

Artículo original

Estudio experimental de los efectos de EIPA, losartán y BQ-123 sobre las modificaciones electrofisiológicas inducidas por el estiramiento miocárdico

Francisco J. Chorro^{a,b,*}, Irene del Canto^b, Laia Brines^c, Luis Such-Miquel^d, Conrado Calvo^e, Carlos Soler^c, Manuel Zarzoso^d, Isabel Traperó^f, Álvaro Tormos^e y Luis Such^c^aServicio de Cardiología, Hospital Clínico Universitario de Valencia, INCLIVA, Valencia, España^bDepartamento de Medicina, Universidad de Valencia-Estudi General, Valencia, España^cDepartamento de Fisiología, Universidad de Valencia-Estudi General, Valencia, España^dDepartamento de Fisioterapia, Universidad de Valencia-Estudi General, Valencia, España^eDepartamento de Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España^fDepartamento de Enfermería, Universidad de Valencia-Estudi General, Valencia, España

Historia del artículo:

Recibido el 8 de septiembre de 2014

Aceptado el 12 de diciembre de 2014

On-line el 16 de mayo de 2015

Palabras clave:

Arritmia
Electrofisiología
Endotelina
Estrés biomecánico
Fármacos
Fibrilación ventricular
Inhibidores de la angiotensina
Investigación básica
Mapeo
Miocardio

RESUMEN

Introducción y objetivos: Se han implicado diversos mecanismos en la respuesta mecánica al estiramiento miocárdico, que incluyen la activación del intercambiador Na^+/H^+ por acciones autocrinas y paracrinas. Se estudia la participación de estos mecanismos en las respuestas electrofisiológicas al estiramiento agudo miocárdico mediante el análisis de los cambios inducidos con fármacos.**Métodos:** Se analizan las modificaciones de la fibrilación ventricular inducidas por el estiramiento agudo miocárdico en corazones de conejo aislados y perfundidos utilizando electrodos múltiples epicárdicos y técnicas cartográficas. Se estudian 4 series: control ($n = 9$); durante la perfusión del antagonista de los receptores de la angiotensina II, losartán ($1 \mu\text{M}$, $n = 8$); durante la perfusión del bloqueador del receptor de la endotelina A, BQ-123 ($0,1 \mu\text{M}$, $n = 9$), y durante la perfusión del inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ , EIPA (5-[N-ethyl-N-isopropyl]-amiloride) ($1 \mu\text{M}$, $n = 9$).**Resultados:** EIPA atenuó el aumento de la frecuencia dominante de la fibrilación producido por el estiramiento (control = 40,4%; losartán = 36% [no significativo]; BQ-123 = 46% [no significativo], y EIPA = 22% [$p < 0,001$]). Durante el estiramiento, la complejidad de los mapas de activación fue menor en la serie con EIPA ($p < 0,0001$) y también en esta serie fue mayor la concentración espectral de la arritmia (mayor regularidad): control = $18 \pm 3\%$; EIPA = $26 \pm 9\%$ ($p < 0,02$); losartán = $18 \pm 5\%$ (no significativo), y BQ-123 = $18 \pm 4\%$ (no significativo).**Conclusiones:** El inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ EIPA atenúa los efectos electrofisiológicos responsables de la aceleración y del aumento de la complejidad de la fibrilación ventricular producidos por el estiramiento agudo miocárdico. Por el contrario, el antagonista de los receptores de la angiotensina II, losartán, y el del receptor A de la endotelina, BQ-123, no modifican estos efectos.

© 2014 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Experimental Study of the Effects of EIPA, Losartan, and BQ-123 on Electrophysiological Changes Induced by Myocardial Stretch

ABSTRACT

Introduction and objectives: Mechanical response to myocardial stretch has been explained by various mechanisms, which include Na^+/H^+ exchanger activation by autocrine-paracrine system activity. Drug-induced changes were analyzed to investigate the role of these mechanisms in the electrophysiological responses to acute myocardial stretch.**Methods:** Multiple epicardial electrodes and mapping techniques were used to analyze changes in ventricular fibrillation induced by acute myocardial stretch in isolated perfused rabbit hearts. Four series were studied: control ($n = 9$); during perfusion with the angiotensin receptor blocker losartan ($1 \mu\text{M}$, $n = 8$); during perfusion with the endothelin A receptor blocker BQ-123 ($0.1 \mu\text{M}$, $n = 9$), and during perfusion with the Na^+/H^+ exchanger inhibitor EIPA (5-[N-ethyl-N-isopropyl]-amiloride) ($1 \mu\text{M}$, $n = 9$).

Keywords:

Arrhythmia
Electrophysiology
Endothelin
Biomechanical stress
Drugs
Ventricular fibrillation
Angiotensin inhibitors
Basic research
Mapping
Myocardium* Autor para correspondencia: Servicio de Cardiología, Hospital Clínico Universitario, Avda. Blasco Ibáñez 17, 46010 Valencia, España. Correo electrónico: Francisco.J.Chorro@uv.es (F.J. Chorro).

Results: EIPA attenuated the increase in the dominant frequency of stretch-induced fibrillation (control = 40.4%; losartan = 36% [not significant]; BQ-123 = 46% [not significant]; and EIPA = 22% [$P < .001$]). During stretch, the activation maps were less complex ($P < .0001$) and the spectral concentration of the arrhythmia was greater (greater regularity) in the EIPA series: control = 18 (3%); EIPA = 26 (9%) ($P < .02$); losartan = 18 (5%) (not significant); and BQ-123 = 18 (4%) (not significant).

Conclusions: The Na^+/H^+ exchanger inhibitor EIPA attenuated the electrophysiological effects responsible for the acceleration and increased complexity of ventricular fibrillation induced by acute myocardial stretch. The angiotensin II receptor antagonist losartan and the endothelin A receptor blocker BQ-123 did not modify these effects.

Full English text available from: www.revespcardiol.org/en

© 2014 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Abreviaturas

CES: concentración espectral
 FRD: frecuencia dominante
 FV: fibrilación ventricular
 P5: percentil 5 de los intervalos de activación consecutivos durante la fibrilación ventricular
 VV: mediana de los intervalos de activación consecutivos durante la fibrilación ventricular

INTRODUCCIÓN

Se han implicado diversos mecanismos en la respuesta mecánica de los miocitos ante el estiramiento, que incluyen, entre otros, la liberación local de angiotensina II y de endotelina, la activación del intercambiador Na^+/H^+ , el aumento de la entrada de Na^+ , la activación del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ y el aumento de los transitorios de Ca^{2+} .^{1,2} La información sobre la participación de estos mecanismos en las respuestas electrofisiológicas ante el estiramiento miocárdico (*feedback* mecanoeléctrico) es escasa, así como el estudio de las modificaciones farmacológicas de los efectos proarrítmicos del estiramiento^{3–10}.

La inhibición de los intercambiadores Na^+/H^+ o $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ da lugar a una disminución de la respuesta inotrópica lenta ante el estiramiento y de la magnitud de los transitorios de Ca^{2+} .^{1,2,11–14} A su vez, en relación con el *feedback* mecanoeléctrico, el bloqueador del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, KB-R7943, reduce las modificaciones electrofisiológicas inducidas por el estiramiento⁵, pero se desconoce si la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ o el bloqueo de los efectos de sustancias que pueden intervenir en su activación tras el estiramiento miocárdico, como la angiotensina II y la endotelina^{1,15}, también lo hacen.

