

EL EFECTO ANTICONVULSIVO DE LA QUINIDINA SE CORRELACIONA CON SU ACCION BLOQUEADORA SOBRE LOS CANALES IONICOS

M. Castellanos Renté y J.L. Hernández Cáceres

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba

Recibido: 31 de agosto de 1989

Recibido: 26 de enero de 1990

ABSTRACT. It is known that quinidine blocks different ionic conductances in neuronal membranes, for this reason it was chosen this drug in order to investigate the involvement of different ions in epileptogenesis. The effect of topical application of quinidine upon the penicillin cortical focus was studied in 40 rats. In the whole range of doses tested (100 to 200 $\mu\text{mol/L}$) the drug reversibly reduced the amplitude of penicillin-induced spikes. The maximum effect was at 1 000 $\mu\text{mol/L}$. It is reported that at this concentration in molluscan neurons the calcium conductance is blocked. At 100 $\mu\text{mol/L}$ the spike amplitude was reduced in a lower degree. At this concentration only the potassium conductance is considerably blocked. These results can be interpreted as a new evidence for the role of potassium and calcium in epilepsy, being this last ion the most important, in connection with its role as a main regulator of neuronal excitability.

RESUMEN. Es conocido que la quinidina bloquea diferentes conductancias iónicas en las membranas neuronales, por lo que se escogió esta droga para investigar el papel que desempeñan diferentes iones en la epileptogénesis. La aplicación tópica de quinidina sobre el foco epiléptico cortical fue estudiada en 40 ratas. En todo el rango de dosis ensayadas (100 a 2 000 $\mu\text{mol/L}$), la droga de forma reversible redujo la amplitud de las espigas penicilínicas. El efecto máximo se observó a los 1 000 $\mu\text{mol/L}$. En las neuronas de moluscos se ha reportado que a esta concentración esta droga bloquea la conductancia al calcio. A los 100 $\mu\text{mol/L}$ la amplitud de la espiga también disminuye, pero en un menor grado, concentración en la que se encuentra bloqueada sólo la conductancia al potasio. Estos resultados se pueden interpretar como una nueva evidencia del papel crucial que desempeñan el calcio y el potasio en la epilepsia, siendo de los dos el más importante el calcio, en conexión con su papel como principal regulador de la excitabilidad neuronal.

INTRODUCCION

Es bien conocida la importancia de los sistemas de transporte de iones a través de la membrana en el desencadenamiento y desarrollo de las crisis epilépticas.^{1,2}

En la última década se han acumulado evidencias que indican que los sistemas encargados de la regulación del calcio intracelular desempeñan un papel notable en la generación de las despolarizaciones paroxísticas que caracterizan los agregados neuronales epiletizados, lo que se apoya en resultados experimentales correspondientes a cortes cerebrales,^{3,4} así como en neuronas de invertebrados o animales intactos.⁵

Otro grupo de evidencias en torno a este problema fue obtenido a partir de la disminución de la amplitud de estas despolarizaciones paroxísticas en mononeuronas mediante las inyección de verapamil, un bloqueador reconocido de los canales de calcio.⁶

Recientemente, se ha planteado⁷⁻⁹ que la acción anticonvulsivante de algunos antiepilepticos como la difenilhidantoína y la carbamazepina está relacionada con su interferencia en los mecanismos de regulación del calcio intracelular, los cuales, en última instancia, conducen a una elevación de su concentración en el interior de la célula y son capaces de inducir epileptogénesis. De esta forma puede asumirse que la actividad epiléptica en poblaciones neuronales se afecta por la aplicación de bloqueadores de canales iónicos y particularmente, por drogas que afectan la entrada de calcio a la célula.

Se ha demostrado que la quinidina es capaz de bloquear, con diferente grado de afinidad, distintas conductancias iónicas de la membrana neuronal,¹⁰ así como otros sistemas relacionados con el transporte iónico primaria¹¹ o secundariamente activo.¹²

Teniendo en cuenta la importancia que se le atribuye a estos mecanismos en la epileptogénesis, el objetivo del presente trabajo fue dilucidar si la aplicación tópica de diferentes concentraciones de quinidina es capaz de afectar las descargas epiletiformes de un foco penicilínico cortical débil y si su efecto mayor se relaciona con la concentración a la cual es capaz de bloquear los canales de calcio. Paralelamente se evalúa la acción de la inyección de esta droga sobre el modelo clásico de convulsiones inducidas por pentilenotetrazol (PTZ) con el fin de dilucidar si su efecto se restringe a un agregado neuronal individual con actividad epiletiforme o si, por el contrario, es capaz de contrarrestar las crisis a nivel de todo el organismo.

