

Efectos agudos de la amiodarona y de la dronedarona en células epicárdicas, M y endocárdicas del ventrículo canino*

SANDRA MORO, DANIELA CELESTINO, MARCELO V. ELIZARI, SERGE SICOURI

RESUMEN

Introducción

La amiodarona es un agente antiarrítmico ampliamente utilizado en el tratamiento de las arritmias supraventriculares y ventriculares. La dronedarona es un análogo de la amiodarona, libre de yodo, de desarrollo reciente. En un trabajo previo demostramos que el tratamiento crónico con amiodarona reduce la dispersión transmural de la repolarización en el corazón canino.

Objetivos y métodos

Se utilizó la técnica estándar de registro con microelectrodos intracelulares para investigar los efectos de la amiodarona aguda (100 μM) y la dronedarona aguda (30-10 μM) en tejidos epicárdicos, endocárdicos y región M obtenidos de la pared ventricular izquierda del corazón canino.

Resultados

La amiodarona (100 μM , 120 min de exposición) produjo poco cambio en la duración del potencial de acción epicárdico y endocárdico, pero abrevió su duración en las células M, especialmente a bajas frecuencias, que resultó en una disminución de la dispersión de la repolarización transmural. Se observaron resultados similares con la dronedarona.

Conclusiones

La reducción de la dispersión transmural y la eliminación, más que la inducción de posdespolarizaciones precoces, diferencian a la amiodarona de los otros agentes de clase III, y podrían explicar, en parte, su eficacia y menor arritmogenicidad. Las similitudes de acción entre la amiodarona y la dronedarona sugerirían el uso potencial de la dronedarona en el tratamiento de arritmias ventriculares y supraventriculares. REV ARGENT CARDIOL 1999; 67: 351-363.

Palabras clave Amiodarona - Dronedarona - Dispersión - Células M - Agudo - Pospotenciales - Ventricular - Repolarización - Clase III - Antiarrítmicos

INTRODUCCION

La amiodarona es un agente antiarrítmico ampliamente utilizado en el tratamiento de las arritmias auriculares y ventriculares. (1-3) Además de su efecto de clase III, por la prolongación de la duración de la repolarización y de la refractariedad ventricular, (4) su eficacia antiarrítmica sería el resultado de una multiplicidad de acciones a nivel celular, ya que ejer-

ce un bloqueo importante de la corriente sódica (clase I), (5, 6) especialmente en condiciones en que estos canales están parcialmente inactivados, así como actividad antagonista betaadrenérgica (clase II), (7) efectos bloqueantes sobre los canales de calcio (clase IV) (8, 9) y una interacción no completamente esclarecida con la glándula tiroidea. (10)

Como agente antiarrítmico se utiliza eficazmente

Trabajo presentado al Premio Cossio

Laboratorio de Electrofisiología Celular, División Cardiología, Hospital de Agudos Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina, y Sanofi Recherche, Montpellier, Francia

* Este trabajo fue financiado por Sanofi Recherche y por la Fundación de Investigaciones Cardiológicas Einthoven

Trabajo recibido para su publicación: 6/98 Aceptado: 3/99

Dirección para separatas: Dr. Serge Sicouri - Laboratorio de Electrofisiología Celular - División Cardiología - Hospital de Agudos Ramos Mejía - Urquiza 609 - (1221) Buenos Aires, Argentina - Tel.: (54)-11-4931-4046 - Fax: (54)-11-4956-2102 - E-mail: sicouri@cardioweb.net.ar

tanto en el tratamiento crónico oral como en forma aguda intravenosa. Está ampliamente difundido en la literatura que la terapia crónica con amiodarona produce efectos acumulativos que son diferentes de los encontrados en la administración aguda de la droga. La administración crónica produce cambios en la morfología del potencial de acción, en la ultraestructura y la bioquímica celular, (5, 11, 12) en tanto que la administración intravenosa de amiodarona generalmente produce un mayor enlentecimiento de la conducción y menor prolongación de la refractariedad que la terapia crónica. (13, 14) La complejidad de sus efectos electrofisiológicos, que se conocen en forma parcial, podría explicar no sólo su remarcable eficacia antiarrítmica sino, además, su escasa potencialidad proarrítmica. (15)

Estudios previos demostraron la heterogeneidad existente en el miocardio ventricular, que exhibe diferencias importantes en la electrofisiología, la farmacología y la fisiopatología de las células epicárdicas, M y endocárdicas (para una revisión, véanse las referencias bibliográficas 16 y 17). En un trabajo reciente probamos que la administración crónica de amiodarona en perros disminuye la dispersión transmural de la repolarización, especialmente en condiciones en las cuales esta dispersión está exagerada, y que tiene la capacidad de prevenir los efectos proarrítmicos del d-sotalol sobre el miocardio ventricular canino. (18)

A pesar de su demostrada eficacia antiarrítmica, ciertas características farmacológicas de la amiodarona podrían limitar su uso clínico, entre ellas, una potencial toxicidad pulmonar (19, 20) y la interacción con la glándula tiroides debido a los sustitutos yodados de la molécula. (21)

La dronedarona, un nuevo agente antiarrítmico relacionado estructuralmente con la amiodarona pero carente de yodo, mostró que posee un perfil farmacológico similar al de ésta. Administrada en forma intravenosa, prolongó el potencial de acción y redujo la incidencia de arritmias ventriculares en diferentes modelos en animales en dosis menores que las de la amiodarona. (22-26)

En este estudio examinamos los efectos *in vitro* de la dronedarona y la amiodarona en tejidos aislados de las regiones epicárdicas, M y endocárdicas del miocardio ventricular canino a fin de comparar sus acciones electrofisiológicas y sus potencialidades antiarrítmicas y arritmogénicas. Datos preliminares de los efectos de la amiodarona se presentaron en forma de resumen. (27)

METODOS

Se utilizaron preparados obtenidos de las superficies epicárdicas y endocárdicas (trabéculas o músculos papilares) y cortes que abarcaron la totalidad

de la pared ventricular (referidos como transmural), mediante el uso de un dermatomo (Davol Simon Dermatome Power Handle, hoja N° 3295, Cranston, R.I.), del ventrículo izquierdo de corazones caninos explantados bajo anestesia con pentobarbital (30 mg/kg, IV). Las dimensiones aproximadas de los preparados fueron: 10-20 mm de ancho, 10-25 mm de largo, 1,0-2,0 mm de grosor.

Los tejidos aislados se perfundieron inicialmente en solución de Tyrode normal equilibrada con 95% O₂-5% CO₂, el pH 7,4 ± 0,1. La composición de la solución es (en mM): NaCl, 137; KCl, 4; NaH₂PO₄, 0,9; NaHCO₃, 20; CaCl₂, 1,8; MgSO₄, 0,5; y glucosa 5,5. La temperatura inicial de perfusión fue de 25°C, la cual se incrementó gradualmente a 37 ± 0,5°C. Los preparados se equilibraron durante 2 a 3 horas a 37 ± 0,5°C antes de iniciar los registros. La solución de Tyrode se perfundió utilizando un sistema de bombeo digitalizado a un flujo de 800 ml/hora (LifeCare Pump, Model 4, Abbott/Shaw).

El d-sotalol se adicionó a la solución de tyroide en una concentración final de 100 µM; se otorgó un tiempo de equilibrio de 40 minutos para asegurar el estado estacionario, antes de reanudar los registros.

La dronedarona, en concentraciones de 10 y 30 µM, y la amiodarona de 100 µM, se agregaron al Tyrode normal en la cámara experimental utilizando una microbomba digitalizada (LifeCare Micro-pump-Abbott/Shaw). Ambas drogas se disolvieron en etanol absoluto (dronedarona: 1.186 mg/ml ETOH; amiodarona: 4,54 mg/ml ETOH). Los registros se realizaron bajo perfusión continua con cualquiera de las drogas, luego de un período de 60 a 90 minutos, tiempo necesario para que los efectos de las drogas alcancen el estado estacionario.

Estimulación y registro

Se aplicó estimulación de campo por medio de un par de electrodos de AG-AG/Cl. Los estímulos fueron pulsos rectangulares de corriente, de 0,5-3 mseg de duración e intensidad doble a la umbral aplicados a longitudes de ciclo (LC) de entre 300 y 5000 mseg. Los registros de potencial transmembrana se obtuvieron con microelectrodos de vidrio (3 µM KCl, 10-25 MΩ DC) conectados a un sistema de amplificación de alta impedancia de entrada (World Precision Instruments, modelo KS-700, New Haven, CT). Las señales se mostraron en un osciloscopio Tektronix, se digitalizaron (Digidata 1200 interface, Axon Instruments, Inc.), analizaron (*software* Axotape, Clampfit 6, Axon Instruments, Inc.) y almacenaron en el disco rígido de una computadora (PC Pentium 166X).