En el presente estudio se utiliza un modelo experimental para aportar más información sobre los mecanismos implicados en las respuestas electrofisiológicas ante el estiramiento miocárdico y en sus modificaciones farmacológicas. El análisis de las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular (FV) permite objetivar el curso temporal de las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas miocárdicas producidas por el estiramiento agudo aplicado en la pared libre ventricular izquierda^{5,16,17}. Los objetivos del estudio han sido: a) determinar si la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ , cuya activación durante el estiramiento es un paso previo a la activación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en su modo inverso, también bloquea o atenúa las respuestas electrofisiológicas al estiramiento, y b) determinar si la inhibición de los receptores tipo 1 de la angiotensina II o de los receptores A de la endotelina, cuya activación se ha sugerido que

interviene en la respuesta mecánica de los miocitos ante el estiramiento, también modifica las manifestaciones del *feedback* mecanoeléctrico en el modelo experimental utilizado.

MÉTODOS

Preparación experimental

El presente estudio cumple con las recomendaciones de la directiva de la Unión Europea 2010/63/EU para la experimentación con animales. Se han utilizado conejos Nueva Zelanda que tras premedicación con ketamina y heparinización fueron sacrificados con tiopental sódico. Tras extraer el corazón se canuló la aorta utilizando un sistema de Langendorff para perfundir Tyrode oxigenado a 80 mmHg y $37 \pm 0,5$ °C.

Tal como se ha descrito en estudios previos^{5,16–18} se insertó un dispositivo en la cavidad ventricular izquierda a través de la aurícula, con la finalidad de provocar el estiramiento de una zona circunscrita de la pared ventricular. Se utilizaron 2 electrodos múltiples compuestos por 121 y 115 electrodos unipolares de acero inoxidable (distancia interelectrodos = 1 mm) situados en el epicardio de la pared anterior (zona estirada) y en el de la pared posterior (zona no estirada) (figura 1). Los registros y las técnicas de estimulación fueron similares a los de los estudios mencionados.

Series experimentales

Se estudiaron 4 series: a) control (n = 9); b) durante la perfusión del antagonista de los receptores de la angiotensina II, losartán (1 μM , n = 8); c) durante la perfusión del bloqueador del receptor de la endotelina A, BQ-123 (0,1 μM , n = 9), y d) durante la perfusión del inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ , EIPA (5-[N-ethyl-N-isopropyl]-amiloride) (1 μM , n = 9). La concentración de estas sustancias estuvo dentro de los márgenes utilizados en estudios experimentales^{15,19–22} y su perfusión se inició 15 min antes del estudio electrofisiológico.

En cada serie, 30 min después de situar los electrodos, se indujo la FV mediante estimulación a frecuencias crecientes y se mantuvo la perfusión coronaria. Cinco minutos tras la inducción de la FV se aplicó el estiramiento con incrementos longitudinales del 12% en los ejes vertical y horizontal de la zona modificada¹⁶. El estiramiento local se suprimió tras 10 min.

Análisis de los datos

Análisis espectral de la fibrilación ventricular

Se utilizó el método de Welch²³ para obtener el espectro de potencia de las señales registradas con cada electrodo unipolar

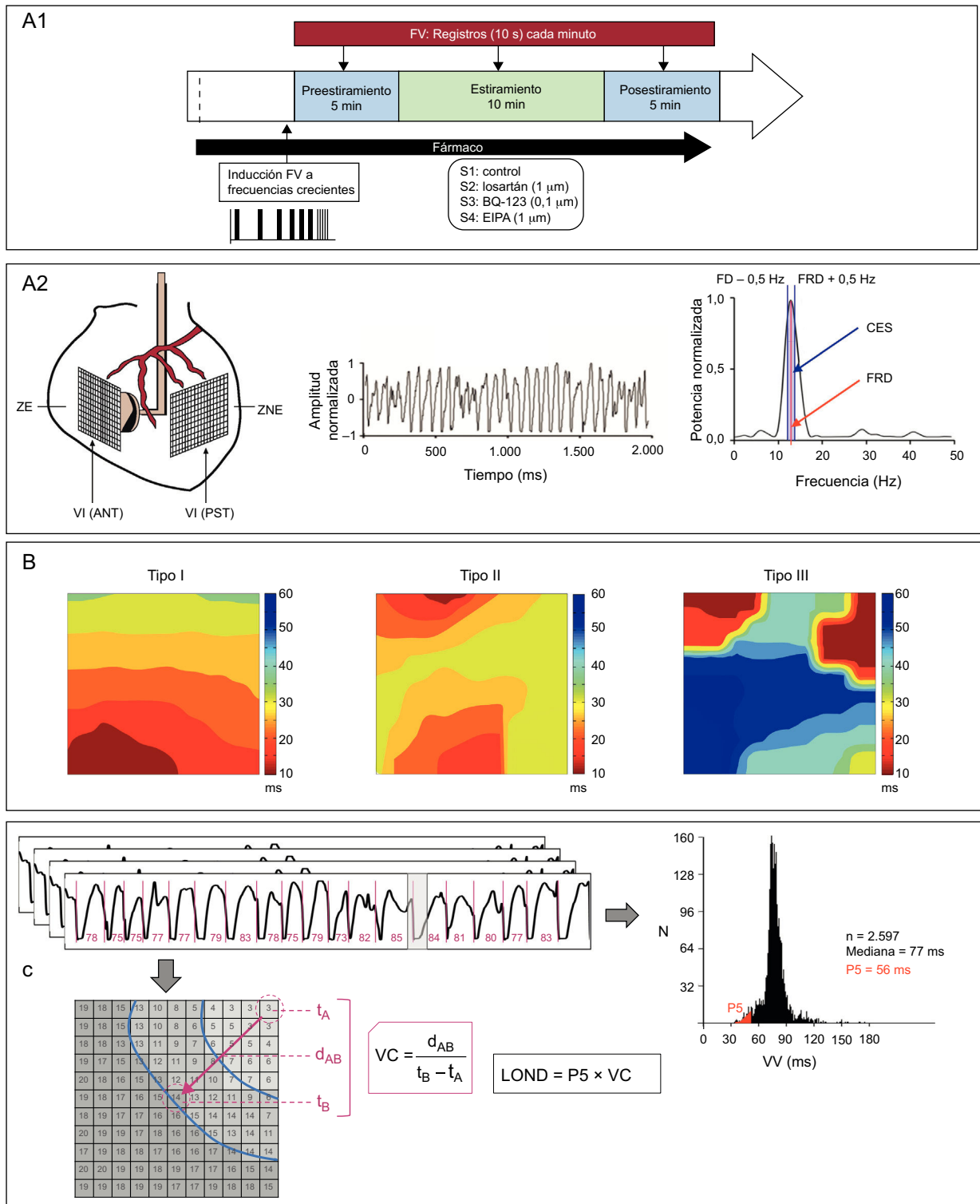


Figura 1. A.1: esquema del protocolo experimental. A.2: ubicación de los electrodos múltiples del dispositivo utilizado para efectuar el estiramiento miocárdico y ejemplos de registro y de análisis espectral. B: tipos de mapas de activación según su complejidad. C: parámetros electrofisiológicos utilizados. CES: concentración espectral; FRD: frecuencia dominante; d_{AB} : distancia entre 2 electrodos situados en la dirección del frente de activación (perpendicular a las isócronas); EIPA: 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride; FV: fibrilación ventricular; LOND: longitud de onda; P5: percentil 5; t_A y t_B : tiempos de activación en los electrodos A y B; VC: velocidad de conducción; VI (ANT): pared anterior del ventrículo izquierdo; VI (PST): pared posterolateral del ventrículo izquierdo; VV: mediana de los intervalos de activación consecutivos durante la fibrilación ventricular; ZE: zona estirada; ZNE: zona no estirada.

