

EFFECTOS DEL DILTIAZEM SOBRE LA FRECUENCIA CARDIACA Y EL GASTO CARDIACO EN EL *Bufo spinolosus* (sapo común) CON CIRCULACIÓN EXTERNA

CAMPOS REYNA Jorge Luis¹

RESUMEN

Tenemos como objetivo comprobar la influencia del Diltiazem sobre la frecuencia y gasto cardíaco, en el *Bufo spinolosus* cuando no existe vasodilatación periférica ni reflejo simpático.

La muestra incluyó 26 *Bufo spinolosus*, en los cuales se seccionó ambos nervios vagos y se hizo simpatectomía cervical y la canulación de una sola entrada y una sola salida para la circulación de la solución Ringer Rana con el diltiazem. Se hicieron mediciones posteriores, de frecuencia y gasto cardíacos basal, luego al primer, tercer y quinto minutos.

Los resultados de la frecuencia cardíaca basal promedio fue de 32.6 latidos por minuto \pm 6.6, al minuto de 24 \pm 10.4, a los 3 minutos de 18 \pm 12 y a los 5 minutos de 15 \pm 13, dando una diferencia significativa del basal con respecto a los tres tiempos posteriores, con $p < 0.001$. El gasto cardíaco basal promedio fue de 15.23 mL \pm 8.3, al minuto de 9.79 mL \pm 7.9, a los tres minutos de 8.6 mL \pm 8.2 y a los cinco minutos de 8.18 mL \pm 8.7 existiendo una diferencia significativa entre el gasto cardíaco basal y los tres tiempos posteriores, $p < 0.001$. Se empleó la prueba estadística «t» de diferencias.

Se concluye que el diltiazem administrado en la precarga por bomba de infusión externa disminuye la frecuencia cardíaca (cronotropismo negativo) y el gasto cardíaco (inotropismo negativo), en el *Bufo spinolosus*, cuando no existe vasodilatación periférica, ni reflejo simpático.

Palabras clave: Diltiazem, gasto cardíaco, frecuencia cardíaca, autorregulación

¹ Maestro en Fisiología, Profesor de Fisiología Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo

INFLUENCE OF THE DILTIAZEM ON THE FREQUENCY AND CARDIAC OUTPUT IN THE *Bufo spinolosus* WITH EXTERNAL CIRCULATION

ABSTRACT

The aim was to study the influence of the Diltiazem on the frequency and cardiac output in the *Bufo spinolosus* without decrease of peripheral resistance and sympathetic reflex.

The sample included 26 *Bufo spinolosus*, in which were cutted both vague nerves and cervical sympathectomy was performed. The single entrance and exit cannulation for the circulation of the Ringer Frog solution which contains diltiazem was prepared.

The measurements of the heart rate and cardiac output where taken under basal conditions and also at one, three and five minutes after the administration of Diltiazem. The average of the heart rate results were: Basal 32.6 \pm 6.6 beats per minute, after 1 minute of the drug administration 24 \pm 10.4, 3 minutes 18 \pm 12 and 5 minutes 15 \pm 13 beats per minute. There a significant difference between the basal heart rate and its three subsequent measurements ($p < 0.001$). The cardiac output was 15.23 mL \pm 8.3 at basal conditions; 9.79 mL \pm 7.9 one minute after; 8.6 mL \pm 8.2 three minutes after; and 8.18 mL \pm 8.7 after five minutes of the administration of the drug. There are a significant difference ($p < 0.001$) between the basal cardiac output and its three subsequent measurements. A Student t-test for paired samples was performed to compare these measurements. In conclusion, Diltiazem can not produce sympathetic reflex and peripheral arterial vasodilatation; it causes a negative inotropism and a positive cronotropism over the cardiac muscle, requiring maximum care when employed in critical patients.