Para el estudio del efecto de la amiodarona y la dronedarona sobre la velocidad de despolarización de la fase 0 del potencial de acción (V_{máx}), se midieron

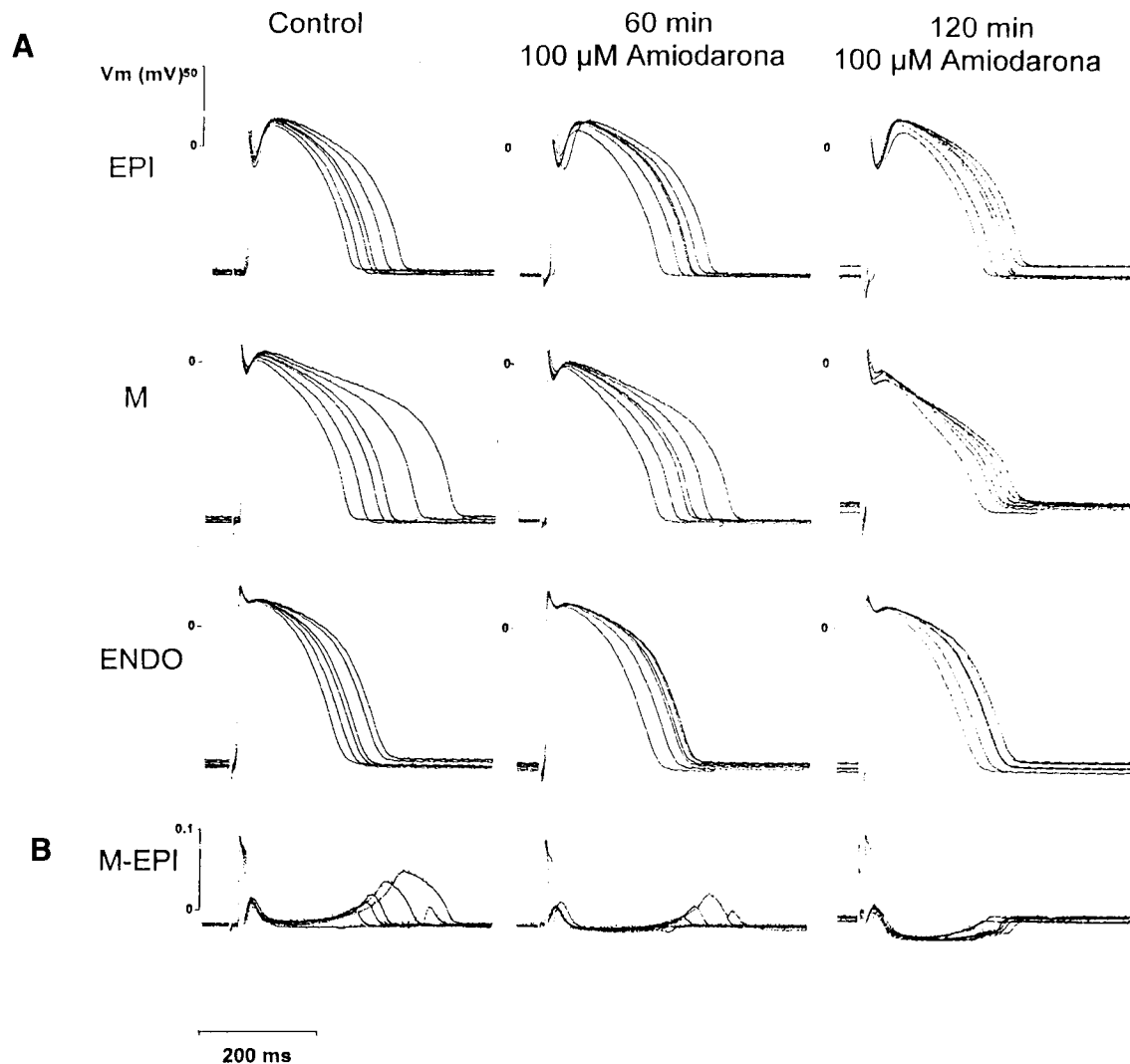


Fig. 1. Efectos de la amiodarona sobre la dependencia de la frecuencia de los potenciales de acción epicárdicos (EPI), M y endocárdicos (ENDO) del ventrículo izquierdo canino. A) Los registros se obtuvieron simultáneamente en los tres tipos celulares, en estado estacionario para las longitudes de ciclo (LC) de 300, 500, 800, 1.000, 2.000 y 5.000 msec en control (izquierda), y luego de 60 minutos (centro) y 120 minutos de perfusión con 100 μ M de amiodarona (derecha). B) M-EPI indica el registro diferencial entre el potencial de acción de la célula M y la epicárdica "seuondonda T" para cada frecuencia.

las $V_{m\max}$ de las células epicárdicas, M y endocárdicas en estado estacionario, a LC de 500 y 2.000 msec, y se calculó el porcentaje de cambio a LC de 500 msec respecto de la $V_{m\max}$ a LC de 2.000 msec; se repitió el procedimiento en presencia de las drogas.

Las restitutiones de los parámetros de los potenciales de acción se realizaron aplicando un tren de 10 pulsos a un ciclo de base de 2 segundos, seguido por un extraestímulo introducido a intervalos diastólicos (ID) crecientes, desde la primera respuesta prematura (período refractario absoluto), recorriendo todo el intervalo diastólico que lo separa del potencial de acción siguiente.

Análisis de los datos

Las señales adquiridas se analizaron con *software*

Axotape o Clampfit. Los resultados están expresados como valor medio \pm error estándar ($\bar{x} \pm SEM$). Los datos se evaluaron por análisis de la varianza acoplado a la prueba de Tukey-Kramer.

RESULTADOS

Efectos de la amiodarona sobre el potencial de acción

Los efectos de la perfusión *in vitro* con amiodarona mostraron especificidad celular, actuando en forma diferencial en cada uno de los tipos celulares estudiados: epicardio, región M y endocardio. La amiodarona (100 μ M, 120 minutos de perfusión) provocó sólo cambios mínimos en el potencial de acción de las células epicárdicas y endocár-

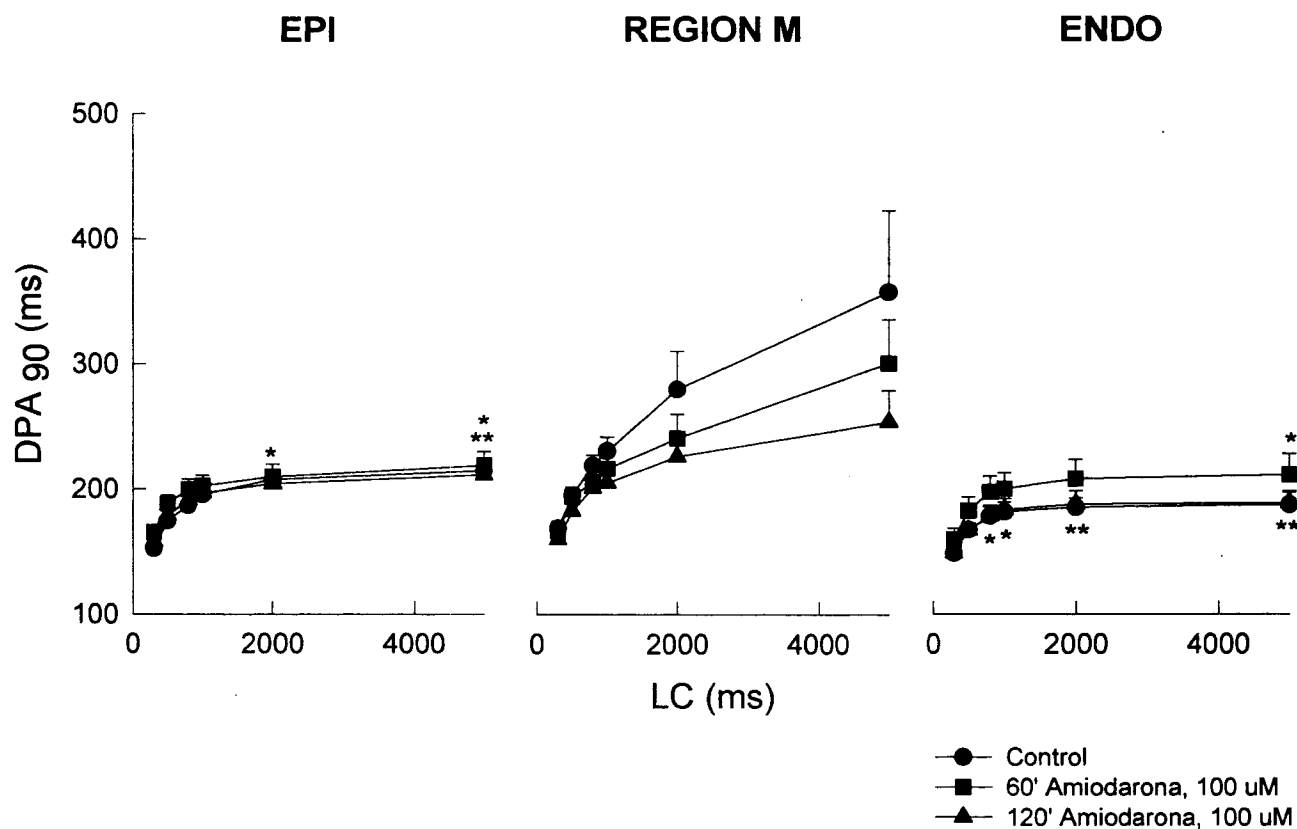


Fig. 2. Efecto de la amiodarona sobre la dependencia de la frecuencia en cada tipo celular. Los valores medios de la duración del potencial de acción medidos al 90% de la repolarización (DPA_{90}) del epicardio, la región M y el endocardio del ventrículo canino se representan en función de la LC en condición control; después de 60 y de 120 minutos de perfusión continua con amiodarona ($n = 7$). La amiodarona aguda reduce sustancialmente la dependencia de la frecuencia de las células M. Cada punto representa la media \pm SEM. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

dicas, mientras que indujo un acortamiento del potencial de acción de las células M a bajas frecuencias de estimulación (Figura 1A), que resultó en una distribución más homogénea de la duración del potencial de acción y de la repolarización a tra-

vés de la pared ventricular, especialmente a bajas frecuencias de estimulación. En nuestros experimentos realizamos el registro diferencial entre el potencial de acción de las células M y del epicardio, que nos permite obtener un "seudo-ECG".