localizado en las 2 zonas de estudio. Este análisis se efectuó cada minuto antes del estiramiento, durante él y tras su supresión (figura 1). El espectro correspondió a los primeros 4 s de cada registro (4.096 puntos, frecuencia de muestreo = 1 kHz). La frecuencia

dominante (FRD) en cada electrodo consistió en el valor máximo de la densidad espectral de potencia. Se calculó también la concentración espectral (CES) que corresponde al porcentaje de la energía total contenida en el intervalo $FRD \pm 0,5$ Hz.

Análisis en el dominio del tiempo

Se determinaron los tiempos de activación local en cada electrodo siguiendo la metodología descrita con anterioridad^{5,16-18}. Se determinó la mediana de los intervalos de activación consecutivos durante la FV (VV) y el percentil 5 (P5) en cada electrodo durante ventanas de tiempo de 2 s basalmente, a los 3 min del inicio del estiramiento y a los 3 min tras su supresión. Estas 3 ventanas de tiempo se eligieron tras efectuar el análisis espectral, que permitió la determinación rápida del momento de máximo efecto durante el estiramiento y el intervalo de tiempo necesario para la desaparición de estos efectos.

Mapas de activación

Se construyeron los mapas de activación durante la FV cada 100 ms en las ventanas de tiempo anteriormente mencionadas, tal como ha sido descrito en estudios previos^{5,16,17,24}. Cada mapa se clasificó según su complejidad: baja (tipo I), intermedia (tipo II) o alta (tipo III) (figuras 1 y 2). Se consideró un patrón de afloramiento cuando se localizaba la activación más precoz en el área del multielectrodo, con activación centrífuga. La velocidad de conducción durante la FV se determinó efectuando el cociente entre la distancia entre 2 electrodos separados por 5 espacios interelectrodo en una dirección perpendicular a las isócronas y la diferencia entre sus tiempos de activación (promedio de 3 determinaciones) (figura 1). Se consideró al P5 de los intervalos VV como una aproximación a los intervalos más cortos y, por lo tanto, al periodo refractario funcional durante la FV¹⁶. La longitud de onda del proceso de activación durante la FV se determinó como el producto de la velocidad de conducción y P5.

Análisis estadístico

Las variables continuas se presentan como valores medios \pm desviación estándar y las variables categóricas se presentan como porcentajes. Se utilizó el modelo general lineal para analizar las diferencias en cada serie (diferencias intrasujetos, medidas repetidas: basal, estiramiento, posestiramiento) y para comparar las series (diferencias entre sujetos). Las diferencias entre variables cualitativas se analizaron utilizando el test de χ^2 . Se consideró significación estadística cuando $p < 0,05$. Los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS 19.0.

RESULTADOS

Efectos del estiramiento sobre la frecuencia de activación durante la fibrilación ventricular

La tabla muestra los resultados en cada serie. En todas ellas FRD aumentó significativamente durante el estiramiento. Sin embargo, la magnitud del incremento fue menor bajo la acción de EIPA (figura 3). El incremento porcentual respecto al valor basal fue del 40,4% en la serie control, del 36% con losartán (no significativo [ns] frente a control), del 46% con BQ-123 (ns frente a control), y del 22% con EIPA ($p < 0,001$ frente a control). La FRD basal fue similar en las series control, losartán y BQ-123, y menor con EIPA ($p < 0,01$ frente a control). No hubo diferencias entre las series control, losartán y BQ-123, en la máxima FRD alcanzada durante el estiramiento, mientras que esta fue menor con EIPA ($p < 0,0001$ frente a control). Asimismo, tras suprimir el estiramiento las diferencias con respecto a la serie control fueron significativas con EIPA ($p < 0,0001$).

La tabla también muestra los resultados obtenidos al determinar VV. En las series control, losartán y BQ-123, se observó una disminución significativa durante el estiramiento. Este descenso no alcanzó significación en la serie con EIPA. Basalmente, VV fue similar en las series control, losartán y BQ-123, y fue mayor con EIPA ($p < 0,002$ frente a control). Durante el estiramiento, VV alcanzó valores similares en las series control, losartán y BQ-123, y hubo una reducción menor en la serie con EIPA ($p < 0,0001$ frente a control). Tras suprimir el estiramiento, VV también fue mayor con EIPA que en la serie control ($p < 0,0001$).

Durante el estiramiento y tras él, en la zona no estirada no se observaron variaciones significativas con respecto a los valores basales de FRD o VV, excepto en la serie con EIPA, en la que tras suprimir el estiramiento FRD fue inferior y VV fue mayor, de manera similar a lo observado en la zona estirada.

Efectos del estiramiento sobre la organización de la fibrilación ventricular

Concentración espectral

En la zona estirada CES disminuyó durante el estiramiento en las cuatro series (figuras 2-4). Basalmente, las diferencias con respecto a la serie control no alcanzaron significación en ninguna de las series. Durante el estiramiento, los valores con EIPA fueron mayores ($p < 0,02$) que en la serie control, mientras que la disminución observada con losartán y BQ-123 fue similar a la de la serie control. Tras el estiramiento, CES fue mayor con EIPA ($p < 0,02$) que en la serie control. En la zona no estirada, durante y tras el estiramiento no se observaron variaciones significativas con respecto a los valores basales, excepto en la serie con EIPA, en la que se observó un aumento significativo en la fase posestiramiento.

Mapas de activación

En las series control, losartán y BQ-123, el estiramiento aumentó de manera similar la complejidad de la activación ventricular durante la FV ($p < 0,0001$), que se evaluó mediante los porcentajes de los tipos de mapas, con aumento de los del tipo III y disminución de los de los tipos I y II (tabla). La complejidad no aumentó durante el estiramiento bajo la acción de EIPA. Antes del estiramiento, las diferencias no fueron significativas en las series control, losartán y BQ-123, mientras que la complejidad fue menor con EIPA ($p < 0,02$). En comparación con la serie control, la activación de la FV durante el estiramiento fue menos compleja con EIPA ($p < 0,0001$) (figura 4).

