

Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Laboratorio de Electrofisiología.
Departamento de Investigaciones

EFFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN α_1 -ADRENÉRGICA SOBRE LAS CORRIENTES DE CALCIO TIPOS T Y L EN CÉLULAS CARDÍACAS AISLADAS

Tania Ferrer Villada,¹ Karel Talavera Pérez,² Julio L. Álvarez González³

RESUMEN

La estimulación de los receptores α_1 -adrenérgicos juega un papel esencial en el control del estado inotrópico del corazón, además de ser un factor arritmogénico durante la isquemia cardíaca. Sin embargo, su papel en el control de los movimientos de Ca^{2+} en la célula cardíaca es poco conocido. Nuestro objetivo fue, por tanto, estudiar los efectos de la estimulación α_1 -adrenérgica sobre las corrientes de Ca^{2+} tipos T y L (I_{CaT} e I_{CaL} respectivamente) en células cardíacas aisladas de corazón de rana. La fenilefrina (10 mmol/L) en presencia de propranolol (1 mmol/L), incrementó I_{CaL} e I_{CaT} . Este incremento fue completamente bloqueado por el prazosín (0,1 mmol/L). El bloqueo de la actividad de las proteínas G impidió el incremento de I_{CaT} e I_{CaL} por la fenilefrina. El bloqueo de la fosfolipasa C impidió las acciones α_1 -adrenérgicas sobre I_{CaL} pero no totalmente sobre I_{CaT} . Se concluye que la estimulación α_1 -adrenérgica incrementa I_{CaL} por una vía que involucra fosfolipasa C, mientras que sobre I_{CaT} el control pudiera ser más directo a través de las proteínas G.

Descriptores DeCS: RECEPTORES ADRENERGICOS AL FA-1; CONTRACCION MIOCARDICA.

La modulación simpática de la función cardíaca no sólo está mediada por los receptores β -adrenérgicos sino también por los receptores α_1 -adrenérgicos. Mientras que el mecanismo de acción de los receptores β -adrenérgicos sobre las corrientes de Ca^{2+} en el corazón ha sido

bastante dilucidado,¹ el de los receptores α_1 -adrenérgicos no es claro aún.²⁻⁴ Existen evidencias de que la corriente de Ca^{2+} tipo L aumenta, disminuye o no varía en presencia de agonistas α_1 -adrenérgicos,^{5,6} lo cual ha traído como consecuencia que no exista consenso acerca del posible

¹ Licenciada en Bioquímica. Aspirante a Investigador.

² Licenciado en Física. Aspirante a Investigador.

³ Doctor en Ciencias. Investigador Titular.

mecanismo de acción sobre este tipo de corriente. En cuanto a los efectos sobre la corriente de Ca^{2+} tipo T, se ha descrito que ésta se incrementa luego de la estimulación α_1 -adrenérgica en células ventriculares caninas⁷ y en células auriculares de rana,⁸ se desconoce el mecanismo por el cual se produce este efecto. No obstante, según *Tseng y Boyden*⁷ este efecto pudiera estar relacionado con el incremento en el Ca^{2+} libre intracelular. Por otra parte, aunque la contribución de la estimulación α_1 -adrenérgica al efecto inotrópico positivo de las catecolaminas es conocida, los mecanismos por los cuales se produce este efecto no han sido aún completamente definidos; la sensibilización de los miofilamentos al Ca^{2+} intracelular es el único mecanismo bien establecido.^{3,4,9}

Es conocido el papel de la estimulación α_1 -adrenérgica en las génesis de las arritmias durante la isquemia y el infarto del miocardio.⁴ Estas arritmias se producen tanto por mecanismos de reentrada como por trastornos del automatismo; dentro de estos últimos pueden considerarse las posdespolarizaciones tempranas o tardías.¹⁰ Existen evidencias que destacan el papel de las corrientes de Ca^{2+} y del Ca^{2+} intracelular como responsables de la génesis y mantenimiento de dichas posdespolarizaciones.¹¹ Resulta evidente entonces, la importancia de conocer los mecanismos de regulación de las corrientes de Ca^{2+} y del Ca^{2+} intracelular por la estimulación α_1 -adrenérgica.

Los objetivos de este trabajo fueron por tanto, comprobar la presencia de un efecto α_1 -adrenérgico sobre las corrientes de Ca^{2+} tipos L y T, caracterizándolo y tratando de precisar su mecanismo de acción. Para ello se escogió como modelo experimental la célula aislada de corazón de rana. Las células auriculares, en particular, presentan estos 2 tipos de corrientes de

Ca^{2+} .⁸ Adicionalmente, se construyó un modelo matemático del potencial de acción cardíaco de las células estudiadas y se modelaron los efectos de la estimulación α_1 -adrenérgica sobre éste.