Tabla 1
Efectos de la amiodarona (100 μ M) sobre los parámetros del potencial de acción de células epicárdicas, M y endocárdicas del ventrículo izquierdo canino

	EPI (n)		M (n)		ENDO (n)	
	Control	AM 100 μ M	Control	AM 100 μ M	Control	AM 100 μ M
LC = 500 mseg						
DPA_{90} (mseg)	174,6 \pm 4,6 (7)	179,0 \pm 6,4 (7)	195,3 \pm 5,1 (7)	182,6 \pm 7,4 (7)	167,3 \pm 5,4 (7)	166,9 \pm 5,6 (7)
APA (mV)	95,8 \pm 1,4 (5)	91,9 \pm 2,1 (5)	103,4 \pm 4,7 (3)	102,8 \pm 4,2 (3)	109,0 \pm 4,0 (4)	107,1 \pm 4,1 (4)
Vrep (mV)	-85,7 \pm 2,6 (5)	-83,2 \pm 2,0 (5)	-87,6 \pm 6,0 (3)	-89,3 \pm 2,6 (3)	-82,4 \pm 2,3 (4)	-86,9 \pm 1,8 (4)
LC = 2 seg						
DPA_{90} (mseg)	207,7 \pm 6,2 (7)*	204,8 \pm 8,2 (7)	279,4 \pm 30,6 (7)	226,0 \pm 13,36 (7)	185,14 \pm 7,6 (7)	187,9 \pm 10,3 (7)**
APA (mV)	91,4 \pm 4,9 (5)	92,1 \pm 1,9 (5)	101,0 \pm 8,0 (3)	101,3 \pm 3,5 (3)	108,7 \pm 2,6 (4)	108,4 \pm 3,8 (4)
Vrep (mV)	-83,3 \pm 3,2 (5)	-82,4 \pm 1,9 (5)	-88,6 \pm 3,5 (3)	-88,3 \pm 3,2 (3)	-80,5 \pm 3,0 (4)	-85,3 \pm 1,8 (4)

LC: Longitud del ciclo de estimulación. DPA_{90} : Duración del potencial de acción medida al 90% de la repolarización. APA: Amplitud de la fase 0 del potencial de acción. Vrep: Potencial de la membrana en reposo. EPI: Epicardio. M: Región M. ENDO: Endocardio. AM: Amiodarona. Los valores se expresan como media \pm SEM. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ versus M, ANOVA acoplado a Tukey-Kramer.

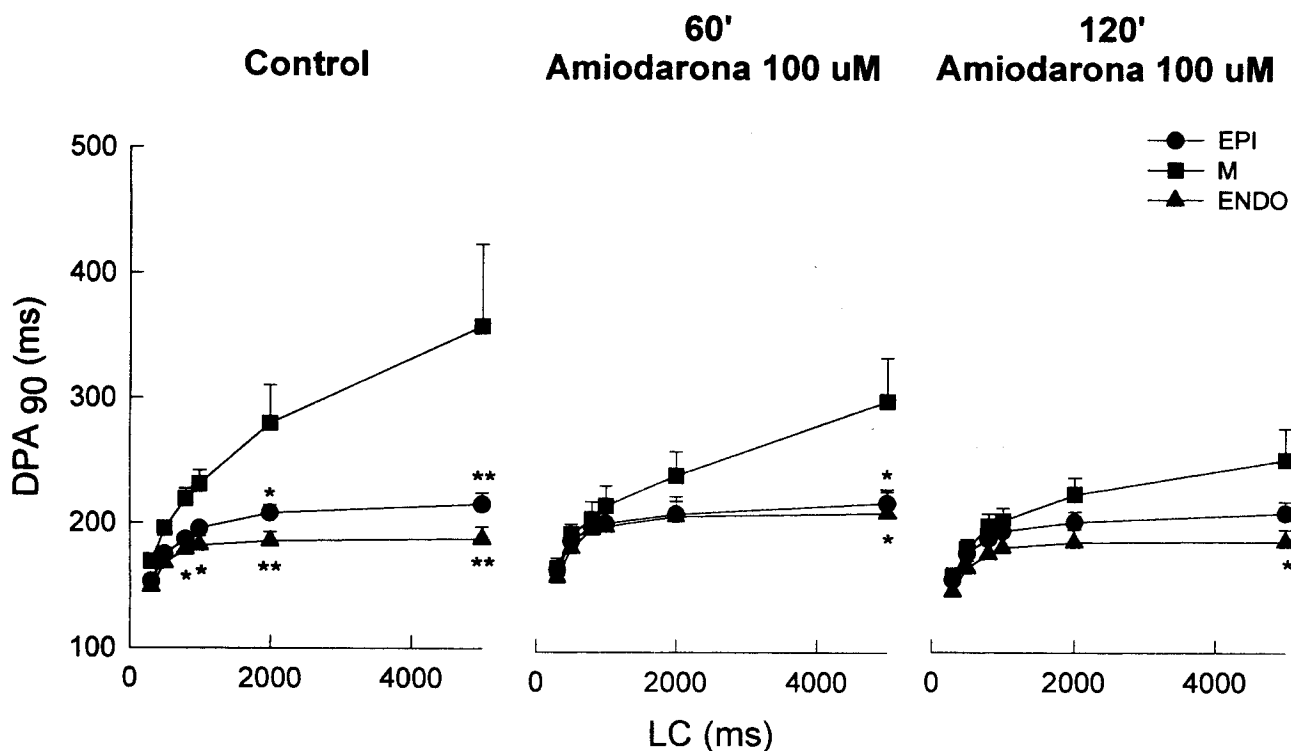


Fig. 3. Curso temporal del efecto de la amiodarona sobre la dependencia de la frecuencia del epicardio, las células M y el endocardio. Los mismos datos que en la Figura 2 (n = 7). La amiodarona aguda reduce la dispersión transmural de la repolarización en el miocardio ventricular canino. Cada punto representa la media \pm SEM * p < 0,05; ** p < 0,001.

La amiodarona induce un aplanamiento de esta onda, que llega a invertirse como resultado de un potencial más corto en la región M que en el epicardio (Figura 1B). En contraste con la mayoría de los antiarrítmicos de clase III, la amiodarona aguda no produjo efectos de dependencia reversa del uso; de hecho, redujo la duración del potencial de acción (DPA) de las células M, principalmente a frecuencias lentas, en tanto que no cambió la de-

pendencia de la frecuencia de las células epicárdicas o endocárdicas (Figura 2, Tabla 1). Como resultado de esta especificidad tisular de sus efectos en el miocardio, la dispersión transmural de la repolarización existente en condiciones basales es disminuida por la amiodarona (Figura 3). La amiodarona no modificó significativamente las amplitudes de los potenciales de acción o el potencial de la membrana en reposo (Tabla 1).

Tabla 2
Efectos de la dronedarona (30 µM) sobre los parámetros del potencial de acción de células epicárdicas, M y endocárdicas del ventrículo izquierdo canino

	EPI (n)		M (n)		ENDO (n)	
	Control	DR 30 µM	Control	DR 30 µM	Control	DR 30 µM
LC = 500 mseg						
DPA ₉₀ (mseg)	183,0 \pm 6,3 (6)	188,8 \pm 6,5 (6)	204,6 \pm 10,6 (6)	199,9 \pm 17,2 (6)	165,5 \pm 6,3 (6)	177,2 \pm 3,0 (6)
APA (mV)	91,7 \pm 4,6 (4)	90,3 \pm 5,1 (4)	107,6 \pm 8,3 (7)	107,8 \pm 7,8 (7)	107,12 \pm 3,1 (6)	106,9 \pm 3,9 (6)
Vrep (mV)	-88,6 \pm 2,6 (4)	-86,8 \pm 3,4 (4)	-85,9 \pm 4,2 (7)	-86,2 \pm 3,9 (7)	-81,7 \pm 2,2 (6)	-85,9 \pm 2,7 (6)
LC = 2 seg						
DPA ₉₀ (mseg)	197,3 \pm 9,2 (6)	218,8 \pm 8,4 (6)	256,3 \pm 18,2 (6)	239,6 \pm 14,3 (6)	187,0 \pm 7,4* (6)	209,0 \pm 7,4 (6)
APA (mV)	94,1 \pm 4,1 (4)	91,9 \pm 5,8 (4)	106,1 \pm 2,7 (7)	108,1 \pm 2,3 (7)	107,4 \pm 3,2 (6)	107,7 \pm 3,5 (6)
Vrep (mV)	-86,7 \pm 2,0 (4)	-86,9 \pm 2,6 (4)	-84,6 \pm 1,6 (7)	-86,2 \pm 1,8 (7)	-81,2 \pm 1,7 (6)	-84,8 \pm 2,6 (6)

LC: Longitud del ciclo de estimulación. DPA₉₀: Duración del potencial de acción medida al 90% de la repolarización. APA: Amplitud de la fase 0 del potencial de acción. Vrep: Potencial de la membrana en reposo. EPI: Epicardio. M: Región M. ENDO: Endocardio. DR: Dronedarona. Los valores se expresan como media \pm SEM. * p < 0,01 versus M, ANOVA acoplado a Tukey-Kramer.