Durante el estiramiento, los porcentajes de mapas con patrones de afloramiento no se modificaron significativamente con respecto a los valores basales en las series control (basal 23%, estiramiento 32%, posestiramiento 26%, ns), losartán (basal 24%, estiramiento 20%, posestiramiento 31%, ns), BQ-123 (basal 27%, estiramiento 21%, posestiramiento 18%, ns) y EIPA (basal 31%, estiramiento 22%, posestiramiento 21%, ns). Los porcentajes fueron similares a los obtenidos en el grupo control en las 3 fases.

Efectos del estiramiento sobre los parámetros electrofisiológicos durante la fibrilación ventricular

La figura 5 muestra los valores de P5 obtenidos en las 4 series. En todas, excepto en la de EIPA, este parámetro disminuyó significativamente durante el estiramiento. Basalmente, P5 fue similar en control, losartán y BQ-123, y fue ligeramente mayor, pero sin alcanzar significación estadística, con EIPA ($p < 0,07$).

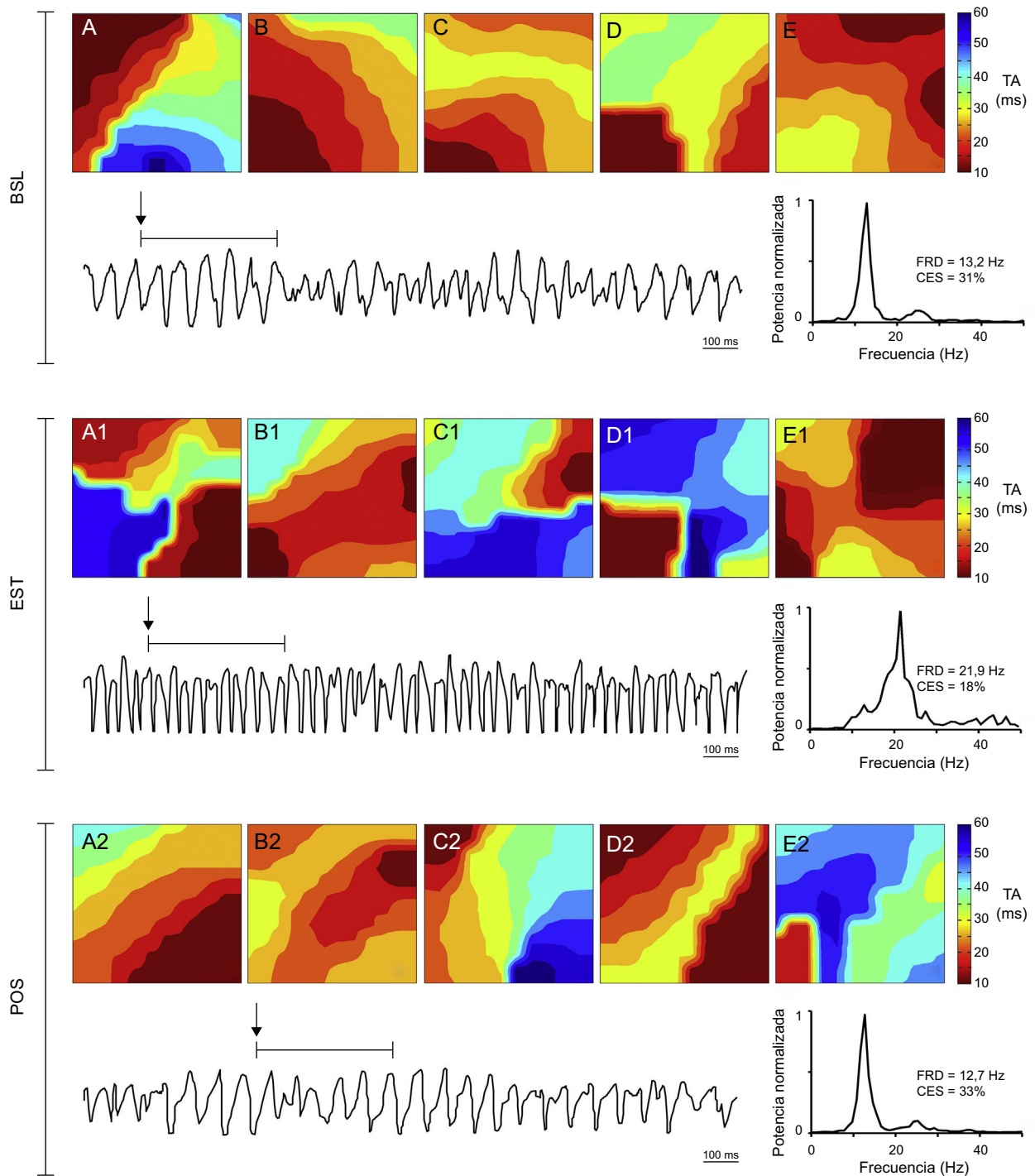


Figura 2. Mapas de activación, registros de la fibrilación ventricular obtenidos con uno de los electrodos y espectro de potencia de la señal registrada en la zona estirada inmediatamente antes del estiramiento, durante el estiramiento y en la fase posestiramiento en un experimento control. Durante el estiramiento se acelera el registro, aumenta la frecuencia dominante y predominan los mapas activación más complejos (tipo III). BSL: basal; CES: concentración espectral; EST: estiramiento; FRD: frecuencia dominante; POS: posestiramiento; TA: tiempo de activación.

Durante el estiramiento, P5 mostró disminuciones similares en control, losartán y BQ-123, mientras que con EIPA los valores fueron mayores que en la serie control ($p < 0,0001$). En relación con la velocidad de conducción, las variaciones durante el estiramiento con respecto a los valores basales no alcanzaron significación en ninguna de las series, excepto en la serie con EIPA (figura 5). Las diferencias con respecto a la serie control –basalmente, durante el estiramiento y tras él– no fueron significativas excepto en la serie con EIPA. Durante el estiramiento,

la longitud de onda del proceso de activación durante la FV disminuyó en control, losartán y BQ-123, mientras que no varió con EIPA. En esta serie fue mayor que en la serie control durante el estiramiento.

DISCUSIÓN

Los principales resultados del estudio son: a) EIPA reduce las manifestaciones electrofisiológicas inducidas por el estiramiento