MÉTODOS

En los experimentos se utilizaron células auriculares y ventriculares de *Rana catesbeiana* que fueron aisladas enzimáticamente por un método antes descrito por *Álvarez y Vassort*.⁸ En los experimentos, alícuotas de células fueron depositadas en placas de *Petri* con solución *Ringer* y puestas en la platina de un microscopio invertido. Las células se perfundieron por gravedad a temperatura ambiente con una solución *Ringer* modificada (en mmol/L): NaCl 88,4; CaCl_2 1,8; MgCl_2 1,8; ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etanosulfónico (HEPES) 10,0; glucosa 10,0 y piruvato de sodio 5,0 a pH = 7,4. Además, estas soluciones contenían tetrodotoxina (TTX) 2 mmol/L y CsCl 20 mmol/L con el objetivo de inhibir las corrientes de sodio y potasio.^{8,12}

Las corrientes de Ca^{2+} tipos L (I_{CaL}) y T (I_{CaT}) fueron registradas mediante la técnica de "patchclamp" convencional en la variante de célula entera,¹³ utilizando un amplificador RK-300 (Biologic, Francia) y micropipetas de vidrio con resistencias entre 2 y 5 megaohmios, las cuales fueron llenadas con una solución («intracelular») de la siguiente composición (en mmol/L): CsCl 120,0; ácido etilenglicol-bis-(b-aminoetil éter)-N,N,N',N'-2-etanosulfónico (EGTA) 10,0; MgCl_2 4,0; creatinfosfato de sodio 5,0; Na_2ATP 3,0; Na_2GTP 0,4 y HEPES 10,0; ajustada a pH 7,2 con CsOH. En algunos experimentos, en la solución intracelular se substituyó el ATP y el GTP por ADP (3 mmol/L) y GDPbS (1 mmol/L) y

en otros se añadió neomicina (300 mmol/L para registrar I_{CaL} ó 100 mmol/L para registrar I_{CaT}). Todos los experimentos fueron realizados a la temperatura del laboratorio (21-23 °C). Todos los agonistas y antagonistas utilizados (fenilefrina 10 mmol/L, propranolol 1 mmol/L y prazosín 0,1 mmol/L) provienen de Sigma (USA). Para las mediciones de rutina de I_{CaT} (realizadas en células auriculares), se estableció un potencial basal de -100 mV y se aplicó un pulso a -50 mV (200 ms de duración) cada 8 s. Para las mediciones de I_{CaL} se utilizaron células auriculares y ventriculares, aplicando el pulso *test* a 0mV (200 ms de duración) cada 8 s. En ambos casos la amplitud de la corriente se determinó como la diferencia entre el valor pico hacia adentro y el valor de corriente al final del pulso de 200 ms.

Los resultados se analizaron estadísticamente por el *test* t de Student considerándose significativos para una $p < 0,05$.

Los potenciales de acción fueron calculados a partir de la solución de un modelo matemático de la actividad eléctrica de la célula auricular,¹⁴ al cual se le incorporó la corriente Ca^{2+} tipo T. Este modelo se basa en un sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden tipo *Hodgkin-Huxley*. La corriente tipo T fue expresada de la forma: $G_{CaT} \cdot d.f.(V - V_{Ca})$, donde G_{CaT} es la conductancia máxima para I_{CaT} (1/4 de la de I_{CaL}), d y f son las variables de activación e inactivación respectivamente y $V_{Ca} = + 120$ mV es el potencial de equilibrio de Ca^{2+} . Los parámetros de activación e inactivación fueron descritos según *Álvarez y Vassor*.⁸ El sistema de ecuaciones diferenciales fue integrado con ayuda de subrutinas de cálculo implementadas sobre el software *MatLab* (versión 4.0; *Math Works. Inc. USA*).

RESULTADOS

Para comprobar la presencia de un efecto α_1 -adrenérgico sobre las corrientes de Ca^{2+} , se utilizó el agonista específico de estos receptores, la fenilefrina, en presencia de propranolol, para descartar cualquier tipo de influencia β -adrenérgica.¹⁵ La figura 1A muestra que la corriente de Ca^{2+} tipo L (I_{CaL}) basal es disminuida por el propranolol (1 mmol/L); este efecto puede deberse a un bloqueo directo de los canales de Ca^{2+} por éste.¹⁶ Al adicionar la fenilefrina (10 mmol/L), en presencia del propranolol, I_{CaL} es incrementada. Este incremento en I_{CaL} alcanzó un máximo en 2-3 min y fue transitorio, reduciéndose I_{CaL} (en aproximadamente el 50 % de las células estudiadas) a valores similares a los previos a la estimulación o en algunos casos menores. El nivel «estable» alcanzado después del incremento máximo, fue muy variable tanto en amplitud como en el tiempo transcurrido hasta alcanzarlo (de 2 a 5 min). Por ello, para evaluar cuantitativamente el efecto de la fenilefrina sobre I_{CaL} nos referiremos solamente al incremento máximo de esta corriente respecto a su amplitud en presencia de propranolol. En las 16 células estudiadas el propranolol disminuyó I_{CaL} al 63 ± 5 % del control y la fenilefrina la incrementó, en 13 de ellas, al 120 ± 4 % ($p < 0,05$) respecto al valor alcanzado en propranolol. Este incremento en I_{CaL} fue bloqueado completamente por el prazosín (0,1 mmol/L) como se muestra en la figura 1B. El prazosín careció de efectos sobre la I_{CaL} basal ($n = 10$). Es necesario destacar que en 3 de las 16 células no se obtuvo respuesta a la fenilefrina.