Key words: Diltiazem, cardiac output, heart rate, auto regulation

I. INTRODUCCIÓN

El gasto cardíaco es la cantidad de sangre expulsada por el corazón en un minuto, y está en relación directa con la frecuencia cardíaca y con el volumen sistólico. Pueden producirse variaciones en el gasto cardíaco a causa de cambios en la frecuencia cardíaca o en el volumen sistólico. El volumen sistólico también es influenciado por impulsos nerviosos, estímulos simpáticos que hacen que las fibras musculares miocárdicas se contraigan a mayor fuerza a una longitud dada, y los estímulos parasimpáticos tienen el efecto opuesto. Cuando la fuerza de contracción aumenta, sin un incremento de la longitud de la fibra, se expulsa una cantidad de sangre mayor que la que permanece normalmente en los ventrículos, por tanto, la fracción de eyección aumenta y el volumen ventricular final disminuye.⁽¹⁾

Los canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje (tipo L o canales lentos) median la entrada de Ca^{2+} extracelular al músculo liso, los miocitos cardíacos y las células que conforman el nodo sino auricular y aurículo ventricular, en respuesta a la despolarización eléctrica.^{(2) (3)}

El incremento de la concentración de Ca citosólico aumenta la contracción de las células del músculo cardíaco y vascular. Las concentraciones de Ca citosólico pueden aumentar por diversos estímulos contráctiles. Por tanto muchas hormonas y neurohormonas aumentan la entrada de Ca a través de los canales de Ca operados por receptor, en tanto que los estímulos eléctricos despolarizantes incrementan la entrada de Ca a través de canales sensibles a voltaje de «operados por potencia»⁽⁴⁾

Los antagonistas del canal de Ca actúan por unirse a la subunidad α_1 de los canales de Ca tipo L y disminución del flujo de Ca a través del canal.

Los bloqueadores benzotiazepínicos de dicho canal se unen al puente citoplásmico entre los dominios III (III_s) y IV (IV_s). Todos los bloqueadores de canales de Ca se ligan a la unidad α_1 , del canal de Ca tipo L, que es la principal unidad «porogénica» de dicho canal, la subunidad mencionada que tiene 200,000 a 250,000 dalton se vincula con una subunidad α_2 y δ , ligada a disulfuro de unos 140,000 dalton y otra subunidad β intracelular de 55,000 a 72,000 dalton. La subunidad α_1 , comparte una topografía común de 4 dominios homólogos (I,II,III, IV) cada uno compuesto de 6 segmentos transmembrana (S1 a S6). Las

subunidades α_2 , δ y β modulan a la subunidad α_1 .⁽⁵⁾

El diltiazem por vía intravenosa puede dar como resultado inicialmente un notorio decremento de la resistencia vascular periférica y de la presión arterial, lo cual desencadena un aumento reflejo de la frecuencia cardíaca y del gasto cardíaco. La frecuencia cardíaca disminuye entonces por debajo de las cifras iniciales debido al efecto cronotrópico negativo directo del fármaco. Administrar diltiazem por vía oral origina disminución sostenida tanto de la FC como de la PAM.⁽³⁾

Rougier, Corabuef y col. en 1969 observan que la depolarización auricular, está mediada por dos corrientes iónicas dirigidas hacia adentro, bajo estas condiciones se expresa que, cuando el potencial llega al umbral, la permeabilidad de la membrana para el sodio aumenta rápidamente, vinculándose con el denominado canal rápido, responsable del aflujo de sodio; la segunda corriente es causada por el movimiento del calcio en el mismo citoplasma, pero en un tiempo más prolongado, proceso al que se le denomina «canal lento».^{(5) (6)}

El tejido cardíaco tiene los dos tipos básicos: Los tejidos de los canales rápidos, los cuales son estimulados eléctricamente, principalmente por un flujo de sodio a través de la membrana; y los tejidos de los canales lentos, en los que el principal portador de la carga eléctrica es el calcio.⁽⁷⁾

La corriente lenta de entrada de calcio es responsable del acoplamiento, excitación-contracción y contribuye al mantenimiento del nivel de meseta del potencial de acción en las fibras de respuesta rápida.⁽⁸⁾

El diltiazem es un bloqueador de los canales de calcio de primera generación en su grupo y su estructura química es el 3 acetoxi 2, 3- dihidro- 5, 2- dimetilamino etil -2- p-metoxifenil benzo - b-511- 1, 5 tiazepina -4- ona, que interactúa con la subunidad α_1 , de los canales de calcio voltaje-dependientes. El diltiazem derivado benzotiazepínico difiere de los derivados dihidropiridínicos en que el diltiazem no es tan vasodilatador y de los derivados fenilalquilamínicos en que es menos inotrópico negativo y más vasodilatador coronario y es parecido al verapamilo en que no tiene efectos sobre el músculo esquelético, al menos a dosis terapéutica.⁽⁹⁾ Y todos los bloqueadores de canales de calcio tienen más acción sobre las arterias que sobre las venas.⁽²⁴⁾