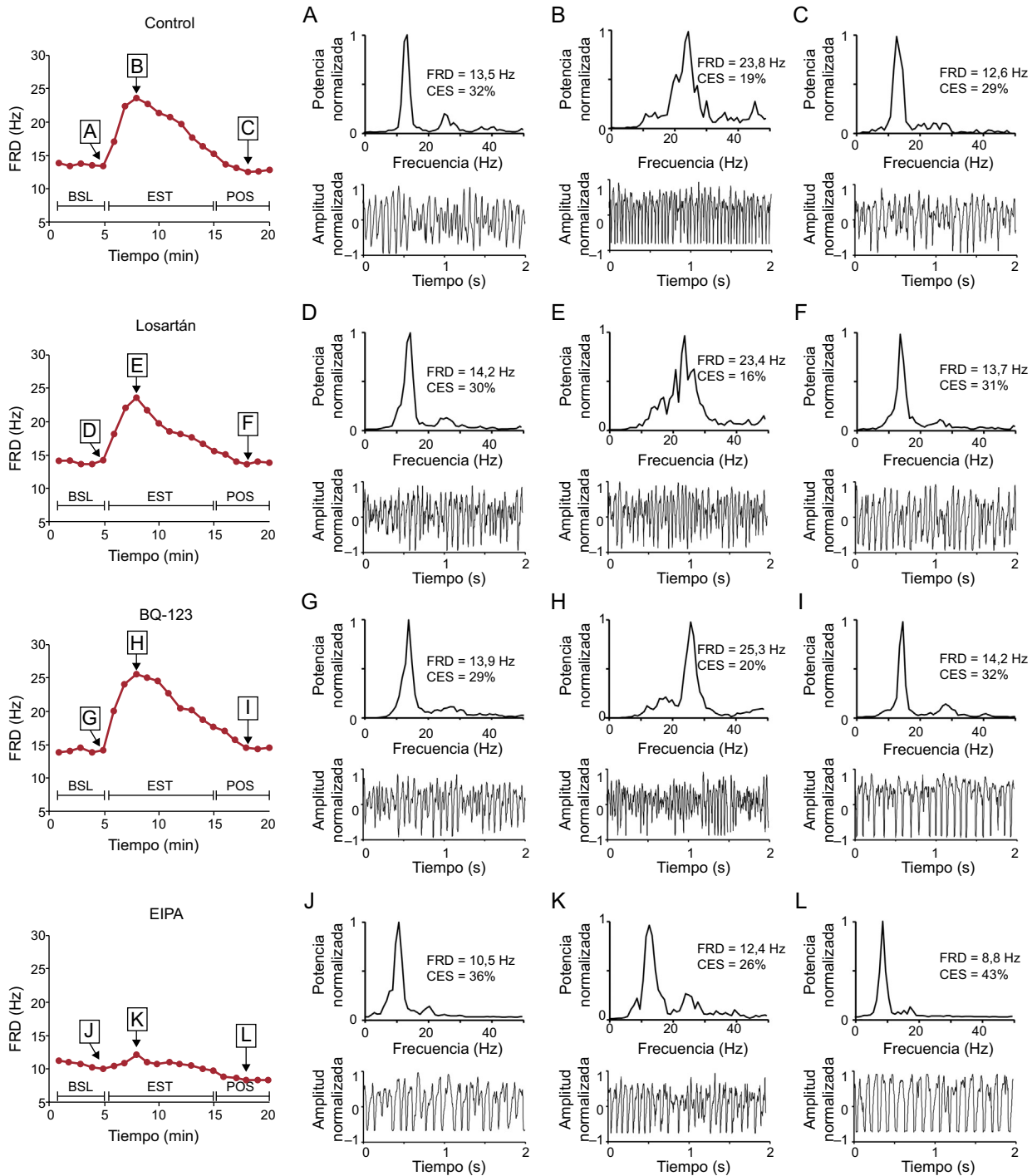


Figura 3. Frecuencia dominante durante la fibrilación ventricular registrada con uno de los electrodos situado en la zona estirada en un experimento de cada serie. Se muestra también el espectro de potencia de la señal registrada antes del estiramiento, 3 min tras su inicio y 3 min tras su supresión. Para mayor claridad los registros de la fibrilación ventricular mostrados corresponden a 2 s, aunque el espectrograma se obtuvo a partir de bloques de datos de 4.096 puntos a una frecuencia de muestreo de 1 kHz. BSL: basal; CES: concentración espectral; EIPA: 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride; EST: estiramiento; FV: fibrilación ventricular; FRD: frecuencia dominante; POS: posestiramiento.

miocárdico agudo, y b) losartán y BQ-123 no modifican estos efectos.

Efectos de EIPA

El estiramiento miocárdico produce un aumento de la entrada de Na^+ al miocito, que puede ocurrir por diferentes mecanismos^{11,14,15,25-28}. Estos incluyen las acciones de los canales activados por el estiramiento^{11,25-28}, el desencadenamiento de

mecanismos autocrinos y paracrinos con estimulación de los receptores de la angiotensina II y de la endotelina y la activación del intercambiador Na^+/H^+ ^{2,15}, así como el aumento de la actividad del intercambiador Na^+/H^+ mediado por la estimulación mecánica¹⁴. En el presente estudio, la intervención dirigida hacia el intercambiador Na^+/H^+ redujo los efectos electrofisiológicos inducidos por el estiramiento miocárdico agudo, del mismo modo que la inhibición de este intercambiador atenúa el incremento lento de la fuerza de contracción tras el estiramiento^{2,11,13,14}. Las