MATERIALES Y METODOS

Los experimentos se realizaron en 40 ratas Wistar de 150 a 200 g de peso de ambos sexos. Bajo anestesia ligera (éter etílico) los animales se paralizaban con d-tubocurarina (3 mg/kg, i.p.) y se ventilaban artificialmente (60 respiraciones/min) a través de una bomba de respiración.

Los puntos de presión y las heridas se infiltraban con lidocaína (2 %). A los animales se les realizaban dos trépanos simétricos en ambas cortezas sensoriomotoras, en las cuales se colocaban los electrodos de registro que consistían en capilares de vidrio (0,75 mm de diámetro interno), llenos de agar y solución Ringer lactada (Medivet Cuba). En uno de los capilares se añadía de 30 000 a 40 000 U/ml de penicilina-G (sal sódica), lo que coincide con la concentración mínima requerida para la generación de espigas epilépticas estables.¹³ Con este electrodo se recogía la actividad del foco cortical primario, mientras que con el segundo se registraba su proyección transcallosa. Como electrodo de referencia se utilizaba una lámina de plata que se colocaba bajo la piel del cuello, el registro monopolar del electrocardiograma se realizaba mediante otro electrodo metálico colocado en una de las patas posteriores del animal.

Se utilizó un electroencefalógrafo de 4 canales del tipo Orion EMG-10 (Hungría) con una constante de tiempo de 0,3 s. La quinidina diluida en solución Ringer se aplicaba tópicamente con pequeños papeles de filtro (1 mm²) embebidos en las diferentes soluciones ensayadas, las cuales se cambiaban cada 15 min durante 2 h. Se investigaron los efectos de 4 concentraciones de quinidina (100; 200; 1 000 y 2 000 $\mu\text{mol/L}$), utilizándose grupos de 10 animales para cada concentración.

En la evaluación cuantitativa del foco se utilizaba el parámetro de amplitud de espiga¹⁴ y como controles se utilizaban las espigas generadas por el mismo animal antes de la aplicación de la droga. Para evaluar el efecto de la quinidina sobre las crisis inducidas por PTZ se utilizaron ratones BALB/C (n = 100) de ambos sexos y de 19 a 22 g de peso.

El método de inducción de convulsiones por PTZ se desarrolló de acuerdo al previamente descrito por Schmidt,¹⁵ determinándose los valores de la dosis efectiva media (DE₅₀) en grupos controles y en grupos a los cuales se les inyectaba quinidina (30 mg/kg i.p.) 1 h antes de la inyección de PTZ. La validación estadística de los datos se realizó mediante la prueba no paramétrica de la "U" de Mann-Whitney y la prueba de Litchfield y Wilcoxon.

RESULTADOS

Las cuatro concentraciones de quinidina ensayadas provocaron una variación significativa ($p = 0,001$) de la amplitud de las espigas del foco penicilínico.

La figura 1 muestra los registros obtenidos en experimentos representativos de este tipo. En la figura 2 se resumen estos resultados. En ella se muestra la relación entre la concentración de quinidina y la amplitud de la espiga.