La medida de la velocidad máxima de ascenso de la fase 0 del potencial de acción ($V_{m\text{áx}}$) es una aproximación a la disponibilidad de canales de Na^+ activables, por lo cual se utiliza como un índice indirecto del bloqueo de los canales de Na^+ por drogas. Llamativamente, no se observaron cambios significativos dependientes del uso en la $V_{m\text{áx}}$ después de

la perfusión con amiodarona o dronedarona. En condición control, las $V_{m\text{áx}}$ disminuyeron en el endocardio, el epicardio y las células M un $7 \pm 2\%$, $7 \pm 3\%$ y $4 \pm 3\%$ (media \pm SEM), respectivamente, a LC de 500 mseg respecto de su valor a la LC de 2.000 mseg. Bajo el efecto de la amiodarona ($100 \mu\text{M}$), disminuyeron $8 \pm 5\%$, $8 \pm 6\%$ y $6 \pm 3\%$, respectivamente.

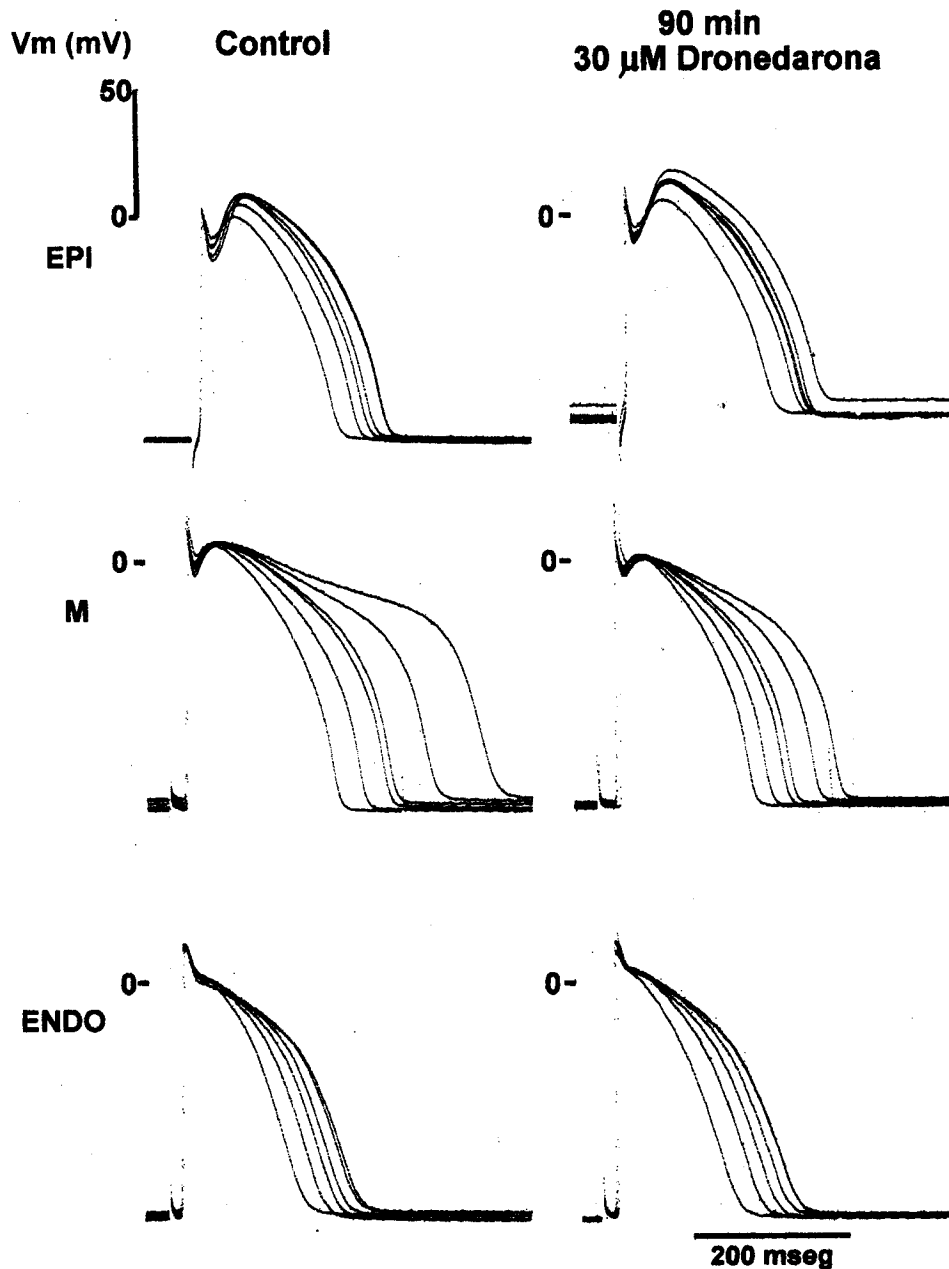


Fig. 4. Efectos de la dronedarona sobre la dependencia de la frecuencia de los potenciales de acción epicárdicos (EPI), M y endocárdicos (ENDO) del ventrículo izquierdo canino. Cada panel muestra superpuestos los registros obtenidos en estado estacionario a longitudes de ciclo (LC) de 300, 500, 800, 1.000, 2.000 y 5.000 mseg, en condición control (izquierda), y luego 90 minutos de perfusión con $30 \mu\text{M}$ de dronedarona (derecha).

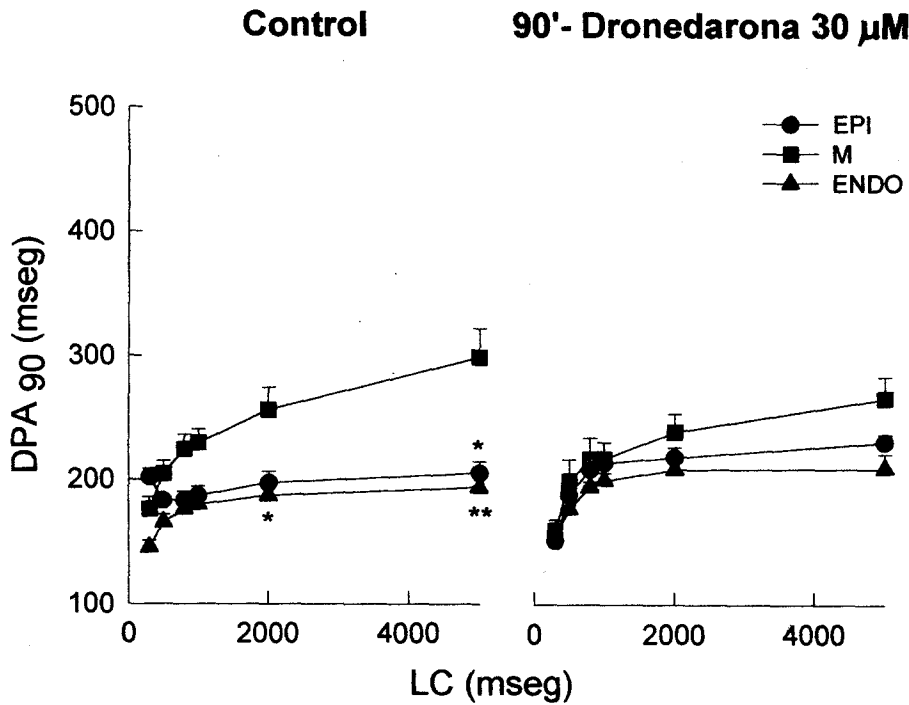


Fig. 5. Efecto de la dronedarona sobre la dependencia de la frecuencia de los valores medios de la DPA₉₀ del epicardio (EPI), la región M (M) y el endocardio (ENDO) del ventrículo canino (n = 6). Curvas DPA en función del LC en control y después de 90 minutos de dronedarona. La dronedarona aguda reduce la dispersión transmural de la repolarización en el miocardio ventricular canino. Cada punto representa la media ± SEM. * p < 0,01; ** p < 0,001.

Efectos de la dronedarona sobre el potencial de acción

La dronedarona, perfundida *in vitro*, provocó, al igual que la amiodarona, efectos diferenciales es-

pecíficos en cada uno de los tipos celulares estudiados. Incrementó levemente la DPA de las células epicárdicas y endocárdicas, pero disminuyó o no indujo ningún cambio sobre la DPA de las célu-

