



UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE MEDICINA

**"PAPEL DE LA DISFUNCION ENDOTELIAL EN LA
RESPUESTA A LA COCAINA DEL FLUJO CORONARIO
Y LA CONTRACTILIDAD MIOCARDICA"**

Gaspar Melis Riera

2003

UNIVERSITAT DE BARCELONA

TESIS DOCTORAL

**PAPEL DE LA DISFUNCION ENDOTELIAL EN LA
RESPUESTA A LA COCAINA DEL FLUJO CORONARIO
Y LA CONTRACTILIDAD MIOCARDICA.**

DOCTORANDO: Gaspar Melis Riera

DIRECTOR: Ginés Sanz Romero

CODIRECTORA: Eulàlia Roig Minguell

**A mon pare, ma mare i
la meva germana**

Vull donar les gràcies a totes les persones que han fet possible que aquesta tesi surti endavant:

En primer lloc i molt especialment, a en Ginés Sanz per haver-me donat la seva confiança i l'oportunitat de participar en aquest projecte de investigació que tot just va començar durant la meva residència en el servei de Cardiologia de l'Hospital Clínic.

A n'Eulàlia Roig i a na Magda Heras per la seva responsabilitat en l'elaboració i realització d'aquest projecte de investigació. Vull expressar el meu agraïment especial a n'Eulàlia, pels seus consells i per tot el temps que ha hagut de dedicar en la correcció i redacció final d'aquest manuscrit.

A tota la resta de membres del grup de Cardiologia experimental de l'Hospital Clínic, en especial a na Montse Rigol i a na Núria Solanes, per la seva tasca i responsabilitat en la realització del treball experimental.

A tots els membres del servei de Cardiologia de l'Hospital Clínic, de tots ells vaig tenir la sort de poder aprendre i formar-me en la meva professió i alhora establir uns llaços d'amistat que m'acompanyaran sempre.

Als meus companys del servei de Cardiologia de l'Hospital de Son Dureta per la seva ajuda i amistat. A n'Armando Bethencourt, cap de servei que sempre m'ha animat en la consecució de la tesi.

A la meva família, que sempre m'ha recolzat.

INDICE

1. INTRODUCCION	1
1.1. Interés y actualidad del tema	3
1.2. Historia del consumo de cocaína.	4
1.3. Clases de cocaína.	6
1.4. Farmacología de la cocaína.	8
1.4.1. Farmacocinética.	8
1.4.2. Mecanismo de acción sobre el sistema cardiovascular.	10
1.5. Efectos de una dosis aguda de cocaína en el animal de experimentación.	16
1.5.1. Efectos sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca.	16
1.5.2. Efectos sobre la función ventricular.	18
1.5.3. Efectos sobre las arterias coronarias y el flujo coronario.	22
1.5.4. Mecanismos de la depresión de la función contráctil.	24
1.5.5. Resumen de los efectos cardiovasculares de la cocaína.	26
1.6. Efectos de una dosis aguda de cocaína en estudios controlados en el hombre.	27
1.6.1. Efectos sobre la presión arterial, la frecuencia cardíaca y el flujo coronario.	27
1.6.2. Efectos sobre la función ventricular.	29
1.7. Regulación endotelial del flujo coronario. Óxido Nítrico.	32
1.7.1. Síntesis de óxido nítrico.	32
1.7.2. Mecanismo de acción del óxido nítrico.	35
1.7.3. Agonistas del sistema del óxido nítrico.	38
1.7.4. Antagonistas del sistema óxido nítrico.	39
1.7.5. Papel del óxido nítrico en la regulación de la función miocárdica.	41
1.7.6. Acción del óxido nítrico en la circulación coronaria.	43

1.8. Disfunción endotelial y cocaína.	48
2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	53
2.1. Hipótesis de trabajo.	55
2.2. Objetivo general.	55
2.3. Objetivos concretos.	56
3. MATERIAL Y METODOS	57
3.1. Preparación del animal.	59
3.2. Protocolo quirúrgico.	59
3.3. Parámetros analizados.	65
3.3.1. Parámetros hemodinámicos.	65
3.3.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.	65
3.3.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.	66
3.3.4. Parámetros adicionales de función ventricular.	66
3.4. Diseño experimental. Grupos de estudio.	68
3.4.1. Grupo control. Administración de suero fisiológico.	68
3.4.2. Grupo de intervención 1. Administración de cocaína.	69
3.4.3. Grupo de intervención 2. Administración de L-NAME y cocaína.	70
3.4.4. Grupo de intervención 3. Estenosis mecánica coronaria y cocaína.	71
3.4.5. Grupo de intervención 4. Administración de L-Arginina+L-NAME y cocaína.	72

3.4.6. Grupo de intervención 5. Administración de Nitroglicerina + L-NAME y cocaína.	73
3.5. Determinación de la concentración plasmática de cocaína.	76
3.6. Lesión endotelial.	76
3.7. Fármacos.	77
3.8. Instalaciones, instrumentación y técnicas.	77
3.9. Análisis estadístico.	79
4. RESULTADOS	81
4.1. Grupo control. Administración de suero fisiológico.	83
4.1.1. Parámetros hemodinámicos.	83
4.1.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.	83
4.1.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.	84
4.2. Grupo de intervención 1. Administración de cocaína.	85
4.2.1. Parámetros hemodinámicos.	85
4.2.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.	85
4.2.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.	86
4.2.4. Parámetros adicionales de función ventricular.	87
4.3. Grupo de intervención 2. Administración de L-NAME y cocaína.	90
4.3.1. Parámetros hemodinámicos.	90
4.3.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.	91
4.3.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.	91
4.3.4. Parámetros adicionales de función ventricular.	92

4.4. Grupo de intervención 3. Estenosis mecánica coronaria y cocaína.	96
4.4.1. Parámetros hemodinámicos.	96
4.4.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.	97
4.4.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.	98
4.5. Grupo de intervención 4. Administración de L-Arginina + L-NAME y cocaína.	100
4.5.1. Parámetros hemodinámicos.	100
4.5.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.	101
4.5.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.	102
4.6. Grupo de intervención 5. Administración de Nitroglicerina + L-NAME y cocaína.	104
4.6.1. Parámetros hemodinámicos.	104
4.6.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.	105
4.6.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.	107
4.6.4. Parámetros adicionales de función ventricular.	108
4.7. Comparación entre grupos.	110
5. DISCUSION	115
6. CONCLUSIONES	135
7. BIBLIOGRAFIA	139

ABREVIATURAS

A	Adrenalina
NA	Noradrenalina
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
PKG	Protein quinasa G
ON	Oxido nítrico
ON-sintasa	Sintasa de óxido nítrico
NOSe	Sintasa de óxido nítrico endotelial
L-NAME	N^W-nitro-L-Arginina Metil Ester
L-NMMA	N^G-monometil-L-Arginina
NTG	Nitroglicerina
dP/dt	Primera derivada de la presión del ventrículo izquierdo
FA	Fracción de acortamiento de las fibras miocárdicas

1.INTRODUCCION

1.1. INTERES Y ACTUALIDAD DEL TEMA.

La cocaína (benzoil-metil-ecgonina, $C_{17}H_{21}NO_4$) es el alcaloide activo de la planta *Erythroxylum coca* originaria de Sudamérica. Debido a sus efectos euforizantes su uso como droga se ha extendido rápidamente habiendo alcanzado en las últimas décadas proporciones epidémicas en Estados Unidos y otros países occidentales. Aunque inicialmente se consideró inocua, se ha comprobado que tiene múltiples efectos cardiovasculares y puede provocar infarto agudo de miocardio, angina inestable, hipertensión, disección de aorta, miocarditis y miocardiopatía dilatada, arritmias y muerte súbita¹⁻⁸.

La cocaína es la droga ilícita más común entre los sujetos que solicitan asistencia en los servicios de urgencias y en los centros de tratamiento de drogodependencias de Estados Unidos. En este país, la cocaína es la causa más frecuente de comunicaciones de muertes relacionada con el consumo ilegal de drogas⁹ y en la ciudad de Nueva York, las complicaciones médicas asociadas al consumo de cocaína son la principal causa de muerte entre los adultos jóvenes¹⁰.

En nuestro país, como ocurre en el resto de países occidentales su consumo ha aumentado en la última década y son frecuentes las noticias en la prensa relacionadas con su tráfico ilegal, apresamiento de grandes cantidades de cocaína destinadas al consumo nacional y hacia países de nuestro entorno, y reportajes periodísticos, donde se alude al progresivo aumento de los problemas médicos relacionados con la cocaína.

2. HISTORIA DEL CONSUMO DE COCAINA.

La planta *Erythroxylum coca* (figuras 1.1 y 1.2) crece de forma natural en América del Sur¹¹. Los Indios de Sudamérica han masticado las hojas de coca desde hace 5.000 años. Durante el imperio Inca su consumo se extiende a todos los estratos sociales; usándose como forma de pago por el trabajo en el campo. Las hojas de coca proporcionaban una sensación de fuerza, combatían la fatiga y mitigaban el apetito. Albert Niemann identifica a la cocaína como la sustancia activa de las hojas de coca en la década de 1850, estudios experimentales en perros a finales del siglo XIX describen el efecto acelerador del ritmo cardíaco, y Carl Koller y William Halsted demostraron sus propiedades como anestésico local, sentando las bases de la anestesia por bloqueo nervioso en cirugía. En 1892 comenzó una investigación química de sustitutos sintéticos de la cocaína con el trabajo de Einhorn y sus colegas. Ello condujo en 1905 a la síntesis de la procaína.

A finales del siglo pasado comienza a extenderse su uso en Norteamérica y Europa, utilizándose en un principio como elemento medicinal, personalidades como Sigmund Freud propusieron su uso para tratamiento del asma, trastornos digestivos, adicción a morfínicos y también como estimulante y afrodisíaco. En aquellos años la cocaína era un ingrediente activo de numerosos vinos y jarabes tonificantes.



Figura 1.1. La cocaína un alcaloide contenido en grandes cantidades (0.6 a 1.8%) en las hojas de *Erythroxylum coca*, un arbusto que crece en las montañas de los Andes 1000 a 3000 metros por encima del nivel del mar.

La primera muerte asociada con el uso de cocaína se comunicó en 1890 y sucesivamente se describen casos de adicción y muerte por cocaína. En la década de 1900 se la considera una sustancia peligrosa y adictiva. Los problemas médicos asociados al uso de cocaína son infrecuentes hasta los años 70, cuando se extiende progresivamente, a pesar de su prohibición, su uso como sustancia estimulante. A mediados de los 80 se comunican casos de muerte en atletas asociados al uso de cocaína y se publican artículos en la literatura médica que relacionan a la cocaína con manifestaciones cardíacas⁴.