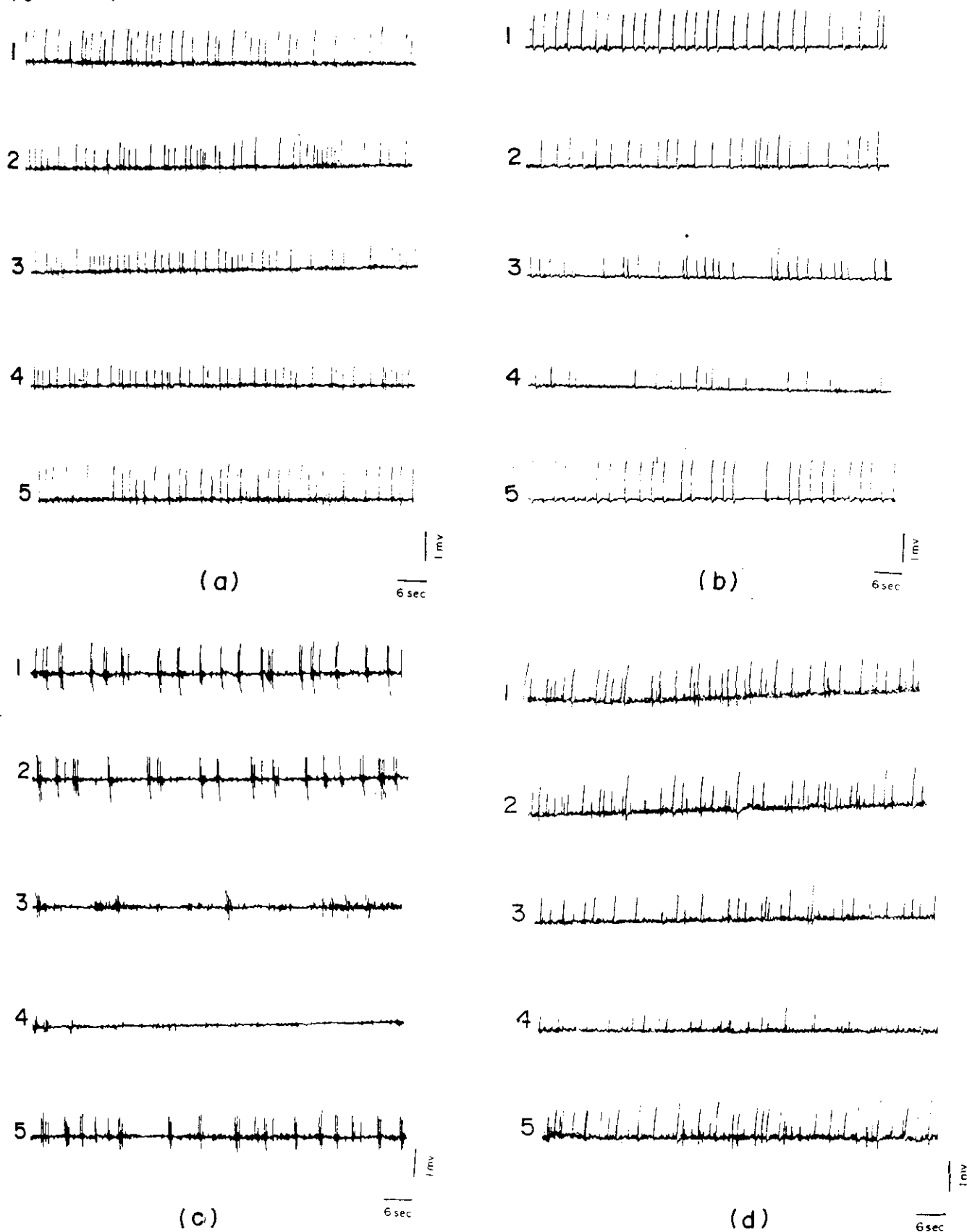


Fig. 1. Registros electrocorticográficos de las espigas del foco penicilínico.

a. Efecto de la quinidina ($100 \mu\text{mol/L}$) sobre las espigas focales; b. quinidina ($200 \mu\text{mol/L}$); c. quinidina ($1000 \mu\text{mol/L}$) y d. quinidina ($2000 \mu\text{mol/L}$). 1. control, 2. 0 min, 3. 30 min, 4. 60 min y 5. 90 min de la aplicación de la droga

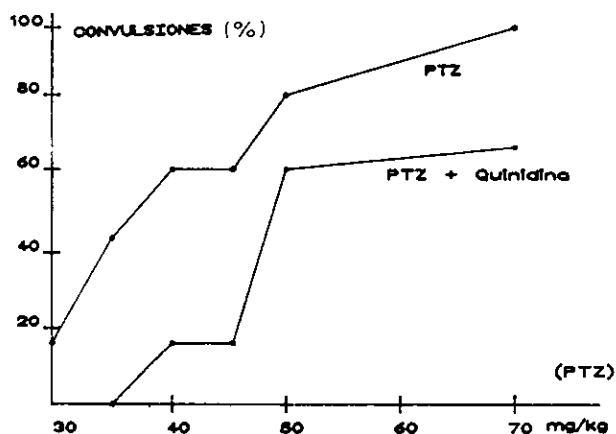


Fig. 2. Efecto de la quinidina sobre la amplitud de las espigas focales (100; 200; 1 000 y 2 000 $\mu\text{mol/L}$). Recuperación de la amplitud de las espigas focales después de 3 h de retirada la droga

Como puede apreciarse, dosis de 100 y 200 $\mu\text{mol/L}$ producen efectos similares en la amplitud de las espigas (43 y 41 % respectivamente), mientras que la aplicación de quinidina a una dosis de 100 $\mu\text{mol/L}$ produce el máximo efecto sobre la amplitud (24 %). Sin embargo, un efecto aparentemente paradójico se observó al aplicar dosis de 2 000 $\mu\text{mol/L}$, que solamente ocasionaron una variación promedio en la amplitud de las espigas de sólo un 47 %.