Los canales lentos del calcio, de acuerdo a su manera de activación, pueden ser de dos tipos: aquellos que se activan cuando un agonista químico se unen a su receptor muy próximo al canal (llamados también ligando dependientes) y aquellos que se activan por voltaje; estos últimos se encuentran en la mayoría de las células⁽¹⁰⁾ y pueden ser divididos en cuatro tipos principales, actualmente designados como tipos L, N, T, P.^{(11) (12) (13)}

Hablando específicamente de los canales de calcio voltaje dependientes del tipo L, que son donde actúan los calcio antagonistas⁽¹⁴⁾, la mayor información con respecto a la estructura y composición química de estos canales, deriva de trabajos realizados sobre los túbulos T, de las invaginaciones del sarcolema del músculo esquelético. Esto es porque estas membranas están ricamente dotadas de los canales de calcio tipo L.⁽¹⁵⁾

La localización y la estructura de las uniones químicas de los distintos calcioantagonistas con los canales de tipo L, han sido posibles gracias a la utilización de la dehidropiridina, como marcador radioactivo.⁽⁹⁾

La influencia de los calcioantagonistas sobre la contractilidad miocárdica, depende de su actividad bloqueadora sobre los canales lentos de calcio. Cada célula muscular cardíaca contiene aproximadamente diez canales de calcio funcionales. El bloqueo de la captación de calcio reduce la cantidad de calcio disponible para la interacción con la troponina y por lo tanto causa un efecto inotrópico negativo.^{(16) (17) (18) (19) (20)}

La administración IV rápida de diltiazem, disminuye la presión arterial con una reducción de la resistencia periférica total y un incremento del gasto cardíaco que es debido, predominantemente, a un incremento de la frecuencia cardíaca por estimulación simpática refleja, y disminución de la resistencia periférica⁽²¹⁾, efecto que se aprovecha en la clínica cuando queremos mejorar el gasto cardíaco.

Los calcio antagonistas tienen efecto variable sobre el miocardio, el nodo sinoauricular y auriculoventricular, vasos sanguíneos periféricos y circulación coronaria. El bloqueo de los canales de calcio produce disminución de las demandas de oxígeno (inotropismo negativo) y disminución de la actividad nodal. Desde la década de los 60 cuando fueron descritos, los calcio antagonistas han sido empleados clínicamente para tratar la hipertensión arterial, las arritmias y la isquemia cardíaca.⁽²²⁾

En nuestro modelo experimental se manejó externamente toda la precarga, así como la post carga del *Bufo spinulosus* (*sapo común*), de manera que el corazón estuvo funcionando desnervado y sin reflejos periféricos arteriales ni venosos por lo tanto la frecuencia cardíaca no se modificará por reflejo simpático ni el gasto cardíaco aumentará por disminución de la resistencia periférica. De esta forma el diltiazem bloqueará exclusivamente los canales de calcio existentes en el miocardio, y esto debe producir más bien disminución del gasto cardíaco por disminución de la contractilidad y disminución de la frecuencia cardíaca por depresión del nodo sinusal.

Por todo esto nos planteamos el siguiente problema: ¿Cómo influye el diltiazem sobre la frecuencia cardíaca y gasto cardíaco en el *Bufo spinulosus*, donde no exista vasodilatación periférica ni reflejo simpático?

Con el raciocinio teórico anterior se postula la siguiente hipótesis:

H₀. El diltiazem no disminuye la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco, en el *Bufo spinulosus* administrado en la precarga por bomba de infusión con circulación externa.

H₁. El diltiazem sí disminuye la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco, en el *Bufo spinulosus* administrado en la precarga por bomba de infusión con circulación externa.

Objetivo General:

Determinar la influencia del diltiazem sobre la frecuencia cardíaca y gasto cardíaco en el *Bufo spinulosus*, donde no exista vasodilatación periférica, ni reflejo simpático

Objetivo específico:

- a) Medir el efecto del diltiazem sobre la frecuencia cardíaca en el *Bufo spinulosus*, donde no exista vasodilatación periférica, ni reflejo simpático.
- b) Medir el efecto del diltiazem sobre el gasto cardíaco en el *Bufo spinulosus*, donde no exista vasodilatación periférica, ni reflejo simpático.