El consumo de cocaína con propósitos psicoestimulantes se ha incrementado de forma alarmante, The 1993 National Household Survey on Drug Abuse estimó que alrededor de 5 millones de norteamericanos usaron

cocaína en 1992¹², cerca de un millón son adictos y alrededor de 30 millones de americanos han probado alguna vez la cocaína³.

En España, al igual que ocurre en los países de Europa occidental, la década de los noventa ha traído una serie de transformaciones en las drogas consumidas y en los patrones de consumo. Así, mientras en los años 80 y primeros 90 la "droga" emblemática era la heroína, hoy existen claras evidencias sobre la estabilización, e incluso descenso, de su consumo. La década de los 90 viene marcada por la utilización de nuevas drogas (drogas de síntesis, éxtasis y similares, variantes de la anfetamina), y una expansión del consumo de cánnabis y cocaína, especialmente en la población juvenil y adolescente. El hecho más relevante con relación a la cocaína es el significativo aumento del número de personas con problemas por su consumo que han solicitado atención en los servicios sanitarios y sociales durante los dos últimos años¹³.

Aunque se han descrito complicaciones neurológicas, digestivas, renales, obstétricas y endocrinas por el consumo de cocaína, es sobre el sistema cardiovascular donde son más frecuentes los efectos nocivos derivados del consumo de cocaína^{14,15}.

1.4. CLASES DE COCAINA.

Clorhidrato de cocaína, se trata de una solución hidrosoluble de cocaína que se obtiene al disolver el extracto alcaloide de la planta *Erythroxylon coca*

en ácido hidrocloreídrico dando lugar a un polvo blanco cristalino^{16,17}. Este polvo se absorbe fácilmente a través de las membranas mucosas, siendo la aspiración intranasal la ruta más frecuente de administración; el polvo también se puede inyectar intravenoso. La cocaína es inactivada por el pH gástrico y se absorbe mal por la ruta gastrointestinal^{16,17}.

En la década de los 80 se hizo popular el hábito de fumar cocaína como base libre ("Crack"). La cocaína base se obtiene al mezclar polvo de cocaína (clorhidrato) con soda y agua que se calienta, la base alcaloide precipita formando una pasta que se endurece, a diferencia del clorhidrato de cocaína, es más estable al calor y permite ser fumada, produciéndose su absorción a través de la mucosa nasal (inhalación). El termino anglosajón "crack" procede de los chasquidos o crujidos producidos por los cristales de cocaína al calentarse.

La cocaína Freebase se obtiene al mezclar el polvo de cocaína con una base (Vz. Amoniac o soda) y un solvente (éter) con el fin de eliminar el ácido clorhídrico. La base alcaloide o "free base" se extrae del éter por evaporación. Igual que el crack, también se fuma.

El 90% del consumo de cocaína se realiza por inhalación o aspiración a través de la mucosa nasal. Un tercio de los consumidores de cocaína ha fumado crack; menos de un 10% ha utilizado la vía intravenosa. La cocaína se absorbe rápidamente a través del tracto respiratorio, tanto el crack como la freebase fumada se convierten inmediatamente en cocaína en la circulación sanguínea.

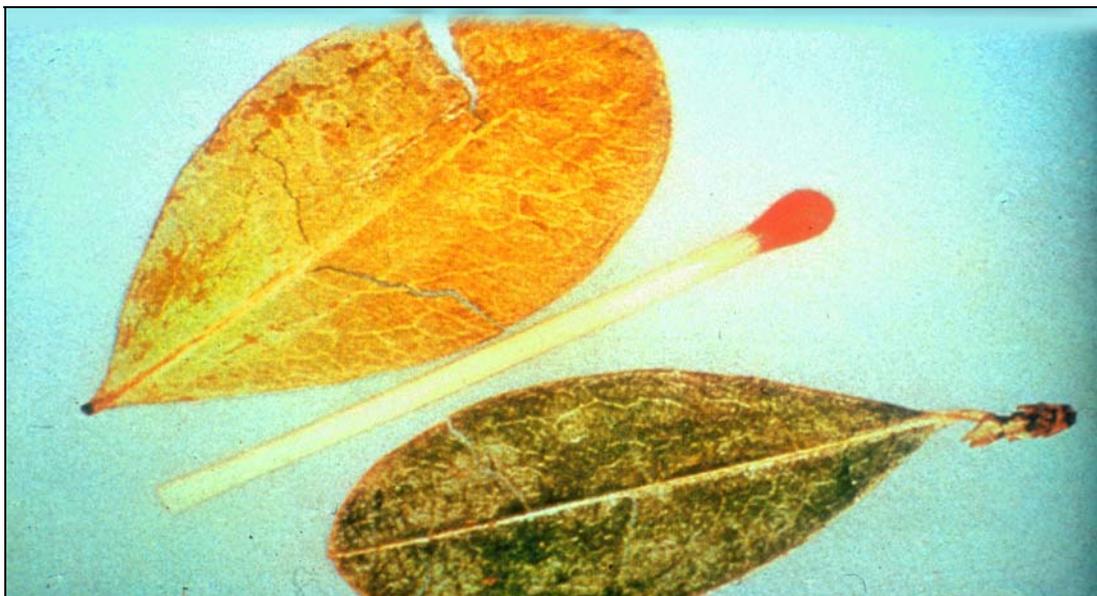


Figura 1.2. Hojas de coca. Grandes cantidades de estas hojas son consumidas anualmente por los habitantes de las tierras altas de Perú y Bolivia, que mastican o chupan las hojas tratadas con la ceniza de la planta por la sensación de bienestar que produce. La ceniza de la planta es alcalina y por ello libera el alcaloide de forma que puede ser absorbido a través de la mucosa oral.

1.4. FARMACOLOGIA DE LA COCAINA.

1.4.1. Farmacocinética.

La farmacocinética¹⁸ de la cocaína depende de la ruta de administración. En la Tabla 1 observamos que en las tres vías de administración utilizadas (intravenosa, intranasal, o por inhalación), la cocaína se absorbe rápidamente y en pocos minutos alcanza su pico máximo de efecto. La cocaína penetra en el cerebro en 6-10 segundos a través de la ruta respiratoria (inhalada) y en 10-15 segundos cuando se

administra intravenosamente. Alcanza el efecto pico a los 3 min. aproximadamente, y sus efectos perduran durante unos 30 min. El inicio de los efectos después de la administración intranasal de cocaína ocurre alrededor de los 5 min., con un efecto pico a los 15-30 min., y una duración de 1-1.5 horas.

Tabla 1. Farmacocinética de la cocaína respecto a la ruta de administración¹⁸

Ruta	Inicio de la acción, seg	Pico, min	Duración,min
Intravenosa	15	3-5	30-40
Intranasal	300	15-30	60-90
Inhalada (fumada)	10	1-3	15-30

La cocaína se metaboliza a benzoilecgonina y ecgonina metil éster mediante reacciones catalizadas en el plasma y el hígado por la enzima colinesterasa. Estos metabolitos son excretados en la orina. La benzoilecgonina, producida al perderse el grupo metilo, representa el metabolito urinario principal y se encuentra en la orina durante dos a cinco días después de su consumo.

La vida media en el plasma de la cocaína es de 40-90 minutos, la excreción urinaria de cocaína no modificada representa una pequeña cantidad del total eliminado (1%). En una determinación de tóxicos en orina, la cocaína es detectada principalmente a través de sus metabolitos, los cuales son

excretados durante varios días. El análisis del cabello es un método muy sensible que permite detectar su consumo en las semanas o meses previos¹⁹.

1.4.2. Mecanismo de acción sobre el sistema cardiovascular.

Los dos mecanismos básicos a través de los cuales la cocaína afecta al sistema cardiovascular son: un efecto directo, como anestésico local, y un efecto indirecto debido a la capacidad para potenciar la acción de las catecolaminas.

Como anestésico local, la cocaína tiene propiedades similares a los antiarrítmicos del grupo I, tales como la procainamida y la quinidina. Actúa sobre la membrana celular, donde inhibe la corriente de entrada rápida de sodio y potasio en la célula^{20,22}, lo que da lugar a un bloqueo en el inicio de los impulsos eléctricos, un enlentecimiento de la velocidad de conducción y prolongación del periodo refractario, todo lo cual se traduce en el ECG por una prolongación de los intervalos PR, QRS y QT²¹. Este efecto estabilizante de la membrana produciría un inotropismo negativo²²⁻²⁴ y un efecto proarrítmico²⁵⁻²⁷.

En segundo lugar al inhibir la recaptación de catecolaminas a nivel presináptico en el sistema nervioso central y en las terminaciones del sistema nervioso simpático periférico, determina una mayor disponibilidad de noradrenalina, y dopamina sobre los receptores postsinápticos^{28,29}, como resultado se produce un efecto simpaticomimético intenso.

Cocaína y sistema nervioso autónomo

El incremento de noradrenalina (NA) y adrenalina en plasma y los efectos simpaticomiméticos, observados tras la administración de cocaína en el hombre y en el animal de experimentación consciente, son el resultado en gran medida de la estimulación central y la liberación periférica de catecolaminas a través del sistema simpático-adrenal²⁹⁻³². Por otro lado, la inhibición de la recaptación de NA, al bloquear la entrada de NA en el interior de la neurona, amplifica su acción sobre los receptores postsinápticos, al aumentar la disponibilidad de este mediador químico (Figura 1.3).

