

Los fármacos, los canales iónicos y las arritmias cardiacas: retorno a Ítaca

Ricardo Caballero y Eva Delpón

Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Medicina.
Universidad Complutense de Madrid.

Hemos de comenzar agradeciendo al Profesor Antonio García por habernos invitado a escribir este comentario sobre la actividad de nuestro grupo y su relevancia clínica. Con ello nos da la oportunidad de hablar de nuestras dos grandes pasiones: la farmacología y los canales iónicos cardiacos. Todo tema se puede abordar desde muy diversas perspectivas y nuestro empeño en los últimos años ha sido ir incorporando nuevas técnicas moleculares y de imagen que complementaran la aproximación electrofisiológica. Sin embargo, hemos tratado por todos los medios de no perder en ningún momento nuestra ambición traslacional. Esa aspiración nos la transmitió nuestro maestro el Dr. Juan Tamargo y por convencimiento propio seguimos fieles a ese compromiso.

El nuestro es un grupo de investigación básica dedicado a la Electrofisiología Cardíaca Celular desde su fundación por el Profesor Juan Tamargo en el año 1976 en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. Él nos enseñó los fundamentos de los oficios de investigar y de enseñar y seguimos teniendo el privilegio de poder acudir a él cuando no vemos muy claro por dónde se encuentra el camino de salida de algún atolladero. En el momento de escribir estas líneas el grupo lo componen el Dr. Jorge Cebrián y los Licenciados Teresa Crespo, Marcos Rubio, Anabel Cámara, María Dago y María Marín. Como **electrofisiólogos** registramos la actividad eléctrica cardíaca en sus distintas variantes (corrientes iónicas, potenciales de acción

o electrocardiogramas) empleando diversas técnicas (fundamentalmente la del parche de membrana o "patch-clamp") en todos los modelos experimentales a nuestro alcance. Pretendemos con ello caracterizar los mecanismos celulares y moleculares que determinan la actividad eléctrica en condiciones fisiológicas e identificar cómo éstos se alteran en condiciones patológicas dando lugar a la aparición de arritmias. Nuestro fin último es identificar posibles dianas para el desarrollo de estrategias terapéuticas útiles para la prevención y/o tratamiento de las arritmias auriculares y ventriculares. Las técnicas electrofisiológicas son exigentes y tienen un rendimiento bajo, comparable al de la producción artesanal en la era de los datos masivos y la inmediatez. Obligan a estar pacientemente sentado

(literalmente) sin hacer movimientos bruscos, pendiente de detalles que parecen insignificantes y que suceden fugazmente en la escala de tiempo de milisegundos. Lógicamente así dicho las condiciones de trabajo desincentivan al investigador joven más motivado, sobre todo cuando se comparan con otros compañeros que pueden “socializar” durante los periodos de incubación, centrifugación, etc., que exigen otras técnicas experimentales. Sin embargo, la electrofisiología tiene sus recompensas y después de todos estos años (ya más de 25) seguimos emocionándonos al presenciar cómo se abre y se cierra un único canal iónico y genera corriente, o cómo un miocito cardiaco humano disociado enzimáticamente genera potenciales de acción. Como ya hemos mencionado, durante este tiempo hemos ido incorporando nuevas metodologías para reforzar los resultados de los experimentos electrofisiológicos mediante las herramientas que ponían a nuestro alcance los avances de la Biología Molecular, la Genética o la Bioinformática.

