al igual que en el auricular, dependiente de la frecuencia cardíaca o de estimulación (“reverse use dependence”), de manera que su efecto es mayor a frecuencias de

estimulación lentas (Gjini V et al, 1996; Marschang H et al, 1998; Bauer A et al, 1999). Baskin EP y Lynch JJ (1998) en sus experimentos con músculo papilar aislado de tejón, encontraron que este efecto dependiente de la frecuencia está influenciado por la temperatura, de manera que se produce a una temperatura de 37°, pero desaparece al reducir la temperatura a 32°. Según los resultados de otros autores, dicho efecto dependiente de la frecuencia estaría también influenciado por otros factores como la concentración extracelular de potasio (Gjini V et al, 1996), circunstancia no observada por otros como Baskin E y Lynch JJ en 1994. Este efecto dependiente de la frecuencia descrito en los estudios experimentales resultaría poco beneficioso para el manejo de las taquiarritmias tanto auriculares como ventriculares. Sin embargo existen discrepancias entre los resultados experimentales y los clínicos. Estudios clínicos que miden los PR ventriculares durante la realización de estudios electrofisiológicos bajo el efecto del dofetilide concluyen que el fármaco no presenta dicho efecto dependiente de la frecuencia en humanos (Yuan B et al, 1994; Bashir Y et al, 1995), mientras que otros estudios que se basan en la medida del intervalo QT para analizar el efecto del dofetilide, dan como resultado que el fármaco tiene un comportamiento dependiente de la frecuencia cardíaca al igual que en los estudios experimentales (Demolis JL et al, 1996; Lande G et al, 1998). El efecto proarritmogénico del dofetilide ha sido documentado (Bauer A et al, 1999; Mounsey JP y DiMarco JP, 2000). El mecanismo más íntimamente relacionado con dicho efecto, parece ser el alargamiento del intervalo QT a frecuencias bajas lo que se relaciona con la aparición de Torsade de Pointes (Torp-Pedersen C et al, 2000; Falk RH y DeCara JM, 2000; Van Opstal JM et al, 2001; Al-Dashti R y Sami M, 2001). Sin embargo, el fármaco sería más arritmogénico en modelos de animales en los que el dofetilide ha demostrado mayor efecto a frecuencias cardíacas lentas, que en humanos (Yuan B et al, 1994).

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

1.11 Modelización de fármacos

La teoría del receptor en farmacología es la aplicación de los modelos de receptores desarrollados en física-química para explicar los mecanismos de la asociación de moléculas de fármaco con receptores celulares (Kenakin T, 2004). Clark AJ en 1933, fue el primero en aplicar el modelo del receptor, previamente utilizado para describir la cinética de las enzimas, para explicar los efectos de fármacos en canales iónicos (Clark AJ, 1933).

En las últimas décadas, diferentes hipótesis han sido propuestas para explicar la acción de los fármacos. Éstas son: a) Bloqueo del poro; b) Receptor guardado o protegido (*Guarded Receptor* GR) (Starmer CF, et al., 1984; Starmer CF y Grant AO, 1985; Starmer CF y Courtney KR, 1986; Starmer CF, 1987); c) Receptor modulado (*Modulated Receptor* MR) (Hille B, 1977; Hondeghem LM y Katzung BG, 1977; Hondeghem LM y Katzung BG, 1980). En el modelo de bloqueo del poro, el fármaco tiene acceso continuo hacia su receptor y la afinidad al receptor es independiente del estado del canal. Por lo tanto, la unión del fármaco es modelizada como un simple decremento de la conductancia. Este modelo es útil para predecir el efecto de un fármaco independientemente de cómo las compuertas del canal actúan en respuesta a un estímulo dado.

Por otra parte, las hipótesis de GR y MR tienen en cuenta la dependencia de la frecuencia, pero las hipótesis difieren en como asumen el mecanismo y las consecuencias de la asociación del fármaco. La hipótesis GR asume que la afinidad del receptor para el fármaco es constante, mientras el acceso hacia el receptor varía con el estado del canal. Una vez el fármaco se asocia, el canal queda en un estado de no conducción hasta que el fármaco se pueda disociar del receptor (Starmer CF et al., 1984; Starmer CF y Grant AO, 1985; Starmer CF y Courtney KR, 1986; Starmer CF, 1987).

En contraste, la hipótesis MR define que la afinidad del receptor para el fármaco cambia en función del estado del canal, mientras que el acceso al receptor es constante. El fármaco puede asociarse en cualquiera de los tres estados del canal (cerrado, activo e inactivo), pero con diferentes afinidades para cada estado y cada fármaco (Hille B, 1977; Hondeghem LM y Katzung BG, 1977). Para permitir la asociación dependiente del estado, el comportamiento del fármaco asociado al canal deberá ser modificado para preservar el balance de energía. Por lo tanto la hipótesis MR requiere alterar la cinética del canal cuando el fármaco esté asociado al canal.

Recientemente, una cuarta hipótesis de acción de fármaco ha sido propuesta: la hipótesis Efecto alostérico (*Allosteric Effector* AE) (Balsler JR et al., 1996). Al igual que la MR postula que la asociación del fármaco altera la cinética de las compuertas. Esta teoría, asume que el fármaco decrementa la energía libre Gibbs para la conformación de estado inactivo. Este cambio causa que la inactivación del canal sea más fácil y que el canal quede inactivo por un período de tiempo extendido.

De las cuatro hipótesis propuestas para modelizar la acción de fármaco, sólo dos la MR y AE, requieren alteraciones en la cinética de las compuertas del canal. La hipótesis del receptor protegido es la utilizada en este trabajo, por tanto, se ampliarán sus conceptos en el próximo apartado.

1.11.1 Teoría del receptor guardado o protegido Guarded Receptor Theory (GRT)

La teoría del receptor guardado o protegido elaborada por Starmer CF et al, basa su explicación en los canales de sodio y postula que la presencia de fibrilación auricular genera variaciones del pico de la corriente de sodio durante repetitivas estimulaciones sugiriendo cambios sensibles a voltaje en el equilibrio de los canales bloqueados y los no bloqueados (Arnsdorf MF y Bigger JT, 1975; Cahalan MD, 1979, Bean BP et al, 1983; Grant AO et al, 1989). Además, el desarrollo del bloqueo, es dependiente de la disponibilidad del canal, es decir, las compuertas del canal limitan el acceso del fármaco a su receptor, como se ilustra en la figura 1.23 (Starmer CF, 1984; Baumgarten CM et al, 1991).

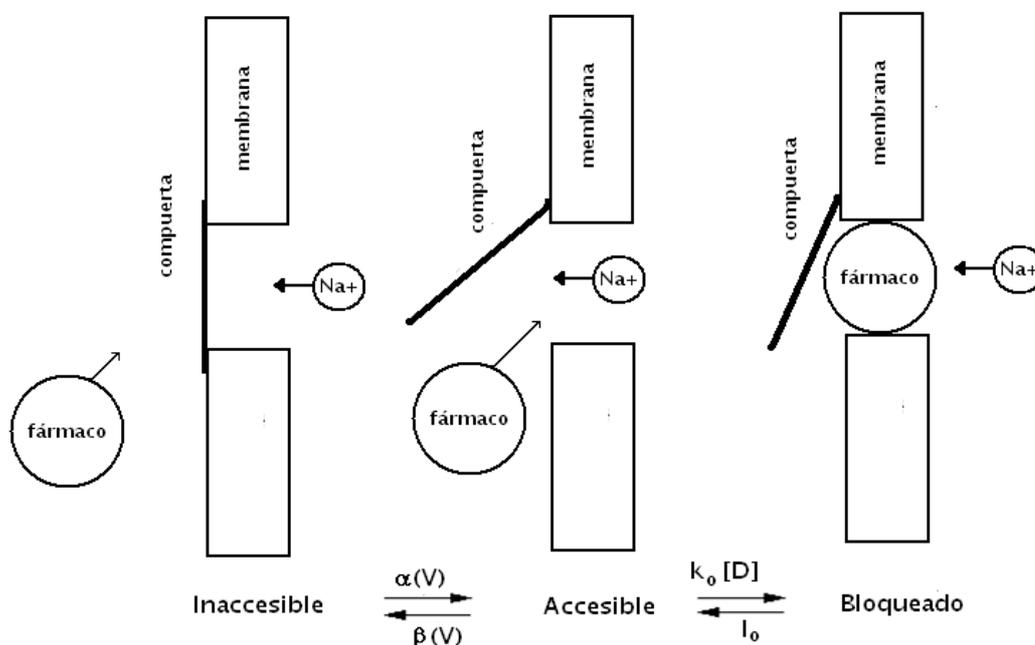


Figura 1.23. Modelo de acción de las compuertas cuando un fármaco bloquea un canal iónico. [tomada Starmer et al. 1984]

El desarrollo del modelo se realiza en 3 fases:

- La interacción del fármaco con el sitio de asociación.
- La modificación de la relación de coeficientes, incorporando la energía necesaria para mover la carga del fármaco hasta el sitio de asociación.
- El efecto de la conformación del canal sobre los sitios de acceso de asociación.

Para una conformación del canal, la interacción del agente bloqueante D, con el canal no bloqueado U, puede ser representado por



Donde B representa la asociación del fármaco con el canal, k_0 y l_0 son los coeficientes de relación de asociación y disociación. Para una conformación específica de canal, la fracción de canales asociados al fármaco, b , está dado por:

$$\frac{db}{dt} = k_0 \cdot [D] \cdot (1 - b) - l_0 \cdot b \quad (5)$$

En presencia de una carga de membrana, la cinética de asociación se modificará por la carga del fármaco debido a la relación de energía requerida para el movimiento del fármaco a través de la diferencia de potencial. Así, V_{pool} representa el potencial de la fuente de origen del fármaco y V_{rec} representa el potencial del receptor del fármaco del canal. Entonces la energía adicional requerida por el movimiento de carga del agente bloqueante, z , desde la fuente hasta el receptor es $z(V_{pool} - V_{rec})$. La incorporación del efecto de movimiento de carga modifica los coeficientes de relación de asociación y disociación así:

$$k_0 = k e^{z \cdot \varepsilon (V_{pool} - V_{rec}) / R \cdot T}$$

$$l_0 = l e^{z \cdot (1 - \varepsilon) (V_{pool} - V_{rec}) / R \cdot T} \quad (6)$$

Donde ε representa la partición del efecto de carga entre las reacciones de asociación y disociación. Para $\varepsilon = 1$, todo el efecto de la carga reside en la reacción de asociación, mientras para $\varepsilon = 0$, el efecto de la carga reside en la reacción de disociación, dando lugar a la siguiente ecuación:

$$\frac{db}{dt} = k \cdot [D] \cdot (1 - b) \cdot e^{z \cdot \varepsilon (V_{pool} - V_{rec}) / R \cdot T} - l \cdot b \cdot e^{z \cdot (1 - \varepsilon) (V_{pool} - V_{rec}) / R \cdot T} \quad (7)$$

Para cada una de las configuraciones del canal, hay una constante de disociación en equilibrio independiente de la configuración, K_d , la cual refleja las diferentes constantes de relación de asociación y disociación, que caracterizan la transición entre el canal asociado y el disociado. Por lo tanto, aunque las constantes de relación de asociación y disociación sean diferentes, K_d será igual para todas las conformaciones en las que el fármaco actúa.

Combinando la cinética de asociación y el modelo de compuertas independientes se podrá plantear una expresión para esta teoría:

$$\frac{db}{dt} = \sum_{s=1}^{S_u} f_s \cdot k_s \cdot [D] \cdot (1-b) \cdot e^{z \cdot \varepsilon (V_{pool} - V_{rec}) / R \cdot T} - \sum_{s=1}^{S_u} g_s \cdot l_s \cdot b \cdot e^{z \cdot (1-\varepsilon) (V_{pool} - V_{rec}) / R \cdot T} \quad (8)$$

Siendo S_u los diferentes estados de conformación, s las conformaciones del canal, $f_s \cdot (1-b)$ es la fracción de canales no bloqueados, $g_s \cdot b$ es la fracción de canales bloqueados, y k_s y l_s son los coeficientes de asociación y disociación para cada estado del canal.

Asumiendo una afinidad del receptor independiente de la conformación del canal, la expresión de equilibrio de bloqueo será:

$$b(\infty) = \left[1 + \frac{W \cdot K_d}{D} e^{-z(V_{pool} - V_{rec}) / R \cdot T} \right]^{-1} \quad (9)$$

Donde $K_d = l_s/k_s$ y W es un factor determinado por la fracción de canales en cada conformación, f_s y g_s (Starmer CF y Kerr RB 1985; Starmer CF y Grant AO, 1985; Starmer CF, 1986; Starmer CF et al, 1991; Starmer CF et al, 1990).

Esta teoría ha sido usada por varios autores y a través de ella se han podido modelizar la acción de diferentes fármacos utilizando las compuertas del canal y los diversos estados en los que el fármaco se puede asociar o disociar (Weirich J y Antoni H 1989, 1990; Kojima M y Ban T, 1988; Ban T et al, 1989; Cardona K et al, 2010; Sáiz J et al, 2011).

CAPÍTULO

II

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

CAPÍTULO II.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Las enfermedades cardiovasculares son un problema de salud pública por su alta morbilidad, costo asistencial y por la frecuencia en que se desarrollan complicaciones que afectan la calidad de vida o la capacidad productiva del paciente. Las arritmias cardíacas son de las más importantes enfermedades cardiovasculares que afectan a una considerable cantidad de personas, no solo a nivel nacional sino a nivel mundial.

Hay una concienciación cada vez mayor de la importancia de diferencias entre los hombres y las mujeres en la fisiología y la patofisiología del sistema cardiovascular. Una de las diferencias más importantes entre los hombres y las mujeres con respecto a sexo y a arritmias es el mayor riesgo en mujeres de una taquicardia ventricular polimórfica, conocida como Torsade de Pointes (TdP), inducida por los fármacos que prolongan la repolarización. Además, el género femenino es un factor de riesgo independiente para el síncope y la muerte súbita en el síndrome de QT largo congénito (SQTL). Aunque los mecanismos moleculares para estas diferencias relacionadas al sexo son en gran parte desconocidos, las diferencias fundamentales en la electrofisiología de los corazones del varón y de la hembra se postulan para ser responsables. Las mujeres tienen ritmos cardíacos más altos e intervalos QT corregidos (QTc) más largos que los hombres. Sin embargo, los preadolescentes y las preadolescentes tienen un QTc similar. Partiendo de lo anteriormente expuesto, se han planteado el siguiente objetivo general para el desarrollo de esta tesis doctoral:

Investigar las diferencias relacionadas al sexo y la edad bajo los efectos de mutaciones y el fármaco dofetilide.

Junto con las diferencias de edad y sexo relacionadas con el QTc, el estudio planteado en esta tesis doctoral ayudaría en el conocimiento más profundo de las diferencias relacionadas a la edad y el sexo en la actividad eléctrica de las células ventriculares (potenciales de acción), la duración de la APD, la susceptibilidad de EADs y la dispersión de repolarización, que en parte puedan explicar las diferencias de género y edad en la incidencia de la prolongación de QT y de TdP, tanto en el SQTL congénito como en el SQTL inducido por fármacos.

Asimismo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Desarrollar modelos matemáticos que representen tejido ventricular a nivel celular y fibra unidimensional para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra de mamífero, modelizando y simulando las regiones epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas en células ventriculares, así mismo, modelizar y simular una fibra unidimensional de tejido ventricular para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra, obteniendo sus respectivos pseudo-ECGs.

2.- Modelizar la acción del fármaco dofetilide en el canal del gen hERG, desarrollando el modelo matemático de la acción del fármaco dofetilide con la hipótesis del receptor guardado utilizando la formulación de Markov.

3.- Evaluar los efectos del fármaco dofetilide a nivel celular y fibra unidimensional en tejidos ventriculares de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones normales y condiciones patológicas, incorporando los modelos matemáticos del dofetilide a los modelos de potencial de acción para evaluar las diferencias con respecto a edad y género bajo los efectos del fármaco en células de cardiomiocitos, también, evaluar la acción combinada del modelo del fármaco dofetilide con el bloqueo de la componente lenta de la corriente rectificadora tardía (I_{Ks}), simulando los efectos de la reserva de repolarización reducida e investigar las diferencias relacionadas a la edad y el sexo bajo los efectos del dofetilide en la fibra unidimensional de tejido ventricular para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra y sus respectivos pseudo-ECGs.

4.- Modelizar tres mutaciones del síndrome de QT largo del tipo 2 (hERG), para lo cual se modelizarán y simularán las células tipo silvestre (wild type WT) y de las mutaciones R56Q, A561V y G604S del SQT2 del tipo 2 en el canal hERG.

5. Evaluar los efectos del fármaco dofetilide en células tipo silvestre (WT) y en células de las 3 mutaciones modelizadas del canal hERG en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra, incorporando los modelos matemáticos del dofetilide a los modelos de potencial de acción en las regiones epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas.

CAPÍTULO

III

MÉTODOS

CAPÍTULO III.- MÉTODOS

3.1 Modelo de potencial de acción unicelular

En los últimos cincuenta años, la modelización matemática de la electrofisiología cardiaca ha recibido un gran impulso, profundizando en el conocimiento de los mecanismos de la arritmogénesis del corazón (Rudy Y y Silva JR, 2006). Ahora se puede contar con detallados modelos celulares de la electrofisiología cardiaca para una variedad de especies animales y tipos de células cardiacas.

3.1.1 Modelo de Faber-Rudy

Uno de los modelos más recientes que simulan el comportamiento eléctrico de las células ventriculares para cobaya ha sido desarrollado en varias fases por el grupo de Yoram Rudy (Luo CH y Rudy Y, 1991; Luo CH y Rudy Y, 1994; Zeng J et al, 1995; Viswanathan PC et al, 1999; Faber GM y Rudy Y, 2000). El modelo no se limita sólo a describir las características eléctricas de un cierto número de canales iónicos, sino que, además, describe con detalle las transferencias de materia (iones) entre diversos compartimentos funcionales que influyen directamente en el potencial de membrana. En la figura 3.1 se presenta el diagrama esquemático de este modelo.

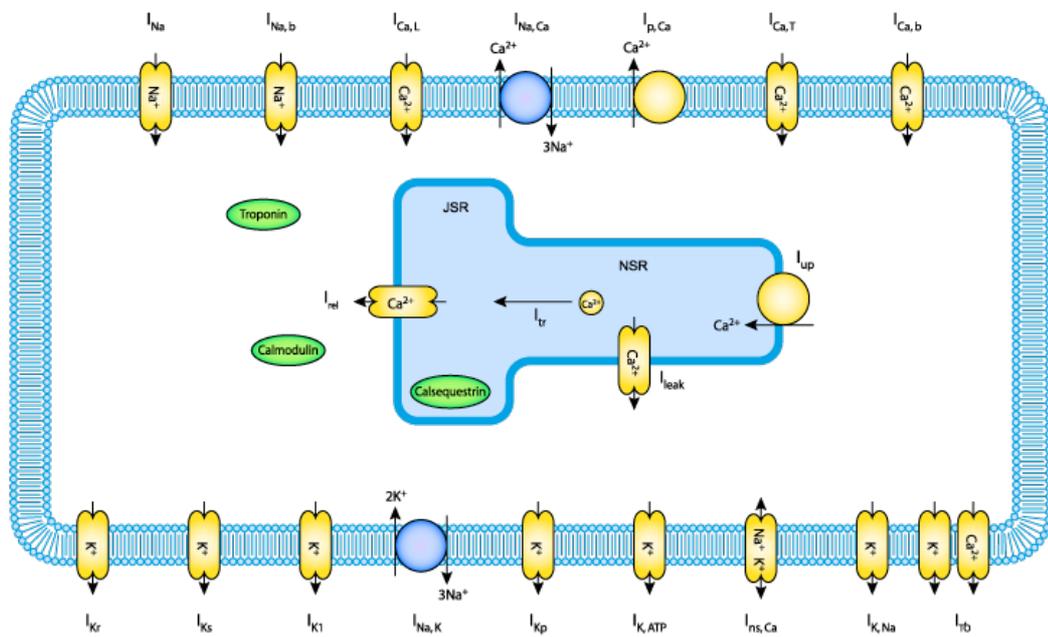


Figura 3.1 Diagrama esquemático del modelo Faber-Rudy 2000.

Así, el modelo considera tres compartimentos: medio extracelular, medio intersticial y medio intracelular que incluye al retículo sarcoplásmico (SR). El SR está dividido a su vez en dos compartimentos: compartimento de entrada del SR (NSR, “network SR”) y compartimento de salida del SR (JSR, “junctional SR”). El modelo incluye

bombas e intercambiadores iónicos, cambio de concentraciones iónicas, almacenes de calcio y una descripción detallada de la dinámica del calcio dentro de la célula. En este trabajo, se ha utilizado el modelo más reciente del grupo de Yoram Rudy, también denominado como modelo Faber-Rudy 2000.

A continuación, se procederá a la descripción del modelo anterior partiendo del esquema eléctrico general de la membrana celular como se muestra en la figura 3.2 y las variaciones de concentraciones iónicas de cada una de las corrientes. En este esquema, las corrientes salientes de la célula son positivas y las entrantes negativas.

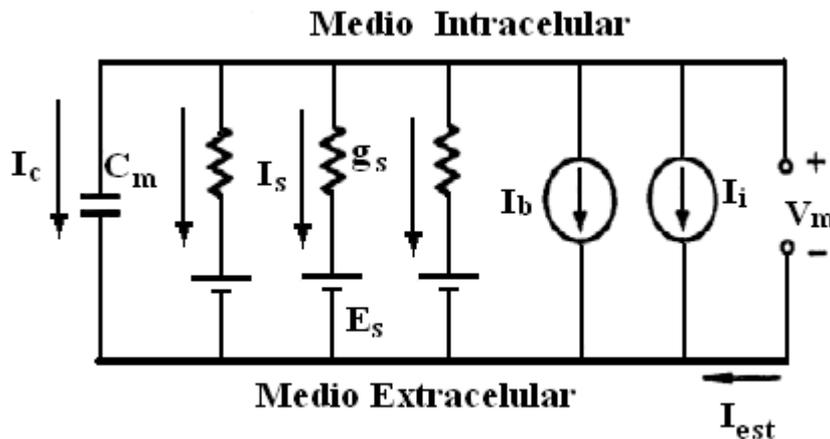


Figura 3.2 Esquema eléctrico general de la membrana celular. I_c : intensidad que atraviesa la capacidad de membrana, C_m : capacidad de la membrana, V_m : potencial de membrana, I_s : corriente iónica genérica, I_b : corriente asociada a una bomba electrogénica, I_i : corriente asociada a uno de los intercambiadores iónicos; I_{est} : corriente de estimulación externa, E_s : potencial de inversión del canal y g_s : conductancia del canal.

La ecuación que describe el comportamiento de la membrana se deduce de la aplicación de la primera ley de Kirkchoff al circuito eléctrico equivalente de la membrana celular de la Figura 3.2, así:

$$I_c + I_{ion} + I_{est} = 0$$

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum I_s(V_{m,t}) + \sum I_b + \sum I_i + I_{est}(t) = 0 \tag{10}$$

Donde:

I_c es la intensidad que atraviesa la capacidad de membrana (C_m), cuyo valor es $1 \mu F/cm^2$ y V_m es el potencial de membrana. I_{ion} es la suma de las corrientes iónicas (I_s), de las corrientes de las bombas electrogénicas (I_b) y de los intercambiadores iónicos (I_i). I_{est} es la corriente de estimulación externa. A continuación se procederá al

análisis de la expresión matemática de una corriente I_s que atraviesa un canal genérico.

La expresión general de la corriente iónica correspondiente al canal iónico s es la siguiente:

$$I_s = P_s \cdot I_{s,max} \quad (11)$$

Donde $I_{s,max}$ es la máxima corriente por el canal y P_s es la probabilidad de apertura del canal. Esta última se expresa, en general, como un producto de variables adimensionales llamadas compuertas (x_i) elevadas a ciertos componentes enteros (n_i):

$$P_s = k_s \cdot (V_m) \cdot x_1^{n_1} x_2^{n_2} x_3^{n_3} \dots \quad (12)$$

Las compuertas toman valores entre 0 y 1, y responden a la siguiente ecuación diferencial de primer orden:

$$\frac{dx_i}{dt} = \alpha_{xi} \cdot (1 - x_i) - \beta_{xi} \cdot x_i \quad (13)$$

Donde los coeficientes α_{xi} y β_{xi} dependen a su vez del potencial de membrana. El factor $k_s(V_m)$ está comprendido entre 0 y 1, y expresa la posible dependencia directa de la probabilidad de apertura en el potencial de membrana. La corriente máxima por el canal ($I_{s,max}$), depende del potencial de membrana y de otros parámetros como concentraciones iónicas, temperatura, etc. La formulación utilizada se basa en la ley de Ohm. La expresión de la corriente máxima será:

$$I_{s,max} = g_{s,max} \cdot (V_m - E_s) \quad (14)$$

Donde $g_{s,max}$ es la conductancia máxima por unidad de superficie, V_m es el potencial de membrana y E_s es el potencial en equilibrio del canal en cuestión. Este último responde, en los canales con especificidad exclusiva de un ion, a la ecuación de Nernst:

$$E_s = \frac{R \cdot T}{Z_s \cdot F} \ln \left(\frac{[s]_o}{[s]_i} \right) \quad (15)$$

Entre los canales iónicos que muestran relaciones potencial-corriente no lineales, existen algunos que se comportan de la forma que predice la ecuación de Goldman del campo constante:

$$I_{s,\max} = P_s \cdot Z_s^2 \cdot F^2 \cdot \frac{V_m}{R \cdot T} \cdot \frac{\gamma_{s,i}[S]_i \cdot e^{(Z_s \cdot F \cdot V_m / R \cdot T)} - \gamma_{s,o}[S]_o}{e^{(Z_s \cdot F \cdot V_m / R \cdot T)} - 1} \quad (16)$$

Donde P_s es la permeabilidad del canal al ion s , z_s es la valencia del ion, $\gamma_{s,i}$ y $\gamma_{s,o}$ son los coeficientes de actividad del ión s en los medios intra y extracelular, respectivamente, y el resto de símbolos tienen sus significados habituales. A continuación se enumeran las corrientes iónicas que se integran en el modelo que se ha utilizado para el presente trabajo.

- Corriente rápida de sodio (I_{Na}): es una corriente entrante compuesta por iones que se activa cuando V_m llega al umbral, siendo la responsable de la fase rápida de despolarización del potencial de acción.
- Corriente de calcio a través de los canales tipo L ($I_{Ca,L}$): es una corriente entrante compuesta principalmente por iones de calcio (I_{Ca}), aunque también se compone de iones de sodio ($I_{Ca,Na}$) y potasio ($I_{Ca,K}$). Esta corriente es la responsable de la meseta del potencial de acción y provoca la liberación de calcio procedente del retículo sarcoplásmico. Esta corriente depende de V_m y de la concentración de calcio intracelular.
- Corriente de calcio a través de los canales tipo T ($I_{Ca(T)}$). Es una corriente de calcio entrante.
- Corriente rectificadora tardía de potasio (I_K). Está compuesta de dos componentes, una rápida (I_{Kr}) y otra lenta (I_{Ks}).
- Corriente rectificadora inversa de potasio (I_{KI}). Esta corriente saliente de potasio es la mayor responsable del potencial de reposo de la célula, también contribuye a la repolarización del potencial de acción.
- Corriente de potasio de meseta (I_{Kp}). Esta corriente saliente de potasio es importante en la fase temprana de la meseta del potencial de acción.
- Corriente no específica activada por calcio ($I_{ns(Ca)}$). Corriente formada por iones de sodio y potasio, y regulada por la concentración de calcio intracelular.

Las corrientes pertenecientes a las bombas electrogénicas son:

- Corriente asociada a la bomba sodio-potasio (I_{NaK}). Corriente saliente que se encarga de reestablecer las concentraciones de sodio y de potasio después del potencial de acción.

- Corriente asociada a la bomba de calcio ($I_{p(Ca)}$). Corriente saliente de calcio que contribuye al reestablecimiento de la concentración de calcio.

Por último, la corriente asociada al intercambiador iónico sodio-calcio (I_{NaCa}) constituye el mecanismo más importante de extracción de calcio de la célula.

Respecto a las dimensiones geométricas, en el modelo Faber-Rudy 2000, la célula miocárdica se considera como un cilindro de radio 11 μm y de 100 μm de longitud. El área total resultante (A_{Geo}) ha de multiplicarse por 2 para obtener el área real o capacitiva (A_{cap}); esto se hace así para tener en cuenta los pliegues del sarcolema. El volumen celular total (V_{cel}) se divide en volumen citoplásmico (V_{myo} , 68%), volumen mitocondrial (26%) y volumen del retículo sarcoplásmico (V_{sr} , 6%). Éste, a su vez, se divide funcionalmente en retículo sarcoplásmico de unión (V_{JSR} , 0.48% del volumen celular total) y en el retículo sarcoplásmico propiamente dicho (V_{NSR} , 5.52% del volumen celular total). En cuanto al volumen extracelular, se considera que éste ocupa un 12% del espacio total, correspondiendo el otro 88% al miocito propiamente dicho. Para detalles ver el anexo I.

3.1.2 Modelos de potencial de acción con diferencias de edad y sexo

Para desarrollar los modelos computacionales de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra se ha utilizado como base el modelo de Faber-Rudy 2000 para potenciales de acción ventriculares de cobaya, aunque modificando diversas corrientes iónicas del modelo que están basadas en datos experimentales de diferentes especies de mamíferos (ratón, cobaya, conejo, perro y humano). Lo anterior debido a que a la fecha no se cuenta con datos experimentales de las corrientes iónicas de una sola especie para llevar a cabo las modificaciones pertinentes para obtener los modelos que presenten las diferencias relacionadas a sexo y edad.

A continuación se detallan las transformaciones de las corrientes iónicas desarrolladas. Para obtener las diferencias de edad y sexo se han modificado los parámetros dependientes de voltaje de I_{CaL} , basados en los datos experimentales de conejo de Sims C et al (Sims C et al, 2008). En la tabla 3.1 se presentan las modificaciones hechas al modelo de Faber-Rudy 2000.

Tabla 3.1 Modificaciones de parámetros de I_{CaL} .

Modelo Faber-Rudy 2000	Modificaciones al modelo
$d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-(V_m + 10)}{6.24}}} \quad (17)$	<p>Para adulto macho (AM)</p> $d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-(V_m + 4.6)}{6.3}}} \quad (20)$
$f_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{(V_m + 32)}{8}}} + \frac{0.6}{1 + e^{\frac{(50 - V_m)}{20}}} \quad (18)$	$f_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{(V_m + 28)}{5.6}}} \quad (21)$
$\tau_f = \frac{1}{0.0197 \cdot e^{-(0.0337 \cdot (V_m + 10))^2} + 0.02} \quad (19)$	$\tau_f = \frac{0.66}{0.0197 \cdot e^{-(0.0337 \cdot (V_m + 10))^2} + 0.02} \quad (22)$
	<p>Para adulto hembra (AF)</p> $d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-(V_m + 6.6)}{6.2}}} \quad (23)$
	$f_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{(V_m + 26)}{5.1}}} \quad (24)$
	$\tau_f = \frac{0.66}{0.0197 \cdot e^{-(0.0337 \cdot (V_m + 10))^2} + 0.02} \quad (25)$
	<p>Para preadolescente macho (PM)</p> $d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-(V_m + 4.6)}{7.1}}} \quad (26)$
	$f_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{(V_m + 29)}{5.3}}} \quad (27)$
	<p>Para preadolescente hembra (PF)</p> $d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-(V_m + 5.4)}{7.4}}} \quad (28)$
	$f_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\frac{(V_m + 32)}{5.8}}} \quad (29)$

Debido a que el modelo de cobaya no incluye la corriente transitoria de salida de potasio (I_{to}), al modelo se le incorporó la I_{to} basada en el formulismo de Dumaine R et al. (Dumaine R et al,1999).

$$I_{to} = G_{ito} \cdot z^3 \cdot y \cdot R_V \cdot (V - E_K) \tag{30}$$

Donde:

E_K es el potencial de equilibrio de los iones potasio

G_{ito} es la conductancia máxima

$$E_K = E_{K1} = \frac{RT}{F} \cdot \ln\left(\frac{[K]_o}{[K]_i}\right) \tag{31}$$

$$R_V = \exp\left(\frac{V}{100}\right) \tag{32}$$

$$\frac{dz}{dt} = \alpha_z \cdot (1 - z) - \beta_z \cdot z \quad \text{Donde:} \quad \left\{ \begin{array}{l} \alpha_z = \frac{10 \cdot e^{\left(\frac{V-40}{25}\right)}}{1 + e^{\left(\frac{V-40}{25}\right)}} \\ \beta_z = \frac{10 \cdot e^{\left(\frac{-(V+90)}{25}\right)}}{1 + e^{\left(\frac{-(V+90)}{25}\right)}} \end{array} \right. \tag{33}$$

$$\tau_z = 1/(\alpha_z + \beta_z) \quad \text{y} \quad z_\infty = \alpha_z / (\alpha_z + \beta_z) \tag{34}$$

$$\frac{dy}{dt} = \alpha_y \cdot (1 - y) - \beta_y \cdot y \quad \text{Donde:} \quad \begin{cases} \alpha_y = \frac{0.015}{1 + e^{\left(\frac{V + 60}{5}\right)}} \\ \beta_y = \frac{0.1 \cdot e^{\left(\frac{V + 25}{5}\right)}}{1 + e^{\left(\frac{V + 25}{5}\right)}} \end{cases} \quad (35)$$

$$\tau_y = 1/(\alpha_y + \beta_y) \quad y \quad y_\infty = \alpha_y / (\alpha_y + \beta_y) \quad (36)$$

En la tabla 3.2 se presentan las modificaciones de las densidades de corriente incluidas en el modelo de potencial de acción basadas en datos experimentales en corazones de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra de diversas especies de mamíferos

Tabla 3.2 Parámetros modificados de densidades de corrientes iónicas.

	ADULTO						PREADOLESCENTE					
	MACHO			HEMBRA			MACHO			HEMBRA		
	EPI	M	ENDO									
Ica	AM	AM	AM	AF	AF	AF	PM	PM	PM	PF	PF	PF
IKr	GKr= 0.0261 mS/uF	GKr= 0.0261 mS/uF	GKr= 0.0261 mS/uF	GKr= 0.0216 mS/uF	GKr= 0.0216 mS/uF	GKr= 0.0216 mS/uF	GKr= 0.0261 mS/uF	GKr= 0.0261 mS/uF	GKr= 0.0261 mS/uF	GKr= 0.0216 mS/uF	GKr= 0.0216 mS/uF	GKr= 0.0216 mS/uF
IKs	GKs= 0.433 mS/uF	GKs= 0.105 mS/uF	GKs= 0.287 mS/uF	GKs= 0.433 mS/uF	GKs= 0.105 mS/uF	GKs= 0.287 mS/uF	GKs= 0.433 mS/uF	GKs= 0.105 mS/uF	GKs= 0.229 mS/uF	GKs= 0.433 mS/uF	GKs= 0.105 mS/uF	GKs= 0.229 mS/uF
Ito	Gto= 0.206 mS/uF	Gto= 0.180 mS/uF	Gto= 0.067 mS/uF	Gto= 0.154 mS/uF	Gto= 0.135 mS/uF	Gto= 0.05 mS/uF	Gto= 0.206 mS/uF	Gto= 0.180 mS/uF	Gto= 0.067 mS/uF	Gto= 0.154 mS/uF	Gto= 0.135 mS/uF	Gto= 0.05 mS/uF

Se modificaron las siguientes condiciones iniciales:

$$V_m = -90 \text{ mV}; \quad K_o = 4.5 \text{ mM}; \quad K_i = 141.2 \text{ mM}; \quad N_{ao} = 132.0 \text{ mM};$$

$$N_{ai} = 9.0 \text{ mM}; \quad C_{ao} = 1.8 \text{ mM}; \quad C_{ai} = 6 \times 10^{-5} \text{ mM}.$$

La componente rápida de la corriente rectificadora tardía de potasio (I_{Kr}) en hembras es 0.83 veces de la de los machos (Liu XK et al, 1998; especie: conejo). La componente lenta de la corriente rectificadora tardía de potasio (I_{Ks}) tiene un gradiente transmural en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas (Liu DW y Anzelevitch Ch, 1995; especie: perro; Viswanathan PC et al, 1999) y presenta una disminución de la conductancia máxima G_{Ks} en preadolescentes de 0.8 veces que el de adultos en tejido endocárdico (Obreztschikova MN et al, 2003; especie: perro). La corriente transitoria de salida de potasio (I_{to}) tiene un gradiente transmural en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas (Li GR et al, 1998; especie: humano; Clayton RH y Holden AV, 2004) y presenta una disminución de la conductancia máxima G_{to} en hembras de 0.75 veces que la de machos (Wu Y et al, 2002; especie: ratón).

3.2 Modelo matemático de propagación 1D

Para simular el tejido ventricular transmural, una fibra heterogénea unidimensional conformada de 400 células ventriculares transversalmente acopladas (100 μm de longitud y 22 μm de diámetro) ha sido utilizada. El modelo comprende una región endocárdica (células de la 0 a la 149), una región midmiocárdica, M-Cells (células de la 150 a la 299) y una región epicárdica (células de la 300 a la 399); representando un grosor transmural de 0.88 cm, en el cual 3/8 del total corresponde a tejido endocárdico, 3/8 a la región de células midmiocárdicas y 2/8 a tejido epicárdico, de acuerdo a datos experimentales para ventrículo de conejo (Yan et al, 2001). Un esquema de la fibra unidimensional se presenta en la figura 3.3.

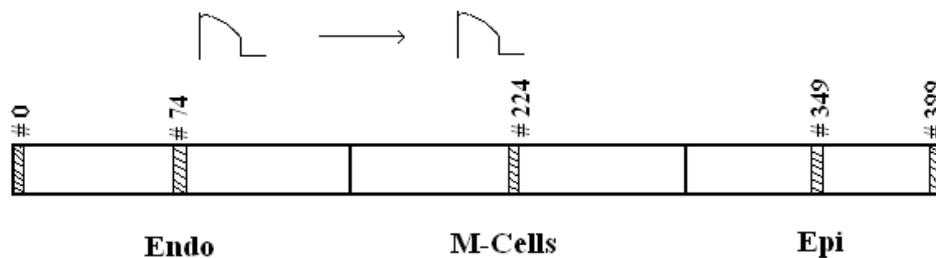


Figura 3.3 Fibra unidimensional con 400 células.

3.2.1 Ecuación de propagación

Una vez desarrollado el modelo de membrana para un tipo de célula determinado, el siguiente paso consiste en ampliar el modelo para poder representar la propagación del potencial de acción (PA) a lo largo de una distribución unidimensional (1D) de células. De esta forma, el nuevo modelo está formado por una serie de segmentos de

membrana eléctricamente conectados entre sí, como se puede apreciar en la Figura 3.4.

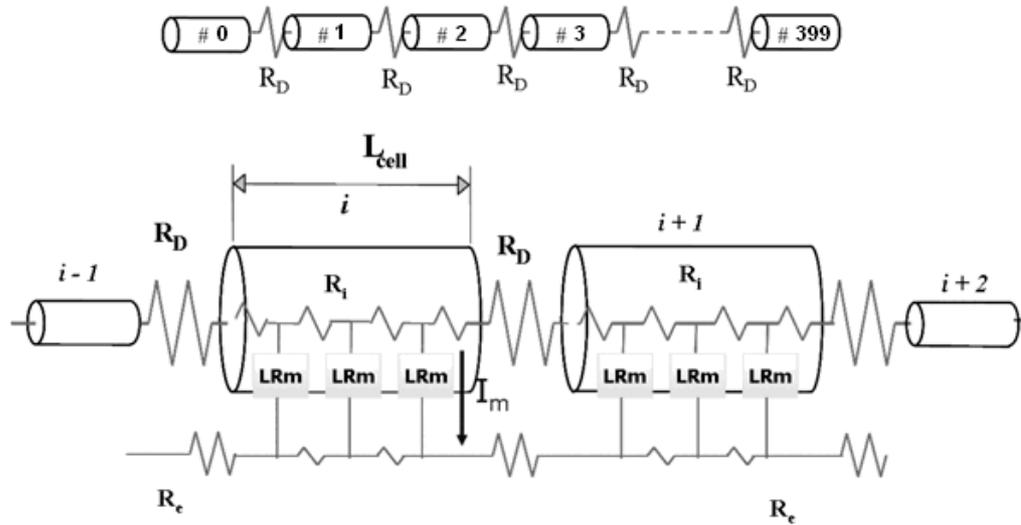


Figura 3.4 Modelo eléctrico 1D de un tejido cardíaco.

Si no se tienen en cuenta los discos intercalares, puede aplicarse la teoría de líneas eléctricas continuas, para obtener la ecuación matemática que describe la propagación del PA. Se considera que la fibra se encuentra en un medio extracelular ilimitado y se desprecia la resistividad extracelular, como modelo monodominio. Al despreciar esta resistividad, el medio extracelular es isopotencial y si por simplicidad se considera que ese potencial es cero, el potencial de membrana resulta ser igual al potencial intracelular:

$$\frac{a}{2R_i} \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} = C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + j_{ion} \tag{37}$$

Donde a es el radio (cm) de las células, consideradas cilíndricas, R_i es la resistividad intracelular ($K\Omega\text{cm}$), V_m es el potencial de membrana (mV), C_m es la capacidad de membrana por unidad de superficie ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$) y j_{ion} es la densidad de corriente iónica ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$), que vendría descrita por el modelo de potencial de acción. Como no es posible aplicar ningún método analítico para obtener la solución exacta de este tipo de ecuaciones diferenciales, hace falta recurrir a métodos numéricos para conseguir una aproximación a la solución de la ecuación diferencial.

3.2.2 Solución aproximada. Método de diferencias finitas

La modelización del comportamiento eléctrico de un tejido celular unidimensional, consta del sistema de ecuaciones diferenciales propuesto por Faber GM y Rudy Y (Faber GM y Rudy Y, 2000), al que se añade la ecuación de propagación (ecuación 37). El programa de simulación utilizado contempla el método de resolución propuesto por Monserrat M et al (Monserrat M et al, 2000). El primer sistema se resuelve con el método de Euler. Paralelamente, la resolución de la ecuación de propagación, se lleva a cabo discretizándola siguiendo el procedimiento de diferencias finitas. Para obtener una ecuación en diferencias finitas que se corresponda con una ecuación diferencial en derivadas parciales, las variables independientes continuas de la ecuación diferencial (espacio (x) y tiempo (t) en este caso) se discretizan como indica la relación:

$$\begin{aligned} t_\tau &= \tau \Delta t; & \tau &\geq 0 \\ x_i &= i \Delta x; & 0 &\leq i \leq n \end{aligned} \quad (38)$$

Donde Δt y Δx son los pasos de discretización temporal y espacial, de forma que sólo se obtendrá una aproximación a la solución de la ecuación diferencial en los puntos en los que se han discretizado las variables tiempo y espacio, es decir, se obtendrá una aproximación para el potencial de membrana en los puntos x_i para los instantes de tiempo t_τ . Posteriormente, se aproximan las derivadas de la ecuación diferencial por cocientes de diferencias, y la ecuación diferencial se transforma en un sistema de ecuaciones algebraicas. En este caso, la derivada parcial del potencial de membrana respecto al tiempo puede sustituirse por el cociente de la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial V_m}{\partial t} \cong \frac{V_m^{\tau+i} - V_m^\tau}{\Delta t} \quad (39)$$

Mientras que para la segunda derivada del potencial de membrana respecto al espacio puede utilizarse varias aproximaciones. La utilización de un método explícito fue descartado, ya que para conseguir convergencia numérica y poder garantizar la estabilidad del método, haría falta utilizar un paso de discretización temporal extremadamente pequeño. Para poder emplear pasos de discretización temporal más grandes y poder, por tanto, necesitar un menor tiempo de cálculo, se utilizan los métodos implícitos.

Con un método implícito, se sustituye la segunda derivada del potencial de membrana respecto al espacio por la siguiente expresión:

$$\frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} \cong (1 - \alpha) \frac{V_{m_{i-1}}^\tau - 2V_{m_i}^\tau + V_{m_{i+1}}^\tau}{(\Delta x)^2} + \alpha \frac{V_{m_{i-1}}^{\tau+1} - 2V_{m_i}^{\tau+1} + V_{m_{i+1}}^{\tau+1}}{(\Delta x)^2} \quad (40)$$

Con $\alpha = 1$, se dice que el método es un método implícito puro, mientras que cuando $\alpha = 0.5$, el método recibe el nombre de Crank-Nicolson [Crank J y Nicolson P, 1947]. Aunque ambos métodos implícitos son incondicionalmente estables y más rápidos que el método explícito, el método de Crank-Nicolson es más preciso que el método implícito puro y es el que se ha utilizado en este trabajo.

La ecuación en diferencias finitas que utiliza la aproximación de Crank- Nicolson para la derivada segunda del potencial de membrana respecto al espacio, presenta la siguiente forma:

$$\frac{a}{2R_i} \left[\frac{V_{m_{i-1}}^\tau - 2V_{m_i}^\tau + V_{m_{i+1}}^\tau}{2(\Delta x)^2} + \frac{V_{m_{i-1}}^{\tau+1} - 2V_{m_i}^{\tau+1} + V_{m_{i+1}}^{\tau+1}}{(\Delta x)^2} \right] \cong C_m \frac{V_{m_i}^{\tau+1} - V_{m_i}^\tau}{\Delta t} + j_{ion_i}^\tau \tag{41}$$

En este caso, puede observarse que para cada instante de tiempo ($t_\tau+1$), es necesario resolver un sistema de ecuaciones y que para cada ecuación de este sistema, es decir, para cada valor de i , existen tres incógnitas: el potencial de membrana del nodo x , $V_{m_i}^{\tau+1}$, el del nodo inmediatamente anterior, $V_{m_{i-1}}^{\tau+1}$, y el del nodo inmediatamente posterior, $V_{m_{i+1}}^{\tau+1}$.

Este esquema puede representarse a través del circuito equivalente que se muestra en la Figura 3.5.

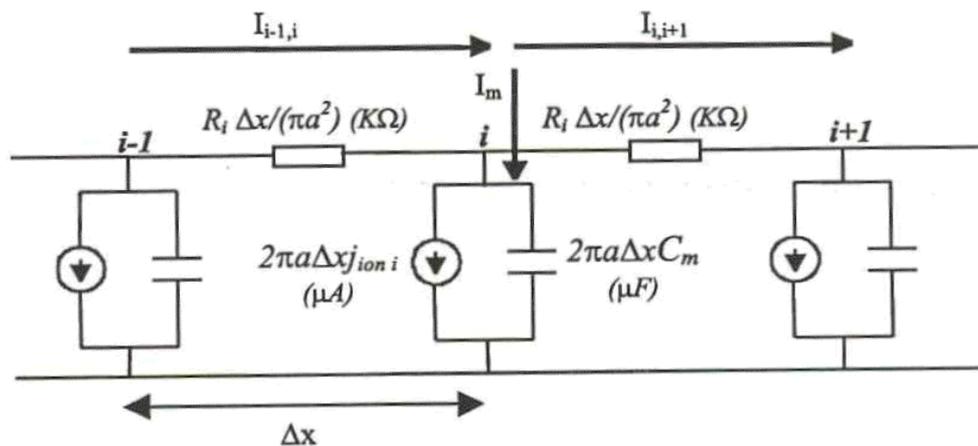


Figura 3.5 Propagación unidimensional del PA. Circuito equivalente.

Así, la matriz de coeficientes del sistema de ecuaciones resultante representa una estructura simétrica y tridiagonal (sólo hay tres diagonales de la matriz con elementos no nulos: la principal y sus dos diagonales adyacentes). Además, los coeficientes de

esta matriz presentan un valor constante de forma que cada sucesivo sistema de ecuaciones sólo difiere de los demás en el término independiente. Para resolver los sistemas de ecuaciones tridiagonales resulta muy ventajosa la utilización de la descomposición LU, que se describe a continuación.

3.2.3 Descomposición LU

En el método LU una matriz A se transforma en el producto de dos matrices L y U, donde L es una matriz triangular inferior con 1s en su diagonal principal, y U es una matriz triangular superior. Una matriz triangular inferior posee elementos nulos en toda la zona que se encuentra por encima de la diagonal principal, mientras que una matriz triangular superior tiene elementos nulos por debajo de dicha diagonal.

En el caso particular de matrices tridiagonales, la descomposición LU sufre una gran simplificación, ya que las matrices L y U obtenidas son bidiagonales. Veamos a continuación cómo se obtendría la descomposición LU para el caso de una matriz tridiagonal de tamaño 4 x4:

$$\begin{pmatrix} a_{1,1} & a_{1,2} & 0 & 0 \\ a_{2,1} & a_{2,2} & a_{2,3} & 0 \\ 0 & a_{3,1} & a_{3,2} & a_{3,3} \\ 0 & 0 & a_{4,1} & a_{4,2} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ l_{2,1} & 1 & 0 & 0 \\ 0 & l_{3,2} & 1 & 0 \\ 0 & 0 & l_{4,3} & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} u_{1,1} & u_{1,2} & 0 & 0 \\ 0 & u_{2,2} & u_{2,3} & 0 \\ 0 & 0 & u_{3,3} & u_{3,4} \\ 0 & 0 & 0 & u_{4,4} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} u_{1,1} & u_{1,2} & 0 & 0 \\ l_{2,1}u_{1,1} & l_{2,1}u_{1,2} + u_{2,2} & u_{2,3} & 0 \\ 0 & l_{3,2}u_{2,2} & l_{3,2}u_{2,3} + u_{3,3} & u_{3,4} \\ 0 & 0 & l_{4,3}u_{3,3} & l_{4,3}u_{3,4} + u_{4,4} \end{pmatrix}$$

(42)

Igualando los elementos de las matrices se deduce que:

$$\begin{aligned}
 u_{i,i+1} &= a_{i,i+1} & \forall i / 1 \leq i \leq 3 \\
 u_{1,1} &= a_{1,1} \\
 u_{i,i-1} &= \frac{a_{i,i-1}}{u_{i-1,i-1}} \\
 u_{i,i} &= a_{i,i} - l_{i,i-1} u_{i-1,i} & \forall i / 2 \leq i \leq 4
 \end{aligned} \tag{43}$$

Este método es muy popular al resolver este tipo de sistemas de ecuaciones por ordenador ya que permite un gran ahorro en el espacio de almacenamiento requerido. No es necesario almacenar los ceros ni de L ni de U, ni los 1s de la diagonal principal de L, ya que son valores conocidos. De esta forma, se pueden almacenar todos los elementos esenciales en sólo tres vectores. Como además, cada elemento de la matriz A, $a_{i,j}$, se utiliza durante la descomposición una única vez, una vez empleado, puede ser reemplazado por el correspondiente elemento de L o de U. De esta forma, al finalizar la descomposición LU, la matriz A se transforma de la siguiente manera:

$$\begin{pmatrix} a_{1,1} & a_{1,2} & 0 & 0 \\ a_{2,1} & a_{2,2} & a_{2,3} & 0 \\ 0 & a_{3,1} & a_{3,2} & a_{3,3} \\ 0 & 0 & a_{4,1} & a_{4,2} \end{pmatrix} \Rightarrow \begin{pmatrix} u_{1,1} & u_{1,2} & 0 & 0 \\ l_{2,1} & u_{2,2} & u_{2,3} & 0 \\ 0 & l_{3,2} & u_{3,3} & u_{3,4} \\ 0 & 0 & l_{4,3} & u_{4,4} \end{pmatrix} \tag{44}$$

La descomposición LU de la matriz de coeficientes de un sistema de ecuaciones simplifica enormemente la resolución de dicho sistema. En nuestro caso, además, sólo es necesario realizar una única descomposición LU, ya que todos los sistemas de ecuaciones comparten la misma matriz de coeficientes. A continuación se muestra la simplificación que representa descomponer la matriz de coeficientes de un sistema de ecuaciones en el producto de dos matrices L y U:

$$Ax \Rightarrow b \quad \Rightarrow \quad LUx = Lc = b \tag{45}$$

El sistema original se descompone en dos sistemas auxiliares de resolución:

Primer Sistema

$$Lc = b$$

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ l_{2,1} & 1 & 0 & 0 \\ 0 & l_{3,2} & 1 & 0 \\ 0 & 0 & l_{4,3} & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} c_{1,1} \\ c_{2,1} \\ c_{3,1} \\ c_{4,1} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} b_{1,1} \\ b_{2,1} \\ b_{3,1} \\ b_{4,1} \end{pmatrix}$$
(46)

Si empleamos la notación $L[i]$ para hacer referencia a los elementos de la diagonal de la matriz L inmediatamente por debajo de la principal (única que tiene elementos significativos) ($L[1] = l_{2,1}$, $L[2] = l_{3,2}$, $L[3] = l_{4,3}$, $L[4] = 0$).

$$\begin{aligned} c_{1,1} &= b_{1,1} \\ c_{i,1} &= b_{i,1} - L[i-1] \cdot c_{i-1,1} \\ \forall i/2 \leq i \leq 4 \end{aligned}$$
(47)

Segundo Sistema

$$Ux = c$$

$$\begin{pmatrix} u_{1,1} & u_{1,2} & 0 & 0 \\ 0 & u_{2,2} & u_{2,3} & 0 \\ 0 & 0 & u_{3,3} & u_{3,4} \\ 0 & 0 & 0 & u_{4,4} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} x_{1,1} \\ x_{2,1} \\ x_{3,1} \\ x_{4,1} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} c_{1,1} \\ c_{2,1} \\ c_{3,1} \\ c_{4,1} \end{pmatrix}$$
(48)

Para este sistema empleamos la siguiente notación: $U1[i]$ serán los elementos de la diagonal principal de la matriz U ($U1[1] = u_{1,1}$, $U1[2] = u_{2,2}$, $U1[3] = u_{3,3}$, $U1[4] = u_{4,4}$) y $U2[i]$ serán los elementos de la diagonal inmediatamente por encima de la principal ($U2[1] = u_{1,2}$, $U2[2] = u_{2,3}$, $U2[3] = u_{3,4}$, $U2[4] = 0$). Este sistema de ecuaciones emplea la solución (vector c) del sistema anterior.

$$x_{4,l} = \frac{c_{4,l}}{U_1[4]}$$

$$x_{i,l} = \frac{c_{i,l} - U_2[i] \cdot x_{i+1,l}}{U_1[i]} \quad (49)$$

$$\forall i/1 \leq i \leq 3$$

En resumen, la ecuación diferencial en derivadas parciales que representa la propagación del potencial de acción se resuelve numéricamente mediante el método de diferencias finitas que calcula una aproximación a la solución de la ecuación diferencial en un conjunto discreto de instantes de tiempo y que divide la agrupación unidimensional de células en un número finito de elementos (celdas), de tal forma que cada elemento es considerado isopotencial y se obtiene sólo en ellos el valor del potencial de membrana.

3.2.4 Modelo unidimensional

En la fibra unidimensional se considero una resistencia intracelular efectiva R_i de $0.34 \Omega\text{cm}^2$, además de la presencia de una barrera resistiva entre las regiones midmiocárdica y epicárdica, es decir entre las células 299-303 (Yan GX et al, 1998).

La velocidad de conducción fue de 37.07 cm/s , valor muy cercano al dato obtenido experimentalmente por Wiegerinck et al (Wiegerinck RF et al, 2006) de 37 cm/s .

3.2.5 Pseudo-ECG

El potencial extracelular generado por la distribución del voltaje de membrana dentro de la fibra virtual unidimensional es estimado usando la siguiente expresión (Plonsey R y Barr RC, 2000; Gima K y Rudy Y, 2002; Clayton RH y Holden AV, 2002):

$$\Phi_e(x', y', z') = \frac{a^2 \sigma_i}{4\sigma_e} \int (-\nabla V_m) \cdot \left(\nabla \frac{1}{r} \right) \cdot dx \quad (50)$$

Donde Φ_e es el potencial simulado en el electrodo virtual colocado a 2 cm de la superficie epicárdica, r es el vector desde el electrodo a las diferentes células en la fibra, ΔV_m es el gradiente espacial de V_m , a es el radio de la fibra, σ_e es la conductividad extracelular y σ_i es la conductividad intracelular. El frente de onda transmural se propaga en paralelo a la superficie epicárdica, por tanto, la posición del

electrodo virtual es ortogonal a la superficie y su distancia solo escala la magnitud de los potenciales extracelulares obtenidos. El perfil temporal de Φ_e constituye una aproximación al componente ventricular del ECG, es decir, el pseudo-ECG.

Para minimizar los efectos de frontera en las simulaciones del pseudo-ECG solo se han tomado en cuenta las células de la 10 a la 390. El intervalo QT se ha definido como el tiempo entre el complejo QRS y la terminación de la onda T. Ver detalles en la figura 3.6.

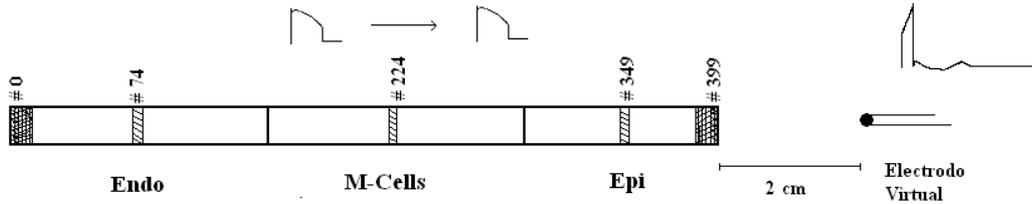


Figura 3.6 Fibra unidimensional y electrodo virtual para el pseudo-ECG.

Los cambios en el pseudo ECG solamente pueden ser producidos por cambios en las distribuciones espacio temporales transmurales del potencial de membrana celular y son debidos a cambios en la corriente total iónica de la membrana celular o en el acoplamiento electrotónico. Los pseudo-ECGs se utilizan para caracterizar la propagación de potenciales de acción transmurales del endocardio al epicardio.

3.3 Modelización de los efectos del dofetilide

3.3.1 Modelización de la interacción de I_{Kr} -dofetilide

Con el fin de modelizar los efectos del dofetilide en I_{Kr} , se ha utilizado la formulación de I_{Kr} propuesta por Zeng y Rudy (Zeng y Rudy, 1995). Esta formulación es basada en datos experimentales obtenidos por Sanguinetti y Jurkiewicz (Sanguinetti MC, y Jurkiewicz NK, 1990). Ellos proponen los canales de I_{Kr} con tres posibles estados: cerrado (C), abierto (O) e inactivado (I). La formulación de I_{Kr} es expresada en la siguiente ecuación:

$$I_{Kr} = G_{Krmax} \cdot X_r \cdot R(V_m - E_{Kr}) \tag{51}$$

Donde V_m es el potencial de membrana, E_{Kr} es el potencial de equilibrio del potasio, G_{Krmax} es la máxima conductancia de I_{Kr} , X_r es la compuerta de activación y R es la compuerta de inactivación independiente del tiempo. En el modelo de dofetilide, el efecto del dofetilide es representado por la introducción del factor $(1-b)$ en la formulación de I_{Kr} (donde b es la fracción de canales bloqueados por el

fármaco). Por tanto, la nueva formulación de I_{Kr} tomando en cuenta el efecto del dofetilide es:

$$I_{Kr} = (1 - b) \cdot G_{Kr\max} \cdot X_r \cdot R(V_m - E_{Kr}) \quad (52)$$

La actividad bloqueadora de b en la ecuación de I_{Kr} se ha modelizado utilizando la hipótesis del receptor protegido GR “ guarded receptor hypothesis” (Starmer F, 1984). La hipótesis GR asume que la afinidad del receptor para el fármaco es constante, mientras el acceso hacia el receptor varía con el estado del canal. Una vez el fármaco se asocia, el canal queda en un estado de no conducción hasta que el fármaco se pueda disociar del receptor.

Los estudios experimentales del dofetilide han demostrado una interacción fármaco-receptor en los estados abierto e inactivado, pero no en los estados cerrados (Yang T et al, 1997; Weerapura M et al, 2002). Tomando en cuenta estas evidencias experimentales, el modelo del bloqueo de I_{Kr} por dofetilide se muestra en la figura 3.7 (Sáiz J et al, 2011).

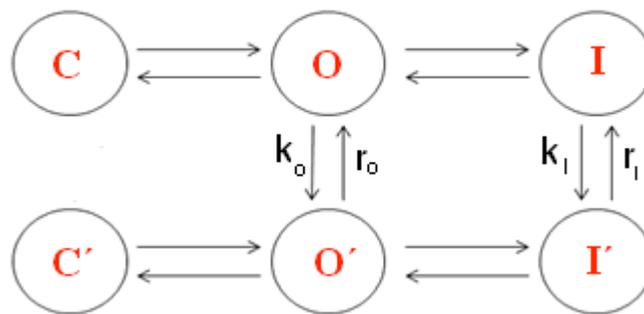


Figura 3.7 Modelo del bloqueo de I_{Kr} por dofetilide.

La figura 3.7 muestra que en presencia del dofetilide el modelo consiste de estados acoplados por el fármaco y estados no acoplados, donde k_o y k_i son las constantes de relación de asociación y r_o y r_i son las constantes de relación de disociación, en los estados abiertos e inactivados respectivamente. Para este modelo, el factor de bloqueo b para una concentración de dofetilide D puede ser calculado por la siguiente ecuación:

$$\frac{db}{dt} = [X_r \cdot R \cdot k_o + (1 - R) \cdot k_i] D(1 - b) - [X_r \cdot R \cdot r_o + (1 - R) \cdot r_i] b \quad (53)$$

3.3.2 Estimación de parámetros

Los valores de los parámetros de las constantes de relación de asociación y disociación que describen la interacción fármaco-receptor se basaron en el modelo de la interacción de I_{Kr}-dofetilide de Sáiz J et al (Sáiz J et al, 2011), los cuales se muestran en la tabla 3.3

Tabla 3.3 Constantes de relación de asociación y disociación.

Constantes	
k_0	0.45135 $\mu\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}$
k_1	0.54865 $\mu\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}$
r_0	0.00315945 s^{-1}
r_1	0.00384055 s^{-1}

Utilizando datos experimentales (Weerapura M et al, 2002), los valores de los parámetros fueron estimados por medio del procedimiento de mínimos cuadrados y el algoritmo de investigación de parámetros de Levenberg-Marquardt (Levenberg K, 1944; Marquardt D, 1963).