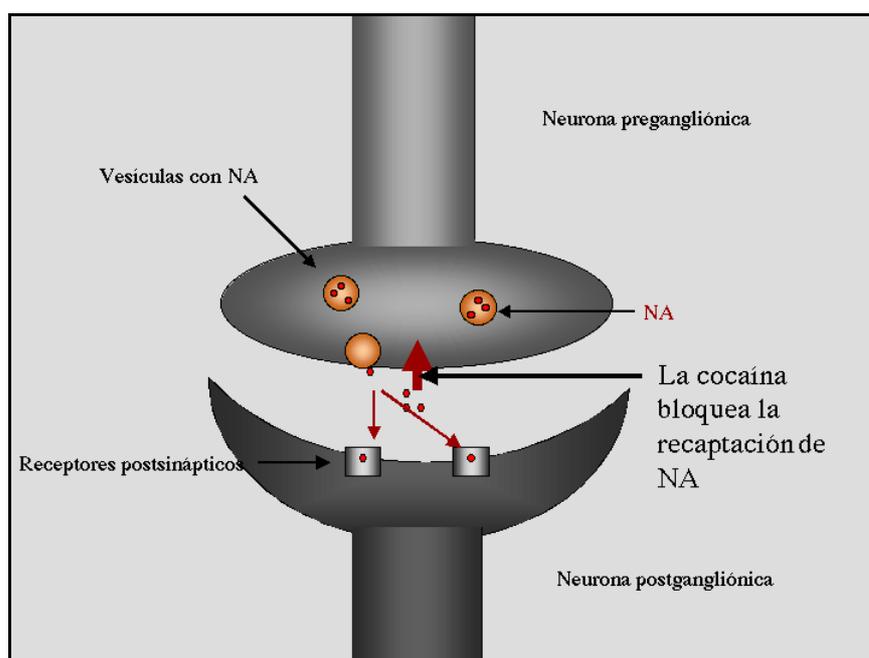


Figura 1.3. La cocaína inhibe la recaptación de NA y aumenta el tono simpático

La importancia de la estimulación central y de la integridad del sistema nervioso autónomo, en los efectos cardiovasculares de la cocaína, está

ampliamente documentada en la literatura. Wilkerson et al.²⁹ demuestran que la cocaína produce efectos cardiovasculares dosis-dependiente, los cuales solo se manifiestan de forma plena cuando su acción y la integridad del sistema nervioso central y periférico, no resulta alterada mediante la anestesia o el uso de antagonistas ganglionares. Lange et al.³³, al infundir cocaína directamente en la arteria coronaria, no observan cambios significativos en el tono vasomotor coronario, mientras que, al administrarla sistémica, aún a dosis pequeñas, se produce un aumento del tono vasomotor³⁴. Por otra parte, Chiueh et al.³¹ demostraron que la administración sistémica de cocaína, produce incrementos en plasma de noradrenalina y adrenalina dosis-dependiente, este efecto no se obtiene con la administración de antidepresivos que también inhiben la recaptación de catecolaminas a nivel de la sinápsis. Este aumento en los niveles plasmáticos de noradrenalina y adrenalina se reduce de forma muy significativa tras la denervación esplácnica bilateral, implicando una acción central.

No se conoce con exactitud, el mecanismo responsable, del efecto estimulador de la cocaína sobre el sistema nervioso simpático a nivel central. Varios mecanismos podrían estar implicados, como son sus efectos como anestésico local³⁵, la inhibición de la recaptación de dopamina y noradrenalina a nivel del tronco cerebral, el bloqueo de la recaptación de aminoácidos excitatorios y la estimulación de receptores N-metil-D-aspartato²⁹. Goldfrank y Hoffman³⁶ han propuesto un modelo muy útil para comprender la toxicidad de la cocaína, en la figura 1.4 se muestra como, la estimulación del sistema

nervioso central conduce a un aumento de la descarga neuronal, esto, unido al bloqueo de la recaptación de catecolaminas, conduce a una respuesta simpática exagerada. Esta respuesta simpática exagerada produce las manifestaciones periféricas de la toxicidad de la cocaína, incluyendo las complicaciones cardiovasculares, y por un mecanismo de retroalimentación produciría una posterior agitación mediada por la estimulación del sistema nervioso central (convulsiones e hipertermia).

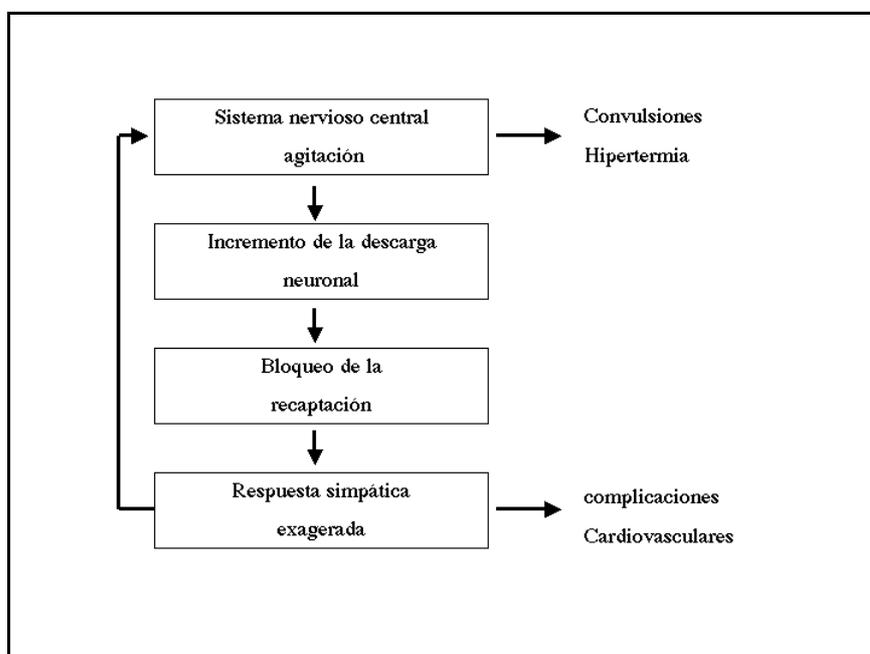


Figura 1.4. Modelo de toxicidad de la cocaína propuesto por Goldfrank y Hoffman.

La estimulación de los receptores β -adrenérgicos del miocardio determina un aumento de la frecuencia cardíaca y de la contractilidad, mientras que la estimulación de los receptores α -postsinápticos del músculo liso vascular, aumenta el flujo de calcio al interior de la célula y, por tanto, induce una vasoconstricción (Figura 1.5). Este hecho se ha demostrado mediante la medición de los niveles intracelulares de calcio en aortas aisladas expuestas a la droga y mediante la prevención de este efecto con la administración de un α -bloqueante, el prazosín³⁷. Esta vasoconstricción provoca un aumento de las resistencias periféricas totales y de la presión arterial sistólica y diastólica. A nivel de la circulación coronaria se produce una disminución del calibre de las arterias epicárdicas y un aumento de las resistencias coronarias, y en consecuencia un descenso del flujo coronario^{34,38,39}. Se ha demostrado que la cocaína además, estimula de forma directa, no mediada por el sistema adrenérgico, la entrada de calcio al interior de la célula^{37,40}.

Una tercera acción farmacológica de la cocaína sobre el sistema cardiovascular es la disminución del tono vagal, lo cual contribuye al aumento de la frecuencia cardíaca^{41,42} y a la vasoconstricción de las arterias coronarias⁴³. Se conocen varios mecanismos que pueden explicar la influencia de la cocaína en la actividad parasimpática, estos incluyen la evidencia que la cocaína es un antagonista competitivo de los receptores muscarínicos en el ratón y el efecto inhibitor de la cocaína de los baroreflejos arteriales, que indirectamente supondrían un efecto parasimpaticolítico.

La cocaína por tanto, puede producir un efecto cardiodepresor por su acción sobre los canales del sodio y potasio; y un efecto opuesto, estimulador de la contracción cardíaca debido a sus propiedades simpaticomiméticas. Acciones contrapuestas y que explicarían la complejidad de las acciones de la cocaína en el ser humano y en el animal de experimentación⁴⁴.

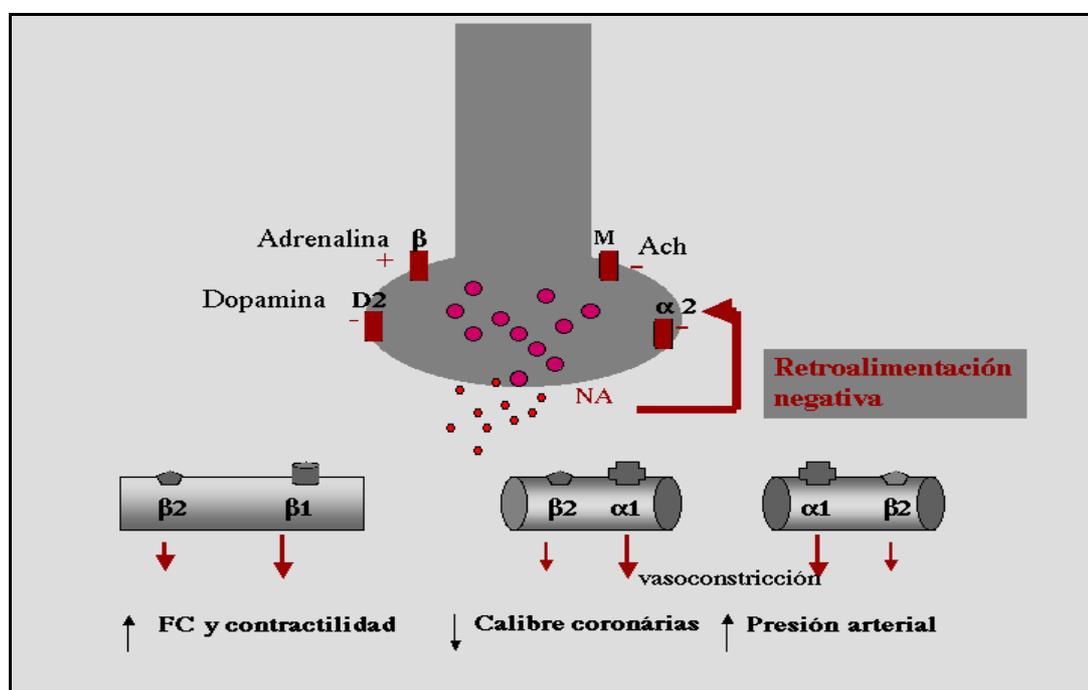


Figura1.5. Unión neuroefectora simpática. La NA liberada de las vesículas presinápticas, estimula los receptores del miocito y de las células musculares lisas de los vasos sistémicos y coronarios. La NA liberada autorregula su propia liberación.

1.5. EFECTOS DE UNA DOSIS AGUDA DE COCAÍNA EN EL ANIMAL DE EXPERIMENTACION

La cardiotoxicidad de la cocaína ha sido bien establecida en estudios experimentales llevados a cabo en animales y en el hombre, en los cuales la cocaína se administra de forma aguda y se analizan sus efectos sobre el sistema cardiovascular. A continuación vamos a revisar los efectos cardiovasculares de su administración aguda en el animal de experimentación.