Es conocido que la estimulación de los receptores α_1 -adrenérgicos provoca una estimulación de la proteína quinasa C (PKC) como resultado de una cascada de reacciones que involucra una proteína G y

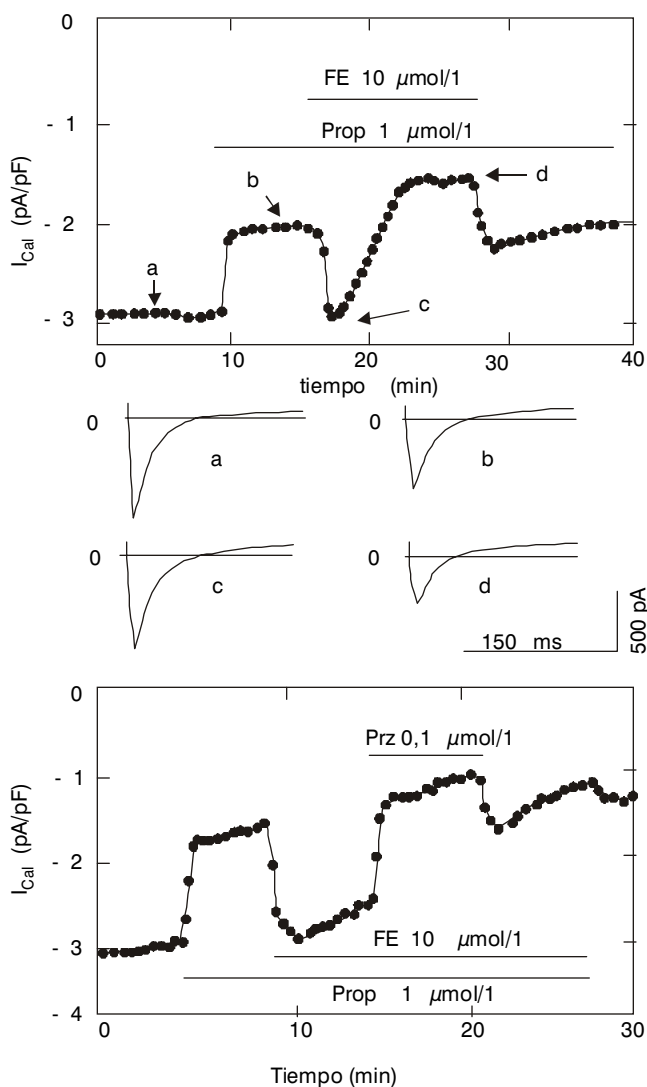


FIG. 1. Aumento de la amplitud de I_{Cal} (densidad en pA/pF) en función del tiempo producido por la fenilefrina (FE, 10 mmol/L), en presencia de propranolol (Prop, 1 mmol/L) en células ventriculares. A- En esta célula el incremento de I_{Cal} es transiente y la corriente alcanza un valor menor que el que tenía en presencia del propranolol. Debajo se muestran los trazos de corriente correspondientes a los puntos indicados por las flechas (a, b, c, d). B- El incremento en I_{Cal} (más estable en esta célula) es bloqueado totalmente por el prazosin (Prz, 0,1 mmol/L). En esta figura y en las restantes las barras horizontales indican los períodos de aplicación de diferentes compuestos.

la fosfolipasa C tipo b.¹⁷ Por su parte, la activación de la PKC puede activar en cierta medida a la adenilato ciclasa e incrementar así los niveles de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC).¹⁸ Por tanto, para descartar un posible papel de una elevación del AMPC intracelular en los efectos observados sobre I_{Cal} , se realizó una serie experimental similar a la anteriormente

descrita, perfundiendo las células con pipetas cargadas de AMPC (50 mmol/L). Los resultados obtenidos fueron similares a los anteriormente descritos (n=4, valores no mostrados).

Para precisar si la activación de los receptores α_1 -adrenérgicos conlleva a una interacción directa de las proteínas G activadas con los canales de Ca^{2+} o implica

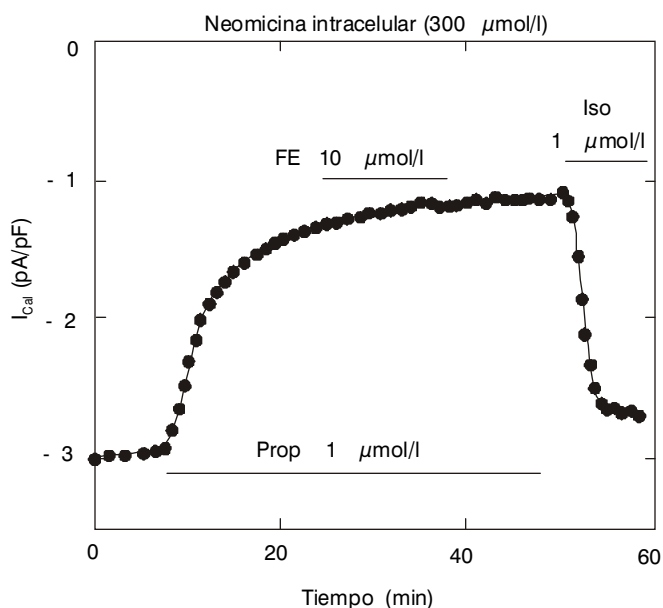


FIG. 2. Ausencia de respuestas α_1 -adrenérgica (FE, 10 mmol/L en presencia de Prop, 1 mmol/L) sobre la densidad de I_{CaL} en una célula perfundida intracelularmente con neomicina (300 mmol/L). Se observa, como era de esperar, que en esta condición se obtiene una respuesta β -adrenérgica normal con la aplicación de isoproterenol (Iso) 1 mmol/L.