Como **farmacólogos** y combinando las técnicas electrofisiológicas con técnicas de Biología Molecular o de química computacional hemos caracterizado el mecanismo por el que los fármacos interactúan con los canales iónicos cardiacos, así como sus sitios receptores y sus determinantes moleculares y estructurales (farmacóforos). Estos abordajes nos han permitido identificar el mecanismo de acción de fármacos antiarrítmicos o de anestésicos locales y las causas por las que éstos, y otros muchos fármacos, son capaces de producir arritmias. Hemos identificado también el mecanismo por el que algunos fármacos como los inhibidores del sistema renina angiotensina o las estatinas podrían ser útiles para tratar y/o prevenir la aparición de arritmias cardiacas. De todo el arsenal terapéutico, nuestro grupo ha mostrado un especial interés por los antiarrítmicos. Son unos fármacos complicados de manejar en clínica y que, por si fuera poco, “matan muy bien”, ya que pueden promover la aparición de arritmias muy graves e incluso mortales. La publicación de los resultados del estudio clínico CAST (*Cardiac Arrhythmia Suppression Trial*) en el *New England Journal of Medicine* a principios de los años 90 del pasado siglo supuso una auténtica

conmoción. En dicho estudio se analizó la capacidad de flecainida y encainida, dos bloqueantes de canales de Na⁺, para suprimir las arritmias ventriculares en pacientes que habían sufrido un infarto de miocardio. El estudio tuvo que detenerse 10 meses después de su inicio tras observarse un aumento significativo de la mortalidad en el grupo de pacientes tratados con los fármacos antiarrítmicos. Las consecuencias de aquellos resultados se mantienen treinta años después, ya que la gran mayoría de fármacos antiarrítmicos está contraindicada en pacientes con insuficiencia cardiaca o cardiopatía estructural o que han sufrido un infarto de miocardio y que, desgraciadamente, son los pacientes que más los necesitan porque tienen un elevadísimo riesgo de arritmias y muerte súbita cardíaca (MSC). Aquel desastre quizá hubiese podido evitarse si durante el diseño del estudio se hubiese recordado un viejo concepto electrofisiológico que dice que el bloqueo de los canales de sodio en regiones del miocardio lesionadas (por causa de un infarto de miocardio, por ejemplo) puede dar lugar a una arritmia por reentrada. Algunas décadas después, casi coincidiendo con el momento en el que Andrés Iniesta marcaba el gol que permitió a España ganar el Mundial de Fútbol de Sudáfrica, descubrimos que en el efecto proarrítmico ventricular de la flecainida y de otros fármacos antiarrítmicos, se debe también a que aumenta la corriente generada los canales de K⁺ con rectificación interna, los rarísimos canales “Kir2.x”. Los problemas derivados del bloqueo de los canales de Na fomentaron la búsqueda de antiarrítmicos que bloqueasen canales de K y se buscaron bloqueantes del canal hERG (*human Ether-a-go-go Related Gene*). Su curioso nombre alude a los movimientos (parecidos a los de los bailarines *go-go*) que hacen las moscas *Drosophila melanogaster* cuando expresan una variante en este gen y son anestesiadas con éter. Fármacos como la dofetilida o la ibutilida, que pretendían utilizarse para tratar arritmias auriculares como la fibrilación auricular, prolongaban la duración del potencial de acción y de la repolarización auricular y en ciertas condiciones suprimían la arritmia. Sin embargo, el entusiasmo inicial se redujo drásticamente por el hecho de que estos fármacos pueden prolongar excesivamente