II.- MATERIAL Y MÉTODO

1.- MATERIAL

1.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:

Para la realización del presente trabajo se uso 36 ejemplares de *Bufo spinulosus*, que tengan entre 150 y 200 g de peso, seleccionados aleatoriamente por caza directa y mantenidos en condiciones ambientales similares a su medio y de alimentación y agua ad libitum, de los cuales 10 de ellos murieron durante la operación, realizándose finalmente el trabajo con 26 animales.

1.2. FARMACOS UTILIZADOS:

Clorhidrato de Diltiazem: Donado por Lab. Pfizer, Tilazem® marca registrada, se preparó colocando 15 mg de la sal, aforando con 100 mL de agua destilada dando una concentración de 150 ug/mL. Diluyendo luego a la mitad de la solución tendremos una concentración de 75 ug/mL. La dosis empleada de 125 ug/K, corresponde a la dosis que el corazón del sapo resistió las pruebas sin producir paro cardíaco y fibrilación. ⁽¹²⁾

2.- MÉTODOS:

2.1. Preparación de los animales de experimentación:

- a) Anestesiarse traumáticamente al sapo
- b) Colocar al animal en decúbito dorsal y descubrir el corazón
- c) Ligar las dos venas cavas inferiores
- d) Ligar el arco aórtico derecho
- e) Pasar doble ligadura por debajo de la aorta izquierda y vena cava posterior
- f) Introducir una cánula por la vena cava posterior, fijarla fuertemente y luego conectarla al sistema de oferta. El fondo de frasco de Mariotte permanecerá a una altura de 2 cm. por encima del corazón hasta que termine la canulación.
- g) Canular la aorta y conectarla con el sistema que representa la poscarga o resistencia. La altura inicial a que debe permanecer el drenaje es de 25 cm.
- h) Seccionar los dos nervios vagos a ambos lados del cuello

- i) Seccionar las dos cadenas simpáticas cervicales paravertebrales

2.2. Parte Experimental:

Para determinar el gasto cardíaco se procedió de acuerdo al siguiente orden:

1°. En este experimento se mantuvo fija la resistencia en 25 cm., y se fue variando la oferta en forma progresiva de 2 en 2 cm. hasta hallar el mayor gasto cardíaco, y se encontró a 22 cm que se consideró como la oferta óptima. Se registro la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco, anotándolo como basal.

2°. De acuerdo al peso exacto del animal se procedió a administrar el clorhidrato de diltiazem a dosis de 125 ug/K por la vía que representa la precarga u oferta (vena cava posterior) se usó la infusión continua para evitar el bloqueo auriculo ventricular completo y luego proceder a medir las variables al 1, 3 y 5 min.

2.3. Diseño de contrastación de la hipótesis:

2.3.1. DISEÑO LÓGICO: Si el Diltiazem disminuye la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco en el *Bufo spinulosus* desnervado con circulación extracorpórea ENTONCES un grupo de animales de esa especie mostrara un mayor gasto cardíaco y frecuencia cardíaca antes de la administración de dicho fármaco.

2.3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL: Para contrastar nuestra hipótesis se utilizó el diseño en línea donde fue usado un solo grupo de trabajo, el mismo ha servido como grupo experimental y testigo de sí mismo. Se utilizó muestras pareadas.

2.3.3. DISEÑO ESTADÍSTICO: Comparación de dos estadísticos se utilizó la T de diferencias para muestras pareadas con $n < 30$ para lo cual se necesita los promedios de las diferencias, la varianza y el error típico

Se consideraron ser significativas cuando $p < 0.05$

III. RESULTADOS:

Los resultados obtenidos de los 26 especímenes de *Bufo spinulosus* están en la tabla N° 1 y fueron los siguientes:

Con Respecto a la FC basal su promedio fue de 32.6 latidos por minuto ± 6.6 , al minuto fue de 24 ± 10.4 , a los 3 minutos fue de 18 ± 12 y a los 5

minutos fue de 15 ± 13 , utilizamos la prueba estadística «b» de diferencias para muestras pareadas, dando una diferencia muy significativa del basal con respecto a los tres tiempos posteriores, con $p < 0.001$. Por lo tanto rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que efectivamente la administración de diltiazem en un corazón privado de reflejos simpáticos y de dilatación arterial periférica, sí disminuye la frecuencia cardiaca.