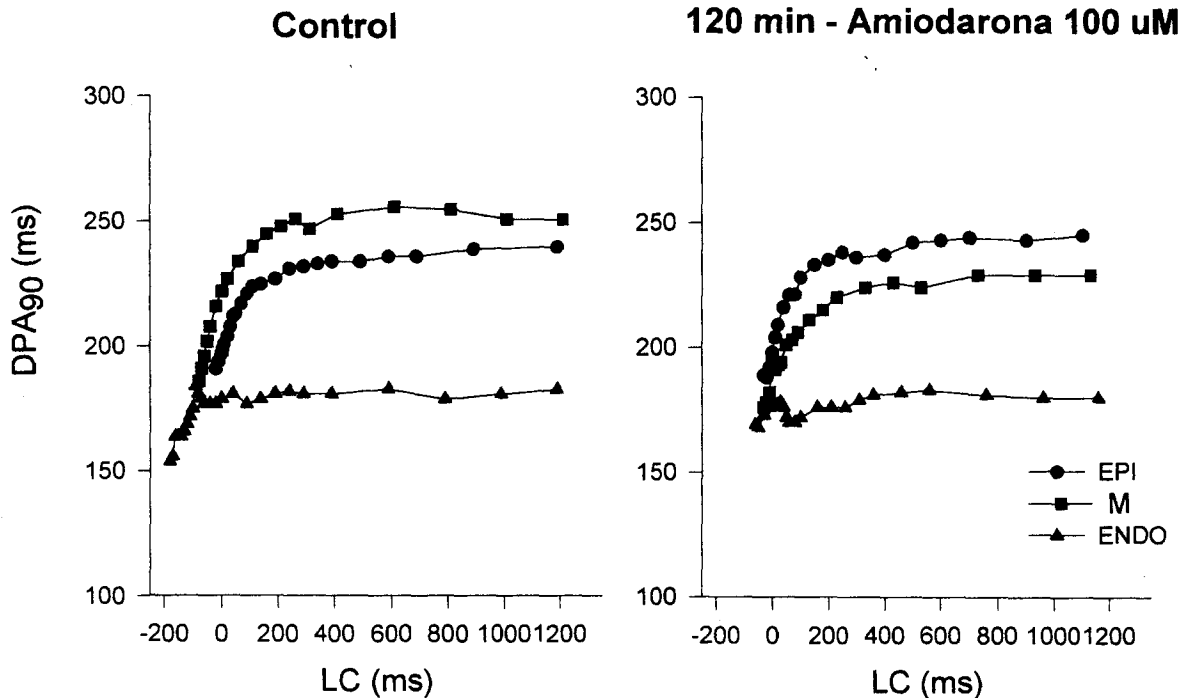


Fig. 6. Efecto de la amiodarona sobre la restitución de los potenciales de acción. La DPA₉₀ de los potenciales prematuros de células epicárdicas (EPI), de la región M (M) y endocárdicas (ENDO) se grafican en función del intervalo diastólico (intervalo comprendido entre el final de la repolarización del latido de base y la fase 0 del latido prematuro). Panel izquierdo: control, y panel derecho: luego de 120 minutos de exposición a 100 µM de amiodarona. Cada potencial prematuro se introdujo a intervalos diastólicos crecientes, luego del décimo latido de base a un ciclo de 2 segundos.

las M (Figura 4). La dronedarona no mostró una dependencia reversa del uso; la prolongación de la DPA que produjo fue levemente mayor en las frecuencias rápidas que en las más lentas (Figura 4). En las células M, la dronedarona actuó principalmente disminuyendo su DPA a frecuencias lentas (Figura 5). La amplitud del potencial de acción y el potencial de la membrana en reposo no fueron modificados por la dronedarona (Tabla 2), que tampoco produjo cambios significativos en la $V_{m\acute{a}x}$ de los tres tipos celulares estudiados ($30\ \mu\text{M}$) (datos no mostrados).

Efectos de la amiodarona y la dronedarona sobre la restitución del potencial de acción ventricular

Los determinantes de la DPA y amplitud de la fase

1 del potencial de acción pueden ser muy diferentes en condiciones de estimulación de estado estacionario y fuera de él. Por esta razón se estudiaron las características de los potenciales de acción fuera de estado estacionario, es decir, los potenciales que corresponderían a extraestímulos introducidos durante un ritmo cardíaco regular.

Las restituciones de los potenciales de acción de células epicárdicas, M y endocárdicas se diseñaron con el fin de estudiar los efectos de la amiodarona y la dronedarona sobre las características de los potenciales de acción prematuros y el período refractario efectivo. La amiodarona ($100\ \mu\text{M}$) y la dronedarona (10 y $30\ \mu\text{M}$), al igual que sucede en estado estacionario, acortaron las DPA de los latidos prematuros en las células M, pero los incrementaron en

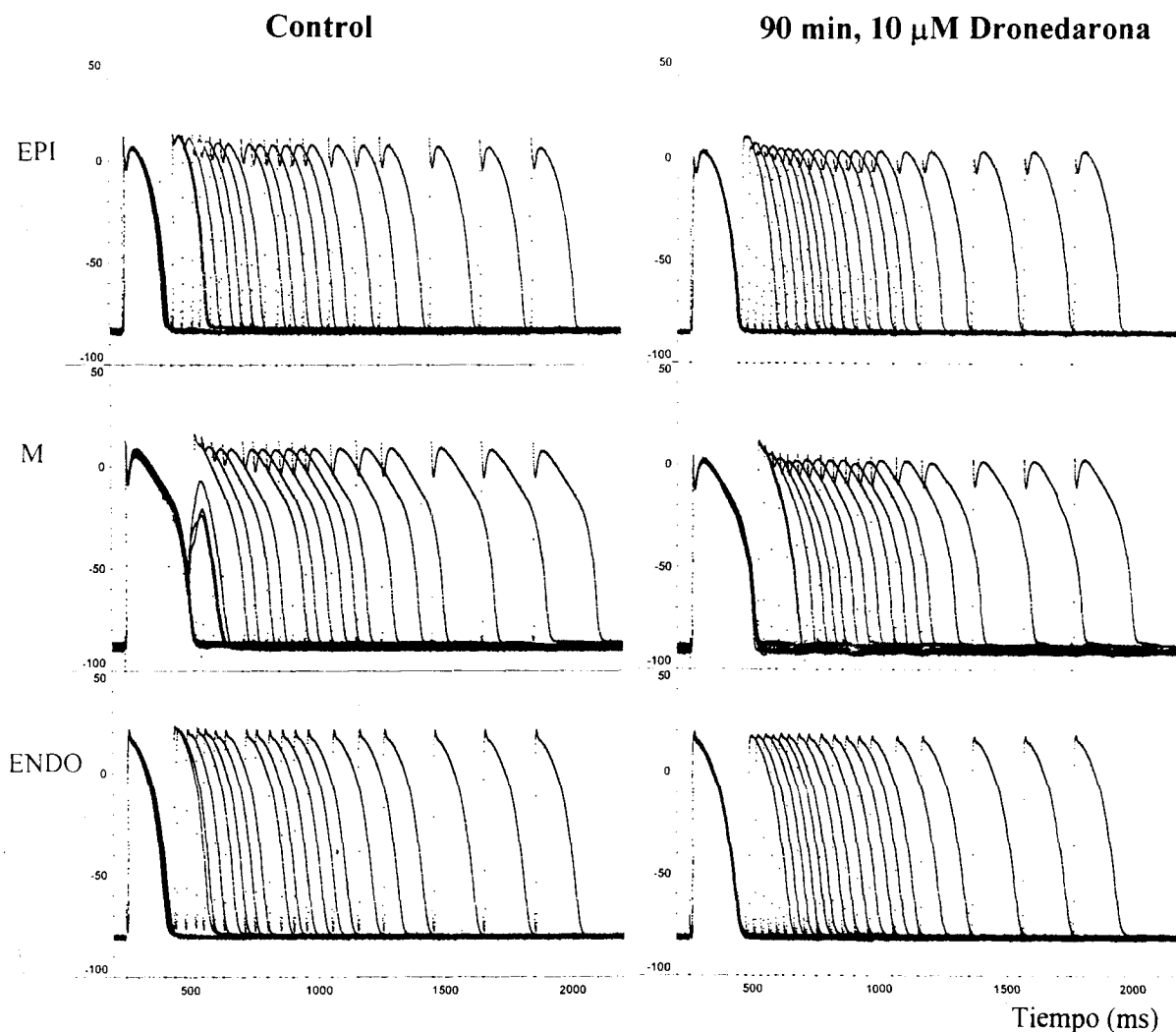


Fig. 7. Efecto de la dronedarona sobre los potenciales de acción de los latidos prematuros. Se describen las restituciones de los potenciales de acción de células epicárdicas (EPI), de la región M (M) y endocárdicas (ENDO) en condición control (izquierda) y luego de 90 minutos de exposición a $10\ \mu\text{M}$ de dronedarona (derecha). El primer potencial en cada panel corresponde al último de un tren de 10 a un ciclo de 2 segundos, los latidos siguientes corresponden a estímulos introducidos a intervalos diastólicos (ID) crecientes. La dronedarona reduce la dispersión transmural de la repolarización en las respuestas desarrolladas por extraestímulos.

las células del epicardio y el endocardio (Figuras 6 y 7), de manera que la amiodarona y la dronedarona disminuyeron la dispersión de la repolarización de las células del miocardio ventricular, aun en las respuestas a los extraestímulos.

Efecto de la amiodarona sobre los pospotenciales precoces

En tres experimentos probamos la habilidad de la amiodarona (100 μ M) para revertir y/o prevenir las acciones proarrítmicas del d-sotalol (100 μ M) sobre las células M. La amiodarona fue eficaz en la prevención o la reversión de los efectos proarrítmicos del d-sotalol. Cuando la amiodarona se perfundió previamente al d-sotalol, el incremento de la DPA de los tres tipos celulares fue más homogéneo y fue imposible inducir pospotenciales precoces en las células M; por otra parte, cuando la amiodarona se perfundió después del d-sotalol, y en su presencia, eliminó los pospotenciales y redujo el incremento de la dispersión de la repolarización causada por el d-sotalol, resultando en un miocardio más homogéneo eléctricamente (Figura 8).

DISCUSION

El presente estudio muestra que la amiodarona y

la dronedarona, *in vitro*, presentan similitudes en sus efectos electrofisiológicos. Disminuyen la dispersión de la refractariedad ventricular, acortando principalmente el potencial de acción de las células M, prolongándolo levemente en el endocardio y el epicardio, sin provocar un efecto depresor de la $V_{\text{máx}}$ en estas células.