la repolarización ventricular y por tanto el intervalo QT del electrocardiograma. En los casos más graves, esta prolongación puede desencadenar en una arritmia ventricular muy grave y potencialmente mortal denominada “*Torsades de pointes*”; un nombre francés cuyo origen proviene de la “torsión de las puntas” del registro electrocardiográfico. Este tipo de arritmia puede ser producida por otros fármacos antiarrítmicos como la quinidina y por fármacos tan dispares como los antihistamínicos, anticancerosos, antidepresivos, algunos antimicrobianos, etc. El riesgo de producir arritmias ventriculares ha sido una causa frecuente de retirada de fármacos del arsenal terapéutico y de que otros muchos candidatos potencialmente interesantes se quedaran por el camino. Dijo Julio Verne que *la ciencia se compone de errores que, a su vez, son los pasos hacia la verdad*. Aplicando este principio continuamos el camino que nos llevó a describir mecanismos alternativos de interacción con este canal que reducían el riesgo proarrítmico, como era el caso de la espirolactona (mucho más que un viejo diurético) o del antagonista de receptores de la angiotensina irbesartán. Además, como alternativa al canal hERG buscamos una diana farmacológica más apropiada para prolongar la duración del potencial de acción auricular y explotamos el hecho de que los canales Kv1.5 se expresaban en los miocitos auriculares y no en los ventriculares. Por tanto, fármacos que bloqueasen selectivamente estos canales prolongarían la repolarización auricular, sin riesgo de producir *Torsades de pointes*. Nos pusimos manos a la obra y realizamos estudios detallados sobre su modulación farmacológica que resultaron muy fructíferos. A modo de ejemplo, parte de nuestros resultados forman parte de la evidencia científica que permitió la aprobación por parte de las agencias regulatorias de fármacos como el antianginoso ivabradina o el antihistamínico rupatadina.

Aún hoy en día desconocemos los mecanismos últimos responsables del control de la actividad eléctrica cardiaca. Para aumentar la perspectiva, en los últimos 12 años hemos tratado de “acercar nuestra investigación” aún más a la clínica y embarcarnos en la aventura de la Investigación Traslacional. La fibrilación auricular es la arritmia más frecuente en la práctica clínica y un factor de riesgo

independiente que aumenta la mortalidad de los pacientes que la sufren. El tratamiento con los antiarrítmicos de elección (flecainida o propafenona) no es del todo eficaz, especialmente en las formas persistentes de la arritmia. Gracias a un ambicioso proyecto coordinado con investigadores básicos y clínicos del máximo prestigio internacional en el campo de la fibrilación auricular, pudimos disponer de un pequeño laboratorio en el Servicio de Cardiología el Hospital Gregorio Marañón junto a los quirófanos del Servicio de Cirugía Cardiaca para obtener muestras auriculares de las que disociábamos enzimáticamente los miocitos. Así, analizamos por qué en los pacientes con fibrilación auricular crónica, la presencia de la propia arritmia cambia las propiedades eléctricas de la aurícula (*remodelado eléctrico*) favoreciendo que los episodios sean cada vez más frecuentes y prolongados llegando a ser persistentes, reduciendo la eficacia del tratamiento empleado hasta aquel momento. Desvelamos algunos de los mecanismos responsables del remodelado eléctrico incluyendo las variaciones en la expresión de determinados microRNAs y factores de transcripción (Pitx2c) y propusimos nuevas dianas terapéuticas como los canales responsables de la corriente de salida de K de activación lenta (I_{Ks}).

Una estancia en el laboratorio del Prof. Charles Antzelevitch en el Masonic Medical Research Laboratory en Utica, New York fue el punto de partida para nuestra incursión en el apasionante mundo de los síndromes arritmogénicos primarios hereditarios (SAPH) como el Síndrome de Brugada o el Síndrome de QT largo. Estos síndromes frecuentemente causan MSC, incluso en sujetos jóvenes y aparentemente sanos, por lo que tienen una importante trascendencia social y son una tragedia para las familias afectadas. Después de muchas vicisitudes y un intenso trabajo, pusimos en marcha un consorcio coordinado por nuestro grupo y que involucra a los Servicios de Cardiología de los Hospitales Universitarios Clínico San Carlos, Doce de Octubre, Gregorio Marañón, La Paz, Puerta de Hierro, Ramón y Cajal y Getafe y a la empresa biotecnológica Nimgenetics. El consorcio se denomina ITACA (Investigación Traslacional en **A**rritmias **C**ardiacas heredit**A**rias) y, en esta área, constituye una estructura de investigación traslacional cooperativa única.