1.5.1. Efectos sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca.

La respuesta del sistema cardiovascular a la administración de cocaína en el animal dependerá del modelo experimental utilizado, en primer lugar hemos de considerar si se administra a animales anestesiados con pentobarbital o bien en el animal consciente, y en segundo lugar la dosis utilizada y su velocidad de administración. La cocaína en el animal despierto produce un incremento de la presión arterial, de la frecuencia cardíaca y del doble producto (FC x PA)^{29,45,46} que es dosis-dependiente²⁹. La respuesta de la frecuencia cardíaca en general es considerablemente más variable que la respuesta de la presión arterial, probablemente como resultado de la estimulación de reflejos baroreceptores por el efecto presor de la cocaína y por el efecto vagal de la cocaína en el sistema nervioso central cuando se administra a dosis bajas^{29,47}. Al administrar la cocaína en el animal anestesiado

con pentobarbital este aumento de la presión arterial y frecuencia cardíaca, resulta abolido o amortiguado, e incluso puede registrarse una ligera reducción de estos parámetros^{23,29,38}. Wilkerson et al.²⁹ observaron que la cocaína causa una elevación de la presión arterial y la frecuencia cardíaca en el animal despierto, sin embargo este aumento se abolía al administrar las mismas dosis de cocaína a perros anestesiados con pentobarbital y mediante el bloqueo ganglionar farmacológico. Estos autores sugieren que en los efectos de la cocaína participa de manera importante el sistema nervioso central y que las acciones cardiovasculares se manifiestan de forma plena cuando la acción conjunta del sistema nervioso central y periférico no se ve alterada por la depresión central de la anestesia o por antagonistas autonómicos.

Hemos visto anteriormente que la cocaína actúa a nivel de la sinapsis del sistema nervioso simpático inhibiendo la recaptación de noradrenalina, se ha demostrado además, la existencia de un mecanismo de retroalimentación negativo, mediante el cual el exceso de NA en la unión neuroefectora a través de receptores alfa-2 presinápticos inhibe su propia liberación³⁰. Este mecanismo de retroalimentación negativo, limitaría la liberación periférica de NA. La existencia de una estimulación central, interrelacionada e integrada con el sistema nervioso simpático periférico³¹, nos ayuda a comprender las acciones complejas cardiovasculares de la cocaína, y que muchos de sus efectos se vean abolidos o amortiguados con determinadas intervenciones, como son la anestesia general o el bloqueo ganglionar farmacológico, la

denervación esplácnica bilateral o la administración de alfa-bloqueantes periféricos.

Los efectos de la cocaína dependerán además de la dosis y de su velocidad de administración. En general en los diferentes estudios experimentales, dosis altas de cocaína (8-10 mg/kg) en el animal de experimentación producen una mayor afectación hemodinámica, de la función ventricular y del flujo coronario.

1.5.2. Efectos sobre la función ventricular.

Se han publicado numerosos estudios investigando los efectos agudos de la cocaína en el corazón. En el perro anestesiado con pentobarbital Hale et al.³⁸ estudiaron los efectos de la administración endovenosa rápida de 10 mg/Kg de cocaína. Esta dosis da lugar a unos niveles plasmáticos similares a los hallados en el hombre al fumar crack, al inhalarla o con la administración endovenosa de la droga, en este estudio la cocaína deprimía de forma significativa la contractilidad del ventrículo izquierdo, con un descenso de la dP/dt y un aumento de la presión telediastólica del ventrículo izquierdo. Se producía también una dilatación significativa del ventrículo izquierdo, con aumento de las áreas telediastólica y telesistólica del ventrículo izquierdo obtenidas mediante ecocardiografía. En un estudio posterior²³, utilizando ventriculografía de contraste, el mismo grupo de investigadores observó una reducción significativa de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo

($53\pm 4\%$ a $36\pm 3\%$, $p < 0.002$) y un aumento del volumen telesistólico del ventrículo izquierdo. También observaron que la caída de la dP/dt obtenida tras la administración de cocaína precedía y era independiente de la modificación del flujo coronario. Estas observaciones sugieren que la cocaína tiene un efecto inotrope negativo directo sobre el corazón que es independiente del flujo coronario.

Otros autores⁴⁸⁻⁵¹ también han demostrado que la cocaína deprime la función contráctil del miocardio en el animal de experimentación. Bedotto et al.⁴⁹ en perros sedados, no anestesiados, observaron que la administración de cocaína (0.5 mg/kg/min durante 30 min.) producía un descenso de la fracción de eyección y del gasto cardíaco que podría estar relacionado, con un aumento de las resistencias periféricas (del 58%) y de la presión media de la aorta, aparte de un posible efecto inotrópico negativo directo de la cocaína. Estudios llevados a cabo por Abel et al.⁵⁰ también sugieren que la cocaína tiene un efecto directo inotrópico negativo en el perro anestesiado con pentobarbital. En este estudio la cocaína se suministraba en infusión continua a razón de 0.25 mg/kg/min durante 40-60 min. dependiendo del grado de depresión cardíaca obtenida, la cocaína en estos animales producía una depresión progresiva de la $+ dP/dt$ y el "time to peak" del ventrículo izquierdo. Resultados similares a los obtenidos por Fraker et al.⁵¹, estos autores al administrar cocaína (4 mg/kg ev.) en el perro consciente obtuvieron un aumento de la frecuencia cardíaca, presión arterial y del flujo coronario. En un segundo grupo de perros anestesiados con pentobarbital la presión arterial y frecuencia cardíaca no se

modificaban de forma significativa, mientras que el flujo coronario descendía de forma significativa. En ambos grupos de perros, anestesiados y no anestesiados, paralelamente se producía un descenso marcado de la fracción de eyección obtenida mediante ecocardiografía. Los autores concluyen que los efectos hemodinámicos difieren en el perro consciente respecto al anestesiado y que la cocaína causa una depresión directa severa transitoria de la función miocárdica, en ausencia de cambios significativos de los determinantes del consumo de oxígeno del miocardio.

En perros conscientes los efectos de la cocaína sobre la función contráctil del ventrículo izquierdo, difieren a los observados en modelos con el animal anestesiado. Stambler et al.⁴⁵ administraron una dosis baja de cocaína en perros conscientes, causando una reducción inicial y breve de la dP/dt , seguida de un aumento del 25% a los 15 minutos. Este incremento último se abolía con la administración de Beta-bloqueantes y con el bloqueo ganglionar. Estos autores concluyen que la administración aguda de cocaína (0.1-2 mg/kg) produce en el animal consciente una respuesta bifásica sobre la función ventricular con una depresión transitoria inicial, que va seguida de un aumento significativo de la contractilidad del ventrículo izquierdo. Hallazgos en consonancia con un efecto inicial de la cocaína como anestésico local o bloqueante de los canales del sodio (acción inotropa negativa) seguido de una estimulación simpática (acción inotropa positiva).

Estas discrepancias probablemente puedan ser reconciliadas si tenemos en consideración el hecho de que las manifestaciones cardiovasculares de la

cocaína dependen de la integridad del sistema nervioso autónomo. La utilización de un modelo experimental con animales anestesiados, en los cuales está amortiguado el sistema nervioso simpático, y dosis más altas de cocaína, produce invariablemente una depresión de la función ventricular^{23,38,50,51}.

El efecto depresor de la cocaína sobre la contractilidad del miocardio, se ha demostrado además en estudios "in vitro" en el laboratorio. Morcos et al.²⁴ experimentaron los efectos de la cocaína en una preparación aislada de músculo septal de conejo, la cocaína a diferentes concentraciones causó una reducción de la tensión desarrollada, velocidad máxima de contracción y velocidad máxima de relajación. La función ventricular se recuperaba completamente después del lavado de la cocaína. Los autores concluyen que la cocaína tiene un efecto agudo, directo, aunque reversible, depresor del miocardio e independiente del flujo. Simkhovich et al.⁵² hallaron resultados similares utilizando una preparación de corazón de conejo aislado. Estudios experimentales con cultivos de miocitos, han confirmado el efecto directo inotrópico negativo de la cocaína⁵³.

1.5.3. Efectos sobre el calibre de las arterias coronarias y flujo coronario.

La mayoría de estudios publicados^{23,28,50,51,54,55} en el animal de experimentación muestran una reducción del calibre de las arterias coronarias y del flujo coronario tras la administración aguda de cocaína.

En el estudio de Hale et al.³⁸ la administración de cocaína endovenosa (bolus 10 mg/kg) en una preparación de perro anestesiado con pentobarbital, producía una vasoconstricción coronaria difusa con una disminución del 15% (rango 2% al 29%) del diámetro arterial documentado mediante arteriografía de la arteria circunfleja y una reducción moderada del flujo coronario del miocardio de alrededor del 20%, medido utilizando microesferas marcadas con un isótopo radioactivo. Estos hallazgos están en consonancia con los publicados por Hayes et al.⁵⁴ con un modelo experimental similar, estos autores observaron una vasoconstricción de las arterias coronarias dosis-dependiente, con la máxima dosis de cocaína (9 mg/kg) se obtenía una reducción del 46% del área de sección de la arteria coronaria Descendente Anterior y una caída del flujo coronario del 20%. Los autores comentan que en arterias coronarias normales, sin lesiones ateroscleróticas, una reducción inferior al 60% de la luz del vaso no compromete el flujo coronario basal, sugiriendo que la reducción obtenida del flujo coronario del 20% estaría producida no sólo por una reducción del calibre de las arterias coronarias epicárdicas, sino que también se produciría una vasoconstricción de las

arterias de resistencia-reguladoras del flujo coronario. Estos autores comentan que el estudio demuestra un efecto vasoconstrictor potente de los vasos epicárdicos y un efecto menos intenso a nivel de los vasos de resistencia. Por otra parte, recuerdan que uno de los mecanismos de muerte relacionados con el consumo de cocaína, es el espasmo severo de los vasos epicárdicos que reduce el flujo coronario a niveles críticos (más del 70% de reducción) y que puede dar lugar a un infarto de miocardio, fibrilación ventricular y muerte súbita.