En todas las concentraciones ensayadas se observó una recuperación en la amplitud de las espigas lo que habla de la reversibilidad del efecto de esta droga.

La figura 3 ilustra los resultados correspondientes al efecto de la inyección de quinina intraperitoneal en ratones de 30 mg/kg sobre las crisis inducidas por PTZ.

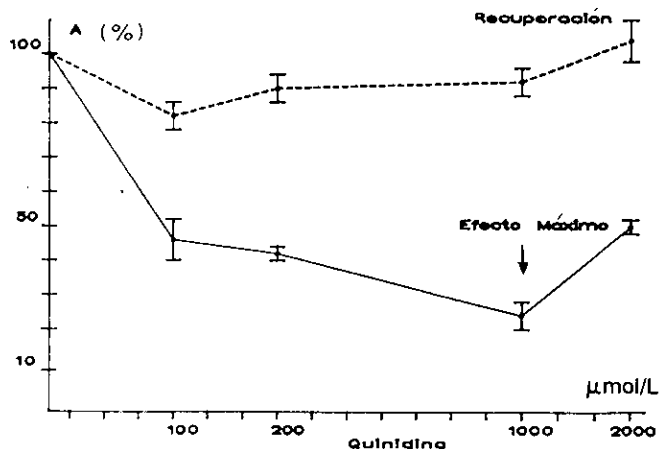


Fig. 3. Efecto de la inyección i.p. de 30 mg/kg de quinidina en ratones previamente tratados

La droga provocó un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) del valor de DE_{50} para el PTZ, ascendiendo desde 42,33 mg/kg en los controles hasta un valor de 55,48 en animales tratados con quinidina.

DISCUSION

Los resultados de los experimentos realizados con quinidina muestran un efecto anticonvulsivo dependiente de la dosis en el rango de concentraciones utilizado (100 a 2 000 $\mu\text{mol/L}$).

Los resultados del análisis de la relación entre el efecto provocado sobre la amplitud de la espiga y la concentración de quinidina aplicada revelan que todas las dosis ensayadas producen una variación significativa de este parámetro, sin embargo, solamente la aplicación tópica de una dosis de 1 000 $\mu\text{mol/L}$ conduce a un efecto significativamente diferente de la resultante de la aplicación tópica de las restantes, lo que representa el efecto máximo producido por la quinidina en este modelo experimental.

Una posible explicación de estos resultados podría asociarse con los que reportan Herman y Gorman¹⁰ al investigar la acción de la quinidina en diferentes sistemas involucrados en la excitabilidad neuronal. En este caso, con la aplicación de la droga en dosis de 100 y 200 $\mu\text{mol/L}$, el único sistema bloqueado por la quinidina serían los canales de potasio dependientes del voltaje, cuya constante de inhibición (K_i) es igual a 28 $\mu\text{mol/L}$. Es ampliamente reconocida la participación de los mecanismos reguladores de potasio en la epileptogénesis,¹⁶ pudiendo ser este resultado una evidencia más en este sentido. Por otra parte, cuando se aplica una concentración de 1 000 $\mu\text{mol/L}$ de quinidina, los canales de calcio deben resultar casi completamente bloqueados ($K_i = 260 \mu\text{mol/L}$). Este resultado también puede interpretarse como una nueva evidencia del importante papel que desempeñan los mecanismos de regulación del calcio en la generación de la epilepsia y que han sido descritos por diferentes autores.^{17,18}

Sin embargo, el efecto aparentemente paradójico que se produce al aplicar quinidina a una concentración de 2 000 $\mu\text{mol/L}$ parece sugerir que, además de los mencionados bloqueos de los canales de calcio y potasio también se induce la aparición de efectos de sentido opuesto. En este contexto, la acción bloqueadora de la quinidina sobre la ATPasa transportadora de Na^+/K^+ y sobre el intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ presenta una constante de inhibición de alrededor de 500 $\mu\text{mol/L}$,^{11,12,19} en membranas de eritrocitos, razón por la cual este efecto pudiera manifestarse al aplicar una dosis de 2 000 $\mu\text{mol/L}$.