El gasto cardiaco basal fue de $15.23 \text{ mL} \pm 8.3$, al minuto fue de $9.79 \text{ mL} \pm 7.9$, a los tres minutos fue de $8.6 \text{ mL} \pm 8.2$ y a los cinco minutos fue de $8.18 \text{ mL} \pm 8.7$, utilizamos la prueba estadística «b» de diferencias para muestras pareadas, dando una diferencia muy significativa del basal con respecto a los tres tiempos posteriores, con $p < 0.001$. Por lo tanto rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que efectivamente la administración de diltiazem en un corazón privado de reflejos simpáticos y de dilatación arterial periférica, sí disminuye el gasto cardiaco.

Tabla N° 1

Frecuencia Cardiaca (FC) y Gasto Cardiaco (GC) en condiciones basales y al 1', 3' y 5' post administración de Diltiazem en el *Bufo spinulosus*

N° Animal	BASAL		Efectos del Diltiazem					
	FC	GC	1 min		3 min		5 min	
	FC	GC	FC	GC	FC	GC	FC	GC
1	44	34	44	26	42	29	42	31
2	30	12	25	9	26	12	36	12
3	35	10	29	4	20	3	0	0
4	32	11	10	2.5	3	2	0	0
5	34	7	31	1.6	0	0	0	0
6	41	14	36	10	38	12	36	13
7	42	24	39	14	21	7	16	6
8	40	8	27	6	20	2.6	18	1.8
9	40	9.2	40	7.9	31	7.9	28	9
10	33	14	31	11	11	7	20	3.4
11	36	18	28	15	26	16	22	14
12	36	18	33	17	34	18	34	19
13	30	12	28	7	30	6	0	0
14	32	15	28	3.4	0	0	0	0
15	37	31	31	30	35	27	35	28
16	35	13	27	7	6	1.6	10	1.6
17	36	6	13	2.2	21	3.5	8	0.9
18	27	18	10	5	10	3	10	5
19	35	10	0	0	0	0	0	0
20	31	35	18	21	15	21	10	20
21	15	23	15	23	9	18	9	15
22	30	20	13	4	10	4	10	8
23	24	3	27	3	25	5	20	8
24	24	10	21	9	10	2	12	4
25	24	10	17	8	10	8	10	8
26	25	11	20	8	15	8	10	5
X	32.6	15.23	24	9.79	18	8.6	15	8.18
DS	6.6	8.3	10.4	7.9	12	8.2	13	8.7

Fuente: Generados por el autor

FC: Frecuencia Cardiaca

GC: Gasto Cardiaco

X: Promedio

DS: Desviación Estandar

IV. DISCUSIÓN

Por los resultados obtenidos en la tabla 1, se puede afirmar que el diltiazem produce un efecto depresor del miocito cardiaco en cuanto a la fuerza de contracción y a la conductibilidad y que el aumento del gasto cardiaco en el ser humano, después de administrar el bloqueador cálcico derivado benzotiazepínico es básicamente por un aumento de la frecuencia cardiaca refleja y una disminución de la resistencia periférica.

Recientemente existe mucho interés en las anomalías celulares de la homeostasis del calcio en el corazón humano insuficiente. Estudios en modelos animales y en miocardio de pacientes con insuficiencia cardiaca han evidenciado anomalías en la utilización del calcio citosólico, la sensibilidad de los miofilamentos al calcio y la energía de los miocitos.

Muchas de las anomalías metabólicas han demostrado ser producto de alteraciones en el número o en la actividad de las enzimas del miocito y en los canales transportadores que son importantes en el acoplamiento excitación-contracción. Aunque continúa siendo objeto de extensa investigación, es evidente que la disfunción cardiaca está íntimamente asociada con anomalías en la utilización del calcio en la célula cardiaca. Los suplementos de calcio no han sido bien estudiados como un posible tratamiento para la insuficiencia cardiaca congestiva. (25)