En un estudio utilizando cerdos anestesiados, a los cuales se administró dosis de 1-10 mg/kg de cocaína endovenosa, Egashira et al.⁵⁵ también obtuvieron una reducción del diámetro de las arterias coronarias (control 2.6 ± 0.1 vs 1.6 ± 0.3 mm tras 10 mg/kg de cocaína) y del flujo coronario dosis-dependiente (control 16 ± 2 vs 11 ± 3 cm/s tras 10 mg/kg de cocaína). Fracker et al.⁵¹ hallaron una caída en el flujo coronario de 104 ml/min a 85 ml/min en el perro sedado tras la administración de 4 mg/kg de cocaína e.v. El descenso del flujo coronario observado en el perro sedado es consistente con un descenso de la demanda de oxígeno asociada a la depresión de la función miocárdica. En el perro consciente, no sedado, la misma dosis producía un ligero aumento del flujo coronario, asociado a un aumento del doble producto (FC x PA) y por tanto de la demanda de oxígeno. Sin embargo las resistencias coronarias no disminuían como cabría esperar en respuesta al aumento del doble producto y consecuentemente del consumo de oxígeno. Este hecho sugiere, comentan los autores, que la cocaína causa una vasoconstricción coronaria directa que

interfiere con los mecanismos autorreguladores metabólicos del flujo coronario.

1.5.4. Mecanismos de la depresión de la función contráctil del miocardio.

La depresión de la función contráctil del ventrículo izquierdo observada tras la administración de cocaína, podría ser consecuencia de la vasoconstricción coronaria y descenso del flujo coronario, con la consecuente isquemia miocárdica, o bien a un efecto depresor directo de la cocaína sobre el músculo cardíaco. En el estudio realizado por Hale et al.²³ los autores sugieren que la cocaína actúa directamente sobre el miocardio. Estos autores hallaron que tras la administración de cocaína se producía en los primeros 30 segundos un incremento del $59\% \pm 14$ del flujo coronario medio basal y concomitantemente se producía una reducción del $23\% \pm 5$ de la dP/dt del ventrículo izquierdo, indicando que la cocaína causa una depresión directa de la función contráctil del miocardio independiente del descenso del flujo sanguíneo del miocardio.

Como mencionamos anteriormente, Fracker et al.⁵¹ tras la administración de 4 mg/kg de cocaína, obtenían un aumento significativo de la frecuencia cardíaca, de la presión arterial y del flujo coronario, y un descenso transitorio de la fracción de eyección en el animal consciente. En el animal sedado con pentobarbital la cocaína no alteró de forma significativa la

frecuencia cardíaca ni la presión arterial, mientras que se produjo un ligero descenso del flujo coronario, que no justificaba el descenso de la fracción de eyección observado. Los autores concluyen que la cocaína produce una depresión directa de la función del ventrículo izquierdo, tanto en el animal consciente y como en el sedado. Sugiriendo que la isquemia, resultado del desequilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno, no es el único responsable de la depresión miocárdica.

La cocaína tiene un efecto directo constrictor de la musculatura lisa vascular, produciendo vasoconstricción coronaria.^{57,58} En este sentido, en un modelo experimental con perro sedado Kuhn et al⁵⁶, observaron que la administración de cocaína redujo el diámetro de la arteria descendente anterior en un 19% y se incrementaron las resistencias coronarias en un 55%, al mismo tiempo que tenía lugar un aumento de la frecuencia cardíaca, de la presión arterial y del gasto cardíaco. El flujo coronario disminuyó mientras que los determinantes del consumo de oxígeno aumentaron.

Es importante reseñar que puede existir una interacción entre el efecto directo depresor de la contractilidad de la cocaína y su capacidad para producir vasoconstricción coronaria. La cocaína posee un efecto directo depresor de la función ventricular a los pocos segundos de su administración, mientras el flujo coronario inicialmente aumenta²³, pocos minutos después, se reduce el calibre de las arterias coronarias y el flujo coronario se reduce. Este descenso de la perfusión del miocardio puede contribuir al deterioro de la función ventricular. Reducciones ligeras del flujo coronario pueden alterar la

contractilidad del miocardio⁵⁹. A la inversa una caída de la función contráctil, a través de un fenómeno de autorregulación, tiende a reducir a su vez el flujo coronario.

Los efectos cardiotóxicos agudos de la cocaína son probablemente multifactoriales³, así pueden influir, por un lado el efecto inotrópico negativo directo sobre el músculo cardíaco, y por otro, la isquemia producida por el desequilibrio entre el aumento de la demanda de oxígeno (aumento de la FC y de la TA) y el descenso del flujo coronario.

1.5.5. Los efectos cardiovasculares de la cocaína en el animal de experimentación se pueden resumir en:

1. Aumento de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca en el animal consciente (efecto simpaticomimético).
2. Efectos variables sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca en el animal anestesiado.
3. Efecto directo inotrope negativo (efecto sobre los canales del sodio).
4. Efecto inotrope positivo indirecto en algunos estudios con animales conscientes (efecto simpaticomimético).
5. Reducción del calibre de las arterias coronarias y del flujo coronario
6. Prolongación de los intervalos PR, QRS, QT y QTc. Inducción de diferentes arritmias, fibrilación auricular, taquicardia y fibrilación ventricular, bloqueo auriculoventricular y asístole.

1.6. EFECTOS DE UNA DOSIS AGUDA DE COCAINA EN ESTUDIOS CONTROLADOS EN EL HOMBRE.

1.6.1. Efectos sobre la presión arterial, la frecuencia cardíaca y el flujo coronario.

Numerosos estudios han demostrado que la administración aguda de cocaína en el hombre consciente, produce un aumento de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial⁶⁰⁻⁶³. Fischman et al.⁶² demostraron que la cocaína causa un aumento dosis dependiente de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial. Mientras que una dosis de 4 mg no presentaba ningún efecto, dosis de 8 a 32 mg causaban progresivamente un mayor incremento de la frecuencia cardíaca, que se iniciaba de 2 a 5 minutos después de la inyección y alcanzaba su máximo efecto a los 10 minutos después de administrada la dosis. Dosis de 4 a 8 mg no aumentaban la presión arterial, mientras que dosis de 16 mg y 32 mg la aumentaban, con un pico máximo a los 10 minutos después de la administración. A los 46 minutos después de la administración de la cocaína, la frecuencia cardíaca y la presión arterial retornaban a su valor basal.

Para estudiar los efectos agudos de la cocaína en el hombre, se ha administrado dosis bajas de cocaína intranasal (2 mg/kg) a pacientes en el laboratorio de cateterismo cardíaco^{34,64}. En un estudio, Lange et al.³⁴, observaron un aumento de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial, junto

a una reducción difusa del calibre de las arterias coronarias (del 8-12% comparado con el basal), un aumento del 33% de las resistencias coronarias, y una reducción del 17% del flujo sanguíneo en el seno coronario. La vasoconstricción coronaria revertía con la administración de un α -bloqueante, sugiriendo que la estimulación de los receptores α -adrenérgicos por parte de la cocaína desempeña un papel crucial en la vasoconstricción coronaria inducida por la cocaína. En este estudio se documenta que en el hombre consciente, como ocurre en el animal de experimentación, la cocaína aumenta los determinantes de la demanda de oxígeno, con un aumento del doble producto, al mismo tiempo que provoca un descenso del flujo coronario. Aunque el descenso del flujo coronario era modesto, los autores comentan que es muy probable que con dosis más altas, como son las utilizadas por los consumidores de cocaína, el desequilibrio entre la demanda y la oferta de oxígeno sea aún mayor. Los mismos autores en un estudio posterior demostraron que β -bloqueantes como el propanolol pueden exacerbar la vasoconstricción de la cocaína en la circulación coronaria, presumiblemente debido al bloqueo de los β -receptores⁶⁴. Por otro lado, Flores et al.⁶⁵ observaron que la magnitud de la vasoconstricción en las arterias coronarias, tras la administración de cocaína intranasal (2 mg/kg), era mayor en los segmentos afectados de una estenosis por un proceso de aterosclerosis (29%) que en los segmentos no enfermos (13%). La nitroglicerina revierte la vasoconstricción inducida por la cocaína⁶⁶.

En resumen, en los estudios controlados en humanos que reciben una dosis bajas de cocaína intranasal, la cocaína produce un aumento de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial, al mismo tiempo que causa una vasoconstricción en la circulación coronaria. De esta manera, puede ocurrir un desequilibrio entre la oferta y demanda de oxígeno y dar lugar a isquemia, especialmente cuando se usan dosis mayores.

1.6.2. Efectos sobre la función ventricular.

Al estudiar los efectos de la cocaína en el miocardio fetal de ventrículo izquierdo Richards et al.⁶⁷ observaron que la cocaína reducía la amplitud del potencial de acción, deprimía la fuerza de contracción del ventrículo izquierdo, y finalmente, a los 90 minutos de exposición, producía una parada eléctrica y mecánica, sugiriendo que la cocaína tiene un efecto directo cardiodepresor sobre el músculo cardíaco del hombre.

En el hombre, Pitts et al.⁶⁸ estudiaron los efectos agudos de la administración de una dosis alta de cocaína intracoronaria (1 mg/min, dosis total 15 mg) en 20 pacientes a los que se realizó un cateterismo cardíaco. La concentración alcanzada de cocaína en el seno coronario ($3 \text{ mg} \pm 0.4 \text{ mg/L}$) era similar a la reportada en estudios experimentales^{49,51} y en individuos fallecidos por una intoxicación por cocaína⁶⁹. Los resultados obtenidos, fueron similares a los obtenidos en el animal de experimentación, la cocaína ejerce un efecto deletéreo sobre la función ventricular, reflejado por un aumento de volumen

telesistólico y de la presión telediastólica del ventrículo izquierdo, junto a una disminución de la fracción de eyección.

La administración aguda de cocaína tiene efectos dramáticos sobre el sistema cardiovascular, estos efectos son complejos y a menudo como se muestra en la figura 1.6 se contraponen. La cocaína deprime agudamente la contractilidad del miocardio a través de su efecto directo como anestésico local, por otro lado al bloquear la recaptación de catecolaminas, aumenta su biodisponibilidad en la unión postsináptica conduciendo a un efecto simpaticomimético, que puede contrarrestar el efecto inotrope negativo. Por otra parte, produce una vasoconstricción coronaria que puede causar isquemia miocárdica y contribuir al deterioro de la contractilidad del miocardio; mas aún si consideramos que el estímulo adrenérgico produce un aumento de la frecuencia cardíaca, contractilidad y presión arterial, determinantes principales del consumo de oxígeno del miocardio. Todo ello conlleva que pueda producirse una alteración del equilibrio entre la demanda y el aporte de oxígeno, en definitiva isquemia miocárdica.