Efectos de la amiodarona

La amiodarona, administrada por vía intravenosa, produce una lentificación en la conducción a nivel del nodo AV y, aunque en menor medida, de los tiempos de conducción en el sistema His-Purkinje e intraventricular. (28, 29) Existen opiniones dispares acerca de su efecto de clase III; algunos estudios describen un aumento en la duración del período refractario efectivo y del potencial de acción monofásico (29, 30) y otros no observaron estos cambios. (31, 32)

La mayoría de los estudios experimentales realizados con amiodarona aguda describen un bloqueo sódico marcado como consecuencia del bloqueo de los canales rápidos de Na^+ , puesto de relieve en una disminución de la $V_{\text{máx}}$ o en el aumento del tiempo de conducción de fibras rápidas. (5, 28, 30) En este estudio no se observó un efecto depresor de la amio-

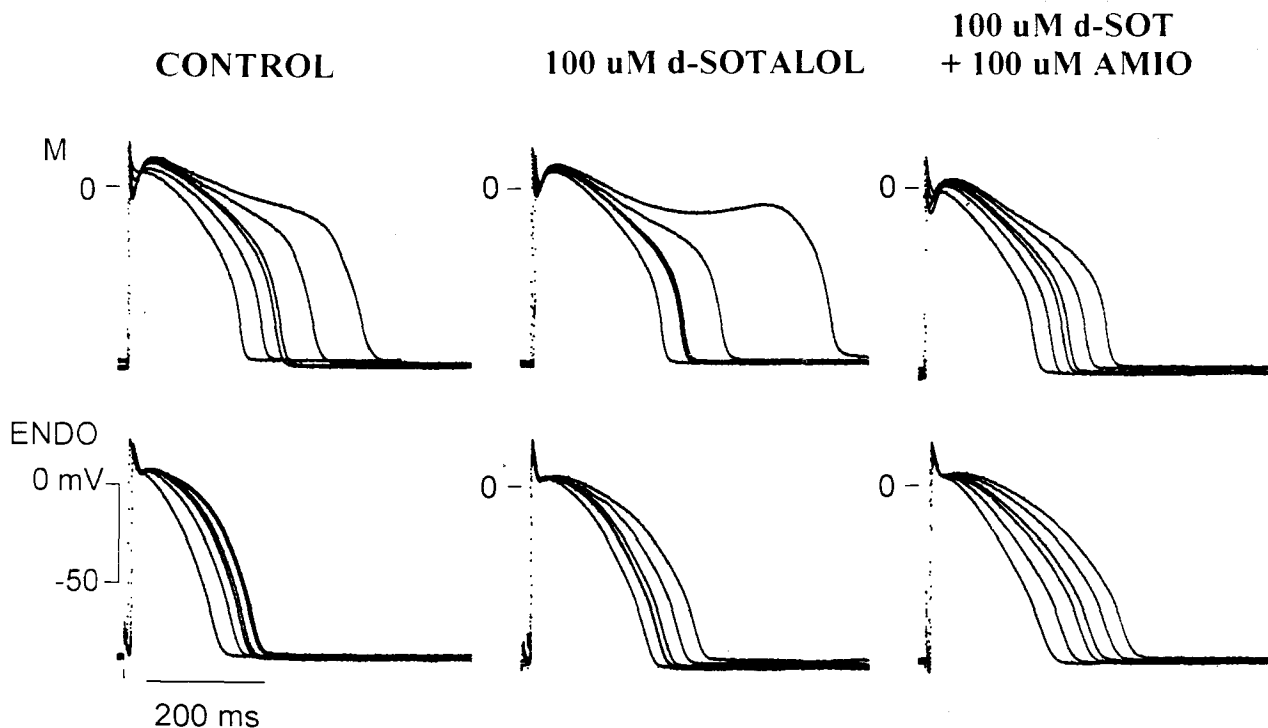


Fig. 8. Efecto de la amiodarona sobre los pospotenciales precoces inducidos por el d-sotalol en las células M. Cada panel muestra superpuestos los registros obtenidos en estado estacionario, simultáneamente, en una célula M y una célula endocárdica (ENDO) a longitudes de ciclo (LC) de 300, 500, 800, 1.000, 2.000 y 5.000 mseg en control (izquierda), bajo el efecto de 100 μ M de d-sotalol (centro) y luego de adicionar 100 μ M de amiodarona bajo perfusión continua con d-sotalol (derecha). La amiodarona eliminó los pospotenciales precoces inducidos por el d-sotalol en las células M.

darona sobre las $V_{m\acute{a}x}$ de las células epicárdicas, endocárdicas o M. Los cambios frecuencia-dependientes de las $V_{m\acute{a}x}$ en presencia de la droga no son diferentes del control, lo cual sugiere que la amiodarona no afectaría el canal rápido de sodio de un modo dependiente del uso. El principal efecto que se observó aquí es un acortamiento del potencial de acción de las células M con efectos mínimos sobre las células endocárdicas y epicárdicas. Este efecto podría provenir del bloqueo realizado por la amiodarona aguda sobre el canal sódico lento, ya que en las células M la intensidad de esta corriente es mayor que en el endocardio y el epicardio, contribuyendo a la mayor duración del *plateau* en las células M. (33) La amiodarona, al bloquear esa corriente, provocaría una homogeneidad mayor de la repolarización transmural. Nuestros datos concuerdan con los de Yabek, (14) Aomine (34) y Papp, (35) que encontraron que la perfusión *in vitro* de la amiodarona acortaba la DPA de las fibras de Purkinje y prolongaba levemente o no modificaba la DPA de las células endocárdicas, homogeneizando eléctricamente el miocardio ventricular.

Recientemente, Yan y Antzelevitch, en preparados de la pared ventricular canina perfundidos a través de una arteria coronaria (técnica de la cuña o *wedge*), mostraron que, en condiciones normales, el pico de la onda T corresponde al final de la repolarización del epicardio y el final de la onda T estaría dado por la repolarización de las células M; (36) la repolarización ventricular se manifestaría en el intervalo T_{pico}-T_{final}. En nuestros experimentos (Figura 1B), el registro diferencial entre el potencial de acción de las células M y las células epicárdicas generó una pseudoonda T que refleja la dispersión transmural de la repolarización, que se acorta al aumentar la frecuencia de estimulación. El efecto de la amiodarona, a nivel de la repolarización de la pared ventricular, se observa en el aplanamiento de la pseudoonda T, producto de una homogeneidad mayor en la duración de los potenciales de acción. Existen similitudes y diferencias entre los resultados de este trabajo y del tratamiento crónico con amiodarona. (18)

Tratamiento crónico versus agudo

Tanto el tratamiento crónico con amiodarona como la perfusión *in vitro* de amiodarona produjeron un acortamiento de la DPA de las células M. En contraste, el tratamiento agudo no modificó sustancialmente el potencial de acción del endocardio que se encontró significativamente aumentado en el tratamiento crónico, probablemente debido al predominio del bloqueo de la corriente IKs en el tratamiento crónico. (37) No obstante, en ambos casos, el resultado fue la reducción en la dispersión transmu-

ral de la repolarización, especialmente en condiciones en que ésta se halla exagerada, como a bajas frecuencias o por la presencia de un agente de clase III, d-sotalol.

Efectos de la dronedarona

Estudios preliminares sugieren que la dronedarona disminuye la $V_{m\acute{a}x}$, reduce la corriente de Ca^{+} , la componente lenta de la corriente de rectificación tardía (IKs) y la corriente de rectificación anómala (IK₁) en miocitos de cobayo. (38)

La perfusión aguda con dronedarona causó una disminución en la duración de los potenciales de acción de las células M, prolongó levemente, pero más que la amiodarona aguda, la duración del potencial epicárdico y prácticamente no afectó el de las células endocárdicas del miocardio ventricular canino. Comparte con la amiodarona aguda la ausencia de un bloqueo sódico dependiente de la frecuencia y la disminución de la dispersión transmural de la repolarización. Por otra parte, la dronedarona parece ser más potente que la amiodarona, ya que se necesitaron concentraciones 3 veces más bajas para alcanzar resultados comparables con la amiodarona.

Mecanismos iónicos

La acción diferencial de la amiodarona y la dronedarona agudas sobre las DPA de los tres tipos celulares mencionados podría resultar, en parte, de un bloqueo de la corriente lenta de sodio que es más prominente en las células M que en las epicárdicas o las endocárdicas. Las células M localizadas en las capas profundas de la pared ventricular y de las estructuras endocárdicas típicamente muestran un potencial de acción mucho más prolongado que el de las células epicárdicas y endocárdicas, especialmente a bajas frecuencias de estimulación. (37, 39-42) Estas diferencias se deberían principalmente a la combinación de una corriente lenta de sodio (INa lenta) mayor y una intensidad menor de la componente lenta de la corriente rectificadora tardía de potasio (IKs) en las células M respecto del epicardio y del endocardio. (41, 42) El bloqueo de la corriente lenta de Na^{+} por la amiodarona provocaría pocos cambios en la DPA de las células epicárdicas y endocárdicas, ya que en estas células la corriente lenta de sodio es débil y la corriente repolarizante de potasio (IK) es fuerte, pero en las células M produciría un acortamiento de la DPA porque en ellas la corriente lenta de sodio es más fuerte y la componente lenta del rectificador tardío de potasio es más débil. Las diferencias entre los efectos agudos y crónicos de la amiodarona podrían basarse sobre el predominio del bloqueo de la IKs en el tratamiento crónico y del bloqueo de la INa lenta en el tratamiento agudo (Figura 9).

