

Artículo original

Efecto cardioprotector de la ranolazina en el proceso de isquemia-reperfusión en cardiomiocitos de rata adultos



Eva M. Calderón-Sánchez^a, Alejandro Domínguez-Rodríguez^{a,b}, José López-Haldón^c, Manuel F. Jiménez-Navarro^d, Ana M. Gómez^b, Tarik Smani^a y Antonio Ordóñez^{a,c,*}

^a Grupo de Fisiopatología Cardiovascular, Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla, España

^b Inserm, Université Paris Sud, Chatenay-Malabry, Francia

^c Unidad de Imagen Cardiovascular, Área del Corazón, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

^d UGC del Corazón, Instituto de Biomedicina de Málaga (IBIMA), Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Universidad de Málaga, RIC (Red de Investigación Cardiovascular), Málaga, España

Historia del artículo:

Recibido el 21 de noviembre de 2014

Aceptado el 27 de febrero de 2015

On-line el 14 de julio de 2015

Palabras clave:

Isquemia-reperfusión

Cardioprotección

Ca²⁺

Ranolazina

RESUMEN

Introducción y objetivos: La ranolazina se emplea como tratamiento complementario de la angina en pacientes sintomáticos insuficientemente controlados con los tratamientos antianginosos de primera línea. La ranolazina inhibe los canales de sodio operados por voltaje, lo cual indica su posible intervención en el proceso de reperfusión al prevenir la sobrecarga de sodio y calcio que se produce durante la isquemia. En este estudio, se ha caracterizado el efecto de la ranolazina en la homeostasis del calcio en miocitos cardíacos adultos de ratas a las que se aplicó un protocolo de isquemia y reperfusión simuladas.

Métodos: Se evaluaron los efectos de la ranolazina en los cambios de la concentración de calcio intracelular en diferentes momentos empleando electroestimulación de campo. El estudio del calcio intracelular se llevó a cabo mediante microfluorimetría utilizando el indicador fluorescente Fura-2 y por microscopia confocal utilizando el indicador Fluo-3.

Resultados: Se observó que los cardiomiocitos a los que se aplicaba la isquemia-reperfusión mostraban un aumento de la concentración de calcio diastólica y una disminución de la amplitud de los transitorios de calcio intracelular. La aplicación de la ranolazina durante la isquemia mejoró significativamente la regulación del calcio evitando la sobrecarga de calcio intracelular, reduciendo la concentración de calcio diastólica, aumentando la carga de calcio en el retículo sarcoplásmico y preservando la amplitud del transitorio de calcio intracelular, lo cual se reflejaba en una recuperación satisfactoria en el proceso de acoplamiento de excitación-contracción durante la reperfusión. Sin embargo, estos efectos de la ranolazina no se produjeron cuando el fármaco se aplicó solo durante la reperfusión o cuando se aplicó tanto en la isquemia como en la reperfusión.

Conclusiones: La ranolazina muestra unos efectos favorables en los cardiomiocitos expuestos a isquemia-reperfusión, pero solo cuando se aplica durante la isquemia. Este efecto se alcanza mejorando la regulación del calcio durante la isquemia.

© 2015 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Cardioprotective Effect of Ranolazine in the Process of Ischemia-reperfusion in Adult Rat Cardiomyocytes

ABSTRACT

Introduction and objectives: Ranolazine is used as a complementary treatment for angina in symptomatic patients who are inadequately controlled with first-line antianginal therapies. Ranolazine inhibits sodium voltage-dependent channels, suggesting their possible involvement in the reperfusion process by preventing the sodium and calcium overload that occurs during ischemia. In this study, we characterized the effect of ranolazine on calcium homeostasis in isolated adult cardiac myocytes from rats subjected to a simulated ischemia and reperfusion protocol.

Methods: The effects of ranolazine on changes in intracellular calcium concentration were evaluated at different times using field electrostimulation. The study of intracellular calcium was performed using microfluorimetry with the fluorescent indicator, Fura-2, and by confocal microscopy with the indicator, Fluo-3.

Results: We found that cardiomyocytes subjected to ischemia-reperfusion showed an increase in the diastolic calcium concentration and a decrease in the amplitude of intracellular calcium transients. The application of ranolazine during ischemia significantly improved intracellular calcium handling,

Keywords:

Ischemia-reperfusion

Cardioprotection

Ca²⁺

Ranolazine

* Autor para correspondencia: Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Avda. Manuel Siurot s/n, 41013 Sevilla, España.

Correos electrónicos: antorferman@us.es, tasmani@us.es (A. Ordóñez).

preventing intracellular calcium overload, decreasing the diastolic calcium concentration, increasing the sarcoplasmic reticulum calcium load, and preserving the amplitude of the intracellular calcium transient, which was reflected by successful recovery in the process of excitation-contraction coupling during reperfusion. However, these effects of ranolazine did not occur when it was applied during reperfusion or when applied in both ischemia and reperfusion.

Conclusions: Ranolazine shows beneficial effects in cardiomyocytes exposed to ischemia/reperfusion but only when applied during ischemia. This effect is achieved through its improvement of calcium handling during ischemia.