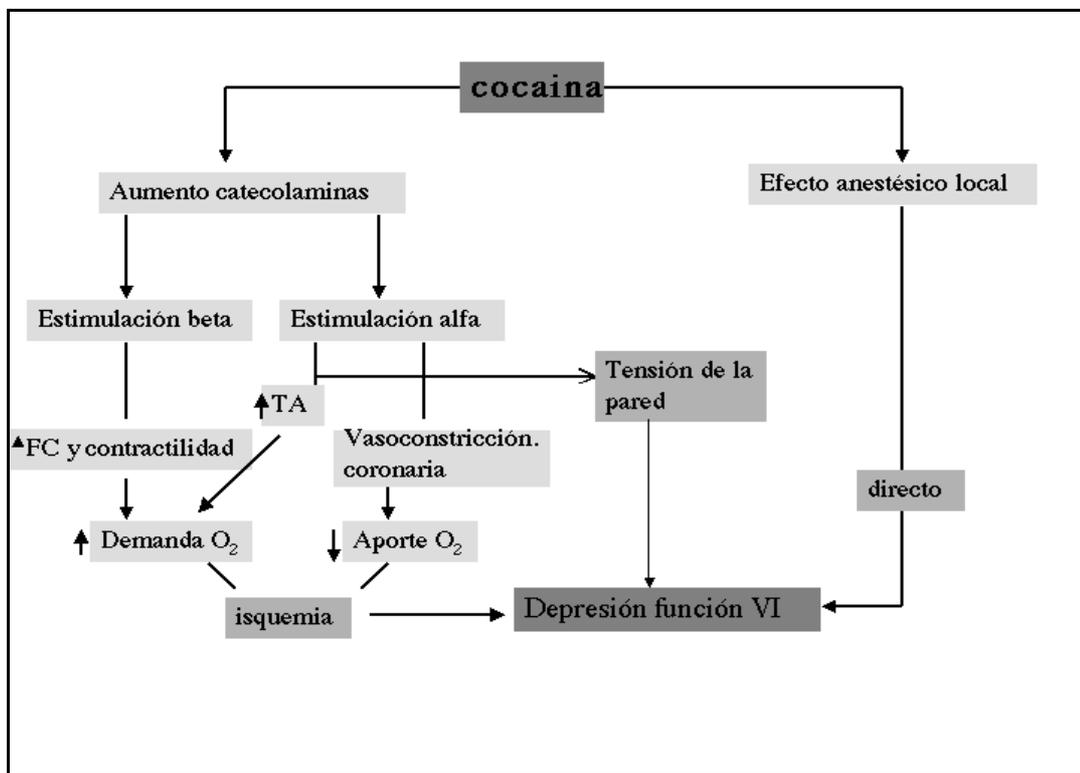


Figura 1.6. Esquema que describe los mecanismos potenciales de los efectos cardiotóxicos de la cocaína .

Modificado de Klonner et al. Circulation 1992;85.pag 416.

1.7. REGULACIÓN ENDOTELIAL DEL FLUJO CORONARIO. ÓXIDO NÍTRICO

1.7.1. Síntesis de óxido nítrico.

En 1980 Furchgot y Zawadzki⁷⁰, descubrieron la función vasodilatadora del endotelio. Al contraer un anillo de aorta con noradrenalina, si el endotelio estaba intacto, la acetilcolina producía una relajación del anillo que era dosis-dependiente, mientras que si el endotelio estaba dañado, la acetilcolina acentuaba la contracción. Estos autores demostraron que, para que se produjera una respuesta vasodilatadora, era necesario la presencia de endotelio intacto e indirectamente de una sustancia liberada por el endotelio, que llamaron endothelium-derived relaxing factor (EDRF).

En 1987 de forma independiente Palmer y Moncada⁷¹ y el grupo de Ignarro⁷², demostraron que el EDRF y el ON eran la misma molécula, producida por el endotelio a partir del aminoácido arginina. Poco después se identificaron las diversas enzimas capaces de producir ON en varios tejidos, como el sistema nervioso central, los macrófagos, y el endotelio.

Síntesis de óxido nítrico

El óxido nítrico es un radical libre inorgánico en estado de gas, de fórmula $N=O$, que se genera mediante el paso metabólico de L-arginina a L-citrulina. Se produce una oxidación del grupo guanidina de la L-arginina⁷³. La

arginina pasa por un estado de transición oxidado: La NO hidroxil-L-Arginina que conduce a la formación de óxido nítrico y citrulina. La reacción está catalizada por una enzima llamada NO sintasa (NOS).

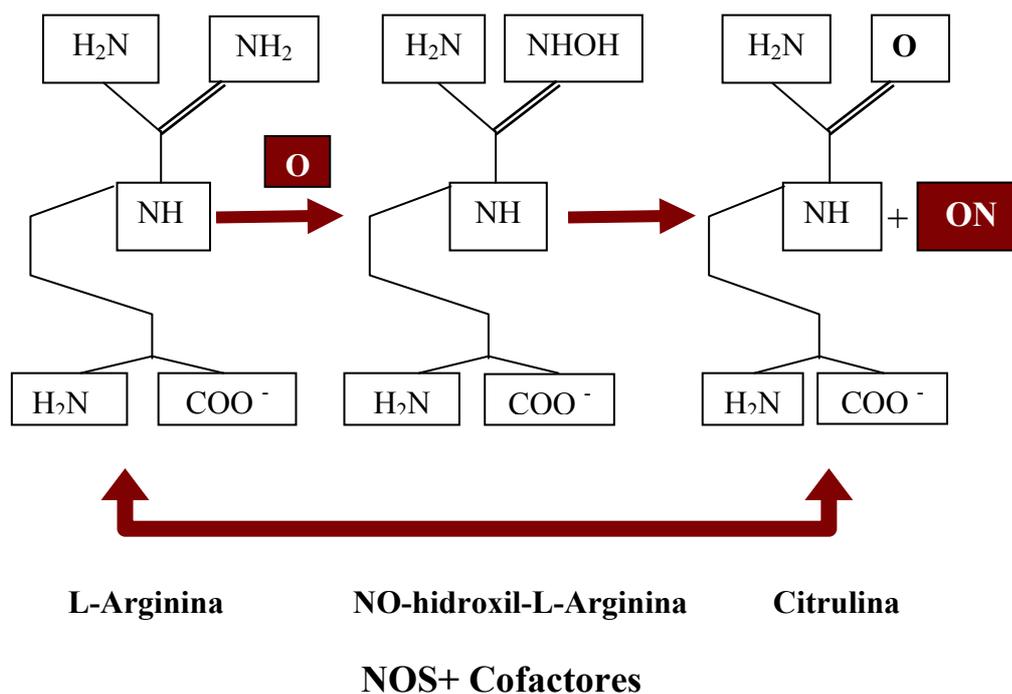


Figura 1.7. Producción de ON a partir de arginina. Esta reacción requiere oxígeno, tetrahydro-biopterina (H₄B), FAD, FAM, NADPH como cofactores y produce citrulina un bioproducto que puede ser reciclado a L-arginina. La actividad del enzima NOS esta regulada por el calcio y la calmodulina.

Inicialmente se describieron tres isoformas de NO sintasa, una para cada uno de los tres lugares principales de producción de ON: La NOS neuronal (NOS1), la NOS inducible en los macrófagos (NOS2) y la NOS endotelial (NOS3 o NOSe). La NOS neuronal y endotelial son constitutivas y su actividad depende de la cantidad de calcio-calmodulina existente en la célula. La NOS macrofágica es inducible; los macrófagos quiescentes no

contienen la enzima, pero su activación va acompañada de la producción de grandes cantidades de ON.

Regulación de la actividad de la NOSe

Las isoformas neuronal y endotelial poseen la propiedad de aumentar su actividad en respuesta a agonistas fisiológicos o bioquímicos que aumentan la concentración de calcio intracelular. En la membrana plasmática de las células endoteliales existen unas invaginaciones llamadas caveolas. En estas invaginaciones existe una proteína llamada caveolina. Al interaccionar la NOSe con la caveolina se inactiva la NOSe⁷⁴. Cuando un agonista activa al endotelio, como es el caso de la acetilcolina, el calcio libre citosólico aumenta. El calcio y la calmodulina se unen entonces a la NOSe separándola de la caveolina y de esta forma la NOSe se activa y genera ON.

Aunque la definición inicial de la isoforma NOS endotelial (NOSe) fue la de NOS constitutiva, al observarse su presencia de forma constitutiva en las células endoteliales, actualmente se empiezan a conocer mecanismos complejos que regulan los niveles de expresión de esta enzima. En este sentido, los estrógenos, el ejercicio físico y la fuerza de rozamiento de la sangre sobre el endotelio (shear stress) aumentan los niveles de expresión de esta isoforma de NOS⁷⁵. Por otro lado, algunas citoquinas como el factor de necrosis tumoral- α y la interleucina-1 β disminuyen los niveles de expresión de la NOSe⁷⁶.

1.7.2. Mecanismo de acción del óxido nítrico.

El óxido nítrico es un radical gaseoso simple que establece fácilmente enlaces covalentes con diversas moléculas diana. Es soluble tanto en el agua como en los lípidos, lo que le permite difundir de una célula a otra.

La diana principal del ON en el aparato vascular es el grupo hemo de la guanilato ciclasa soluble⁷⁷. La unión al átomo de hierro en el hemo de la guanilato ciclasa, provoca un cambio de conformación en la enzima, dando lugar a la producción de GMP cíclico a partir del GTP. Debido a que el metabolismo intracelular del GMPc depende de las fosfodiesterasas, los inhibidores de la fosfodiesterasa potencian algunas de las acciones del ON.

El GMPc activa a la proteína-quinasa G (PKG) de las células musculares lisas, que a su vez fosforila a una proteína denominada fosfolamban, que es la principal reguladora de la bomba de calcio. La fosforilación de los fosfolambanos, por parte de la PKG, activa la Ca-ATPasa del retículo sarcoplásmico, que aumenta la salida activa de calcio a partir del citosol, lo que reduce la concentración del ión Ca^{++} y su disponibilidad para las proteínas contráctiles, produciéndose la relajación de la célula muscular lisa (Figura 1.8).

Los radicales libres del O_2 , y en especial el anión superóxido (O_2^-), catabolizan el ON formando un nuevo radical libre llamado peroxinitrito (ONOO^-). De esta forma los radicales libres neutralizan la acción del ON.