El algoritmo de Levenberg-Marquardt (LM) es un algoritmo iterativo de optimización en el que el método de iteración presenta una ligera modificación sobre el método tradicional de Newton. Las ecuaciones normales $N\Delta = J^T J \Delta = J^T \epsilon$ (J representa el jacobiano de la función, Δ los incrementos de los parámetros y ϵ el vector de errores residuales del ajuste), son reemplazadas por las ecuaciones normales aumentadas $N^* \Delta = J^T \epsilon$, donde $N^*_{ii} = (1 + \lambda_i) N_{ii}$ y $N^*_{ij} = N_{ij}$ para $i \neq j$. El valor de λ es inicialmente puesto a algún valor, normalmente $\lambda = 10^{-3}$. Si el valor de Δ obtenido resolviendo las ecuaciones aumentadas conduce a una reducción del error, entonces el incremento es aceptado y λ es dividido por 10 para la siguiente iteración. Por otro lado si el valor de Δ conduce a un aumento del error, entonces λ es multiplicado por 10 y se resuelven de nuevo las ecuaciones normales aumentadas, este proceso continúa hasta que el valor de Δ encontrado da lugar a un decremento del error. Este proceso de resolver repetidamente las ecuaciones normales aumentadas para diferentes valores de λ hasta encontrar un valor aceptable de Δ es lo que constituye una iteración del algoritmo de LM.

3.3.3 Modelización de la interacción de I_{hERG} -dofetilide

Los más recientes modelos matemáticos con la formulación de Markov para la corriente de la componente rápida del rectificador tardío de potasio o corriente del canal hERG (I_{hERG}), están basados en las aproximaciones de Kiehn (Kiehn J et al, 1999) y de Wang (Wang S et al, 1997), ver detalles en la introducción.

Para modelizar los efectos del dofetilide en I_{hERG} , se ha utilizado la formulación del canal hERG propuesta por Clancy CE y Rudy Y (Clancy CE y Rudy Y, 2001). El método de Clancy y Rudy 2001 está basado en la aproximación de Kiehn a una temperatura de 37° C y con datos experimentales obtenidos de cobaya y líneas celulares de mamífero HEK293 . El modelo se muestra en la figura 3.8.

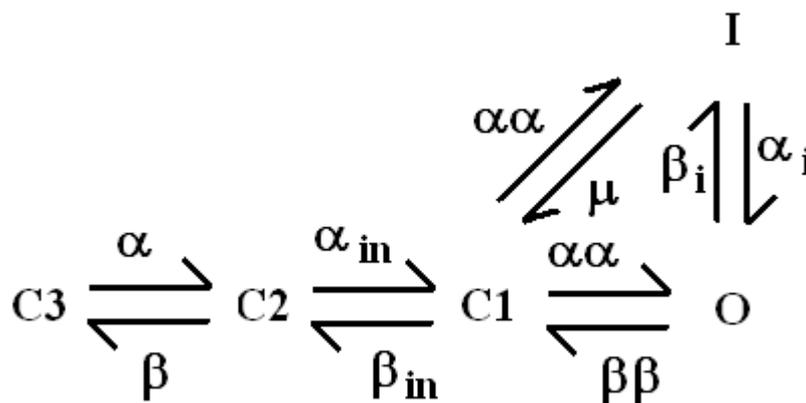


Figura 3.8 Modelo del canal hERG propuesto por Clancy CE y Rudy Y.

El modelo de Kiehn incluye tres estados cerrados (C3, C2, C1), un estado abierto (O), y un estado inactivado (I). La transición entre C2 and C1 es independiente del voltaje. La inactivación desde el estado cerrado C1 al inactivado I se realiza directamente (Kiehn J et al, 1999). La formulación de I_{hERG} es expresada en la siguiente ecuación:

$$I_{hERG} = G_{Kr_{max}} \cdot P(O) \cdot (V_m - E_{Kr}) \tag{54}$$

Donde, $G_{Kr_{max}}$ es la conductancia máxima de la corriente $I_{Kr/hERG}$, $P(O)$ es la probabilidad total de ocupancia del estado abierto, V_m es el potencial transmembrana y E_{Kr} es el potencial de equilibrio del potasio.

La actividad bloqueadora del dofetilide en el canal hERG se ha modelizado utilizando la hipótesis del receptor protegido GR “guarded receptor hypothesis” (Starmer F, 1984). La hipótesis GR asume que la afinidad del receptor para el fármaco es constante, mientras el acceso hacia el receptor varía con el estado del canal. Una vez el fármaco se asocia, el canal queda en un estado de no conducción hasta que el fármaco se pueda disociar del receptor. Los estudios experimentales del dofetilide han demostrado una interacción fármaco-receptor en los estados abierto e inactivado, pero no en los estados cerrados (Yang T et al, 1997; Weerapura M et al, 2002, Milnes JT et al, 2010). Tomando en cuenta estas evidencias experimentales, el diagrama de estados del modelo de la interacción I_{hERG} - dofetilide estaría representado como se muestra en la figura 3.9.

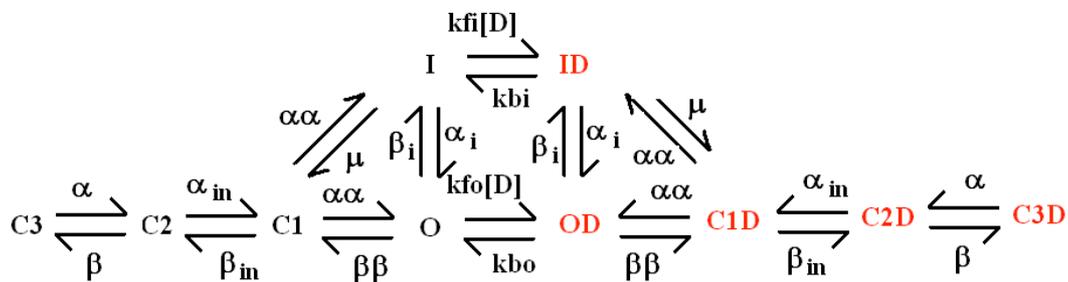


Figura 3.9 Diagrama de estados del modelo de la interacción de la corriente I_{hERG} con el fármaco dofetilide.

Los valores de los coeficientes de las relación de transición propuestos por Clancy y Rudy (Clancy CE y Rudy Y, 2001) para las células WT son:

- C3 a C2 (α) = $0.0555\exp(0.05547153(V-12))$
- C2 a C3 (β) = $0.00235\exp(-0.036588V)$
- C2 a C1 (α_{in}) = 2.172
- C1 a C2 (β_{in}) = 1.077
- C1 a O ($\alpha\alpha$) = $0.0655\exp(0.05547153(V-36))$
- O a C1 ($\beta\beta$) = $0.0029357\exp(-0.02158V)$
- O a I (α_i) = $0.656\exp(0.000942V)(4.5/Ko)^{0.3}$
- I a O (β_i) = $0.439\exp(-0.02352(V+25))4.5/Ko$
- C1 a I ($\alpha\alpha$) = $0.0655\exp(0.05547153(V-36))$
- I a C1 (μ) = $1.964e-3\exp(-0.046(V-0.588))$

Los valores de las constantes de relación de asociación y disociación son los mismos que para la formulación de Hodgkin Huxley mostrados en la tabla 3.3, $k_{fo} = k_o = 0.45135 \mu\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}$; $k_{bo} = r_o = 0.00315945 \text{ s}^{-1}$; $k_{fi} = k_i = 0.54865 \mu\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}$ y $k_{bi} = r_i = 0.00384055 \text{ s}^{-1}$.

Los valores de las probabilidades de ocupancia de los estados se obtienen resolviendo las ecuaciones diferenciales de cada uno de ellos, utilizando la ley de acción de masas.

$$\frac{dP(C3)}{dt} = \beta \cdot P(C2) - \alpha \cdot P(C3) \quad (55)$$

$$\frac{dP(C2)}{dt} = \alpha \cdot P(C3) + \beta_{in} \cdot P(C1) - (\beta + \alpha_{in}) \cdot P(C2) \quad (56)$$

$$\frac{dP(C1)}{dt} = \alpha_{in} \cdot P(C2) + \beta\beta \cdot P(O) + \mu \cdot P(I) - (\beta_{in} + \alpha\alpha + \alpha\alpha) \cdot P(C1) \quad (57)$$

$$\frac{dP(O)}{dt} = \alpha\alpha \cdot P(C1) + \alpha_i \cdot P(I) + k_{bo} \cdot P(OD) - (k_{fo} [D] + \beta\beta + \beta_i) \cdot P(O) \quad (58)$$

$$\frac{dP(I)}{dt} = \alpha\alpha \cdot P(C1) + \beta_i \cdot P(O) + k_{bi} \cdot P(ID) - (\mu + \alpha_i + k_{fi} [D]) \cdot P(I) \quad (59)$$

$$\frac{dP(ID)}{dt} = k_{fi} [D] \cdot P(I) + \alpha\alpha \cdot P(C1D) + \beta_i \cdot P(OD) - (k_{bi} + \alpha_i + \mu) \cdot P(ID) \quad (60)$$

$$\frac{dP(OD)}{dt} = k_{fo} [D] \cdot P(O) + \alpha_i \cdot P(ID) + \alpha\alpha \cdot P(C1D) - (k_{bo} + \beta_i + \beta\beta) \cdot P(OD) \quad (61)$$

$$\frac{dP(C1D)}{dt} = \alpha_{in} \cdot P(C2D) + \beta\beta \cdot P(OD) + \mu \cdot P(ID) - (\beta_{in} + \alpha\alpha + \alpha\alpha) \cdot P(C1D) \quad (62)$$

$$\frac{dP(C2D)}{dt} = \alpha \cdot P(C3D) + \beta_{in} \cdot P(C1D) - (\beta + \alpha_{in}) \cdot P(C2D) \quad (63)$$

$$\frac{dP(C3D)}{dt} = \beta \cdot P(C2D) - \alpha \cdot P(C3D) \quad (64)$$

3.4 Modelización de mutaciones

La mutación R56Q en el dominio Per-Arnt-Sim (PAS) en los canales de potasio de hERG acelera la desactivación del canal. Se eligió esta mutación sustitutiva, ya que es la que puede incrementar más profundamente esta relación de desactivación (Chen J et al, 1999).

La mutación R56Q es simulada incrementando la relación de transición $O \rightarrow C1$ por un factor de 6.3 y la relación de transición $C2 \rightarrow C3$ por un factor de 10.5 (Clancy CE y Rudy Y, 2001). Estas relaciones de desactivación incrementadas resultan en un cambio hacia la derecha en la dependencia de voltaje de la activación y rectificación debido al fuerte acoplamiento entre los estados discretos.

La mutación A561V interactúa con las subunidades de células tipo silvestre “wild type” (WT) y esta interacción causa una reducción en la cantidad total de canales hERG disponibles, produciendo una corriente de hERG reducida (Kagan A et al, 2000). La mutación sustitutiva A561V en el dominio del segmento transmembrana S5 de los canales de potasio de hERG acelera la activación y la inactivación del canal.

La mutación A561V es simulada modificando el término de la relación de transición entre $C1 \rightarrow O$ y $C1 \rightarrow I$ de (v-36) a (v-16) y reduciendo la conductancia máxima G_{Kr} en un porcentaje de 83% (Itoh H et al, 2009). Estas relaciones de activación e inactivación incrementadas resultan en un cambio hacia la izquierda en la dependencia de voltaje de la activación y rectificación.

La mutación G604S exhibe una supresión dominante negativa de corriente, resultando en una disminución de la densidad de corriente y unas propiedades alteradas de la cinética del canal hERG, así como una interferencia en el tráfico de la proteína de hERG (Huo J et al, 2008).

La mutación G604S es simulada modificando el término de la relación de transición entre $I \rightarrow O$ de (v+25) a (v+35) y reduciendo la conductancia máxima G_{Kr} en un porcentaje de 70.4% (Itoh H et al, 2009). Estas relaciones incrementadas de inactivación y recuperación de la inactivación resultan en un cambio hacia la izquierda en la dependencia de voltaje de la inactivación y recuperación de la inactivación.

Las modificaciones en las relaciones de transición y la conductancia máxima de G_{Kr} de las 3 mutaciones con respecto a células WT, se presentan en la tabla 3.4.

Tabla 3.4 Modificaciones en mutaciones con respecto a células WT.

Relaciones transición	Células WT	Mutación R56Q
O → C1	$0.0029357\exp(-0.02158V)$	$0.0029357\exp(-0.02158V)*6.3$
C2 → C3	$0.00235\exp(-0.036588V)$	$0.00235\exp(-0.036588V)*10.5$
		Mutación A561V
C1 → O	$0.0655\exp(0.05547153(V-36))$	$0.0655\exp(0.05547153(V-16))$
C1 → I	$0.0655\exp(0.05547153(V-36))$	$0.0655\exp(0.05547153(V-16))$ decremento de la conductancia máxima G_{Kr} del 83%.
		Mutación G604S
I → O	$0.439\exp(-0.02352(V+25))4.5/Ko$	$0.439\exp(-0.02352(V+35))4.5/Ko$ decremento de la conductancia máxima G_{Kr} del 70.4%.

A fin de analizar los efectos provocados por las mutaciones R56Q, A561V y G604S a nivel celular, los modelos de Markov de las tres mutaciones en hERG fueron incorporados al modelo celular ventricular de Faber – Rudy 2000, substituyendo la formulación original de I_{Kr} .

CAPÍTULO

IV

RESULTADOS

CAPITULO IV.- RESULTADOS

En los objetivos de esta tesis se plantearon desarrollar un modelo matemático que represente el efecto del dofetilide sobre el canal de potasio en células ventriculares tanto en situaciones de condiciones normales como en condiciones patológicas e incorporar este modelo de la interacción del dofetilide con I_{Kr} en los modelos de potencial de acción para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra, para evaluar las diferencias con respecto a edad y género bajo los efectos del fármaco en células de cardiomiocitos.

4.1 Modelo de dofetilide - I_{Kr}

Como se comento en la introducción, el dofetilide es un fármaco de la clase III puro, cuyo mecanismo de acción consiste en el bloqueo selectivo de la componente rápida de la corriente de rectificación tardía de K^+ (I_{Kr}). Tiene una característica de voltaje y tiempo independientes, ya que no modifica la cinética del canal; por tanto, solo modifica a la conductancia máxima. El diagrama esquemático del modelo de la interacción dofetilide- I_{Kr} con la formulación de Hodgkin Huxley se muestra en la figura 4.1.

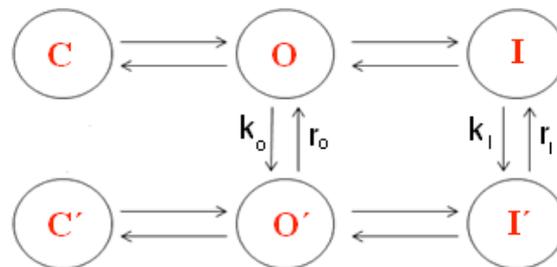


Figura 4.1 Diagrama esquemático del modelo de la interacción dofetilide- I_{Kr} con la formulación de Hodgkin Huxley.

Basado en el procedimiento descrito en Métodos (Sáiz J et al, 2011) se obtuvieron los valores para las constantes de relación de asociación y disociación. En la figura 4.2 se muestran los efectos del bloqueo en estado estable del dofetilide en la corriente I_{Kr} simulada en control y a diferentes concentraciones de dofetilide de 1, 10, 30 y 100 nM, que corresponden a bloqueos de corriente de 12, 59, 81 y 93 % respectivamente. En la figura se puede observar su mecanismo de acción con el bloqueo selectivo de la componente rápida de la corriente de rectificación tardía de K^+ (I_{Kr}) con lo que prolonga el periodo refractario (PR) y la duración del potencial de acción (APD), sin afectar a la velocidad de conducción (VC), aumentando por tanto, la longitud de onda de activación (λ_0) (Carmeliet E, 1992; Yuan B et al, 1994; Mounsey JP y DiMarco

JP, 2000; Diaz AL y Clifton GD, 2001; Al-Dashti R y Sami M, 2001; Torp-Pedersen C et al, 2000 y 2003) y también se ilustran sus características de voltaje y tiempo independientes, ya que no modifica la cinética del canal; por tanto, solo modifica a la conductancia máxima.

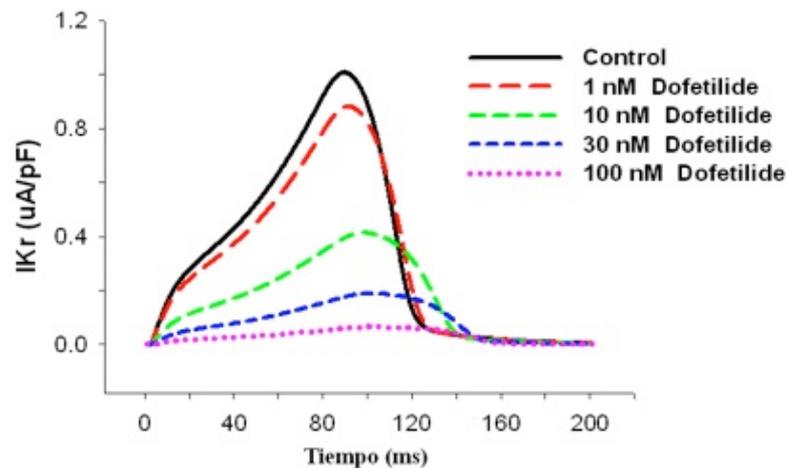


Figura 4.2 Bloqueo de la corriente I_{Kr} con diferentes concentraciones de dofetilide.

4.2 Diferencias del sexo y la edad sobre la actividad eléctrica celular.

Se han desarrollado modelos matemáticos que representen tejido ventricular a nivel celular incluyendo las regiones epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra de mamífero. Los efectos sobre la duración del potencial de acción y curva de restitución en estos modelos aportan información electrofisiológica en las diferencias relacionadas al sexo y la edad en adultos y preadolescentes.

4.2.1 Efectos sobre la duración del potencial de acción (APD).

Se incorporaron los modelos computacionales desarrollados de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en células epicárdicas, midmiocárdicas (M-Cells) y endocárdicas en el modelo celular ventricular de Faber-Rudy 2000 (Faber GM y Rudy Y, 2000) para analizar sus disparidades en la duración del potencial de acción (action potential duration, APD) en condiciones normales.

En la figura 4.3 se muestran los potenciales de acción de adulto macho y adulto hembra en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas a una frecuencia de estimulación de 1 Hz. Siendo los potenciales de acción epicárdicos los que presentan una APD más corta en cada uno de los modelos.

Comparando los modelos de adulto macho y adulto hembra de la figura 4.3 se puede observar que en todos los tipos de células (epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas), los potenciales de acción del modelo de adulto hembra fueron significativamente más largos que los de adulto macho; 113 ms, 133 ms y 128 ms respectivamente para adulto hembra, mientras que para adulto macho fueron 103 ms, 120 ms y 119 ms.

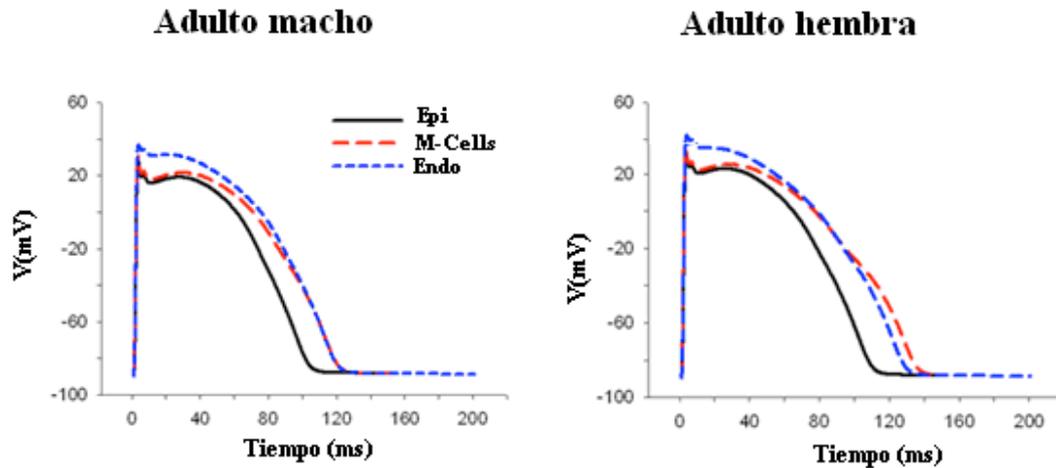


Figura 4.3 Potenciales de acción de adulto macho y adulto hembra a una frecuencia de estimulación de 1Hz.

Los potenciales de acción de células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los modelos de preadolescente macho y preadolescente hembra se muestran en la figura 4.4. Similar a los modelos de adultos, el potencial epicárdico tiene una APD más corta que en las células midmiocárdicas y endocárdicas en los dos modelos de preadolescentes. Además, al comparar los potenciales de acción de la figura 4.4, se puede observar que la APD midmiocárdica de la preadolescente hembra es mucho mayor que la del preadolescente macho (148 ms y 137 ms), mientras que las APDs epicárdica y endocárdica de la preadolescente hembra son ligeramente mayores (122 ms y 140 ms por parte de la hembra y 117 ms y 137 ms por el macho).

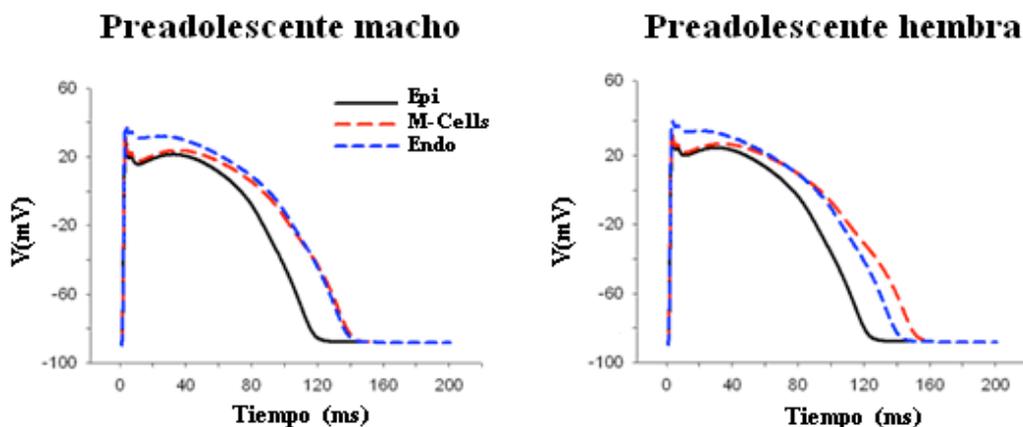


Figura 4.4 Potenciales de acción de preadolescente macho y joven hembra a una frecuencia de estimulación de 1Hz.

Se puede observar en los potenciales de acción de los 4 modelos la mayor amplitud del tejido endocárdico, así como la ranura (notch) más pronunciada en los tejidos epicárdico y midmiocárdico debido a la corriente transitoria de potasio (I_{to}).

En todos los tipos de células (epicárdica, midmiocárdica y endocárdica), los potenciales de acción del modelo de adulto hembra fueron significativamente más largos que los de adulto macho. Mientras que en los modelos de preadolescentes, la APD midmiocárdica de la preadolescente hembra es mucho mayor que la del preadolescente macho, mientras que las APDs epicárdica y endocárdica de la preadolescente hembra son ligeramente mayores.

4.2.2 Efectos sobre la curva de restitución.

La dependencia de la APD a 90% de su repolarización (APD_{90}) a la longitud de ciclo básica (basic cycle length, BCL) o curva de restitución de células endocárdicas de los modelos de adulto macho y adulto hembra se muestran en la figura 4.5. En todas las BCLs, las APD_{90} son más largas en el modelo de adulto hembra que en el de adulto macho. Además, la APD_{90} aumenta con el incremento de la BCL de estimulación en los dos modelos hasta una BCL de 2000 ms, manteniéndose estable entre 2000 y 5000 ms. Asimismo, la relación APD-BCL tiene una pendiente más pronunciada en el modelo de adulto hembra que en la del adulto macho.

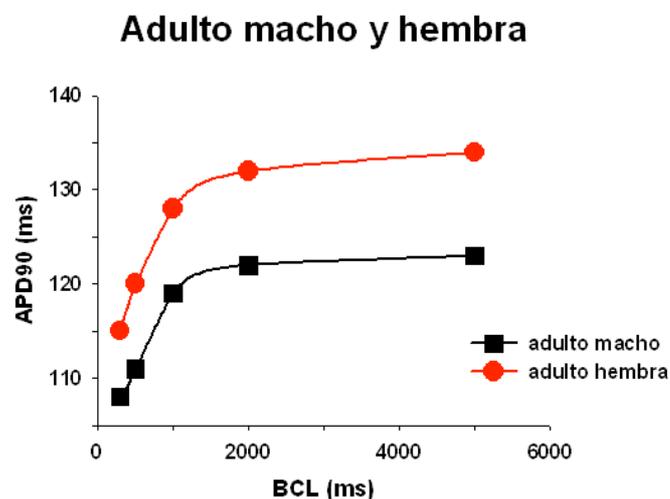


Figura 4.5 La APD_{90} en células endocárdicas de los modelos de adulto macho y adulto hembra a diferentes BCLs.

La curva de restitución de células endocárdicas de los modelos de preadolescente macho y preadolescente hembra se muestran en la figura 4.6. Las APD_{90} de las células endocárdicas son muy similares en los dos modelos y la pendiente de la relación APD-BCL es igual.

Las curvas de restitución de los modelos de adultos y preadolescentes muestran su dependencia a la frecuencia de estimulación siendo más acentuada esta dependencia en los BCLs de 300 a 1000 ms, mientras que a BCLs mayores se mantiene casi constante.

Preadolescentes macho y hembra

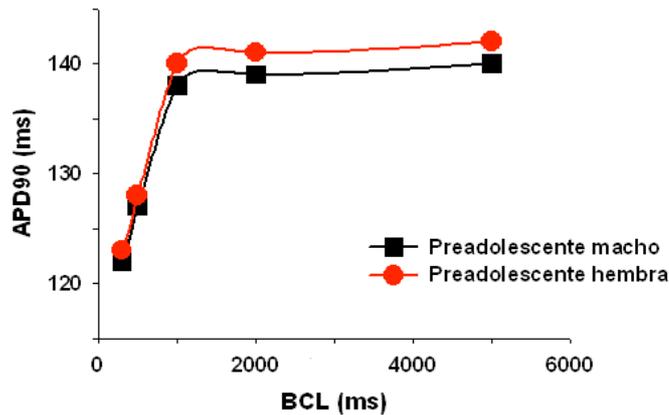


Figura 4.6 La APD₉₀ en células endocárdicas de los modelos de preadolescente macho y preadolescente hembra a diferentes BCLs.

La APD₉₀ de los distintos tejidos cardiacos de los modelos de adulto macho y adulto hembra se muestran en la figura 4.7. Las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas se estimularon a diferentes BCLs (300, 500, 1000, 2000 y 5000 ms). En todas las BCLs, la APD₉₀ de todas las células son más largas en el modelo de adulto hembra que en el de adulto macho. Además, la APD₉₀ aumenta con el incremento de la BCL de estimulación en todas las células de los dos modelos. La relación APD-tejido en el modelo de la adulto hembra tiene una pendiente más pronunciada que en la del adulto macho.

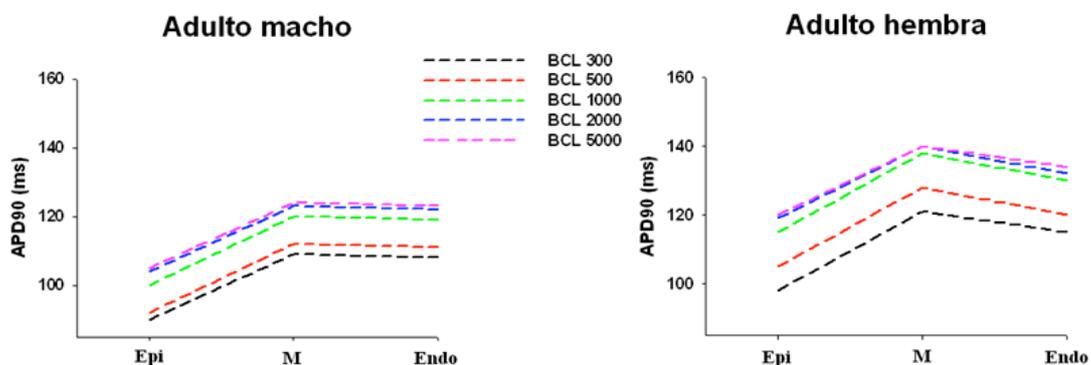


Figura 4.7 La APD₉₀ en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los modelos de adulto macho y adulto hembra a diferentes BCLs.

La APD_{90} de los 3 tipos de células miocárdicas con respecto a diferentes BCLs de los modelos computacionales de preadolescente macho y preadolescente hembra se muestran en la figura 4.8.

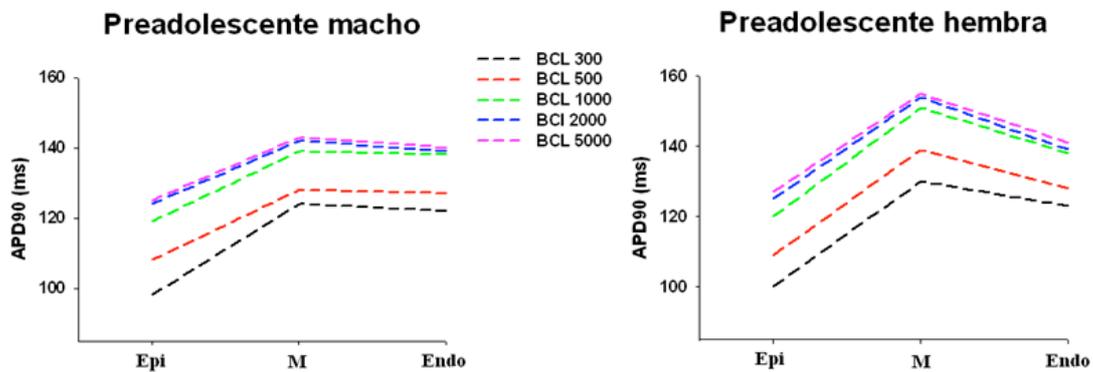


Figura 4.8 La APD_{90} en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los modelos de joven macho y joven hembra a diferentes BCLs.

Las APD_{90} de las células epicárdicas y endocárdicas son similares en los dos modelos, mientras que la APD_{90} de las células midmiocárdicas son mayores en el modelo de la preadolescente hembra que en el del preadolescente macho. La relación APD-tejido en el modelo de la preadolescente hembra tiene una pendiente más pronunciada que en la del preadolescente macho.

En la tabla 4.2 se muestran en forma cuantitativa las APD_{90} de las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los adultos macho y hembra a diferentes ciclos básicos de longitud.

Tabla 4.2 Las APD_{90} de las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los adultos macho y hembra a diferentes BCLs.

Adulto macho				Adulto hembra			
BCL (ms)	Epi APD_{90} (ms)	M APD_{90} (ms)	Endo APD_{90} (ms)	BCL (ms)	Epi APD_{90} (ms)	M APD_{90} (ms)	Endo APD_{90} (ms)
300	90	109	108	300	98	121	115
500	92	112	111	500	105	128	120
1000	103	120	119	1000	113	133	128
2000	104	123	122	2000	119	140	132
5000	105	124	123	5000	120	140	134

De igual forma se ilustran las APD₉₀ de las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas para los modelos de preadolescente macho y hembra en la tabla 4.3.

Tabla 4.3 Las APD₉₀ de las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas de los preadolescentes macho y hembra a diferentes BCLs.

Preadolescente macho				Preadolescente hembra			
BCL (ms)	Epi APD ₉₀ (ms)	M APD ₉₀ (ms)	Endo APD ₉₀ (ms)	BCL (ms)	Epi APD ₉₀ (ms)	M APD ₉₀ (ms)	Endo APD ₉₀ (ms)
300	98	124	122	300	100	130	123
500	108	128	127	500	109	139	128
1000	117	137	138	1000	122	148	140
2000	124	142	139	2000	125	154	141
5000	125	143	140	5000	127	155	142

Revisando las dos tablas, se puede observar que las APD₉₀ de las hembras, tanto adulto como preadolescente, son mayores en todos los tipos de células con respecto a los machos, aunque en los modelos de los preadolescentes esta diferencia es menor.

4.3 Diferencias del sexo y la edad sobre la respuesta celular al fármaco dofetilide.

Los modelos celulares epicárdico, midmiocárdico y endocárdico para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra de mamífero se utilizaron para analizar la prolongación de la APD, la susceptibilidad a postdepolarizaciones tempranas (early afterdepolarizations, EAD), la dependencia de frecuencia (reverse use dependence) y la dispersión de repolarización (dispersion of repolarization DOR) bajo los efectos del fármaco dofetilide a diferentes concentraciones.

4.3.1 La respuesta celular al fármaco dofetilide en condiciones normales.

El potencial de acción epicárdico para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestra en la figura 4.9.

En las células epicárdicas de los 4 modelos se presenta una prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD₉₀ de la

célula epicárdica del adulto macho en control fue de 103 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 12.6% (12 ms), 18.4% (18 ms) y 22.3% (22 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 113 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 10% (11 ms), 14.5% (16 ms) y 18.1% (20 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide. Observando los resultados se puede indicar, que los valores de la APD_{90} en el modelo de adulto hembra son mayores que en el adulto macho en todas las concentraciones de dofetilide.

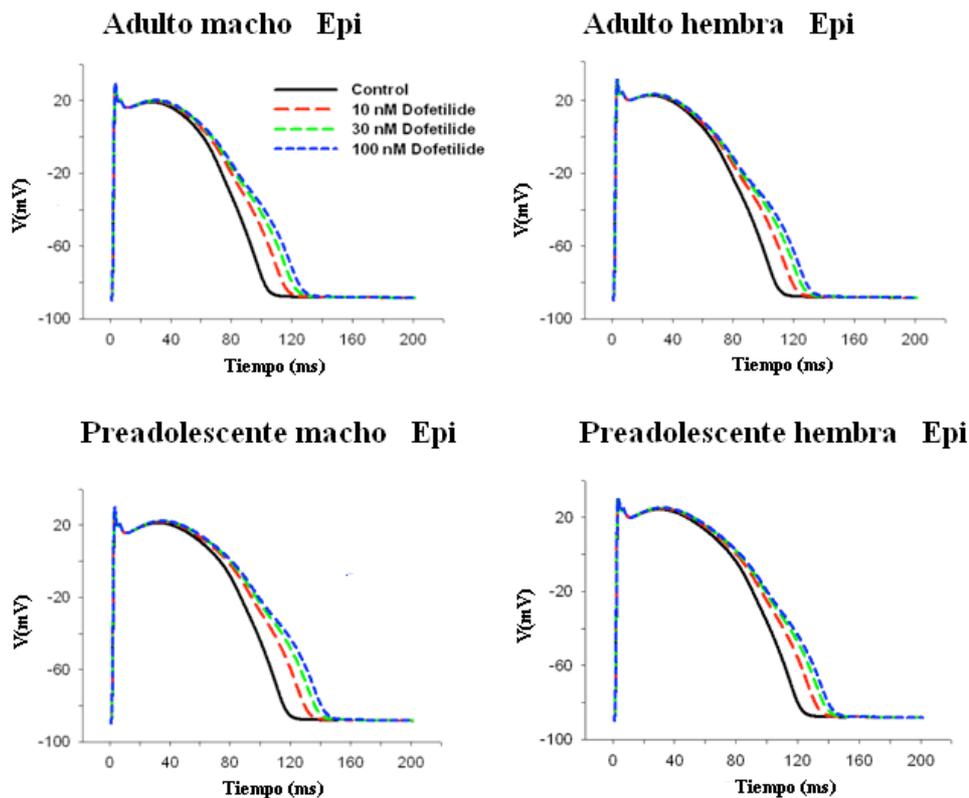


Figura 4.9 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula epicárdica del preadolescente macho en control fue de 117 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 11.9% (14 ms), 17.9% (21 ms) y 21.3% (25 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 122 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 9% (11 ms), 13.9% (17 ms) y 16.4% (20 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide. Como en el caso de los modelos de adultos, los valores de la APD_{90} en el modelo de preadolescente hembra son mayores que en el preadolescente macho en todas las concentraciones de dofetilide.

Los potenciales de acción de los 4 modelos de células midmiocárdicas en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se ilustran en la figura 4.10.

En las células midmiocárdicas en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD₉₀ de la célula midmiocárdica del adulto macho en control fue de 120 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 18.3% (22 ms), 33.3% (40 ms) y 52.5% (63 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD₉₀ de la célula midmiocárdica en control fue de 133 ms.

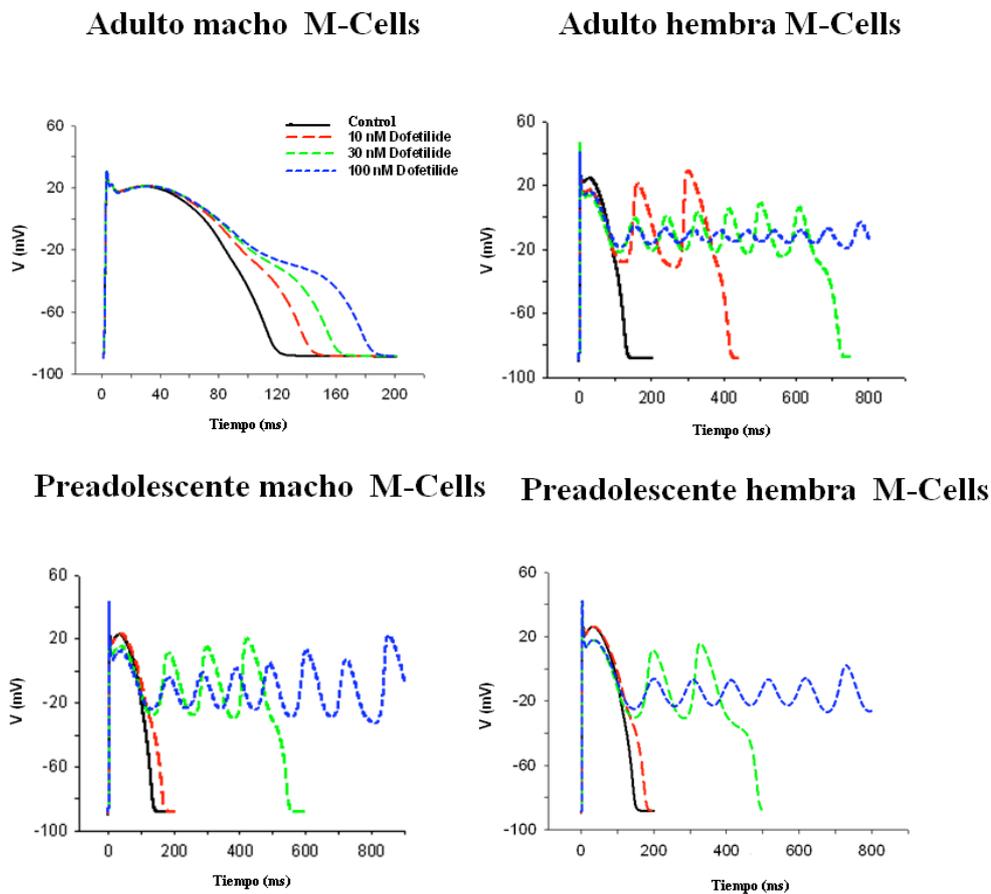


Figura 4.10 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En la figura se puede observar la susceptibilidad a EADs de las células midmiocárdicas. En el modelo de adulto macho existe prolongación de la APD en las concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide, mientras que en el modelo de adulto hembra aparecen EADs en las 3 concentraciones de dofetilide, una EAD doble con 10 nM de dofetilide, una EAD múltiple con 30 nM y una EAD drásticamente prolongada sin repolarización con 100 nM.

Con respecto a los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula midmiocárdica del preadolescente macho en control fue de 137ms y el incremento de prolongación de la APD fue 22.6% (31 ms) con la aplicación de 10 nM de dofetilide. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula midmiocárdica en control fue de 148 ms y el incremento de prolongación de la APD fue 20.3% (30 ms) con la aplicación de 10 nM de dofetilide. Tanto en el modelo del preadolescente macho como en el modelo de la preadolescente hembra aparecen EADs con la aplicación de 30 nM de dofetilide, una EAD triple en el caso del preadolescente macho y una EAD doble con la preadolescente hembra; en ambos casos aparecen EADs dramáticamente prolongadas con una concentración de 100 nM de dofetilide.

Los potenciales de acción de las células endocárdicas de los 4 modelos en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestran en la figura 4.11.

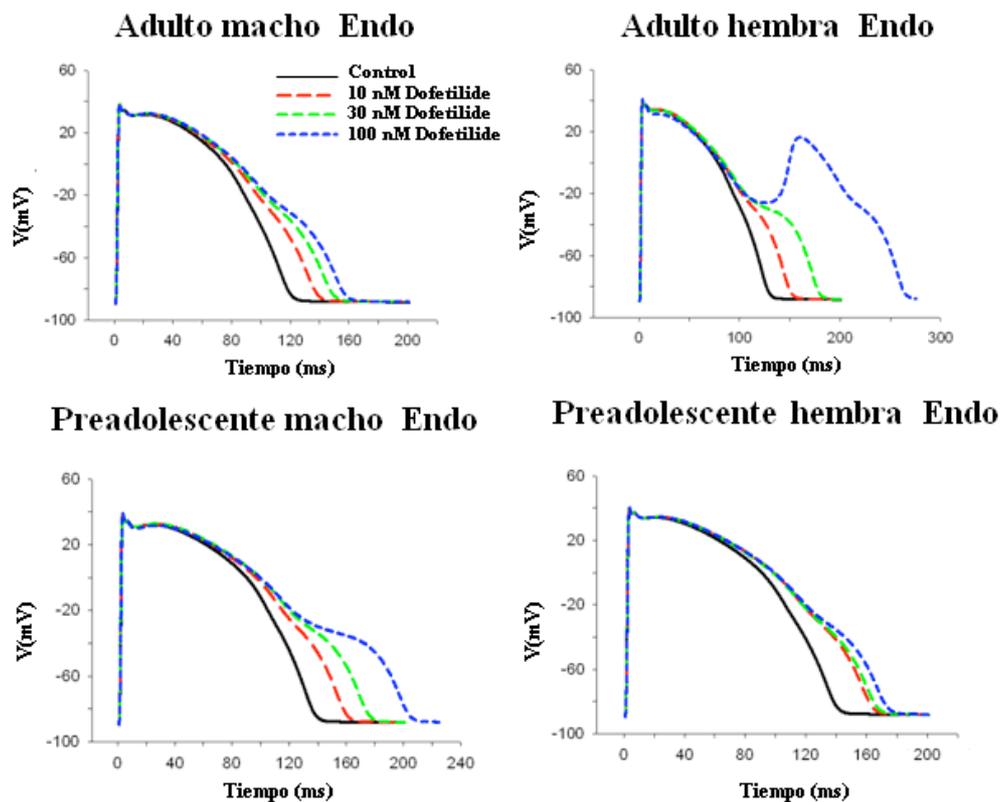


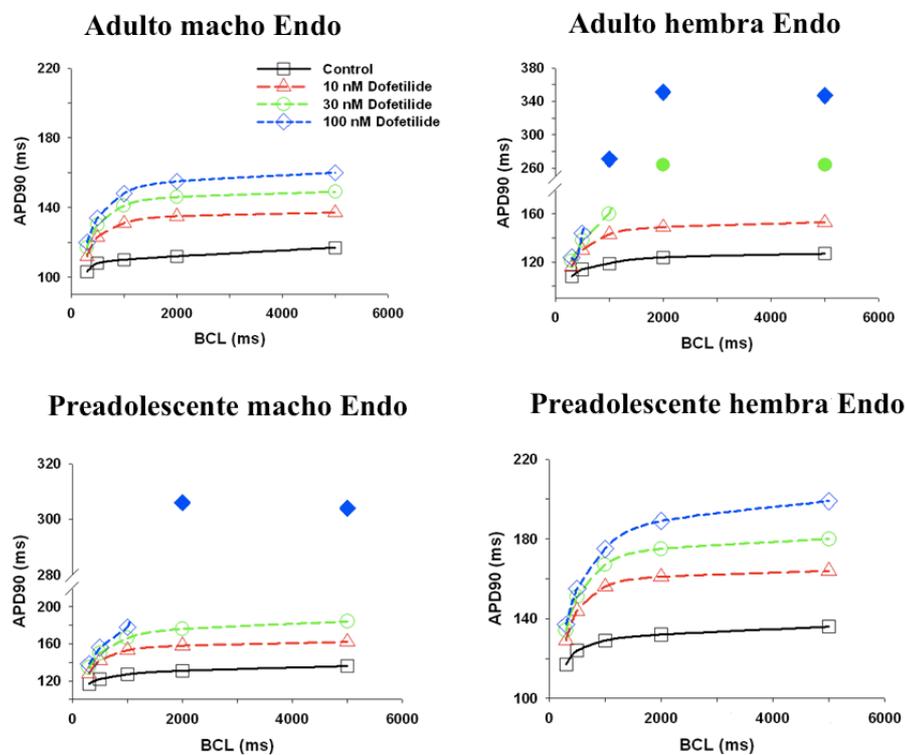
Figura 4.11 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

Se observa que en las células endocárdicas en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula endocárdica del adulto macho en control fue de 119 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 14.2% (16 ms), 22.4% (26 ms) y 27.1% (32 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide

respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 128 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 14.8% (19 ms) y 28.9% (37 ms) con las concentraciones de 10 y 30 nM de dofetilide, mientras que con la aplicación de 100 nM de dofetilide se produce una EAD simple.

En el caso de los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula endocárdica del preadolescente macho en control fue de 138 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 15.9% (22 ms), 26.8% (37 ms) y 47.1% (64 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 140 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 15.4% (21 ms), 18.5% (26 ms) y 23.5% (33 ms) con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

Los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra reproducen el efecto del dofetilide de la dependencia de la frecuencia (reverse use dependence). Debido a este efecto, la prolongación de la duración del potencial de acción se incrementa cuando la frecuencia de estimulación se reduce o la BCL aumenta. En la figura 4.12 se puede observar el incremento en APD_{90} inducido por las diferentes concentraciones de dofetilide a diversas BCLs en los cuatro modelos para células endocárdicas.

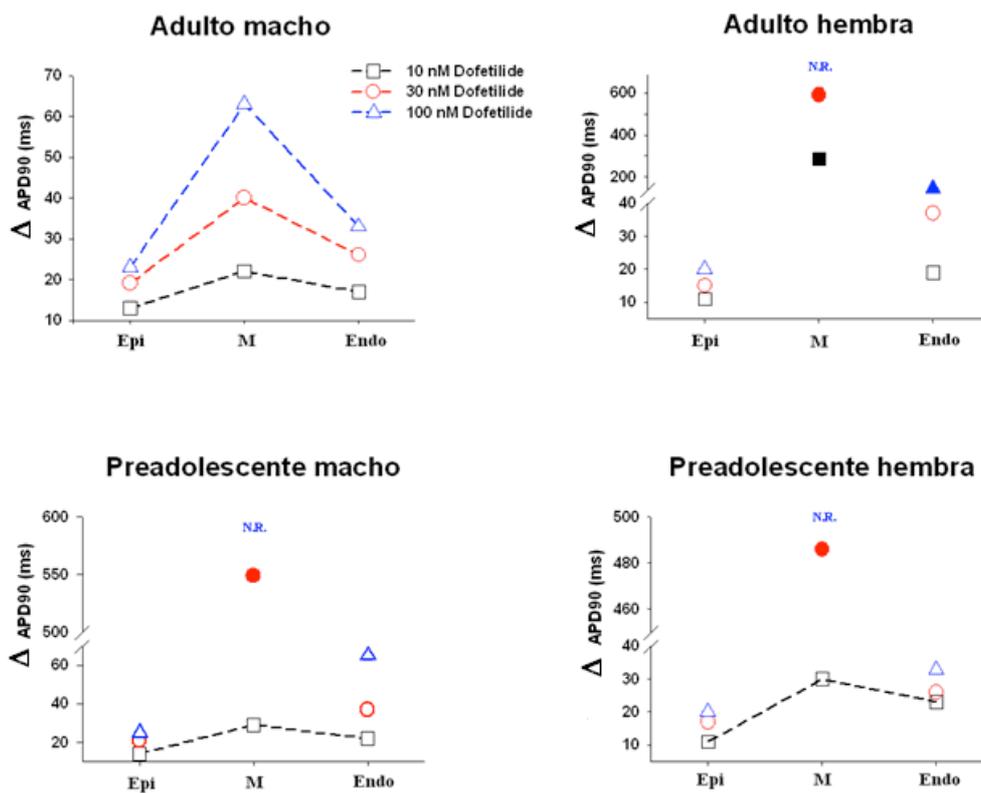


Nota.- Símbolos llenos son repolarizaciones en EAD's.

Figura 4.12 Incremento en APD_{90} inducido por las diferentes concentraciones de dofetilide a diversas BCLs en los cuatro modelos para células endocárdicas.

La prolongación en APD_{90} inducida por las diferentes concentraciones de dofetilide presenta el efecto de la dependencia de frecuencia en todos los modelos, aunque entre los modelos de adultos, la hembra muestra un efecto más pronunciado y además a partir de un BCL de 2000 ms con una concentración de 30 nM de dofetilide y a partir de un BCL de 500 ms en 100 nM del fármaco se producen EADs. En tanto, que entre los modelos de preadolescentes, el efecto es más pronunciado en la hembra que en el macho en condiciones de control, aunque a partir de 500 ms de BCL en una concentración de 100 nM de dofetilide el modelo del preadolescente macho produce EADs y la preadolescente hembra no produce EADs.

La dispersión de repolarización (DOR) se define como el valor de la diferencia entre las APD_{90} mayores y menores de los tipos de miocitos epicárdico, midmiocárdico y endocárdico. En la figura 4.13 se muestra la relación entre el aumento de la APD_{90} y los diferentes tipos de cardiomiocitos bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms para los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra.



Nota.- Símbolo relleno indica repolarización en EAD.
N.R. indica no repolarización.

Figura 4.13 Relación entre el aumento de la APD_{90} y los diferentes tipos de cardiomiocitos bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.

Se puede observar en la figura el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD_{90} en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

El aumento de la APD_{90} tiene diferentes efectos en los potenciales de acción de cada tipo de cardiomiocito y de cada modelo. En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD_{90} en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide y con la aplicación de 10 y 30 nM de dofetilide en la célula endocárdica.

En tanto, se presentaron EADs en la célula midmiocárdica con concentraciones de 10 y 30 nM de dofetilide y en la célula endocárdica con 100 nM. Con una aplicación de 100 nM de dofetilide en la célula midmiocárdica se generó una EAD drásticamente prolongada sin repolarización. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del potencial de acción en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que con 30 nM de dofetilide se generaron EADs y con 100 nM de dofetilide se tuvieron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

En los modelos de adultos, las células del modelo de adulto hembra tienen una mayor dispersión de repolarización que el adulto macho en todas las concentraciones de dofetilide. Tanto que se presentan EADs con repolarización en las células midmiocárdicas a 10 y 30 nM de dofetilide y en las células endocárdicas a 100 nM y se producen EADs dramáticamente prolongadas sin repolarización en células midmiocárdicas con 100 nM de dofetilide.

Mientras que en los modelos de preadolescentes, la preadolescente hembra presentó una mayor dispersión de repolarización con la aplicación de 10 nM de dofetilide que el preadolescente macho (19 y 15 ms), pero el preadolescente macho presentó una mayor dispersión de repolarización con la aplicación de 30 nM de dofetilide que la preadolescente hembra (549 y 486 ms con repolarización en EADs). Con 100 nM de dofetilide, los dos modelos presentaron EADs drásticamente prolongadas.

4.3.2 La respuesta celular al fármaco dofetilide en condiciones de reserva de repolarización reducida.

En la electrofisiología cardiaca el proceso de repolarización del potencial de acción es garantizado por múltiples corrientes. La contribución de estas corrientes varía con el tipo de célula. El bloqueo de una de estas corrientes no resulta en una falla de la repolarización, la compensación por otras corrientes subyacentes a la repolarización

previene de arritmias peligrosas y a esto se le ha denominado reserva de repolarización (Roden DM, 1998).

Una manera de enmarcar el concepto de reserva de repolarización reducida es cuando se disminuye la componente lenta de la corriente de rectificación tardía (I_{Ks}) y actúa algún tipo de bloqueo en la componente rápida de la corriente de rectificación tardía (I_{Kr}). En situaciones normales, la corriente I_{Ks} contribuye en una mínima parte al proceso de repolarización, pero tiene un rol vital en la reserva de repolarización (Roden DM, 2006). La reducción de I_{Ks} puede deberse no solo a mutaciones del canal iónico sino también a enfermedades como la insuficiencia cardiaca, diabetes e hipertrofia cardiaca. Para analizar las discrepancias de edad y sexo con una reserva de repolarización reducida, ésta se ha reproducido decrementando la corriente I_{Ks} a un 75% y un 50% de su valor en condiciones normales.

La figura 4.14 muestra potenciales de acción de célula endocárdica con una BCL de estimulación de 1000 ms para los 4 modelos con una reserva de repolarización reducida, es decir, se disminuyó a un 75% la corriente I_{Ks} en condiciones de control y aplicando concentraciones de dofetilide de 30 y 100 nM.

Se observa que en las células endocárdicas en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula endocárdica del adulto macho en control fue de 122 ms, (se tuvo un ligero aumento del incremento de prolongación de la APD del 2.5% con respecto al dato de la reserva de repolarización sin reducir), y los incrementos de prolongación de la APD fueron 28.6% (32 ms) y 38.5% (44 ms) con la aplicación de 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En comparación, con el modelo de célula endocárdica de adulto macho con el 100% de I_{Ks} , es decir, reserva de repolarización sin reducir, la APD_{90} fue de 119 ms y los incrementos de prolongación de la APD fueron 22.4% (26 ms) y 27.1% (32 ms) para 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. Se puede deducir que la reducción en la reserva de repolarización aunada al bloqueo de la I_{Kr} por el dofetilide, acentúa la prolongación de la APD en las células endocárdicas del modelo de adulto macho.

En tanto que en el modelo de adulto hembra con reserva de repolarización reducida, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 133 ms (3.9% más que el modelo con reserva no reducida) y se produjeron EADs dobles con las concentraciones de 30 y 100 nM de dofetilide, mientras que en el modelo de adulto hembra con reserva de repolarización sin reducir, la APD_{90} fue de 128 ms, se tuvo un incremento de prolongación de la APD de 28.9% (37 ms) con la aplicación de 30 nM de dofetilide y se generó una EAD simple con 100 nM de dofetilide. También en este caso, como en el modelo de adulto macho, la combinación del bloqueo de I_{Kr} , por la acción del dofetilide y la reserva de repolarización reducida (0.75% de I_{Ks}), incrementa la prolongación de la APD y la susceptibilidad a la aparición de EADs.

En el caso de los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula endocárdica del preadolescente macho con reserva de repolarización reducida en control fue de 141 ms (2.2% más que el modelo con reserva no reducida) y el incremento de

prolongación de la APD fue de 40.4% (57 ms) con la aplicación de 30 nM de dofetilide y se produjo una EAD doble con 100 nM de dofetilide, mientras que el mismo modelo con reserva de repolarización sin reducir presentó un 26.8% (37 ms) y un 47.1% (65 ms) de elongación en la APD para 30 nM y 100 nM de dofetilide respectivamente.

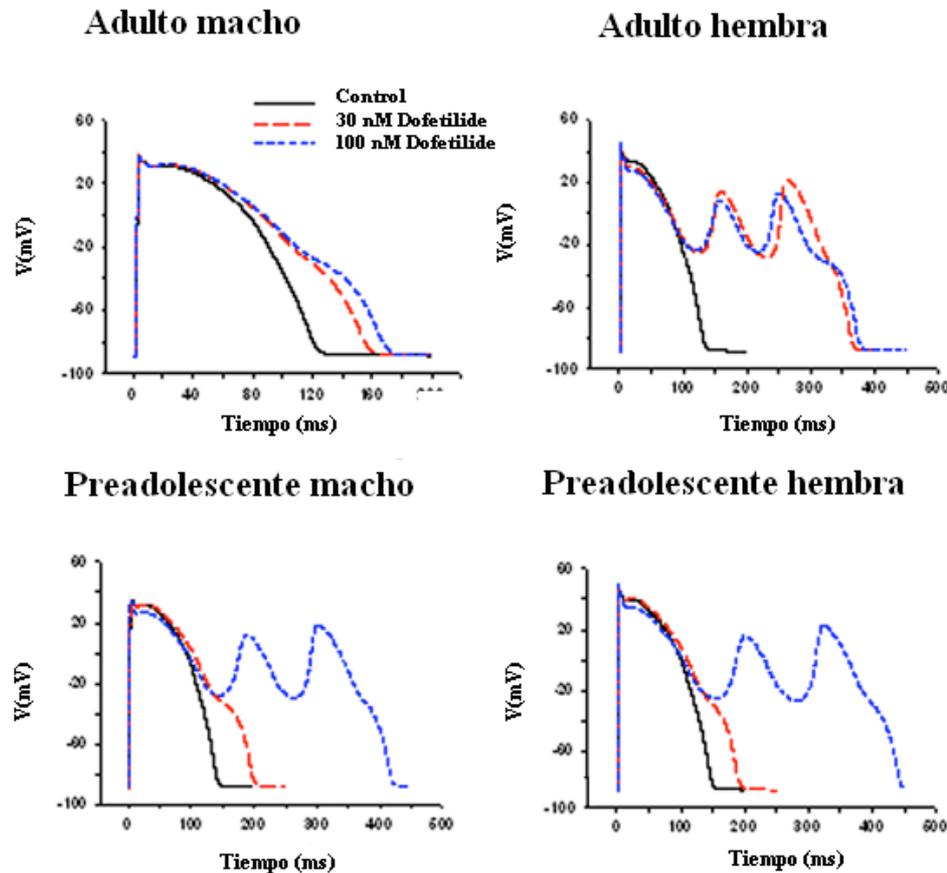


Figura 4.14 Potenciales de acción de célula endocárdica con una BCL de estimulación de 1000 ms para los 4 modelos con una reserva de repolarización reducida (0.75 I_{ks}) en condiciones de control y aplicando concentraciones de dofetilide de 30 y 100 nM.

Así también en el modelo del preadolescente macho, la combinación de decremento de las corrientes I_{Kr} e I_{Ks} , por el efecto del fármaco y la reserva de repolarización reducida amplía el porcentaje de prolongación de la APD y la susceptibilidad a EADs.

En tanto que en el modelo de preadolescente hembra con reducción de la reserva de repolarización, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 148 ms (5.7% más que el modelo con reserva no reducida) y el incremento de prolongación de la APD fue 29.0% con la aplicación de 30 nM de dofetilide y con la aplicación de 100 nM de dofetilide se produjo una EAD doble, mientras en el modelo sin reducción de reserva de repolarización se tuvo una APD_{90} de 140 ms e incrementos de prolongación de APD de 18.5% (26 ms) y 23.5% (33 ms) con 30 y 100 nM de

dofetilide. Como en los modelos anteriores, el bloqueo del dofetilide en conjunción con la reserva de repolarización reducida aumenta la elongación de la APD y la susceptibilidad a EADs.

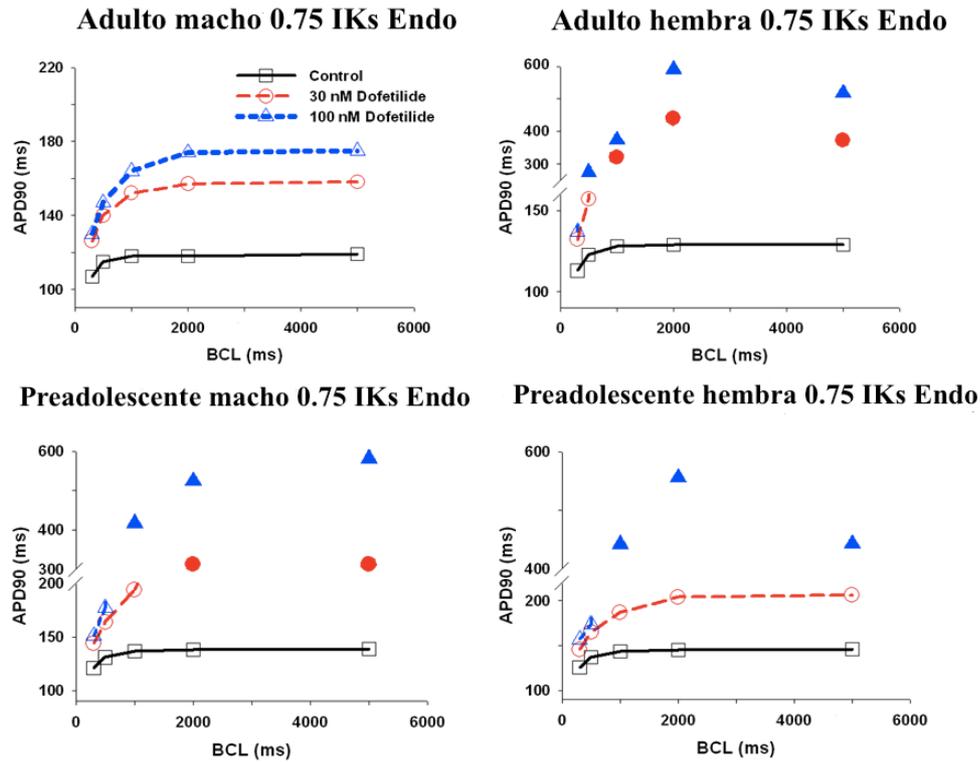
En condiciones de control y la reducción de la reserva de repolarización (75% de I_{Ks}), las simulaciones del modelo de adulto hembra tienen una mayor prolongación de APD que el adulto macho. El modelo de adulto hembra tiene incidencias de EADs con 30 y 100 nM de dofetilide, pero el modelo de adulto macho tiene prolongación de APD sin presentar EADs en ninguna concentración de dofetilide. Con una aplicación de 30 nM del fármaco, los modelos de preadolescente macho y preadolescente hembra presentan prolongación de APD, pero con la concentración de 100 nM de dofetilide ambos presentan incidencias de EADs, presentando un comportamiento similar.

La figura 4.15 ilustra la relación de APD_{90} versus BCL para los cuatro modelos con una reserva de repolarización reducida (75% de I_{Ks}) en condiciones de control y aplicando 30 y 100 nM de dofetilide.

En todos los modelos se presenta el efecto de la dependencia de la frecuencia (reverse use dependence). Con respecto a los modelos de adultos, en condiciones de control, el modelo de adulto hembra tiene una pendiente más pronunciada en la relación APD-BCL que el modelo de adulto macho, mientras el modelo de preadolescente hembra tiene una pendiente un poco mayor que el modelo de preadolescente macho. Con 30 y 100 nM de dofetilide, el adulto hembra produce EADs, aunque el adulto macho no tiene incidencias de EADs en ambas concentraciones del fármaco.