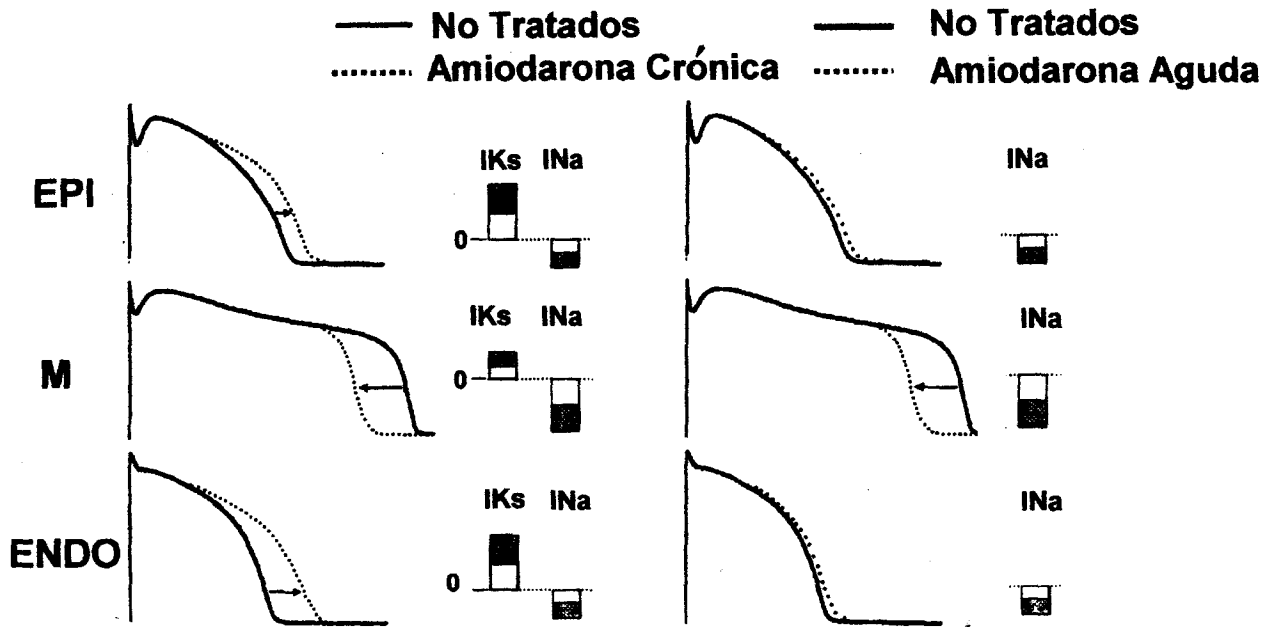


Fig. 9. Posibles mecanismos de acción de la amiodarona aguda y crónica. En el epicardio y el endocardio, donde la IKs es relativamente grande, y la INa tardía relativamente pequeña, un bloqueo igual de ambas corrientes por la amiodarona en el tratamiento crónico podría resultar en una disminución de la corriente neta de salida, prolongando el potencial de acción. En las células M, donde la IKs es relativamente pequeña y la INa relativamente grande, un bloqueo igual de ambas corrientes provocaría un aumento de la corriente neta de salida, abreviando su DPA. El efecto agudo de la amiodarona podría basarse sobre el bloqueo primordial de la corriente lenta de sodio, lo cual determinaría un acortamiento del potencial de las células M, casi sin modificar la duración de los potenciales endocárdicos y epicárdicos.

Efecto de la amiodarona sobre los pospotenciales precoces y actividad gatillada

Las células M manifiestan una prolongación marcada del potencial de acción y pospotenciales precoces luego de la exposición a una variedad de agentes de clase III. (44-46) La prolongación preferencial del potencial de acción de las células M aumenta la dispersión transmural de la repolarización generando un sustrato propicio para las arritmias por reentradas. (17, 44, 47, 48) La amiodarona *in vitro* previno y suprimió los potenciales precoces y actividades gatilladas generadas en las células M, demostrando sus efectos antiarrítmicos al ser utilizada en forma aguda. Efectos similares se observaron previamente en las fibras de Purkinje. (49)

Importancia clínica

La amiodarona intravenosa es un antiarrítmico eficaz en el control de las arritmias ventriculares y supraventriculares. (31, 51, 56) A diferencia de la mayoría de los agentes de clase III, tiene un potencial arritmogénico muy bajo. Los mecanismos subyacentes a su acción a nivel celular y su baja arritmogenicidad permanecen aún no del todo esclarecidos. La reducción de la heterogeneidad eléctrica celular, la ausencia de un efecto de uso-dependencia reversa y la eliminación de pospotenciales precoces, evidenciados en este estudio, podrían ser

algunos de los mecanismos implicados. La dronedarona se sintetizó como una droga alternativa a la amiodarona con la intención de mantener su actividad antiarrítmica, pero eliminando los efectos colaterales producidos por la presencia de los átomos de yodo. Esta droga, actualmente en etapa de investigación clínica, demostró en nuestros experimentos que posee un perfil electrofisiológico similar al de la amiodarona al ser perfundida *in vitro*, que concuerda con estudios previos. (25) La dronedarona intravenosa redujo la incidencia de arritmias por reperfusión en ratas anestesiadas (25) y por isquemia en cerdos (23) y prolongó el período refractario efectivo auricular, ventricular y del nodo AV en perros anestesiados. Las características de la dronedarona observadas en este estudio sugieren su uso potencial en el tratamiento de las arritmias ventriculares, así como en arritmias de origen supraventricular, según se evidencia en otro estudio realizado concomitantemente en nuestro laboratorio con preparados auriculares (véase "Estudio comparativo de los efectos de la dronedarona y la amiodarona sobre el automatismo del nódulo sinusal de conejo", en este número, página nnn).

Algunos de los interrogantes que quedan por responder son si la dronedarona en el tratamiento crónico posee potencial antiarrítmico y si carece de los efectos colaterales de la amiodarona; en tanto, el

papel de la glándula tiroidea continúa siendo motivo de controversia y muchos autores creen que el efecto de la amiodarona se debe en gran parte al efecto acumulativo de sus componentes yodados.

SUMMARY

ACUTE EFFECTS OF AMIODARONE AND DRONEDARONE ON EPICARDIAL, M AND ENDOCARDIAL CELLS OF THE CANINE VENTRICLE

Introduction

Amiodarone is an antiarrhythmic agent widely used for the treatment of supraventricular and ventricular arrhythmias. Dronedaron is a recently developed compound structurally related to amiodarone, free of iodine substituents. In a previous work it was demonstrated that chronic treatment with amiodarone reduces transmural dispersion of repolarization in the canine heart.

Objectives and methods

We studied the acute effects of amiodarone (100 μ M) and dronedaron (10-30 μ M) on epicardial, endocardial and M region tissues obtained from left ventricular wall of the canine heart using a standard microelectrode technique.

Results

Amiodarone (100 μ M, 120 min) exerted a weak change on epicardial and endocardial action potential duration, but decreased it on M cell, specially at low rates, leading to a decrease in the transmural dispersion of repolarization. Similar results were observed with dronedaron.

Conclusions

The decrease in transmural dispersion of repolarization and the elimination, rather than the induction of early afterdepolarization differentiates amiodarone from the other class III agents, and may explain in part its efficacy and less proarrhythmic effects. The similarities between amiodarone and dronedaron suggest the potential role of dronedaron in the treatment of ventricular and supraventricular arrhythmias.

Key words Amiodarone - Dronedaron - Dispersion - M cells - Acute - Afterdepolarizations - Ventricular - Repolarization - Class III - Antiarrhythmics