De esta forma, el efecto resultante de la aplicación de esta concentración (2 000 $\mu\text{mol/L}$) puede ser consecuencia de la combinación de los efectos convulsivos y anticonvulsivos de la droga a nivel molecular, mientras que 1 000 $\mu\text{mol/L}$ parece ser la concentración a la cual de modo óptimo se combinan estas acciones opuestas.

Estos efectos que la quinidina no habían sido descritos con anterioridad y pueden encontrar una explicación plausible a partir de su influencia sobre diferentes mecanismos que afectan la excitabilidad neuronal.

Finalmente, al ensayar la acción de la quinidina sobre las crisis inducidas por PTZ, también se observó un efecto anticonvulsivo, sin embargo, en este caso resulta menos marcado, lo que parece depender de la naturaleza generalizada de las crisis inducidas y de la severidad del fenómeno convulsivo que induce este modelo.

De cualquier manera, este resultado sugiere que el efecto anticonvulsivo de la quinidina no se restringe a un agregado neuronal afectado, sino que también se manifiesta al administrarse por vía sistémica, cuando la actividad epileptiforme se ha generalizado en los hemisferios cerebrales.

CONCLUSIONES

La quinidina ejerce una acción anticonvulsiva sobre el foco epileptógeno penicilínico cortical de ratas y teniendo en cuenta el mecanismo de acción propuesto para esta droga se hace evidente una vez más la importancia de la regulación de los niveles de los iones Ca^{2+} y K^+ en la generación y desarrollo de las espigas epileptógenas.

Asimismo de los resultados se denota como la regulación de la concentración de Ca^{2+} desempeña un papel más crucial en la epileptogénesis y la excitabilidad neuronal en general.

BIBLIOGRAFIA

1. Lux H.D. and Heinemann U. *Epilepsy and Motor System*. Elger C.E. Ed. Urban and Schwarzenberg, Munich, 1983.
2. Heinemann U. and Louvel J. *Pflugers Arch. Ges. Physiol.*, **398**, 310, 1986.
3. Bingman D. and Speckman A. *Neurosci. Letter*, **14**, S29, 1983.
4. Bingman D. and Speckman A. *Pflugers Arch. Ges. Physiol.*, **402**, R29, 1984.
5. Witte O.W. and Speckmann E.J. *Cell Calcium*, **5**, 311, 1985.
6. Walden J., Speckmann E.J. and Witte O.W. *The EEG Journal*, **61**, 299, 1985.
7. Woodbury D.M. *Antiepileptic Drugs*. J.H. Glaser and D.M. Woodbury, Raven Press, New York, 1980.

8. De Lorenzo R.J. *Annals of Neurology*, 16, S104, 1984.
 9. Sugaya E., Kishii K. and Onozuka M. *Brain Research*, 341, 313, 1988.
 10. Hermann A. and Gorman L.F. *J. Gen. Phys.*, 83, 919, 1984.
 11. Yingst D.R. and Hoffman J.F. *J. Gen. Phys.*, 83, 1, 1984.
 12. Yingst D.R. and Hoffman J.F. *J. Gen. Phys.*, 83, 19, 1984.
 13. Castellanos M. and Hernández J.L. The weak epileptic focus in rats. INTERMOZG Congress, Habana, 1986.

14. Lueders H., Bustamante L. and Goldensohn A. *The EEG Journal*, 48, 80, 1980.
 15. Schmidt J. *Biomed. Biochim. Acta*, 46, 4, 1987.
 16. Fertziger A.P. and Ranck J.B. *Exp. Neurology*, 26, 741, 1970.
 17. Heinemann U. and Hamon B. *Exp. Brain Res.*, 65, 1, 1986.
 18. Avoli M. and Agopayan N. *Epilepsy and Calcium*. E.J. Speckman and J. Walden Ed. Urban and Schwarzenberg, Munich, 1987.
 19. Findlay I., Dunne M.J., Ulrich S., Wolheim C.B. and Petersen O.H. *FEBS Letters*, 185, 1, 1985.

SONDA CARDIACA NUCLEAR

Sistema computarizado de detección de radiación gamma, diseñado para estudiar la función mecánica del corazón. Se basa en la administración endovenosa de un radio trazador y en el registro de la radioactividad cardíaca, sincronizada con la señal EKG.

Permite determinar:

- histograma de los intervalos RR
- curva de volumen ventricular en un ciclo promedio
- fracción de eyección del ventrículo izquierdo
- intervalo sistólico
- volumen sistólico
- volumen telediastólico
- gasto cardíaco
- tránsito del radiotrazador en la circulación central

DATOS TECNICOS

Detector de INa-(TL) de (30 X 25) mm y fotomultiplicador

EKG independiente.