El modelo del preadolescente macho tiene una relación APD-BCL más pronunciada que el modelo de preadolescente hembra con una concentración de 30 nM de dofetilide y produce EADs en BCLs de 2000 y 5000 ms, mientras el modelo de la preadolescente hembra no produce EADs y tiene prolongaciones de APD a mayores BCLs. Con 100 nM de dofetilide, el preadolescente macho y la preadolescente hembra producen EADs en BCLs de 1000, 2000 y 5000 ms, pero el preadolescente macho tiene una pendiente más pronunciada en la relación APD-BCL que la preadolescente hembra en BCLs de 300 y 500 ms.

Comparando la relación de APD_{90} vs BCL entre los cuatro modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la reserva de repolarización reducida y sin reducir, se puede deducir que la reducción de la reserva de repolarización acentúa el efecto de la dependencia de la frecuencia (reverse use dependence) en todos los modelos.



Nota.- Símbolos llenos son repolarizaciones en EAD's.

Figura 4.15 Relación de APD₉₀ vs BCL para los cuatro modelos con una reserva de repolarización reducida (75% de I_{Ks}) en condiciones de control y aplicando 30 y 100 nM de dofetilide.

Los potenciales de acción endocárdicos de los 4 modelos con una disminución del 50% de la I_{Ks}, como reserva de repolarización reducida, en condiciones de control y 30 y 100 nM de dofetilide se muestran en la figura 4.16.

La APD₉₀ de la célula endocárdica del adulto macho en control fue de 126 ms (se tuvo un aumento del incremento de prolongación de la APD del 5.8% con respecto al dato de la reserva de repolarización sin reducir), y el incremento de prolongación de la APD fue del 35.7% (45 ms) con la aplicación de 30 nM de dofetilide y se produjo una EAD doble con 100 nM de dofetilide. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD₉₀ de la célula endocárdica en control fue de 138 ms (7.8% más que el modelo con reserva no reducida) y se produjeron EADs con las concentraciones de 30 y 100 nM de dofetilide, una cuádruple y la otra drásticamente prolongada respectivamente.

En los modelos de preadolescentes, la APD₉₀ de la célula endocárdica del preadolescente macho en control fue de 146 ms (5.8% más que el modelo con reserva no reducida) y se produjeron EADs con las concentraciones de 30 y 100 nM de dofetilide, una triple y la otra drásticamente prolongada respectivamente. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD₉₀ de la célula endocárdica en control fue de 151 ms (7.8% más que el modelo con reserva no reducida) y se produjeron EADs con las concentraciones de 30 y 100 nM de dofetilide, una triple y la otra drásticamente prolongada respectivamente.

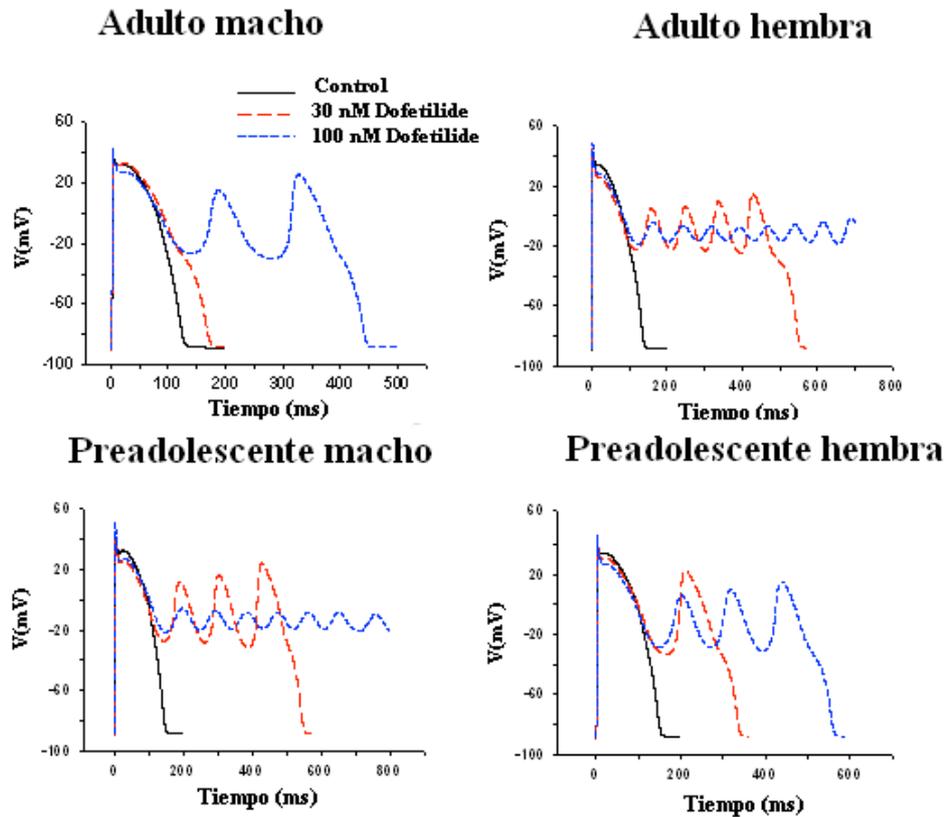


Figura 4.16 Potenciales de acción endocárdicos de los 4 modelos con una disminución del 50% de la I_{Ks} , como reserva de repolarización reducida, en condiciones de control y 30 y 100 nM de dofetilide.

Comparando los modelos con reserva de repolarización reducida y sin reducir, la reducción de la reserva de repolarización (0.5% de I_{Ks}) exacerba el efecto del bloqueo del dofetilide produciendo mayores prolongaciones de la APD y susceptibilidad a EADs. En condiciones de control, todos los modelos presentan prolongación de APD con respecto a los modelos de reserva de repolarización no reducida. Con 30 nM del fármaco, el adulto hembra tiene incidencias de EADs, pero el adulto macho presenta solo prolongación de APD, mientras que ambos preadolescentes, producen EADs: el macho con una EAD triple, mientras la hembra con una EAD simple.

El modelo de adulto hembra produce un potencial de acción dramáticamente prolongado con 100 nM de dofetilide, mientras que el modelo de adulto macho produce EADs. Esta acción de prolongación de APD se hace reversible en los modelos de preadolescentes, el de preadolescente macho produce un potencial de acción dramáticamente prolongado y el de preadolescente hembra produce EADs.

Los resultados anteriores muestran que el modelo de adulto hembra con aplicación de fármaco y reserva de repolarización reducida (75 y 50% de I_{Ks}) presenta una más larga APD y una mayor susceptibilidad a EADs que el modelo de adulto macho.

Los resultados presentados para los modelos de preadolescentes con fármaco y un $0.75 I_{Ks}$ como reserva de repolarización reducida muestran una similar prolongación de APD y susceptibilidad a EADs, tanto en preadolescente macho como en preadolescente hembra, pero cuando la reserva de repolarización reducida se acentúa más ($0.5 I_{Ks}$), el modelo del preadolescente macho tiene potenciales de acción más largos y una mayor incidencia de EADs que el modelo de la preadolescente hembra.

4.4 Influencias del sexo y la edad sobre la dispersión transmural de APD e intervalo QT.

Tomando en cuenta que de los más importantes factores en la arritmógenesis son: la excesiva prolongación del intervalo QT corregido, más de 450 ms en hombres y más de 470 ms en mujeres (Yap YG y Camm AJ, 2003), y el incremento en la dispersión transmural de APD, los cuales conllevan a tener riesgo de sufrir TdP. Se realizó la simulación del tejido ventricular transmural, una fibra heterogénea unidimensional conformada de 400 células ventriculares transversalmente acopladas ($100 \mu\text{m}$ de longitud y $22 \mu\text{m}$ de diámetro). El modelo comprende una región endocárdica (células de la 0 a la 149), una región midmiocárdica (células de la 150 a la 299) y una región epicárdica (células de la 300 a la 399); representando un grosor transmural de 0.88 cm, en el cual $3/8$ del total corresponde a tejido endocárdico, $3/8$ a la región de células midmiocárdicas y $2/8$ a tejido epicárdico como se ilustra en la figura 4.17.

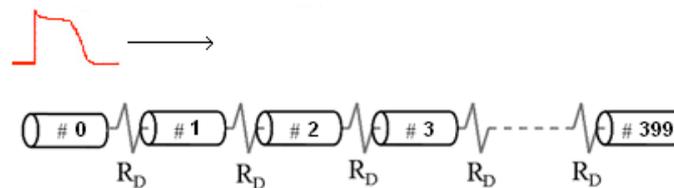


Figura 4.17 Esquema de la fibra heterogénea unidimensional conformada de 400 células ventriculares transversalmente acopladas.

En la fibra unidimensional se considero una resistencia intracelular efectiva R_i de $0.34 \Omega\text{cm}^2$, además de la presencia de una barrera resistiva entre las regiones midmiocárdica y epicárdica, es decir entre las células 299-303 (Yan GX et al, 1998).

La velocidad transversal de conducción fue de 37.07 cm/s , valor muy cercano al dato obtenido experimentalmente por Wiegerinck et al (Wiegerinck RF et al, 2006) de 37 cm/s .

4.4.1 La dispersión transmural de APD e intervalo QT en condiciones normales.

Los resultados obtenidos de las APD_{90} con un BCL de 1000 ms de la fibra heterogénea unidimensional de cada uno de los 4 modelos (adulto macho, adulto

hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra) en tejido epicárdico, midmiocárdico y endocárdico en condiciones de control se muestran en la figura 4.18.

En la figura de puede observar que las APD_{90} del tejido epicárdico en los cuatro modelos es menor, mientras que las APD_{90} de los tejidos endocárdico y midmiocárdico son muy similares, debido al efecto electrotonico de las células en la fibra heterogénea. Las APD_{90} de los tejidos epicárdico, midmiocárdico y endocárdico del modelo de adulto macho son menores en todos los casos, comparándolos con los tejidos de los modelos de adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra.

Control

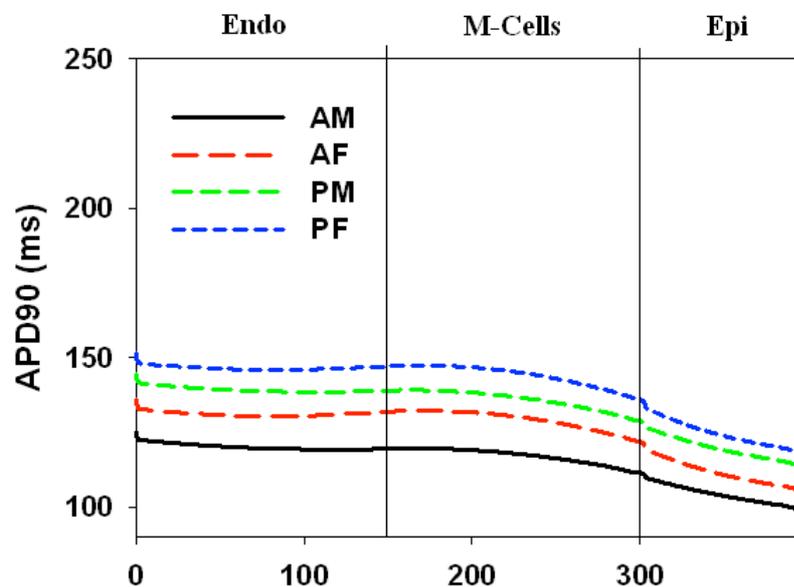


Figura 4.18 APD_{90} de la fibra heterogénea unidimensional de cada uno de los 4 modelos (adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra) en cada uno de los tejidos en condiciones de control y con un BCL de 1000 ms.

La figura 4.19 ilustra los potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de cada fibra unidimensional de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con una BCL de 1000 ms.

Los potenciales de acción mostrados están tomados de la sección central de cada región, es decir, la región endocárdica de la fibra unidimensional que abarca de la célula 0 a la célula 149, el potencial de acción se ha obtenido de la célula 74; la región midmiocárdica que contiene las células de la 150 a la 299, el potencial de acción se ha obtenido de la célula 224; y la región epicárdica que inicia en la célula 300 y finaliza en la célula 399, el potencial de acción se ha tomado de la célula 349. En todos los casos, los potenciales de acción del tejido epicárdico son menores que los de los

tejidos midmiocárdico y endocárdico. Se puede observar, como la muesca o ranura de los potenciales de acción, debido a la corriente transitoria de potasio I_{to} , que es más pronunciado en células midmiocárdicas o epicárdicas aisladas, es apenas perceptible; lo anterior a causa del acoplamiento entre células en la fibra unidimensional.

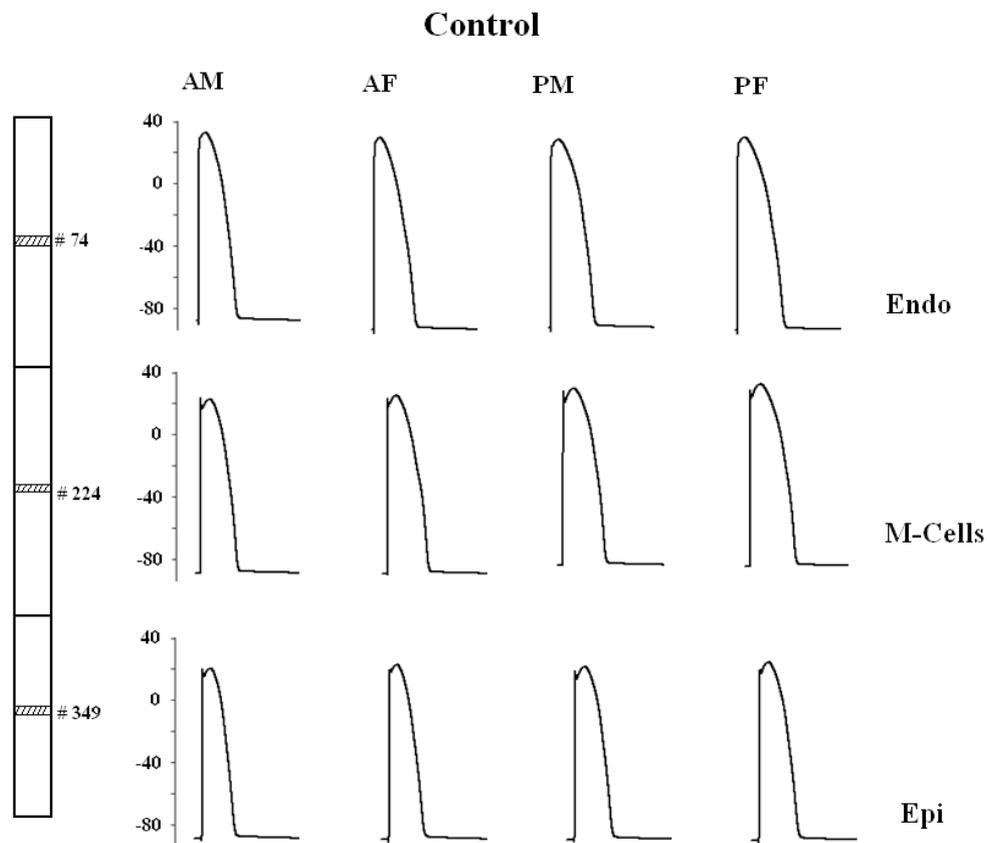


Figura 4.19 Potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de cada fibra unidimensional de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con una BCL de 1000 ms.

Para estudiar la dispersión de repolarización transmural (TDR) en la fibra heterogénea unidimensional de cada modelo, se revisa la máxima APD_{90} de los 3 tejidos con respecto a la mínima APD_{90} de los mismos; en condiciones de control y una BCL de 1000 ms, se tiene que la máxima APD_{90} se obtuvo en el tejido endocárdico de cada uno de los modelos, siendo 122 ms para el modelo de adulto macho, 133 ms para el de adulto hembra, 139 ms para el modelo de preadolescente macho y 141 para el de preadolescente hembra, mientras que la menor APD_{90} se obtuvo en el tejido epicárdico de todos los modelos y éstos fueron: 99 ms para el modelo de adulto macho, 105 ms para el de adulto hembra, 113 ms para el modelo de preadolescente macho y 116 ms para el de preadolescente hembra. La mayor TDR se presentó en el modelo de adulto hembra con 28 ms, seguido de los modelos de

preadolescente macho y preadolescente hembra con 26 y 25 ms respectivamente, y por último el modelo de adulto macho con 23 ms.

Revisando las APD_{90} que se obtuvieron en los tejidos endocárdico y epicárdico de cada uno de los modelos en condiciones de control y una BCL de 1000 ms en células aisladas en el apartado 4.3.1. En el tejido endocárdico los valores fueron 119 ms para el modelo de adulto macho, 128 ms para el de adulto hembra, 138 ms para el modelo de preadolescente macho y 140 para el de preadolescente hembra y para el tejido epicárdico fueron 103 ms para el modelo de adulto macho, 113 ms para el de adulto hembra, 117 ms para el modelo de preadolescente macho y 122 ms para el de preadolescente hembra.

Estos valores son ligeramente mayores de APD_{90} en el tejido endocárdico de la fibra unidimensional que en la célula aislada, pero esta tendencia se revierte en el tejido epicárdico ya que los valores de APD_{90} en célula aislada son mayores que en la fibra unidimensional, esto debido al acoplamiento electrotónico de las células en la fibra.

Para obtener los pseudo-ECGs, un potencial extracelular (Φ_e) generado por la distribución del voltaje de membrana dentro de la fibra virtual unidimensional es simulado a través de un electrodo virtual colocado a 2 cm de la superficie epicardial, ver detalles en la sección en Métodos. El frente de onda transmural se propaga en paralelo a la superficie epicárdica, por tanto, la posición del electrodo virtual es ortogonal a la superficie y su distancia solo escala la magnitud de los potenciales extracelulares obtenidos. El perfil temporal de Φ_e constituye una aproximación al componente ventricular del ECG, es decir, el pseudo-ECG.

Los pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con una BCL de 1000 ms se muestran en la figura 4.20.

Para obtener los pseudo-ECGs no se han tomado en cuenta las primeras 10 células, ni las últimas 10 células para evitar los errores debido al pulso de estimulación al inicio y al final de la fibra. El intervalo QT se ha definido como el tiempo entre el complejo QRS y la terminación de la onda T.

Los pseudo-ECGs caracterizan la propagación de potenciales de acción transmurales del tejido endocárdico al epicárdico. Los cambios en el pseudo-ECG solamente pueden ser producidos por cambios en las distribuciones espacio temporales transmurales del potencial de membrana celular y son el resultado a transformaciones en la corriente total iónica de la membrana celular o en el acoplamiento electrotónico.

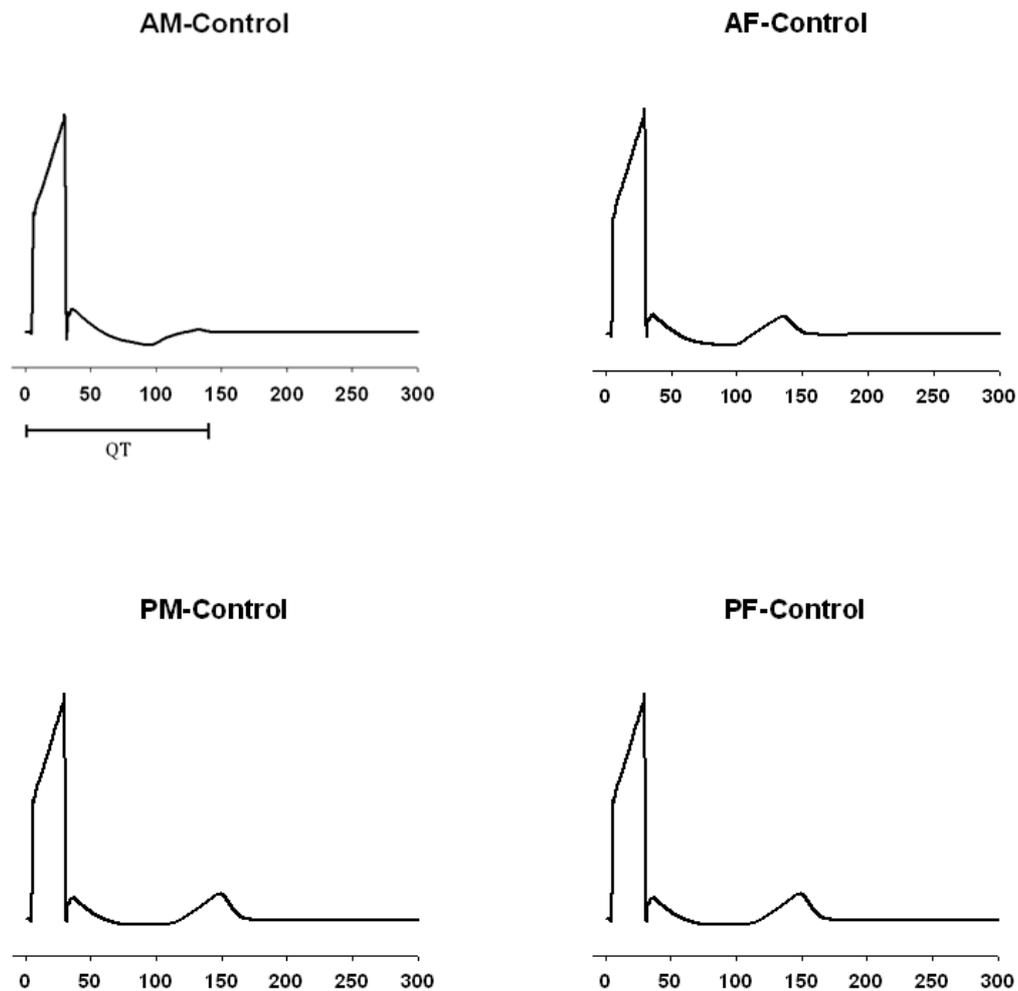


Figura 4.20 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con una BCL de 1000 ms.

En la figura se puede observar como el intervalo QT del modelo de adulto macho (140 ms) es más corto que los intervalos QT de adulto hembra (154 ms), preadolescente macho (161 ms) y preadolescente hembra (160 ms).

4.4.2 La dispersión transmural de APD e intervalo QT en respuesta al fármaco dofetilide.

El uso de fármacos antiarrítmicos está sujeto a numerosos efectos adversos, siendo el fenómeno proarritmogénico uno de los más temidos. Se ha planteado que la prolongación de la duración del potencial de acción (APD), la producción de postdepolarizaciones tempranas (EAD) y la dispersión transmural de repolarización (TDR) inducidas por fármacos, sean la génesis de arritmias ventriculares como el síndrome de QT largo adquirido y Torsade de Pointes (TdP), siendo la prolongación de la APD y la producción de EADs las actividades desencadenantes y la TDR el sustrato para mantener las arritmias (Anzelevitch C et al, 1998; Anzelevitch C y Fish J, 2001; Hancox JC et al, 2000; Makielski JC y January CT, 1998; Volders PGA et al,

2000). Con el fin de investigar las interacciones del fármaco dofetilide en las regiones transmurales cardíacas en adulto macho, adulto hembra, joven macho y joven hembra se simularon con el modelo de dofetilide las aplicaciones en concentraciones de 10, 30 y 100 nM.

En la figura 4.21 se presentan las APD_{90} de las regiones epicárdica, midmiocárdica y endocárdica de los 4 modelos con un BCL de 1000 ms y una concentración de 10 nM de dofetilide.

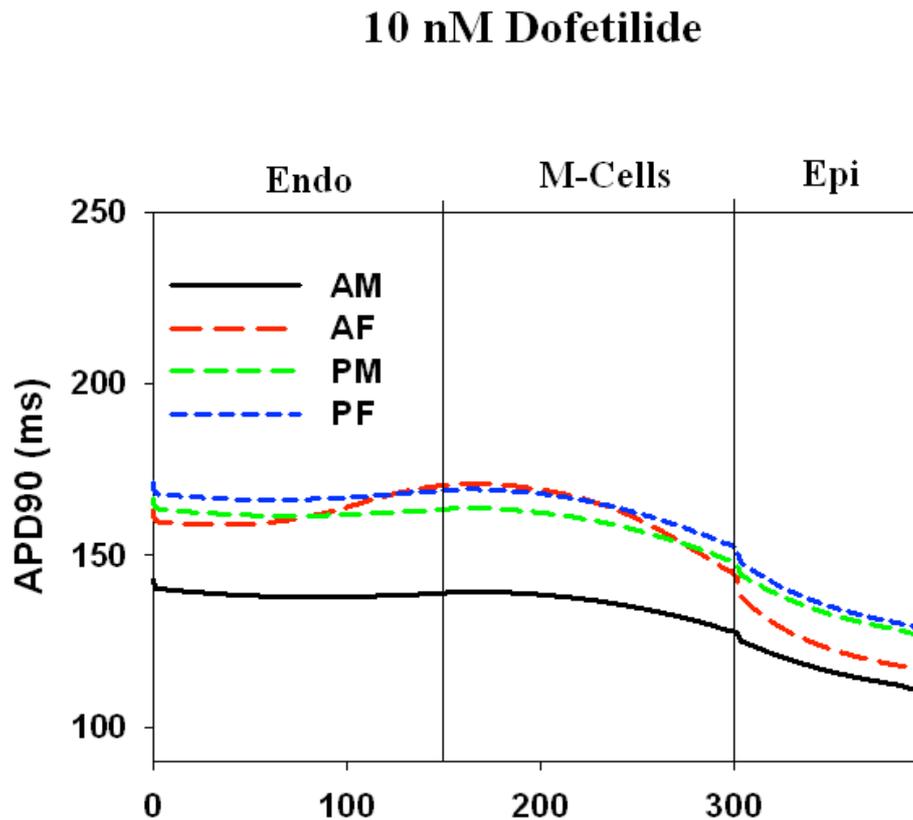


Figura 4.21 APD_{90} de las regiones epicárdica, midmiocárdica y endocárdica de los 4 modelos con un BCL de 1000 ms y una concentración de 10 nM de dofetilide.

Con la aplicación del dofetilide, todos los potenciales de acción de todas las regiones (epicárdica, midmiocárdica y endocárdica) en los 4 modelos tienen una prolongación en la APD. Las APD_{90} de los tejidos epicárdico, midmiocárdico y endocárdico del modelo de adulto macho son menores en todos los casos, comparándolos con los tejidos de los modelos de adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra. La figura 4.22 muestra los potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de cada fibra unidimensional de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la aplicación de 10 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms.

Con la aplicación de 10 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms, se tiene que la máxima APD_{90} se obtuvo en el tejido endocárdico en los modelos de adulto macho y

preadolescente macho, siendo 141 ms para el modelo de adulto y 164 ms para el de preadolescente; mientras que en los modelos de hembra, tanto adulto como preadolescente, la máxima APD₉₀ se obtuvo en el tejido midmiocárdico: 171 ms para el modelo de adulto hembra y 167 para el de preadolescente hembra; la menor APD₉₀ se obtuvo en el tejido epicárdico de todos los modelos y éstos fueron: 110 ms para el modelo de adulto macho, 116 ms para el de adulto hembra, 126 ms para el modelo de preadolescente macho y 128 ms para el de preadolescente hembra. La mayor TDR se presentó en el modelo de adulto hembra con 55 ms, seguido de los modelos de preadolescente hembra y preadolescente macho con 39 y 38 ms respectivamente, y por último el modelo de adulto macho con 31 ms.

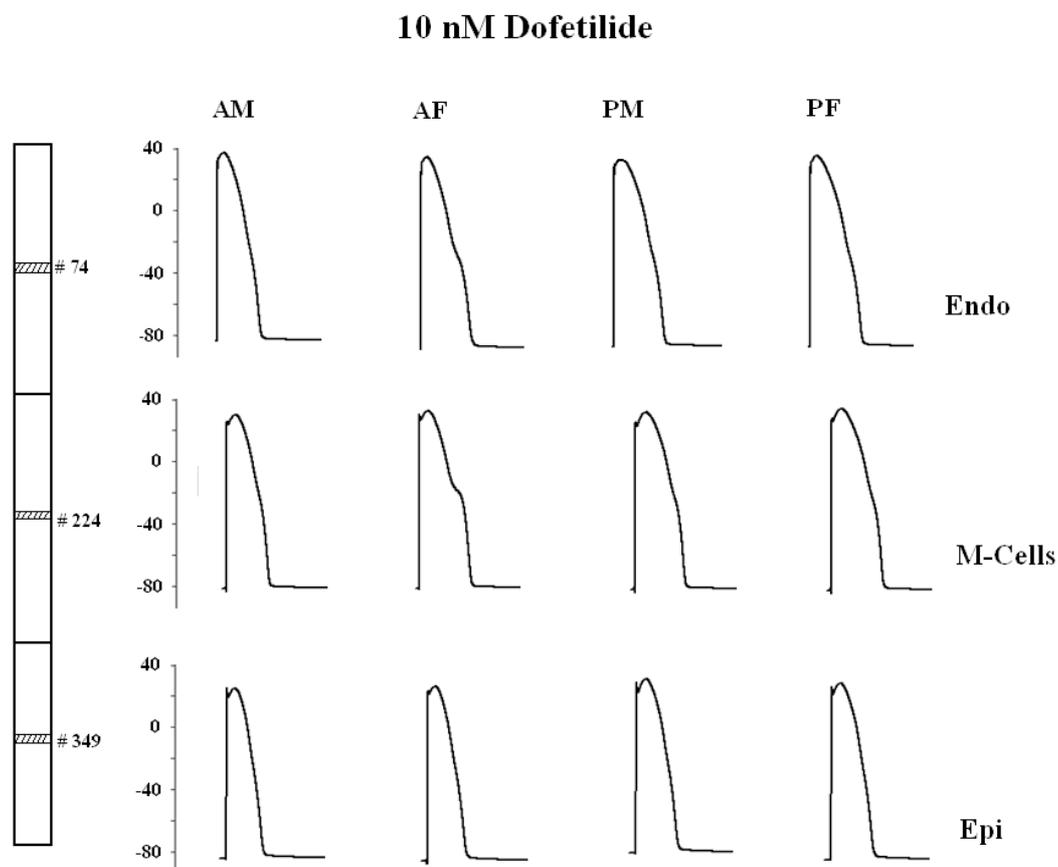


Figura 4.22 Potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de los 4 modelos con la aplicación de 10 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms.

Los pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 10 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms se muestran en la figura 4.23. Debido al efecto proarrítmico del dofetilide, los intervalos QT de todos los modelos son más largos que en la condición de control y la dispersión transmural de repolarización, reflejada en la onda T del pseudoECG, es mayor que la de control en todos los modelos.

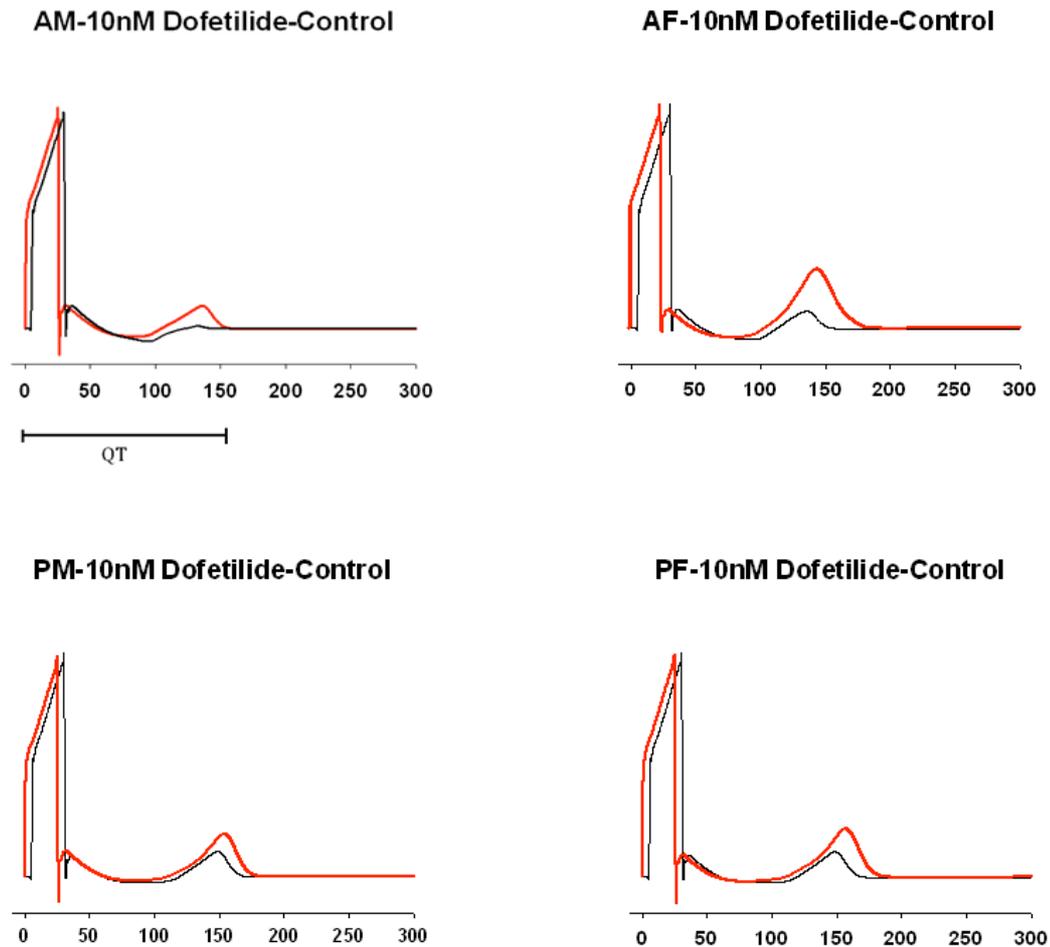


Figura 4.23 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 10 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms.

El intervalo QT es más largo en el modelo de adulto hembra (184 ms) que en el de adulto macho (151 ms). En tanto, que el intervalo QT de los modelos de jóvenes, tanto el de joven macho (174 ms) como el de joven hembra (175 ms) son similares.

Un efecto más acusado se presenta con la aplicación de 30 nM de dofetilide, la figura 4.24 presenta las APD_{90} de las regiones epicárdica, midmiocárdica y endocárdica de los 4 modelos con un BCL de 1000 ms y la concentración de dofetilide antes mencionada.

En la figura se puede observar el incremento exacerbado de la APD_{90} del modelo de adulto hembra, indicando la prevalencia del efecto proarrítmico del dofetilide sobre el modelo de adulto hembra. Aunque también se puede visualizar en la figura el incremento de la APD_{90} en el tejido midmiocárdico del modelo de preadolescente macho con respecto al de preadolescente hembra.

30 nM Dofetilide

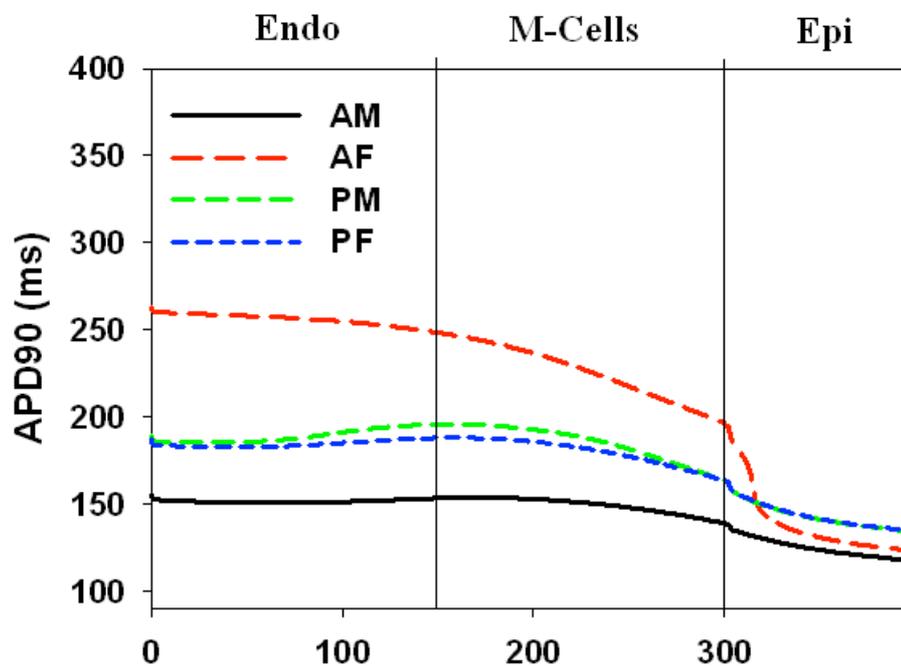


Figura 4.24 APD₉₀ de las regiones epicárdica, midmiocárdica y endocárdica de los 4 modelos con un BCL de 1000 ms y una concentración 30 nM de dofetilide.

La figura 4.25 ilustra los potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de cada fibra unidimensional de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la aplicación de 30 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms. Se muestran la aparición de EADs simples en los tejidos endocárdico y midmiocárdico del modelo de adulto hembra. En tanto, todos los potenciales de acción de los 4 modelos presentan una mayor prolongación de la APD.

Con 30 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms, se tiene que la máxima APD₉₀ se obtuvo en el tejido midmiocárdico de todos los modelos, excepto en el modelo de adulto hembra que lo tuvo en el tejido endocárdico, como se observa en la figura 4.47; siendo 153 ms para el modelo de adulto macho, 261 ms para el de adulto hembra, 196 ms para el modelo de preadolescente macho y 188 ms para el de preadolescente hembra, mientras que la menor APD₉₀ se obtuvo en el tejido epicárdico de todos los modelos y éstos fueron: 117 ms para el modelo de adulto macho, 122 ms para el de adulto hembra, 134 ms para el modelo de preadolescente macho y 134 ms para el de preadolescente hembra. La mayor TDR se presentó en el modelo de adulto hembra con 139 ms, debido a la EAD, seguido de los modelos de preadolescente macho y preadolescente hembra con 52 y 50 ms respectivamente, y por último el modelo de adulto macho con 36 ms.

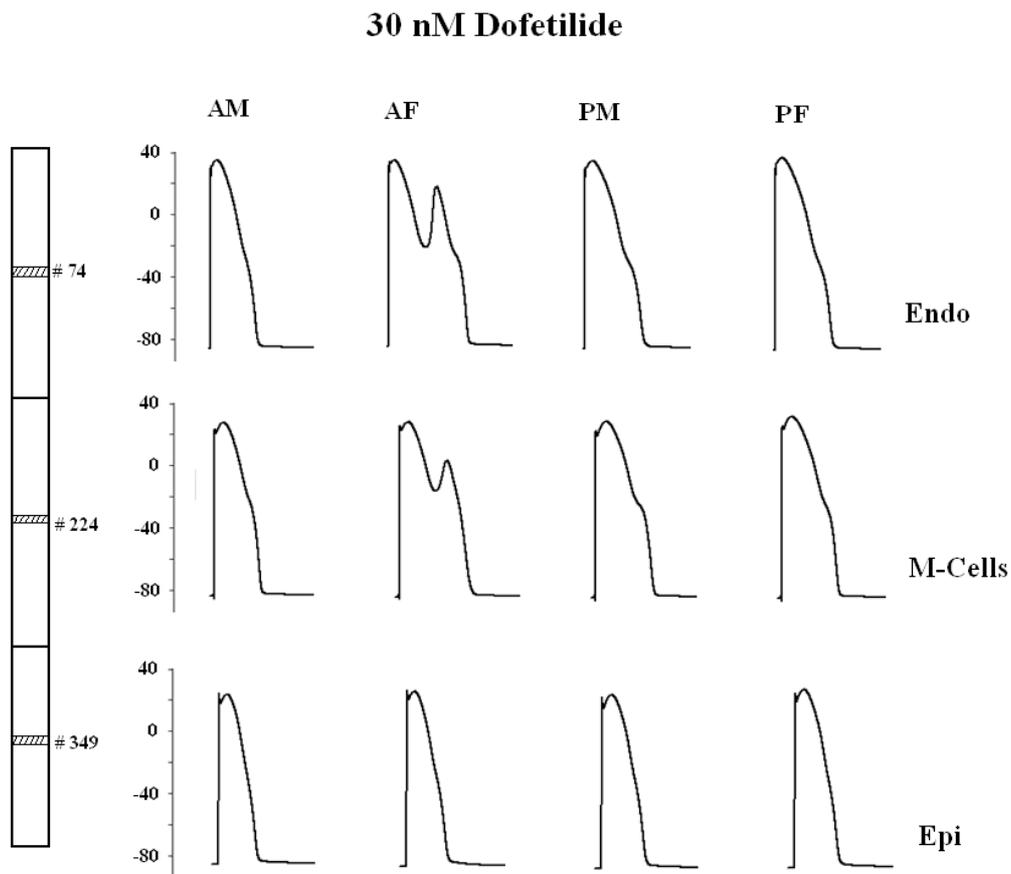


Figura 4.25 Potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la aplicación de 30 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms.

Los pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 30 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms se muestran en la figura 4.26. Se puede observar en la figura como se han incrementado los intervalos QT y la amplitud de la onda T de todos los modelos por el efecto del dofetilide, haciendo que inclusive se deforme la morfología de la onda T del modelo de adulto hembra, esto debido a las postdepolarizaciones tempranas en los tejidos endocárdico y midmiocárdico.

El intervalo QT es más largo en el modelo de adulto hembra (239 ms) que en el de adulto macho (165 ms). En tanto que en el intervalo QT de los modelos de preadolescentes, el de macho (183 ms) es ligeramente mayor al de la hembra (180 ms).

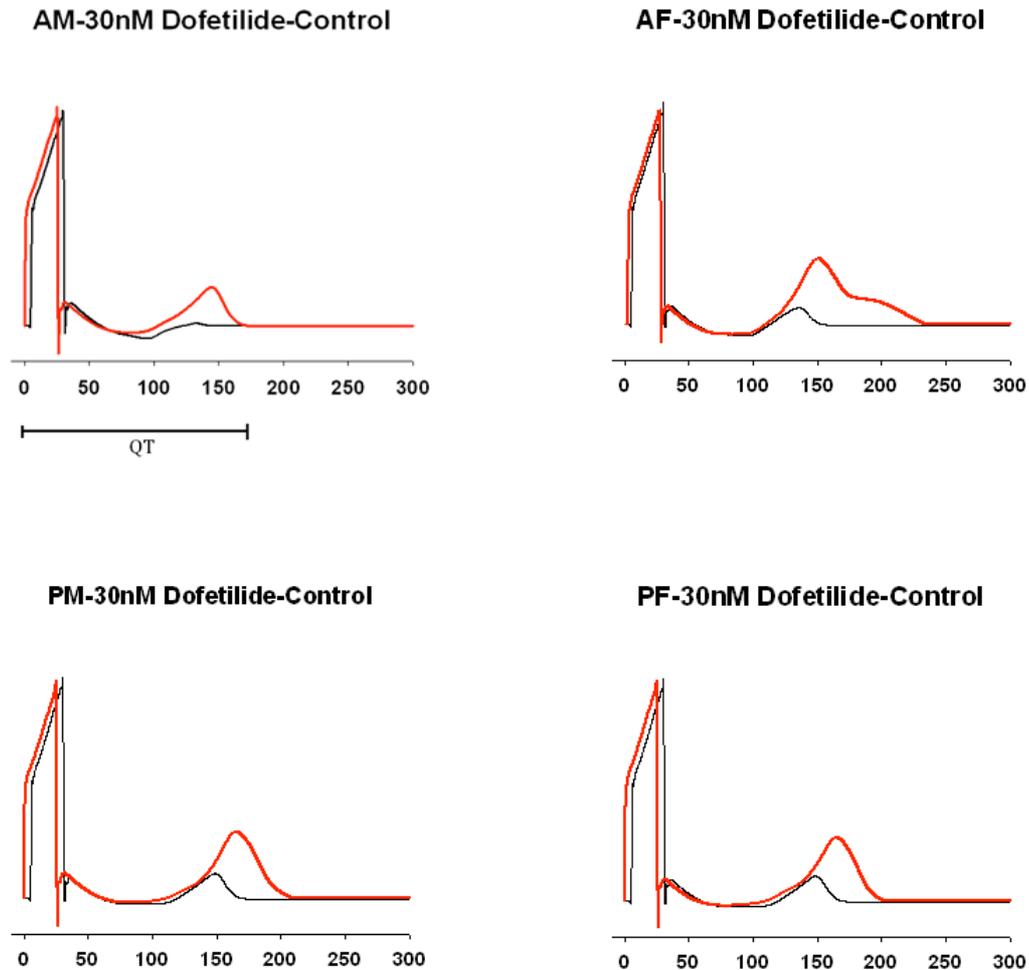


Figura 4.26 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 30 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms.

Con una concentración de 100 nM de dofetilide y un BCL de 1000 ms se muestran en la figura 4.27, las APD_{90} de los 4 modelos. Con esta concentración del fármaco se produce una mayor prolongación de la APD en todos los tejidos de cada uno de los modelos.

En la figura se puede observar, como con la aplicación de 100 nM de dofetilide, las APD_{90} en el tejido endocárdico de los modelos de adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra se incrementan de una forma considerable que las APD_{90} en el tejido midmiocárdico, lo que había sucedido sólo en el modelo de adulto hembra con una concentración de 30 nM de dofetilide; mientras que en el modelo de adulto macho, las APD_{90} en el tejido midmiocárdico siguen siendo un poco mayores que las APD_{90} en el tejido endocárdico.

100 nM Dofetilide

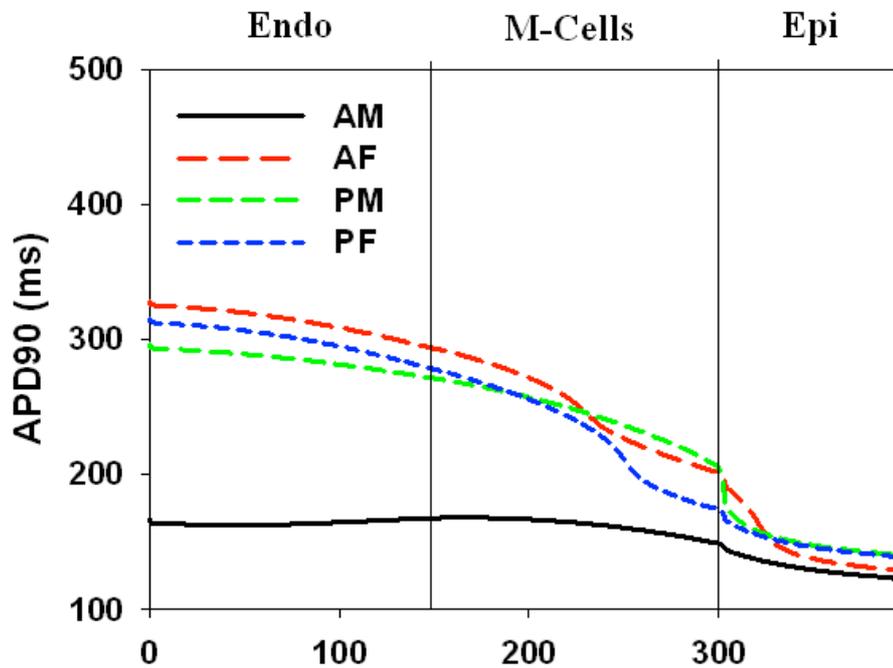


Figura 4.27 APD₉₀ de los 4 modelos con una concentración de 100 nM de dofetilide y un BCL de 1000 ms.

La figura 4.28 presenta los potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de cada fibra unidimensional de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la aplicación de 100 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms. Se muestran la aparición de EADs dobles en el tejido endocárdico y de EADs simples en el tejido midmiocárdico del modelo de adulto hembra. Así como EADs simples en los tejidos endocárdico y midmiocárdico del modelo de preadolescente macho y EADs simples en el tejido endocárdico del modelo de preadolescente hembra. Los demás potenciales de acción en los tejidos endocárdico, midmiocárdico y epicárdico de los 4 modelos presentan una mayor prolongación de la APD.

Con 100 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms, se tiene que la máxima APD₉₀ se obtuvo en el tejido endocárdico de todos los modelos, excepto en el modelo de adulto macho que lo tuvo en el tejido midmiocárdico, como se observa en la figura 4.28; siendo 167 ms para el modelo de adulto macho, 326 ms para el de adulto hembra, 294 ms para el modelo de preadolescente macho y 312 para el de preadolescente hembra, mientras que la menor APD₉₀ se obtuvo en el tejido epicárdico de todos los modelos y éstos fueron: 121 ms para el modelo de adulto macho, 128 ms para el de adulto hembra, 139 ms para el modelo de preadolescente macho y 138 ms para el de preadolescente hembra.

100 nM Dofetilide

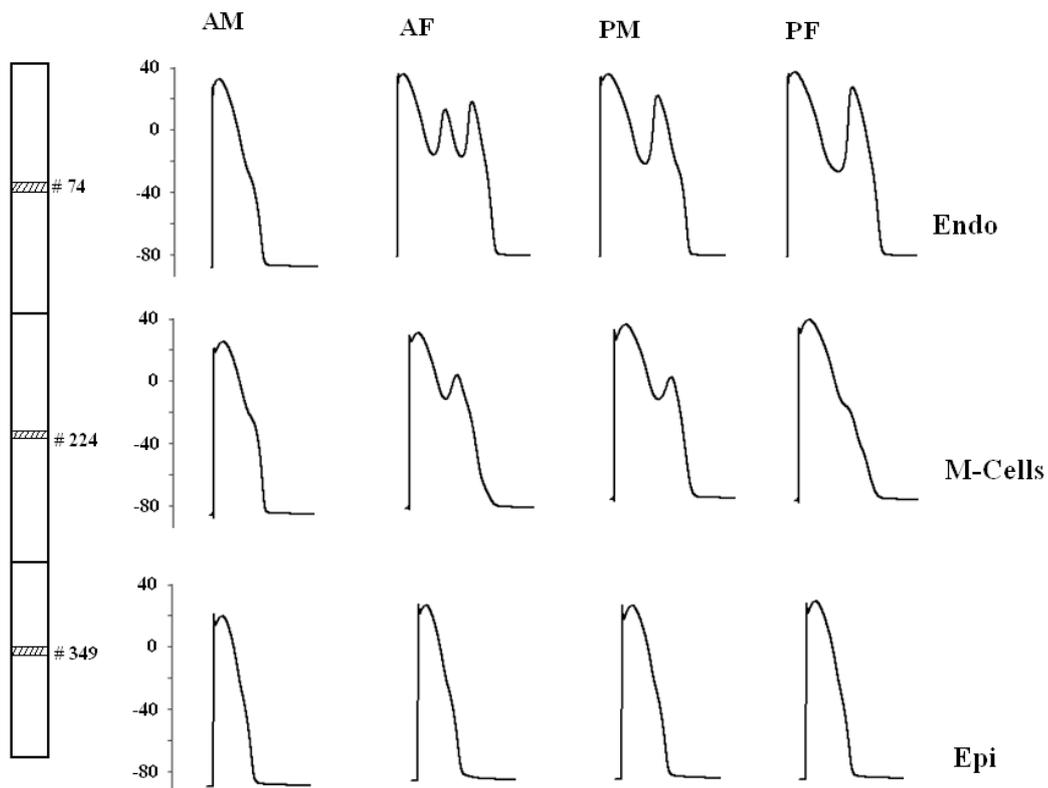


Figura 4.28 Potenciales de acción de las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con la aplicación de 100 nM de dofetilide y con una BCL de 1000 ms.

La mayor TDR se presentó en el modelo de adulto hembra con 198 ms, seguido de los modelos de preadolescente hembra y preadolescente macho con 174 y 155 ms respectivamente, estos altos valores de TDR debido a la EADs, y por último el modelo de adulto macho con 46 ms.

Los pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 100 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms se muestran en la figura 4.29. Se puede observar en la figura como se han incrementado los intervalos QT y la amplitud de la onda T de todos los modelos por el efecto del dofetilide, haciendo que inclusive se deforme la morfología de la onda T en los modelos de adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra, lo anterior debido a las postdepolarizaciones tempranas en los tejidos endocárdico y midmiocárdico.

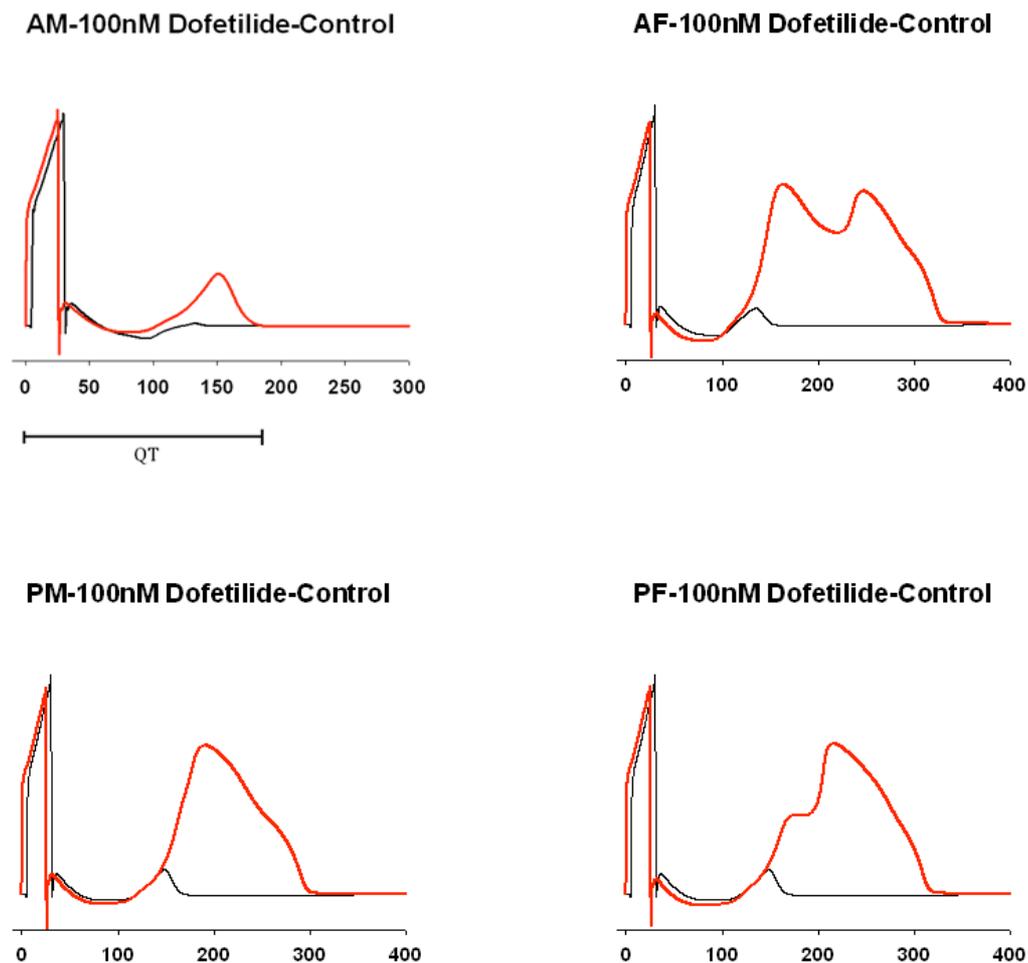


Figura 4.29 Pseudo-ECGs de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra con 100 nM de dofetilide y una BCL de 1000 ms.

El intervalo QT es más largo en el modelo de adulto hembra (332 ms) que en el de adulto macho (185 ms). En tanto que en el intervalo QT de los modelos de preadolescentes, el de hembra (304 ms) es mayor que el de macho (285 ms).

En los resultados presentados se ha podido comprobar el efecto proarrítmico del dofetilide en la prolongación del intervalo QT dependiente de la dosis o concentración utilizada en todos los tejidos de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra. Entre los modelos de adultos, la hembra muestra un efecto mucho más pronunciado que el macho, mientras que en los modelos de preadolescentes, los efectos causados por la aplicación del dofetilide son muy similares, aunque con una ligera predominancia hacia el macho.

La aplicación del dofetilide a diferentes concentraciones produce un aumento en la TDR en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra. Presentando un incremento mucho mayor en el modelo de hembra, comparado con el del macho, cuando se trata de los modelos de adultos; mientras que en los modelos de preadolescentes, los incrementos de TDR son muy similares y son ligeramente mayores, tanto en el macho como en la hembra,

dependiendo de la concentración de dofetilide utilizada, como se puede comprobar con los resultados mostrados.

Con respecto al intervalo QT, el dofetilide produce una elongación del intervalo QT en todos los modelos; teniendo una prolongación mucho mayor en el modelo de adulto hembra que en el de adulto macho y siendo esta prolongación muy similar cuando se trata de los modelos de preadolescentes, tanto hembra como macho, presentando ligeras diferencias entre machos y hembras dependientes de la concentración de dofetilide aplicada. La aparición de EADs en los potenciales de acción de tejidos endocárdico y midmiocárdico hace que se deforme la morfología de la onda T, principalmente en el modelo de adulto hembra que presenta esta anomalía con la aplicación de 30 y 100 nM de dofetilide. En tanto que en los modelos de preadolescentes, en ambos se presentan EADs deformando la morfología de la onda T; en el de preadolescente macho en los tejidos endocárdico y midmiocárdico con una concentración de 100 nM de dofetilide y en el modelo de preadolescente hembra en el tejido endocárdico con la misma concentración de fármaco.

4.5 Diferencias del sexo y la edad sobre los efectos de mutaciones.

Más de 290 mutaciones en hERG han sido ligadas al síndrome congénito de QT largo tipo 2 (LQT2). Ver listado completo de mutaciones LQT2 en el anexo II. Defectos en el poro de hERG han mostrados tener fenotipos celulares heterogéneos. Mutaciones en el poro pueden resultar en una pérdida de función, algunas veces debido a defecto de tráfico y pueden o no coensamblar con subunidades de hERG-WT presentando efectos dominantes negativos y otros defectos en el poro del canal pueden dar lugar a alteraciones de la cinética del canal haciendo que se decremente la corriente I_{kr}/I_{hERG} .

4.5.1 Efectos sobre células tipo silvestre (WT).

Se desarrolló un modelo estructurado de la interacción de la corriente I_{kr}/I_{hERG} con el fármaco dofetilide para investigar las consecuencias funcionales de las células WT del gen hERG en anomalías de la repolarización cardiaca basado en la formulación de Markov, como se ilustra en el diagrama de estados de la figura 4.30 y con las constantes de relación de asociación y disociación implementadas por Clancy y Rudy 2001 (Clancy CE y Rudy Y, 2001), ver detalles en la sección Métodos.

El método de Clancy y Rudy 2001 está basado en la aproximación de Kiehn a una temperatura de 37° C. El modelo de Kiehn incluye tres estados cerrados (C3, C2, C1), un estado abierto (O), y un estado inactivado (I). La transición entre C2 and C1 es independiente del voltaje. La inactivación desde el estado cerrado C1 al inactivado I se realiza directamente (Kiehn J et al, 1999).

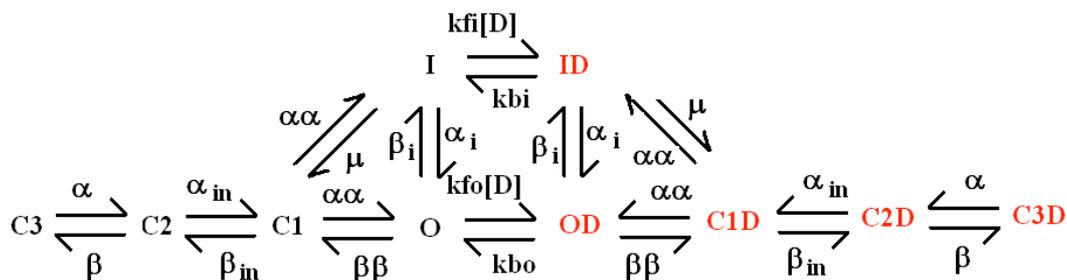


Figura 4.30 Diagrama de estados del modelo de la interacción de la corriente Ikr/hERG con el fármaco dofetilide.

La actividad bloqueadora del dofetilide se ha modelizado utilizando la hipótesis del receptor protegido GR “guarded receptor hypothesis” (Starmer F, 1984). La hipótesis GR asume que la afinidad del receptor para el fármaco es constante, mientras el acceso hacia el receptor varía con el estado del canal. Una vez el fármaco se asocia, el canal queda en un estado de no conducción hasta que el fármaco se pueda disociar del receptor.

Los estudios experimentales del dofetilide han demostrado una interacción fármaco-receptor en los estados abierto e inactivado, pero no en los estados cerrados (Yang T et al, 1997; Weerapura M et al, 2002 Milnes JT et al, 2010). Para las constantes de relación de asociación k_{fo} y k_{fi} se han utilizado los valores de k_o y k_I que se obtuvieron para los estados abierto e inactivado para la formulación de Hodgkin Huxley del modelo de la interacción dofetilide- I_{Kr} presentada en el apartado 4.1 y para las constantes de relación de disociación k_{bo} y k_{bi} se utilizaron los valores de r_o y r_I para los estados abiertos e inactivados que se habían obtenido en el modelo presentado en el apartado antes mencionado. El valor de IC_{50} es de 7 nM.

La figura 4.31 muestra la validación del modelo con la curva en respuesta al protocolo de voltaje de activación entre los datos experimentales de la interacción hERG – dofetilide (Milnes JT et al, 2010) y los resultados simulados del modelo. Los símbolos representan los datos experimentales y la línea sólida muestra los valores de simulación. Los datos experimentales se han obtenido de un sistema heterólogo de líneas celulares de mamíferos HEK 293 a 37° C de temperatura (Milnes JT et al, 2010).

El protocolo de voltaje es empleado para determinar la dependencia de voltaje de activación sobre un rango de potenciales de prueba, desde un potencial de -80 mV se aplican escalones despolarizantes entre -40 mV y +50 mV con una duración de 2 s, para después aplicar una repolarización a -40 mV por 4 s, ver inserto en la figura 4.31. El valor $V_{1/2}$ de los datos experimentales fue -20.4 ± 0.8 mV y el valor $V_{1/2}$ de los resultados de la simulación fue -25.2 mV.

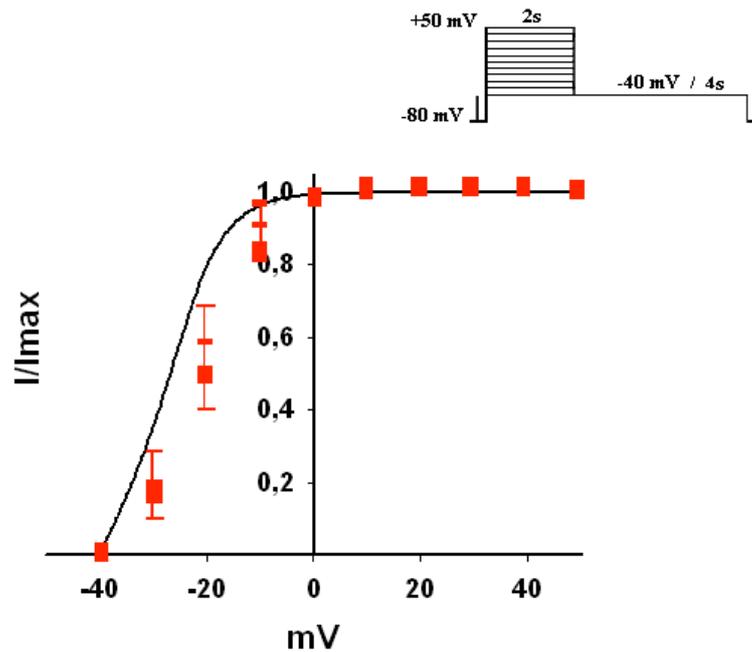


Figura 4.31 Curva en respuesta al protocolo de voltaje de activación.