a la cadena de reacciones intracelulares que llevan a la activación de la PKC, se realizaron 2 tipos de experimentos. En la primera serie, las células se perfundieron intracelularmente con GDP β S y ADP en sustitución de GTP y ATP respectivamente (n=6). En esta condición la actividad de las proteínas G queda bloqueada¹⁹ y como era de esperar, no se obtuvo respuesta α_1 -adrenérgica (fenilefrina 10 mmol/L en presencia de propranolol 1 mmol/L). En la segunda serie experimental y para precisar si esa regulación venía dada por una modulación directa del canal por las proteínas G solamente o si se encontraba involucrada la PLC, se realizaron experimentos perfundiendo el interior celular con neomicina (300 mmol/L), que inhibe la PLC.²⁰ En estos experimentos la fenilefrina (10 mmol/L), en presencia de propranolol (1 mmol/L), no tuvo efectos sobre I_{CaL} (Fig. 2; n = 8).

La estimulación α_1 -adrenérgica también provocó un incremento en I_{CaT} . La figura 3 muestra que, al igual que lo que ocurre con I_{CaL} , el propranolol (1 mmol/L) disminuye esta corriente y la fenilefrina (10 mmol/L) en su presencia la incrementa de manera rápida (en menos de 1 min) y estable. Este incremento en la corriente fue bloqueado completamente por el prazosín (0,1 mmol/L). El propranolol redujo la corriente tipo T al 68 ± 8 % del control y la fenilefrina la incrementó, en todas las células estudiadas, al 148 ± 6 % con respecto al valor alcanzado en presencia de propranolol (n = 9; p < 0,05). Es necesario destacar que el prazosín (0,1 mmol/L) no afectó la I_{CaT} basal en 7 células estudiadas.

Como mismo se hizo para el canal tipo L se realizaron experimentos perfundiendo al interior de la célula con GDP β S y ADP para inactivar a las proteínas G (n = 5). Es ya conocido que en estas condiciones la

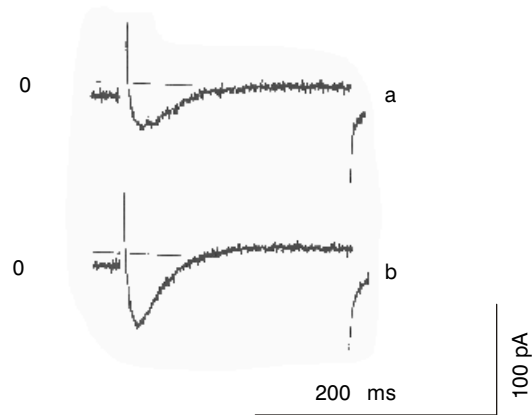
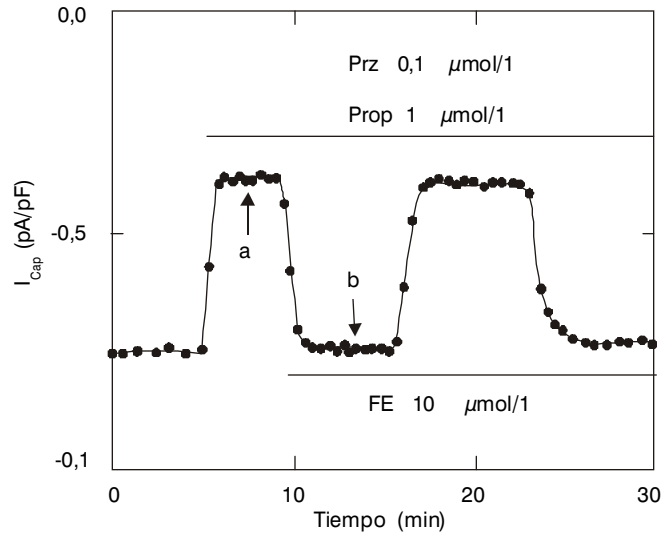


FIG. 3. Bloqueo del efecto α_1 -adrenérgico sobre la densidad de I_{CaT} (FE, 1 mmol/L) por el prazosin (Prz, 0,1 mmol/L). Se observa el incremento rápido que provoca la fenilefrina en la corriente disminuida previamente por el propranolol. Los trazos de corriente se corresponden con los puntos indicados por las flechas (a,b).

densidad de corriente tipo T basal a -50 mV disminuye.¹⁹ En los presentes experimentos, la densidad de I_{CaT} disminuyó de $0,5 \pm 0,1$ pA/pF (en condición control) a $0,17 \pm 0,02$ pA/pF, por lo que, se puede plantear que las proteínas G están involucradas en la modulación de I_{CaT} . Como se esperaba, no se observó ninguna variación en I_{CaT} al estimular los receptores α_1 -adrenérgicos en presencia de propranolol. Para determinar si la PLC tenía alguna relación con el incremento en I_{CaT} producido por la fenilefrina, se realizó una serie experimental

en presencia de neomicina intracelular (100 mmol/L; n = 4). En 3 de las 4 células estudiadas I_{CaT} no sufrió variación alguna respecto a la corriente basal al estimular los receptores α_1 -adrenérgicos con fenilefrina; se observó una disminución en la corriente causada por el propranolol, y un aumento luego de adicionar la fenilefrina en una sola célula (Fig. 4). No obstante, es de destacar que en esta serie experimental I_{CaT} demostró valores de densidad más bajos que los encontrados en células perfundidas con solución intracelular normal ($0,28 \pm 0,1$ pA/pF vs. $0,5 \pm 0,1$ pA/pF).