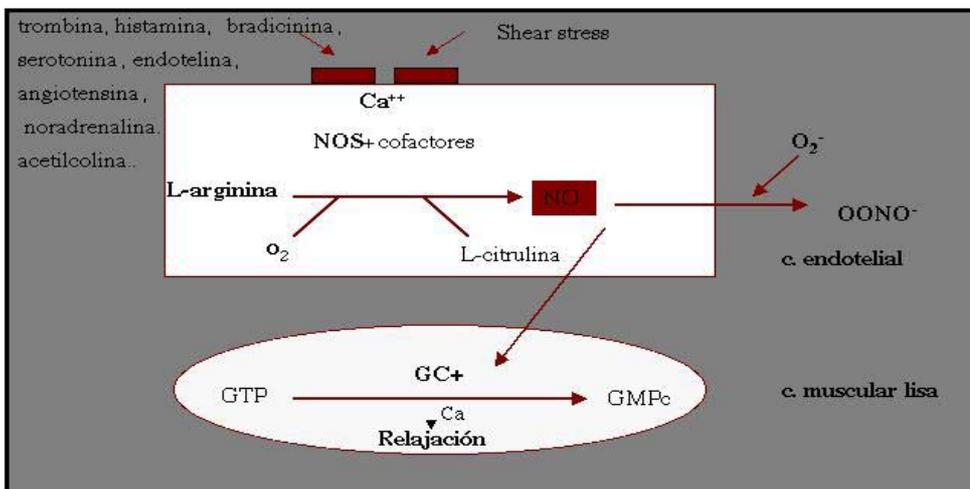


Figura 1.8. Síntesis de ON y su acción sobre la molécula diana, la enzima guanilato ciclasa, da lugar a la producción del segundo mensajero, el GMPcíclico, el cual reduce el calcio citoplasmático produciendo una relajación de la célula muscular lisa.

En el sistema vascular el ON producido por la NO sintasa en las células del endotelio microvascular es el principal determinante del tono vascular basal⁷⁸. El ON modula además, la acción constrictora en la célula muscular lisa de las principales sustancias vasoconstrictoras (Figura 1.9).

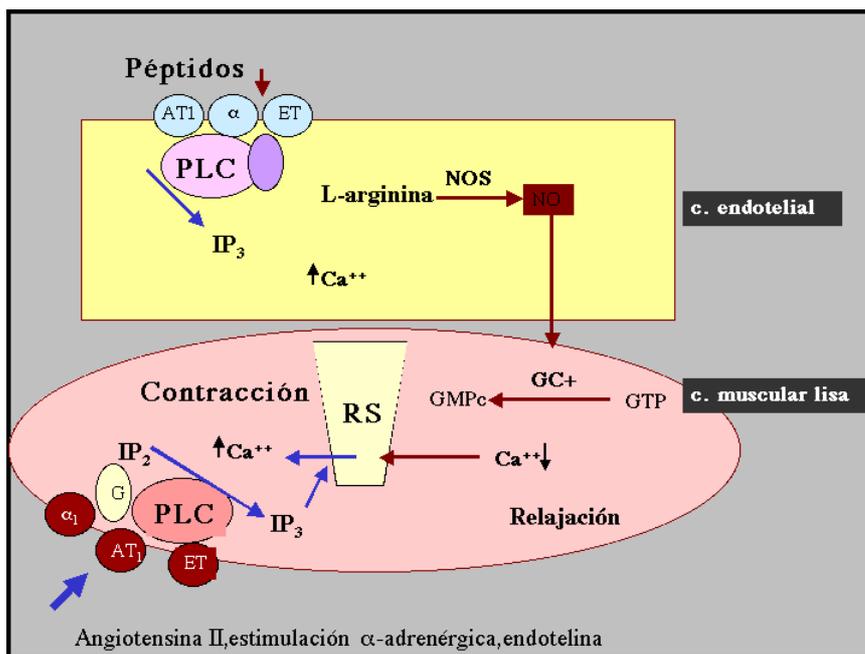


Figura 1.9. Modulación de la vía de la vasoconstricción por el ON. La estimulación de receptores del sarcolema de la célula muscular lisa, a través de la vía de la fosfolipasa C (PLC), conduce a la síntesis de inositol trifosfato (IP₃) y al aumento del calcio intracelular, dando lugar a vasoconstricción. La estimulación de estos receptores a nivel de la célula endotelial, a través de la misma vía de la PLC-IP₃ y el aumento del Ca estimula la formación de ON, que difunde hacia la célula muscular lisa, atenuando la vasoconstricción.

1.7.3. Agonistas del sistema del óxido nítrico.

Existen dos tipos principales de agonistas, los que liberan directamente ON y los que aumentan la secreción de ON a través del endotelio.

a) Agonistas directos del ON.

Los derivados nitrogenados son moléculas que tienen un átomo de nitrógeno unido a uno o varios átomos de oxígeno. Entre los derivados nitrogenados se encuentran la nitroglicerina, el nitroprusiato sódico, el dinitrato de isosorbide y el nitrato de amilo. Todos los derivados nitrogenados permiten la liberación de ON de forma independiente de la acción de la NO sintetasa, se comportan, pues, como donantes de ON.

b) Moléculas que estimulan la liberación de ON

Como hemos señalado, en presencia de endotelio sano la acetilcolina actúa como vasodilatador a través de los receptores muscarínicos. Por el contrario, sin endotelio, actúa a través de los receptores muscarínicos musculares para provocar directamente la contracción de las células musculares lisas. Esta respuesta vasoconstrictora no se limita a la acetilcolina, ya que la mayoría de los péptidos y aminas vasoactivos tienen un efecto similar.

Diversas sustancias promueven la secreción de ON por el endotelio: productos de la trombosis (trombina), la agregación plaquetar (ADP, serotonina), vasodilatadores relativamente "puros" (la acetilcolina, la adenosina, la histamina, la sustancia P), péptidos vasoconstrictores (agonistas-

α , la angiotensina II, la endotelina), y un aumento de las fuerzas de cizallamiento (shear stress) resultado del aumento del flujo coronario; este último mecanismo es el responsable del denominado vasodilatación mediada por el flujo en la circulación coronaria⁷⁹.

1.7.4. Antagonistas del sistema del óxido nítrico.

Existen dos tipos de compuestos, los que bloquean la producción de ON por parte de las sintetasas del ON y los que inactivan al ON propiamente dicho.

a) Derivados de la arginina.

El grupo de Moncada fue el primero en utilizar un análogo de la arginina con un grupo amino-guanidina modificado, que actúa de forma competitiva, como antagonista de la producción de ON. Este primer antagonista competitivo de la L-arginina era la N^G-monometil-L-Arginina (L-NMMA). Otra molécula similar es la N^W-nitro-L-Arginina metil éster (L-NAME). Estos antagonistas son potentes vasoconstrictores *in vitro*. *In vivo* producen vasoconstricción de los lechos vasculares en los animales de experimentación y en el hombre.

b) Antagonistas del ON.

El ON es un radical que establece enlaces covalentes con sus receptores. Las proteínas que poseen un grupo hemo compiten con la guanilato ciclasa. El ON liberado por el endotelio se une a la hemoglobina extracelular y

no puede activar la guanilato ciclasa en el interior de la célula muscular lisa. La vida media del ON es muy corta, limitada por su interacción con otros radicales libres en los tejidos, principalmente el anión superóxido, y por el paso a los hematíes para reaccionar con la oxihemoglobina⁸⁰.

Los transportadores sintéticos de oxígeno simulan los efectos de la hemoglobina. El azul de metileno se une al Fe del grupo hemo, inhibiendo el enlace del NO con la guanilato ciclasa y con la hemoglobina. Estos antagonistas suelen utilizarse in vitro en estudios farmacológicos.

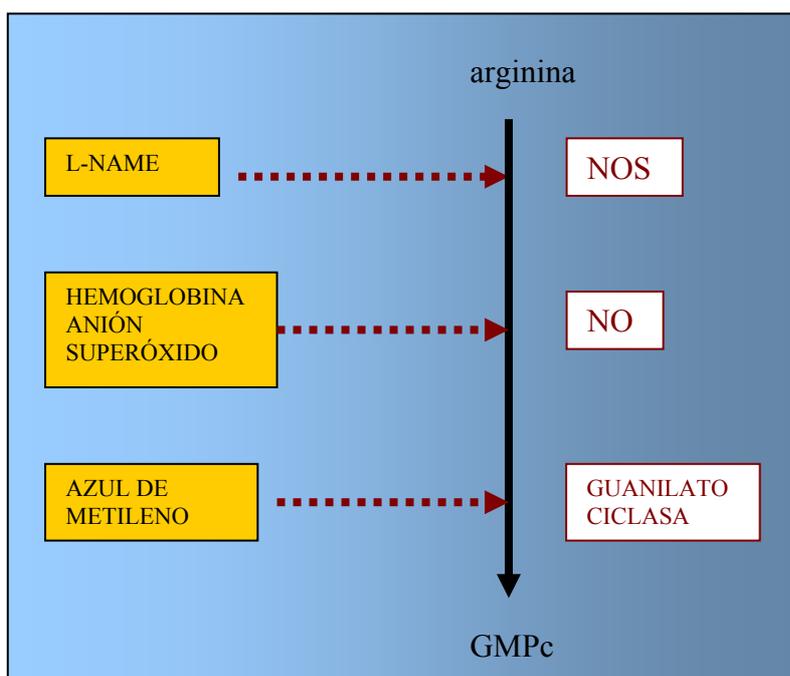


Figura 1.10. Cascada de antagonistas del ON a distintos niveles de su metabolismo

1.7.5. Papel del óxido nítrico en la regulación de la función miocárdica.

El ON que actúa sobre el miocardio, se genera por un lado en el endotelio vascular (NOSe), incluido el endocardio y, por otro, por la NOS del propio cardiomiocito. El ON producido en el endotelio, difunde fácilmente a través de las membranas biológicas y tiene complejos efectos dosis-dependientes en el miocardio^{75,81}.

La isoforma de la sintasa constitutiva del óxido nítrico, se expresa en el miocardio humano de forma fisiológica. La sintasa inducible del ON normalmente no se expresa en el miocardio, pero en determinadas circunstancias, como ocurre en la insuficiencia cardíaca, puede sintetizarse de novo⁸² en respuesta a diversos estímulos.

El óxido nítrico, producido por la ON sintasa constitutiva influye en la respuesta cronotropa e inotropa del miocardio⁸³. El GMPc se comporta como el segundo mensajero del ON y mediante la estimulación de ciertas proteínas quinasa G (PKG), produce una disminución de la frecuencia cardíaca y un efecto inotrope negativo (Figura 1.11). Estos efectos son secundarios a la inhibición de canales del calcio⁷⁵ y/o a la disminución de la sensibilidad de las proteínas contráctiles del miocito⁸⁴. El ON potencia el efecto inotrope negativo de la acetilcolina y deprime el efecto inotrope positivo de la beta-estimulación^{83,85} (Figura 1.12).