La validación del modelo con la comparación entre los datos experimentales de hERG-dofetilide (Milnes JT et al, 2010) y los resultados obtenidos por simulación en respuesta a un protocolo de voltaje de inactivación se muestran en la figura 4.32. Los símbolos representan los datos experimentales y la línea sólida muestra los valores simulados. La dependencia de voltaje de inactivación fue determinada aplicando pulsos despolarizantes de +40 mV con una duración de 500 ms, seguidos por escalones repolarizantes con un rango de -100 a +30 mV de 2 ms y después un escalón a +40 mV con 500 ms de duración, para medir la magnitud de la inactivación, ver inserto en la figura 4.32; el valor de $V_{1/2}$ de los datos experimentales fue -55.4 ± 0.7 mV y el valor de $V_{1/2}$ de los resultados de la simulación fue -57.9 mV.

Se incorporaron los modelos desarrollados de Markov con la interacción hERG-dofetilide de células WT para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra incluyendo las regiones endocárdica, midmiocárdica y epicárdica en el modelo celular ventricular de Faber-Rudy 2000, para evaluar las consecuencias arritmogénicas celulares de células WT y de varias mutaciones de hERG asociadas a LQT2.

El esquema de Markov representa los distintos estados del canal y el acoplamiento entre estos estados, permitiendo relacionar las propiedades cinéticas de un estado específico del canal iónico a la conducta electrofisiológica de la célula completa.

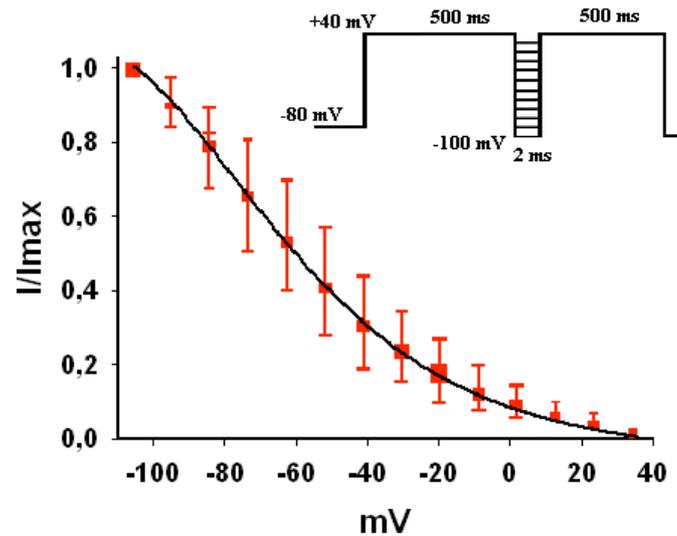


Figura 4.32 Curva en respuesta al protocolo de voltaje de inactivación.

Además, las aproximaciones de Markov en el canal hERG proporcionan el marco de modelización requerido para investigar los efectos dependientes de fármacos y mutaciones en I_{hERG} , al permitir que cada estado de Markov represente una conformación física de la proteína del canal.

En la figura 4.33 se muestra el potencial de acción simulado de una célula epicárdica (WT) del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms, asimismo se presenta la corriente I_{kr}/I_{hERG} correspondiente y las probabilidades de estados de canal I, O, C1, C2, y C3.

La duración del potencial de acción a una repolarización del 90% (APD_{90}) es de 114 ms. Durante la despolarización del potencial de acción, los canales se mueven desde el estado cerrado C3 y pasan a través de los estados C2 y C1. Desde el estado C1 los canales pueden pasar directamente al estado abierto O ó al estado de inactivación I. Una vez que los canales abren, pasan rápidamente a la inactividad (transición de $O \rightarrow I$). Un pseudoequilibrio es alcanzado entre la transición de inactivación ($O \rightarrow I$) y la recuperación desde la inactivación ($I \rightarrow O$) que comienza a favorecer la recuperación cuando el plateau o meseta del potencial de acción se repolariza. Con la recuperación de la inactivación, la I_{kr} se incrementa y contribuye a una más rápida repolarización del potencial de acción. En este momento los canales se desactivan lentamente (transición $O \rightarrow C1 \rightarrow C2 \rightarrow C3$).

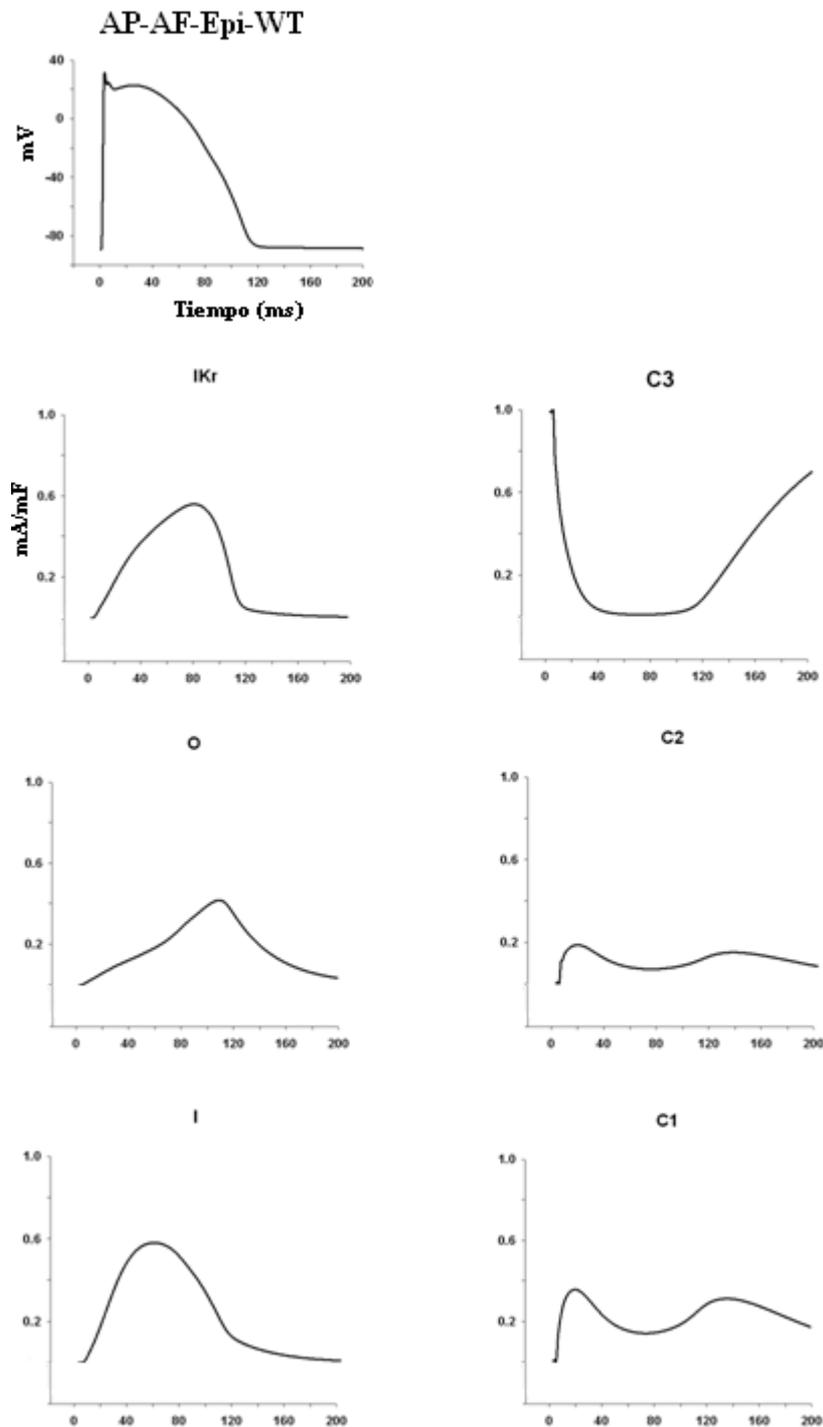


Figura 4.33 Potencial de acción epicárdico WT, corriente I_{kr}/I_{hERG} y probabilidades de estado del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms.

Los potenciales de acción de las células endocárdicas WT de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestran en la figura 4.34.

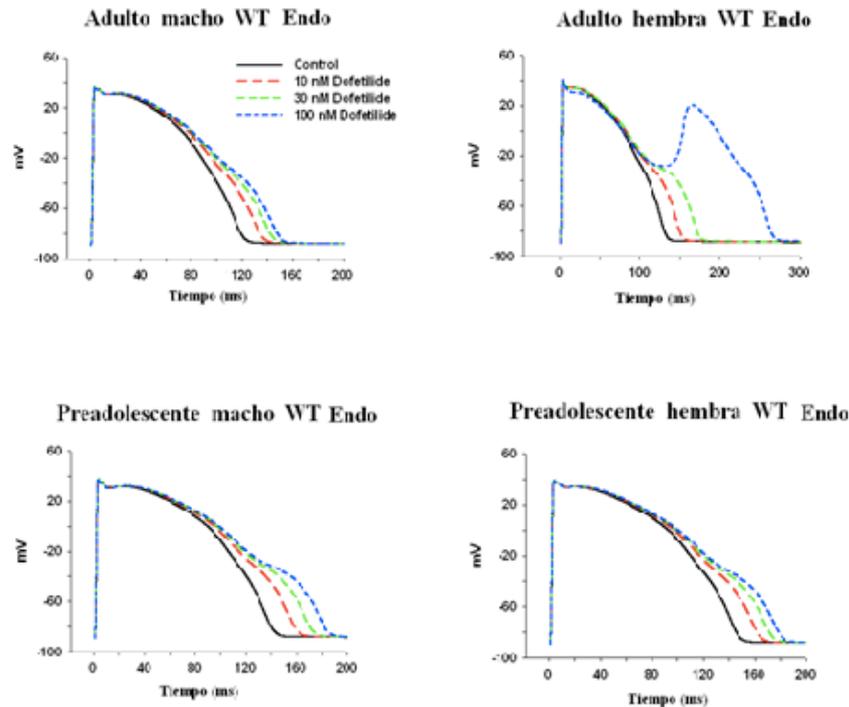


Figura 4.34 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico WT en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

Se puede observar que en las células endocárdicas WT en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula endocárdica del adulto macho en control fue de 121 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 12.4%, 19.0% y 23.1% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. Mientras que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 133 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 14.3% y 30.0% con las concentraciones de 10 y 30 nM de dofetilide, mientras que con la aplicación de 100 nM de dofetilide se produce una EAD simple.

En el caso de los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula endocárdica WT del preadolescente macho en control fue de 141 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 13.4%, 21.9% y 30.5% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 147 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 10.9%, 17.7% y 22.4% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

Los potenciales de acción de los 4 modelos de células midmiocárdicas WT en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se ilustran en la figura 4.35.

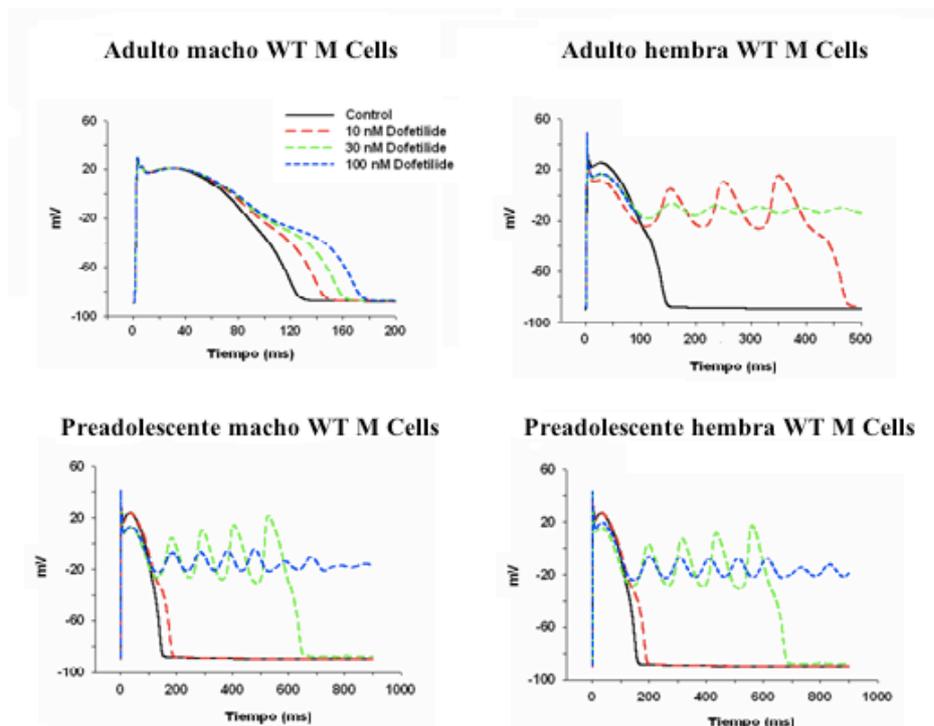


Figura 4.35 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico WT en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En las células midmiocárdicas en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula midmiocárdica del adulto macho en control fue de 125 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 16.0%, 31.4% y 42.9% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula midmiocárdica en control fue de 145 ms. En la figura se puede observar la susceptibilidad a EADs de las células midmiocárdicas. En el modelo de adulto macho existe prolongación de la APD en las concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide, mientras que en el modelo de adulto hembra aparecen EADs en las 3 concentraciones de dofetilide, una EAD triple con 10 nM de dofetilide y EADs drásticamente prolongadas sin repolarización con 30 y 100 nM.

Con respecto a los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula midmiocárdica del preadolescente macho en control fue de 148 ms y el porcentaje de prolongación de la APD fue 23.6% con la aplicación de 10 nM de dofetilide. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula midmiocárdica en control fue de 157 ms y el porcentaje de prolongación de la APD fue 21.0% con la aplicación de 10 nM de dofetilide. Tanto en el modelo del preadolescente macho como en el modelo de la preadolescente hembra aparecen EADs con la aplicación de 30 nM de dofetilide, una EAD cuadruple; en ambos casos aparecen EADs

dramáticamente prolongadas sin repolarización con una concentración de 100 nM de dofetilide.

El potencial de acción epicárdico WT para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestra en la figura 4.36.

En las células epicárdicas de los 4 modelos se presentó solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula epicárdica del adulto macho en control fue de 108 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 7.4%, 11.1% y 13.9% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 114 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 7.0%, 10.5% y 13.1% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

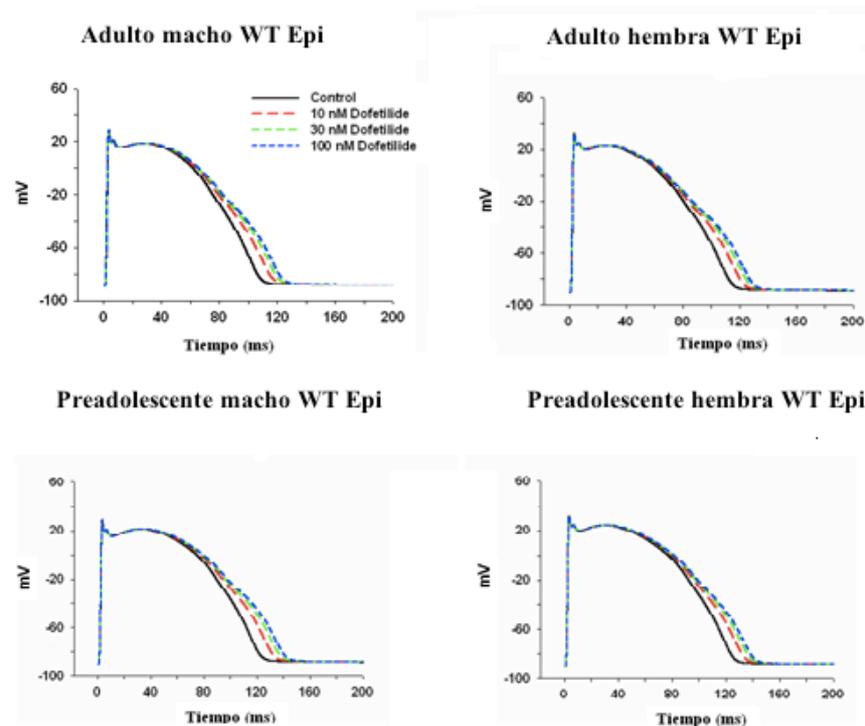
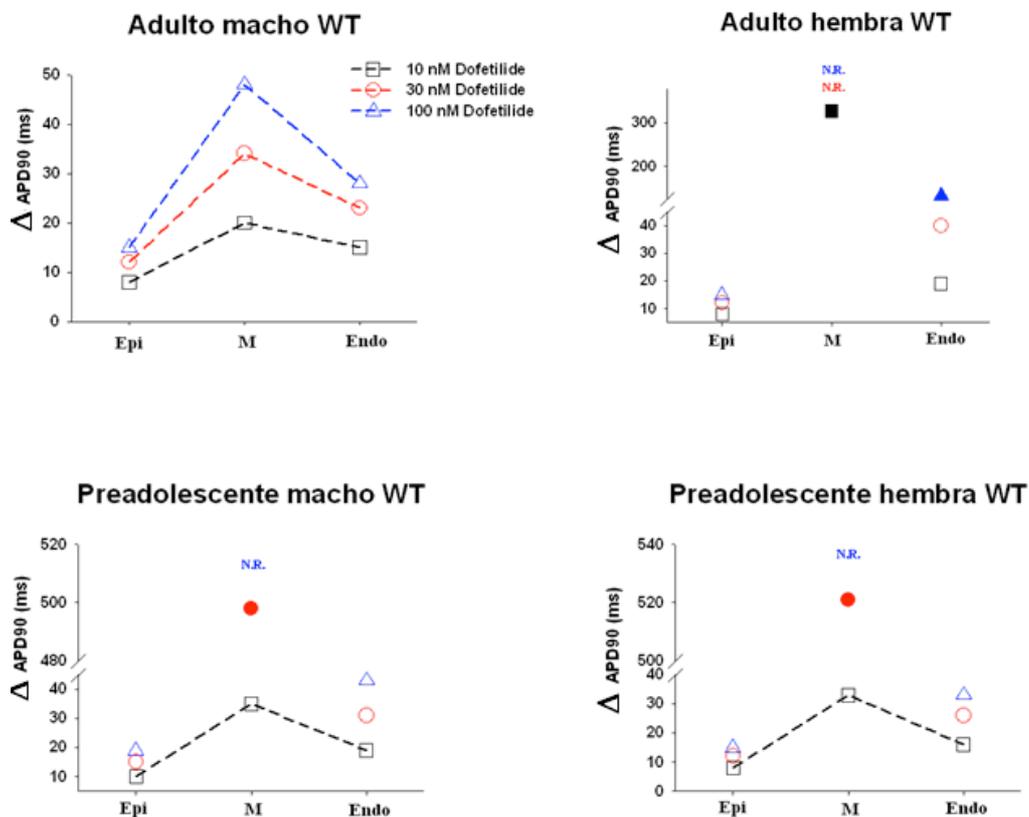


Figura 4.36 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico WT en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula epicárdica del preadolescente macho en control fue de 122 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 8.2%, 12.3% y 15.6% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 125 ms y los porcentajes de

prolongación de la APD fueron 6.4%, 9.6% y 12.0% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

En la figura 4.37 se muestra la relación entre el aumento de la APD₉₀ y los diferentes tipos de células WT bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms para los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra. Se puede observar en la figura el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.



Nota.- Símbolo relleno indica repolarización en EAD.

N.R. indica no repolarización.

Figura 4.37 Relación entre el aumento de la APD₉₀ y los diferentes tipos de células WT bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.

El aumento de la APD₉₀ tiene diferentes efectos en los potenciales de acción de cada tipo de célula WT y de cada modelo. En el modelo de adulto macho se tuvo un

aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del PA en la célula epicárdica WT con todas las concentraciones de dofetilide y con la aplicación de 10 y 30 nM de dofetilide en la célula endocárdica; se produjeron EADs con 10 nM en la célula midmiocárdica WT y con 100 nM en la célula endocárdica WT. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la célula midmiocárdica WT con concentraciones de 30 y 100 nM de dofetilide. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del PA en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que con 30 nM de dofetilide produjo EADs y con 100 nM de dofetilide produjo EADs dramáticamente prolongadas sin repolarización.

En los modelos de adultos, las células WT del modelo de adulto hembra tienen una mayor dispersión de repolarización que el adulto macho en todas las concentraciones de dofetilide. Mientras que en los modelos de preadolescentes, se tiene igual dispersión de repolarización con la aplicación de 10 nM de dofetilide (25 ms), así mismo se tiene una casi similar dispersión de repolarización con la aplicación de 30 nM de dofetilide (498 y 521 ms con repolarización en EADs). En tanto que con 100 nM de dofetilide, los dos modelos presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

4.5.2 Efectos sobre células de la mutación R56Q.

La mutación R56Q en el dominio Per-Arnt-Sim (PAS) en los canales de potasio de hERG acelera la desactivación del canal. Se eligió esta mutación sustitutiva, ya que es la que puede incrementar más profundamente esta relación de desactivación (Chen J et al, 1999). Esta alteración en la cinética del canal reduce la corriente a través de los canales hERG durante la repolarización en la fase de la meseta del potencial de acción cardíaco, prolongando el intervalo QT y siendo una causa probable para el incremento de riesgo de la arritmia Torsade de Pointes (TdP) en los individuos afectados por esta mutación. Estos cambios se han presentado experimentalmente en los canales hERG que contienen a la mutación R56Q expresados en *Xenopus* oocytes. Ver figura 4.38 tomada de Chen J et al, 1999.

Estos datos experimentales indican que aunque la corriente hERG activada durante la despolarización puede ser mayor que la corriente hERG de células WT, debido al desplazamiento positivo en la dependencia de voltaje de la disponibilidad de canales, la rápida desactivación causada por esta mutación resulta en una corriente menor cuando la membrana es lentamente repolarizada.

FIG. 6. Currents induced by coexpression of WT HERG and R56Q HERG subunits have properties intermediate to that induced by either subunit alone. A, examples of currents during depolarizations from -70 to 0 mV for oocytes expressing WT, R56Q, and WT + R56Q HERG channels. B, voltage-dependent activation of WT (■, same as Fig. 4), R56Q (□, $V_{1/2} = -40.8 \pm 2.2$ mV, $k = 6.9 \pm 0.3$ mV, $n = 6$), and R56Q + WT HERG (◇, $V_{1/2} = -44.7 \pm 0.9$ mV, $k = 7.3 \pm 0.3$ mV, $n = 7$). C, voltage dependence of channel availability for WT (same as Fig. 5), R56Q ($V_{1/2} = -53.5 \pm 1.3$ mV, $k = 25.3 \pm 1.0$ mV, $n = 8$), and R56Q + WT HERG ($V_{1/2} = -70.4 \pm 2.4$ mV, $k = 27.6 \pm 1.0$ mV, $n = 10$). D, fast deactivation of R56Q HERG channels reduces amplitude of current during repolarization phase of a voltage ramp. Currents were normalized to amplitude of instantaneous tail currents at -120 mV to account for variable levels of channel expression between individual oocytes. Instantaneous tail current was measured by extrapolation of the deactivating phase to the time of initial repolarization from a prepulse to $+40$ mV. The traces represent the mean current for 5 oocytes + or - 1 S.E. ($n = 5$ for each trace).

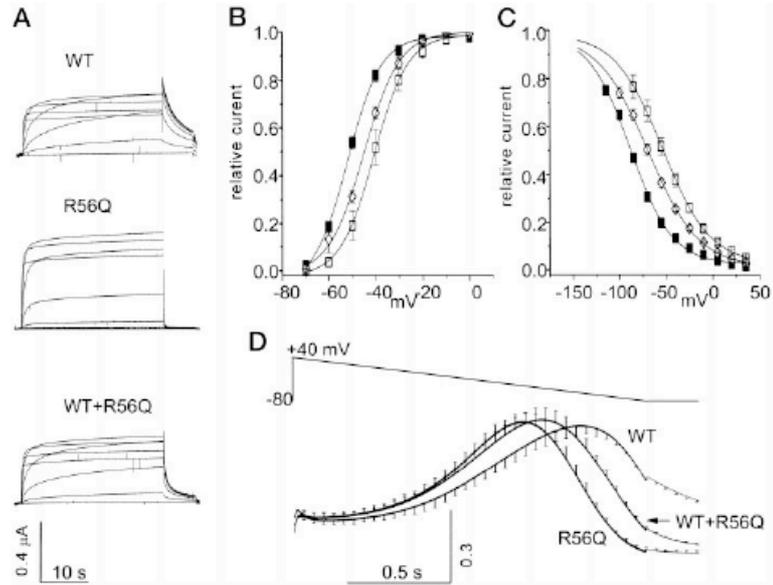


Figura 4.38 Datos experimentales de células WT y de la mutación R56Q (tomada de Chen J et al, 1999).

La mutación es simulada incrementando la relación de transición $O \rightarrow C1$ por un factor de 6.3 y la relación de transición $C2 \rightarrow C3$ por un factor de 10.5 (Clancy CE y Rudy Y, 2001). Estas relaciones de desactivación incrementadas resultan en un cambio hacia la derecha en la dependencia de voltaje de la activación y rectificación debido al fuerte acoplamiento entre los estados discretos.

En la figura 4.39 se ilustran los potenciales de acción simulados de una célula epicárdica WT (línea gruesa) y de la mutación R56Q (línea delgada) del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms, así como las corrientes I_{kr}/I_{hERG} correspondientes y las probabilidades de estados de canal I, O, C1, C2, y C3.

La APD_{90} del potencial de acción epicárdico de la mutación R56Q es de 120 ms. En la figura se puede observar que mientras la corriente I_{kr} inicial durante la despolarización del potencial de acción es comparable con la de la célula WT, la parte final de la corriente I_{kr} es decremada debido al aumento de la probabilidad de la transición $O \rightarrow C1$. Esto se puede ver en la probabilidad del estado abierto O durante el potencial de acción. La desactivación ocurre de forma más temprana, veanse las probabilidades de estado del canal de C1, C2 y C3, resultando en una menor corriente de repolarización en la parte final del potencial de acción, que es cuando la I_{kr} usualmente tiene un rol principal en la repolarización y determina la duración del potencial de acción. Por tanto, al tener una menor I_{kr} , la APD_{90} del potencial de acción de esta mutación se prolonga en comparación a la APD_{90} de la célula WT.

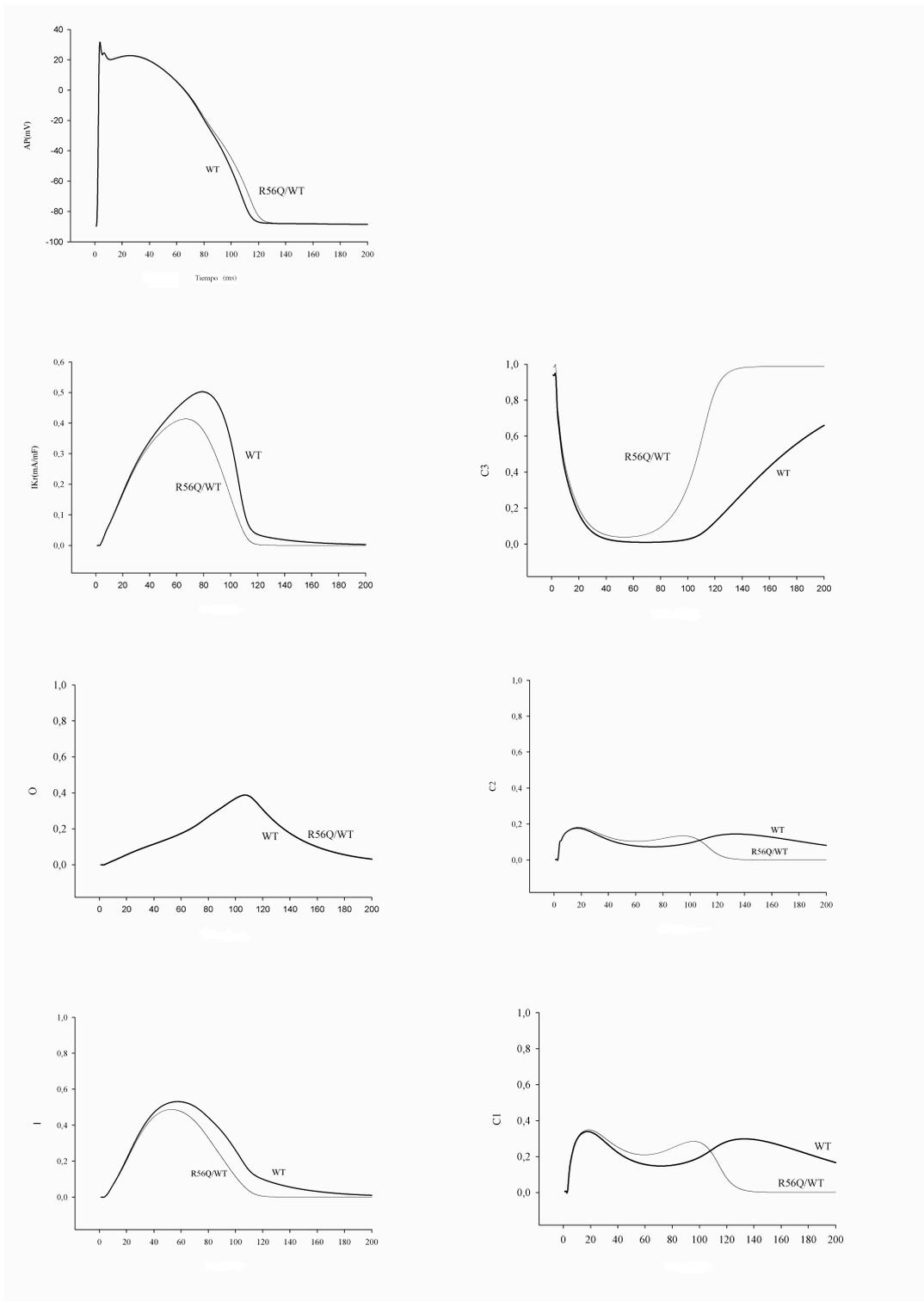


Figura 4.39 Potenciales de acción epicárdico de célula WT (línea gruesa) y de la mutación R56Q (línea delgada), corrientes I_{Kr}/I_{hERG} y probabilidades de estado del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms en estado estacionario.

Los potenciales de acción de las células endocárdicas de la mutación R56Q de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestran en la figura 4.40.

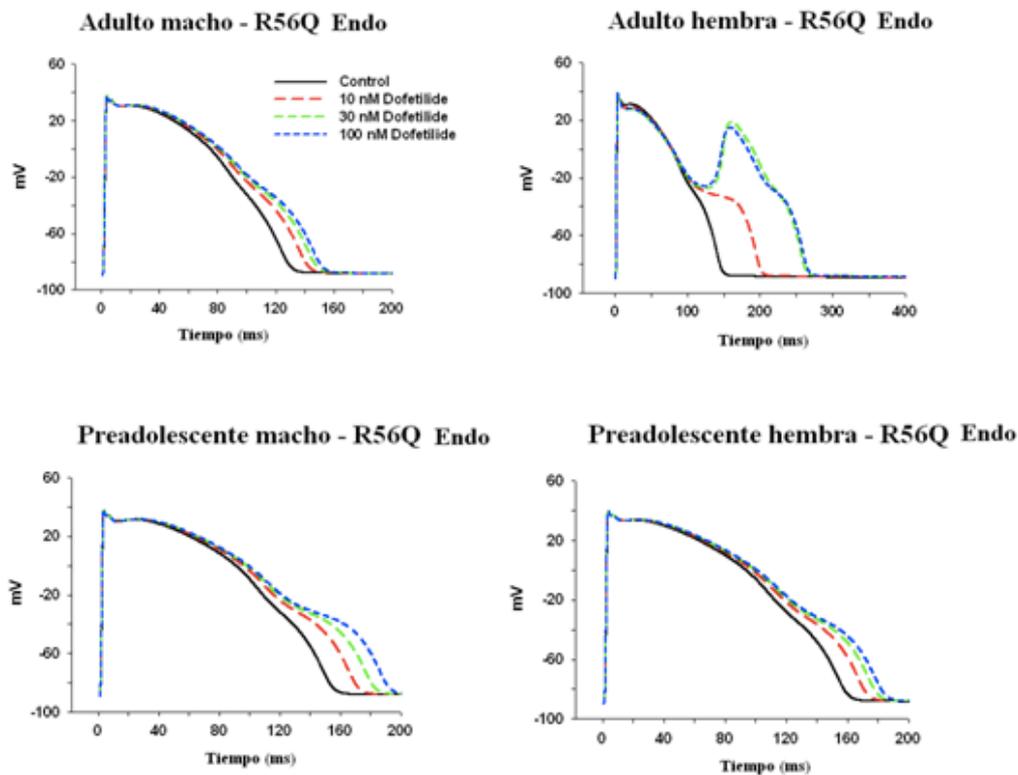


Figura 4.40 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de la mutación R56Q en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En las células endocárdicas de la mutación R56Q en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula endocárdica del adulto macho en control fue de 129 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 10.0%, 14.7% y 17.0% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 146 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 37.0% con la concentración de 10 nM de dofetilide, mientras que con la aplicación de 30 y 100 nM de dofetilide se producen EAD simples.

En el caso de los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula endocárdica de la mutación R56Q del preadolescente macho en control fue de 154 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 11.0%, 19.5% y 24.6% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 159 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 8.2%, 12.6% y 15.7% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

Se puede observar en la figura que en los modelos de adultos, el de adulto hembra tiene una mayor prolongación de APD en la concentración de 10 nM de dofetilide, en tanto que se producen EADs simples con las concentraciones de 30 y 100 nM, mientras que el modelo de adulto macho solo produce prolongaciones de APD en todas las concentraciones. Por el contrario, en los modelos de preadolescentes como en las células endocárdicas WT, aunque no aparecen EADs, el modelo de preadolescente macho tiene una notoria mayor prolongación de APD que el modelo de preadolescente hembra.

En la figura 4.41 se ilustra la susceptibilidad a EADs de las células midmiocárdicas de la mutación R56Q con los potenciales de acción de los 4 modelos de células midmiocárdicas en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz. En las células midmiocárdicas en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs.

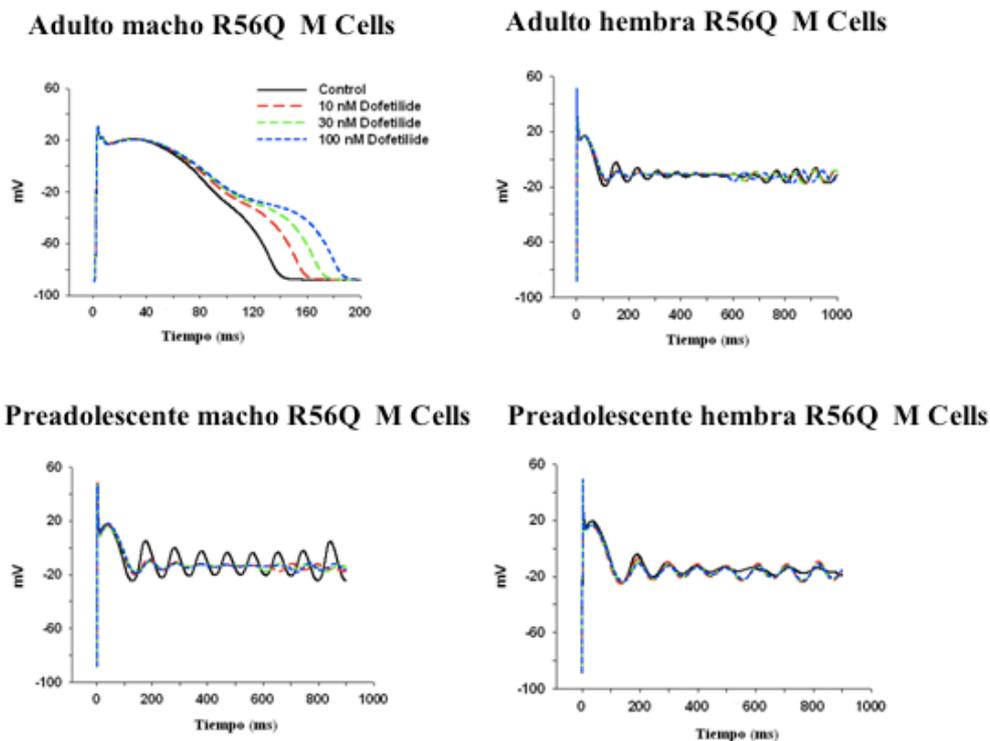


Figura 4.41 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico de la mutación R56Q en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

La APD_{90} de la célula midmiocárdica del adulto macho en control fue de 138 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 13.7%, 23.9% y 34.0% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula midmiocárdica en control produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

En la figura se puede observar la susceptibilidad a EADs de las células midmiocárdicas, ya que en el modelo de adulto macho existe prolongación de la APD en las concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide, mientras que en el modelo de adulto hembra aparecen EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en las 3 concentraciones de dofetilide.

Con respecto a los dos modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula midmiocárdica del preadolescente macho y preadolescente hembra produjeron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización y este resultado se repite con la aplicación de las 3 concentraciones de dofetilide.

El potencial de acción epicárdico de la mutación R56Q para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestra en la figura 4.42.

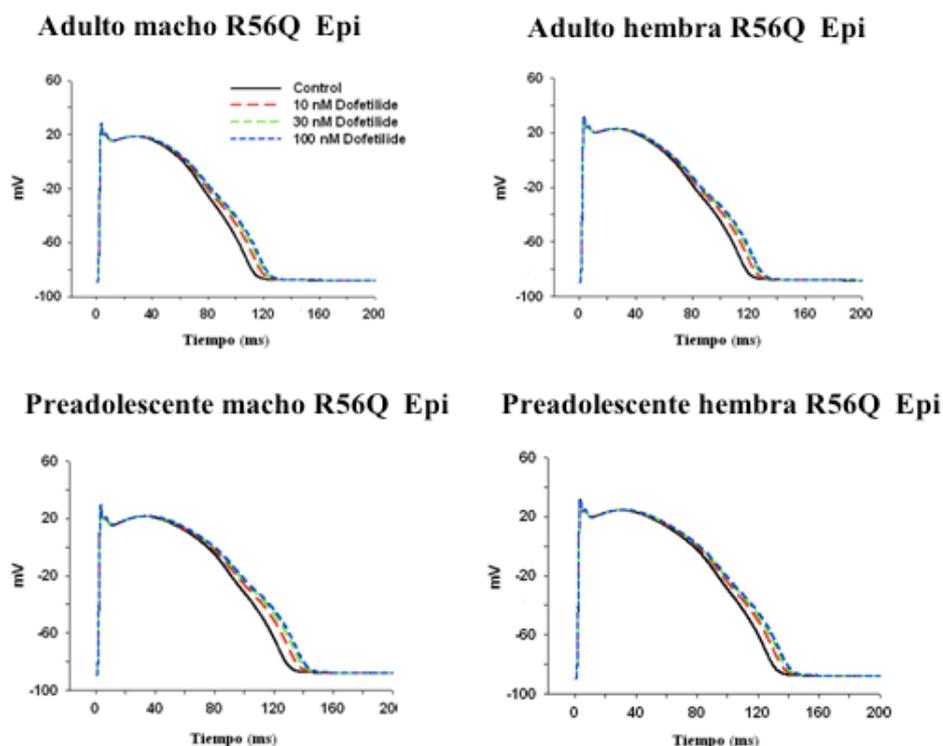


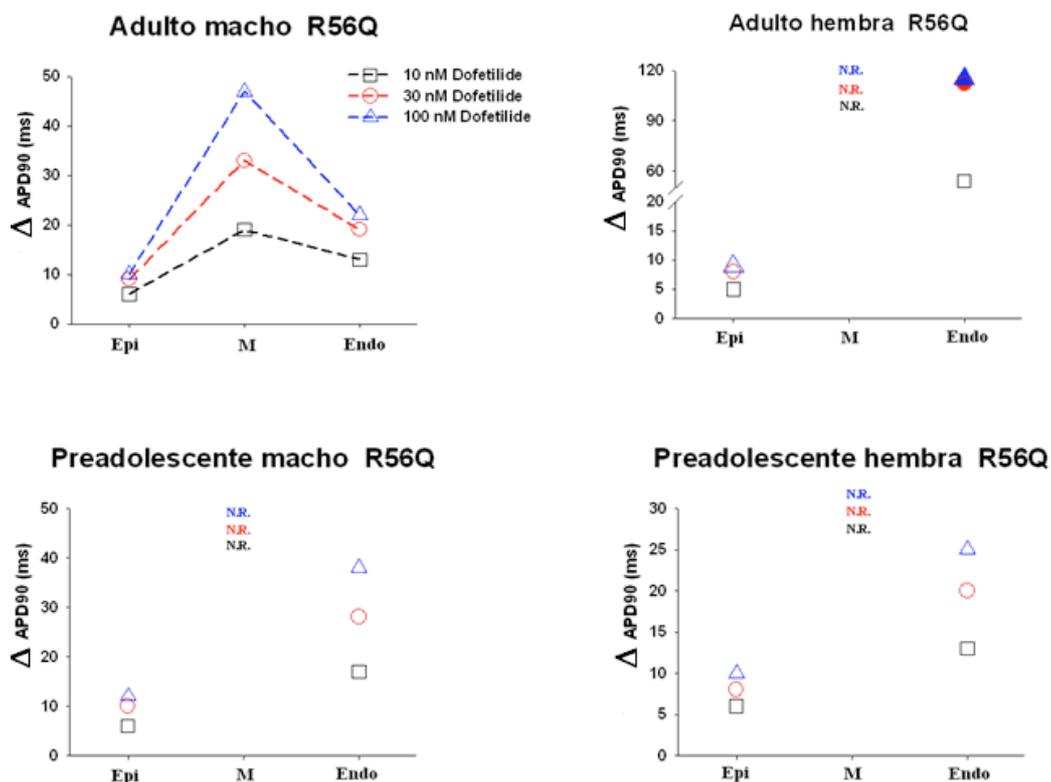
Figura 4.42 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico de la mutación R56Q en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En las células epicárdicas de los 4 modelos se presentó solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula epicárdica del adulto macho en control fue de 113 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 5.3%, 7.9% y 8.8% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 120 ms y los porcentajes de

prolongación de la APD fueron 4.1%, 6.6% y 7.5% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

En los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula epicárdica del preadolescente macho en control fue de 130 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 4.6%, 7.7% y 9.2% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 131 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 4.6%, 6.1% y 7.6% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide. Con esta mutación R56Q se puede visualizar que la APD de todos los tipos de células es mayor que las células WT, pero los porcentajes de la prolongación de la APD son menores que en las células WT.

En la figura 4.43 se muestra la relación entre el aumento de la APD_{90} y los diferentes tipos de células de la mutación R56Q bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms para los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra.



Nota.- Símbolo relleno indica repolarización en EAD.

N.R. indica no repolarización.

Figura 4.43 Relación entre el aumento de la APD_{90} y los diferentes tipos de células de la mutación R56Q bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.

Se puede observar en la figura el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide y con la aplicación de 10 nM de dofetilide en la célula endocárdica; se produjeron EADs con 30 y 100 nM en la célula endocárdica. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la célula midmiocárdica en todas las concentraciones de dofetilide. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del potencial de acción en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización con todas las concentraciones de dofetilide.

La mutación R56Q presenta mayores prolongaciones de APD al aplicarse el fármaco dofetilide, así como mayor susceptibilidad a EADs y mayores incrementos en la dispersión de repolarización en todos los modelos con respecto a células WT.

4.5.3 Efectos sobre células de la mutación A561V.

La mutación A561V interactúa con las subunidades de células WT y esta interacción causa una reducción en la cantidad total de canales hERG disponibles, produciendo una corriente de hERG reducida (Kagan A et al, 2000). La mutación sustitutiva A561V en el dominio del segmento transmembrana S5 de los canales de potasio de hERG acelera la activación y la inactivación del canal. Ejemplos de registros de fijación de voltaje por parche (patch clamp) de células transfectadas de la mutación A561V se muestran en la figura 4.44 (tomada de Kagan A et al, 2000), en donde se puede observar como las células de la mutación A561V tienen una menor amplitud de corriente que las células WT (inciso a). También se muestra esta reducción de corriente en el inciso b de la figura, en donde las curvas de voltaje-corriente y la dependencia de voltaje de la activación presentan una reducción graduada de la corriente en todos los voltajes, cuando la fracción de células de la mutación A561V interactuando con células WT se incrementa.

La mutación fue simulada modificando el término de la relación de transición entre C1 → O y C1 → I de (v-36) a (v-16) y reduciendo la conductancia máxima G_{Kr} en un porcentaje de 83% (Itoh H et al, 2009). Estas relaciones de activación e inactivación incrementadas resultan en un cambio hacia la izquierda en la dependencia de voltaje de la activación y rectificación.

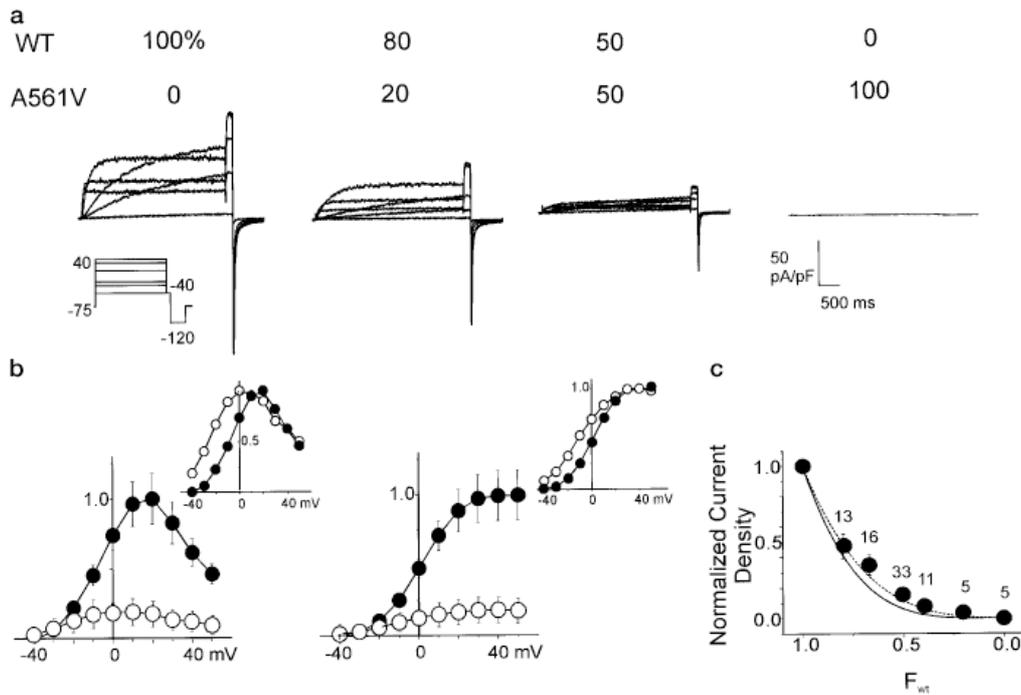


FIG. 1. Voltage clamp recordings of CHO cells expressing wild-type and A561V HERG. *a*, representative whole cell current tracings of CHO cells co-transfected with wild-type and A561V HERG in different molar ratios as indicated. *b*, I-V and voltage-dependent activation curves of HERG (●) and HERG plus A561V (○) in a 1:1 molar ratio. I-V curves plotted from current measured at the end of a 3-s depolarizing pulse, activation curves plotted from current measured during repolarizing steps after depolarizing pulses at various voltages. *c*, normalized voltage-activation curves showing a hyperpolarizing shift in voltage-dependent activation. *d*, maximal current density measured during repolarizing steps to either -40 or -120 mV in cells transfected with varying ratios of wild-type and A561V HERG cDNA. Solid line describes the binomial function of a completely dominant mutant in a tetrameric assembly.

Figura 4.44 Registros de fijación de voltaje por parche (patch clamp) de célula transfectadas de la mutación A561V y WT (tomada de Kagan A et al, 2000).

En la figura 4.45 se presentan los potenciales de acción simulados de una célula epicárdica WT (línea gruesa) y de la mutación A561V (línea delgada), del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms, así como las corrientes I_{kr}/I_{hERG} correspondientes y las probabilidades de estados de canal I, O, C1, C2, y C3.

La APD₉₀ del potencial de acción epicárdico de la mutación A561V es de 127 ms. La reducción de G_{Kr} más que alterar la cinética del canal, es el principal factor en la elongación del APD, aunque las alteraciones en las cinéticas de activación e inactivación tienen su efecto en el potencial de acción, como se puede observar en las probabilidades de estado O e I. Es de notar que en la probabilidad de estado O, la mutación A561V presenta un mayor valor que las células WT en todo el transcurso del tiempo, esto indica que en esta mutación, el cambio en la cinética del canal tiene mucho menor importancia que la reducción de G_{Kr} , como se indicó anteriormente. El desplazamiento a la izquierda de la curva de activación resulta en aperturas del canal más tempranas a menores potenciales de despolarización de la membrana. Estos canales en estado abierto están disponibles para inactivarse más pronto, como se puede ver en las probabilidades del estado I. Adicionalmente a esta acción, habrá más canales inactivados debido a la aceleración de la relación de inactivación entre C1 e I. En esta mutación, la reducción de G_{Kr} es el factor principal en tener una I_{Kr} decrementada, haciendo que la APD₉₀ del potencial de acción sea mayor en comparación a la APD₉₀ de la célula WT y de la mutación R56Q.

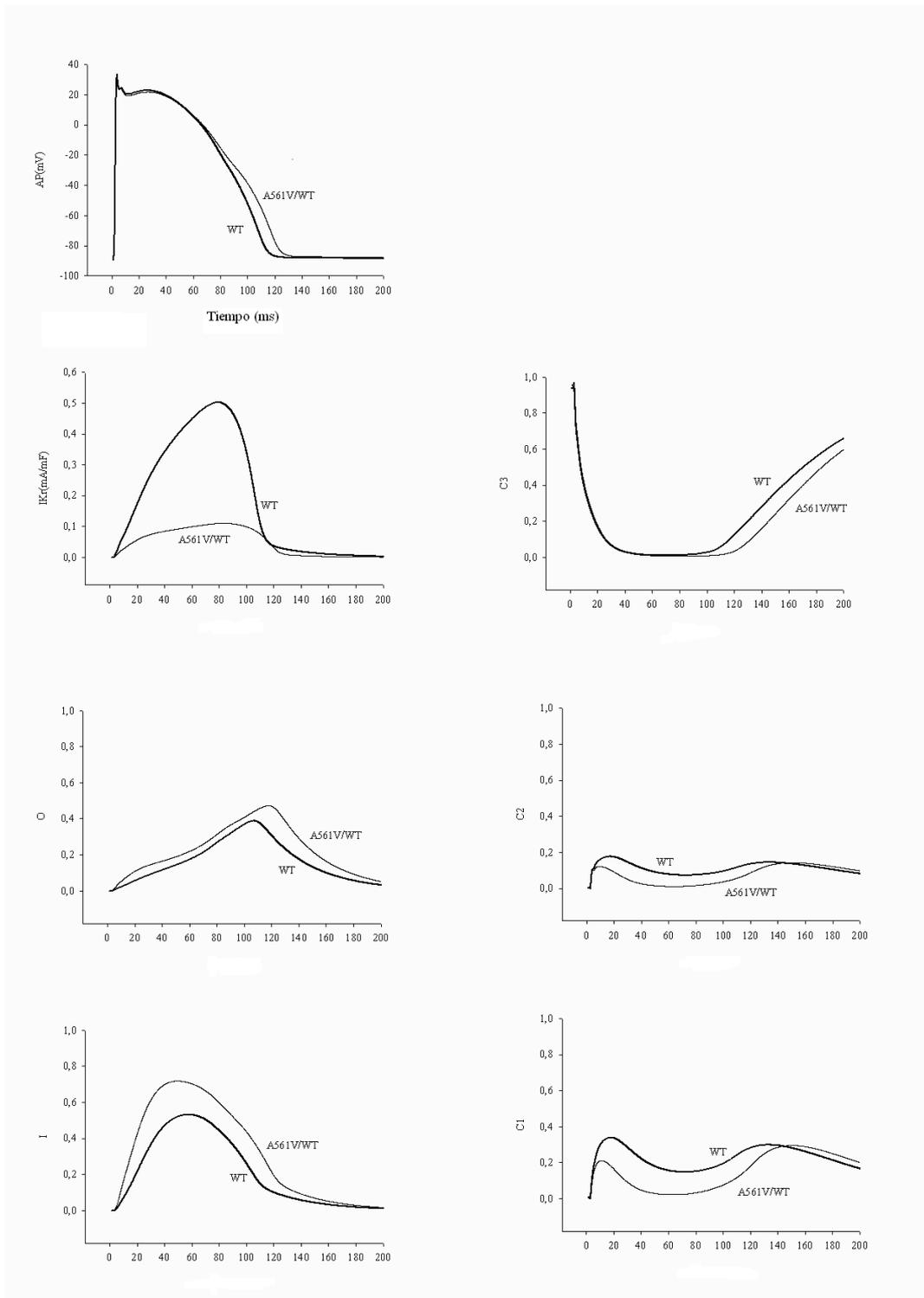


Figura 4.45 Potenciales de acción epicárdico de célula WT (línea gruesa) y de la mutación A561V (línea delgada), corrientes I_{Kr}/I_{hERG} y probabilidades de estado del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms en estado estacionario.

Los potenciales de acción de las células endocárdicas de la mutación A561V de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestran en la figura 4.46.

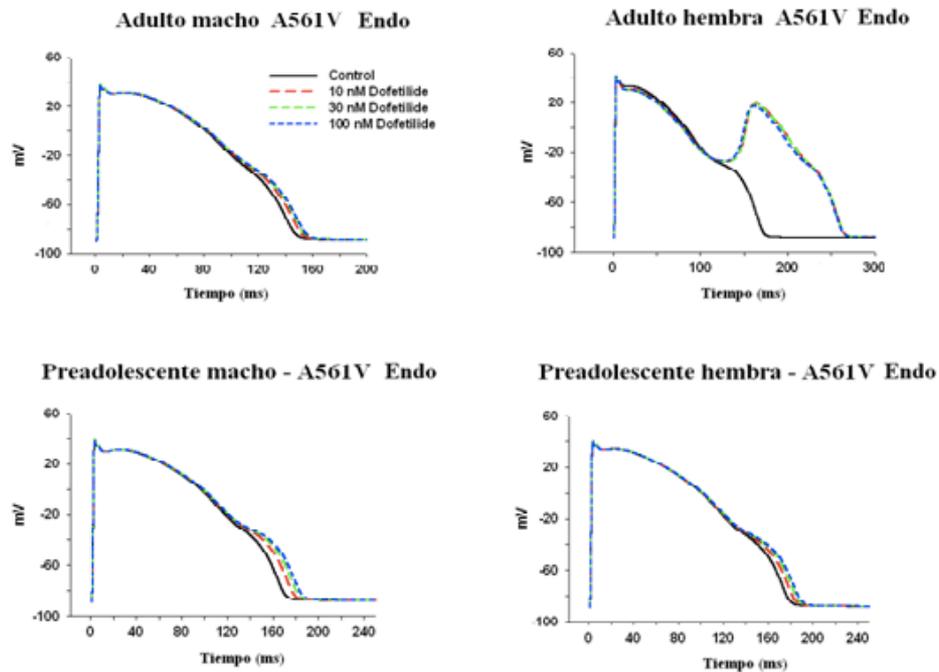


Figura 4.46 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de la mutación A561V en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En las células endocárdicas de la mutación A561V en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula endocárdica del adulto macho en control fue de 146 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 3.4%, 4.8% y 5.4% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 171 ms y con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide se producen EAD simples.

En el caso de los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula endocárdica de la mutación A561V del preadolescente macho en control fue de 170 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 4.7%, 7.0% y 8.8% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 178 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 2.8%, 4.5% y 5.6% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

En la figura anterior se puede observar que en los modelos de adultos, el de adulto hembra tiene una mayor APD en la célula de control que el adulto macho, en tanto que se producen EADs simples con las concentración de 10, 30 y 100 nM de dofetilide, mientras que el modelo de adulto macho solo produce prolongaciones de APD en todas las concentraciones. Por el contrario, en los modelos de preadolescentes como en las células endocárdicas WT y de la mutación R56Q, el preadolescente macho tiene una ligera menor APD que la preadolescente hembra en la célula de control y aunque no aparecen EADs, el modelo de preadolescente macho tiene una

notoria mayor prolongación de APD que el modelo de preadolescente hembra con la aplicación del dofetilide.

En la figura 4.47 se ilustran las células midmiocárdicas de la mutación A561V con los potenciales de acción de los 4 modelos en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

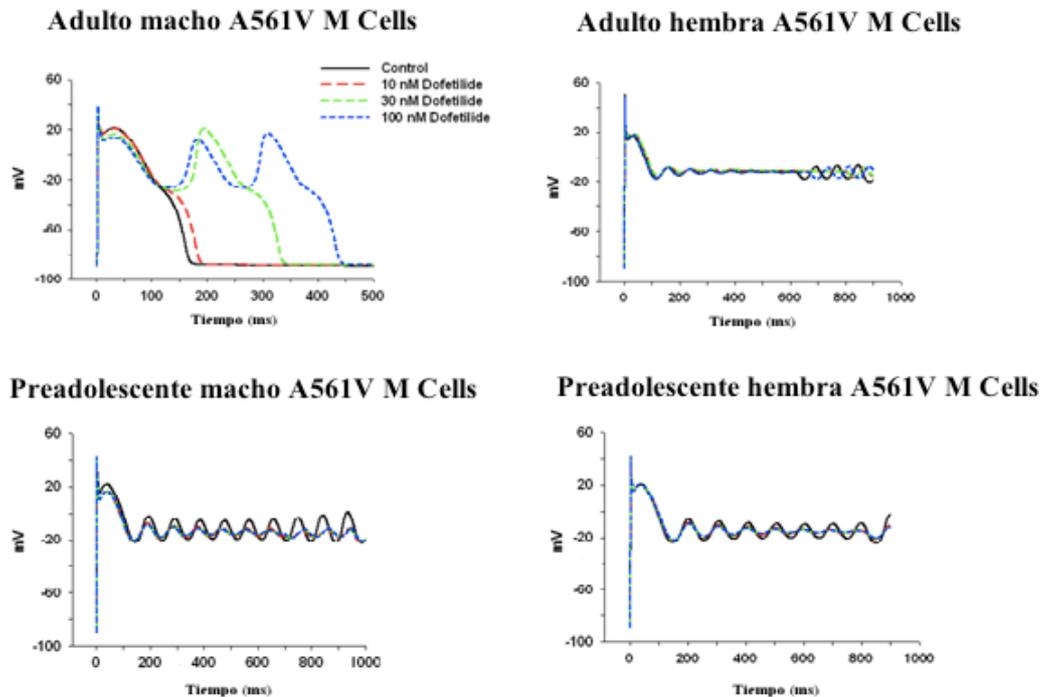


Figura 4.47 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico de la mutación A561V en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

La APD_{90} de la célula midmiocárdica del adulto macho en control fue de 166 ms y el porcentaje de prolongación de la APD fue de 10.8% con la aplicación de 10 nM de dofetilide y se produjeron EADs, una simple con 30 nM y una doble con 100nM. En tanto que en el modelo de adulto hembra, las APD_{90} de las células midmiocárdicas en control y con la aplicación de las 3 concentraciones de dofetilide produjeron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

Con respecto a los dos modelos de preadolescentes, tanto la APD_{90} de la célula midmiocárdica del preadolescente macho como de la preadolescente hembra produjeron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la condición de control y este resultado se repite con la aplicación de las 3 concentraciones de dofetilide.

El potencial de acción epicárdico de la mutación A561V para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestra en la figura 4.48.

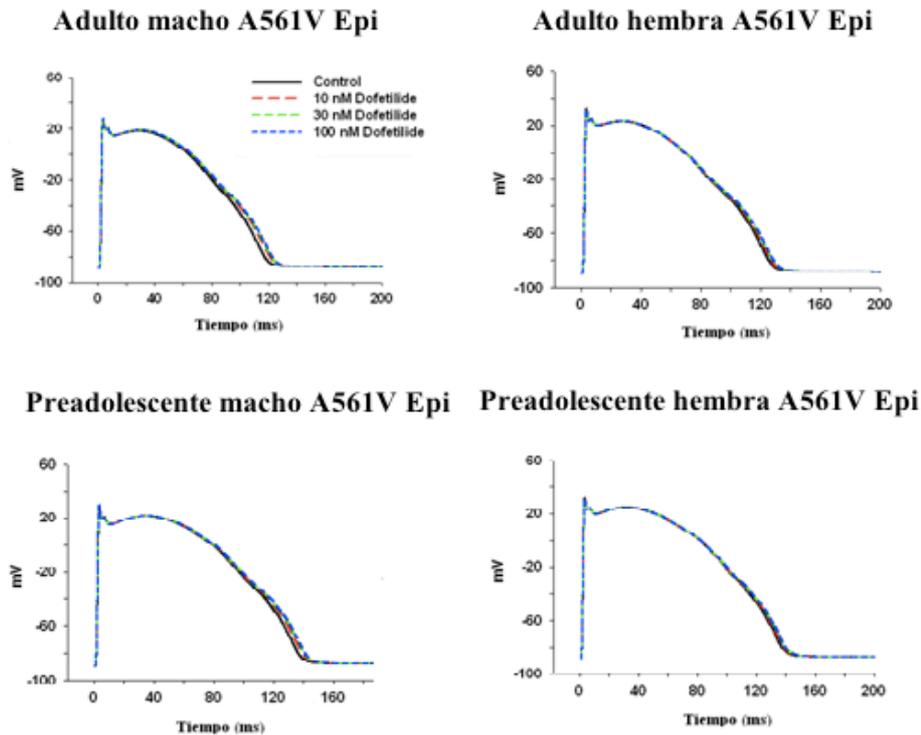


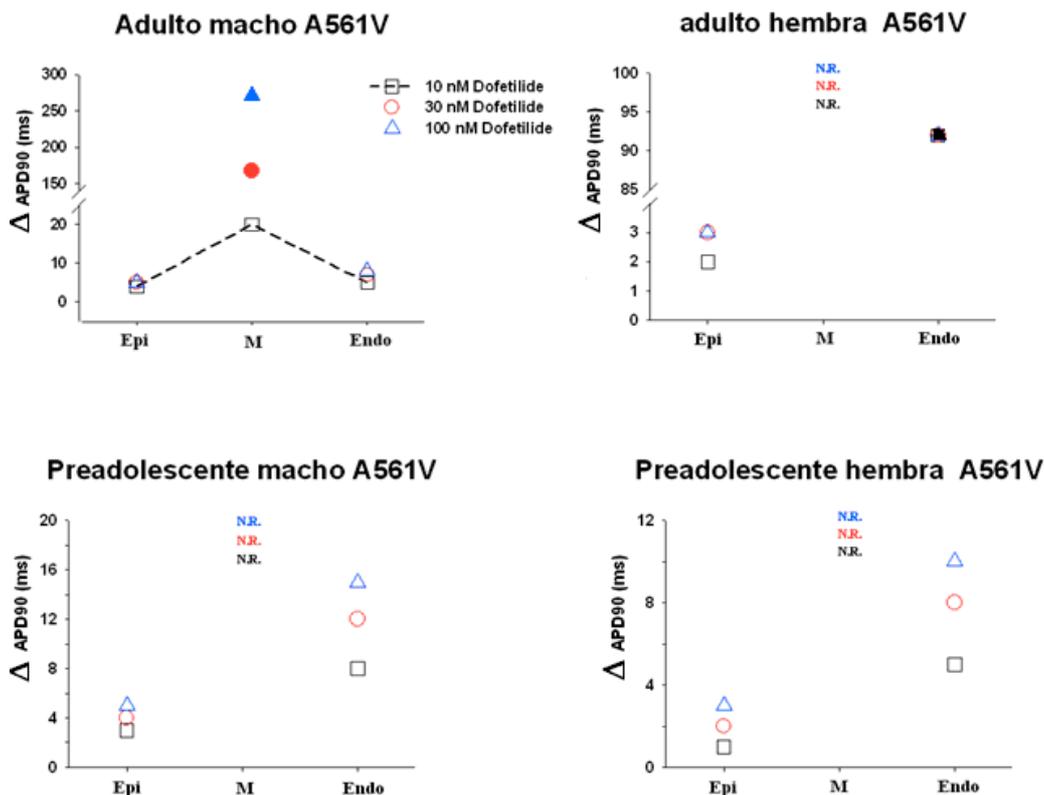
Figura 4.48 Los potenciales de acciones del modelo celular epicárdico de la mutación A561V en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En las células epicárdicas de los 4 modelos se presentó solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula epicárdica del adulto macho en control fue de 119 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 3.3%, 4.2% y 4.2% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 127 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 1.6%, 2.3% y 2.3% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

En los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula epicárdica del preadolescente macho en control fue de 138 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 2.1%, 2.9% y 3.6% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula epicárdica en control fue de 139 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 0.7%, 1.4% y 2.1% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

Con los resultados obtenidos en la mutación A561V se puede indicar que la APD de todos los tipos de células son mayores que en las células WT y de la mutación R56Q, pero los porcentajes de la prolongación de la APD son menores que en las células WT y en la mutación R56Q.