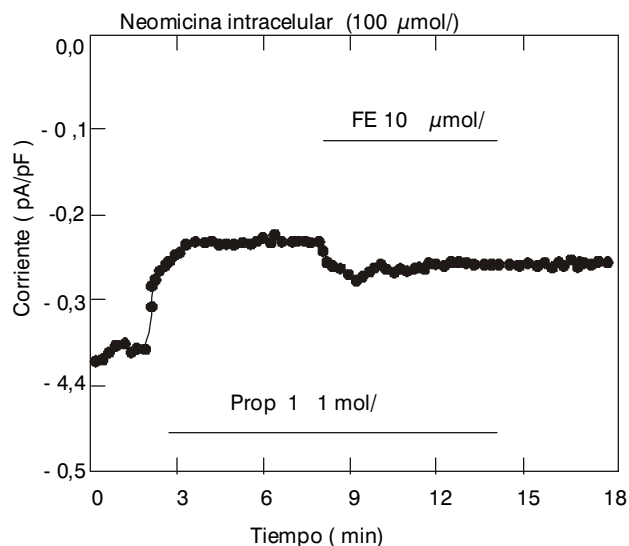


FIG. 4. Cambios en densidad de I_{CaT} en una célula perfundida intracelularmente con neomicina (100 $\mu\text{mol/L}$) en la cual la fenilefrina (FE, 10 $\mu\text{mol/L}$) en presencia de Prop. 1 $\mu\text{mol/L}$) incrementó ligeramente I_{CaT} . Observe que la densidad de la corriente basal previa a la estimulación, es muy pequeña.

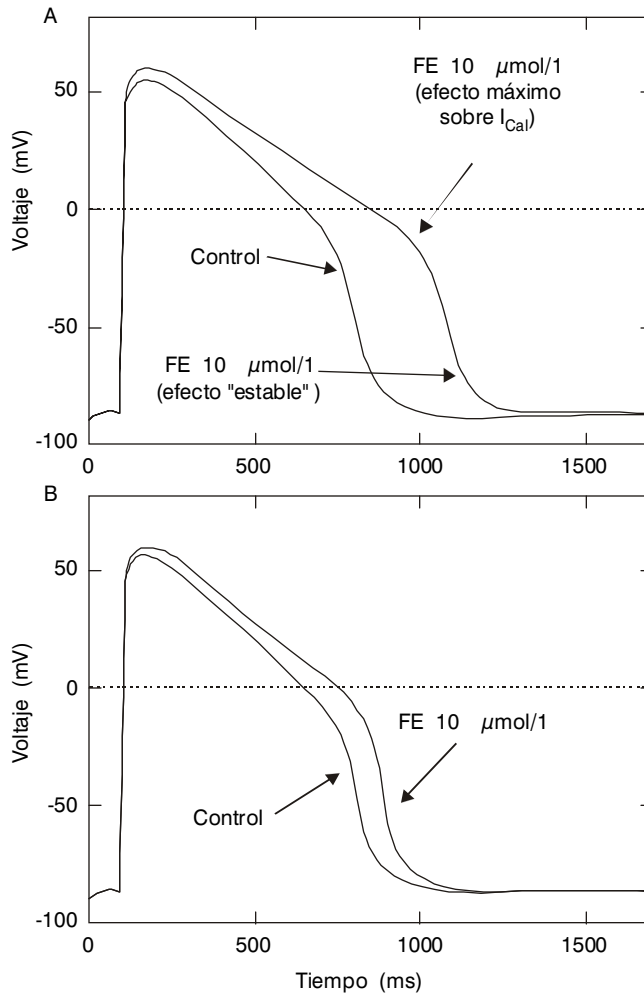
Estos efectos de la fenilefrina se ven claramente reflejados sobre el potencial de acción auricular. Para simular dichos efectos las corrientes de K^+ (transitoria de salida o I_{to} , rectificador hacia adentro o I_{kl} y rectificador retardado o I_k) fueron reducidas en el 25 %^{2,3} mientras que I_{CaL} e I_{CaT} fueron incrementadas en el 20 % y 40 % respectivamente, durante la estimulación α_1 -adrenérgica. Como se observa en la figura 5A, la fenilefrina provoca un incremento en la duración del potencial de acción del 38 % y el 35 % a 0 y -60 mV respectivamente, teniendo en cuenta el incremento máximo de I_{CaL} . Sin embargo, al reducir I_{CaL} a valores cercanos al control, de acuerdo con la transitoriedad del efecto sobre esta corriente, el potencial de acción se mantiene prolongado en la misma magnitud. La figura 5B muestra cuál sería, teóricamente, la contribución del incremento de I_{CaT} a la variación en duración del potencial de acción durante la estimulación α_1 -adrenérgica. Como se observa, la contribución del cambio en esta

corriente, a la duración del potencial de acción, es significativa.