Microcomputadora personal LTEL.

Monitor a color.

Impresora de papel.

Sistema electrónico asociado

Paquete de programas de fácil utilización.

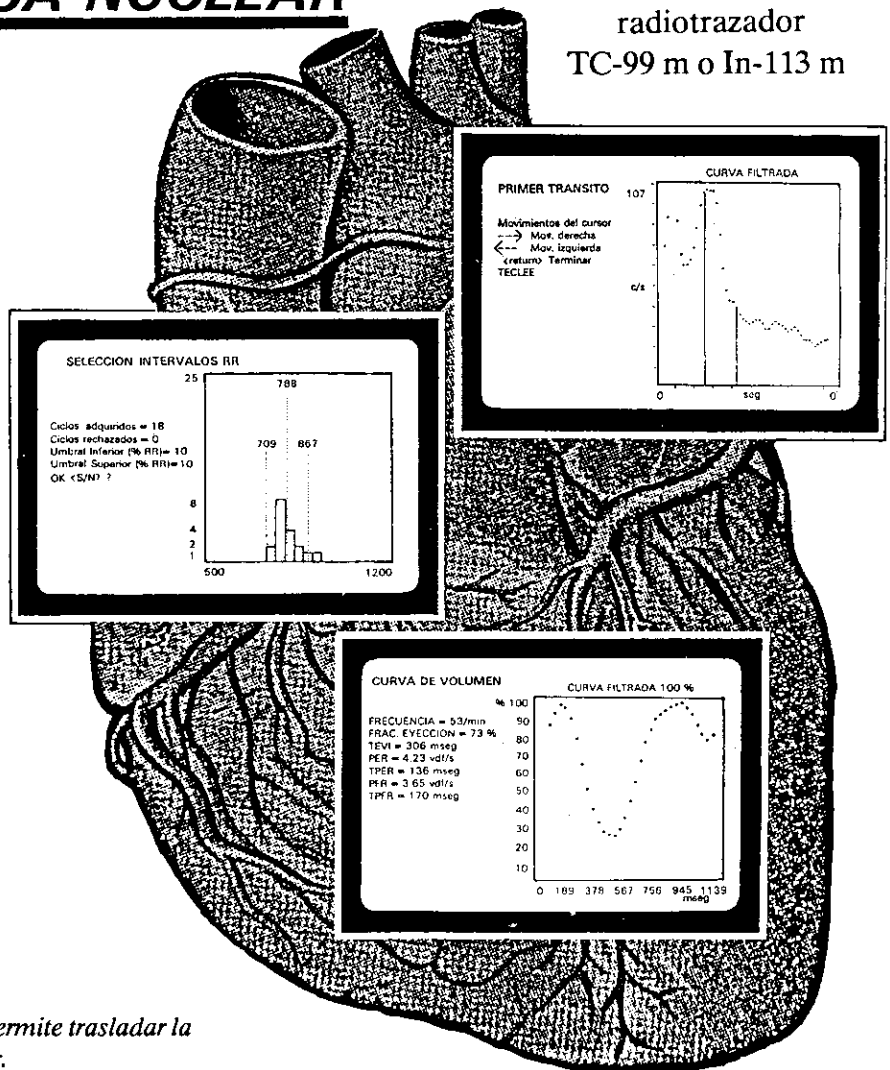
Brazo ajustable para el detector nuclear.

Masa integral de fácil manipulación que permite trasladar la Sonda Cardíaca Nuclear a cualquier lugar.

Alimentación: 110 V (CA), 60 Hz (opción 220 V (CA))

Se utiliza principalmente en la valoración diagnóstica, pronóstico y seguimiento evolutivo de pacientes con cardiopatía isquémica, miocardiopatías y cualquier otra afección del corazón en la detección e identificación de algunas malformaciones congénitas cardíacas; en la valoración de intervenciones farmacológicas o de otro tipo sobre la función del corazón y en el monitoreo de la función mecánica del ventrículo izquierdo en pacientes ingresados en salas de cuidados intensivos.

radiotrazador
TC-99 m o In-113 m



PRODUCIDO Y EXPORTADO POR:
PRODUCED AND EXPORTED BY:



Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Avenida 25 y calle 158, Cubanacán, Playa
 Ciudad de La Habana, Cuba
 Apartados Postales: 6880 y 6990
 Teléfono: 21-8066 Télex: 51-1582 CNIC CU