En la figura 4.49 se muestra la relación entre el aumento de la APD₉₀ y los diferentes tipos de células de la mutación A561V bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms para los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra.



Nota.- Símbolo relleno indica repolarización en EAD.

N.R. indica no repolarización.

Figura 4.49 Relación entre el aumento de la APD₉₀ y los diferentes tipos de células de la mutación A561V bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.

Se puede observar en la figura el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos, excepto en las células midmiocárdicas que produjeron EADs con las

concentraciones de 30 y 100 nM. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide; se produjeron EADs con 10, 30 y 100 nM en la célula endocárdica. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la célula midmiocárdica en todas las concentraciones de dofetilide. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del PA en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización con todas las concentraciones de dofetilide.

En esta mutación se puede ver que aunque se tienen menores porcentajes de prolongación de la APD que en las células WT o de la mutación R56Q, las dispersiones de repolarización son mayores.

4.5.4 Efectos sobre células de la mutación G604S.

La mutación G604S exhibe una supresión dominante negativa de corriente, resultando en una disminución de la densidad de corriente y unas propiedades alteradas de la cinética del canal hERG, así como una interferencia en el tráfico de la proteína de hERG (Huo J et al, 2008).

En la figura 4.50 (tomada de Huo J et al, 2008) se muestran la dependencia de voltaje de las curvas de activación (4.50-1) y de inactivación (4.50-2) de células WT y de la mutación G604S. En la figura se puede observar como estas células, tanto de WT como de la mutación G604S, presentan formas de onda similares, pero las expresadas en las células de la mutación G604S muestran una menor amplitud de corriente comparadas a las expresadas en células WT. La mutación sustitutiva G604 en el dominio entre el segmento transmembrana S5 y el poro de los canales de potasio de hERG acelera la inactivación y la recuperación de la inactivación del canal.

La mutación fue simulada modificando el término de la relación de transición entre $I \rightarrow O$ de $(v+25)$ a $(v+35)$ y reduciendo la conductancia máxima G_{Kr} en un porcentaje de 70.4% (Itoh H et al, 2009). Estas relaciones incrementadas de inactivación y recuperación de la inactivación resultan en un cambio hacia la izquierda en la dependencia de voltaje de la inactivación y recuperación de la inactivación.

Fig. 1 Voltage dependence of hERG channel activation. a-d Representative current traces in HEK293 cells transfected with different plasmids. e Current-voltage ($I-V$) relationships for peak currents during test pulses. f $I-V$ relationships for amplitudes of tail currents recorded during test pulses. g Amplitudes of tail currents plotted as a function of the test potential and fitted to a Boltzmann function. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs WT-hERG and G604S-hERG

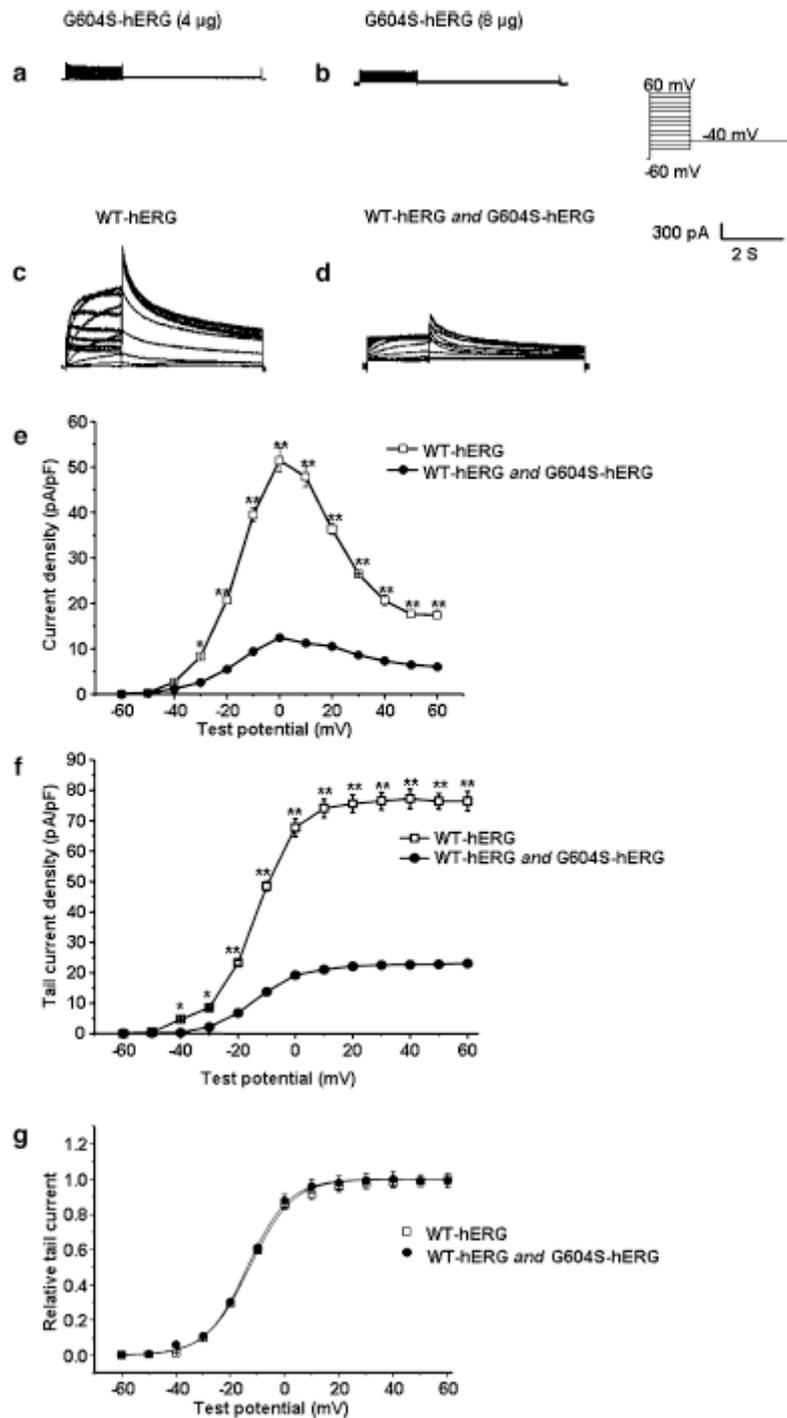


Fig. 2 Steady-state inactivation and time courses of inactivation of expressed currents in HEK293 cells transfected with WT-hERG or WT-hERG and G604S-hERG. a and b Representative current traces showing steady-state inactivation and c normalized steady-state inactivation curves of expressed currents in HEK293 cells transfected with WT-hERG or WT-hERG and G604S-hERG, respectively. *Inset* shows a portion of the voltage-clamp protocol. d and e Representative current traces of time courses of inactivation and inactivation time constants (τ) values for expressed currents in HEK293 cells transfected with WT-hERG or WT-hERG and G604S-hERG, respectively. Tau (τ) was measured by fitting inactivating currents during test pulses at each potential with a single exponential function. * $P < 0.05$ vs WT-hERG and G604S-hERG

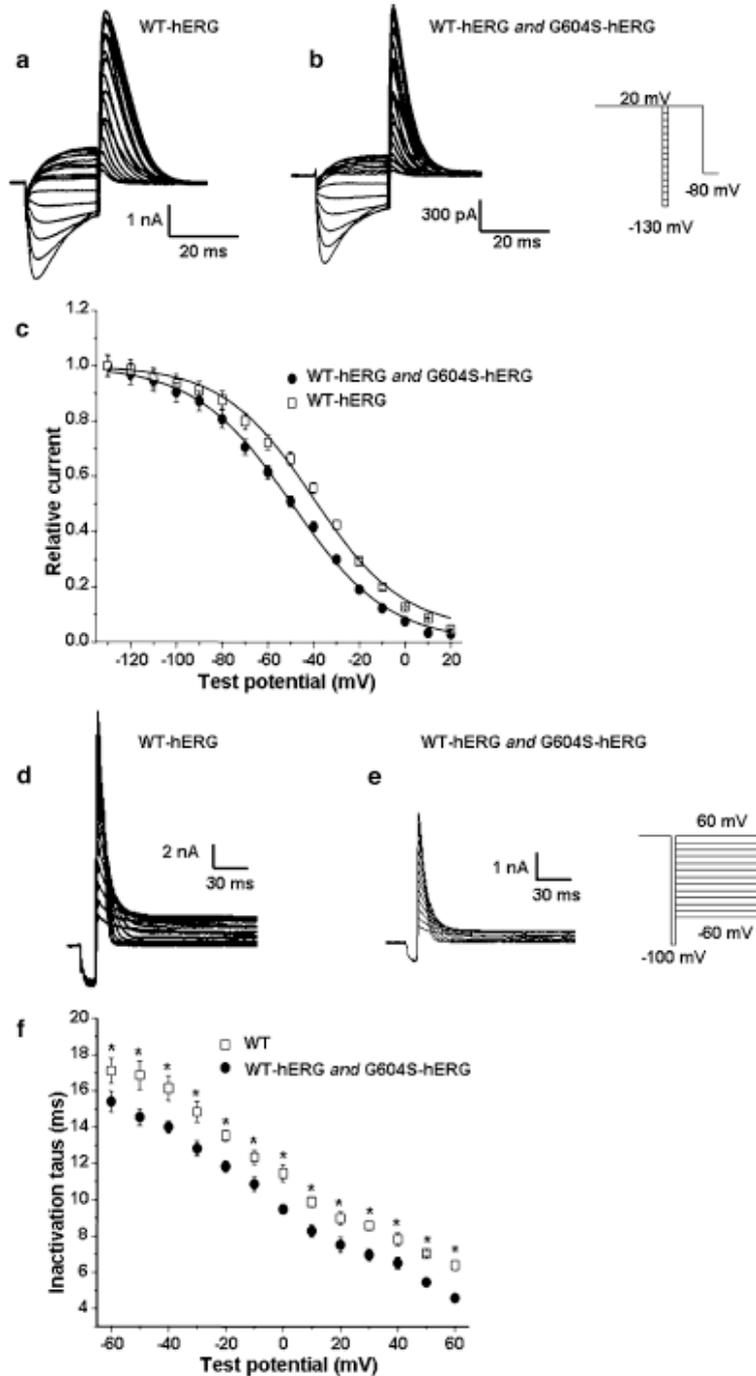


Figura 4.50 La dependencia de voltaje de las curvas de activación (4.50-1) y de inactivación (4.50-2) de células WT y de la mutación G604S (tomada de Huo J et al, 2008).

En la figura 4.51 se presentan los potenciales de acción simulados de una célula epicárdica WT (línea gruesa) y de la mutación G604S (línea delgada) del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms, así como las corrientes I_{kr}/I_{hERG} correspondientes y las probabilidades de estados de canal I, O, C1, C2, y C3.

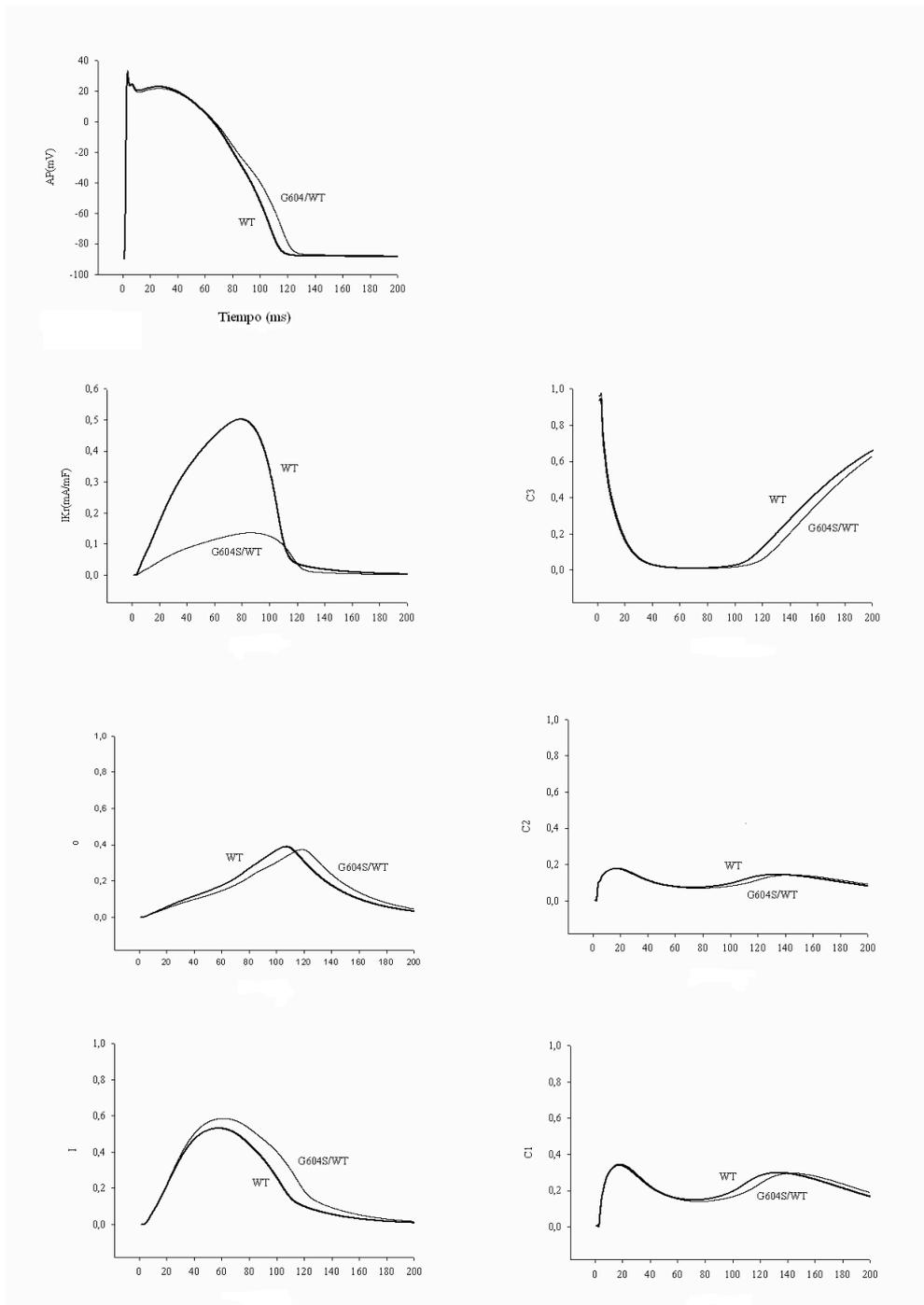


Figura 4.51 Potenciales de acción simulados de una célula epicárdica WT (línea gruesa) y de la mutación G604S (línea delgada) del modelo de adulto hembra a una BCL de 1000 ms, así como las corrientes I_{kr}/I_{hERG} correspondientes y las probabilidades de estados de canal I, O, C1, C2, y C3.

La APD_{90} del potencial de acción epicárdico de la mutación G604S es de 126 ms. De forma similar a la mutación A561V, la reducción de G_{Kr} más que alterar la cinética del canal, es el principal factor en la elongación del APD, aunque las alteraciones en las cinéticas de inactivación y recuperación de la inactivación tienen su efecto en el

potencial de acción, como se puede observar en las probabilidades de estado O e I. El desplazamiento a la izquierda de la curva de inactivación y de la recuperación de la inactivación acelera la transición entre los estados abierto e inactivo, como se puede ver en las probabilidades del estado I. En esta mutación, la reducción de G_{K_r} es el factor principal en tener una I_{K_r} decrementada, haciendo que la APD_{90} del potencial de acción sea mayor en comparación a la APD_{90} de la célula WT y de la mutación R56Q, pero menor al de la mutación A561V.

Los potenciales de acción de las células endocárdicas de la mutación G604S de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestran en la figura 4.52.

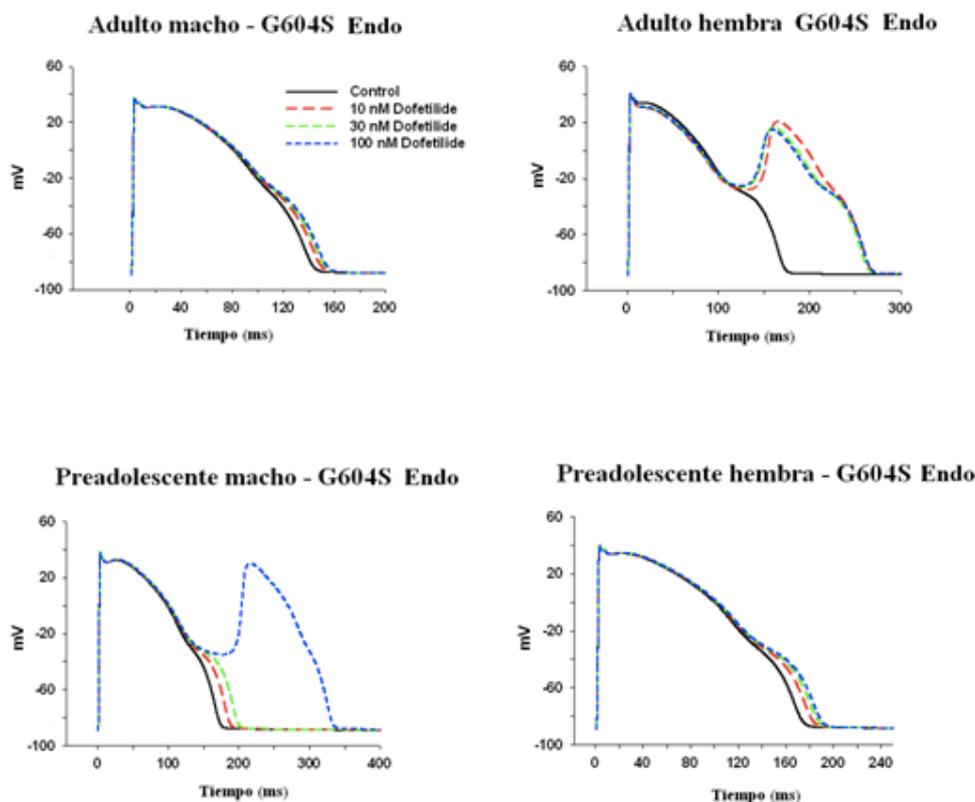


Figura 4.52 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de la mutación G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En las células endocárdicas de la mutación G604S en el modelo de adulto macho se presenta solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la célula endocárdica del adulto macho en control fue de 143 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 4.2%, 6.3% y 7.7% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 171 ms y con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide se producen EAD simples.

Comparando con los potenciales de acción de la mutación A561V, la APD_{90} de la mutación G604S del adulto macho es ligeramente menor que la de la mutación A561V, pero los porcentajes de la prolongación de la APD son mayores.

En el caso de los modelos de preadolescentes, la APD_{90} de la célula endocárdica de la mutación G604S del preadolescente macho en control fue de 172 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 8.1%, 15.1% con la aplicación de 10 y 30 nM de dofetilide respectivamente, mientras que con 100 nM se produjo una EAD simple. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD_{90} de la célula endocárdica en control fue de 173 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 5.2%, 7.5% y 9.2% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide. Con respecto a la mutación A561V, se puede señalar que en el caso del preadolescente macho la APD_{90} y los porcentajes de prolongación de la APD de la mutación G604S son mayores que los de la mutación A561V, pero en el caso del modelo de la preadolescente hembra, los porcentajes de prolongación de la APD son mayores que los de la mutación A561V, pero la APD_{90} no.

En la figura 4.53 se ilustran las células midmiocárdicas de la mutación G604S con los potenciales de acción de los 4 modelos en condiciones de control y con 10, 30 y 100 nM de dofetilide y con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

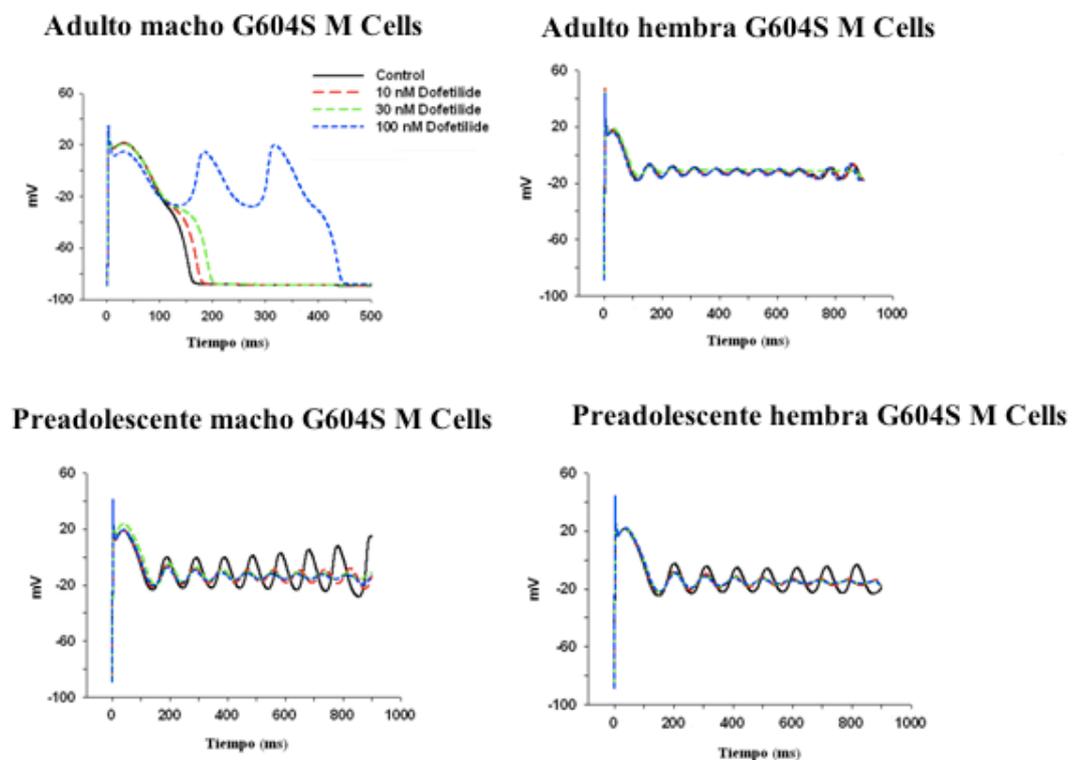


Figura 4.53 Potenciales de acción del modelo celular midmiocárdico de la mutación G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

La APD_{90} de la célula midmiocárdica del adulto macho en control fue de 159 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fue de 10.7% y 23.2% con la aplicación de 10 y 30 nM de dofetilide y se produjo una EAD doble con 100nM. En tanto que en el modelo de adulto hembra, las APD_{90} de las células midmiocárdicas en control y con la aplicación de las 3 concentraciones de dofetilide produjeron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

Con respecto a los dos modelos de preadolescentes, tanto la APD_{90} de la célula midmiocárdica del preadolescente macho como de la preadolescente hembra produjeron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la condición de control y este resultado se repite con la aplicación de las 3 concentraciones de dofetilide.

El potencial de acción epicárdico de la mutación G604S para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz se muestra en la figura 4.54.

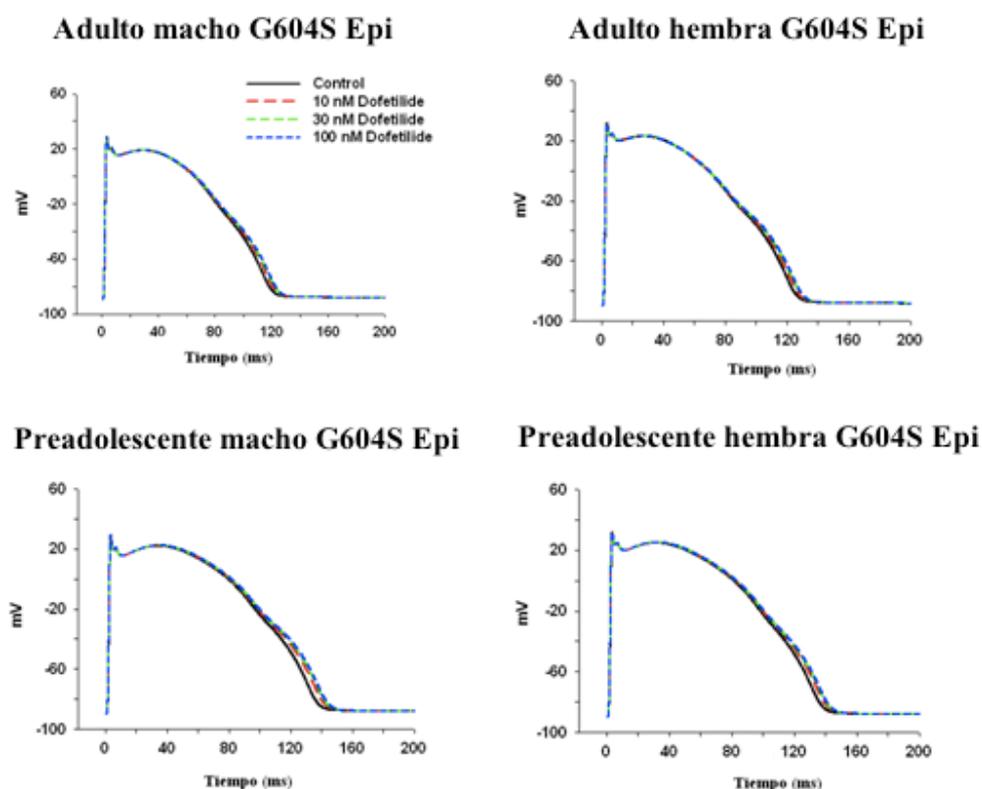


Figura 4.54 Potenciales de acción del modelo celular epicárdico de la mutación G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

En las células epicárdicas de los 4 modelos se presentó solo prolongación de la APD en todas las concentraciones de dofetilide sin producir EADs. La APD_{90} de la

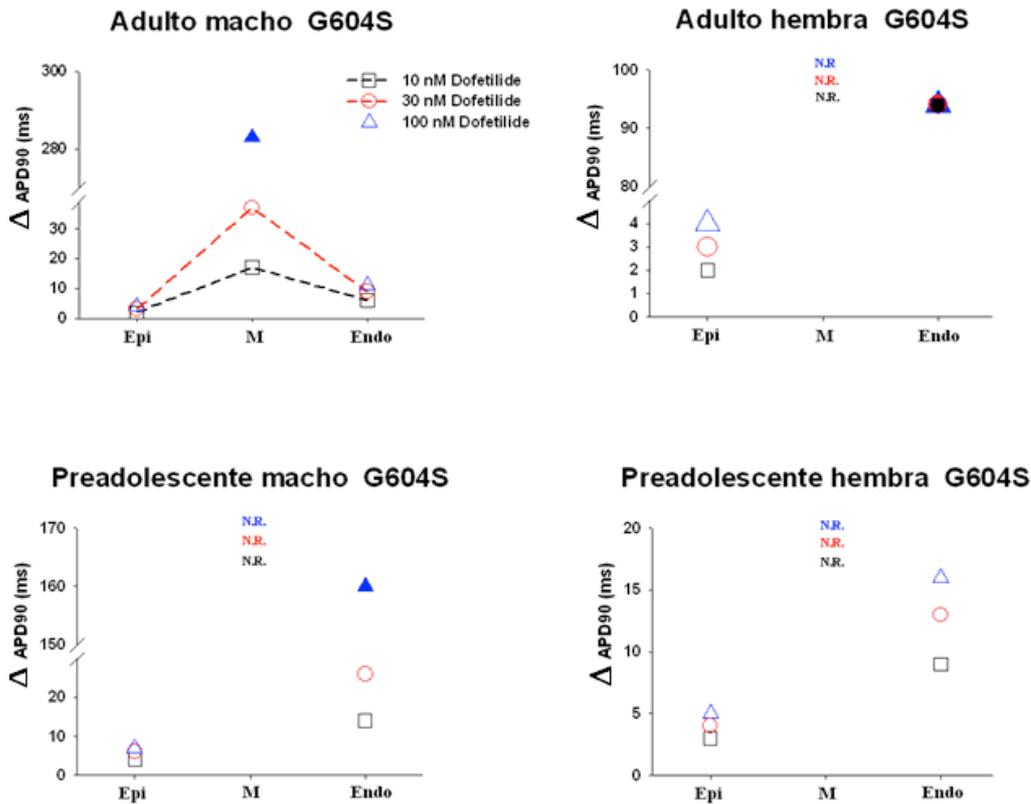
célula epicárdica del adulto macho en control fue de 120 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 1.6%, 2.5% y 3.3% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide respectivamente. En tanto que en el modelo de adulto hembra, la APD₉₀ de la célula epicárdica en control fue de 126 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 1.6%, 2.4% y 3.2% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

En los modelos de preadolescentes, la APD₉₀ de la célula epicárdica del preadolescente macho en control fue de 137 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 2.9%, 4.4% y 5.1% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide. En tanto que en el modelo de preadolescente hembra, la APD₉₀ de la célula epicárdica en control fue de 138 ms y los porcentajes de prolongación de la APD fueron 2.2%, 2.9% y 3.6% con la aplicación de 10, 30 y 100 nM de dofetilide.

En comparación a la mutación A561V, aunque las APD₉₀ fueron similares en las células epicárdicas de los 4 modelos, en los adultos machos de la mutación A561V fueron mayores los porcentajes de prolongación de la APD que los de la mutación G604S; en tanto que en los adultos hembras, los porcentajes de prolongación de la APD son iguales para 10 y 30 nM de dofetilide, pero para 100 nM el porcentaje de prolongación es mayor en la mutación G604S.

En la figura 4.55 se presenta la relación entre el aumento de la APD₉₀ y los diferentes tipos de células de la mutación G604S bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms para los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra. Como en los casos anteriores de mutaciones y de las células WT, se puede observar en la figura el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos, excepto en las células midmiocárdicas que produjo EAD con la concentración de 100 nM. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide; se produjeron EADs con 10, 30 y 100 nM en la célula endocárdica. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la célula midmiocárdica en todas las concentraciones de dofetilide.



Nota.- Símbolo relleno indica repolarización en EAD.

N.R. indica no repolarización.

Figura 4.55 Relación entre el aumento de la APD₉₀ y los diferentes tipos de células de la mutación G604S bajo los efectos del fármaco dofetilide con concentraciones de 10, 30 y 100 nM con una BCL de 1000 ms.

Para los modelos de preadolescentes, en el caso del modelo del preadolescente macho se produjo una EAD en la célula endocárdica con la aplicación de 100 nM mientras que en ambos modelos se producían prolongación del potencial de acción en todos los demás tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización con todas las concentraciones de dofetilide.

Comparando los resultados de los modelos desarrollados de las 3 mutaciones en el canal hERG (R56Q, A561V, G604S) y los efectos de la aplicación del dofetilide. En la figura 4.56 se muestran los potenciales de acción del modelo celular endocárdico de las células WT y las mutaciones R56Q, A561V y G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

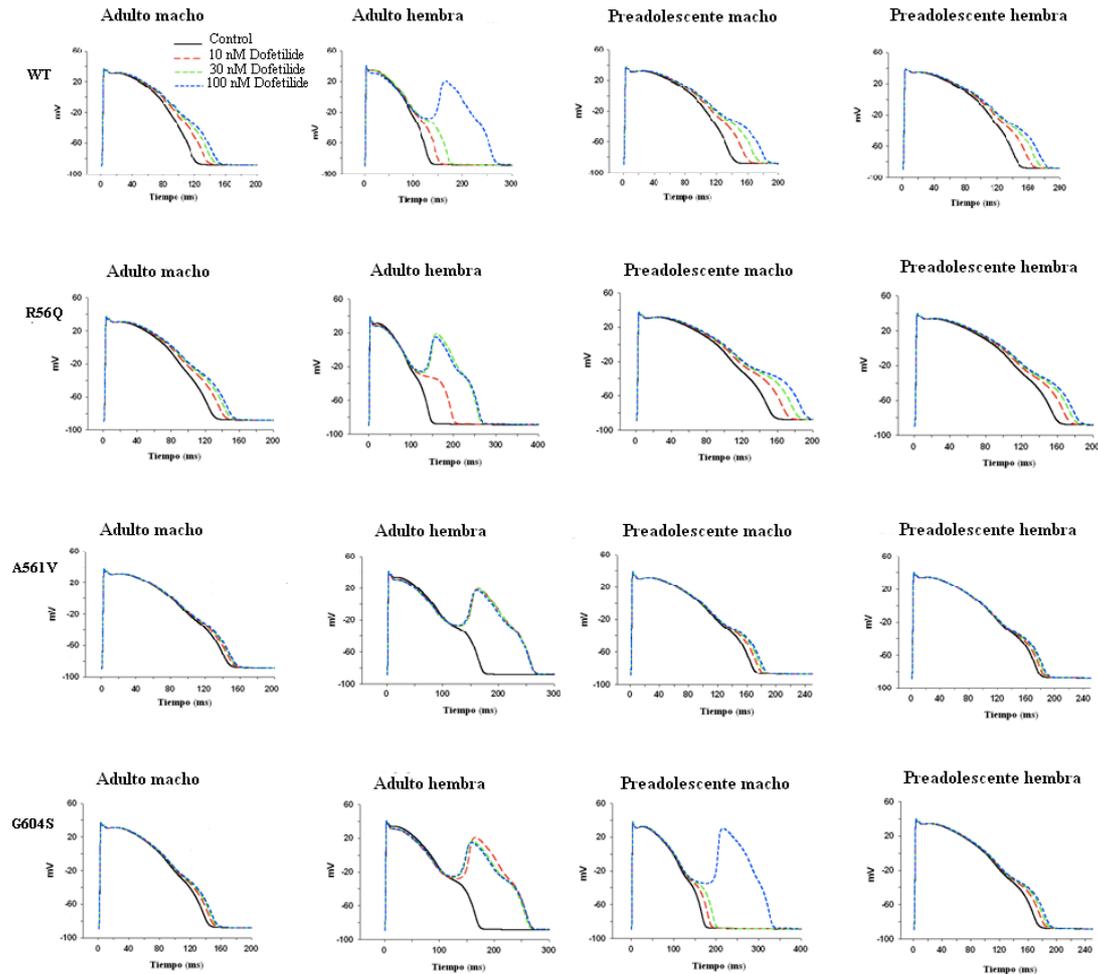


Figura 4.56 Potenciales de acción del modelo celular endocárdico de las células WT y las mutaciones R56Q, A561V y G604S en condiciones de control y con concentraciones de 10, 30 y 100 nM de dofetilide con una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

La mutación R56Q se localiza en el dominio Per-Arnt-Sim (PAS) en la región terminal N del canal hERG, mientras que las otras dos mutaciones (A561V y G604S) se encuentran en la región del poro del canal que incluye la cadena de residuos de aminoácidos del 550 al 650.

Por los efectos electrofisiológicos presentados en las tres mutaciones con respecto a prolongación de la APD y aparición de EADs se concluye que las células de las mutaciones R56Q, A561V y G604S tienen una condición proarrítmica con respecto a las células WT y al aplicar el dofetilide estos efectos aumentan. Con estos resultados se puede indicar que la mutación que presenta un mayor riesgo de desarrollar eventos cardíacos más peligrosos para la salud sería G604S > A561V > R56Q > WT en ese orden y que las dos primeras mutaciones (G604S y A561V), que se encuentran en el poro del canal, presentan mayor riesgo que la mutación R56Q, que se localiza fuera del poro del canal.

CAPÍTULO

V

DISCUSIÓN

CAPÍTULO V.- DISCUSIÓN

En esta tesis se han formulado nuevos modelos computacionales que permiten simular las diferencias relacionadas al sexo y la edad en mamíferos, así como modelos del fármaco dofetilide, que permiten evaluar las diferencias relacionadas de sexo y edad en condiciones normales y en condiciones de síndrome de QT largo inducido por fármacos.

Se desarrollaron los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra que incluyen las características electrofisiológicas de células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas haciendo posible la simulación de la heterogeneidad transmural del ventrículo.

Se han modelizado los efectos del fármaco antiarrítmico dofetilide en células tipo silvestre del gen hERG, utilizando la formulación de Markov.

Los modelos computacionales desarrollados del dofetilide se incorporaron a la componente rápida de la corriente de rectificación tardía (I_{Kr}) y a la corriente del gen hERG (I_{hERG}), ya que el dofetilide es un antiarrítmico con efecto de clase III puro, y se evaluó la acción del fármaco con diferentes concentraciones en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra.

Se desarrollaron los modelos computacionales de tres mutaciones del gen hERG: R56Q, A561V y G604S, las cuales son mutaciones características del síndrome QT largo del tipo 2. Estos modelos se incluyeron en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra para evaluar su comportamiento en condiciones normales.

La formulación computacional desarrollada del dofetilide para el gen hERG se incluyó en los modelos de estas 3 mutaciones y se obtuvieron resultados con diferentes concentraciones del fármaco para evaluar la acción del mismo.

Se ha desarrollado el modelo de una fibra heterogénea unidimensional de tejido ventricular compuesta de 400 células (150 células de tejido endocárdico, 150 células de tejido midmiocárdico y 100 células de tejido epicárdico) para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra y se han modelizado y simulado sus respectivos pseudo-ECGs, así como se ha incluido el modelo del dofetilide a diferentes concentraciones para evaluar las diferencias de sexo y edad en condiciones normales y en condiciones de síndrome de QT largo inducido por fármacos.

5.1 Modelos computacionales para evaluar las diferencias en sexo y edad

Se desarrollaron los modelos computacionales de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra tomando como base el modelo de Faber-Rudy 2000 (Faber GM y Rudy Y, 2000) para potenciales de acción

ventriculares de cobaya, aunque modificando diversas corrientes iónicas del modelo basadas en datos experimentales de diferentes especies de mamíferos (ratón, cobaya, conejo, perro y humano).

Para obtener las diferencias relacionadas a la edad y sexo se modificaron las densidades de corriente y parámetros dependientes de voltaje de I_{CaL} , basados en los datos experimentales de conejo de Sims C et al (Sims C et al, 2008). Debido a que el modelo de cobaya no incluye la corriente transitoria de salida de potasio (I_{to}), al modelo se le incorporó la I_{to} basada en el formulismo de Dumaine R et al. (Dumaine R et al, 1999). La componente rápida de la corriente rectificadora tardía de potasio (I_{Kr}) en hembras es 0.83 veces de la de los machos (Liu XK et al, 1998; especie: conejo). La componente lenta de la corriente rectificadora tardía de potasio (I_{Ks}) tiene un gradiente transmural en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas (Liu DW y Anzelevitch Ch, 1995; especie: perro; Viswanathan PC et al, 1999) y presenta una disminución de la conductancia máxima G_{Ks} en preadolescentes de 0.8 veces que el de adultos en tejido endocárdico (Obreztkhikova MN et al, 2003; especie: perro). La corriente transitoria de salida de potasio (I_{to}) tiene un gradiente transmural en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas (Li GR et al, 1998; especie: humano; Clayton RH y Holden AV, 2004) y presenta una disminución de la conductancia máxima G_{to} en hembras de 0.75 veces que la de machos (Wu Y et al, 2002; especie: ratón). Lo anterior debido a que a la fecha no se cuenta con un conjunto de datos experimentales de las corrientes iónicas de una sola especie para llevar a cabo las modificaciones pertinentes para obtener los modelos que presenten las diferencias relacionadas al sexo y edad.

Estudios con animales han demostrado la importancia de las diferencias relacionadas al sexo y la edad en las densidades de corriente en la membrana celular y en las distinciones de estas diferencias en la electrofisiología cardiaca (Pham TV y Rosen MR, 2002; Sims C et al, 2008). Además, los modelos computacionales basados en datos experimentales de animales han sido extensivamente utilizados en diversos estudios durante los últimos años, para entender los mecanismos de arritmias cardíacas, incluyendo mutaciones de los canales iónicos y el bloqueo de corrientes por fármacos (Clancy CE y Rudy Y, 1999; Clancy CE y Rudy Y, 2001; Nakajima T et al, 2007; Itoh H et al, 2009).

También se desarrolló el modelo de una fibra heterogénea unidimensional de tejido ventricular compuesta de 400 células (150 células de tejido endocárdico, 150 célula de tejido midmiocárdico y 100 células de tejido epicárdico) para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra y se han modelizado y simulado sus respectivos pseudo-ECGs, así como se ha incluido el modelo del dofetilide a diferentes concentraciones para evaluar las diferencias de sexo y edad en condiciones normales y en condiciones de síndrome de QT largo inducido por fármacos.

Las simulaciones de pseudo-ECG se han utilizado para estimar la propagación de los potenciales de acción en fibras celulares, desde el endocardio al epicardio,

calculando un potencial extracelular, a través de un electrodo virtual, a una distancia determinada de la superficie epicárdica (Gima K y Rudy Y, 2002; Clayton RH y Holden AV, 2004).

Las diferencias relacionadas entre sexos y edad en cuanto a la incidencia de varios tipos de arritmias cardíacas son una realidad bien documentada, si bien las causas subyacentes a estas diferencias siguen siendo en muchos casos desconocidas. Se ha propuesto que estas diferencias entre sexos y edad se deben a 2 mecanismos: 1) los efectos hormonales sobre la expresión o función de los canales iónicos que incluyen la presencia de receptores celulares de estrógeno, modulación de los canales de Ca^{2+} tipo L y la modulación de los canales de K^+ y 2) las diferencias en el tono autonómico, o bien una combinación de ambos mecanismos. Este efecto combinado se traduciría en una mayor actividad simpática y una respuesta barorrefleja menor en los machos de cualquier edad, así como en una actividad parasimpática o vagal más pronunciada en las hembras (Villareal RP et al, 2001; Bernal O y Moro C, 2006).

5.1.1. Diferencias relacionadas al sexo y edad en especies animales y humanos

La mayor parte de los datos experimentales en relación con las diferencias electrofisiológicas entre sexos y edad se basan en estudios con modelos de animales de experimentación. Estos modelos han permitido profundizar en el conocimiento de la repolarización ventricular y la arritmogénesis, por tanto, en los próximos apartados la discusión se llevará a cabo tomando en cuenta estas especies.

Conejo

La especie de conejo ha sido de gran valor en la investigación de diferencias de género en electrofisiología cardíaca (Pham TV y Rosen MR, 2002). Los corazones de conejo muestran diferencias de sexo en la dependencia de frecuencia cardíaca e intervalo QT similar a los humanos. En corazones de conejo perfundidos con la técnica Langendorff se ha observado que las hembras muestran un mayor aumento en la dependencia de la longitud de ciclo básico con el intervalo QT que aquellos de machos, de modo que el intervalo QT sea considerablemente más largo en corazones femeninos que en los de machos en longitudes de ciclo básico (Liu XK et al., 1998, 2003).

Los conejos también muestran cambios en la repolarización ventricular durante su desarrollo similar a los humanos. El intervalo JT corregido en el ECG de conejos anestesiados no muestra diferencia significativa entre jóvenes machos y hembras, pero la madurez sexual ha sido asociada con los cambios durante el desarrollo, tal que los adultos machos exhiben un menor intervalo JC corregido que los adultos hembras o los jóvenes tanto machos como hembras (Valverde ER et al, 2003).

Por el contrario, existen también reportes, en cuyos resultados no hay diferencias relacionadas al sexo en conejos machos y hembras con respecto al intervalo QT (Johansson M y Carlsson L, 2001) y otra investigación, en donde el intervalo QT

observado fue aún más corto en hembras que en machos (Spear JF y Moore EN, 2000).

La gonadectomía y los estudios de reemplazo hormonales en el conejo han proporcionado pruebas del papel predominante de los andrógenos en la modulación de la repolarización ventricular y la susceptibilidad a arritmias inducidas por fármacos. La castración de conejos machos ha causado una dependencia de la longitud de ciclo básica con el intervalo QT similar a aquella de hembras normales (Liu XK et al., 2003b). El tratamiento de los machos castrados con el andrógeno, dihidrotestosterone (DHT), restauró la relación de la longitud de ciclo básica con el intervalo QT de modo que fuera similar a aquella de machos normales (Liu XK et al., 2003b). La administración de DHT a los machos castrados también redujo la prolongación QT producida por 1 mM de quinidina (Liu XK et al., 2003).

Estas diferencias relacionadas con el sexo en la repolarización ventricular han sido asociadas con diferencias en la densidad de corrientes de K^+ en miocitos ventriculares aislados (Liu XK et al., 1998, 2003). La densidad de la corriente del rectificador tardío (predominantemente I_{Kr}) y la corriente I_{K1} fueron mayores en miocitos de corazones machos que de corazones femeninos (Liu XK et al., 1998). Además, en machos castrados, el tratamiento con DHT incrementó la densidad tanto de I_{Kr} como de I_{K1} (Liu XK et al., 2003). Tomando en cuenta estos resultados, se infiere que la testosterona desempeña un papel fundamental en las diferencias relacionadas con el sexo en la repolarización ventricular a través de la modulación de las densidades de corrientes de potasio. También en publicaciones previas se había planteado que hormonas sexuales pudieran influir en la expresión de canales cardiacos de potasio contribuyendo a la repolarización ventricular de conejos (Drici MD et al., 1996).

Tomando en cuenta lo anterior, a los modelos utilizados en esta tesis se les incorporó la componente rápida de la corriente rectificadora tardía de potasio (I_{Kr}) que en hembras es 0.83 veces de la de los machos (Liu XK et al, 1998; especie: conejo). La componente lenta de la corriente rectificadora tardía de potasio (I_{Ks}) que tiene un gradiente transmural en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas (Liu DW y Anzelevitch Ch, 1995; especie: perro; Viswanathan PC et al, 1999) y presenta una disminución de la conductancia máxima G_{Ks} en preadolescentes de 0.8 veces que el de adultos en tejido endocárdico (Obretchikova MN et al, 2003; especie: perro). La corriente transitoria de salida de potasio (I_{to}) que tiene un gradiente transmural en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas (Li GR et al, 1998; especie: humano; Clayton RH y Holden AV, 2004) y presenta una disminución de la conductancia máxima G_{to} en hembras de 0.75 veces que la de machos (Wu Y et al, 2002; especie: ratón).

Con respecto a las diferencias regionales de I_{CaL} , el grupo de Sims C analizó miocitos ventriculares epicárdicos aislados desde el ápice hasta la base en corazones de conejos adultos y preadolescentes (Sims C et al, 2008). En conejos

preadolescentes, el pico de I_{CaL} , en la base fue 22% mayor en machos que en hembras y mayor que en el ápice en el mismo porcentaje. Las diferencias en el sexo fueron opuestas en conejos adultos, la I_{CaL} , en la base fue mayor un 32% en hembras que en machos y 28% mayor con respecto al ápice. Diferencias apico-basales en I_{CaL} , no fueron significativas en corazones de adulto macho y preadolescente hembra. Así mismo, Pham TV et al, reportaron una dispersión transmural de I_{CaL} , mayor en el endocardio que en el epicardio, en la base de corazones de adultos hembras, mientras que en corazones de adultos machos esta diferencia no se presentó (Pham TV et al, 2002). Tampoco hubo diferencia transmural de I_{CaL} , en corazones de hembras ovariectomizadas. La administración de estradiol-17 o DHT restauró las diferencias transmurales en I_{CaL} , en preparaciones de hembras ovariectomizadas, pero no en machos castrados (Pham TV et al, 2002), demostrando las diferencias de sexo en respuesta a esteroides gonadales. Basados en lo anterior, se modificaron las densidades de corriente y parámetros dependientes de voltaje de I_{CaL} (Sims C et al, 2008) en los modelos desarrollados en esta tesis, para obtener las diferencias relacionadas a la edad y sexo.

En otra investigación llevada a cabo en corazones perfundidos con la técnica de Langendorff (Ruan YF et al, 2004), los corazones de conejos hembras exhibieron una mayor APD₉₀ y un más largo intervalo QT comparados con los corazones de conejos machos, mientras la dispersión transmural en los tres tejidos miocárdicos (epicardio, midmiocardio y endocardio), medidos con potenciales de acción monofásicos, no tuvo una diferencia significativa entre conejos machos y hembras.

Perro

Preparaciones cardiacas con la especie del perro son comúnmente utilizadas en la validación de agentes terapéuticos que puedan tener propensión a la prolongación del intervalo QT y la arritmia Torsade de Pointes. Las diferencias de sexo en la repolarización ventricular del perro fue uno de los objetivos en la investigación llevada a cabo por el grupo de Abi-Gerges en 2004 con fibras de Purkinje caninas. Los resultados reportados fueron consistentes con las diferencias de sexo presentes en corazones humanos y de conejo (Abi-Gerges N et al, 2004). Las fibras de Purkinje de corazones de hembras tienen una mayor APD₅₀, APD₇₀ y APD₉₀ que las fibras de los corazones de machos. Además, las fibras de Purkinje de los corazones de hembras muestran una mayor prolongación de la APD en frecuencias de estimulación más bajas en el rango de 1 a 0.2 Hz.

Un estudio en miocitos aislados de perro presentó una disminución de la conductancia máxima G_{Ks} en preadolescentes de 0.8 veces que el de adultos en tejido endocárdico (Obreztkhikova MN et al, 2003).

La densidad de corriente de I_{Ks} fue significativamente mayor en células epicárdicas y endocárdicas que en células midmiocárdicas en registros de células caninas reportaron Liu DW y Anzelevitch C. La densidad de corriente de I_{Ks} fue de 1.99 pA/pF en

células epicárdicas, 1.83 pA/pF en células endocárdicas y de 0.92 pA/pF en células midmiocárdicas (Liu DW y Anzelevitch C, 1995). Basados en estos datos experimentales, este gradiente transmural se incorporó a los modelos computacionales desarrollados en esta tesis.

Ratón

La especie de ratón es un modelo comúnmente utilizado en las enfermedades humanas, no obstante su alta frecuencia cardíaca y comparativamente abreviado potencial de acción ventricular. Existen reportes de las diferencias relacionadas al sexo en la repolarización ventricular del ratón (Drici MD et al, 2002; Trepanier-Boulay V et al, 2001; Wu Y y Anderson ME, 2002). Las duraciones del potencial de acción (APD_{50} y APD_{90}) de miocitos ventriculares de ratón hembra fueron más largas que los de macho, ampliamente consistentes con las diferencias de sexo reportadas en conejos y en humanos (Trepanier-Boulay V et al, 2001; Wu Y y Anderson ME, 2002).

Wu Y y Anderson ME reportaron que los miocitos de corazones de ratón adulto macho tienen una mayor densidad en I_{to} que los corazones de adulto hembra, en una proporción de 1 a 0.75, en alguna medida consistente con el reporte de diferencias de sexo en la densidad de I_{to1} en ventrículo derecho de corazón canino (Di Diego JM et al, 2002; Wu Y y Anderson ME, 2002). También reportaron que la corriente sostenida I_{sus} , al final de la despolarización, fue mayor en miocitos de ratón hembra que en miocitos de ratón macho. Por el contrario, los resultados anteriores fueron muy diferentes a los reportados por Trepanier-Boulay V, que concluyó en su investigación, que no existía diferencias de sexo en I_{to1} , I_{Kslow2} o I_{ss} , pero sugirió que las diferencias de sexo en la APD pudieran ser debidas por una mayor I_{Kur} (I_{Kslow1}) y mayor expresión en los canales dependientes de voltaje $Kv1.5$ en miocitos machos que en miocitos hembras (Trepanier-Boulay V et al, 2001). La controversia en los resultados presentados en estas investigaciones pudieron ser debidas en los diferentes protocolos utilizados para separar las corrientes (Brouillette J et al, 2004).

Cobaya

A diferencia de varias especies utilizadas en la electrofisiología cardíaca (conejo, perro, rata y ratón), la cobaya es polioestrus todo el año y tiene un ciclo ovárico de 16 días con una fase luteal muy similar a la de la mujer, la cobaya hembra tiene variaciones en niveles circulantes de estrógeno y progesterona (Petanceska SS et al, 2000; Shi F et al, 1999). Además, los niveles circulantes de esteroides ováricos son marcadamente reducidos con la ovariectomía (Petanceska SS et al, 2000). Por estas razones, aunadas con la naturaleza de la repolarización ventricular en esta especie, se ha planteado recientemente, que la cobaya pudiera ser una especie apropiada para investigar los esteroides ováricos en la repolarización ventricular (James AF y Hancox JC, 2003).

Miocitos ventriculares de cobayas machos han mostrado tener una menor APD_{90} que las de cobayas hembras, demostrando la existencia de diferencias relacionadas al sexo en la repolarización cardíaca de esta especie (James AF et al, 2004; Liew R et al, 2003, 2004). Además, el grado de diferencia en la APD_{90} entre miocitos de machos y hembras varió de acuerdo al estatus ovárico de la hembra (James AF et al, 2004).

No obstante tener una APD_{90} menor, los miocitos de cobaya macho tienen una mayor densidad de I_{CaL} (James AF et al, 2004; Liew R et al, 2003, 2004). Además de la diferencia en la I_{CaL} , el grupo de Liew reportó que el contenido de Ca en el retículo sarcoplásmico fue mayor en los miocitos de hembra que en los de macho y planteó que esto puede ser debido a las diferencias en el intercambiador Na/Ca entre machos y hembras.

Humanos

En diversos estudios electrocardiográficos realizados en humanos se han encontrado diferencias entre sexos respecto a la frecuencia cardíaca basal, la variabilidad de la frecuencia cardíaca, el intervalo QT y la duración y el voltaje del complejo QRS (Bernal O y Moro C, 2006).

Ya en el año 1920, Bazett HC observó que las mujeres tenían una frecuencia cardíaca media superior a la de los varones (Bazett HC, 1920). Esta observación fue corroborada en estudios posteriores, como el realizado por el grupo de Liu K en una población de 5.116 pacientes (Liu K et al, 1989). Estos autores encontraron que la frecuencia cardíaca media era entre 3 y 5 lat/min superior en las mujeres. Para evitar las influencias del tono vagal y simpático, los investigadores del grupo de Burke JH elaboraron un estudio con doble bloqueo autonómico mediante la administración de propanolol y atropina, y observaron que la longitud del ciclo sinusal era más corta en las mujeres, lo que hablaba a favor de una diferencia independiente del equilibrio neurovegetativo (Burke JH et al, 1996). Esta diferencia varón/mujer en cuanto a la frecuencia del automatismo sinusal es independiente de la edad.

Varios estudios realizados con registros electrocardiográficos ambulatorios en 24 h, con técnica de Holter, mostraron que las mujeres tienen un menor componente de bajas frecuencias y un menor cociente entre las altas y las bajas frecuencias del espectro de la variabilidad del RR (Villareal RP et al, 2001; James AF et al, 2007). Este hallazgo puede explicarse por influencias hormonales y predominio en el tono vagal, como indica el trabajo del grupo de Huikuri (Huikuri HV et al, 1996). En esta investigación, realizada en mujeres posmenopáusicas en las que se administraba tratamiento hormonal sustitutivo con estrógenos, se observó que dicha terapia aumentaba la respuesta a los barorreflejos y la potencia en los dominios de baja y alta frecuencia de la variabilidad del RR, lo que indicaba una influencia hormonal sobre la modulación autonómica cardíaca. Las diferencias entre ambos sexos en cuanto a la variabilidad del RR tienden a desaparecer con la edad.

Bazett HC observó que, en el electrocardiograma (ECG), las mujeres presentaban un intervalo QT más largo que los varones, pese a tener frecuencias cardíacas superiores (Bazett HC, 1920). Las mujeres muestran una duración del intervalo QT de 10 a 20 ms superior que el de los varones en condiciones basales. En especial, esta duración superior se hace más patente en el período perimenstrual, en el que también se ha descrito una exagerada reacción a los fármacos (Villareal RP et al, 2001). También Bazett HC describió que esta diferencia en la duración del intervalo QT se mantiene tras corregir dicho intervalo para la frecuencia cardíaca, dato que igualmente confirmaron otros autores, como los grupos de Stramba-Badiale M y Merri M (Stramba-Badiale M et al, 1997; Merri M et al, 1989). Las diferencias en la duración del intervalo QT están mediadas por el efecto de las hormonas femeninas sobre la expresión y el funcionamiento de los canales de Ca^{2+} y K^+ , y es posible que también sobre la corriente rápida y persistente de Na y sobre el intercambiador Na/Ca (James AF et al, 2007).

El límite superior del intervalo QTc en varones es de 450 ms, mientras que en las mujeres se asume un valor normal del intervalo QTc hasta los 470 ms (Rautaharju PM et al, 1992). Se ha descrito una menor duración del complejo QRS, así como un menor voltaje de éste en las mujeres. Estas diferencias, que podrían ser atribuidas inicialmente a un corazón de menor tamaño en el cuerpo femenino, se mantienen incluso tras corregir dichos valores para la masa cardíaca y el peso corporal (Okin PM et al, 1995). Asimismo, estas diferencias se mantienen en circunstancias patológicas, como en la hipertrofia ventricular. También se ha descrito una menor duración en mujeres de la onda P y de la duración del intervalo PR (James AF et al, 2007).

No solamente es distinta la duración de la repolarización en las mujeres. Los denominados cambios inespecíficos de la repolarización en el trazado electrocardiográfico de 12 derivaciones son mucho más frecuentes en mujeres. Una investigación reciente, llevada a cabo a partir de los parámetros electrocardiográficos obtenidos de 38.000 mujeres posmenopáusicas, derivada del estudio Women Health Initiative (Rautaharju PM et al, 2006), demuestra que dichos cambios en la repolarización son frecuentes y pueden ser un predictor de riesgo cardiovascular en la población femenina en esa etapa vital. Los autores encuentran que el ángulo QRS/T excesivamente abierto, la duración prolongada del complejo QRS, el intervalo QT corregido prolongado y la variabilidad reducida de la frecuencia cardíaca son parámetros eléctricos que pueden ser predictores de mortalidad cardiovascular en la mujer posmenopáusica.

De lo expuesto previamente se resume que la frecuencia sinusal media o cadencia del automatismo sinusal en las mujeres es superior, que la variabilidad de la frecuencia cardíaca en el campo de la frecuencia tiene menos componentes de baja frecuencia, dato estrictamente relacionado con el predominio del sistema nervioso parasimpático. El otro dato electrofisiológico diferenciador es la duración del intervalo QT y QTc, que traduce la duración del período refractario ventricular,

también superior en las mujeres. La distinta fisiología causal de estas diferencias es desconocida, pero puede estar relacionada con una relación QT-RR alterada por una distinta morfología de la onda T, las influencias hormonales sobre los canales iónicos de la membrana, el tono autonómico o una combinación de estos factores.

Otra característica importante es que la mayor parte de estas diferencias en la electrofisiología cardíaca aparecen después de la pubertad (James AF et al, 2005; Rautaharju PM et al, 1992). Por ejemplo, en los varones, durante la adolescencia, etapa en la que se produce un aumento de las hormonas masculinas (andrógenos), se observa una disminución del intervalo QT, lo que podría significar un efecto directo hormonal sobre la fisiología de los canales de la membrana que intervienen en la repolarización cardíaca (Krahn AD et al, 1995). Las mujeres presentan una mayor frecuencia cardíaca intrínseca. Este dato ha sido comprobado con o sin bloqueo autonómico, lo que marca un ciclo sinusal más corto y una variabilidad menor de la frecuencia cardíaca durante el día. Puede atribuirse, por tanto, a un efecto directo de las hormonas femeninas sobre la fisiología cardíaca, ya que la diferencia comienza a manifestarse en la adolescencia (Rautaharju PM et al, 1992), al igual que ocurre con la duración del intervalo QT y QTc, que se acorta en el varón a partir de esa edad (Krahn AD et al, 1995).

En la literatura se ha encontrado un modelo computacional desarrollado para evaluar las diferencias relacionadas al sexo (Verkerk AO et al, 2006), y otro con respecto a la edad y sexo (Sims C et al, 2008). El modelo publicado por el grupo de Verkerk AO fue implementado modificando las densidades de corriente de I_{CaL} , I_{to} e I_{Kr} para presentar las diferencias relacionadas al sexo y los datos experimentales están tomados de corazones de diferentes especies: perro, conejo, cobaya y ratón, además, estas corrientes iónicas modificadas fueron incluidas en los modelos celulares ventriculares humanos de Priebe-Beuckelmann (Priebe L y Beuckelmann DJ, 1998) y en el de ten Tusscher-Panfilov (ten Tusscher et al, 2004).