BIBLIOGRAFIA

- Rosenbaum MB, Chiale PA, Halpern MS y col. Clinical efficacy of amiodarone as an antiarrhythmic agent. *Am J Cardiol* 1976; 38: 934-944.
- Weinberg BA, Miles WM, Klein LS y col. Five-year follow-up of 589 patients treated with amiodarone. *Am Heart J* 1993; 125: 109-120.
- Navarro-López F, Cosin J, Marrugat J, Guindo J, De Luna AB. Comparison of the effects of amiodarone versus metoprolol on the frequency of ventricular arrhythmias and on mortality after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1993; 72: 1243-1248.
- Singh BN, Vaughan-Williams EM. The effect of amiodarone, a new anti-anginal drug, on cardiac muscle. *Br J Pharmacol* 1970; 39: 657-667.
- Varro A, Nakaya Y, Elharrar V, Surawicz B. Use-dependent effects of amiodarone on V max in cardiac Purkinje and ventricular muscle fibers. *Eur J Pharm* 1985; 112: 419-422.
- Sager PT, Uppal P, Follmer C, Antimisiaris MG, Pruitt CM, Singh BN. Frequency-dependent electrophysiologic effects of amiodarone in humans. *Circulation* 1993; 88: 1063-1071.
- Kadish AH, Chen R-F, Schmaltz S, Morady F. Magnitude and time course of beta-adrenergic antagonism during oral amiodarone therapy. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 1240-1245.
- Nattel S, Talajic M, Quantz MA, De Roode MR. Frequency-dependent effects of amiodarone on atrioventricular nodal function and slow-channel action potentials: Evidence for calcium channel blocking activities. *Circulation* 1987; 76: 442-449.
- Takanaka C, Singh BN. Barium-induced nondriven action potentials as a model of triggered potentials from early afterdepolarization. Significance of slow channel activity and differing effects of quinidine and amiodarone. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 213-221.
- Singh BN. Electropharmacologic properties of amiodarone. *En: Singh BN (ed). Control of cardiac arrhythmias by lengthening repolarization.* Mount Kisco, NY, Futura Publishing Company 1988; pp 367-400.
- Patterson E, Eller BT, Abrams GD, Vasiliades J, Lucchesi BR. Ventricular fibrillation in a conscious canine preparation of sudden coronary death-prevention by short and long term amiodarone administration. *Circulation* 1983; 68: 857-864.
- Varro A, Nakaya Y, Elharrar V, Surawicz B. The effects of amiodarone on repolarization and refractoriness of cardiac fibers. *Eur J Pharm* 1988; 154: 11-18.
- Gallagher JD, Bianchi J, Gessman LJ. A comparison of the electrophysiological effects of acute and chronic amiodarone administration on canine Purkinje fibers. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13: 723-729.
- Yabek SM, Kato R, Singh BN. Acute effects of amiodarone on the electrophysiologic properties of isolated neonatal and adult cardiac fibers. *J Am Coll Cardiol* 1985; 5: 1109-1115.
- Hohnloser SH, Klingenhoben T, Singh BN. Amiodarone-associated proarrhythmic effects. A review with special reference to torsade de pointes tachycardia. *Ann Intern Med* 1994; 121: 529-535.
- Sicouri S, Antzelevitch C, Moro S, Celestino D. Las subpoblaciones de células miocárdicas ventriculares. Importancia fisiológica y fisiopatológica de las células M. *En: Elizari MV, Chiale P (eds). Arritmias cardíacas. Bases celulares y moleculares, diagnóstico y tratamiento.* Buenos Aires, Propulsora Literaria 1998; pp 83-99.
- Antzelevitch C, Sicouri S, Lukas A, Nesterenko VV, Liu DW, Di Diego JM. Regional differences in the electrophysiology of ventricular cells: Physiological and clinical implications. *En: Zipes DP, Jalife J (eds). Cardiac electrophysiology: From cell to bedside (2ª ed).* Philadelphia, WB Saunders Co 1995; pp 228-245.
- Sicouri S, Moro S, Litovsky SH, Elizari MV, Antzelevitch C. Chronic amiodarone reduces transmural dispersion of repolarization in the canine heart. *J Cardiovasc Electro-physiol* 1997; 8: 1269-1279.
- Dake M, Madison J, Montgomery C. Electron microscopic demonstration of lysosomal inclusion bodies in lung, liver, lymph nodes and blood leukocytes of patients with amiodarone pulmonary toxicity. *Am J Med* 1985; 78: 506-511.
- Martin W, Rosenow E. Amiodarone pulmonary toxicity rec-

- ognition and pathogenesis. *Chest* 1988; 93: 1067-1075.
21. Gill J, Heel RC, Fittion A. Amiodarone. An overview of its pharmacological properties, and review of its therapeutic use in cardiac arrhythmias. *Drugs* 1992; 43: 69-110.
 22. Chatelain P, Meysmans L, Matteazzi JR, Beaufort P, Clinet M. Interaction of the antiarrhythmic agents SR 33589 and amiodarone with the beta-adrenoceptor and adenylate cyclase in rat heart. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 1949-1956.
 23. Finance O, Manning A, Chatelain P. Effects of a new amiodarone-like agent, SR 33589, in comparison to amiodarone, D,L-sotalolol, and lignocaine, on ischemia-induced ventricular arrhythmias in anesthetized pigs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: 570-576.
 24. Manning AS, Bruyninckx C, Ramboux J, Chatelain P. SR 33589, a new amiodarone-like agent: effect on ischemia- and reperfusion-induced arrhythmias in anesthetized rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: 453-461.
 25. Hodeige D, Heyndrickx JP, Chatelain P, Manning A. SR 33589, a new amiodarone-like antiarrhythmic agent: anti-adrenoceptor activity in anesthetized and conscious dogs. *Eur J Pharmacol* 1995; 279: 25-32.
 26. Manning A, Thisse V, Hodeige D, Richard J, Heyndrickx JP, Chatelain P. SR 33589, a new amiodarone-like antiarrhythmic agent: electrophysiological effects in anesthetized dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25: 252-261.
 27. Moro S, Celestino D, Elizari MV, Sicouri S. El tratamiento agudo con amiodarona disminuye la dispersión transmural de la repolarización en el ventrículo canino. *Rev Argent Cardiol* 1997; 65: IV (abstract).
 28. Stark G, Stark U, Windisch H y col. Comparison of acute electrophysiological effects of amiodarone and its metabolite desethylamiodarone in Langendorff perfused guinea pig hearts. *Basic Res Cardiol* 1991; 86: 136-147 (abstract).
 29. Deharo JC, Durand A, Macaluso G y col. Clinical electrophysiological effects of a single high oral dose of amiodarone. *Fundam Clin Pharmacol* 1997; 11: 275-280.
 30. Morady F, Dicarolo LA, Krol RB, Baerman JM, De Buitelir M. Acute and chronic effects of amiodarone on ventricular refractoriness, intraventricular conduction and ventricular tachycardia induction. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 148-157.
 31. Hariman RJ, Gomes JA, Kang PS, El-Sherif N. Effects of intravenous amiodarone in patients with inducible repetitive ventricular responses and ventricular tachycardia. *Am Heart J* 1984; 107: 1109 (abstract).
 32. Singh BN. Amiodarone: historical development and pharmacologic profile. *Am Heart J* 1983; 106: 788-797.
 33. Eddlestone GT, Zygmunt AC, Antzelevitch C. Large late sodium current contributes to the longer action potential of the M cell in canine ventricular myocardium. *PACE* 1996; 19: II-569 (abstract).
 34. Aomine M. Multiple electrophysiological actions of amiodarone on guinea pig heart. *Naunyn-Schmied. Arch Pharmacol* 1988; 338: 589-599.
 35. Papp JG, Nemeth M, Krassoi I, Mester L, Hala O, Varro A. Differential electrophysiological effects of chronically administered amiodarone on canine Purkinje fibers versus ventricular muscle. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1996; 4: 287-296.
 36. Yan GX, Antzelevitch C. Cellular basis for the electrocardiographic J wave. *Circulation* 1996; 93: 372-379.
 37. Kamiya K, Yoshida S, Hojo M y col. Differential effects of acute and chronic administration of amiodarone on E-4031-sensitive component (IKr) and chromanol 293B-sensitive component (IKs) on the delayed rectifier potassium current in rabbit ventricular myocytes. *Circulation* 1998; 98: I-3209 (abstract).
 38. Gautier P, Marion A, Bertrand JP, Tourneur Y, Nisato D. Electrophysiological characterization of dronedarone (SR 33589), a new amiodarone-like agent, in cardiac ventricular myocytes. *Eur J Cardiol* 1998; 98: 1589 (abstract).
 39. Sicouri S, Antzelevitch C. A subpopulation of cells with unique electrophysiological properties in the deep subepicardium of the canine ventricle: The M cell. *Circ Res* 1991; 68: 1729-1741.
 40. Sicouri S, Fish J, Antzelevitch C. Distribution of M cells in the canine ventricle. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994; 5: 824-837.
 41. Drouin E, Charpentier F, Gauthier C, Laurent K, Le Marec H. Electrophysiological characteristics of cell spanning the left ventricular wall of human heart: Evidence for the presence of M cells. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 185-192.
 42. Sicouri S, Quist M, Antzelevitch C. Evidence for the presence of M cells in the guinea pig ventricle. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1996; 7: 503-511.
 43. Liu DW, Antzelevitch C. 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* 1995; 76: 351-365.
 44. Antzelevitch C, Sicouri S. Clinical relevance of cardiac arrhythmias generated by afterdepolarizations: The role of M cells in the generation of U waves, triggered activity and torsade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 259-277.
 45. Sicouri S, Moro S, Elizari MV. d-Sotalolol induces marked action potential prolongation and early afterdepolarization in M but not epicardial or endocardial cells of the canine ventricle. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1997; 2: 27-38.
 46. Sicouri S, Antzelevitch C. Drug-induced afterdepolarizations and triggered activity occur in a discrete subpopulation of ventricular muscle cell (M cell) in the canine heart: Quinidine and digitalis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993; 4: 48-58.
 47. Antzelevitch C, Nesterenko VV, Yan GX. The role of M cells in acquired long QT syndrome, U waves and torsade de pointes. *J Electrocardiol* 1996; 28 (Suppl): 131-138.
 48. Shimizu W, Antzelevitch C. Sodium channel block with mexiletine is effective in reducing dispersion of repolarization and preventing torsade de pointes in LQT2 and LQT3 models of the long-QT syndrome. *Circulation* 1997; 96: 2038-2047.
 49. Elizari MV, Levi RJ, Novakosky A, Lazzari JO, Vetulli HM, Rosebaum MB. Cellular effects of antiarrhythmic drugs, remarks on methodology. *En: Symposium on antiarrhythmic and antianginal drugs with cumulative effects*. Paris, Sanofi Pharma International Ed 1980; 9-23.
 50. Singh BN. Acute management of ventricular arrhythmias: role of antiarrhythmic agents. *Pharmacotherapy* 1997; 17: 565-645.
 51. Clemons HF, Wood MA, Gilligan DM, Ellenbogen KA. Intravenous amiodarone for acute heart rate control in the critically ill patient with atrial tachyarrhythmias. *Am J Cardiol* 1998; 81: 594-598.