El tratamiento a corto plazo con muchos calcio antagonistas ha producido edema pulmonar y shock cardiogénico, y el tratamiento a largo plazo ha incrementado el riesgo de muerte en pacientes con disfunción ventricular izquierda. Los estudios recientes han centrado su atención en la evaluación de nuevos calcio antagonistas (amlodipina, felodipina, mibefradil) en pacientes con insuficiencia cardiaca crónica. Debido a la falta de evidencia que sustente su eficacia, los calcio antagonistas no deberían ser utilizados en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca. De los agentes disponibles, los estudios con Amlodipina y felodipina han demostrado seguridad a largo plazo y existe evidencia de que la amlodipina no afecta adversamente la sobrevivencia. Esto requiere mayores estudios y

confirmación antes de poder indicarlo en pacientes con insuficiencia cardíaca. ^{(26),(27),(28)}

Los calcio-antagonistas son un grupo de vasodilatadores arteriales que actúan en la circulación sistémica y coronaria. Esta acción debería producir una mejoría en la función cardíaca y alivio de la isquemia miocárdica, pero estas ventajas teóricas no han demostrado beneficios clínicos en trabajos controlados en insuficiencia cardíaca. La administración de estas drogas no producen mejoría sintomática o incremento de la tolerancia al ejercicio y el tratamiento a corto o largo plazo con estos agentes puede causar serias reacciones cardiovasculares adversas. ^{(29),(30)}

En nuestro modelo experimental se manejó externamente toda la precarga, así como la post carga del *Bufo spinulosus*, para que se vea libre de mecanismos reguladores intrínsecos, de manera que el corazón está funcionando desnervado y sin reflejos periféricos ni centrales ya sea simpáticos o parasimpáticos, por lo tanto si el gasto cardíaco aumenta no se puede increpar a la disminución de la post carga o a algún mecanismo simpático central. Mediante circulación extracorpórea se reguló a voluntad la pre y la post carga; y de esta forma el diltiazem bloqueará exclusivamente los canales de calcio existentes en el miocardio, por tanto, no se producirá aumento del gasto cardíaco por estimulación simpática refleja, sino más bien disminución del gasto por disminución de la frecuencia cardíaca y de la fuerza de contracción. Aunque se ha demostrado que el diltiazem no aumenta significativamente la frecuencia cardíaca promedio y no disminuye la frecuencia cardíaca mínima por debajo de niveles de seguridad ⁽³¹⁾, se prefirió por seguridad bloquear mediante una simpatectomía cervical y vagotomía los reflejos y no atribuir a estos últimos las diferencias que pudiesen producirse; por tanto se acepta la hipótesis alterna que dice que el diltiazem disminuye la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco, en el *Bufo spinulosus* con circulación externa.

V. RECOMENDACIONES:

Los resultados de este estudio básico deberían ser tomados en cuenta en el tratamiento de humanos con cardiopatía isquémica e hipertensiva, que por algún motivo se vea privado de la respuesta simpática y/o vasodilatadora por el peligro que eso lleva.

Cabe señalar también que la principal limitación del trabajo es que fue realizado en batracios, animales anfibios de sangre fría cuya respuesta al medicamento podría ser diferente a los mamíferos.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ganong W. Fisiología Médica. 18° ed. México DF: El Manual Moderno; 2001. p. 626-627.
2. Rougier O, Vossort G, Garnier D, Gargovil Y, and Coraboeuf E. Existence and role of a slow inward current during the frog atrial action potential. *Pflugers Arch* 1969; 308: 91-110.
3. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11° ed. México: Editorial McGraw-Hill Interamericana; 2007. p. 832-836.
4. Braunwal E, Eptein F. Mechanism of action of calcium channel blocking agents. *N Engl J Med* 1982; 23:1618.
5. Snyder S, Reynold J. Calcium antagonist drugs. *N Engl J Med* 1985; 16: 995-1001.
6. Kevin J, Catt and Stenko S, Stoljkovic. Calcium signaling and gonadotropin secretion. *Trends Endocrinol Metab* 1989; 215.
7. Mitchel LB, Schroeder JS, Mason JW. Comparative clinical electrophysiologic effects of diltiazem, verapamil and nifedipine: A review. *Am J Cardiol* 2001; 49: 629-635.
8. Zipes DP, Besch HP, Watanabe AM. Rol of the slow current in cardiac electrophysiology. *Circulation* 1975; 51: 761-766.
9. Nayler WG. Amlodipine. Springer-Verlag, Germany 1993; 39-41.
10. Bean BP. Classes of calcium channels in vertebrate cells. *Annu Rev Physiol* 2002; 51: 367-384.
11. Miller RJ. Voltage sensitive calcium channels. *J Biol Chem* 1992; 267: 1403-1406.
12. Tsien RW, Ellinor PT, Horne WA. Molecular diversity dependent calcium channels. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 344-353.
13. Linas R, Sugimori M, Lin J-W, Cherksey B. Blocking and isolation of a calcium channel from neurons in mammals and cephalopods utilizing a toxin fraction (FTX) from fannel wed spider poison. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 1689-1693.