En el modelo reportado por Sims C solo se modifica la cinética de la densidad de corriente de I_{CaL} para presentar las diferencias relacionadas al sexo y la edad, los datos experimentales están tomados de conejo y las corrientes iónicas modificadas fueron incluidas en el modelo celular ventricular de cobaya de Faber-Rudy (Faber GM y Rudy Y, 2000); mientras que en nuestro modelo, se modificaron las densidades de corriente I_{CaL} , I_{to} , I_{Kr} e I_{Ks} , para presentar las diferencias relacionadas al sexo y la edad; los datos experimentales están tomados de ratón, cobaya, conejo, perro y humano y estas corrientes iónicas modificadas fueron incluidas en los modelos celulares ventriculares de Faber-Rudy (Faber GM y Rudy Y, 2000) y de Clancy-Rudy (Clancy CE y Rudy Y, 2001).

Otro aspecto que distingue a los modelos, es que en el modelo de Verkerk AO las modificaciones a las densidades de corrientes iónicas son sólo en sus conductancias máximas sin introducir cambios en la cinética de las corrientes iónicas. En tanto que en el modelo de Sims C las diferencias presentadas son sólo en células epicardiales, no pudiendo desarrollar estudios de dispersión de repolarización; mientras que en

nuestro modelo se han modificado conductancias máximas y cinéticas de algunas de las corrientes iónicas para modelizar además de las corrientes iónicas las células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas. Por tanto, nuestro modelo computacional para evaluar las diferencias relacionadas en sexo y edad es una aportación original en esta tesis doctoral, ya que se pueden analizar efectos electrofisiológicos como la prolongación de la APD, la susceptibilidad a EADs y la dispersión de repolarización.

5.2 Modelos computacionales de la interacción dofetilide- I_{Kr}/I_{hERG}

Los efectos de la interacción del fármaco antiarrítmico dofetilide con I_{Kr}/I_{hERG} tanto en cardiomiocitos de célula ventricular de cobaya, utilizando la formulación de Hodgkin Huxley (Sáiz J et al, 2011), como el modelo desarrollado en células tipo silvestre del gen hERG, utilizando la formulación de Markov fueron implementados. Los modelos tienen un IC_{50} de 7 nM, valor que está en concordancia con valores experimentales medidos en miocitos ventriculares de cobaya de 8.7 ± 2.0 nM (Weerapura M et al, 2002a) y 31.5 nM (Jurkiewicz NK y Sanguinetti MC, 1993); así como con valores experimentales medidos en hERG expresados en líneas celulares de mamíferos, de 15 nM en CHO (Kupersmidt S et al, 2003), 12 nM en HEK293 (Snyders DJ y Chaudary A, 1996), 10 nM en HEK293 (Rampe D et al, 1998), 11 nM en CHO (Kang J et al, 2004), 27 nM en HEK293 (Guth BD et al, 2004), 4 nM en HEK293 (Rezazadeh S et al, 2004), 10 nM en CHO (Weerapura M et al, 2002a), 51 nM en HEK293 (Perrin MJ et al, 2008) y 4-15 nM en HEK293 (Milnes JT et al, 2010).

La actividad bloqueadora del dofetilide se ha modelizado utilizando la hipótesis del receptor protegido GR “guarded receptor hypothesis” (Starmer F, 1984). La hipótesis GR asume que la afinidad del receptor para el fármaco es constante, mientras el acceso hacia el receptor varía con el estado del canal. Una vez el fármaco se asocia, el canal queda en un estado de no conducción hasta que el fármaco se pueda disociar del receptor.

Estudios experimentales recientes del dofetilide han demostrado una interacción fármaco-receptor en los estados abierto e inactivado, pero no en los estados cerrados (Yang T et al, 1997; Weerapura M et al, 2002b; Perrin MJ et al, 2008). Así también, otros autores han planteado que la interacción entre el fármaco y el receptor se produce en el estado abierto, pero no en el estado cerrado (Carmeliet E, 1992; Snyders DJ y Chaudary A, 1996; Ohler A et al, 1994). Resultados experimentales indican que la interacción entre el dofetilide y el receptor presenta una muy baja cinética para bajas concentraciones del fármaco (Weerapura M et al, 2002b; Snyders DJ y Chaudary A, 1996) y lo anterior también se reproduce en los modelos computacionales desarrollados.

Otros modelos computacionales se han desarrollado para la interacción dofetilide- I_{Kr}/I_{hERG} . El grupo de Perrin MJ desarrolló un modelo, en donde la interacción del fármaco y el receptor era a través de los estados abiertos e inactivados (Perrin MJ et

al, 2008), pero no presentaba estados cerrados bloqueados como los que se plantean en esta tesis doctoral. Otra diferencia con el modelo de Perrin MJ, es que éste presentaba afinidades distintas para cada uno de los estados asociados en la interacción fármaco receptor, la afinidad para el estado abierto era de 3.5 μM y la afinidad para el estado inactivado era de 47.8 nM, utilizando la teoría del receptor modulado, mientras que nuestros modelos presentan una afinidad constante de 7 nM, tanto en el estado abierto como en el estado inactivado, de acuerdo a la teoría utilizada del receptor guardado.

El modelo de la interacción dofetilide- I_{hERG} con la formulación de Markov es una aportación original de esta tesis doctoral, ya que el modelo puede ayudar a profundizar el conocimiento en el estudio de mutaciones del canal hERG, así como en canalopatías inducidas por fármacos .

5.3 Acción del fármaco dofetilide en los modelos computacionales de adultos y preadolescentes

Los modelos computacionales implementados del dofetilide se incorporaron a la componente rápida de la corriente de rectificación tardía (I_{Kr}) y a la corriente del gen hERG (I_{hERG}), ya que el dofetilide es un antiarrítmico con efecto de clase III puro, y se evaluó la acción del fármaco con diferentes concentraciones en células epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra.

Se ha planteado que la prolongación de la duración del potencial de acción (APD), la producción de postdepolarizaciones tempranas (EAD) y la dispersión de repolarización (DOR) inducidas por fármacos, sean la génesis de arritmias ventriculares como el síndrome de QT largo adquirido y Torsade de Pointes (TdP), siendo la prolongación de la APD y la producción de EADs las actividades desencadenantes y la DOR el sustrato para mantener las arritmias (Anzelevitch C et al, 1998; Anzelevitch C y Fish J, 2001; Hancox JC et al, 2000; Makielski JC y January CT, 1998; Volders PGA et al, 2000). Por tanto, se hará la discusión de esta trabajo de investigación tomando en cuenta los resultados presentados de la prolongación de la APD, la producción de EADs y DOR con respecto a los datos experimentales en las diferentes especies animales.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los modelos celulares, se produce prolongación de la APD por las diversas concentraciones del dofetilide en todos los tipos de células y en los 4 modelos, indicando que el dofetilide tiene una característica cuyos efectos son dependientes de la concentración o dosis aplicada. Además, los potenciales de acción del adulto hembra, en todas las concentraciones de dofetilide, tienen una APD significativamente mayor que los del adulto macho, mientras que en los modelos de preadolescentes, las APD del macho son ligeramente mayores que las de la hembra.

En los incrementos de prolongación de la APD, se puede visualizar, que el modelo de adulto hembra tiene mayores incrementos de prolongación de la APD en todos los tipos de células con respecto al adulto macho, mientras que el modelo del preadolescente macho tiene mayores incrementos de prolongación de la APD en células midmiocárdicas, endocárdicas y epicárdicas que el de preadolescente hembra.

El aumento de la APD_{90} tiene diferentes efectos en los potenciales de acción de cada tipo de cardiomiocito y de cada modelo. En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD_{90} en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide y con la aplicación de 10 y 30 nM de dofetilide en la célula endocárdica. En tanto, se presentaron EADs en la célula midmiocárdica con concentraciones de 10 y 30 nM de dofetilide y en la célula endocárdica con 100 nM. Con una aplicación de 100 nM de dofetilide en la célula midmiocárdica se produjo una EAD drásticamente prolongada sin repolarización. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del potencial de acción en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que con 30 nM de dofetilide produjo EADs y con 100 nM de dofetilide produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

Los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra reproducen el efecto del dofetilide de la dependencia de la frecuencia (reverse use dependence). Debido a este efecto, la prolongación de la duración del potencial de acción se incrementa cuando la frecuencia de estimulación se reduce o la BCL aumenta. La prolongación en APD_{90} inducida por las diferentes concentraciones de dofetilide presenta el efecto de la dependencia de frecuencia en todos los modelos, aunque entre los modelos de adultos, la hembra muestra un efecto más pronunciado y además a partir de un BCL de 2000 ms con una concentración de 30 nM de dofetilide y a partir de un BCL de 500 ms en 100 nM del fármaco se producen EADs. En tanto, que entre los modelos de preadolescentes, el efecto es más pronunciado en la hembra que en el macho en condiciones de control, aunque a partir de 500 ms de BCL en una concentración de 100 nM de dofetilide el modelo del preadolescente macho produce EADs y la preadolescente hembra no produce EADs.

En cuanto a DOR, se pudo observar el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD_{90} en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

En los modelos de adultos, las células del modelo de adulto hembra tienen una mayor dispersión de repolarización que el adulto macho en todas las concentraciones de dofetilide. Tanto que se presentan EADs con repolarización en las células midmiocárdicas a 10 y 30 nM de dofetilide y en las células endocárdicas a 100 nM y

se producen EADs dramáticamente prolongadas sin repolarización en células midmiocárdicas con 100 nM de dofetilide.

Mientras que en los modelos de preadolescentes, la preadolescente hembra presentó una mayor dispersión de repolarización con la aplicación de 10 nM de dofetilide que el preadolescente macho (19 y 15 ms), pero el preadolescente macho presentó una mayor dispersión de repolarización con la aplicación de 30 nM de dofetilide que la preadolescente hembra (549 y 486 ms con repolarización en EADs). Con 100 nM de dofetilide, los dos modelos presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

En cuanto a los resultados obtenidos en la fibra unidimensional heterogénea, se ha podido comprobar el efecto proarrítmico del dofetilide en la prolongación del intervalo QT dependiente de la dosis o concentración utilizada en todos los tejidos de los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra. Entre los modelos de adultos, la hembra muestra un efecto mucho más pronunciado que el macho, mientras que en los modelos de preadolescentes, los efectos causados por la aplicación del dofetilide son muy similares, aunque con una ligera predominancia hacia el macho.

La aplicación del dofetilide a diferentes concentraciones produce un aumento en la TDR en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra. Presentando un incremento mucho mayor en el modelo de hembra, comparado con el del macho, cuando se trata de los modelos de adultos; mientras que en los modelos de preadolescentes, los incrementos de TDR son muy similares y son ligeramente mayores, tanto en el macho como en la hembra, dependiendo de la concentración de dofetilide utilizada, como se puede comprobar con los resultados mostrados.

Con respecto al intervalo QT, el dofetilide produce una elongación del intervalo QT en todos los modelos; teniendo una prolongación mucho mayor en el modelo de adulto hembra que en el de adulto macho y siendo esta prolongación muy similar cuando se trata de los modelos de preadolescentes, tanto hembra como macho, presentando ligeras diferencias entre machos y hembras dependientes de la concentración de dofetilide aplicada. La aparición de EADs en los potenciales de acción de tejidos endocárdico y midmiocárdico hace que se deforme la morfología de la onda T, principalmente en el modelo de adulto hembra que presenta esta anomalía con la aplicación de 30 y 100 nM de dofetilide. En tanto que en los modelos de preadolescentes, en ambos se presentan EADs deformando la morfología de la onda T; en el de preadolescente macho en los tejidos endocárdico y midmiocárdico con una concentración de 100 nM de dofetilide y en el modelo de preadolescente hembra en el tejido endocárdico con la misma concentración de fármaco.

5.3.1 Acción de fármacos en especies animales

La mayoría de reportes de investigaciones relacionados al estudio de fármacos y diferencias basadas en sexo y edad con respecto a la prolongación de la APD, incidencias de EADs y DOR se han realizado en especies animales, por tanto la discusión se llevará a cabo tomando en cuenta estas especies.

Conejo

La diferente sensibilidad de conejos hembras y machos a la repolarización tardía inducida por fármacos y su modulación por gonadectomía han sido estudiadas en diversos modelos in vivo e in vitro y a nivel tisular.

En una investigación llevada a cabo por el grupo de Pham TV en ventrículos aislados de conejo, el fármaco dofetilide produjo una mayor prolongación de la APD₉₀, una mayor incidencia en EADs y una mayor DOR en hembras que en machos (Pham TV et al, 2001a). La dispersión resultante del bloqueo de I_{Kr} plantea mayores diferencias entre las células epicárdicas y endocárdicas en esta corriente iónica. Estos resultados concuerdan con los de esta tesis, donde las células ventriculares cardiacas de adulto hembra produjeron una mayor prolongación de la APD₉₀, una mayor incidencia de EADs y un mayor incremento en DOR que las células ventriculares de adulto macho.

En otro estudio del mismo grupo de investigadores, cuyo objetivo era investigar sobre las diferencias de sexo basadas en la I_{CaL} con la aplicación de dofetilide, se reportó un gradiente transmural de esta corriente iónica en ventrículos de hembras, pero no en los de machos (Pham TV et al, 2001b). Este gradiente es debido a una mayor conductancia de I_{CaL} en el epicardio que en el endocardio en los ventrículos de hembra. Este hecho es consistente con las diferencias de género durante la repolarización temprana, en donde a nivel del ECG se visualiza en las pendientes ascendentes y descendentes de la onda T y a nivel celular en la APD₃₀. El gradiente transmural de la I_{CaL} en hembras puede contribuir a una mayor dispersión transmural de la APD y a un incremento en la incidencia de EADs en ventrículos de conejo hembra. Los resultados presentados en esta tesis son consistentes con la investigación anterior, pues muestran un mayor gradiente transmural en la fibra unidimensional de células de adulto hembra con respecto a adulto macho.

En otro estudio reciente (Ruan Y et al, 2004), cambios inducidos por el fármaco sotalol en la DOR transmural en corazones perfundidos con la técnica de Langendorff y haciendo registros de potenciales de acción monofásicos, los corazones de conejos hembras mostraron un mayor incremento en la DOR transmural que los corazones de conejos machos.

La gonadectomía tiene un dramático efecto en la respuesta de los músculos papilares al bloqueo del dofetilide, en conejos machos, la castración resulta en un decremento de los niveles de DHT y en un incremento en la incidencia de EADs producidas por el dofetilide; mientras que en conejos hembras, la ovariectomía

reduce el riesgo de la prolongación de la APD e incidencias de EADs inducidas por el dofetilide (Pham TV et al, 2001a).

El grupo de Lu HR reportó resultados sobre las diferencias basadas en sexo y asociadas con el incremento de la incidencia de la arritmia TdP inducida por el dofetilide en un modelo en vivo de conejos anestesiados (Lu HR et al, 2001), en el cual se confirmó las diferencias relacionadas al sexo en donde los conejos hembras son más prevalentes a sufrir este tipo de arritmia que los machos. El dofetilide produjo una significativa mayor prolongación en el tiempo de repolarización ventricular (intervalos QT y JT) en conejos hembras que en machos, asociada con una mayor incidencia de taquicardia ventricular polifórmica (100% en hembras contra 80% en machos) y fibrilación ventricular(80% en hembras contra 50% en machos). Además, la dosis de dofetilide aplicada a los conejos hembras fue cerca del 50% más baja que la aplicada a los conejos machos. A causa de los resultados presentados en esta investigación, el modelo de conejo hembra es utilizado actualmente en el proceso de validación de nuevos medicamentos que potencialmente puedan producir prolongación del intervalo QT (Hondeghe LM y Hoffmann P, 2003; Hondeghe LM et al, 2003).

A nivel tisular, existe una investigación en donde se reportó que el incremento en APD₉₀ y la incidencia de EADs causados por el dofetilide fueron significativamente mayores en fibras de Purkinje de hembra que en fibras de macho con una frecuencia de estimulación de 0.2 Hz (Lu HR et al, 2000). Esta información indica que los conejos hembra tienden a tener una repolarización ventricular más prolongada y están en un mayor riesgo de sufrir EADs inducidas por dofetilide a bajas frecuencias de estimulación que los conejos machos.

En otra investigación, utilizando los fármacos quinidina y sotalol en corazones perfundidos con la técnica de Langendorff (Ebert SN et al ,1998), los corazones de conejos hembra mostraron una mayor prolongación del intervalo QT a estos fármacos que los corazones de conejos macho.

También, con esta técnica de Langendorff, en una investigación reportada por el grupo de Liu XK (Liu XK et al, 1999), los corazones de conejos hembra fueron más susceptibles que los corazones de conejos machos a extrasístoles y taquicardia polimórfica inducidas por la reducción de la frecuencia de estimulación y una prolongación del intervalo QT producida por la aplicación de 1mM de 4-aminopridina (4-AP). Aunque 4-AP es un reconocido bloqueador de la corriente I_{to}, también bloquea las corrientes I_{Kr}/I_{hERG} y es muy probable que la prolongación del intervalo QT haya sido producida por un significativo bloqueo de I_{Kr} (Liu XK et al, 1999; Mitcheson JS y Hancox JC, 1999; Ridley JM et al, 2003).

Perro

Existen pocos reportes de investigaciones en perro cuyo objetivo sea las diferencias relacionadas al sexo con la aplicación de fármacos y efectos en el

intervalo QT, prolongación de la APD o incidencia de EADs, ya que las perras presentan periodos prolongados intermenstruales, haciendo al perro una especie difícil para investigar el papel de los esteroides ováricos en la repolarización ventricular y en el estudio de fármacos que puedan inducir proarritmia (Dukes HH, 1993; James AF y Hancox JC, 2003).

Un estudio reportado por el grupo de Abi-Gerges en corazones de perro presentó resultados consistentes con las diferencias relacionadas al sexo en corazones de humanos y conejos (Abi-Gerges N et al, 2004b). Fibras de Purkinje de hembras tuvieron una significativa más larga APD₅₀, APD₇₀ y APD₉₀ que las fibras de macho. Además, las fibras de Purkinje de hembra mostró una mayor prolongación en la APD₉₀, al hacer más baja la frecuencia de estimulación, de 1.0 a 0.2 Hz. La prolongación de la APD₉₀ inducida por el dofetilide fue mayor en las fibras de Purkinje de hembra que en las de macho a una frecuencia de estimulación de 0.2 Hz, pero no a una frecuencia de estimulación de 1 Hz. De forma similar, hubo una mayor incidencia de EADs producidas por el dofetilide en las fibras de Purkinje de hembras que en las de macho a una frecuencia de estimulación de 0.2 Hz.

Ratón y Cobaya

Una investigación relacionada a la administración de halothane en corazones perfundidos de ratones con la técnica de Langendorff (Drici MD et al, 2002), reportó una mayor duración de taquicardia ventricular polimórfica en corazones de ratones hembras que en corazones de ratones machos.

Por otra parte, una investigación utilizando el fármaco pinacidil (Ranki HJ et al, 2001), mostró mayores corrientes de K⁺ inducidas en cardiomiocitos de corazones hembra de cobaya que en cardiomiocitos de corazones macho. Los corazones de cobaya hembra también mostraron una reducción de la densidad de los canales K_{ATP} dependiente de la edad, que no mostraron los corazones de cobaya macho.

En la literatura no se encontraron reportes de investigaciones relacionados al estudio del dofetilide y diferencias basadas en sexo y edad con respecto a la prolongación de la APD, incidencias de EADs y DOR en las especies de ratón y cobaya.

5.3.2 Acción de fármacos en humanos

Tomando en cuenta que de los más importantes factores en la arritmógenesis son: la excesiva prolongación del intervalo QT corregido, más de 450 ms en hombres y más de 470 ms en mujeres (Yap YG y Camm AJ, 2003), la aparición de EADs y el incremento en DOR, los cuales conllevan a tener riesgo de sufrir TdP. A esta excesiva prolongación del intervalo QT se le denomina como síndrome de QT largo (SQTL) y se puede tener en dos variantes, a consecuencia de mutaciones hereditarias en genes de canales en la membrana celular (SQTL familiar o congénito) o a causa de

enfermedades cardíacas no congénitas y fármacos bloqueadores del canal K^+ (SQTL adquirido o inducido por fármacos), particularmente, fármacos que bloquean I_{Kr}/I_{hERG} (Keating MT y Sanguinetti MC, 2001; Marban E, 2002; Viskin S, 1999).

En tanto, que el enlace entre una inadecuada repolarización ventricular del potencial de acción y la prolongación del intervalo QT no siempre finalizan en TdP, en la medida en que los valores del intervalo QT corregido como predictores de TdP son inciertos y los mecanismos celulares por los cuales una arritmia TdP es iniciada y mantenida aún están a debate (Haverkamp W et al, 2000; Keating MT y Sanguinetti MC, 2001; Marban E, 2002; Viskin S, 1999).

La mayoría de los fármacos asociados con SQTL inducido por fármacos y TdP han mostrado bloqueo de canales de potasio I_{Kr} y/o I_{hERG} (Brown AM, 2004; Haverkamp W et al, 2000; Yap YG y Camm AJ, 2003; Tristani-Firouzi M et al, 2001; Vandenberg JI et al, 2001; Witchel HJ y Hancox JC, 2000). La asociación entre el bloqueo de I_{Kr} y la producción de EADs puede ser importante para células midmiocárdicas y fibras de Purkinje, debido a que I_{Ks} es más débil en este tipo de células y que el bloqueo de I_{Kr} es más pronunciado que en otro tipo de células (Anzelevitch C y Fish J, 2001; Varro A et al, 2000).

Una investigación de 1983, llevada a cabo por Abinader EG y Sharar J, reportó que, comparados con hombres, las mujeres fueron más susceptibles a desarrollar TdP con la administración de prenylamine, en un porcentaje del 71.4% (Abinader EG y Sharar J, 1983). Roden et al describieron en 1986 las circunstancias clínicas asociadas con el desarrollo de SQTL adquirido y TdP con quinidine, entre un grupo de 24 pacientes estudiadas, de los cuales 16 (67%) eran mujeres (Roden DM et al, 1986).

El primer estudio retrospectivo detallado del sexo femenino como factor de riesgo para TdP inducido por fármacos, fue publicado en 1993 (Makkar RR et al, 1993). Este estudio estuvo orientado en casos documentados de TdP en pacientes prescritos con fármacos para indicaciones cardiovasculares, principalmente arritmias. El mayor número de casos de TdP ocurrieron con quinidine (108), seguido por disopyramide (49), procainamide (39), amidorane (28), bepridil (27), prenylamine (23) y sotalol (21). Para todos estos fármacos, excepto procainamide, hubo un mayor número de TdP en mujeres que en hombres.

En un subsecuente análisis de datos retrospectivo con más de 3000 pacientes participando en estudios clínicos con sotalol (Lehmann MH et al, 1996) se reportó que las mujeres tuvieron un incrementado riesgo para desarrollar TdP. De 77 pacientes que tuvieron TdP, 44 fueron mujeres y 33 hombres. Aunque un total de 2336 pacientes varones recibieron el fármaco comparados con solamente 799 pacientes femeninas. Por tanto, TdP se desarrolló en el 4.1% de las mujeres, pero sólo 1.9% en hombres.

Otro estudio que investigó sobre el potencial proarrítmico del erythromycin que incluía la separación de grupos por sexo y décadas de edad (Drici MD et al, 1998). Reportó que antes de la edad de 10 años, el número de eventos entre varones y mujeres fue similar, pero en las décadas de los 10s, 20s, 30s, 40s y en menor medida en la década de los 50s, ocurrieron más casos proarrítmicos en mujeres que en hombres; cuando la edad de los pacientes llegó a la década de los 60s y mayores, esta diferencia entre sexos desapareció, haciendo más obvia la evidencia que la prevalencia de las mujeres en la TdP inducida por fármacos puede deberse a las hormonas sexuales.

Una investigación, en donde se observó la TdP inducida por el fármaco terfenadine, se reportaron 15 de 25 casos que ocurrieron en mujeres (Woosley RL et al, 1993). El estudio clínico SWORD (Survival with Oral d-Sotalol) que investigó si el d-sotalol, un antiarrítmico de clase III sin actividad beta bloqueadora, podría reducir la mortalidad en pacientes con disfunción ventricular izquierda después del infarto al miocardio. En este estudio se reportó que el sexo femenino tenía un mayor factor de riesgo asociado a un incremento en muertes debido a arritmias (un riesgo relativo de 4 en mujeres contra 1.5 en hombres). También, en un estudio de análisis de datos (Gowda RM et al, 2004), se observó, que la prevalencia de TdP inducida por el fármaco antiarrítmico clase III ibutilide fue significativamente mayor en mujeres que en hombres.

La mayor prevalencia de mujeres en TdP inducida por fármacos no se limita a los fármacos para tratar arritmias. Una similar asociación se ha reportado con fármacos no antiarrítmicos (Bednar MM et al, 2002). En una revisión retrospectiva de casos de TdP asociados con el uso de terfenadine, haloperidol, erythromycin, pentamidine, astemizole, thioridazine, cisapride, probucol, clarithromycin, ketanserin, terodiline y halofantrine, la proporción de pacientes femeninas entre los casos reportados fue del 59% o más para todos los fármacos excepto pentamidine y ketanserin. Para probucol todos los casos de TdP fueron de mujeres y para terodiline y astemizole, el 86% y el 94% de los casos respectivamente ocurrieron en mujeres. En general, aproximadamente el doble de casos reportados por Bednar MM (Bednar MM et al, 2002) se desarrollaron en mujeres que en hombres, relación entre sexos muy similar al número de casos reportados en el estudio de Makkar RR (Makkar RR et al, 1993) para fármacos antiarrítmicos y en el estudio de pacientes con SQTl tipo 2 reportado por Schwartz PJ (Schwartz PJ et al, 2001).

5.4 Diferencias relacionadas al sexo y la edad sobre mutaciones

Más de 290 mutaciones en hERG han sido ligadas al síndrome congénito de QT largo tipo 2 (LQT2). Defectos en el poro de hERG han mostrados tener fenotipos celulares heterogéneos. Mutaciones en el poro pueden resultar en una pérdida de función, algunas veces debido a defecto de tráfico y pueden o no coensamblar con

subunidades de hERG-WT presentando efectos dominantes negativos. Otros defectos en el poro del canal pueden dar lugar a alteraciones de la cinética del canal haciendo que se decremente la corriente I_{kr}/I_{hERG} .

5.4.1 Efectos en células tipo silvestre WT

Se desarrolló un modelo estructurado de la corriente I_{kr}/I_{hERG} para investigar las consecuencias funcionales de los defectos del gen hERG en anomalías de la repolarización cardíaca basado en la formulación de Markov y con las constantes de relación implementadas por Clancy y Rudy 2001 (Clancy CE y Rudy Y, 2001). Se incluyeron los modelos desarrollados de Markov para células WT para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en el modelo celular ventricular de Clancy y Rudy 2001, para evaluar las consecuencias arritmogénicas celulares de células WT y de varias mutaciones de hERG asociadas a LQT2.

El aumento de la APD_{90} tiene diferentes efectos en los potenciales de acción de cada tipo de célula WT y de cada modelo. En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD_{90} en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del PA en la célula epicárdica WT con todas las concentraciones de dofetilide y con la aplicación de 10 y 30 nM de dofetilide en la célula endocárdica; se produjeron EADs con 10 nM en la célula midmiocárdica WT y con 100 nM en la célula endocárdica WT. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la célula midmiocárdica WT con concentraciones de 30 y 100 nM de dofetilide. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del PA en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que con 30 nM de dofetilide produjo EADs y con 100 nM de dofetilide produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

En los modelos de adultos, las células WT del modelo de adulto hembra tienen una mayor dispersión de repolarización que el adulto macho en todas las concentraciones de dofetilide. Mientras que en los modelos de preadolescentes, se tiene igual dispersión de repolarización con la aplicación de 10 nM de dofetilide (25 ms), así mismo se tiene una casi similar dispersión de repolarización con la aplicación de 30 nM de dofetilide (498 y 521 ms con repolarización en EADs). En tanto que con 100 nM de dofetilide, los dos modelos presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización.

5.4.2 Efectos sobre células de la mutación R56Q.

La mutación R56Q en el dominio Per-Arnt-Sim (PAS) en los canales de potasio de hERG acelera la desactivación del canal. Se eligió esta mutación sustitutiva, ya que es la que puede incrementar más profundamente esta relación de desactivación (Chen J

et al, 1999). Esta alteración en la cinética del canal reduce la corriente a través de los canales hERG durante la repolarización en la fase de la meseta del potencial de acción cardíaco, prolongando el intervalo QT y siendo una causa probable para el incremento de riesgo de la arritmia Torsade de Pointes (TdP) en los individuos afectados por esta mutación. Estos cambios se han presentado experimentalmente en los canales hERG que contienen a la mutación R56Q expresados en *Xenopus oocytes* (Chen J et al, 1999) y en líneas celulares de mamíferos de HEK 293 (Berecki G et al, 2005).

Estos datos experimentales indican que aunque la corriente hERG activada durante la despolarización puede ser mayor que la corriente hERG de células WT, debido al desplazamiento positivo en la dependencia de voltaje de la disponibilidad de canales, la rápida desactivación causada por esta mutación resulta en una corriente menor cuando la membrana es lentamente repolarizada.

La mutación es simulada incrementando la relación de transición $O \rightarrow C1$ por un factor de 6.3 y la relación de transición $C2 \rightarrow C3$ por un factor de 10.5 (Clancy CE y Rudy Y, 2001). Estas relaciones de desactivación incrementadas resultan en un cambio hacia la derecha en la dependencia de voltaje de la activación y rectificación debido al fuerte acoplamiento entre los estados discretos.

La desactivación del canal hERG es ampliamente acelerada al remover parte de la región amino-terminal o por mutación de algún residuo específico (Spector PS et al, 1996; Schonherr R y Heinemann SH, 1996). La estructura cristalina de la región amino-terminal de hERG ha sido determinada y mostró poseer un dominio Per-Arnt-Sim (PAS) (Morais Cabral JH et al, 1998). Este dominio puede interactuar con otra región de hERG, como el asa S4-S5 para afectar la desactivación del canal. Una aceleración en la relación de desactivación reducirá la contribución de I_{Kr}/I_{hERG} a la repolarización y prolongará la duración del potencial de acción. Este efecto es ejemplificado por la mutación R56Q, que causa el mayor cambio en la dependencia de voltaje (+36 mV) y el más pronunciado incremento (7 a 10 veces más) en la relación de desactivación.

Las propiedades alteradas de la desactivación del canal causadas por mutaciones en la región amino-terminal de hERG indican el papel fundamental de este dominio en la cinética del canal. La estructura cristalina de este dominio ha sido recientemente resuelta y muestra ser un dominio PAS (Morais Cabral JH et al, 1998). Los dominios PAS son estructuras básicas hélice-lazo-hélice que han mostrado tener un lugar para la interacción proteína-proteína para factores que funcionan en el sensado y transducción de señales. Estudios fisiológicos sugieren que este dominio puede interactuar con el asa S4-S5 del mismo canal reproduciendo la remoción de la región amino-terminal de los canales hERG. Además, variantes troceados de canales erg que presentan una ausencia parcial del dominio amino-terminal también exhiben una rápida desactivación (London B et al, 1997; Lees-Miller JP et al, 1997). Mutaciones sustitutivas o modificación química del asa S4-S5 de hERG presentan los mismos efectos que la delección en la región amino-terminal en la desactivación del canal.

Por tanto, las mutaciones asociadas al síndrome de QT largo en hERG aceleran la relación de desactivación del canal. Es probable que este efecto sea causado por la disrupción de la interacción del dominio amino-terminal con el asa S4-S5 en las subunidades de hERG, que normalmente hacen más lenta la cinética asociada con la desactivación del canal. La relación incrementada de la desactivación del canal reduce la contribución de la corriente de hERG a la repolarización cardiaca, resultando en una elongación de los potenciales de acción ventriculares y predisponiendo a los individuos afectados a desarrollar arritmias potencialmente fatales (Chen J et al, 1999).

Revisando los resultados de esta tesis con respecto a la mutación R56Q y los efectos de la aplicación del dofetilide se puede mostrar que la APD de todos los tipos de células es mayor que las células WT, pero los incrementos de la prolongación de la APD son menores que en las células WT.

Se pudo observar el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide y con la aplicación de 10 nM de dofetilide en la célula endocárdica; se produjeron EADs con 30 y 100 nM en la célula endocárdica. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la célula midmiocárdica en todas las concentraciones de dofetilide. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del potencial de acción en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización con todas las concentraciones de dofetilide.

En una investigación, reportada por el grupo de Berecki G, en donde se implementó un modelo de la mutación R56Q en el modelo celular ventricular humano de Priebe-Beuckelmann (Berecki G et al, 2005), la mayor consecuencia de la mutación R56Q en las características de células, epicárdicas, midmiocárdicas y endocárdicas fue la prolongación en el potencial de acción. Los cambios más notables fueron detectados en la fase 3 de repolarización, con una reducción neta en la corriente I_{hERG} . Así mismo, en esta investigación se implementó el modelo de la mutación R56Q en un modelo experimental de cardiomiocito ventricular de conejo para evaluar las acciones del fármaco E-4031 a una frecuencia de estimulación de 1Hz. Las corrientes I_{K1}/I_{hERG} elicadas fueron marcadamente reducidas con la

presencia del fármaco, resultando en una repolarización prolongada y en EADs (Berecki G et al, 2005).

5.4.3 Efectos sobre células de la mutación A561V

Cada subunidad del canal hERG contiene seis dominios transmembrana (S1-S6) flanqueados por regiones terminales amino N y carboxilo C, con una región del poro que se extiende desde S5 a S6. Existen dos mecanismos moleculares propuestos para explicar la reducción de la corriente I_{K_r}/I_{hERG} en las mutaciones (Roden DM y Balsler JR, 1999; January CT et al, 2000), 1. Anormalidades en el coensamble o tráfico, en las cuáles las subunidades mutantes no coensamblan con subunidades normales o no son transportadas a la membrana celular (en ambos casos, el efecto neto puede resultar en una reducción del 50% en el número de canales funcionales, conocida como insuficiencia halotipo y la 2. Formación de canales defectuosos que incluyen subunidades mutantes, con la proteína del canal alterada transportada a la membrana celular (el canal disfuncional puede resultar en una reducción de más del 50% de la función del canal, el llamado efecto dominante negativo).

La mutación A561V interactúa con las subunidades de células WT y esta interacción causa una reducción en la cantidad total de canales hERG disponibles, produciendo una corriente de hERG reducida (Kagan A et al, 2000). La mutación sustitutiva A561V en el dominio del segmento transmembrana S5 de los canales de potasio de hERG acelera la activación y la inactivación del canal.

La mutación fue simulada modificando el término de la relación de transición entre $C1 \rightarrow O$ y $C1 \rightarrow I$ de (v-36) a (v-16) y reduciendo la conductancia máxima G_{K_r} en un porcentaje de 83% (Itoh H et al, 2009). Estas relaciones de activación e inactivación incrementadas resultan en un cambio hacia la izquierda en la dependencia de voltaje de la activación y rectificación.

Un estudio, reportado por el grupo de Kagan A (Kagan A et al, 2000), investigó el mecanismo de inhibición dominante negativo de I_{K_r}/I_{hERG} por la mutación A561V en el síndrome de QT largo tipo 2 del gen hERG. Se reportó que la mutación A561V interactúa con los canales WT de hERG y esta interacción causa una reducción en la cantidad total de la proteína del canal hERG. Esta reducción en la expresión de la proteína es comparable a la supresión de la corriente causada por la coexpresión con la mutación. El grado con el cual la mutación A561V reduce la corriente I_{hERG} de las células WT se aproxima a lo que se podría predecir en una asociación al azar entre subunidades formando tetrámeros, en donde cualquier cantidad de la proteína mutante reduce completamente la función del canal. Se mostró que la reducción dependiente de la mutación en la corriente es paralela a la correspondiente disminución de la abundancia de células WT en hERG. Esta mutación produce una supresión dominante negativa del canal, que explicaría la naturaleza autosómica dominante del síndrome de QT largo tipo 2.

La temperatura y el sistema de expresión heterólogo son factores importantes cuando se analizan las características de hERG, el estudio de Kagan A et al, se desarrolló a 37° C y con líneas celulares de mamífero HEK293 (Kagan A et al, 2000), mostrando un grado mucho mayor del efecto de supresión dominante de la mutación A561V que el que había reportado el grupo de Sanguinetti MC et al, en donde el estudio se desarrolló con un sistema heterólogo de *Xenopus oocytes*, cuya expresión toma lugar típicamente a una temperatura de 18-22°C (Sanguinetti MC et al, 1996).

En una investigación desarrollada por Bellocq C et al, reportó una reducción del 70% de I_{hERG} causada por la mutación A561V, que produjo una elongación del potencial de acción (Bellocq C et al, 2004). Además de la reducción en la amplitud de la corriente, la mutación modificó la dependencia de voltaje de la activación y produjo un cambio hacia potenciales más negativos. En este estudio se ha propuesto que la mutación A561V produce los efectos dominantes negativos a causa de la reducción en la síntesis y el incremento en la degradación de canales WT más que a través de la retención del retículo endoplásmico (Kagan A et al, 2000).

Mutaciones de aminoácidos frente al sensor de voltaje S1-S4 de hERG pueden desbalancear la interacciones de las subunidades y el acoplamiento de la función del sensor de voltaje a la apertura del canal. Además, la modificación a la estructura del dominio S5 puede también alterar la estabilidad del poro del canal. A causa que el asa S4-S5 de hERG participa en la dependencia de voltaje y en la cinética de activación y desactivación del canal, se puede sugerir que las mutaciones en la hélice S5, como es el caso de la mutación A561V, pueden ser el origen de los cambios en los canales heteroméricos por simples cambios alostéricos con repercusiones en la función de S4-S5 (Bellocq C et al, 2004).

Con respecto a los resultados obtenidos en esta tesis en la mutación A561V y los efectos causados por el dofetilide se puede indicar que la APD de todos los tipos de células son mayores que en las células WT y de la mutación R56Q, pero los incrementos de la prolongación de la APD son menores que en las células WT y en la mutación R56Q.

Es claro que el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD_{90} en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD_{90} en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos, excepto en las células midmiocárdicas que produjeron EADs con las concentraciones de 30 y 100 nM. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide; se produjeron EADs con 10, 30 y 100 nM en la célula endocárdica. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin

repolarización en la célula midmiocárdica en todas las concentraciones de dofetilide. Para los modelos de preadolescentes, en ambos casos se produjo prolongación del PA en todos los tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización con todas las concentraciones de dofetilide.

En esta mutación se puede ver que aunque se tienen menores incrementos de prolongación de la APD que en las células WT o de la mutación R56Q, las dispersiones de repolarización son mayores.

En 1995, Curran ME et al, identificaron por primera vez esta mutación A561V, en donde se substituye una alanina por una valina, analizando y haciendo un registro fenotípico de 5 familias cuyos miembros habían desarrollado las características del síndrome de QT largo, incluyendo: la prolongación del intervalo QT, la historia clínica de síncope cardíacos, paradas cardiorrespiratorias recuperadas o muerte súbita (Curran ME et al, 1995).

Se ha dado por hecho, que cada paciente afectado por SQTl tenga un intervalo QT prolongado, esto implica que la penetrancia sea del 100% o cercana a ello. La penetrancia representa la probabilidad para un individuo con un afectado genotipo a manifestar los signos clínicos de una enfermedad y esto tiene importantes implicaciones en el manejo clínico del paciente y sus familiares (Priori SG et al, 1999).

La penetrancia de una mutación puede ser bastante variable dependiendo de la familia, pero también entre los portadores del gen en la misma familia, como fue reportado para la mutación A561V por Priori SG et al (Priori SG et al, 1999). En donde se identificó a familias con casos esporádicos de SQTl, es decir, familias en las cuáles, al lado del probando, ninguno de los demás miembros de la familia presentaban signos clínicos de la enfermedad. Este estudio demostró que en algunas familias, el síndrome de QT largo puede aparecer con una baja penetrancia. En el caso de la mutación A561V se tuvo una familia con una penetrancia del 25% (Priori SG et al, 1999). Mientras que en otro estudio con esta misma mutación (Napolitano C et al, 1997) se reportó una familia con una penetrancia del 100%.

5.4.4 Efectos sobre células de la mutación G604S

La mutación G604S exhibe una supresión dominante negativa de corriente, resultando en una disminución de la densidad de corriente y unas propiedades alteradas de la cinética del canal hERG, así como una interferencia en el tráfico de la proteína de hERG (Huo J et al, 2008). La mutación sustitutiva G604 en el dominio entre el segmento transmembrana S5 y el poro de los canales de potasio de hERG acelera la inactivación y la recuperación de la inactivación del canal.

La mutación fue simulada modificando el término de la relación de transición entre $I \rightarrow O$ de $(v+25)$ a $(v+35)$ y reduciendo la conductancia máxima G_{Kr} en un porcentaje de 70.4% (Itoh H et al, 2009). Estas relaciones incrementadas de inactivación y recuperación de la inactivación resultan en un cambio hacia la izquierda en la dependencia de voltaje de la inactivación y recuperación de la inactivación.

Una investigación del grupo de Huo J reportó que la coexpresión de la mutación G604S y las células WT de hERG redujeron la máxima densidad de corriente en un 75.9% y la máxima densidad de corriente de cola en un 70.2% comparado con la expresión de células WT solas, sugiriendo que la mutación G604S suprime la función de los canales de células WT en una forma dominante negativa compatible con el fenotipo clínico del SQT tipo 2 (Huo J et al, 2008). Además, este estudio mostró que la mutación G604S modifica las propiedades cinéticas de los canales WT-hERG. Estudios previos han demostrado la importancia de la región S5/poro en las propiedades cinéticas del canal hERG, particularmente en la rápida inactivación del tipo C (Dun J et al, 1999; Vandenberg JI et al, 2004). La hélice α de S5P fundamental para una inactivación normal y las mutaciones en esta hélice tienen un marcado efecto en la dependencia de voltaje de la inactivación (Clarke C et al, 2006). El estudio de Huo J et al demostró un papel principal de la región S5/poro en la inactivación de los canales de hERG (Huo J et al, 2008).

Las células coexpresadas de WT-hERG con las de la mutación G604S no mostraron cambios en la activación o desactivación comparadas con células WT expresadas solas. En cambio, las células coexpresadas de WT-hERG con las de la mutación G604S mostraron una dependencia de voltaje que produjo un cambio a potenciales más negativos, un proceso de inactivación más rápido y una más rápida recuperación de la inactivación comparadas con células WT-hERG (Vandenberg JI et al, 2004).

Los resultados del estudio de Huo J et al demostraron que la mutación G604S en hERG causa una deficiencia en el tráfico de los canales WT. La deficiencia en el tráfico ha estado implicada en previos estudios de la disfunción del canal hERG (Zhou Z et al, 1999). Diversas mutaciones como N470D, A561V, y R1014X localizadas en las regiones del terminal N, S5 o en el poro han mostrado causar defectos en el tráfico resultando en grandes reducciones en la corriente y un marcado decremento en la expresión de la superficie celular en los canales hERG (Gong Q et al, 2004a; Ficker E et al, 2000; Gong Q et al, 2004b). También, en un estudio realizado por el grupo de Anderson CL (Anderson CL et al, 2006) se sugirió que las mutaciones del canal hERG que presentan un deficiente tráfico en su proteína representan el mecanismo dominante para la disfunción del canal hERG. Por tanto, los estudios realizados en la mutación G604S demuestran el importante papel del tráfico deficiente en el síndrome de QT largo tipo 2.

Con respecto a los resultados presentados en esta tesis doctoral. En comparación a la mutación A561V, aunque las APD₉₀ fueron similares en las células epicárdicas de los 4 modelos, en los adultos machos de la mutación A561V fueron mayores los incrementos de prolongación de la APD que los de la mutación G604S; en tanto que en los adultos hembras, los incrementos de prolongación de la APD son iguales para 10 y 30 nM de dofetilide, pero para 100 nM el porcentaje de prolongación es mayor en la mutación G604S.

Como en los casos anteriores de mutaciones y de las células WT, se observó el incremento de la dispersión de repolarización con la aplicación de las diversas concentraciones del dofetilide en todos los modelos. Se presenta un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células dependiente de la concentración del dofetilide y este aumento es mayor en las células midmiocárdicas y menor en las células epicárdicas en cada uno de los cuatro modelos.

En el modelo de adulto macho se tuvo un aumento de la APD₉₀ en todos los tipos de células, teniendo como resultado la prolongación del potencial de acción en todos los casos, excepto en las células midmiocárdicas que produjo EAD con la concentración de 100 nM. Mientras que en el modelo de adulto hembra, se presentó la prolongación del potencial de acción en la célula epicárdica con todas las concentraciones de dofetilide; se produjeron EADs con 10, 30 y 100 nM en la célula endocárdica. En tanto, se presentaron EADs drásticamente prolongadas sin repolarización en la célula midmiocárdica en todas las concentraciones de dofetilide.

Para los modelos de preadolescentes, en el caso del modelo del preadolescente macho se produjo una EAD en la célula endocardial con la aplicación de 100 nM mientras que en ambos modelos se producían prolongación del PA en todos los demás tipos de células, excepto en la célula midmiocárdica que produjo EADs drásticamente prolongadas sin repolarización con todas las concentraciones de dofetilide.

En un análisis mutacional reportado por el grupo de Jongbloed RJE, se encontró la mutación G604S, por primera vez, en un estudio de familias holandesas (Jongbloed RJE et al, 1999). La patogénesis de las mutaciones fue establecida por análisis genéticos y estudios de genotipo-fenotipo se realizaron para analizar el impacto de las mutaciones identificadas.

En un estudio realizado por el grupo de Zhang Y et al en China (Zhang Y et al, 2006) se describió el pedigree genotipo-fenotipo de una familia china de 36 miembros, de los cuáles a 10 miembros se les identificó la mutación G604S, localizada en la región S5/poro del canal hERG. Estos 10 portadores de la mutación del gen, 6 varones y 4 mujeres, presentaron una prolongación del intervalo QT corregido (QTc= 492±12 ms) y siete de ellos, 4 varones y 3 mujeres, habían tenido múltiples episodios de síncope cardiaco, los 4 hombres tuvieron su primer síncope a las edades de 10, 12, 14 y 15 años; mientras que las mujeres lo tuvieron a los 15, 16 y 20 años. Un análisis retrospectivo de registros de ECG documentados reveló que un miembro más de la familia, quién había muerto repentinamente, había tenido un

intervalo de QT prolongado. Este estudio fue el primero en demostrar la cercana correlación entre el fenotipo clínico y el genotipo con una alta penetrancia basado en el pedigree de una familia china con el síndrome de QT largo tipo 2.

La región del poro del canal hERG se ha definido como el área que se extiende desde el dominio S5 hasta la porción media del dominio S6, un área que integra a la cadena de residuos de aminoácidos del 550 al 650. En un estudio clínico realizado por el grupo de Moss AJ et al (Moss AJ et al, 2002) se reportó que los pacientes del síndrome de QT largo tipo 2 con mutaciones en la región del poro del gen hERG tienen un considerable mayor riesgo de desarrollar arritmias relacionadas a eventos cardiacos que los pacientes con mutaciones en regiones diferentes al poro. Estos datos de un número mayor de eventos cardiacos en pacientes con mutaciones en el poro son consistentes con las informaciones de efectos electrofisiológicos reportados en las mutaciones del canal hERG, en donde las mutaciones en la región del poro tienen un mayor efecto dominante negativo en la corriente I_{Kr}/I_{hERG} que las mutaciones no localizadas en el poro (Roden DM y Balser JR, 1999; January CT et al, 2000). En este estudio de Moss AJ et al se reportaron 6 individuos portadores de la mutación A561V y 2 individuos portadores de la mutación G604S.

5.4.5 Efectos del bloqueo de I_{Kr}/I_{hERG} por mutaciones y fármacos

Haciendo una revisión comparativa en los resultados de los modelos desarrollados en esta tesis doctoral de las 3 mutaciones en el canal hERG (R56Q, A561V, G604S). Se puede observar que la mutación R56Q se localiza en el dominio Per-Arnt-Sim (PAS) en la región terminal N del canal hERG, mientras que las otras dos mutaciones (A561V y G604S) se encuentran en la región del poro del canal que incluye la cadena de residuos de aminoácidos del 550 al 650.

Por los efectos electrofisiológicos presentados en las tres mutaciones con respecto a prolongación de la APD, aparición de EADs y DOR se concluye que las células de las mutaciones R56Q, A561V y G604S tienen una condición proarrítmica con respecto a las células WT.

Tomando en cuenta los reportes electrofisiológicos y los estudios clínicos de las 3 mutaciones y las células WT del canal hERG en la literatura, los cuáles concuerdan con los resultados de esta tesis, se puede indicar que la mutación que presenta un mayor riesgo de desarrollar eventos cardiacos más peligrosos para la salud sería $G604S > A561V > R56Q > WT$.

Lo anterior concuerda con los estudio clínicos realizados por los grupos de Moss AJ et al y Shimizu W et al (Moss AJ et al, 2002; Shimizu W et al, 2009) que reportaron que los pacientes del síndrome de QT largo tipo 2 con mutaciones en la región del poro del gen hERG tienen un considerable mayor riesgo de desarrollar

arritmias relacionadas a eventos cardiacos que los pacientes con mutaciones en regiones diferentes al poro.

Revisando los resultados de las diferencias relacionadas al sexo y la edad con respecto a las mutaciones en el canal hERG (SQTL congénito) y el producido por la prolongación de la APD, EADs y DOR debido a la aplicación del dofetilide (SQTL adquirido o inducido por fármacos) se puede indicar que la prevalencia de las hembras adultas a desarrollar el síndrome de QT largo, tanto congénito como inducido por fármacos, es muy notoria con respecto a los machos adultos.

La alta incidencia de eventos arrítmicos en mujeres, especialmente la taquicardia ventricular en Torsade de Pointes, se ha descrito en relación con los síndromes del QT largo, tanto congénito como adquirido (Moss AJ et al, 1991; Ebert SN et al, 1998; Locati EH et al, 1998; Lehmann MH et al, 1997; Rashba EJ et al, 1998; Zareba W et al, 2003; Schwartz PJ et al, 2006, Goldenberg I y Moss AJ, 2008). Los resultados del Registro Internacional del síndrome del QT largo congénito y de los estudios con fármacos antiarrítmicos en la producción de efectos proarritmogénicos han proporcionado una cierta información sobre los posibles mecanismos. En el registro del síndrome QT largo congénito, el 58% de los miembros afectados eran mujeres (Locati EH et al, 1998). Asimismo, las mujeres con síndrome de QT largo congénito tienen un riesgo aumentado de acontecimientos cardiacos durante el período del posparto (Moss AJ et al, 1991; Lehmann MH et al, 1997; Rashba EJ et al, 1998).

En el estudio realizado por el grupo de Makkar RR et al (Makkar RR et al, 1993), tras revisar los casos de 332 pacientes que tuvieron Torsade de Pointes inducidos por fármacos, encontraron que el 70% eran mujeres; este predominio fue independiente de la función ventricular izquierda, las alteraciones electrolíticas y el intervalo QT basal.

El estudio SWORD (Pratt CM et al, 1998) con sotalol finalizó precozmente debido a la mortalidad creciente con el fármaco respecto al placebo. Se demostró un aumento de 4,7 veces en el riesgo de proarritmia y muerte súbita en mujeres, dato que fue corroborado en varios estudios posteriores también con el uso de sotalol en diversas poblaciones de pacientes (Lehmann MH et al, 1997).

El estudio realizado por el grupo de Woosley et al (Woosley RL et al, 1993) de la arritmia Torsade de Pointes con el fármaco terfenadine tuvo una proporción de mujeres y hombres de 60/40. Otro estudio realizado por Drici et al de la arritmia TdP con el fármaco erythromycin reportó una proporción mujer/varón de 70/30 (Drici MD et al, 1998). Mientras que un estudio llevado a cabo por el grupo de Renoehl et al, de la arritmia TdP con el fármaco probucol, indicó una proporción de mujer/hombre de 94/6 (Renoehl J et al, 1996).

Con respecto a los resultados en preadolescentes, éstos muestran efectos muy similares en la prolongación de la APD, EADs y DOR entre machos y hembras, aunque con una cierta prevalencia en los preadolescentes machos principalmente en

algunos de los efectos electrofisiológicos reportados en mutaciones y con la reserva de repolarización reducida, haciendo reversible la diferencia relacionada al sexo con respecto a los adultos.

Los resultados del Registro Internacional del síndrome del QT largo congénito mostraron que los varones eran más propensos a experimentar síncope y muerte súbita de etiología desconocida hasta la pubertad; después de esta edad, la predisposición fue mayor en las mujeres (Locati EH et al, 1998). Además, el estudio de Locati EH et al reportó que el género masculino está independientemente asociado con un significativo 85% y un 72% de incremento entre probandos y miembros de familia afectados respectivamente, en el riesgo de eventos cardíacos, incluyendo síncope, parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita antes de la edad de 15 años. Mientras que el riesgo se hace reversible en género después de los 14 años, ya que mostró un 87% de incremento en el riesgo de eventos cardíacos en las mujeres comparados con varones entre probandos y 3.3 veces más incremento en el riesgo entre miembros de familia afectados.

El estudio de Zareba et al (Zareba W et al, 2003) reportó que durante la niñez, los varones con síndrome de QT largo tipo 1, exhiben un incremento del 71% en el riesgo de primer evento cardíaco comparados con las correspondientes niñas, mientras que las diferencias relacionadas al sexo no fueron significativas entre los portadores de genes de los síndromes de QT largo tipo 2 y 3 durante el mismo periodo de tiempo.

Consistente con los resultados del estudio de Locati et al (Locati EH et al, 1998), este estudio mostró un riesgo de género reversible después de la edad de 16 años, en el cuál, el riesgo de eventos cardíacos fue más de 3 veces entre mujeres portadoras del síndrome de QT largo tipo 1 y 2 comparadas con los portadores hombres del mismo síndrome.

Estudios más recientes del Registro Internacional de SQT, en los cuáles factores de riesgo para eventos cardíacos potencialmente fatales (parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita) fueron investigados (Hobbs JB et al, 2006; Sauer AJ et al, 2007; Goldenberg I et al, 2008) y mostraron que la reversibilidad del riesgo de género dependiente de la edad puede ser más severo y a una edad mayor. En un estudio de 3.105 niños portadores del síndrome de QT largo, la probabilidad acumulativa del primer evento cardíaco potencialmente fatal entre las edades de 1 a 12 años fue de 5% en niños comparado con solo el 1% en niñas (Goldenberg I et al, 2008). Mientras que la investigación del grupo de Hobbs JB (Hobbs JB et al, 2006), reportó que el riesgo del primer evento cardíaco potencialmente fatal entre las edades de 12 a 20 años no fue significativa en la diferencia relacionada al sexo. La reversibilidad del riesgo a la diferencia relacionada al género con respecto a parada cardiorespiratoria recuperada y muerte súbita ocurrió después de los 20 años. En tanto que el estudio del grupo de Sauer AJ (Sauer AJ et al, 2007), reportó que durante la adultez, en un análisis de 812 pacientes con mutaciones confirmadas del SQT, las

mujeres tenían un incremento 3 veces mayor en el riesgo de parada cardiorrespiratoria recuperada y muerte súbita comparadas con los hombres.

El riesgo asociado con el género femenino en el periodo de la postadolescencia puede estar relacionado a factores hormonales. Los andrógenos han mostrado ampliar la prolongación del intervalo QT en respuesta al fármaco quinidina (Drici MD et al, 1996) y también puede estar asociado al acortamiento del intervalo QT en los hombres después de la niñez. En contraste, los estrógenos han mostrado modificar la expresión de los canales de potasio y pueden tener un efecto bloqueador en I_{Ks} dependiente de la concentración o dosis (Boyle M et al, 1987). La posible relación entre las hormonas femeninas y el riesgo proarrítmico es respaldado por un estudio reciente del Registro Internacional de SQT (Seth R et al, 2007), en el cuál muestra un significativo incremento en el riesgo de eventos cardíacos en el periodo postparto, principalmente entre mujeres que fueron identificadas de ser portadoras del genotipo del síndrome de QT largo tipo 2, debido al canal hERG.

Gran variedad de fármacos utilizados en diversas especialidades médicas pueden ocasionar el alargamiento del intervalo QT. Incluso, algunos medicamentos han sido retirados del mercado por este efecto colateral (Roden DM, 2004; Viskin S et al, 2003). Las arritmias ventriculares secundarias a fármacos antiarrítmicos se presentan en menos de un caso por cada 3.000-5.000 expuestos, mientras que a fármacos no antiarrítmicos se presentan en menos de un caso por cada 10.000-100.000 expuestos. Considerando que los estudios clínicos incluyen entre 2.000 y 3.000 sujetos, es fácil que este indeseable y fatal efecto secundario escape a la detección como un efecto adverso en la fase clínica del desarrollo de fármacos (Fitzgerald PT y Ackermann MJ, 2005).

Este punto ha generado enorme interés en lo que se refiere a aspectos de seguridad en el estudio y la generación de nuevos fármacos. Los factores relacionados con la susceptibilidad individual son: sexo femenino, hipocalcemia, hipomagnesemia, bradicardia, insuficiencia cardíaca congestiva, poscardioversión, fibrilación auricular, hipertrofia ventricular izquierda, SQT no detectado, polimorfismos predisponentes y altas concentraciones séricas de los fármacos predisponentes (Roden M, 2006).

El canal que por excelencia interacciona con fármacos es el I_{Kr} , codificado por el gen *KCNH2* (hERG). Esto se debe a la estructura molecular de este canal, mientras que otros canales de potasio tienen 2 residuos prolina que se inclinan en forma angulada hacia el poro del canal disminuyendo su lumen. I_{Kr} carece de ellos, lo que genera un vestíbulo del poro más amplio y facilita su exposición a grandes moléculas. Por el contrario, tiene dos residuos aromáticos (tirosina y fenilalanina) que facilitan enlaces con moléculas aromáticas presentes en diversos fármacos capaces de bloquear el canal hERG (Abriel H et al, 2004).

El SQT tiene penetrancia incompleta y hay portadores asintomáticos de

mutaciones que pueden manifestar arritmias malignas al recibir alguno de estos fármacos. Por otro lado, polimorfismos considerados frecuentes en la población confieren susceptibilidad individual a desarrollar Torsade de Pointes con el uso de fármacos, como sucede con el polimorfismo R1047L, el segundo observado con más frecuencia en hERG y que se ha asociado con Torsade de Pointes con el uso del fármaco dofetilide (Sun Z et al, 2004). Se han descrito por lo menos 20 polimorfismos en sujetos sanos en el gen hERG y su efecto en la susceptibilidad individual a desarrollar arritmias malignas relacionadas con fármacos está por determinar (Ackermann MJ et al, 2003).

5.5 Limitaciones del estudio

Para desarrollar los modelos computacionales de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra se ha utilizado como base el modelo de Faber-Rudy 2000 para potenciales de acción ventriculares de cobaya, aunque modificando diversas corrientes iónicas del modelo que están basadas en datos experimentales de diferentes especies de mamíferos (ratón, cobaya, conejo, perro y humano). Lo anterior debido a que a la fecha no se cuenta con datos experimentales de las corrientes iónicas de una sola especie para llevar a cabo las modificaciones pertinentes para obtener los modelos que presenten las diferencias relacionadas a sexo y edad. Por tanto, al tener resultados simulados de una combinación de especies, no se ha podido contrastar estos resultados directamente con resultados experimentales de una especie específica. Sin embargo, en esta tesis se han comparado los resultados simulados a resultados experimentales y clínicos de diversas especies con respecto a efectos electrofisiológicos como la prolongación de la APD₉₀, la susceptibilidad a incidencias de EADs y DOR, así como a datos clínicos de duración de intervalo QT.

La utilización de sistemas heterólogos de líneas de células de mamíferos como el canal hERG ha permitido profundizar en el conocimiento de mecanismos subyacentes a nivel molecular, aunque también tiene sus desventajas. A pesar de que los estudios biofísicos en canales iónicos mutados están permitiendo una caracterización detallada de los mecanismos moleculares subyacentes a las canalopatías, el entendimiento integral de su fisiopatología requiere conocer el papel que los canales juegan en su contexto celular y sistémico. Debe hacerse notar aquí que en muchos casos las mutaciones asociadas a ciertas enfermedades han podido ser plenamente identificadas; sin embargo, los mecanismos por los cuales dichas mutaciones causan el fenotipo anormal no están tan claramente definidos. Pese a ello, el análisis genético exhaustivo en combinación con estudios funcionales detallados de los canales iónicos proveen una oportunidad singular para el entendimiento integral de las consecuencias que las alteraciones en estas proteínas podrían tener en la fisiopatología de algunas enfermedades hereditarias o adquiridas humanas y podría, asimismo, generar nuevas oportunidades para el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno de dichas alteraciones; es así que en esta tesis se ha investigado la interacción de mutaciones en diferentes localizaciones del canal hERG y los cambios inducidos por el fármaco

dofetilide, presentando resultados en la combinación de efectos causados por el SQTl congénito y el SQTl adquirido o inducido por fármacos.

En esta tesis se han presentado los resultados obtenidos a nivel celular y en una fibra unidimensional, estos resultados han permitido analizar los síndromes de QT largo, tanto el congénito, a través de mutaciones; como el inducido por fármacos, al investigar los efectos del dofetilide. Aunque estudios en 2D, 3D del corazón y el torso humano serán necesarios para tener un conocimiento integral de estas canalopatías.

CAPÍTULO

VI

CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS

CAPÍTULO VI.- CONCLUSIONES

En esta tesis doctoral se han formulado nuevos modelos computacionales que permiten simular las diferencias relacionadas al sexo y la edad en mamíferos. Los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra incluyen las características electrofisiológicas de tejidos epicárdico, midmiocárdico y endocárdico haciendo posible la simulación de la heterogeneidad transmural del ventrículo.

Se modelizaron los efectos del fármaco antiarrítmico dofetilide con la formulación Markov y se simuló la acción de este fármaco en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra, tanto en células de cardiomiocitos como células del canal hERG, incluidas tipo WT y de mutaciones en condiciones normales como en condiciones patológicas.

A continuación se resumen las principales conclusiones de este trabajo relacionándolas con los objetivos expuestos en el capítulo II.

1.- Desarrollar modelos matemáticos que representen tejido ventricular a nivel celular y fibra unidimensional para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra de mamífero.

Se han desarrollado doce modelos computacionales para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra tomando en cuenta la heterogeneidad de los tejidos epicárdico, midmiocárdico y endocárdico basados en datos experimentales de varias especies de mamíferos. Así mismo, se ha desarrollado el modelo de una fibra heterogénea unidimensional de tejido ventricular compuesta de 400 células (150 células de tejido endocárdico, 150 células de tejido midmiocárdico y 100 células de tejido epicárdico) para adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra, y se han modelizado y simulado sus respectivos pseudo-ECGs.

2.- Modelizar la acción del fármaco dofetilide en el canal del gen hERG.