DISCUSIÓN

Los resultados antes descritos evidencian que en el 80 % de las células estudiadas se produce un incremento en I_{CaL} luego de la estimulación de los receptores α_1 -adrenérgicos, lo que concuerda con Álvarez y otros⁵ que plantearon que en miocitos ventriculares aislados de *Rana esculenta* se produce un aumento en I_{CaL} y con Liu y otros²¹ que reportaron este mismo efecto pero en células ventriculares de ratas neonatales. Este incremento en I_{CaL} provocado por la estimulación α_1 -adrenérgica parece involucrar segundos mensajeros, puesto que demora de 2 a 3 min en alcanzar un máximo e involucra a proteínas G y a la PLC. Una posible explicación de los cambios en I_{CaL} sería que el inositol trisfosfato (IP_3) producido por la activación de la PLC puede liberar Ca^{2+} del

FIG. 5. Efectos de la estimulación α_1 -adrenérgica sobre la duración del potencial de acción auricular. Se muestran los potenciales de acción calculados para las condiciones de control y después de la estimulación α_1 -adrenérgica (FE 10 $\mu\text{mol/L}$) según el modelo matemático utilizado. En A mostramos los efectos sobre la duración del potencial de acción obtenidos, al incorporar en el modelo los cambios en las corrientes de K^+ reportados por otros autores y las variaciones obtenidas por nosotros en I_{CaT} e I_{CaL} . Observe la poca influencia de los cambios en I_{CaL} sobre la duración del potencial de acción. El potencial de acción durante el efecto máximo de la fenilefrina sobre I_{CaL} se superpone, totalmente sobre el potencial de acción después del efecto máximo de la fenilefrina sobre I_{CaT} , es decir, durante el retorno de I_{CaL} a un valor similar al previo a la estimulación, como sucede en nuestras condiciones experimentales. En B mostramos el incremento en duración de potencial de acción que se obtiene al variar única y exclusivamente la corriente de Ca^{2+} tipo T. Con ello se muestra la importante contribución de esta corriente al efecto α_1 -adrenérgico, con las implicaciones que puede tener para el efecto inotrópico positivo de la estimulación de estos receptores.



retículo sarcoplasmático y ser éste el responsable de los cambios observados en esta corriente.²⁰ No obstante, el Ca^{2+} intracelular se encuentra prácticamente completamente quelado por el EGTA que hay en la solución intracelular, por lo que es poco probable que este mecanismo, involucrado el IP_3 juegue una función fundamental. Sin embargo, el diacil glicerol (DAG) también formado por la activación de la PLC, estimula la PKC y ésta pudiera fosforilar el canal de Ca^{2+} tipo L modulando

su actividad. De hecho, la PKC puede provocar un aumento en I_{CaL} en miocitos de corazones de rata en cultivo,²² neuronas simpáticas de rana²³ y células de Purkinje y ventriculares caninas.⁷ El comportamiento transitorio del efecto de la fenilefrina sobre I_{CaL} puede estar relacionado con un control negativo de la PLC por la PKC de manera tal que se interrumpa el acoplamiento de las proteínas G con la PLC, como se reportó para los leucocitos polimorfonucleares.²⁴ Los presentes experimentos sugieren,

además, que el AMPc intracelular, no está involucrado en las variaciones observadas en I_{CaL} durante la estimulación α_1 -adrenérgica.

Por otra parte, el incremento en I_{CaT} provocado por la estimulación α_1 -adrenérgica, a diferencia del provocado sobre I_{CaL} , es muy rápido y sostenido y ocurrió en todas las células estudiadas. Esto coincide con autores que plantean que se produce un incremento en I_{CaT} luego de la estimulación de estos receptores en células de *Purkinje* y células ventriculares caninas²⁵ y en células auriculares de rana.⁸ El hecho de que el incremento en I_{CaT} provocado por la fenilefrina haya sido tan rápido y estable puede sugerir que no hay segundos mensajeros operando en este mecanismo. Existen reportes en la literatura que plantean que I_{CaT} es insensible a concentraciones supramáximas de AMPc intracelular,^{8,19} por lo que, en este caso, no parece haber interacción entre las vías de transducción de la señal de los receptores α_1 - y β -adrenérgicos. El mecanismo por el cual se produce el incremento en esta corriente no ha sido bien dilucidado. Según *Tseng* y *Boyd*⁷ el aumento en I_{CaT} está relacionado con el Ca^{2+} intracelular; sin embargo, en nuestras condiciones experimentales el Ca^{2+} intracelular está quelado por la alta concentración de EGTA que hay en la solución intracelular contenida en la pipeta (10 mmol/L), por lo que no son factibles grandes variaciones en el Ca^{2+} intracelular que puedan explicar el aumento en I_{CaT} .

Nuestros resultados evidencian que las proteínas G están involucradas en este efecto pero, en qué medida puede estar involucrada la PLC y la cadena de reacciones intracelulares que ésta desencadena no queda claro en nuestros experimentos. De las 4 células perfundidas con neomicina intracelular, 3 no respondieron a la fenilefrina pero en 1 se

observó un discreto aumento en I_{CaT} en presencia de dicho agonista. No obstante, las densidades de I_{CaT} obtenidas en estas células fueron muy bajas ($\approx 0,3$ pA/pF) y se pudiera pensar que la ausencia del efecto α_1 en estas condiciones no está relacionado con la inhibición de la PLC como en el caso de I_{CaL} , sino a una alteración en las interacciones canal-membrana por la acción de la neomicina. El canal de Ca^{2+} tipo T parece ser extremadamente sensible a las alteraciones del medio donde se ancla en la membrana.²⁶ El hecho de que en una célula de esta serie experimental se observara un modesto incremento en I_{CaT} por la fenilefrina, pudiera sugerir que, como ocurre con la estimulación β -adrenérgica,⁸ la estimulación α_1 incrementa I_{CaT} por una interacción directa proteína G-canal, pues es conocido que sobre I_{CaT} existe un control directo de proteínas G (Gs, Gi) que modula la actividad de este canal y parece que no hay, aparentemente, una necesidad de fosforilación por proteínas quinasas intracelulares.¹⁹ En la literatura, sin embargo, hay un único reporte que indica que I_{CaT} es incrementada luego de la estimulación de la PKC.²⁷