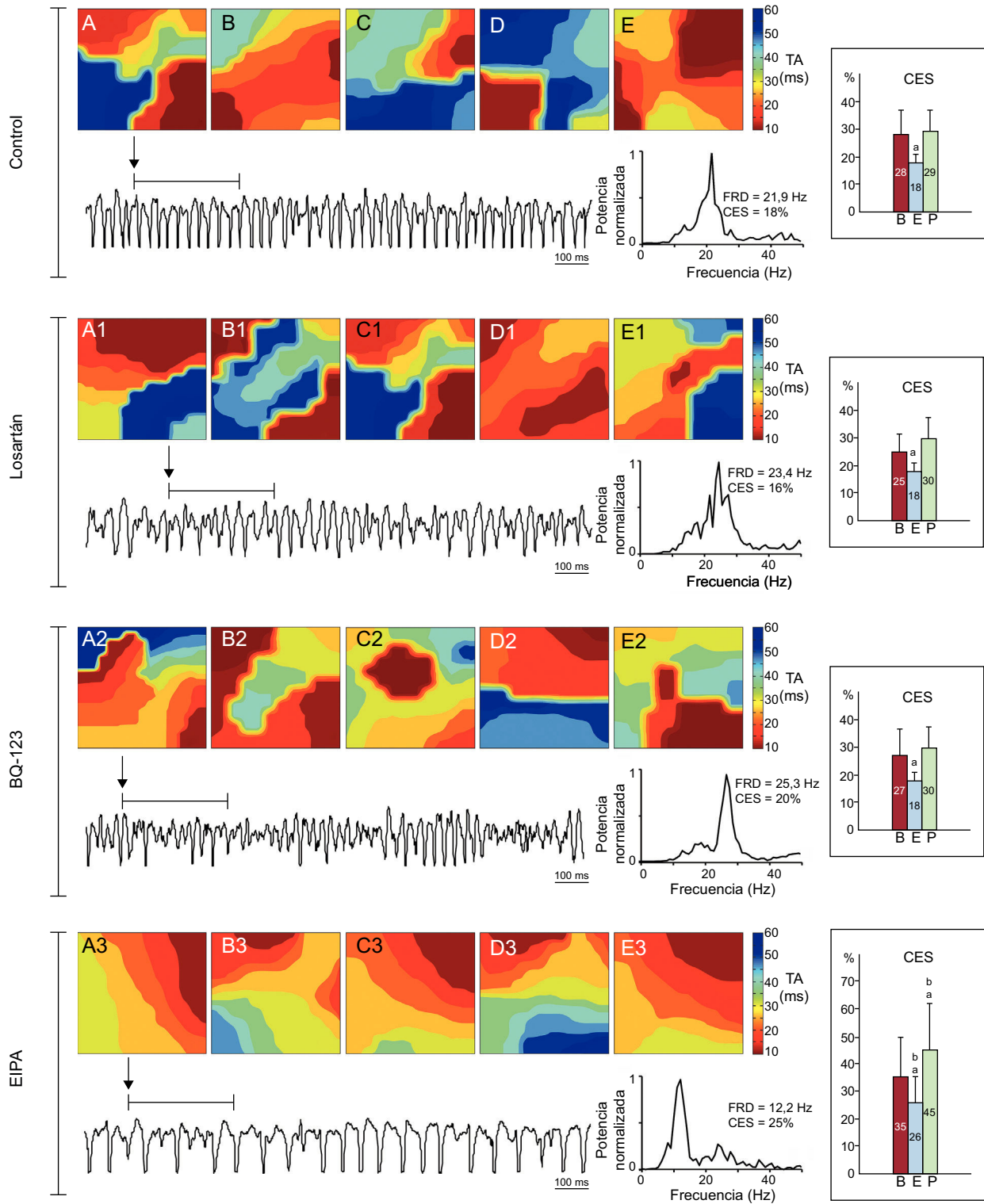


Figura 4. Mapas de activación obtenidos durante el estiramiento en un experimento de cada serie. En el de control, losartán y BQ-123 se observa un predominio de los mapas de activación más complejos (tipo III), mientras que con EIPA se observan mapas más simples. La frecuencia dominante es menor en los registros con EIPA. En la parte derecha se muestran también los promedios de la concentración espectral de cada una de las series en las 3 fases de los experimentos. B: basal; CES: concentración espectral; E: estiramiento; EIPA: 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride; FRD: frecuencia dominante; P: postestiramiento; TA: tiempo de activación. ^aDiferencias significativas con respecto a los valores basales. ^bDiferencias significativas con respecto a la serie control.

acciones de EIPA sobre el intercambiador Na⁺/H⁺ y sobre el aumento de la concentración intracelular de Na⁺ disminuirían la activación del modo inverso del intercambiador Na⁺/Ca²⁺ y sus efectos sobre el *feedback* mecanoeléctrico. La atenuación de estos efectos bajo la acción del inhibidor del intercambiador

Na⁺/Ca²⁺, KB-R7943, se ha descrito en un trabajo previo⁵. La disminución de la actividad del modo inverso del intercambiador Na⁺/Ca²⁺ reduciría la entrada de Ca²⁺ durante el estiramiento y, con ello, las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas celulares²⁸⁻³⁰ y de las características de la curva de restitución

Tabla

Frecuencia dominante, intervalos de activación consecutivos durante la fibrilación ventricular y tipos de mapas de activación durante la fibrilación ventricular obtenidos en cada serie experimental antes, durante y después del estiramiento

	FRD (Hz)	VV (ms)	Tipos de mapas (%)		
			TI	TII	TIII
<i>Control</i>					
BSL	13,6 ± 2,6	78 ± 12	7	60	33
EST	19,1 ± 3,1 ^a	62 ± 9 ^a	2	36	62 ^a
POS	13,1 ± 2,4	81 ± 9	15	53	32
<i>Losartán</i>					
BSL	14,7 ± 1,5	77 ± 7	17	58	25
EST	20,0 ± 3,9 ^a	63 ± 11 ^a	4	27	69 ^a
POS	14,9 ± 2,0	77 ± 6	23	52	25
<i>BQ-123</i>					
BSL	14,8 ± 2,1	72 ± 8	13	59	28
EST	21,7 ± 3,0 ^a	56 ± 6 ^a	2	28	70 ^a
POS	14,4 ± 2,1	74 ± 8	12	58	30
<i>EIPA</i>					
BSL	10,3 ± 1,4 ^b	103 ± 17 ^b	20	53	27 ^b
EST	12,6 ± 3,1 ^{a,b}	95 ± 21 ^b	28	57	27 ^b
POS	8,7 ± 1,1 ^{a,b}	119 ± 16 ^b	33	49	18 ^b

BSL: basal, antes del estiramiento; EST: durante el estiramiento; FRD: frecuencia dominante de la fibrilación ventricular; POS: posestiramiento; TI, TII y TIII: mapas tipo I, II y III; VV: mediana de los intervalos de activación consecutivos durante la fibrilación ventricular.

^a Diferencias significativas con respecto a los valores basales.

^b Diferencias significativas con respecto a la serie control.

eléctrica que relaciona la duración del potencial de acción con el intervalo diastólico precedente³¹.

Sin embargo, EIPA no es un inhibidor puro del intercambiador Na⁺/H⁺^{32,33} y sus acciones sobre otras corrientes iónicas también podrían estar implicadas en los efectos observados. Se ha descrito un bloqueo dependiente de la frecuencia de la corriente rápida de sodio bajo la acción de EIPA³². Aunque la reducción en la corriente observada por estos autores con la concentración 1 μM fue ligera, la frecuencia de activación rápida durante la FV podría aumentar este efecto. Por otra parte, EIPA, de la misma manera que el amiloride, podría reducir la corriente persistente de sodio actuando, de esta manera, sobre el aumento de la entrada de Na⁺ inducida por el estiramiento. En el presente estudio, la serie con EIPA mostró un enlentecimiento de la arritmia y una disminución de la velocidad de conducción. También se observó una disminución de la complejidad de la FV antes de aplicar el estiramiento y este efecto fue más pronunciado en la fase posestiramiento, probablemente debido a un efecto acumulativo sobre la refractariedad a lo largo del tiempo en el que se perfundió el fármaco.

Durante el estiramiento, bajo la acción de EIPA no se incrementó la complejidad de los mapas y no fueron significativos los cambios en P5 y en la longitud de onda. CES mostró una reducción porcentual (26%) con respecto al valor basal, aunque fue inferior a la de la serie control (36%). No obstante, durante el estiramiento, CES fue significativamente mayor que en la serie control, con valores similares a los obtenidos en dicha serie antes del estiramiento. Estos resultados indican que EIPA atenúa la reducción de la regularidad y homogeneidad de los electrogramas inducidas por el estiramiento. Esta menor heterogeneidad de la arritmia durante el estiramiento con EIPA se objetivó también, aunque en mayor medida, al observar la ausencia de cambios significativos en la complejidad de los mapas de activación. Este