Se elaboró el modelo matemático de la acción del fármaco dofetilide con la formulación de Markov, utilizando la hipótesis del receptor guardado y los resultados se ajustaron y contrastaron con resultados experimentales.

3.- Evaluar los efectos del fármaco dofetilide a nivel celular y fibra unidimensional en tejidos ventriculares de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra en condiciones normales y condiciones patológicas.

Los resultados simulados concuerdan con datos experimentales y clínicos. En condiciones normales, tanto en humanos como en diferentes especies (conejo, perro, cobaya y ratón), el adulto hembra tiene una APD mayor en todos los tejidos ventriculares que el adulto macho, contribuyendo a que tenga un intervalo QT más largo. En preadolescentes, la APD de la joven hembra es ligeramente mayor que la del joven macho, aunque sus intervalos QT son similares.

Con la aplicación del dofetilide, en los adultos, estas diferencias aumentan, haciendo que el adulto hembra tenga una mayor prolongación de la APD, una dispersión de repolarización incrementada, una mayor vulnerabilidad a la aparición de EADs, un intervalo QT más largo y por lo tanto, a una mayor propensión a arritmias del tipo TdP que el adulto macho. Mientras que en preadolescentes, el macho presenta una mayor prolongación de la APD, mayor incidencia de EADs, un intervalo QT más largo y es más vulnerable al bloqueo de I_{Kr} comparado a la preadolescente hembra, principalmente en determinadas concentraciones del fármaco dofetilide y en condiciones de reserva de repolarización reducida, mostrando que la diferencias relacionadas al sexo en el fenotipo del síndrome de QT largo es reversible que en los adultos, aunque en menor medida.

4.- Modelizar tres mutaciones del síndrome de QT largo del tipo 2 (hERG).

Se elaboraron los modelos matemáticos de 3 mutaciones en el canal hERG (R56Q, A561V, G604S). Por los efectos electrofisiológicos presentados en las tres mutaciones con respecto a prolongación de la APD, aparición de EADs y DOR se concluye que las células de las mutaciones R56Q, A561V y G604S tienen una condición proarrítmica con respecto a las células WT.

Tomando en cuenta los reportes electrofisiológicos y los estudios clínicos de las 3 mutaciones y las células WT del canal hERG en la literatura, los cuáles concuerdan con los resultados de esta tesis, se puede indicar que la mutación que presenta un mayor riesgo de desarrollar eventos cardíacos más peligrosos para la salud sería $G604S > A561V > R56Q > WT$.

5. Evaluar los efectos del fármaco dofetilide en células tipo silvestre WT y en células de las 3 mutaciones modelizadas del canal hERG en los modelos de adulto macho, adulto hembra, preadolescente macho y preadolescente hembra.

El modelo matemático del dofetilide con la formulación de Markov se incorporó a las células WT y a las células de las tres mutaciones del canal hERG en el modelo celular ventricular de Faber-Rudy. En base a los resultados en las diferencias relacionadas al sexo y la edad con respecto a las mutaciones en el canal hERG (SQTL congénito) y el producido por la prolongación de la APD, EADs y DOR debido a la aplicación del dofetilide (SQTL adquirido o inducido por fármacos) se puede indicar que la prevalencia de las hembras adultas a desarrollar el síndrome de QT largo, tanto congénito como inducido por fármacos, es muy notoria con respecto a

los machos adultos. Con respecto a los resultados en preadolescentes, éstos muestran efectos muy similares en la prolongación de la APD, EADs y DOR entre machos y hembras, aunque con una cierta prevalencia en los preadolescentes machos principalmente en algunos de los efectos electrofisiológicos reportados en mutaciones y con la aplicación de algunas concentraciones del fármaco dofetilide, haciendo reversible la diferencia relacionada al sexo con respecto a los adultos.

LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

Se puede concluir que tanto las mutaciones responsables del síndrome de QT largo tipo 2 congénito como los fármacos que producen el síndrome de QT largo adquirido actúan produciendo el mismo efecto final, la reducción de la corriente I_{Kr}/I_{hERG} generada durante la repolarización, que es una de las responsables de la elongación del intervalo QT en el ECG.

El hallazgo de que solo un número reducido de los individuos expuestos a fármacos que prolongan el intervalo QT presentan el riesgo de desarrollar un SQT largo adquirido sugiere la presencia de una predisposición genética como causa de esta respuesta anormal. Es pues posible, que otros factores distintos de los genéticos (hormonales, sexo femenino, desbalance del tono vegetativo) podrían producir variaciones en el fenómeno genético. Otra posible explicación, es que los canales no son disfuncionales, pero interactúan con los fármacos de forma diferente a cómo lo hacen los canales normales. El conocimiento de que un número creciente de fármacos de utilización clínica prolonga el intervalo QT y exponen al paciente a arritmias potencialmente fatales plantea cuatro retos a la investigación:

1).- Diseñar fármacos que presenten un mínimo riesgo de prolongar en forma peligrosa el intervalo QT del ECG o incrementen la dispersión transmural de repolarización cardíaca, lo que implica conocer la estructura, función y regulación de los canales que determinan la repolarización tanto en condiciones normales como patológicas. En particular, se debe conocer cómo diversas patologías (cardiopatía isquémica, hipertrofia ventricular izquierda, insuficiencia cardíaca) modifican la función de los canales iónicos y/o su regulación endógena produciendo una reserva de repolarización reducida. Para cumplir lo anterior, los modelos *in silico* serán de gran ayuda, pues son una herramienta poderosa para tener un conocimiento más profundo a nivel molecular, celular, de tejido, de órganos y sistémico de las funciones del cuerpo humano, así también estos modelos ayudan a conocer mejor las interacciones de los diversos fármacos con sus receptores farmacológicos respectivos.

2).- Mejorar la identificación de los individuos que tienen un alto riesgo de presentar una TdP cuando se exponen a situaciones que prolongan el intervalo QT (fármacos, cardiopatía isquémica, bradicardia, hipopotasemia, sexo femenino y en

menor medida el preadolescente varón) y poder correlacionar los diversos fenotipos clínicos (morfología del intervalo QT) con defectos genéticos específicos.

3).- Conocer las alteraciones genéticas de los canales iónicos abren la posibilidad de desarrollar terapéuticas específicas, es decir, tender a una medicina individualizada que en primer término, pueda separar a los grupos de pacientes por género, edad y condición genética.

4.- Desarrollar pruebas y equipos de diagnóstico genético sencillos, que permitan conocer a los individuos de mayor riesgo en los que el primer síntoma puede ser una muerte súbita o una susceptibilidad a padecer arritmias malignas. El desarrollo de estas pruebas y equipos requerirá el trabajo interdisciplinario de electrofisiólogos, médicos clínicos e ingenieros con una formación biomédica, electrónica y de instrumentación.

ANEXO

I

Anexo I. Modelo Faber - Rudy para el potencial de acción ventricular en miocitos de cobaya

Consideraciones geométricas

Dimensiones de la célula: Largo: $L=100 \mu\text{m}$ - Radio: $r=11 \mu\text{m}$

Volumen celular: $V_{\text{cell}}=\pi r^2 L=38 \cdot 10^{-5} \mu\text{L}$

Área geométrica de la membrana: $A_{\text{Geo}}=2\pi r^2+2\pi r L=0.767 \cdot 10^{-4} \text{cm}^2$

Área capacitiva de la membrana: $A_{\text{Cap}}=R_{\text{CG}} \cdot A_{\text{Geo}}=1.534 \cdot 10^{-4} \text{cm}^2$

Volumen del mioplasma: $V_{\text{myo}}=0.68 \cdot V_{\text{Cell}}=25.84 \cdot 10^{-6} \mu\text{L}$

Volumen mitocondrial: $V_{\text{mito}}=0.26 \cdot V_{\text{Cell}}=9.88 \cdot 10^{-6} \mu\text{L}$

Volumen del RS: $V_{\text{SR}}=0.06 \cdot V_{\text{Cell}}=2.28 \cdot 10^{-6} \mu\text{L}$

$V_{\text{NRS}}=0.0552 \cdot V_{\text{Cell}}=2.098 \cdot 10^{-6} \mu\text{L}$

$V_{\text{JSR}}=0.0048 \cdot V_{\text{Cell}}=0.182 \cdot 10^{-6} \mu\text{L}$

Volumen del espacio intersticial $V_{\text{cleft}}=(12\%/88\%) \cdot V_{\text{Cell}}=5.182 \cdot 10^{-6} \mu\text{L}$

Capacidad específica de la membrana celular: $C_m=1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$

2 Concentraciones iónicas normales

$[\text{K}^+]_o = 4.5 \text{ mmol/L}$

$[\text{K}^+]_i = 145 \text{ mmol/L}$

$[\text{Na}^+]_o = 140 \text{ mmol/L}$

$[\text{Na}^+]_i = 10 \text{ mmol/L}$

$[\text{Ca}^{2+}]_o = 1.8 \text{ mmol/L}$

$[\text{Ca}^{2+}]_i = 0.012 \mu\text{mol/L}$

3 Unidades

Magnitud	Unidades
Corrientes	$\mu\text{A}/\mu\text{F}$
Potenciales	mV
Concentraciones	mol/L
Volumenes	μL
Temperatura	$^{\circ}\text{K}$
Constante de Faraday (F)	C/mol
Constante de Boltzman (B)	J/(mol $^{\circ}\text{K}$)
Conductancias	mS/ μF
Tiempo	ms

Ecuación de cambio de las concentraciones:

$$\frac{d[s]_i}{dt} = -\frac{A_m}{V_{myo} \cdot Z_s \cdot F} \sum I_s$$

donde $[S]_i$ es la concentración del ión S, la I_s es la suma de la corrientes iónicas en la que participa dicho ión, F es la constante de Faraday.

4 Ecuaciones de las corrientes iónicas

- *Corriente de rápida de sodio (I_{Na})*

$$I_{Na} = \bar{G}_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot j \cdot (V - E_{Na})$$

donde \bar{G}_{Na} es la conductancia máxima de los canales de sodio y su valor es de 16 mS/cm² y E_{Na} es el potencial de equilibrio del sodio que viene dado por la ecuación:

$$E_{Na} = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \left(\frac{[Na]_o}{[Na]_i} \right)$$

siendo $[Na]_o = 140$ mmol/L y $[Na]_i = 10$ mmol/L

m, h y j son las compuertas del canal de sodio y su evolución temporal están determinadas por la ecuación:

$$dy/dt = (y_\infty - y)/\tau_y;$$

$$\tau_y = 1/(\alpha_y + \beta_y)$$

$$y_\infty = \alpha_y / (\alpha_y + \beta_y)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m \cdot (1 - m) - \beta_m \cdot m$$

$$\alpha_m = \frac{0.32 \cdot (V + 47.13)}{1 - e^{-0.1 \cdot (V + 47.13)}}$$

$$\beta_m = 0.08 \cdot e^{\frac{-V}{11}}$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h \cdot (1 - h) - \beta_h \cdot h$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Para } V \geq -40mV \Rightarrow \begin{cases} \alpha_h = 0 \\ \beta_h = \frac{1}{\frac{V+10.66}{0.13(1+e^{-11.11})}} \end{cases} \\ \text{Para } V < -40mV \Rightarrow \begin{cases} \alpha_h = 0.135 \cdot e^{\frac{(80+V)}{-6.8}} \\ \beta_h = 3.56 \cdot e^{0.079V} + 3.1 \cdot 10^5 \cdot e^{0.35V} \end{cases} \end{array} \right.$$

$$\frac{dj}{dt} = \alpha_j \cdot (1 - j) - \beta_j \cdot j$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Para } V \geq -40mV \Rightarrow \begin{cases} \alpha_j = 0 \\ \beta_j = \frac{0.3 \cdot e^{(-2535 \cdot 10^{-7} \cdot V)}}{1 + e^{-0.1 \cdot (V + 32)}} \end{cases} \\ \text{Para } V < -40mV \Rightarrow \begin{cases} \alpha_j = \frac{(1.2714 \cdot 10^5 \cdot e^{0.2444V} - 3.474 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.04391V})(V + 37.78)}{1 + e^{0.311 \cdot (V + 79.23)}} \\ \beta_j = \frac{0.1212 \cdot e^{(-0.01052 \cdot V)}}{1 + e^{-0.1378 \cdot (V + 40.14)}} \end{cases} \end{array} \right.$$

- *Corriente de calcio a través de los canales tipo L (I_{CaL})*

$$I_{Ca(L)} = I_{Ca} + I_{Ca,K} + I_{Ca,Na}$$

$$I_{Ca} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot \bar{I}_{Ca}$$

$$I_{Ca,K} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot \bar{I}_{Ca,K}$$

$$I_{Ca,Na} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot \bar{I}_{Ca,Na}$$

donde I_{Ca} , $I_{Ca,K}$ y $I_{Ca,Na}$ están definidas por las siguientes ecuaciones:

$$\bar{I}_{Ca} = P_{Ca} \cdot Z_{Ca}^2 \cdot \frac{V \cdot F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[\gamma_{Ca}]_i \cdot [Ca]_i \cdot e^{\left(\frac{Z_{Ca} \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right)} - [\gamma_{Ca}]_o \cdot [Ca]_o}{e^{\left(\frac{Z_{Ca} \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right)} - 1}$$

$$P_{Ca} = 5.4 \times 10^{-4} \text{ cm/s} \quad [\gamma_{Ca}]_i = 1 \quad [Ca]_i = 0.12 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

$$Z_{Ca} = 2 \quad [[\gamma_{Ca}]_o = 0.341 \quad [Ca]_o = 1.8 \text{ mmol/L}$$

$$\bar{I}_{Ca,Na} = P_{Na} \cdot Z_{Na}^2 \cdot \frac{V \cdot F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[\gamma_{Na}]_i \cdot [Na]_i \cdot e^{\left(\frac{Z_{Na} \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right)} - [\gamma_{Na}]_o \cdot [Na]_o}{e^{\left(\frac{Z_{Na} \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right)} - 1}$$

$$P_{Na} = 6.75 \times 10^{-7} \text{ cm/s} \quad [\gamma_{Na}]_i = 0.75 \quad [Na]_i = 10 \text{ mmol/L}$$

$$Z_{Na} = 1 \quad [[\gamma_{Na}]_o = 0.75 \quad [Na]_o = 140 \text{ mmol/L}$$

$$\bar{I}_{Ca,K} = P_K \cdot Z_K^2 \cdot \frac{V \cdot F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[\gamma_K]_i \cdot [K]_i \cdot e^{\left(\frac{Z_K \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right)} - [\gamma_K]_o \cdot [K]_o}{e^{\left(\frac{Z_K \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right)} - 1}$$

$$P_K = 1.93 \times 10^{-7} \text{ cm/s} \quad [\gamma_K]_i = 0.75 \quad [K]_i = 145 \text{ mmol/L}$$

$$Z_K = 1 \quad [[\gamma_K]_o = 0.75 \quad [K]_o = 5.4 \text{ mmol/L}$$

$$\frac{dd}{dt} = \alpha_d \cdot (1 - d) - \beta_d \cdot d$$

$$d_{\infty} = \frac{1}{\frac{-(V+10)}{1+e^{\frac{6.24}{-(V+10)}}}} \quad \tau_d = d_{\infty} \cdot \frac{1-e^{\frac{6.24}{-(V+10)}}}{0.035 \cdot (V+10)}$$

$$\alpha_d = \frac{d_{\infty}}{\tau_d} \quad \beta_d = \frac{1-d_{\infty}}{\tau_d}$$

$$\frac{df}{dt} = \alpha_f \cdot (1-f) - \beta_f \cdot f$$

$$f_{\infty} = \frac{1}{1+e^{\frac{(V+32)}{8}}} + \frac{0.6}{1+e^{\frac{(50-V)}{20}}} \quad \tau_f = \frac{1}{0.0197 \cdot e^{-[0.0337 \cdot (V+10)^2]} - 0.02}$$

$$\alpha_f = \frac{f_{\infty}}{\tau_f} \quad \beta_f = \frac{1-f_{\infty}}{\tau_f}$$

$$f_{Ca} = \frac{1}{1 + \frac{[Ca]_i}{K_{m,Ca}}}$$

$$K_{m,Ca} = 0.6 \mu\text{mol/L}$$

- *Corriente de calcio a través de los canales tipo T ($I_{Ca(T)}$)*

$$I_{Ca(T)} = \bar{G}_{Ca(T)} \cdot b^2 \cdot g \cdot (V - E_{Ca})$$

$\bar{G}_{Ca(T)}$ es la conductancia máxima y su valor es 0.05 mS/ μ F

E_{Ca} es el potencial de equilibrio del calcio y viene determinado por la ecuación:

$$E_{Ca} = \frac{R \cdot T}{2F} \cdot \ln\left(\frac{[Ca]_o}{[Ca]_i}\right)$$

b y g son las compuertas de activación e inactivación respectivamente, que se definen del siguiente modo:

$$\frac{db}{dt} = \frac{b_{\infty} - b}{\tau_b}$$

$$b_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left[\frac{-(V+14)}{10.8}\right]}} \quad \tau_b = 3.7 + \frac{6.1}{1 + e^{\frac{(V+25)}{4.5}}}$$

$$\frac{dg}{dt} = \frac{g_{\infty} - g}{\tau_g}$$

$$g_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left[\frac{(V+60)}{5.6} \right]}} \quad \tau_g = \begin{cases} -0.875 \cdot V + 12 & \text{para } V \leq 0.0mV \\ 12 & \text{para } V > 0.0mV \end{cases}$$

- *Comparte rápida de la corriente rectificadora tardía de potasio (I_{Kr}) y componente lenta de la corriente rectificadora de potasio (I_{Ks})*

$$I_{Kr} = \bar{G}_{Kr} \cdot X_r \cdot R \cdot (V - E_{Kr})$$

\bar{G}_{Kr} es la conductancia máxima y su valor se calcula

$$\bar{G}_{Kr} = 0.02614 \cdot \sqrt{\frac{[K]_o}{5.4}}$$

E_{Kr} es el potencial de equilibrio del potasio y viene determinado por la ecuación:

$$E_{kr} = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \left(\frac{[K]_o}{[K]_i} \right)$$

X_r y R son las compuertas de activación dependiente del tiempo y de inactivación independiente del tiempo respectivamente y están definidas de la siguiente forma:

$$X_{r\infty} = \frac{1}{1 + e^{-\left(\frac{(V+21.5)}{7.5} \right)}}$$

$$\tau_{r\infty} = \frac{1}{\left(\frac{0.00138(V+14.2)}{1 - e^{-0.123(V+14.2)}} + \frac{0.00061(V+38.9)}{e^{0.145(V+38.9)} - 1} \right)}$$

$$\frac{dX_r}{dt} = \frac{X_{r\infty} - X_r}{\tau_{r\infty}}$$

$$R = \frac{1}{1 + e^{\frac{(V+9)}{22.4}}}$$

$$I_{Ks} = \bar{G}_{Ks} \cdot X_{s1} \cdot X_{s2} \cdot (V - E_{Ks})$$

\bar{G}_{Ks} es la conductancia máxima y su valor se calcula a través de:

$$\bar{G}_{Ks} = 0.433 \cdot \left(1 + \frac{0.6}{1 + \left(\frac{3.8e - 5}{[Ca]_i} \right)^{1.4}} \right)$$

E_{Ks} es el potencial de equilibrio del potasio y viene determinado por la ecuación:

$$E_{ks} = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \left(\frac{[K]_o + P_{Na,K} \cdot [Na]_o}{[K]_i + P_{Na,K} \cdot [Na]_i} \right)$$

X_{s1} y X_{s2} son las compuertas del canal y se definen así:

$$\frac{dX_{s1}}{dt} = \frac{X_{s\infty} - X_{s1}}{\tau_{xs1}}$$

$$\frac{dX_{s2}}{dt} = \frac{X_{s\infty} - X_{s2}}{\tau_{xs2}}$$

$$X_{s\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left(\frac{-(V-1.5)}{16.7}\right)}} \quad \tau_{xs1} = \frac{1}{\left(\frac{7.19 \cdot 10^{-5}(V+30)}{1 - e^{-0.148(V+30)}} + \frac{1.31 \cdot 10^{-4}(V+30)}{e^{0.0687(V+30)} - 1}\right)} \quad \tau_{xs2} = 4 \cdot \tau_{xs1}$$

- *Corriente de potasio independiente del tiempo (I_{K1})*

$$I_{K1} = \bar{G}_{K1} \cdot K_{1\infty} (V - E_{K1})$$

\bar{G}_{K1} es la conductancia máxima y se calcula a través de $\bar{G}_{k1} = 0.75 \sqrt{\frac{[K]_o}{5.4}}$

y E_{K1} es el potencial de equilibrio y está dado por: $E_{K1} = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \left(\frac{[K]_o}{[K]_i} \right)$

y la compuerta K_{1s} es:

$$K_{1\infty} = \frac{\alpha_{k1}}{\alpha_{k1} + \beta_{k1}}$$

$$\alpha_{k1} = \frac{1.02}{1 + e^{0.2385 \cdot (V - E_{K1} - 59.215)}}$$

$$\beta_{k1} = \frac{0.49124 \cdot e^{0.08032 \cdot (V - E_{K1} + 5.476)} + e^{0.06175 \cdot (V - E_{K1} - 594.31)}}{1 + e^{-0.5143 \cdot (V - E_{K1} + 4.753)}}$$

- *Corriente de meseta de potasio (I_{Kp})*

$$I_{Kp} = \bar{G}_{Kp} \cdot K_p \cdot (V - E_{Kp})$$

\bar{G}_{Kp} es la conductancia máxima y se calcula a través de $\bar{G}_{Kp} = 0.0183 \text{ mS}/\mu\text{F}$, E_{K1} es el potencial de equilibrio y está dado por $E_{Kp} = E_{K1}$ y la compuerta es representada por la ecuación:

$$Kp = \frac{1}{1 + e^{\frac{7.488 - V}{5.98}}}$$

- *Corriente de potasio dependiente del sodio ($I_{K(Na)}$)*

$$I_{K(Na)} = \bar{g}_{K(Na)} \cdot P_{oNa_i} \cdot P_{oV} \cdot (V - E_k)$$

$\bar{g}_{K(Na)} = 0.12848 \text{ mS}/\mu\text{F}$ es la conductancia de membrana máxima de $I_{K(Na)}$

P_{oV} es la dependencia del potencial de membrana, que se formula como:

$$P_{oV} = 0.8 - \frac{0.65}{1 + e^{\frac{V + 125}{15}}}$$

P_{oNa_i} la dependencia de $[\text{Na}]_i$, formulada como:

$$P_{oNa_i} = \frac{0.85}{1 + \left(\frac{K_D}{[\text{Na}]_i} \right)^n}$$

con $K_D = 66 \text{ mM}$ y $n = 2.8$

- *Corriente de potasio dependiente de ATP ($I_{K(ATP)}$)*

$$I_{K(ATP)} = \sigma \cdot g_o \cdot p_o \cdot f_{ATP} \cdot (V_m - E_{K(ATP)})$$

σ es la densidad de canales

g_o es la conductancia unitaria, que corresponde a un canal completamente abierto y se formula como:

$$g_o = \gamma_o \cdot f_N \cdot f_T \cdot f_H$$

$$\gamma_o = 35.375 \cdot \left(\frac{[\text{K}]_o}{5.4} \right)^{0.24}$$

$$f_M = \frac{1}{1 + \left(\frac{[Mg]_i}{K_{h,Mg}} \right)^n}$$

donde $n = 1$ y $K_{h,Mg}$ es la constante de semisaturación que depende del potencial de membrana como indica la siguiente ecuación:

$$K_{h,Mg} = K_{h,Mg}^o \cdot e^{\left(\frac{-2\delta \cdot Mg \cdot F}{R \cdot T} V_m \right)} \cdot 0.31 \cdot \sqrt{[K]_o + 5}$$

$$f_N = \frac{1}{1 + \left(\frac{[Na]_i}{K_{h,Na}} \right)^n}$$

donde $n = 2$ y $K_{h,Na}$ es la constante de semisaturación que depende del potencial de membrana como indica la siguiente ecuación:

$$K_{h,Na} = K_{h,Na}^o \cdot e^{\left(\frac{-2\delta \cdot Na \cdot F}{R \cdot T} V_m \right)}$$

$$f_T = Q_{10}^{\frac{T-T_0}{10}} \quad \text{donde } Q_{10}=1.3 \text{ y } T_0=35.5^\circ\text{C}$$

$$f_H = 1 + 0.15 \cdot (pH_i - 7.4)$$

$$f_{ATP} = \frac{1}{1 + \left(\frac{[ATP]_i}{K_m} \right)^H}$$

$$K_m = 35.8 + 17.9 \cdot [ATP]_i^{0.256}$$

$$H = 1.3 + 0.74 \cdot e^{(-0.09[ATP]_i)}$$

$E_{K(ATP)}$ es el potencial de equilibrio del potasio y se calcula como:

$$E_{K(ATP)} = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \left(\frac{[K]_o}{[K]_i} \right)$$

- *Corriente transitoria de salida (I_{to})*

$$I_{to} = \bar{G}_{ito} \cdot z^3 \cdot y \cdot R_V \cdot (V - E_K)$$

E_K es el potencial de equilibrio del potasio

$\bar{G}_{ito} = 0.5 mS / \mu F$ para el epicardio ventricular izquierdo

$\bar{G}_{ido} = 1.1 mS / \mu F$ para el epicardio ventricular derecho

$$E_K = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \left(\frac{[K]_o}{[K]_i} \right)$$

$$R_V = e^{\left(\frac{V}{100} \right)}$$

$$\frac{dz}{dt} = \alpha_z \cdot (1 - z) - \beta_z \cdot z$$

$$\alpha_z = \frac{10 \cdot \exp\left(\frac{V-40}{25}\right)}{1 + \exp\left(\frac{V-40}{25}\right)}$$

$$\beta_z = \frac{10 \cdot \exp\left(\frac{-(V+90)}{25}\right)}{1 + \exp\left(\frac{-(V+90)}{25}\right)}$$

$$\tau_z = 1 / (\alpha_z + \beta_z) \quad y \quad z_\infty = \alpha_z / (\alpha_z + \beta_z)$$

$$\frac{dy}{dt} = \alpha_y \cdot (1 - y) - \beta_y \cdot y$$

$$\alpha_y = \frac{0.015}{1 + \exp\left(\frac{V+60}{5}\right)}$$

$$\beta_y = \frac{0.1 \cdot \exp\left(\frac{(V+25)}{5}\right)}{1 + \exp\left(\frac{(V+25)}{5}\right)}$$

$$\tau_y = 1 / (\alpha_y + \beta_y) \quad y \quad y_\infty = \alpha_y / (\alpha_y + \beta_y)$$

▪ *Corriente del intercambiador sodio-calcio (I_{NaCa})*

$$I_{NaCa} = c_1 \cdot e^{\left(\frac{\gamma-1}{RT} \cdot \frac{VF}{RT} \cdot \frac{[Na]_i^3 \cdot [Ca]_o - [Na]_o^3 \cdot [Ca]_i}{1 + c_2 \cdot e^{\left(\frac{\gamma-1}{RT} \cdot \frac{VF}{RT} \cdot \left(\frac{VF}{RT} \cdot [Na]_i^3 \cdot [Ca]_o + [Na]_o^3 \cdot [Ca]_i \right)} \right)} \right)$$

siendo $c_1 = 0.00025$ $c_2 = 0.0001$ $\gamma = 0.15$

- *Corriente de la bomba sodio-potasio (I_{NaK})*

$$I_{NaK} = \bar{I}_{NaK} \cdot f_{NaK} \cdot \frac{1}{1 + \left(\frac{K_{m,Na_i}}{[Na]_i} \right)^2} \cdot \frac{[K]_o}{[K]_o + K_{m,Ko}}$$

$$\bar{I}_{NaK} = 2.25 \mu A/\mu F$$

$$K_{m,Na_i} = 10 \text{ mmol/L}$$

$$K_{m,Ko} = 1.5 \text{ mmol/L}$$

$$f_{NaK} = \frac{1}{1 + 0.1245 \cdot e^{-0.1 \cdot \frac{VF}{RT}} + 0.0365 \cdot \sigma \cdot e^{\frac{-VF}{RT}}}$$

$$\sigma = \frac{1}{7} \cdot \left[e^{\frac{[Na]_o}{67.3}} - 1 \right]$$

- *Corriente no específica activada por calcio ($I_{ns(Ca)}$)*

$$I_{ns,(Ca)} = I_{ns,K} + I_{ns,Na}$$

$$I_{ns,K} = \frac{\bar{I}_{ns,K}}{1 + \left(\frac{K_{m,ns(Ca)}}{[Ca^{2+}]_i} \right)^3}$$

$$\bar{I}_{ns,K} = P_{ns(Ca)} \cdot Z_K^2 \cdot \frac{V \cdot F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[\gamma_K]_i \cdot [K]_i \cdot e^{\left(Z_K \cdot \frac{V \cdot F}{R \cdot T} \right)} - [\gamma_K]_o \cdot [K]_o}{e^{\left(Z_K \cdot \frac{V \cdot F}{R \cdot T} \right)} - 1}$$

$$[\gamma_K]_i = 0.75$$

$$[\gamma_K]_o = 0.75$$

$$Z_K = 1$$

$$I_{ns,Na} = \frac{\bar{I}_{ns,Na}}{1 + \left(\frac{K_{m,ns}(Na)}{[Na^{2+}]_i} \right)^3}$$

$$\bar{I}_{ns,Na} = P_{ns(Ca)} \cdot Z_{Na}^2 \cdot \frac{V \cdot F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[\gamma_{Na}]_i \cdot [Na]_i \cdot e^{\left(Z_{Na} \cdot \frac{V \cdot F}{R \cdot T} \right)} - [\gamma_{Na}]_o \cdot [Na]_o}{e^{\left(Z_{Na} \cdot \frac{V \cdot F}{R \cdot T} \right)} - 1}$$

$$[\gamma_{Na}]_i = 0.75$$

$$[\gamma_{Na}]_o = 0.75$$

$$Z_{Na} = 1$$

$$P_{ns(Ca)} = 1.75 \cdot 10^{-7} \text{ cm/s}$$

$$K_{m,ns(Ca)} = 1.2 \text{ mol/L}$$

$$E_{ns(Ca)} = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \left(\frac{[K]_o + [Na]_o}{[K]_i + [Na]_i} \right)$$

- *Corriente de la bomba de calcio ($I_{p(Ca)}$)*

$$I_{p(Ca)} = \bar{I}_{p(Ca)} \cdot \frac{[Ca]_i}{K_{m,p(Ca)} + [Ca]_i}$$

$$\bar{I}_{p(Ca)} = 1.15 \text{ } \mu\text{A}/\mu\text{F} \quad K_{m,p(Ca)} = 0.5 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

- *Corriente de fondo de calcio ($I_{Ca,b}$)*

$$I_{Ca,b} = \bar{G}_{Ca,b} \cdot (V - E_{Ca,N})$$

$$E_{Ca,N} = \frac{RT}{2F} \cdot \ln \left(\frac{[Ca]_o}{[Ca]_i} \right)$$

$$\bar{G}_{Ca,b} = 0.003016 \text{ mS}/\mu\text{F}$$

- *Corriente de fondo de sodio ($I_{Na,b}$)*

$$I_{Na,b} = \bar{G}_{Na,b} \cdot (V - E_{Na,N})$$

$$\bar{G}_{Na,b} = 0.00141 \text{ mS}/\mu\text{F} \quad E_{Na,N} = E_{Na}$$

5 Flujo de calcio del NSR al JSR (ITR)

$$I_{tr} = \frac{[Ca]_{NSR} - [Ca]_{JSR}}{\tau_{tr}} \text{ mmol/L/ms}$$

$$\tau_{tr} = 180 \text{ ms}$$

6 Cálculo analítico del almacenamiento de calcio

$$[Ca]_{JSR,new} = \frac{\sqrt{b_1^2 + 4 \cdot c_1} - b_1}{2}$$

$$b_1 = [\overline{CSQN}] - [CSQN]_{old} - \Delta[Ca]_{JSR} - [Ca]_{JSR,old} + K_{m,CSQN}$$

$$c_1 = K_{m,CSQN} \cdot ([CSQN]_{old} + \Delta[Ca]_{JSR} + [Ca]_{JSR,old})$$

$$\Delta[Ca]_{JSR} = [Ca]_{JSR,old} - [Ca]_{JSR,new}$$

- *Corriente de liberación de calcio del JSR inducido por el aumento de calcio intracelular (I_{rel})*

$$(I_{rel})_{CICR} = g_{rel} \cdot R_y R_{open} \cdot R_y R_{close} \cdot ([Ca]_{JSR} - [Ca]_i)$$

$$R_y R_{open} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-t+4}{\tau_{open}}}}$$

$$RyR_{close} = 1 - \frac{1}{1 + e^{\frac{-t+4}{\tau_{close}}}}$$

$$g_{rel} = \frac{\bar{g}_{rel}}{1 + e^{\frac{(I_{Ca(L)} + I_{Ca,b} + I_{p(Ca)} + I_{Ca(T)} - 2 \cdot I_{NaCa}) + 5}{0.9}}}$$

$$\tau_{open} = \tau_{close} = 0.5$$

$$\bar{g}_{rel} = 150$$

- *Almacenamiento de calcio en el JSR: Calsequestrina (CSQN)*

$$Buffered[CSQN] = [\overline{CSQN}] \cdot \left(\frac{[Ca]_{JSR}}{[Ca]_{JSR} + K_{m,CSQN}} \right)$$

$$\overline{CSQN} = 10 \text{ mmol/L}$$

$$K_{m,CSQN} = 0.8 \text{ mmol/L}$$

- *Liberación de calcio del JSR en condiciones de sobrecarga de calcio*

$$(I_{rel})_{JSR-OV} = G_{rel} \cdot ([Ca^{2+}]_{JSR} - [Ca^{2+}]_i) \text{ mmol/L/ms}$$

$$\text{Si } [CSQN] > [CSQN]_{th}$$

$$G_{rel} = \bar{G}_{rel} \cdot (1 - e^{\frac{-t}{\tau_{on}}}) \cdot e^{\frac{-t}{\tau_{off}}}$$

$\bar{G}_{rel} = 4 \text{ ms}^{-1}$; $[CSQN]_{th} = 0.7$ o mayor $\tau_{on} = \tau_{off} = 2 \text{ ms}$ y $t = 0$ en el instante de liberación espontánea.

$$\text{Si } [CQSN] < [CQSN]_{th}$$

$$\bar{G}_{rel} = 0$$

- *Retículo sarcoplásmico (Network Sarcoplasmic Reticulum) (NSR)*

$$\frac{dNSR}{dt} = I_{up-leak} - I_{tr} \frac{V_{JSR}}{V_{NSR}}$$

- *Entrada y fuga de calcio en el NSR: I_{up} corriente de calcio de entrada al retículo sarcoplásmico y I_{leak}*

$$I_{up-leak} = I_{up} - I_{leak}$$

$$K_{leak} = \frac{\bar{I}_{up}}{[Ca]_{NSR}}$$

$$\bar{I}_{up} = 0.00875 \text{ mmol/L/ms}$$

$$[Ca]_{NSR} = 15 \text{ mmol/L}$$

$$I_{leak} = K_{leak} \cdot [Ca]_{NSR} \text{ mmol/L/ms}$$

$$I_{up} = \bar{I}_{up} \cdot \frac{[Ca]_i}{[Ca]_i + K_{m,up}} \text{ mmol/L/ms}$$

$$\bar{I}_{up} = 0.00875 \text{ mol/L/ms}$$

$$K_{m,up} = 0.92 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

- *Concentración de calcio en el citosol*

$$[Ca^{2+}]_{i,new} = \frac{2}{3} \cdot \sqrt{b^2 - 3c} \cdot \cos \left(\frac{\arccos \left[\frac{9bc - 2b^3 - 27d}{2 \cdot (b^2 - 3c)^{3/2}} \right]}{3} \right) - \frac{b}{3}$$

$$b = [CMDN] + [TRPN] - [Ca]_{total} + K_{m,TRPN} + K_{m,CMDN}$$

$$c = (K_{m,CMDN} \cdot K_{m,TRPN}) - ([Ca]_{total} \cdot (K_{m,TRPN} + K_{m,CMDN})) + (\overline{TRPN} \cdot K_{m,CMDN}) + ([\overline{CMDN}] \cdot K_{m,TRPN})$$

$$d = -(K_{m,TRPN} \cdot K_{m,CMDN}) [Ca]_{total}$$

$$[Ca]_{total} = [TRPN]_{bld} + [CMDN]_{bld} + \Delta[Ca]_i + [Ca]_{i,old}$$

$$\frac{\Delta[Ca]_i}{\Delta t} = - \left\{ \frac{[Ca]}{Z_{Ca}} \cdot \frac{ACap}{V_{myo} \cdot F} + (I_{up} - I_{leak}) \frac{V_{NSR}}{V_{myo}} - (I_{relcicr} - I_{relJSR}) \frac{V_{JSR}}{V_{myo}} \right\}$$

Las definiciones son las siguientes (las concentraciones se expresan en mmol/L):

- > $[Ca]_i$ corresponde a la $[Ca]_i$ en el citosol
- > $[CSQN]$ es la concentración de Ca^{2+} almacenada por la calsequestrina en el JSR
- > $[\overline{CSQN}]$ es la concentración máxima de Ca^{2+} almacenada por la en el JSR
- > $[CMDN]$ concentración de Ca^{2+} almacenada por calmodulin en el citosol
- > $[\overline{CMDN}]$ concentración máxima de Ca^{2+} almacenada por calmodulin en el citosol
- > $[TRPN]$ concentración de Ca^{2+} almacenada por la troponina en el citosol
- > $[\overline{TRPN}]$ concentración máxima de Ca^{2+} almacenada por la troponina en el citosol
- > $K_{m,CSQN}$, $K_{m,TRPN}$, y $K_{n,CMDN}$, las constantes de equilibrio en el almacenamiento de Ca^{2+} por la calsequestrina, troponina, y calmodulina, respectivamente
- > $\Delta[Ca]_i$ cambio en el total Ca^{2+} durante un incremento de tiempo.

Los subíndices i, new, and old indican intracelular, paso de tiempo actual y anterior, respectivamente.

- *Almacenamiento de calcio en el mioplasma*

$$buffered[TRPN] = [\overline{TRPN}] \cdot \left(\frac{[Ca]_i}{[Ca]_i + K_{m,TRPN}} \right)$$

$$buffered[CMDN] = [\overline{CMDN}] \cdot \left(\frac{[Ca]_i}{[Ca]_i + K_{m,CMDN}} \right)$$

$$[\overline{TRPN}] = 70 \mu\text{mol/L}$$

$$[\overline{CMDN}] = 50 \mu\text{mol/L}$$

$$K_{m,TRPN} = 0.5 \mu\text{mol/L}$$

ANEXO

II

ANEXO II

MUTACIONES EN hERG

SRW.- Síndrome Romano Ward

Cambio Nucleotido	Cambio Aminoácido	Tipo Mutación	Región	Fenotipo
G77T	<u>S26I</u>	Sustitución	N-term	SRW
A82G	<u>K28E</u>	Sustitución	N-term	SRW
C87A	<u>F29L</u>	Sustitución	N-term	SRW
T92G	<u>I31S</u>	Sustitución	N-term	SRW
A98C	<u>N33T</u>	Sustitución	N-term	SRW
A128G	<u>Y43C</u>	Sustitución	N-term	SRW
C132A	<u>C44X</u>	Sustitución	N-term	SRW
N.A.	<u>C44F</u>	Sustitución	N-term	SRW
G140T	<u>G47V</u>	Sustitución	N-term	SRW
G146A	<u>C49Y</u>	Sustitución	N-term	SRW
G157C	<u>G53R</u>	Sustitución	N-term	SRW
C164T	<u>S55L</u>	Sustitución	N-term	SRW
G167A	<u>R56Q</u>	Sustitución	N-term	SRW
G172A	<u>E58K</u>	Sustitución	N-term	SRW
A173C	<u>E58A</u>	Sustitución	N-term	SRW
A173G	<u>E58G</u>	Sustitución	N-term	SRW
G174C	<u>E58D</u>	Sustitución	N-term	SRW
G191A	<u>C64Y</u>	Sustitución	N-term	SRW
A193C	<u>T65P</u>	Sustitución	PAS	SRW
T196G	<u>C66G</u>	Sustitución	N-term	SRW
T202C	<u>F68L</u>	Sustitución	N-term	SRW

A209G	<u>H70R</u>	Sustitución	N-term	SRW
G211C	<u>G71R</u>	Sustitución	N-term	SRW
C215A	<u>P72Q</u>	Sustitución	N-term	SRW
C221T	<u>T74M</u>	Sustitución	N-term	SRW
221-251del	<u>R73+31X</u>	Dele/Trans	N-term	SRW
G232C	<u>A78P</u>	Sustitución	N-term	SRW
C241T	<u>Q81X</u>	Delección	N-term	SRW
244-252del	<u>82-84del IAQ</u>	Delección	N-term	SRW
244-252ins9	<u>82-84insIAQ</u>	Dup/Trans	N-term	SRW
1234-250dup	<u>A83+37X</u>	Dup/Trans	N-term	SRW
C254T	<u>A85V</u>	Sustitución	N-term	SRW
T257G	<u>L86R</u>	Sustitución	N-term	SRW
T260C	<u>L87P</u>	Sustitución	N-term PAS	SRW
T287C	<u>I96T</u>	Sustitución	N-term PAS	SRW
A296C	<u>Y99S</u>	Sustitución	N-term PAS	SRW
C298G	R100G	Sustitución	N-term PAS	SRW
G299A	<u>R100Q</u>	Sustitución	N-term	SRW
A301G	<u>K101E</u>	Sustitución	N-term	SRW, SIDS
308-310insATG	<u>103InsD</u>	Inserción	N-term	SRW
337-339del	<u>V113del</u>	Delección	N-term	SRW
N.A.	<u>P114S</u>	Sustitución	N-term	SRW
T371G	<u>M124R</u>	Sustitución	N-term	SRW
T371C	<u>M124T</u>	Sustitución	N-term	SRW
395-456del	<u>V131fs+185</u>	Dele/Trans	N-term	SRW
422-423insC	<u>P141+2X</u>	Transver.	N-term	SRW

453delC	<u>P151</u>	Dele/Trans	N-term	SRW
453-454insC	<u>P151+179X</u>	Inser/Trans	N-term	SRW
453-454InsCC	<u>151fs+14</u>	Inser/Trans	N-term	SRW
N.A.	<u>R176W</u> (reportada como polimorfismo)	Sustitución	N-term	SRW
544-545InsGGT GCGGT	<u>R181FS/+20X</u>	Inser/Trans	N-term	SRW
C545A	<u>R182X</u>	Delección	N-term	SRW
557-566del/InsT TCGC	<u>A185fs+143X</u>	Dele/Inser	N-term	SRW
dup558-600	N.A.	Transver.	N-term	SRW
576delG	<u>G192fs+7X</u>	Delección	N-term	SRW
578-582del	<u>G192fs+135X</u>	Delección	N-term	SRW
582-587delCCG TG	<u>G192fs328</u>	Dele/Trans	N-term	SRW
N.A.	<u>L200fs+107X</u>	Transver.	N-term	SRW
N.A.	<u>210insL, T216 fs+120X</u>	Inser/Trans	N-term	SRW
G685T	<u>E229X</u>	Delección	N-term	SRW
G712A	<u>G238S</u>	Sustitución	N-term	SRW
724-725insC	<u>P241+89X</u>	Inser/Trans	N-term	SRW
735-736InsCC	<u>P245fs+114X</u>	Inserción	N-term	SRW
C751T	<u>P251S</u>	Sustitución	N-term	SRW
N.A	<u>P251 fs+107V</u>	Transver.	N-term	SRW
G818A	R273Q	Sustitución	N-term	SIDS
G835A	V279M	Sustitución	N-term	SIDS
del885	<u>V295+63X</u>	Dele/Trans	N-term	SRW
G916T	<u>G306W</u>	Sustitución	N-term	SRW
C934T	<u>R312C</u>	Sustitución	N-term	SRW
C934T	<u>R312C</u>	Sustitución	N-term	SRW

C959A	<u>S320X</u>	Sustitución	N-term	SRW
C959T	<u>S320L</u>	Sustitución	N-term	SRW
C982T	<u>R328C</u>	Sustitución	N-term	SRW
C1001T	<u>P334L</u>	Sustitución	N-term	SRW
1009insT	<u>355X</u>	Inser/Trans	N-term	SRW
C1039T	<u>P347S⁽²⁾</u>	Sustitución	N-term	DITdP, SRW
C1096T	<u>R366X</u>	Sustitución	N-term	SRW
G1228A	<u>Q376</u>	Transver.	N-term	SRW
1129-2543	--	Duplic.	N-term	SRW
A1129-2G	<u>Q376</u>	Transver.	N-term	SRW
C1171T	<u>Q391X</u>	Delección	N-term	SRW
T1199A	<u>I400N</u>	Sustitución	S1	SRW
G1229C	<u>W410S</u>	Sustitución	S1	SRW
G1235A	<u>W412X</u>	Delección	S1	SRW
T1237A	<u>L413P</u>	Sustitución	S1	SRW
A1259G	<u>Y420C</u>	Sustitución	S1	SRW
1261delA	<u>Y420+12X</u>	Dele/Trans	S1	SRW
C1262T	<u>T421M</u>	Sustitución	S1	SRW
G1254A	<u>A422T</u>	Sustitución	S1	SRW
C1277A	<u>P426H</u>	Sustitución	S1	SRW
T1279C	<u>Y427H</u>	Sustitución	S1	SRW
A1280C	<u>Y427S</u>	Sustitución	S1	SRW
C1283A	<u>S428X</u>	Delección	S1-S2	SRW
C1283T	<u>S428L</u>	Sustitución	S1-S2	SRW
C1307T	<u>T436M</u>	Sustitución	S1-S2	SRW
-	<u>E444D</u>	Sustitución	S1-S2	SRW

C1341A	<u>Y447X</u>	Delección	S1-S2	SRW
C1331T.	<u>P451L</u>	Sustitución	S1-S2	SRW
G1366T	<u>D456Y</u>	Sustitución	S2	SRW
G1378T	<u>D460Y</u>	Sustitución	S2	SRW
A1408G	<u>N470D</u>	Sustitución	S2	SRW
C1421T	<u>T474I</u>	Sustitución	S2-S3	SRW
A1424G	<u>Y475C</u>	Sustitución	S2-S3	SRW
1423-1425delTAC	<u>Y475del</u>	Delección	S2-S3	SRW
G1468A	<u>A490T</u>	Sustitución	S2-S3	SRW
C1479G	<u>Y493X</u>	Delección	S2-S3	SRW
N.A.	<u>Y493C</u>	Sustitución	S2-S3	SRW
de1496-1523	<u>I500- F508del</u>	Delección	S3	SRW
G1501A	<u>D501N</u>	Sustitución	S3	SRW
G1501C	<u>D501H</u>	Sustitución	S3	SRW
G1575T	<u>K525N</u>	Sustitución	S3-S4	SRW
G1583C	R528P	Sustitución	S4	SRW
G1592A	<u>R531Q</u>	Sustitución	S4	SRW
C1600T	<u>R534C</u>	Sustitución	S4	SRW
G1601T	<u>R534L</u>	Sustitución	S4	SRW
1613-1619del	<u>R537fs+24X</u>	Delección	S4	SRW
1631delA	<u>R543fs</u>	Dele/Trans	S4-S5	SRW
T1655C	<u>L552S</u>	Sustitución	S5	SRW
-	<u>554-562del</u>	Sustitución	S5	SRW
1671del T	<u>T556+7X</u>	Dele/Trans	S5	SRW
G1672C	<u>A558P</u>	Sustitución	S5	SRW
T1676A	L559H	Sustitución	S5	SRW
T1676A	<u>L559H</u>	Sustitución	S5	SRW

G1681C	<u>A561P</u>	Sustitución	S5	DITdP
G1681A	<u>A561T</u>	Sustitución	S5	SRW
C1682T	<u>A561V</u>	Sustitución	S5	SRW
A1685P	<u>H562P</u>	Sustitución	S5	SRW
T1691C	<u>L564P</u>	Sustitución	S5	SRW
G1697C	<u>C566S</u>	Sustitución	S5	SRW
1701del	<u>I567fs+26X</u>	Delección	S5	SRW
T1702C	<u>W568R</u>	Sustitución	S5	SRW
N.A.	<u>W568C</u>	Sustitución	S5	SRW
N.A.	<u>Y569H</u>	Sustitución	S5	SRW
A1711C	<u>I571L</u>	Sustitución	S5	SRW
A1711G	<u>I571V</u>	Sustitución	S5	SRW
G1714T	<u>G572C</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1714A	<u>G572S</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1714C	<u>G572R</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1715A	<u>G572D</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
A1724G	<u>E575G</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
C1744T	<u>R582C</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1745T	<u>R582L</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1750A	<u>G584S</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1755T	<u>W585C</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
A1762G	<u>N588D</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
T1778C	<u>I593R</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
T1778G	<u>I593G</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
N.A.	<u>I593X</u>	Delección	S5-poro	SRW
N.A.	<u>P596L</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
N.A.	<u>P596L</u>	Sustitución	S5-poro	SRW

C1787G	<u>P596R</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1801A	<u>G601S</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1810A	<u>G604S</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1825A	<u>D609N</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
G1825C	<u>D609H</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
A1826G	<u>D609G</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
T1831C	<u>Y611H</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
T1833A/G	<u>Y611X</u>	Delección	S5-poro	SRW
G1834T	<u>V612L</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
C1838T	<u>T613M</u>	Sustitución	S5-poro	SRW
C1841T	<u>A614V</u>	Sustitución	poro	SRW
C1843G	<u>L615V</u>	Sustitución	poro	SRW
C1843T	<u>L615F</u>	Sustitución	poro	SRW
G1862A	<u>S621N</u>	Sustitución	poro	SRW
C1863G	<u>S621R</u>	Sustitución	poro	SRW
C1864T	<u>L622F</u>	Sustitución	poro	SRW
C1868T	<u>T623I</u>	Sustitución	poro	SRW
T1874A	<u>V625E</u>	Sustitución	poro	SRW
G1876A	<u>G626S</u>	Sustitución	poro	SRW
G1877C	<u>G626A</u>	Sustitución	poro	SRW
C1882G	<u>F627L</u>	Sustitución	poro	SRW
G1883T	<u>G628V</u>	Sustitución	poro	SRW
G1882A	<u>G628S</u>	Sustitución	poro	SRW
A1885G	<u>N629D</u>	Sustitución	poro	SRW
A1886G	<u>N629S</u>	Sustitución	poro	SRW
C1887A	N629K	Sustitución	poro	SRW
C1887A	<u>N629K</u>	Sustitución	poro	SRW

G1888C	<u>V630L</u>	Sustitución	poro	SRW
T1889C	<u>V630A</u>	Sustitución	poro	SRW
C1894T	<u>P632S</u>	Sustitución	poro	SRW
A1897G	<u>N633D</u>	Sustitución	poro	SRW
A1898G	<u>N633S</u>	Sustitución	poro	SRW
A1904T	<u>N635I</u>	Sustitución	poro-S6	SRW
G1909A	<u>E637K</u>	Sustitución	S6	SRW
G1911C	<u>E637D</u>	Sustitución	poro-S6	SRW
A1912G	<u>K638E</u>	Sustitución	S6	SRW
del1913-1915	<u>delK638</u>	Dele/Trans	S6	SRW
A1918T	<u>F640V</u>	Sustitución	S6	SRW
C1920A	<u>F640L</u>	Sustitución	S6	SRW
C1922T	<u>S641F</u>	Sustitución	S6	SRW
G1930T	<u>V644F</u>	Sustitución	S6	SRW
A1933T	<u>M645L</u>	Sustitución	S6	SRW
A1933G	<u>M645V</u>	Sustitución	S6	SRW
1945+6C	-	Transver.	(exon7)	SRW
delAT1951-1952	-	Dele/Trans	S6	SRW
N.A.	<u>S649L</u>	Sustitución	S6	SRW
T1967G	<u>F656C</u>	Sustitución	S6	SRW
C1979T	<u>S660L</u>	Sustitución	S6	SRW
N.A.	<u>Y667X</u>	Delección	S6	SRW
2011-2025del	<u>671-675del</u>	Delección	S6/CNB D	SRW
G2044T	<u>E682X</u>	Delección	S6/CNB D	SRW
C2086T	<u>R696C</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW/TdP
G2087C	R696D	Sustitución	S6/CNB	SRW
G2087C	<u>R696P</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW

G2092T	<u>E698X</u>	Delección	S6/CNB D	SRW
G2114A	<u>W705X</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW/TdP
C2117G	<u>S706C</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW
G2145A	<u>A715sp</u>	Transver.	S6/CNB D	SRW
2160 -11 > - 2 del	<u>V716sp</u>	Transver.	S6/CNB D	SRW
C2162T	<u>P721L</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW
2164- 2181dup	<u>E722-D727</u>	Duplic.	S6/CNB D	SRW
C2173T	<u>Q725X</u>	Delección	S6/CNB D	SRW
C2204T	<u>S735L</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW
2218insT	<u>H739+63X</u>	Inser/Trans	S6/CNB D	SRW
2231del	<u>F743fs+12X</u>	Delección	S6- CNBD	SRW
N.A.	<u>R744X</u>	Delección	S6/CNB D	SRW
C2254T	<u>R752W</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW
G2254A	<u>R752Q</u>	Sustitución	S6/CNB D	SIDS
G2320T	<u>D774Y</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW
C2350T	<u>R784W</u>	Sustitución	S6/CNB D	SRW
N.A.	<u>R783 fs+24X</u>	Transver.	CNBD	SRW
G2364C	<u>E788D</u>	Sustitución	CNBD	SRW
dup2356- 2386	<u>V796+22</u>	Dupl/Trans	CNBD	SRW
del 2395	<u>I798+10X</u>	Dele/Trans	CNBD	SRW
G2398+3A> G	<u>L799sp</u>	Transver.	CNBD	SRW
G2398+3A> T	<u>L799sp</u>	Transver.	CNBD	SRW
G2398T	<u>G800W</u>	Sustitución	CNBD	SRW
G2398 +1g>c	<u>L799sp</u>	Transver.	CNBD	SRW
G2398	<u>L799sp</u>	Transver.	CNBD	SRW
G2398 +5g>c	<u>L799sp</u>	Transver.	CNBD	SRW

T2414C	<u>F805S</u>	Sustitución	CNBD	SRW
T2414G	<u>F805C</u>	Sustitución	CNBD	SRW
T2452C	<u>S818P</u>	Sustitución	CNBD	SRW
C2453T	<u>S818L</u>	Sustitución	CNBD	SRW
G2458A	<u>G820R</u>	Sustitución	CNBD	SRW
G2464A	<u>V822M</u>	Sustitución	CNBD	SRW
2471insG	<u>R823fs828</u>	Inser/Trans	CNBD	SRW
C2467T	<u>R823W</u>	Sustitución	CNBD	SRW
A2494T	<u>K832X</u>	Delección	CNBD	SRW
C2503T	<u>R835W</u>	Sustitución	CNBD	SRW
A2510G	<u>D837G</u>	Sustitución	C-term	SRW
A2581C	<u>N861H</u>	Sustitución	C-term	SRW
A2582T	<u>N861I</u>	Sustitución	C-term	SRW
C2587T	—	Delección	C-term	SRW
G2592 +1 g>a	<u>D864sp</u>	Transver.	C-term	SRW
G2592 +3 g>a	<u>D864sp</u>	Transver.	C-term	SRW
del2660	<u>K886+85X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
2616delC	<u>P872fs+4X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
2619- 2626dup8	<u>E876fs</u>	Dupl/Trans	C-term	SRW
G2626T	<u>E876X</u>	Delección	C-term	SRW
2638- 2648del	<u>G879fs+35X</u>	Delección	C-term	SRW
-	R885C	Sustitución	C-term	SIDS
G2660A	<u>R887H</u>	Sustitución	C-term	SRW
2676- 2682del	<u>R892fs+79X</u>	Delección	C-term	SRW
2705delC	<u>Q901fs+71X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
2705delC	<u>Q901fs+71X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW

2728- 2762del	<u>P910fs+16X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
C2738T	<u>A913V</u>	Sustitución	C-term	SRW
2738- 2739insCGG C	<u>A913fs+62X</u>	Inserción	C-term	SRW
2742- 2775del	<u>A915fs</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
C2750T	<u>P917L</u>	Sustitución	C-term	SRW
2762del	<u>R920+51X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
C2764T	<u>R922W</u>	Sustitución	C-term	SRW
2766delG	<u>R922fs+50X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
2768delC	-	Transver.	C-term	SRW
2775linsG	<u>G925+13X</u>	Transver.	C-term	SRW
2775del	<u>G925fs+47X</u>	Delección	C-term	SRW
G2781A	<u>W927X</u>	Delección	C-term	SRW
C2841T	<u>R948C</u>	Sustitución	C-term	SRW
-	R954C	Sustitución	C-term	SIDS
G2879A	<u>S960N</u>	Sustitución	C-term	SRW
2895- 2905del	G965+148X	Delección	C-term	SRW
C2903T	<u>P968L</u>	Sustitución	C-term	SRW
2906del	<u>P968+4X</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
2959del	<u>P986+130X</u>	Dupl/Tran	C-term	SRW
N.A.	<u>W1001X</u>	Delección	C-term	SRW
C3040T	<u>R1014X</u>	Delección	C-term	SRW
C3045A	<u>C1015X</u>	Delección	C-term	SRW
3093- 3106del	<u>G1031fs+86X</u>	Delección	C-term	SRW
3093- 3099del/insT TCGC	<u>G1031fs+20X</u>	Dele/Inser	C-term	SRW
3094del	<u>G1031+24X</u>		C-term	SRW
3096-	<u>R1032fs</u>	225 Dele/Trans	C-term	SRW

3096-3112del	<u>R1032fs</u>	Dele/Trans	C-term	SRW
3099del	<u>R1033fs+22X</u>	Sustitución	C-term	SRW
3100del	<u>P1034fs+63X</u>	Delección	C-term	SRW
3108InsG	<u>G1036+82X</u>	Inser/Tran	C-term	SRW
3106-3109dup	<u>D1037fs</u>	Dupl/Trans	C-term	SRW/TdP
A3118G	S1040G	Sustitución	C-term	SIDS
3154del	<u>R1051fs+4X</u>	Delección	C-term	SRW
3303InsG	<u>P1101</u>	Inser/Trans	C-term	SRW
3304InsC	<u>P1101fs+16X</u>	Inserción	C-term	SRW
3397-3398del	<u>T1133fs+135X</u>	Delección	C-term	SRW
C2457T	<u>H1153Y</u>	Sustitución	C-term	SRW

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, G. W., F. Sesti, et al. (1999). "MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia." Cell **97**(2): 175-87.
- Abi-Gerges, N., K. Philp, et al. (2004). "Sex differences in ventricular repolarization: from cardiac electrophysiology to Torsades de Pointes." Fundam Clin Pharmacol **18**(2): 139-51.
- Abi-Gerges, N., B. G. Small, et al. (2004). "Evidence for gender differences in electrophysiological properties of canine Purkinje fibres." Br J Pharmacol **142**(8): 1255-64.
- Abinader, E. G. and J. Shahar (1983). "Possible female preponderance in prenylamine-induced 'torsade de pointes' tachycardia. Short communication." Cardiology **70**(1): 37-40.
- Abriel, H., J. Schlapfer, et al. (2004). "Molecular and clinical determinants of drug-induced long QT syndrome: an iatrogenic channelopathy." Swiss Med Wkly **134**(47-48): 685-94.
- Ackerman, M. J. (1998). "The long QT syndrome: ion channel diseases of the heart." Mayo Clin Proc **73**(3): 250-69.
- Ackerman, M. J., D. J. Tester, et al. (2003). "Ethnic differences in cardiac potassium channel variants: implications for genetic susceptibility to sudden cardiac death and genetic testing for congenital long QT syndrome." Mayo Clin Proc **78**(12): 1479-87.
- Ackerman, M. J., D. J. Tester, et al. (1999). "Swimming, a gene-specific arrhythmogenic trigger for inherited long QT syndrome." Mayo Clin Proc **74**(11): 1088-94.
- Aiba, T., W. Shimizu, et al. (2003). "Transmural heterogeneity of the action potential configuration in the feline left ventricle." Circ J **67**(5): 449-54.
- Al-Dashti, R. and M. Sami (2001). "Dofetilide: a new class III antiarrhythmic agent." Can J Cardiol **17**(1): 63-7.
- Andersen, E. D., P. A. Krasilnikoff, et al. (1971). "Intermittent muscular weakness, extrasystoles, and multiple developmental anomalies. A new syndrome?" Acta Paediatr Scand **60**(5): 559-64.
- Andersen, H. R., H. Wiggers, et al. (1994). "Dofetilide reduces the incidence of ventricular fibrillation during acute myocardial ischaemia. A randomised study in pigs." Cardiovasc Res **28**(11): 1635-40.
- Anderson, C. L., B. P. Delisle, et al. (2006). "Most LQT2 mutations reduce Kv11.1 (hERG) current by a class 2 (trafficking-deficient) mechanism." Circulation **113**(3): 365-73.
- Antzelevitch, C. and J. Fish (2001). "Electrical heterogeneity within the ventricular wall." Basic Res Cardiol **96**(6): 517-27.
- Antzelevitch, C., W. Shimizu, et al. (1999). "The M cell: its contribution to the ECG and to normal and abnormal electrical function of the heart." J Cardiovasc Electrophysiol **10**(8): 1124-52.