ROL FISIOPATOLÓGICO DE LAS VARIACIONES EN LAS CORRIENTES DE Ca^{2+}

Como se describió anteriormente, la respuesta de I_{CaL} ante la estimulación de los receptores α_1 -adrenérgicos es muy variable, por lo que dichos cambios en I_{CaL} no pueden por sí solos, explicar el efecto inotrópico positivo que provocan los agonistas de estos receptores. Como se señaló anteriormente, el inotropismo positivo de la estimulación α_1 -adrenérgica descansa mayormente en la sensibilización de los miofilamentos al Ca^{2+} intracelular.^{3,4}

Sin embargo, el incremento en I_{CaL} podría provocar, junto con la disminución que se produce en la conductancia al K^{+2} , un incremento en la duración del potencial de acción y esto dar lugar al inotropismo positivo. No obstante, como se muestra en la figura 5A, la contribución de I_{CaL} a los cambios en duración del potencial de acción durante la estimulación α_1 -adrenérgica es mínima. Esto evidentemente está dado por la interrelación compleja entre los distintos componentes de corrientes (Na^+ , K^+ y Ca^{2+}) durante el potencial de acción. Dado que recientemente se ha podido demostrar que I_{CaT} tiene una contribución (aunque pequeña) a la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático durante el acoplamiento excitación-contracción,²⁸ el incremento en esta corriente producido por la estimulación α_1 -adrenérgica, pudiera contribuir también al efecto inotrópico positivo. Como se demuestra en la figura 5B, la contribución de esta corriente, sola, al cambio en duración del potencial de acción durante la estimulación α_1 -adrenérgica es notable y sugiere una participación importante de I_{CaT} .

hasta ahora despreciada, en el control de la duración del potencial de acción cardíaco.

El aumento en la duración del potencial de acción (y el período refractario efectivo), tal y como se ha reportado por otros² y como se reproduce en el modelo de potencial de acción presentado, puede sin embargo contribuir a la génesis de arritmias cardíacas tanto por la dispersión en la repolarización, como por el incremento en la probabilidad de aparición de despolarizaciones tempranas o tardías.^{4,11} El incremento que se produce en I_{CaT} por la estimulación α_1 -adrenérgica puede constituir uno de los factores más importantes en la generación de trastornos en el ritmo cardíaco, principalmente durante la isquemia e infarto miocárdico, condiciones en las cuales es conocido que ocurre un desbalance autonómico y la estimulación adrenérgica es incrementada.^{29,30}

Nota: Los detalles del modelo físico-matemático utilizado para calcular los potenciales de acción pueden ser obtenidos, solicitándolos directamente a los autores.

SUMMARY

The stimulation of the α_1 -adrenergic receptors plays an essential role in the control of the inotropic state of the heart besides being an arrhythmogenic factor during the ischemic heart disease. However, its role in the Ca^{2+} movements in the cardiac cell is scarcely known. Therefore, it was our objective to study the effects of α_1 -adrenergic stimulation on T and L Ca^{2+} currents (I_{CaT} and I_{CaL} , respectively) in cardiac cells isolated from frog heart. Phenylephrine (10 mmol/L) in the presence of propranolol (1 mmol/L) increased I_{CaL} and I_{CaT} . This rise was completely blocked by prazosin (0.1 mmol/L). The blockade of the activity of G proteins prevented the increase of I_{CaT} and I_{CaL} caused by phenylephrine, whereas the blockade of phospholipase C avoided the α_1 -adrenergic actions on I_{CaL} , but not totally on I_{CaT} . It was concluded that the α_1 -adrenergic stimulation increases I_{CaL} by a way that involves phospholipase C and that the control of I_{CaT} may be more direct through G proteins.