14. Fleckenstein A. Historical overview: The calcium channel of the heart. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 522: 1-15.
15. Caterall WA, Seagar MJ, Takahashi M, Nunoki K. Molecular properties of dihydropyridine-sensitive calcium channels. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 560: 1-14.
16. Kaplan NM. JNC-VI Guidelines. *Lancet* 1998; 351: 288.
17. Alderman MH, Cohen H, Roque R, Madhavan S. Effect of long-acting and short-acting calcium antagonist on cardiovascular outcomes in hypertensive patients. *Lancet* 1997; 349: 594-598.
18. Berjukow S, Gapp F, Aczel S, Sinnegger MJ, Mitterdorfer J, Glossmann H, and Hering S. Sequence differences between α_1c and α_1s Ca_2+ channel subunits reveal structural determinants of a guarded and modulated benzothiazepine receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 6154-6160.
19. Bodi I, Koch SE, Yamaguchi H, Szigeti GP, Schwartz A, and Varadi G. The role of region IVS5 of the human cardiac calcium channel in establishing inactivated channel conformation: use-dependent block by benzothiazepines. *J Biol Chem* 2002; 277: 20651-20659.
20. Hering S, Savchenko A, Strubing C, Lakitsch M, and Striessnig J. Extracellular localization of the benzothiazepine binding domain of L-type Ca_2+ channels. *Mol Pharmacol* 1993; 43: 820-826.
21. Numura F, Parra J, Munayco F. Mejoría de la función diastólica y regresión de la HVI: Terapia a corto plazo de la HTA con isradipino. *Acta Médica Peruana* 1993; 17: 18-26.
22. Braunwald E: Mechanism of action of calcium channel blocking agents. *N. Eng. J. Med* 1983; 307:1618-27.
23. agents. *N. Eng. J. Med* 1983; 307:1618-27.
24. Llaque W, Olaya G, Reyes O, Paz C, Guerrero L, Utano L, Campos J, Arteaga L. Manual de Prácticas de Fisiología Humana. Trujillo: Facultad de Ciencias Médicas-Universidad Nacional de Trujillo; 1993.
25. Braunwald E, Zipes D, Libby P, en Braunwald's *Cardiologia* ed.6th 2004. Marban, SL p 1207
26. Frishman WH. Cavusoglu E, Zonszein J: Magnesium, Potassium and calcium as potential cardiovascular diseases therapies. In: Frishman W, Sonnenblick E: *Cardiovascular Pharmacotherapeutics*, third edition, New York. Mc Graw Hill. 2003, pp 223-236.
27. Packer M, Cohn J: Consensus Recommendations for the Management of Chronic Heart Failure *Am. J. Cardiol* 2004; 83 (2^a): 1-38.
28. Coodley E: Newer Drug Therapy for Congestive Heart Failure. *Arch Intern Med* 2003; 159: 1177-1183.
29. Packer M, O'Connor CM, Ghali JK: Effects of amlodipine on morbidity and mortality in severe chronic heart failure. *N. Engl. J. Med* 2003; 335: 1107-1114.
30. Packer M: Calcium Channel Blockers in Chronic Heart Failure. The Risk of Physiologically Rational Therapy. *Circulation* 2002; 82:2254-2257.
31. Packer M: Pathophysiological Mechanisms Underlying the Adverse Effects of Calcium Channel-blocking drugs in patients with Chronic Heart Failure *Circulation*. 2002; 80 (suppl IV): IV-57.
32. Serra H, Paganini R, Senkel E, Marino N: Evaluación del diltiazem de liberación prolongada como antihipertensivo. *Rev Med Uruguay* 1996; 12: 189- 195