- Armstrong, C. M. and F. Bezanilla (1977). "Inactivation of the sodium channel. II. Gating current experiments." *J Gen Physiol* **70**(5): 567-90.
- Arnsdorf, M. F. and J. T. Bigger (1975). "The effect of lidocaine on components of excitability in long mammalian cardiac Purkinje fibers." *J Pharmacol Exp Ther* **195**(2): 206-15.
- Ban, T., M. Kojima, et al. (1989). "Effects of lidocaine alone and in combination with tetraethylammonium on the maximum upstroke velocity in guinea-pig papillary muscles." *Arzneimittelforschung* **39**(7): 770-4.
- Bashir, Y., P. E. Thomsen, et al. (1995). "Electrophysiologic profile and efficacy of intravenous dofetilide (UK-68,798), a new class III antiarrhythmic drug, in patients with sustained monomorphic ventricular tachycardia. Dofetilide Arrhythmia Study Group." *Am J Cardiol* **76**(14): 1040-4.
- Baskin, E. P. and J. J. Lynch, Jr. (1998). "Differential atrial versus ventricular activities of class III potassium channel blockers." *J Pharmacol Exp Ther* **285**(1): 135-42.
- Bauer, A., R. Becker, et al. (1999). "Rate- and site-dependent effects of propafenone, dofetilide, and the new I(Ks)-blocking agent chromanol 293b on individual muscle layers of the intact canine heart." *Circulation* **100**(21): 2184-90.
- Baumgarten, C. M., J. C. Makielski, et al. (1991). "External site for local anesthetic block of cardiac Na⁺ channels." *J Mol Cell Cardiol* **23 Suppl 1**: 85-93.
- Bazett, H. (1920). "An analysis of time-relations of electrocardiograms." *Heart* **7**: 353-370.
- Bean, B. P., C. J. Cohen, et al. (1983). "Lidocaine block of cardiac sodium channels." *J Gen Physiol* **81**(5): 613-42.
- Beaufort-Krol, G. C., M. P. van den Berg, et al. (2005). "Developmental aspects of long QT syndrome type 3 and Brugada syndrome on the basis of a single SCN5A mutation in childhood." *J Am Coll Cardiol* **46**(2): 331-7.
- Bednar, M. M., E. P. Harrigan, et al. (2002). "Torsades de pointes associated with nonantiarrhythmic drugs and observations on gender and QTc." *Am J Cardiol* **89**(11): 1316-9.
- Beeler, G. W. and H. Reuter (1977). "Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres." *J Physiol* **268**(1): 177-210.
- Belardinelli, L., C. Antzelevitch, et al. (2003). "Assessing predictors of drug-induced torsade de pointes." *Trends Pharmacol Sci* **24**(12): 619-25.
- Berecki, G., J. G. Zegers, et al. (2005). "HERG channel (dys)function revealed by dynamic action potential clamp technique." *Biophys J* **88**(1): 566-78.
- Bernal, O. and C. Moro (2006). "[Cardiac arrhythmias in women]." *Rev Esp Cardiol* **59**(6): 609-18.
- Bezanilla, F. and C. M. Armstrong (1977). "Inactivation of the sodium channel. I. Sodium current experiments." *J Gen Physiol* **70**(5): 549-66.
- Borg, J. J., J. C. Hancox, et al. (2004). "Actions of the anti-oestrogen agent clomiphene on outward K⁺ currents in rat ventricular myocytes." *Clin Exp Pharmacol Physiol* **31**(1-2): 86-95.

- Boyle, M. B., N. J. MacLusky, et al. (1987). "Hormonal regulation of K⁺-channel messenger RNA in rat myometrium during oestrus cycle and in pregnancy." Nature **330**(6146): 373-5.
- Brown, A. M. (2004). "Drugs, hERG and sudden death." Cell Calcium **35**(6): 543-7.
- Brugada, J., L. Boersma, et al. (1991). "Proarrhythmic effects of flecainide. Experimental evidence for increased susceptibility to reentrant arrhythmias." Circulation **84**(4): 1808-18.
- Burke, J. H., J. J. Goldberger, et al. (1996). "Gender differences in heart rate before and after autonomic blockade: evidence against an intrinsic gender effect." Am J Med **100**(5): 537-43.
- Cabo, C. and P. A. Boyden (2003). "Electrical remodeling of the epicardial border zone in the canine infarcted heart: a computational analysis." Am J Physiol Heart Circ Physiol **284**(1): H372-84.
- Cahalan, M. D. and W. Almers (1979). "Block of sodium conductance and gating current in squid giant axons poisoned with quaternary strychnine." Biophys J **27**(1): 57-73.
- Cardona K, T. B., Molto G, Martinez M, Ferrero JM Jr, Starmer F, saiz J (2010). "Exploring the role of pH in modulating the effects of lidocaine in virtual ischemic tissue." Am J Physiol Heart Circ Physiol **299**(5): H1615-24.
- Carmeliet, E. (1992). "Voltage- and time-dependent block of the delayed K⁺ current in cardiac myocytes by dofetilide." J Pharmacol Exp Ther **262**(2): 809-17.
- Cavero, I., M. Mestre, et al. (2000). "Drugs that prolong QT interval as an unwanted effect: assessing their likelihood of inducing hazardous cardiac dysrhythmias." Expert Opin Pharmacother **1**(5): 947-73.
- Cha, Y., A. Wales, et al. (1996). "Electrophysiologic effects of the new class III antiarrhythmic drug dofetilide compared to the class IA antiarrhythmic drug quinidine in experimental canine atrial flutter: role of dispersion of refractoriness in antiarrhythmic efficacy." J Cardiovasc Electrophysiol **7**(9): 809-27.
- Chadwick, C. C., A. M. Ezrin, et al. (1993). "Identification of a specific radioligand for the cardiac rapidly activating delayed rectifier K⁺ channel." Circ Res **72**(3): 707-14.
- Chen, J., A. Zou, et al. (1999). "Long QT syndrome-associated mutations in the Per-Arnt-Sim (PAS) domain of HERG potassium channels accelerate channel deactivation." J Biol Chem **274**(15): 10113-8.
- Choisy, S. C., J. C. Hancox, et al. (2004). "Evidence for a novel K⁽⁺⁾ channel modulated by alpha(1A)-adrenoceptors in cardiac myocytes." Mol Pharmacol **66**(3): 735-48.
- Clancy, C. E. and Y. Rudy (2001). "Cellular consequences of HERG mutations in the long QT syndrome: precursors to sudden cardiac death." Cardiovasc Res **50**(2): 301-13.
- Clarke, C. E., A. P. Hill, et al. (2006). "Effect of S5P alpha-helix charge mutants on inactivation of hERG K⁺ channels." J Physiol **573**(Pt 2): 291-304.

- Clayton, R. H. and A. V. Holden (2004). "Propagation of normal beats and re-entry in a computational model of ventricular cardiac tissue with regional differences in action potential shape and duration." Prog Biophys Mol Biol **85**(2-3): 473-99.
- Colatsky, T. J. (1980). "Voltage clamp measurements of sodium channel properties in rabbit cardiac Purkinje fibres." J Physiol **305**: 215-34.
- Colquhoun, D. and A. G. Hawkes (1981). "On the stochastic properties of single ion channels." Proc R Soc Lond B Biol Sci **211**(1183): 205-35.
- Courtemanche, M., R. J. Ramirez, et al. (1998). "Ionic mechanisms underlying human atrial action potential properties: insights from a mathematical model." Am J Physiol **275**(1 Pt 2): H301-21.
- Crank, J., and P. Nicholson. (1947). "A practical method for numerical evaluation of solutions of partial differential equations of the heat-conduction type." Proc. Camb. Philos. Soc. (Math. Phys. Sci.). **43**: 50-67.
- Creamer, J. E., A. W. Nathan, et al. (1987). "The proarrhythmic effects of antiarrhythmic drugs." Am Heart J **114**(2): 397-406.
- Curran, M. E., I. Splawski, et al. (1995). "A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome." Cell **80**(5): 795-803.
- Demir, S. S., J. W. Clark, et al. (1994). "A mathematical model of a rabbit sinoatrial node cell." Am J Physiol **266**(3 Pt 1): C832-52.
- Demolis, J. L., C. Funck-Brentano, et al. (1996). "Influence of dofetilide on QT-interval duration and dispersion at various heart rates during exercise in humans." Circulation **94**(7): 1592-9.
- Dennis, A., L. Wang, et al. (2007). "hERG channel trafficking: novel targets in drug-induced long QT syndrome." Biochem Soc Trans **35**(Pt 5): 1060-3.
- Dessertenne, F. (1966). "[Ventricular tachycardia with 2 variable opposing foci]." Arch Mal Coeur Vaiss **59**(2): 263-72.
- Diaz, A. L. and G. D. Clifton (2001). "Dofetilide: a new class III antiarrhythmic for the management of atrial fibrillation." Prog Cardiovasc Nurs **16**(3): 126-9.
- DiFrancesco, D. and D. Noble (1985). "A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **307**(1133): 353-98.
- Drewnowska, K., H. F. Clemo, et al. (1991). "Prevention of myocardial intracellular edema induced by St. Thomas' Hospital cardioplegic solution." J Mol Cell Cardiol **23**(11): 1215-21.
- Drici, M. D., L. Baker, et al. (2002). "Mice display sex differences in halothane-induced polymorphic ventricular tachycardia." Circulation **106**(4): 497-503.
- Drici, M. D., T. R. Burklow, et al. (1996). "Sex hormones prolong the QT interval and downregulate potassium channel expression in the rabbit heart." Circulation **94**(6): 1471-4.
- Drouhard, J. P. and F. A. Roberge (1982). "A simulation study of the ventricular myocardial action potential." IEEE Trans Biomed Eng **29**(7): 494-502.

- Drouhard, J. P. and F. A. Roberge (1987). "Revised formulation of the Hodgkin-Huxley representation of the sodium current in cardiac cells." Comput Biomed Res **20**(4): 333-50.
- Drouin, E., G. Lande, et al. (1998). "Amiodarone reduces transmural heterogeneity of repolarization in the human heart." J Am Coll Cardiol **32**(4): 1063-7.
- Duff, H. J., Z. P. Feng, et al. (1995). "High- and low-affinity sites for [3H]dofetilide binding to guinea pig myocytes." Circ Res **77**(4): 718-25.
- Duff, H. J., Z. P. Feng, et al. (1997). "Regulation of expression of the [3H]-dofetilide binding site associated with the delayed rectifier K⁺ channel by dexamethasone in neonatal mouse ventricle." J Mol Cell Cardiol **29**(7): 1959-65.
- Dukes, H. (1993). Dukes' physiology of domestic animals, Comstock Publishing Associates, Ithaca
- Dumaine, R., J. A. Towbin, et al. (1999). "Ionic mechanisms responsible for the electrocardiographic phenotype of the Brugada syndrome are temperature dependent." Circ Res **85**(9): 803-9.
- Dun, W., M. Jiang, et al. (1999). "Allosteric effects of mutations in the extracellular S5-P loop on the gating and ion permeation properties of the hERG potassium channel." Pflugers Arch **439**(1-2): 141-9.
- Ebert, S. N., X. K. Liu, et al. (1998). "Female gender as a risk factor for drug-induced cardiac arrhythmias: evaluation of clinical and experimental evidence." J Womens Health **7**(5): 547-57.
- Ebihara, L. and E. A. Johnson (1980). "Fast sodium current in cardiac muscle. A quantitative description." Biophys J **32**(2): 779-90.
- Efimov, I. R., D. T. Huang, et al. (1994). "Optical mapping of repolarization and refractoriness from intact hearts." Circulation **90**(3): 1469-80.
- el-Sherif, N. (1991). "Experimental models of reentry, antiarrhythmic, and proarrhythmic actions of drugs. Complexities galore!" Circulation **84**(4): 1871-5.
- Faber, G. M. and Y. Rudy (2000). "Action potential and contractility changes in [Na⁺]_i overloaded cardiac myocytes: a simulation study." Biophys J **78**(5): 2392-404.
- Falk, R. H. and J. M. Decara (2000). "Dofetilide: a new pure class III antiarrhythmic agent." Am Heart J **140**(5): 697-706.
- Fedida, D. and W. R. Giles (1991). "Regional variations in action potentials and transient outward current in myocytes isolated from rabbit left ventricle." J Physiol **442**: 191-209.
- Ficker, E., A. T. Dennis, et al. (2000). "Retention in the endoplasmic reticulum as a mechanism of dominant-negative current suppression in human long QT syndrome." J Mol Cell Cardiol **32**(12): 2327-37.
- Ficker, E., W. Jarolimek, et al. (1998). "Molecular determinants of dofetilide block of HERG K⁺ channels." Circ Res **82**(3): 386-95.

- Fink, M., D. Noble, et al. (2008). "Contributions of HERG K⁺ current to repolarization of the human ventricular action potential." Prog Biophys Mol Biol **96**(1-3): 357-76.
- Fiset, C., Z. P. Feng, et al. (1996). "[³H]dofetilide binding: biological models that manifest solely the high or the low affinity binding site." J Mol Cell Cardiol **28**(5): 1085-96.
- Fitzgerald, P. T. and M. J. Ackerman (2005). "Drug-induced torsades de pointes: the evolving role of pharmacogenetics." Heart Rhythm **2**(2 Suppl): S30-7.
- Gillis, A. M., R. A. Geonzon, et al. (1998). "The effects of barium, dofetilide and 4-aminopyridine (4-AP) on ventricular repolarization in normal and hypertrophied rabbit heart." J Pharmacol Exp Ther **285**(1): 262-70.
- Gillis, A. M., M. Traboulsi, et al. (1998). "Antiarrhythmic drug effects on QT interval dispersion in patients undergoing electropharmacologic testing for ventricular tachycardia and fibrillation." Am J Cardiol **81**(5): 588-93.
- Gima, K. and Y. Rudy (2002). "Ionic current basis of electrocardiographic waveforms: a model study." Circ Res **90**(8): 889-96.
- Gjini, V., M. Korth, et al. (1996). "Differential class III antiarrhythmic effects of ambasilide and dofetilide at different extracellular potassium and pacing frequencies." J Cardiovasc Pharmacol **28**(2): 314-20.
- Goldenberg, I. and A. J. Moss (2008). "Long QT syndrome." J Am Coll Cardiol **51**(24): 2291-300.
- Goldenberg, I., A. J. Moss, et al. (2008). "Risk factors for aborted cardiac arrest and sudden cardiac death in children with the congenital long-QT syndrome." Circulation **117**(17): 2184-91.
- Goldenberg I, M. A., Zareba W (2008). Time-dependent gender differences in the clinical course of patients with the congenital long -QT syndrome. Ventricular Arrhythmias and Sudden Cardiac Death. H. H. P Wang, A Al-Ahmad, P ze: 28-36.
- Gong, Q., C. L. Anderson, et al. (2004). "Pharmacological rescue of trafficking defective HERG channels formed by coassembly of wild-type and long QT mutant N470D subunits." Am J Physiol Heart Circ Physiol **287**(2): H652-8.
- Gowda, R. M., I. A. Khan, et al. (2004). "Female preponderance in ibutilide-induced torsade de pointes." Int J Cardiol **95**(2-3): 219-22.
- Grandi, E., F. S. Pasqualini, et al. (2010). "A novel computational model of the human ventricular action potential and Ca transient." J Mol Cell Cardiol **48**(1): 112-21.
- Grant, A.O.,L.J.Strauss, et al. (1980). "The influence of pH on th electrophysiological effects of lidocaine in guinea pig ventricular myocardium." Circ Res **47**(4): 542-50.
- Greenstein, J. L., R. Wu, et al. (2000). "Role of the calcium-independent transient outward current I_(to1) in shaping action potential morphology and duration." Circ Res **87**(11): 1026-33.

- Guth, B. D., S. Germeyer, et al. (2004). "Developing a strategy for the nonclinical assessment of proarrhythmic risk of pharmaceuticals due to prolonged ventricular repolarization." J Pharmacol Toxicol Methods **49**(3): 159-69.
- Gwilt, M., J. E. Arrowsmith, et al. (1991). "UK-68,798: a novel, potent and highly selective class III antiarrhythmic agent which blocks potassium channels in cardiac cells." J Pharmacol Exp Ther **256**(1): 318-24.
- Hancox, J. C. and A. F. James (2008). "Refining insights into high-affinity drug binding to the human ether-a-go-go-related gene potassium channel." Mol Pharmacol **73**(6): 1592-5.
- Haverkamp, W., G. Breithardt, et al. (2000). "The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Policy Conference of the European Society of Cardiology." Cardiovasc Res **47**(2): 219-33.
- Heisler, B. E. and G. R. Ferrier (1996). "Proarrhythmic actions of flecainide in an isolated tissue model of ischemia and reperfusion." J Pharmacol Exp Ther **279**(1): 317-24.
- Hille, B. (1977). "Local anesthetics: hydrophilic and hydrophobic pathways for the drug-receptor reaction." J Gen Physiol **69**(4): 497-515.
- Hille, B. (1977). "The pH-dependent rate of action of local anesthetics on the node of Ranvier." J Gen Physiol **69**(4): 475-96.
- Hille, B. (2001). Ion Channels of Excitable Membranes, Sinauer Associates Inc.
- Himmel, H. M., E. Wettwer, et al. (1999). "Four different components contribute to outward current in rat ventricular myocytes." Am J Physiol **277**(1 Pt 2): H107-18.
- Hobbs, J. B., D. R. Peterson, et al. (2006). "Risk of aborted cardiac arrest or sudden cardiac death during adolescence in the long-QT syndrome." JAMA **296**(10): 1249-54.
- Hodgkin, A. L. and A. F. Huxley (1952). "A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve." J Physiol **117**(4): 500-44.
- Hoffman, B. F. and M. R. Rosen (1981). "Cellular mechanisms for cardiac arrhythmias." Circ Res **49**(1): 1-15.
- Hondgheem, L. and B. G. Katzung (1980). "Test of a model of antiarrhythmic drug action. Effects of quinidine and lidocaine on myocardial conduction." Circulation **61**(6): 1217-24.
- Hondgheem, L. M. and B. G. Katzung (1977). "A unifying molecular model for the interaction of antiarrhythmic drugs with cardiac sodium channels: application to quinidine and lidocaine." Proc West Pharmacol Soc **20**: 253-6.
- Huikuri, H. V., S. M. Pikkujamsa, et al. (1996). "Sex-related differences in autonomic modulation of heart rate in middle-aged subjects." Circulation **94**(2): 122-5.
- Hume, J. R. and B. G. Katzung (1977). "Effects of autonomic neurotransmitters on automaticity in ventricular myocardium." Proc West Pharmacol Soc **20**: 257-62.

- Hund, T. J. and Y. Rudy (2004). "Rate dependence and regulation of action potential and calcium transient in a canine cardiac ventricular cell model." Circulation **110**(20): 3168-74.
- Huo, J., Y. Zhang, et al. (2008). "The G604S-hERG mutation alters the biophysical properties and exerts a dominant-negative effect on expression of hERG channels in HEK293 cells." Pflugers Arch **456**(5): 917-28.
- Itoh, H., T. Sakaguchi, et al. (2009). "Latent genetic backgrounds and molecular pathogenesis in drug-induced long-QT syndrome." Circ Arrhythm Electrophysiol **2**(5): 511-23.
- Iyer, V., R. Mazhari, et al. (2004). "A computational model of the human left-ventricular epicardial myocyte." Biophys J **87**(3): 1507-25.
- Jafri, M. S., J. J. Rice, et al. (1998). "Cardiac Ca²⁺ dynamics: the roles of ryanodine receptor adaptation and sarcoplasmic reticulum load." Biophys J **74**(3): 1149-68.
- James, A. F., L. A. Arberry, et al. (2004). "Gender-related differences in ventricular myocyte repolarization in the guinea pig." Basic Res Cardiol **99**(3): 183-92.
- James, A. F., S. C. Choisy, et al. (2007). "Recent advances in understanding sex differences in cardiac repolarization." Prog Biophys Mol Biol **94**(3): 265-319.
- James, A. F. and J. C. Hancox (2003). "Sex, drugs and arrhythmia: are gender differences in risk of torsades de pointes simply a matter of testosterone?" Cardiovasc Res **57**(1): 1-4.
- James, A. F., J. E. Ramsey, et al. (2001). "Effects of endothelin-1 on K(+) currents from rat ventricular myocytes." Biochem Biophys Res Commun **284**(4): 1048-55.
- January CT, G. Q., Zhou Z (2000). "Long QT syndrome: Cellular Basis and Arrhythmia Mechanism in LQT2." J. Cardiovasc. Electrophysiol. **11**: 1413-1418.
- Jervell, A. and F. Lange-Nielsen (1957). "Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death." Am Heart J **54**(1): 59-68.
- Jiang, C., D. Atkinson, et al. (1994). "Two long QT syndrome loci map to chromosomes 3 and 7 with evidence for further heterogeneity." Nat Genet **8**(2): 141-7.
- Johansson, M. and L. Carlsson (2001). "Female gender does not influence the magnitude of ibutilide-induced repolarization delay and incidence of torsades de pointes in an in vivo rabbit model of the acquired long QT syndrome." J Cardiovasc Pharmacol Ther **6**(3): 247-54.
- Johnson, J. P., Jr., F. M. Mullins, et al. (1999). "Human ether-a-go-go-related gene K⁺ channel gating probed with extracellular ca²⁺. Evidence for two distinct voltage sensors." J Gen Physiol **113**(4): 565-80.
- Jongbloed, R. J., A. A. Wilde, et al. (1999). "Novel KCNQ1 and HERG missense mutations in Dutch long-QT families." Hum Mutat **13**(4): 301-10.
- Kagan, A., Z. Yu, et al. (2000). "The dominant negative LQT2 mutation A561V reduces wild-type HERG expression." J Biol Chem **275**(15): 11241-8.

- Kanai, A. and G. Salama (1995). "Optical mapping reveals that repolarization spreads anisotropically and is guided by fiber orientation in guinea pig hearts." Circ Res **77**(4): 784-802.
- Kang, J., X. L. Chen, et al. (2004). "Cardiac ion channel effects of tolterodine." J Pharmacol Exp Ther **308**(3): 935-40.
- Katritsis, D., E. Rowland, et al. (1995). "Effect of flecainide on atrial and ventricular refractoriness and conduction in patients with normal left ventricle. Implications for possible antiarrhythmic and proarrhythmic mechanisms." Eur Heart J **16**(12): 1930-5.
- Keating, M., D. Atkinson, et al. (1991). "Linkage of a cardiac arrhythmia, the long QT syndrome, and the Harvey ras-1 gene." Science **252**(5006): 704-6.
- Khositseth, A., D. J. Tester, et al. (2004). "Identification of a common genetic substrate underlying postpartum cardiac events in congenital long QT syndrome." Heart Rhythm **1**(1): 60-4.
- Kiehn, J., A. E. Lacerda, et al. (1999). "Pathways of HERG inactivation." Am J Physiol **277**(1 Pt 2): H199-210.
- Kiehn, J., B. Wible, et al. (1996). "Mapping the block of a cloned human inward rectifier potassium channel by dofetilide." Mol Pharmacol **50**(2): 380-7.
- Kneller, J., H. Sun, et al. (2002). "Remodeling of Ca(2+)-handling by atrial tachycardia: evidence for a role in loss of rate-adaptation." Cardiovasc Res **54**(2): 416-26.
- Kober, L., P. E. Bloch Thomsen, et al. (2000). "Effect of dofetilide in patients with recent myocardial infarction and left-ventricular dysfunction: a randomised trial." Lancet **356**(9247): 2052-8.
- Kojima, M. and T. Ban (1988). "Nicorandil shortens action potential duration and antagonises the reduction of Vmax by lidocaine but not by disopyramide in guinea-pig papillary muscles." Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **337**(2): 203-12.
- Kowey, P. R., R. A. Marinchak, et al. (2000). "Classification and pharmacology of antiarrhythmic drugs." Am Heart J **140**(1): 12-20.
- Krahn, A. D., R. Yee, et al. (1995). "Inappropriate sinus tachycardia: evaluation and therapy." J Cardiovasc Electrophysiol **6**(12): 1124-8.
- Krikler, D. M. and P. V. Curry (1976). "Torsade De Pointes, an atypical ventricular tachycardia." Br Heart J **38**(2): 117-20.
- Kupershmidt, S., I. C. Yang, et al. (2003). "The IKr drug response is modulated by KCR1 in transfected cardiac and noncardiac cell lines." FASEB J **17**(15): 2263-5.
- Lacerda, A. E., Y. A. Kuryshev, et al. (2008). "Alfuzosin delays cardiac repolarization by a novel mechanism." J Pharmacol Exp Ther **324**(2): 427-33.
- Lam, C. and B. G. Katzung (1977). "Mechanism of arrhythmias caused by ouabain in depolarized ventricular myocardium." Proc West Pharmacol Soc **20**: 263-8.
- Lande, G., P. Maison-Blanche, et al. (1998). "Dynamic analysis of dofetilide-induced changes in ventricular repolarization." Clin Pharmacol Ther **64**(3): 312-21.

- Larsen, J. A. and A. H. Kadish (1998). "Effects of gender on cardiac arrhythmias." J Cardiovasc Electrophysiol **9**(6): 655-64.
- Leblanc, N., D. Chartier, et al. (1998). "Age and gender differences in excitation-contraction coupling of the rat ventricle." J Physiol **511 (Pt 2)**: 533-48.
- Lees-Miller, J. P., Y. Duan, et al. (2000). "Molecular determinant of high-affinity dofetilide binding to HERG1 expressed in *Xenopus* oocytes: involvement of S6 sites." Mol Pharmacol **57**(2): 367-74.
- Lees-Miller, J. P., C. Kondo, et al. (1997). "Electrophysiological characterization of an alternatively processed ERG K⁺ channel in mouse and human hearts." Circ Res **81**(5): 719-26.
- Lehmann, M. H., S. Hardy, et al. (1996). "Sex difference in risk of torsade de pointes with d,l-sotalol." Circulation **94**(10): 2535-41.
- Lehmann, M. H., K. W. Timothy, et al. (1997). "Age-gender influence on the rate-corrected QT interval and the QT-heart rate relation in families with genotypically characterized long QT syndrome." J Am Coll Cardiol **29**(1): 93-9.
- Levenberg, K. (1944). "A Method for the Solution of Certain Non-Linear Problems in Least Squares." The Quarterly of Applied Mathematics **2**: 164-168.
- Levy, R. (1922). "Clinical studies of quinidin IV. The clinical toxicology of quinidin." J. Am. Med. Assoc. **79**: 1108-1113.
- Li, G. R., J. Feng, et al. (1998). "Transmural heterogeneity of action potentials and Ito1 in myocytes isolated from the human right ventricle." Am J Physiol **275**(2 Pt 2): H369-77.
- Liew, R., M. A. Stagg, et al. (2004). "Gender determines the acute actions of genistein on intracellular calcium regulation in the guinea-pig heart." Cardiovasc Res **61**(1): 66-76.
- Liew R, S. M., Collins P, Macleod KT (2003). "Differences in male and female cardiomyocytes function can be related to sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ content and Na⁺/Ca²⁺ exchanger activity." J. Physiol. **552P**: C40.
- Liu, D. W. and C. Antzelevitch (1995). "Characteristics of the delayed rectifier current (IKr and IKs) in canine ventricular epicardial, midmyocardial, and endocardial myocytes. A weaker IKs contributes to the longer action potential of the M cell." Circ Res **76**(3): 351-65.
- Liu, D. W., G. A. Gintant, et al. (1993). "Ionic bases for electrophysiological distinctions among epicardial, midmyocardial, and endocardial myocytes from the free wall of the canine left ventricle." Circ Res **72**(3): 671-87.
- Liu, K., C. Ballew, et al. (1989). "Ethnic differences in blood pressure, pulse rate, and related characteristics in young adults. The CARDIA study." Hypertension **14**(2): 218-26.
- Liu, T., B. R. Choi, et al. (2005). "Sex modulates the arrhythmogenic substrate in prepubertal rabbit hearts with Long QT 2." J Cardiovasc Electrophysiol **16**(5): 516-24.

- Liu, X. K., A. Katchman, et al. (1998). "Gender difference in the cycle length-dependent QT and potassium currents in rabbits." J Pharmacol Exp Ther **285**(2): 672-9.
- Locati, E. H., W. Zareba, et al. (1998). "Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome: findings from the International LQTS Registry." Circulation **97**(22): 2237-44.
- London, B., M. C. Trudeau, et al. (1997). "Two isoforms of the mouse ether-a-go-go-related gene coassemble to form channels with properties similar to the rapidly activating component of the cardiac delayed rectifier K⁺ current." Circ Res **81**(5): 870-8.
- Lu, H. R., R. Marien, et al. (2001). "Species plays an important role in drug-induced prolongation of action potential duration and early afterdepolarizations in isolated Purkinje fibers." J Cardiovasc Electrophysiol **12**(1): 93-102.
- Lu, H. R., P. Remeysen, et al. (2001). "Female gender is a risk factor for drug-induced long QT and cardiac arrhythmias in an in vivo rabbit model." J Cardiovasc Electrophysiol **12**(5): 538-45.
- Lu, Y., M. P. Mahaut-Smith, et al. (2001). "Effects of premature stimulation on HERG K(+) channels." J Physiol **537**(Pt 3): 843-51.
- Luo, C. H. and Y. Rudy (1991). "A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction." Circ Res **68**(6): 1501-26.
- Luo, C. H. and Y. Rudy (1994). "A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. II. Afterdepolarizations, triggered activity, and potentiation." Circ Res **74**(6): 1097-113.
- Luo, C. H. and Y. Rudy (1994). "A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. I. Simulations of ionic currents and concentration changes." Circ Res **74**(6): 1071-96.
- Mahajan, A., Y. Shiferaw, et al. (2008). "A rabbit ventricular action potential model replicating cardiac dynamics at rapid heart rates." Biophys J **94**(2): 392-410.
- Makkar, R. R., B. S. Fromm, et al. (1993). "Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs." JAMA **270**(21): 2590-7.
- Marban, E. (2002). "Cardiac channelopathies." Nature **415**(6868): 213-8.
- Marquardt, D. (1963). "An Algorithm for Least-Squares Estimation of Nonlinear Parameters." SIAM Journal on Applied Mathematics **11**: 431-441.
- Marschang, H., T. Beyer, et al. (1998). "Differential rate and potassium-dependent effects of the class III agents d-sotalol and dofetilide on guinea pig papillary muscle." Cardiovasc Drugs Ther **12**(6): 573-83.
- Martin, R. M., P. N. Biswas, et al. (1998). "Age and sex distribution of suspected adverse drug reactions to newly marketed drugs in general practice in England: analysis of 48 cohort studies." Br J Clin Pharmacol **46**(5): 505-11.
- Mazhari, R., J. L. Greenstein, et al. (2001). "Molecular interactions between two long-QT syndrome gene products, HERG and KCNE2, rationalized by in vitro and in silico analysis." Circ Res **89**(1): 33-8.

- McAllister, R. E., D. Noble, et al. (1975). "Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres." J Physiol **251**(1): 1-59.
- McCrossan, Z. A., R. Billeter, et al. (2004). "Transmural changes in size, contractile and electrical properties of SHR left ventricular myocytes during compensated hypertrophy." Cardiovasc Res **63**(2): 283-92.
- Medeiros, A. (2006). "Sodium channel B4 subunit mutation causes congenital long QT syndrome." Heart rhythm **3**: S34.
- Medeiros-Domingo, A., P. Iturralde-Torres, et al. (2007). "[Clinical and genetic characteristics of long QT syndrome]." Rev Esp Cardiol **60**(7): 739-52.
- Meissner, F. L. (1856). "Taubstummheit und Taubstummgebildung." Leipzig und Heidelberg, Winter: 119-120.
- Merri, M., J. Benhorin, et al. (1989). "Electrocardiographic quantitation of ventricular repolarization." Circulation **80**(5): 1301-8.
- Milnes, J.T., H.J. Witchel, et al. (2010). "Investigating dynamic protocol-dependence of hERG potassium channel inhibition at 37 degrees C: Cisapride versus dofetilide." J Pharmacol Toxicol Methods **61**(2): 178-91.
- Mitcheson, J. S., J. Chen, et al. (2000). "A structural basis for drug-induced long QT syndrome." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(22): 12329-33.
- Mitcheson, J. S., J. Chen, et al. (2000). "Trapping of a methanesulfonanilide by closure of the HERG potassium channel activation gate." J Gen Physiol **115**(3): 229-40.
- Moe, G. K., W. C. Rheinboldt, et al. (1964). "A Computer Model of Atrial Fibrillation." Am Heart J **67**: 200-20.
- Mohler, P. J. and V. Bennett (2005). "Ankyrin-based cardiac arrhythmias: a new class of channelopathies due to loss of cellular targeting." Curr Opin Cardiol **20**(3): 189-93.
- Mohler, P. J., J. J. Schott, et al. (2003). "Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death." Nature **421**(6923): 634-9.
- Mohler, P. J., I. Splawski, et al. (2004). "A cardiac arrhythmia syndrome caused by loss of ankyrin-B function." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(24): 9137-42.
- Monserrat, M., J. Saiz, et al. (2000). "Ectopic activity in ventricular cells induced by early afterdepolarizations developed in Purkinje cells." Ann Biomed Eng **28**(11): 1343-51.
- Montero, M. and C. Schmitt (1996). "Recording of transmembrane action potentials in chronic ischemic heart disease and dilated cardiomyopathy and the effects of the new class III antiarrhythmic agents D-sotalol and dofetilide." J Cardiovasc Pharmacol **27**(4): 571-7.
- Morais Cabral, J. H., A. Lee, et al. (1998). "Crystal structure and functional analysis of the HERG potassium channel N terminus: a eukaryotic PAS domain." Cell **95**(5): 649-55.
- Morganroth, J. (1992). "Proarrhythmic effects of antiarrhythmic drugs: evolving concepts." Am Heart J **123**(4 Pt 2): 1137-9.
- Moss, A. J. and R. S. Kass (2005). "Long QT syndrome: from channels to cardiac arrhythmias." J Clin Invest **115**(8): 2018-24.

- Moss, A. J. and P. J. Schwartz (2005). "25th anniversary of the International Long-QT Syndrome Registry: an ongoing quest to uncover the secrets of long-QT syndrome." *Circulation* **111**(9): 1199-201.
- Moss, A. J., P. J. Schwartz, et al. (1991). "The long QT syndrome. Prospective longitudinal study of 328 families." *Circulation* **84**(3): 1136-44.
- Moss, A. J., W. Zareba, et al. (2002). "Increased risk of arrhythmic events in long-QT syndrome with mutations in the pore region of the human ether-a-go-go-related gene potassium channel." *Circulation* **105**(7): 794-9.
- Motte, G., P. Coumel, et al. (1970). "[The long QT syndrome and syncope caused by spike torsades]." *Arch Mal Coeur Vaiss* **63**(6): 831-53.
- Mounsey, J. P. and J. P. DiMarco (2000). "Cardiovascular drugs. Dofetilide." *Circulation* **102**(21): 2665-70.
- Napolitano, C., S. G. Priori, et al. (2005). "Genetic testing in the long QT syndrome: development and validation of an efficient approach to genotyping in clinical practice." *JAMA* **294**(23): 2975-80.
- Napolitano, C., P. J. Schwartz, et al. (2000). "Evidence for a cardiac ion channel mutation underlying drug-induced QT prolongation and life-threatening arrhythmias." *J Cardiovasc Electrophysiol* **11**(6): 691-6.
- Nattel, S. (1998). "Experimental evidence for proarrhythmic mechanisms of antiarrhythmic drugs." *Cardiovasc Res* **37**(3): 567-77.
- Neyroud, N., F. Tesson, et al. (1997). "A novel mutation in the potassium channel gene KVLQT1 causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome." *Nat Genet* **15**(2): 186-9.
- Noble, D. (1962). "A modification of the Hodgkin--Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pace-maker potentials." *J Physiol* **160**: 317-52.
- Noble, D., S. J. Noble, et al. (1991). "The role of sodium-calcium exchange during the cardiac action potential." *Ann N Y Acad Sci* **639**: 334-53.
- Nygren, A., C. Fiset, et al. (1998). "Mathematical model of an adult human atrial cell: the role of K⁺ currents in repolarization." *Circ Res* **82**(1): 63-81.
- O'Hara T, V. J., Varro A, Rudy Y (2011). "Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation." *PLOS Computational Biology* **7**.
- Obreztkhikova, M. N., E. A. Sosunov, et al. (2003). "Developmental changes in IKr and IKs contribute to age-related expression of dofetilide effects on repolarization and proarrhythmia." *Cardiovasc Res* **59**(2): 339-50.
- Okin, P. M., M. J. Roman, et al. (1995). "Gender differences and the electrocardiogram in left ventricular hypertrophy." *Hypertension* **25**(2): 242-9.
- Pandit, S. V., R. B. Clark, et al. (2001). "A mathematical model of action potential heterogeneity in adult rat left ventricular myocytes." *Biophys J* **81**(6): 3029-51.
- Pandit, S. V., W. R. Giles, et al. (2003). "A mathematical model of the electrophysiological alterations in rat ventricular myocytes in type-I diabetes." *Biophys J* **84**(2 Pt 1): 832-41.

- Perrin, M. J., P. W. Kuchel, et al. (2008). "Drug binding to the inactivated state is necessary but not sufficient for high-affinity binding to human ether-a-go-go-related gene channels." Mol Pharmacol **74**(5): 1443-52.
- Perrin, M. J., R. N. Subbiah, et al. (2008). "Human ether-a-go-go related gene (hERG) K⁺ channels: function and dysfunction." Prog Biophys Mol Biol **98**(2-3): 137-48.
- Petanceska, S. S., V. Nagy, et al. (2000). "Ovariectomy and 17beta-estradiol modulate the levels of Alzheimer's amyloid beta peptides in brain." Neurology **54**(12): 2212-7.
- Pham, T. V., R. B. Robinson, et al. (2002). "Effects of gonadal steroids on gender-related differences in transmural dispersion of L-type calcium current." Cardiovasc Res **53**(3): 752-62.
- Pham, T. V. and M. R. Rosen (2002). "Sex, hormones, and repolarization." Cardiovasc Res **53**(3): 740-51.
- Pham, T. V., E. A. Sosunov, et al. (2001). "Impact of sex and gonadal steroids on prolongation of ventricular repolarization and arrhythmias induced by I(K)-blocking drugs." Circulation **103**(17): 2207-12.
- Philp KL, C. S., Hussain M, Hart G (2002). "Actions of 17-oestradiol on the current-voltage relationship for the L-type calcium current in ventricular myocytes isolated from male and female rats." J. Physiol. **544P**: 57P-58P.
- Plaster, N. M., R. Tawil, et al. (2001). "Mutations in Kir2.1 cause the developmental and episodic electrical phenotypes of Andersen's syndrome." Cell **105**(4): 511-9.
- Plonsey, R. and R. Barr (1982). "The four-electrode resistivity technique as applied to cardiac muscle." IEEE Trans Biomed Eng **29**(7): 541-6.
- Pratt, C. M., A. J. Camm, et al. (1998). "Mortality in the Survival With ORal D-sotalol (SWORD) trial: why did patients die?" Am J Cardiol **81**(7): 869-76.
- Priebe, L. and D. J. Beuckelmann (1998). "Simulation study of cellular electric properties in heart failure." Circ Res **82**(11): 1206-23.
- Priori, P. S. a. S. (2004). Long QT Syndrome: Phenotype-Genotype Considerations.
- Priori, S. G. (2004). "Inherited arrhythmogenic diseases: the complexity beyond monogenic disorders." Circ Res **94**(2): 140-5.
- Priori, S. G., J. Barhanin, et al. (1999). "Genetic and molecular basis of cardiac arrhythmias: impact on clinical management part III." Circulation **99**(5): 674-81.
- Priori, S. G., C. Napolitano, et al. (1999). "Low penetrance in the long-QT syndrome: clinical impact." Circulation **99**(4): 529-33.
- Priori, S. G., C. Napolitano, et al. (2004). "Association of long QT syndrome loci and cardiac events among patients treated with beta-blockers." JAMA **292**(11): 1341-4.
- Priori, S. G., P. J. Schwartz, et al. (2003). "Risk stratification in the long-QT syndrome." N Engl J Med **348**(19): 1866-74.

- Puglisi, J. L. and D. M. Bers (2001). "LabHEART: an interactive computer model of rabbit ventricular myocyte ion channels and Ca transport." Am J Physiol Cell Physiol **281**(6): C2049-60.
- Ramirez, R. J., S. Nattel, et al. (2000). "Mathematical analysis of canine atrial action potentials: rate, regional factors, and electrical remodeling." Am J Physiol Heart Circ Physiol **279**(4): H1767-85.
- Rampe, D., M. K. Murawsky, et al. (1998). "The antipsychotic agent sertindole is a high affinity antagonist of the human cardiac potassium channel HERG." J Pharmacol Exp Ther **286**(2): 788-93.
- Ranger, S. and S. Nattel (1995). "Determinants and mechanisms of flecainide-induced promotion of ventricular tachycardia in anesthetized dogs." Circulation **92**(5): 1300-11.
- Ranki, H. J., G. R. Budas, et al. (2001). "Gender-specific difference in cardiac ATP-sensitive K(+) channels." J Am Coll Cardiol **38**(3): 906-15.
- Rashba, E. J., W. Zareba, et al. (1998). "Influence of pregnancy on the risk for cardiac events in patients with hereditary long QT syndrome. LQTS Investigators." Circulation **97**(5): 451-6.
- Rautaharju, P. M., C. Kooperberg, et al. (2006). "Electrocardiographic abnormalities that predict coronary heart disease events and mortality in postmenopausal women: the Women's Health Initiative." Circulation **113**(4): 473-80.
- Rautaharju, P. M., C. Kooperberg, et al. (2006). "Electrocardiographic predictors of incident congestive heart failure and all-cause mortality in postmenopausal women: the Women's Health Initiative." Circulation **113**(4): 481-9.
- Rautaharju, P. M., S. H. Zhou, et al. (1992). "Sex differences in the evolution of the electrocardiographic QT interval with age." Can J Cardiol **8**(7): 690-5.
- Redfern, W. S., L. Carlsson, et al. (2003). "Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development." Cardiovasc Res **58**(1): 32-45.
- Reinoehl, J., D. Frankovich, et al. (1996). "Probucol-associated tachyarrhythmic events and QT prolongation: importance of gender." Am Heart J **131**(6): 1184-91.
- Restivo, M., H. Yin, et al. (1995). "Reentrant arrhythmias in the subacute infarction period. The proarrhythmic effect of flecainide acetate on functional reentrant circuits." Circulation **91**(4): 1236-46.
- Rezazadeh, S., J. C. Hesketh, et al. (2004). "Rb⁺ flux through hERG channels affects the potency of channel blocking drugs: correlation with data obtained using a high-throughput Rb⁺ efflux assay." J Biomol Screen **9**(7): 588-97.
- Roden, D. M. (1998). "Taking the "idio" out of "idiosyncratic": predicting torsades de pointes." Pacing Clin Electrophysiol **21**(5): 1029-34.
- Roden, D. M. (2006). "Long QT syndrome: reduced repolarization reserve and the genetic link." J Intern Med **259**(1): 59-69.
- Roden, D. M. (2008). "Clinical practice. Long-QT syndrome." N Engl J Med **358**(2): 169-76.

- Roden, D. M. and J. R. Balsler (1999). "A plethora of mechanisms in the HERG-related long QT syndrome. Genetics meets electrophysiology." Cardiovasc Res **44**(2): 242-6.
- Roden, D. M., R. Lazzara, et al. (1996). "Multiple mechanisms in the long-QT syndrome. Current knowledge, gaps, and future directions. The SADS Foundation Task Force on LQTS." Circulation **94**(8): 1996-2012.
- Roden, D. M. and R. L. Woosley (1986). "Drug therapy. Flecainide." N Engl J Med **315**(1): 36-41.
- Roden, D. M. and R. L. Woosley (1986). "Drug therapy. Tocainide." N Engl J Med **315**(1): 41-5.
- Romano, C., G. Gemme, et al. (1963). "[Rare Cardiac Arrhythmias of the Pediatric Age. I. Repetitive Paroxysmal Tachycardia]." Minerva Pediatr **15**: 1155-64.
- Rouet, R., S. Picard, et al. (2000). "Electrophysiological effects of dofetilide in an in vitro model of "border zone" between normal and ischemic/reperfused myocardium." Circulation **101**(1): 86-93.
- Ruan, Y. F., N. Liu, et al. (2004). "Experimental study on the mechanism of sex difference in the risk of torsade de pointes." Chin Med J (Engl) **117**(4): 538-41.
- Rudy, Y. and J. R. Silva (2006). "Computational biology in the study of cardiac ion channels and cell electrophysiology." Q Rev Biophys **39**(1): 57-116.
- Saiz, J., J. Gomis-Tena, et al. (2011). "Effects of the antiarrhythmic drug dofetilide on transmural dispersion of repolarization in ventriculum. A computer modeling study." IEEE Trans Biomed Eng **58**(1): 43-53.
- Salata, J. J., N. K. Jurkiewicz, et al. (1996). "IK of rabbit ventricle is composed of two currents: evidence for IKs." Am J Physiol **271**(6 Pt 2): H2477-89.
- Sanguinetti, M. C., M. E. Curran, et al. (1996). "Spectrum of HERG K⁺-channel dysfunction in an inherited cardiac arrhythmia." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(5): 2208-12.
- Sanguinetti, M. C. and N. K. Jurkiewicz (1990). "Two components of cardiac delayed rectifier K⁺ current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents." J Gen Physiol **96**(1): 195-215.
- Sauer, A. J., A. J. Moss, et al. (2007). "Long QT syndrome in adults." J Am Coll Cardiol **49**(3): 329-37.
- Schonherr, R. and S. H. Heinemann (1996). "Molecular determinants for activation and inactivation of HERG, a human inward rectifier potassium channel." J Physiol **493 (Pt 3)**: 635-42.
- Schoonmaker, F. W., R. T. Osteen, et al. (1966). "Thioridazine (mellaril)-induced ventricular tachycardia controlled with an artificial pacemaker." Ann Intern Med **65**(5): 1076-8.
- Schwartz, P. J. (1985). "Idiopathic long QT syndrome: progress and questions." Am Heart J **109**(2): 399-411.
- Schwartz, P. J. and A. Malliani (1975). "Electrical alternation of the T-wave: clinical and experimental evidence of its relationship with the sympathetic nervous system and with the long Q-T syndrome." Am Heart J **89**(1): 45-50.

- Schwartz, P. J., S. G. Priori, et al. (2001). "Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias." Circulation **103**(1): 89-95.
- Schwartz, P. J., C. Spazzolini, et al. (2006). "The Jervell and Lange-Nielsen syndrome: natural history, molecular basis, and clinical outcome." Circulation **113**(6): 783-90.
- Schwartz, P. J., C. Spazzolini, et al. (2006). "The Jervell and Lange-Nielsen syndrome: natural history, molecular basis, and clinical outcome." Circulation **113**(6): 783-90.
- Schwartz, S. P. and L. N. Hallinger (1954). "Transient ventricular fibrillation. VI. Observations on the peripheral arterial pulse pressures in the course of transient ventricular fibrillation during established auriculoventricular dissociation." Am Heart J **48**(3): 390-404.
- Sekiya, S., S. Ichikawa, et al. (1984). "Distribution of action potential durations in the canine left ventricle." Jpn Heart J **25**(2): 181-94.
- Selzer, A. and H. W. Wray (1964). "Quinidine Syncope. Paroxysmal Ventricular Fibrillation Occurring during Treatment of Chronic Atrial Arrhythmias." Circulation **30**: 17-26.
- Seth, R., A. J. Moss, et al. (2007). "Long QT syndrome and pregnancy." J Am Coll Cardiol **49**(10): 1092-8.
- Shannon, T. R., F. Wang, et al. (2004). "A mathematical treatment of integrated Ca dynamics within the ventricular myocyte." Biophys J **87**(5): 3351-71.
- Shi, F., M. Ozawa, et al. (1999). "Secretion of ovarian inhibin and its physiologic roles in the regulation of follicle-stimulating hormone secretion during the estrous cycle of the female guinea pig." Biol Reprod **60**(1): 78-84.
- Shimizu, W., A. J. Moss, et al. (2009). "Genotype-phenotype aspects of type 2 long QT syndrome." J Am Coll Cardiol **54**(22): 2052-62.
- Sims, C., S. Reisenweber, et al. (2008). "Sex, age, and regional differences in L-type calcium current are important determinants of arrhythmia phenotype in rabbit hearts with drug-induced long QT type 2." Circ Res **102**(9): e86-100.
- Snyders, D. J. and A. Chaudhary (1996). "High affinity open channel block by dofetilide of HERG expressed in a human cell line." Mol Pharmacol **49**(6): 949-55.
- Spear, J. F. and E. N. Moore (2000). "Gender and seasonally related differences in myocardial recovery and susceptibility to sotalol-induced arrhythmias in isolated rabbit hearts." J Cardiovasc Electrophysiol **11**(8): 880-7.
- Spector, P. S., M. E. Curran, et al. (1996). "Fast inactivation causes rectification of the IKr channel." J Gen Physiol **107**(5): 611-9.
- Splawski, I., J. Shen, et al. (2000). "Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2." Circulation **102**(10): 1178-85.
- Splawski, I., K. W. Timothy, et al. (2005). "Severe arrhythmia disorder caused by cardiac L-type calcium channel mutations." Proc Natl Acad Sci U S A **102**(23): 8089-96; discussion 8086-8.

- Splawski, I., K. W. Timothy, et al. (2004). "Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism." Cell **119**(1): 19-31.
- Splawski, I., M. Tristani-Firouzi, et al. (1997). "Mutations in the hminK gene cause long QT syndrome and suppress IKs function." Nat Genet **17**(3): 338-40.
- Starmer, C. F. (1987). "Theoretical characterization of ion channel blockade. Competitive binding to periodically accessible receptors." Biophys J **52**(3): 405-12.
- Starmer, C. F. (1988). "Characterizing activity-dependent processes with a piecewise exponential model." Biometrics **44**(2): 549-59.
- Starmer, C. F. and K. R. Courtney (1986). "Modeling ion channel blockade at guarded binding sites: application to tertiary drugs." Am J Physiol **251**(4 Pt 2): H848-56.
- Starmer, C. F., A. O. Grant, et al. (1984). "Mechanisms of use-dependent block of sodium channels in excitable membranes by local anesthetics." Biophys J **46**(1): 15-27.
- Starmer, C. F. and R. B. Kerr (1985). "Simulation of use-dependent uptake of ion channel blocking agents by excitable membranes." IEEE Trans Biomed Eng **32**(10): 770-4.
- Starmer, C. F., V. V. Nesterenko, et al. (1990). "Use of ionic currents to identify and estimate parameters in models of channel blockade." Am J Physiol **259**(2 Pt 2): H626-34.
- Stramba-Badiale, M., E. H. Locati, et al. (1997). "Gender and the relationship between ventricular repolarization and cardiac cycle length during 24-h Holter recordings." Eur Heart J **18**(6): 1000-6.
- Sun, Z., P. M. Milos, et al. (2004). "Role of a KCNH2 polymorphism (R1047 L) in dofetilide-induced Torsades de Pointes." J Mol Cell Cardiol **37**(5): 1031-9.
- Tachibana, H., M. Yamaki, et al. (1999). "Intracoronary flecainide induces ST alternans and reentrant arrhythmia on intact canine heart: A role of 4-aminopyridine-sensitive current." Circulation **99**(12): 1637-43.
- Tawil, R., L. J. Ptacek, et al. (1994). "Andersen's syndrome: potassium-sensitive periodic paralysis, ventricular ectopy, and dysmorphic features." Ann Neurol **35**(3): 326-30.
- ten Tusscher, K. H., O. Bernus, et al. (2006). "Comparison of electrophysiological models for human ventricular cells and tissues." Prog Biophys Mol Biol **90**(1-3): 326-45.
- ten Tusscher, K. H., D. Noble, et al. (2004). "A model for human ventricular tissue." Am J Physiol Heart Circ Physiol **286**(4): H1573-89.
- Tester, D. J., M. L. Will, et al. (2005). "Compendium of cardiac channel mutations in 541 consecutive unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing." Heart Rhythm **2**(5): 507-17.
- Torp-Pedersen, C., B. Brendorp, et al. (2000). "Dofetilide: a class III anti-arrhythmic drug for the treatment of atrial fibrillation." Expert Opin Investig Drugs **9**(11): 2695-704.

- Torp-Pedersen, C., M. Moller, et al. (1999). "Dofetilide in patients with congestive heart failure and left ventricular dysfunction. Danish Investigations of Arrhythmia and Mortality on Dofetilide Study Group." N Engl J Med **341**(12): 857-65.
- Torp-Pedersen, C. T., M. Moller, et al. (2000). "[Dofetilide to patients with heart failure and left ventricular dysfunction]." Ugeskr Laeger **162**(44): 5948-53.
- Trepanier-Boulay, V., C. St-Michel, et al. (2001). "Gender-based differences in cardiac repolarization in mouse ventricle." Circ Res **89**(5): 437-44.
- Tristani-Firouzi, M., J. Chen, et al. (2001). "Molecular biology of K(+) channels and their role in cardiac arrhythmias." Am J Med **110**(1): 50-9.
- Tseng, G. N. (2001). "I(Kr): the hERG channel." J Mol Cell Cardiol **33**(5): 835-49.
- Undrovinas, A. I., N. Burnashev, et al. (1990). "Quinidine blocks adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channels in heart." Am J Physiol **259**(5 Pt 2): H1609-12.
- Valverde, E. R., M. O. Biagetti, et al. (2003). "Developmental changes of cardiac repolarization in rabbits: implications for the role of sex hormones." Cardiovasc Res **57**(3): 625-31.
- Vandenberg, J. I., A. M. Torres, et al. (2004). "The HERG K+ channel: progress in understanding the molecular basis of its unusual gating kinetics." Eur Biophys J **33**(2): 89-97.
- Vandenberg, J. I., B. D. Walker, et al. (2001). "HERG K+ channels: friend and foe." Trends Pharmacol Sci **22**(5): 240-6.
- Varro, A., B. Balati, et al. (2000). "The role of the delayed rectifier component IKs in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization." J Physiol **523 Pt 1**: 67-81.
- Vatta, M., M. J. Ackerman, et al. (2006). "Mutant caveolin-3 induces persistent late sodium current and is associated with long-QT syndrome." Circulation **114**(20): 2104-12.
- Verkerk, A. O., R. Wilders, et al. (2006). "Cellular basis of sex disparities in human cardiac electrophysiology." Acta Physiol (Oxf) **187**(4): 459-77.
- Villareal, R. P., A. L. Woodruff, et al. (2001). "Gender and cardiac arrhythmias." Tex Heart Inst J **28**(4): 265-75.
- Viskin, S. (1999). "Long QT syndromes and torsade de pointes." Lancet **354**(9190): 1625-33.
- Viswanathan, P. C., R. M. Shaw, et al. (1999). "Effects of IKr and IKs heterogeneity on action potential duration and its rate dependence: a simulation study." Circulation **99**(18): 2466-74.
- Volders, P. G., K. R. Sipido, et al. (1999). "Downregulation of delayed rectifier K(+) currents in dogs with chronic complete atrioventricular block and acquired torsades de pointes." Circulation **100**(24): 2455-61.
- Wang, Q., M. E. Curran, et al. (1996). "Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias." Nat Genet **12**(1): 17-23.

- Wang, Q., J. Shen, et al. (1995). "Cardiac sodium channel mutations in patients with long QT syndrome, an inherited cardiac arrhythmia." Hum Mol Genet **4**(9): 1603-7.
- Wang, S., S. Liu, et al. (1997). "A quantitative analysis of the activation and inactivation kinetics of HERG expressed in *Xenopus* oocytes." J Physiol **502** (Pt 1): 45-60.
- Ward, O. C. (1964). "A New Familial Cardiac Syndrome in Children." J Ir Med Assoc **54**: 103-6.
- Warmke, J., R. Drysdale, et al. (1991). "A distinct potassium channel polypeptide encoded by the *Drosophila* eag locus." Science **252**(5012): 1560-2.
- Warmke, J. W. and B. Ganetzky (1994). "A family of potassium channel genes related to eag in *Drosophila* and mammals." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(8): 3438-42.
- Watanabe, T., L. M. Delbridge, et al. (1983). "Heterogeneity of the action potential in isolated rat ventricular myocytes and tissue." Circ Res **52**(3): 280-90.
- Weerapura, M., T. E. Hebert, et al. (2002). "Dofetilide block involves interactions with open and inactivated states of HERG channels." Pflugers Arch **443**(4): 520-31.
- Weerapura, M., S. Nattel, et al. (2002). "A comparison of currents carried by HERG, with and without coexpression of MiRP1, and the native rapid delayed rectifier current. Is MiRP1 the missing link?" J Physiol **540**(Pt 1): 15-27.
- Weerapura, M., S. Nattel, et al. (2000). "State-dependent barium block of wild-type and inactivation-deficient HERG channels in *Xenopus* oocytes." J Physiol **526** Pt 2: 265-78.
- Weirich, J. and H. Antoni (1989). "Modelling frequency- and voltage-dependent effects of a class I antiarrhythmic drug (nicainoprol) on Vmax of the cardiac action potential from guinea-pig papillary muscle." Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **340**(4): 456-64.
- Wiegerinck, R. F., A. O. Verkerk, et al. (2006). "Larger cell size in rabbits with heart failure increases myocardial conduction velocity and QRS duration." Circulation **113**(6): 806-13.
- Wijffels, M. C., R. Dorland, et al. (2000). "Widening of the excitable gap during pharmacological cardioversion of atrial fibrillation in the goat: effects of cibenzoline, hydroquinidine, flecainide, and d-sotalol." Circulation **102**(2): 260-7.
- Winslow, R. L., J. Rice, et al. (1999). "Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure, II: model studies." Circ Res **84**(5): 571-86.
- Wirth, K. J. and K. Knobloch (2001). "Differential effects of dofetilide, amiodarone, and class Ic drugs on left and right atrial refractoriness and left atrial vulnerability in pigs." Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **363**(2): 166-74.

- Witchel, H. J. and J. C. Hancox (2000). "Familial and acquired long qt syndrome and the cardiac rapid delayed rectifier potassium current." Clin Exp Pharmacol Physiol **27**(10): 753-66.
- Woosley, R. L., Y. Chen, et al. (1993). "Mechanism of the cardiotoxic actions of terfenadine." JAMA **269**(12): 1532-6.
- Wu, Y. and M. E. Anderson (2002). "Reduced repolarization reserve in ventricular myocytes from female mice." Cardiovasc Res **53**(3): 763-9.
- Yamashita, T., T. Nakajima, et al. (1995). "Flecainide inhibits the transient outward current in atrial myocytes isolated from the rabbit heart." J Pharmacol Exp Ther **274**(1): 315-21.
- Yan, G. X., S. J. Rials, et al. (2001). "Ventricular hypertrophy amplifies transmural repolarization dispersion and induces early afterdepolarization." Am J Physiol Heart Circ Physiol **281**(5): H1968-75.
- Yan, G. X., W. Shimizu, et al. (1998). "Characteristics and distribution of M cells in arterially perfused canine left ventricular wedge preparations." Circulation **98**(18): 1921-7.
- Yang, T., D. J. Snyders, et al. (1997). "Rapid inactivation determines the rectification and [K⁺]_o dependence of the rapid component of the delayed rectifier K⁺ current in cardiac cells." Circ Res **80**(6): 782-9.
- Yanowitz, F., J. B. Preston, et al. (1966). "Functional distribution of right and left stellate innervation to the ventricles. Production of neurogenic electrocardiographic changes by unilateral alteration of sympathetic tone." Circ Res **18**(4): 416-28.
- Yap, Y. G. and A. J. Camm (2003). "Drug induced QT prolongation and torsades de pointes." Heart **89**(11): 1363-72.
- Yoon, G., S. Oberoi, et al. (2006). "Andersen-Tawil syndrome: prospective cohort analysis and expansion of the phenotype." Am J Med Genet A **140**(4): 312-21.
- Yuan, S., B. Wohlfart, et al. (1994). "Effect of dofetilide on cardiac repolarization in patients with ventricular tachycardia. A study using simultaneous monophasic action potential recordings from two sites in the right ventricle." Eur Heart J **15**(4): 514-22.
- Zareba, W. (2006). "Genotype-specific ECG patterns in long QT syndrome." J Electrocardiol **39**(4 Suppl): S101-6.
- Zareba, W., A. J. Moss, et al. (2003). "Modulating effects of age and gender on the clinical course of long QT syndrome by genotype." J Am Coll Cardiol **42**(1): 103-9.
- Zeng, J., K. R. Laurita, et al. (1995). "Two components of the delayed rectifier K⁺ current in ventricular myocytes of the guinea pig type. Theoretical formulation and their role in repolarization." Circ Res **77**(1): 140-52.
- Zhang, L., D. W. Benson, et al. (2005). "Electrocardiographic features in Andersen-Tawil syndrome patients with KCNJ2 mutations: characteristic T-U-wave patterns predict the KCNJ2 genotype." Circulation **111**(21): 2720-6.

- Zhang, L., K. W. Timothy, et al. (2000). "Spectrum of ST-T-wave patterns and repolarization parameters in congenital long-QT syndrome: ECG findings identify genotypes." Circulation **102**(23): 2849-55.
- Zhang, Y., N. Zhou, et al. (2007). "A missense mutation (G604S) in the S5/pore region of HERG causes long QT syndrome in a Chinese family with a high incidence of sudden unexpected death." Eur J Pediatr **166**(9): 927-33.
- Zhou, Z., Q. Gong, et al. (1998). "HERG channel dysfunction in human long QT syndrome. Intracellular transport and functional defects." J Biol Chem **273**(33): 21061-6.
- Zipes, D. P., Ed. (1980). Producción de arritmias cardiacas: consideraciones electrofisiológicas. Mexico DF, McGraw Hill Interamericana.
- Zipes, D. P. (1991). "The long QT interval syndrome. A Rosetta stone for sympathetic related ventricular tachyarrhythmias." Circulation **84**(3): 1414-9.

PUBLICACIONES

PUBLICACIONES

ARTICULOS EN REVISTAS

Markovian hERG model and action potential voltage clamp outline dofetilide characteristics. En preparación.

Dofetilide and pore and non-pore mutations interactions by modeling hERG. En preparación.

PONENCIAS EN CONGRESOS INTERNACIONALES

Combined Effects of Acquired LQT Syndrome by Dofetilide and Reduced Repolarization Reserve on Human Ventricular Action Potential: A Simulation Study. R Gonzalez, L Romero, J Gomis-Tena, B Trenor, JM Ferrero, J Saiz. Proceedings of Computers in Cardiology, CinC 2009; 36:445-448. Park City, USA.

Sex and Age Related Differences in Drug Induced QT Prolongation by Dofetilide under Reduced Repolarization Reserve in Simulated Ventricular Cells. Rodolfo Gonzalez, Julio Gomis-Tena, Alberto Corrias, Jose Maria Ferrero, Blanca Rodriguez, Javier Saiz. Proceedings of International Conference of the IEEE Engineering on Medicine and Biology Society IEEE-EMBS 2010; 3245-3248. Buenos Aires, Argentina.

Gender and Age Based Differences in Risk of Proarrhythmia by Dofetilide: A Computational Model Study. R Gonzalez, J Gomis-Tena, A Corrias, JM Ferrero, B Rodriguez, J Saiz. Proceedings of Computing in Cardiology CinC 2010;37: 641-644. Belfast, Ireland.

PONENCIAS EN CONGRESOS NACIONALES

Interacciones del síndrome de QT largo adquirido por dofetilide y la reserva de repolarización reducida. R Gonzalez, L Romero, J Gomis-Tena, B Trenor, JM Ferrero, J Saiz. Memoria del XXVII Congreso Annual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica CASEIB 2009; 371-374. Cádiz, España.

REPORTES TÉCNICOS

Deliverable D.2.1. “Description of Models”. European Project: Computational Prediction of Drug Cardiac Toxicity (Predict). Grant Agreement Number 224381. Work Package 3.

Deliverable D.3.1. “Models of Competitive Drug Binding”. European Project: Computational Prediction of Drug Cardiac Toxicity (Predict). Grant Agreement Number 224381. Work Package 3.

Deliverable D.3.2. “Generalised ion channel markov models incorporating possible mutations ”. European Project: Computational Prediction of Drug Cardiac Toxicity (Predict). Grant Agreement Number 224381. Work Package 3.