Subject headings: RECEPTORS, ADRENERGIC, ALPHA-1; MIOCARDIAL CONTRACTION.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. McDonald TF, Pelzer S, Trautwein W, Pelzer DJ. Regulation and modulation of calcium channels in cardiac, skeletal and smooth muscle cells. *Physiol Rev* 1994;74:365-507.
2. Fedida D, Braun AP, Giles WR. α_1 -adrenoceptors in myocardium: functional aspects and transmembrane signalling mechanisms. *Physiol Rev* 1993;73:469-87.
3. Terzic A, Pucéat M, Vasort G, Vogel SM, Cardiac α_1 -adrenoceptors: an overview. *Pharmacol Rev* 1993;45:147-75.
4. Vassort G, Pucéat M, Álvarez J. Cardiac α_1 -adrenergic receptor stimulation: positive inotropism and arrhythmias. *Exp Clin Cardiol* 1997;2:13-8.
5. Álvarez J, Mongo KG, Vassor G. Effects of alpha adrenergic stimulation on the calcium current in single ventricular frog cells. *J Physiol (Lond)* 1987;390-66P.
6. Boutjdir M, Restivo M, Wei Y. α_1 - and β -adrenergic interactions on L-type calcium current in cardiac myocytes. *Pflügers Arch* 1992;421:397-9.
7. Tseng GN, Boyden PA. Different effects of intracellular Ca^{+2} and protein Kinase C on cardiac T and L Ca^{+2} currents. *Am J Physiol* 1991;261:H364-H369.
8. Álvarez J, Vasson G. Properties of the low threshold Ca current in single frog atrial cardiomyocytes. *J Gen Physiol* 1992;100:519-45.
9. Benfey BG. Function of myocardial α -adrenoceptors. *Life Sci* 1990;46:743-57.
10. Gettes LS, Casio WE. Effects of acute ischemia on cardiac electrophysiology. En: Fozzard HA et al, eds. *The heart and cardiovascular system*. New York: Raven 1992;2021:54.
11. Wit AL, Rosen MR. After depolarization and triggered activity: distinction from automaticity as an arrhythmogenic mechanism. En: Fozzard HA et al, eds. *The heart and cardiovascular system*. New York: Raven 1992;2113-63.
12. Rubio LS, Garrido G, Llanes L, Álvarez J. Effects of Tetrandrine on Ca^{+2} and Na^{+} currents of single bullfrog cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1993;25:801-13.
13. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FG. Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cells and free-cell membrane patches. *Pflügers Arch* 1981;391:85-100.
14. Rasmusson RL, Clark JW, Giles WR, Robinson K, Clark RB, Shibata EF, et al. A mathematical of electrophysiological activity in a bullfrog atrial cell. *Heart Circ Physiol* 1990;28:H370-H389.
15. Hoffman BB, Lefkowitz RJ. Catecholamines and sympathomimetic drugs. En: JI Goodman Gilman AG, eds. *The pharmacological basis of therapeutics*. McGraw-Hill International, 1993:187-220.
16. Vaughan-Williams EM. A classification of antiarrhythmic actions researched after a decade of new drugs. *J Clin Pharmacol* 1984;24:129-47.
17. Jonge HW De, Heugten HAA van, Lamers MJM. Signal transduction by the phosphatidylinositol cycle in myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:93-106.
18. Pérez DM, Young MB De, Graham RM. Coupling of expressed α_{1B} - and α_{1D} -adrenergic receptors to multiple signalling pathways is both G protein and cell type specific. *Mol Pharmacol* 1993;44:784-95.
19. Álvarez J, Rubio LS, Vassort G. Facilitation of T-type calcium current in bullfrog atrial cells: voltage-dependent relief of a G protein inhibitory tone. *J Physiol (Lond)* 1996;491:321-34.
20. Vergara J, Tsien RY, Delay M. Inositol 1,4,5-trisphosphate: a possible chemical link in excitation-contraction coupling in muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:6352-6.
21. Liu QY, Karpinski E, Pang PKT. The L-type calcium current is increased by alpha-1 adrenoceptor activation in neonatal rat ventricular cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;271:935-943.
22. Dösemeci A, Dhallan RS, Cohen NM, Lederer WJ, Roger TB. Phorbol ester increased calcium currents and stimulates the effects of angiotensin II on cultured neonatal rat heart myocytes. *Circ Res* 1988;62:347-57.
23. Yang J, Tsien RW. Enhancement of N and L calcium currents by protein kinase C in frog sympathetic neurons. *Neuron* 1993;10:127-36.
24. Smith CD, Uhing RJ, Snyderman R. Nucleotide regulatory protein -mediated activation of phospholipase C in human polymorphonuclear leukocytes is disrupted by phorbol esters. *J Biol Chem* 1987;262:6121-7.
25. Tseng GN, Boyden PA. Multiple types of Ca^{+2} currents in single canine Purkinje cells. *Circ Res* 1989;65:1735-50.

26. Vassort G, Álvarez J. Cardiac T-type calcium current: pharmacology and roles in cardiac tissues. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994;5:376-97.
27. Furukawa T, Ito H, Nitta J, Tsugino M, Adachi S, Hiroe M, et al. Endothelin-1 enhances calcium entry through T type calcium channels in cultured neonatal rat ventricular myocytes. *Cir Res* 1992;71:1242-53.
28. Sipido KR, Carmeliet E, Werff van de. T-type Ca^{2+} current as a trigger for Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum in guinea -pig ventricular myocytes. *J Physiol (Lond)* 1998;508(2):439-51.
29. Heathers GP, Yamada KA, Pogwizd SM, Corr PB. The contribution of a-and b-adrenergic mechanisms in the genesis of arrhythmias in myocardial ischemia and reperfusion. En: Kulbertus HE, Franck G, eds. *Neurocardiology*. Mount Kisco Futura Publishing 1988;143-78.
30. Reimer KA, Jennings RB. Myocardial ischemia, hypoxia and infarction. En: Fozzard HA, et al, eds. *The heart and cardiovascular system*. New York Raven 1992:1875-1973.

Recibido: 10 de febrero de 1999. Aprobado: 24 de mayo de 1999.

Lic. Tania Ferrer Villada. Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Ciudad de La Habana, Cuba.