Desde su creación, el Consorcio ha sido financiado ininterrumpidamente por los programas de financiación de Proyectos de Investigación en Biomedicina de la Comunidad de Madrid. El principal objetivo del consorcio es identificar nuevos genes responsables de SAPH, lo que contribuye a mejorar el diagnóstico genético de estos pacientes. Además, el desarrollo de estudios funcionales nos permite ampliar el conocimiento sobre la fisiopatología de los SAPH y, en último término, sobre los mecanismos que controlan la actividad eléctrica en el miocardio humano. A partir del estudio de los SAHP hemos podido describir distintos tipos de mecanismos que controlan la expresión de los diversos tipos de canales en los microdominios de la membrana de los miocitos cardiacos y cómo estos se alteran en presencia de variantes (mutaciones y polimorfismos) en las proteínas de anclaje (SAP97 o α 1-sintrofina) o en los genes que codifican los factores de transcripción. Así hemos descrito que los factores de transcripción Tbx20, Tbx5 y Zfx3 se expresan en el miocardio humano en la etapa adulta (no sólo durante la cardiogénesis) dónde regulan la expresión de canales ERG y la de los de Na⁺. Aparte del rendimiento científico, el establecimiento del Consorcio ha tenido un impacto clínico-social ya que, por ejemplo, nos ha permitido crear un registro clínico y una colección de muestras de pacientes con SAPH y disponer de una plataforma para la formación y la divulgación de información. El sitio web (<http://www.itaca.edu.es/>) ha sido reconocido como Web de Interés Sanitario por la utilidad de sus contenidos para la población general interesada por la Salud o para los profesionales sanitarios. Gracias al consorcio, nuestro grupo tiene un contacto estrecho con investigadores clínicos que, además, se ve reforzado por nuestra pertenencia a estructuras de investigación como el Centro de Investigación Biomédica en Red Cardiovascular (CIBER-CV) del Instituto de Salud Carlos III o el Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Gregorio Marañón.

En los últimos años hemos estado también muy interesados en “espíar” con técnicas electrofisiológicas y de imagen (FRAP, inmunofluorescencia, etc) las secretas

e inesperadas relaciones entre canales iónicos, en particular entre los canales de Na⁺ y los Kir2.1. Hemos averiguado que los canales de Na⁺ y de K “viajan” juntos desde el retículo endoplásmico dónde son sintetizados hasta establecerse también juntos en la membrana. Hemos identificado los determinantes moleculares que condicionan esta relación recíproca y esperamos poder explotarla en un futuro (gracias a la financiación del Proyecto por parte de la Agencia Estatal de Investigación) para el desarrollo de terapias innovadoras.

Nos encontramos en un momento de cambios en la investigación en nuestra área. Algunos son cambios tecnológicos como la generación de miocitos cardiacos humanos obtenidos a partir de células madre pluripotentes inducidas o la edición génica mediante herramientas como el CRISPR-Cas9 (medicina personalizada). Otros son cambios conceptuales que han de renovar el interés por desarrollar nuevos fármacos antiarrítmicos, ahora que en pocos meses se cumplen 40 años desde la incorporación de la flecainida a la terapéutica. La MSC por causa arrítmica (que supone el 80% de las MSC) es un importante problema de salud en nuestro medio, pues es responsable de entre el 15-20% del total de muertes anuales en Europa (incidencia 50-100 por 100.000). Hoy en día no hay opciones farmacológicas para su tratamiento y prevención y ello representa una necesidad médica desatendida. Queremos modestamente aportar, aunque sólo sea un granito de arena. Por ello, seguiremos remando con todo nuestro empeño e ilusión y trataremos, como Ulises de llegar a Ítaca a través de un camino tortuoso pero colmado de aventuras y de sorpresas que esperamos seguir teniendo el privilegio de disfrutar.

Para finalizar, agradecemos de nuevo la oportunidad que se nos ha brindado de presentar nuestro laboratorio. Parafraseando al Profesor Jesús Flórez, nos sabemos deudores de nuestros maestros, de los colegas con los que colaboramos y de los investigadores jóvenes de nuestro laboratorio, porque de todos ellos aprendemos algo a diario.