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

© 2015 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Abreviaturas

I_{NaL} : corriente de Na^+ tardía
IR: isquemia-reperusión
NCX: intercambiador de Na^+/Ca^{2+}

INTRODUCCIÓN

La cardiopatía isquémica es la primera causa de muerte en los países occidentales¹. La expresión más devastadora de esta enfermedad es el infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST, que se debe a una oclusión arterial coronaria aguda que se sabe que es causa de muerte isquémica de células del miocardio. Después de un infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST, la reperusión rápida del miocardio mediante un tratamiento trombolítico o una intervención coronaria percutánea primaria es la estrategia más eficaz para reducir el tamaño del infarto y mejorar, por lo tanto, los resultados clínicos². La terapia de reperusión tiene una repercusión sustancial en la mortalidad temprana tras un infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST. Sin embargo, en un porcentaje elevado (20–30%) de los pacientes del hospital se produce un remodelado adverso³. Una reperusión temprana y efectiva limita el grado de necrosis del miocardio al reducir la incidencia del remodelado y la disfunción del ventrículo izquierdo pero, aun con el mejor tratamiento de reperusión, paradójicamente una parte de los cardiomiocitos muere a causa del restablecimiento del flujo sanguíneo⁴. Este fenómeno se denomina lesión por isquemia-reperusión (IR)⁵.

La privación de oxígeno y la sobrecarga de calcio durante la isquemia cardíaca y la producción de especies moleculares de oxígeno reactivas durante la reperusión causan la muerte de los cardiomiocitos mediante necrosis y apoptosis⁶. Los principales cambios adversos que se producen en el miocardio isquémico consisten en un aumento de la concentración de Na^+ intracelular a causa de un fallo de la bomba de Na^+/K^+ del sarcolema en ausencia de energía y acidificación del citosol por la glucólisis anaerobia. La célula intenta resolver este aumento de Na^+ intracelular a través de un intercambiador de Na^+/Ca^{2+} (NCX) que actúa a la inversa, expulsando Na^+ e introduciendo Ca^{2+} en las células. Esto da lugar a una sobrecarga intracelular de Ca^{2+} y una mala regulación del Ca^{2+} por las células⁷.

La ranolazina es un derivado de piperazina con un mecanismo de acción novedoso que fue autorizada por primera vez por la *Food and Drug Administration* en 2006 para el tratamiento sintomático de pacientes con angina crónica. Dadas sus propiedades farmacológicas, es capaz de bloquear la corriente de Na^+ tardía (I_{NaL}) en los cardiomiocitos y desviar la oxidación de los ácidos grasos hacia la oxidación de la glucosa, lo cual hace que el uso de oxígeno en el corazón sea más eficiente^{8,9}. Sin embargo, el mecanismo de acción

de la ranolazina no se conoce con precisión. Los efectos beneficiosos de la ranolazina derivan de su acción de reducción de la entrada de Na^+ en las células del miocardio a través de los canales de Na^+ , que en situaciones patológicas falla durante su inactivación o vuelve a abrirse¹⁰. Se ha señalado que la ranolazina reduce la sobrecarga de calcio de las células miocárdicas durante la isquemia al bloquear la I_{NaL} ⁹. A las concentraciones plasmáticas terapéuticas (≤ 10 –21 mmol/l), la ranolazina inhibe de forma selectiva la I_{NaL} , reduce la acumulación intracelular de Na^+ y la posterior sobrecarga de Ca^{2+} inducida por el Na^+ , así como las anomalías mecánicas, eléctricas y metabólicas en el miocardio isquémico o en insuficiencia¹¹. Sin embargo, a esta concentración¹², la ranolazina no modifica el máximo de la corriente de Na^+ encargado del paso 0 del potencial de acción, la corriente de entrada de Ca^{2+} , o la actividad del NCX y el intercambiador de Na^+/H^+ .

Actualmente el uso de la ranolazina está autorizado como tratamiento adyuvante de la angina sintomática de pacientes insuficientemente controlados con los tratamientos antianginosos de primera línea¹². El desarrollo de una sustancia capaz de inhibir o reducir los efectos nocivos de un aumento patológico de la concentración intracelular de Ca^{2+} en los cardiomiocitos durante los procesos de isquemia sería una contribución clínica y terapéutica de enorme importancia. En este estudio, se plantea la hipótesis de que la ranolazina pudiera tener una acción novedosa en las intervenciones de reperusión al prevenir la sobrecarga de Na^+ y Ca^{2+} que se produce en el corazón isquémico y facilitar una mejor regulación del Ca^{2+} por las células en la reperusión.

MÉTODOS

La manipulación de los animales se atuvo a las recomendaciones del Real Decreto 53/2013 en consonancia con la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Humana local del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla y por el Comité de Investigación Animal de la Universidad de Sevilla.

Aislamiento de miocitos ventriculares

Se utilizaron ratas adultas Wistar macho, de un peso aproximado de 250–350 g, que previamente fueron heparinizadas (4 UI/g por vía intraperitoneal) y anestesiadas mediante la administración intraperitoneal de tiopental sódico (1 ml/250 g). Se extrajo rápidamente el corazón y se montó en un sistema de perfusión Langendorff con flujo constante. Se aislaron cardiomiocitos ventriculares mediante perfusión de colagenasa de tipo II (251 UI/ml, Worthington Biochemical; Lakewood, New Jersey, Estados Unidos)¹³. Los cardiomiocitos se mantuvieron en solución de Tyrode (mM): 140 NaCl, 4 KCl, 1,1 $MgCl_2$, 10 HEPES, 10 glucosa, 1,8 $CaCl_2$ (pH 7,4), con un suplemento de 1,8 mM $CaCl_2$. Todos los experimentos se realizaron en células de forma alargada a temperatura ambiente (24–26 °C).

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3012652>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3012652>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)