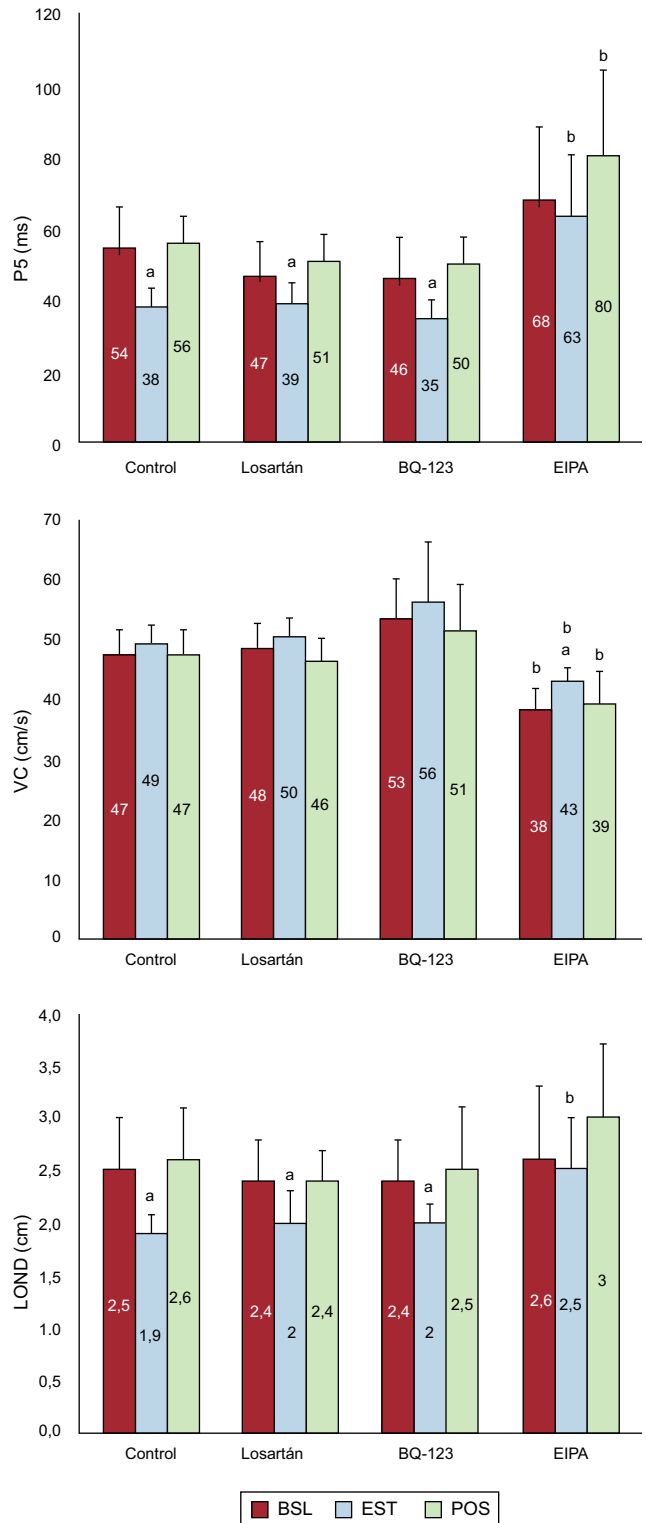


Figura 5. Valores medios del percentil 5 de los intervalos de activación consecutivos durante la fibrilación ventricular, de la velocidad de conducción y de la longitud de onda del proceso de activación obtenidos en la zona estirada durante las 3 fases experimentales en las 4 series. BSL: basal; EIPA: 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride; EST: estiramiento; LOND: longitud de onda, P5: percentil 5; POS: posestiramiento. ^aDiferencias significativas con respecto a los valores basales. ^bDiferencias significativas con respecto a la serie control.

comportamiento fue similar al observado con otros parámetros como P5 y la longitud de onda. Así pues, CES ha sido un parámetro más sensible a la hora de mostrar los cambios producidos por el estiramiento, indicando que la regularidad y la homogeneidad de

las señales registradas también se han visto afectadas por el estiramiento en la serie con EIPA, pero menos que en los controles. Tomadas conjuntamente todas las modificaciones de los efectos del estiramiento producidas por EIPA, se podría especular que la mayor homogeneidad de la activación durante la FV indicaría una situación más favorable ante acciones encaminadas a conseguir la interrupción de esta y también a una mayor dificultad para su inducción en presencia de factores arritmogénicos como el estiramiento miocárdico, aunque el análisis de estos efectos queda fuera de los objetivos del presente estudio.

Efectos del losartán y del BQ-123

El incremento lento de la fuerza de contracción en respuesta al estiramiento miocárdico se ha relacionado con la puesta en marcha de fenómenos autocrinos y paracrinos, tras observar que es abolido mediante el bloqueo de los receptores tipo 1 de la angiotensina II y de los receptores A de la endotelina^{2,15}. Se ha sugerido que la liberación de angiotensina II inducida por el estiramiento miocárdico estimula la liberación de endotelina que, a través de mecanismos interpuestos, conduce a la activación del intercambiador Na^+/H^+ dando lugar a un aumento de la entrada de Na^+ y a la activación subsiguiente del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ^{1,2,15}. El aumento en los transitorios de Ca^{2+} sería responsable de la respuesta inotrópica al estiramiento mecánico. En otro estudio, también se ha observado que la respuesta inotrópica lenta al estiramiento agudo en músculos papilares de conejo estaba mediada por la activación de los receptores tipo 1 de la angiotensina y por sus efectores los intercambiadores Na^+/H^+ y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en su modo inverso³⁴. Sin embargo, algunos autores han observado que la respuesta inotrópica lenta no es abolida mediante el bloqueo de los receptores de la angiotensina II^{12,14,35} y que tampoco es modificada mediante el bloqueo de los receptores de la endotelina²⁸. Una posible explicación de estas discrepancias es la existencia de diferencias entre especies o entre los diseños experimentales^{2,14}, aunque también es posible que mecanismos distintos den lugar a efectos similares². En el presente estudio, al explorar si existe un paralelismo entre los mecanismos implicados en las respuestas mecánicas y electrofisiológicas tras el estiramiento miocárdico agudo, se ha observado que el bloqueo de los receptores tipo 1 de la angiotensina II con losartán y de los receptores A de la endotelina con BQ-123 no han modificado la aceleración de la FV y el aumento de la complejidad de la arritmia producidos por el estiramiento miocárdico. Así pues, la estimulación de los receptores de la angiotensina II y de la endotelina no parece implicada en la cadena de acontecimientos que conducen a las manifestaciones electrofisiológicas del *feedback* mecanoeléctrico observadas en el modelo experimental utilizado.

Limitaciones

Los resultados obtenidos dependen de las características y condiciones de la preparación experimental utilizada, en la que se aplica un estiramiento miocárdico agudo. Los efectos del estiramiento pueden dar lugar a diferentes manifestaciones en preparaciones crónicas y en preparaciones de corazón *in situ* debido, entre otros factores, a la existencia de reflejos neurohormonales asociados. Por otra parte, también se debe tener en cuenta la posible existencia de diferencias interespecies al extrapolar los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

En el modelo experimental utilizado, el inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ , EIPA, atenúa los efectos electrofisiológicos

responsables de la aceleración y del aumento de la complejidad de la FV producidos por el estiramiento miocárdico agudo. El bloqueador del receptor de la angiotensina II, losartán, y el del receptor A de la endotelina, BQ-123, no modifican estos efectos.

FINANCIACIÓN

Ministerio de Ciencia (Instituto de Salud Carlos III): proyectos FIS PS09/02417, FIS PI12/00407 y RETIC «RIC» RD12/0042/0048, y Generalitat Valenciana: proyecto PROMETEO 2010/093.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- Cingolani HE, Ennis IL, Aiello EA, Pérez NG. Role of autocrine/paracrine mechanisms in response to myocardial strain. *Pflugers Arch*. 2011;462:29-38.
- Cingolani HE, Pérez NG, Cingolani OH, Ennis IL. The Anrep effect: 100 years later. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;304:H175-82.
- Calkins H, Maughan WL, Weisman HF, Sugiura S, Sagawa K, Levine JH. Effect of acute volume load on refractoriness and arrhythmia development in isolated, chronically infarcted canine hearts. *Circulation*. 1989;79:687-97.
- Chorro FJ, Egea S, Mainar L, Cánoves J, Sanchis J, Llavador E, et al. Modificaciones agudas de la longitud de onda del proceso de activación auricular inducidas por la dilatación. Estudio experimental. *Rev Esp Cardiol*. 1998;51:874-83.
- Chorro FJ, Trapero I, Such-Miquel L, Pelechano F, Mainar L, Cánoves J, et al. Pharmacological modifications of the stretch-induced effects of ventricular fibrillation in perfused rabbit-hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;297:H1860-9.
- Franz MR, Cima R, Wang D, Proffitt D, Kurz R. Electrophysiological effects of myocardial stretch and mechanical determinants of stretch activated arrhythmias. *Circulation*. 1992;86:968-78.
- Janse MJ, Coronel R, Wilms-Schopman FJG, De Groot JR. Mechanical effects on arrhythmogenesis: from pipette to patient. *Prog Biophys Mol Biol*. 2003;82:187-95.
- Nazir SA, Lab MJ. Mechanoelectric feedback and atrial arrhythmias. *Cardiovasc Res*. 1996;32:52-61.
- Ravelli F, Allesie MA. Effects of atrial dilatation on refractory period and vulnerability to atrial fibrillation in the isolated Langendorff-perfused rabbit heart. *Circulation*. 1997;96:1686-95.
- Ravelli F, Masè M, Del Greco M, Marini M, Disertori M. Acute atrial dilatation slows conduction and increases AF vulnerability in the human atrium. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2011;22:394-401.
- Calaghan S, White E. Activation of Na^+/H^+ exchange and stretch-activated channels underlies the slow inotropic response to stretch in myocytes and muscle from the rat heart. *J Physiol*. 2004;559:205-14.
- Kockskämper J, Von Lewinski D, Khafaga M, Elgner A, Grimm M, Eschenhagen T, et al. The slow force response to stretch in atrial and ventricular myocardium from human heart: functional relevance and subcellular mechanisms. *Prog Biophys Mol Biol*. 2008;97:250-67.
- Pérez NG, Nolly MB, Rolden MC, Villa-Abrile MC, Cingolani E, Portiansky EL, et al. Silencing of NHE-1 blunts the slow force response to myocardial stretch. *J Appl Physiol*. 2011;111:874-80.
- Von Lewinski D, Stumme B, Maier LS, Luers C, Bers DM, Pieske B. Stretch-dependent slow force response in isolated rabbit myocardium is Na^+ dependent. *Cardiovasc Res*. 2003;57:1052-61.
- Álvarez BV, Pérez NG, Ennis IL, Camilion de Hurtado MC, Cingolani HE. Mechanisms underlying the increase in force and Ca^{2+} transient that follow stretch of cardiac muscle: a possible explanation of the Anrep effect. *Circ Res*. 1999;85:716-22.
- Chorro FJ, Trapero I, Guerrero J, Such LM, Cánoves J, Mainar L, et al. Modification of ventricular fibrillation activation patterns induced by local stretching. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2005;16:1087-96.
- Brines L, Such-Miquel L, Gallego D, Trapero I, Del Canto I, Zarzoso M, et al. Modifications of mechanoelectric feedback induced by 2,3-butanedione monoxime and blebbistatin in Langendorff-perfused rabbit hearts. *Acta Physiol (Oxf)*. 2012;206:29-41.
- Chorro FJ, Ibáñez-Catalá X, Trapero I, Such-Miquel L, Pelechano F, Cánoves J, et al. Ventricular fibrillation conduction through an isthmus of preserved myocardium between radiofrequency lesions. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2013;36:286-98.
- Castro-Chaves P, Roncon-Albuquerque Jr R, Leite-Moreira AF. Endothelin ETA receptors and endothelium partially mediate the positive inotropic and lusitropic effects of angiotensin II. *Eur J Pharmacol*. 2006;544:91-6.

20. Lazdunski M, Frelin C, Vigne P. The sodium/hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH. *J Mol Cell Cardiol.* 1985;17:1029–42.
21. Meng HP, Maddaford TG, Pierce GN. Effect of amiloride and selected analogues on postischemic recovery of cardiac contractile function. *Am J Physiol.* 1993;264:H1831–5.
22. Piuhola J, Szokodi I, Ruskoaho H. Endothelin-1 and angiotensin II contribute to BNP but not c-fos gene expression response to elevated load in isolated mice hearts. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1771:338–44.
23. Oppenheim AV, Schafer RW. Digital signal processing. Engelwood Cliffs, Nueva Jersey: Prentice Hall; 1975.
24. Such-Miquel L, Chorro FJ, Guerrero J, Trapero I, Brines L, Zarzoso M, et al. Evaluación de la complejidad de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular. Estudio experimental. *Rev Esp Cardiol.* 2013;66:177–84.
25. Kim D. Novel cation-selective mechanosensitive ion channel in the atrial cell membrane. *Circ Res.* 1993;72:225–31.
26. Kondratev D, Christ A, Gallitelli MF. Inhibition of the Na⁺-H⁺ exchanger with cariporide abolishes stretch-induced calcium but not sodium accumulation in mouse ventricular myocytes. *Cell Calcium.* 2005;37:69–80.
27. Sachs F. Mechanical transduction in biological systems. *Crit Rev Biomed Eng.* 1988;16:141–69.
28. Youm JB, Han J, Kim N, Zhang YH, Kim E, Joo H, et al. Role of stretch-activated channels on the stretch-induced changes of rat atrial myocytes. *Progr Biophys Mol Biol.* 2006;90:186–206.
29. Calaghan SC, Belus A, White E. Do stretch-induced changes in intracellular calcium modify the electrical activity of cardiac muscle? *Progr Biophys Mol Biol.* 2003;82:91–5.
30. Youm JB, Leem CH, Zhang YH, Kim N, Han J, Earm YE. Modeling of arrhythmogenic automaticity induced by stretch in rat atrial myocytes. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2008;12:267–74.
31. Janvier NC, Boyett MR. The role of Na-Ca exchange current in the cardiac action potential. *Cardiovasc Res.* 1996;32:69–84.
32. Gold MR, Strichart GR. Use-dependent block of atrial sodium current by ethylisopropylamiloride. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1991;17:792–9.
33. Kleyman TR, Cragoe ES. Amiloride and its analogs as tools in the study of ion transport. *J Membrane Biol.* 1988;105:1–21.
34. Neves JS, Castro-Ferreira R, Ladeiras-Lopes R, Neiva-Sousa M, Leite-Moreira AM, Almeida-Carvalho R, et al. The effects of angiotensin II signaling pathway in the systolic response to acute stretch in the normal and ischemic myocardium. *Peptides.* 2013;47:77–84.
35. Calaghan SC, White E. Contribution of angiotensin II, endothelin 1 and the endothelium to the slow inotropic response to stretch in ferret papillary muscle. *Pflugers Arch.* 2001;441:514–20.