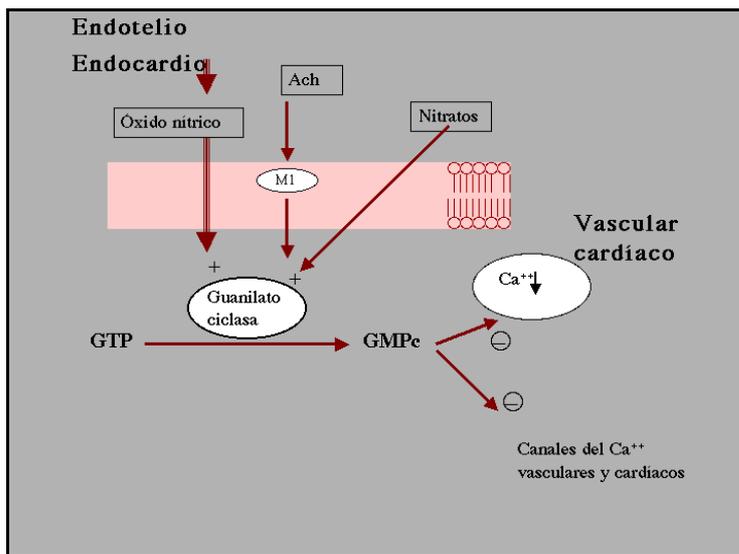


Figura 1.11. Sistema mensajero del óxido nítrico. La guanilato ciclasa sintetiza el GMPc que actúa de segundo mensajero del ON, esto ocurre en respuesta a varios estímulos .

- Estimulación colinérgica directa de la guanilato ciclasa y formación GMPc, e indirectamente, a través de la vía muscarínica-NO-GMPc.
- ON derivado del endotelio o de donantes de ON como son los nitratos.

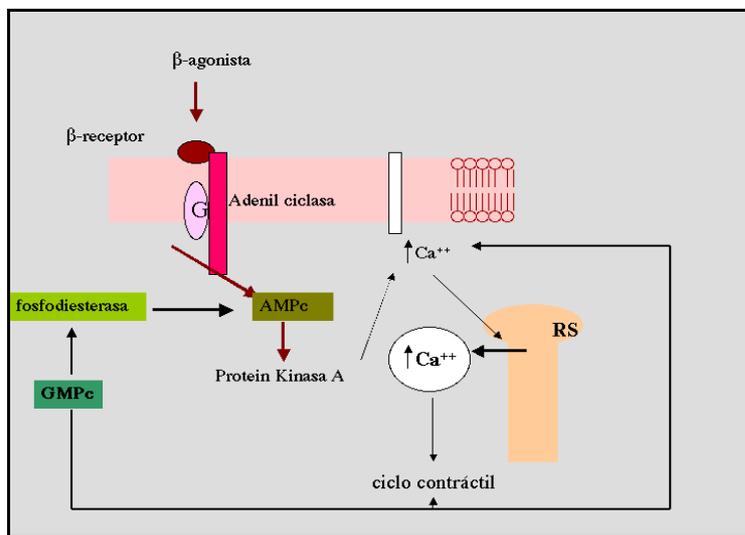


Figura 1.12. Sistema de señales del efecto inotrope positivo de la estimulación beta-adrenérgica y su interacción con el sistema ON-GMPc. El aumento de GMPc estimula la fosfodiesterasa II que degrada al AMPc, disminuyendo la biodisponibilidad de Ca^{++} y la afinidad del aparato contráctil al calcio, produciendo un efecto inotrope negativo.

1.7.6. Acción del óxido nítrico en la circulación coronaria.

El estudio del óxido nítrico, suscita un gran interés, por dos motivos primordiales:

a) La implicación del ON en la regulación del tono vascular y del flujo sanguíneo coronario.

b) En segundo lugar, diversas enfermedades y factores de riesgo coronario producen disfunción endotelial. La disfunción endotelial participa en la patogénesis de la arteriosclerosis, y puede contribuir a la reducción del flujo coronario, favoreciendo la isquemia miocárdica.

Regulación del flujo sanguíneo coronario

En condiciones normales, la regulación del flujo se realiza a nivel de las arteriolas, ya que en ellas reside el 95% del total de la resistencia coronaria. Como en cualquier otro lecho vascular, el flujo sanguíneo coronario depende del gradiente de presión y de las resistencias vasculares. La resistencia vascular coronaria, a su vez, está regulada por una serie de mecanismos:

- control metabólico
- control endotelial
- control miogénico
- control neural

La circulación coronaria, además de estos mecanismos de control, presenta unas características particulares, debido a estar sometida a factores mecánicos extravasculares y al fenómeno de la autorregulación.

La autorregulación del flujo sanguíneo coronario se basa en la capacidad para mantener la perfusión miocárdica relativamente constante a pesar de variaciones de la presión de perfusión⁸⁶.

El óxido nítrico es un mediador importante del fenómeno de la autorregulación coronaria^{87,88}. Con la inhibición de la síntesis del ON se reduce la vasodilatación y aumentan las resistencias vasculares coronarias. El endotelio posee la capacidad de reaccionar a cambios de la presión de perfusión a través de canales específicos sensibles a los cambios de presión⁸⁹.

Control metabólico

En circunstancias normales existe un paralelismo entre el consumo de oxígeno y el flujo coronario, cualquier aumento de la demanda de oxígeno del miocardio, implica un aumento del flujo sanguíneo coronario.

El aumento del metabolismo cardíaco ocasiona el acúmulo de diversas sustancias en el miocardio, entre éstas se encuentran metabolitos vasodilatadores como adenosina y otros nucleótidos, óxido nítrico, prostaglandinas, etc. El acúmulo de estas sustancias vasodilatadoras disminuye la resistencia vascular y aumenta el flujo coronario.

La adenosina, formada a partir de la degradación del adenosin trifosfato (ATP) es un potente vasodilatador, siendo el mediador más importante en la regulación metabólica^{90,91}. El óxido nítrico es un mediador del aumento del flujo coronario durante la hiperemia reactiva y en respuesta a la taquicardia⁹². La inhibición del ON reduce la magnitud de la vasodilatación metabólica en la circulación periférica y en la circulación coronaria^{93,94}. La producción de ON aumenta en respuesta a dos estímulos principales; por un lado la hipoxia que es capaz de estimular la síntesis de ON en el endotelio⁹⁵, y en segundo lugar el ON es el principal mediador de la dilatación mediada por el flujo.

Control endotelial

El endotelio, formado por una monocapa de células endoteliales situada entre la luz del vaso y las células musculares de la media, no solo se comporta como una membrana selectiva entre ambos lados, sino que cumple importantes funciones homeostáticas, entre ellas la de intervenir activamente en la regulación del flujo sanguíneo coronario.

Vasodilatación dependiente del flujo

La mayoría de lechos vasculares responden a un aumento del flujo sanguíneo, o más específicamente a un aumento de la fuerza de cizallamiento (shear stress), con vasodilatación. Este fenómeno se denomina vasodilatación dependiente del flujo (flow-mediated vasodilation, FMD). El mediador

principal de la vasodilatación dependiente del flujo es el óxido nítrico. Se sabe que en menor medida intervienen también otros mediadores, como son prostanoïdes y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio.

No se conocen con exactitud los mecanismos implicados en la detección aguda de las fuerzas de cizallamiento y la subsiguiente traducción de la señal para modular el tono vasomotor. La membrana celular del endotelio contiene canales iónicos especializados, como son los canales del calcio-activados por el potasio, que abren en respuesta al cizallamiento^{96,97}. El efecto de la apertura del canal del potasio es la hiperpolarización de la célula endotelial, aumentando la entrada de calcio, este a su vez, activa la NOSe, lo que conduce a un aumento de la síntesis de ON⁹⁷⁻⁹⁹. Otros mecanismos implicados en el aumento del ON, se deben a la capacidad, por parte de la fuerza de cizallamiento, de modificar la actividad de la enzima NOSe o al aumento de su transcripción.

El óxido nítrico es un potente vasodilatador de las arterias coronarias epicárdicas y de resistencia. La importancia del ON en la vasodilatación de las arterias coronarias epicárdicas se ha demostrado en varias especies animales y en el hombre^{100,101}. Esta vasodilatación puede ser inhibida específicamente bloqueando la síntesis de ON con N^G-monometil-L-Arginina (L-NMMA). La vasodilatación dependiente del endotelio no solo opera a nivel de los vasos grandes epicárdicos, sino que también es un mecanismo importante en el control de los pequeños vasos de resistencia^{102,103}. La administración sistémica

L-NMMA induce hipertensión en voluntarios sanos, sugiriendo que el ON disminuye en condiciones normales la resistencia vascular sistémica¹⁰⁴.

La distribución de las resistencias a nivel de las arteriolas, seguiría un modelo en "serie"¹⁰⁵, acorde con su tamaño, pero actuando de una forma integrada y relacionada, así las arteriolas de menor tamaño serían más sensibles al estrés metabólico, las de tamaño intermedio a la presión de distensión y control miogénico, y las de mayor tamaño a las variaciones del flujo. En los distintos niveles el endotelio a través de la síntesis de ON juega un papel fundamental.

Control neural

Las arterias epicárdicas y las arteriolas coronarias están extensamente inervadas por fibras simpáticas y parasimpáticas, con expresión de receptores adrenérgicos y muscarínicos en los vasos¹⁰⁶.

En condiciones normales existe una constricción α crónica que limita la vasodilatación coronaria. La simpatectomía del ganglio estrellado del lado izquierdo, o el bloqueo- α farmacológico reduce el tono vasoconstrictor α crónico, y ante cualquier aumento de la demanda de oxígeno se produce una mayor vasodilatación y aumento del flujo coronario¹⁰⁷.

Al tono vasoconstrictor α crónico se opone la vasodilatación mediada por el endotelio, el ON juega un papel fundamental en contrarrestar la vasoconstricción simpática y determinar el tono vascular basal¹⁰⁸.

1.8. DISFUNCION ENDOTELIAL Y COCAINA.

La disfunción endotelial se ha asociado a factores de riesgo coronario y a diversos grados de aterosclerosis coronaria¹⁰⁹. La vasodilatación de las arterias epicárdicas después de la infusión de acetilcolina es un fenómeno endotelio-dependiente y está mediada por el ON¹¹⁰. La presencia de un test anormal a la acetilcolina con constricción de las arterias coronarias epicárdicas, es un marcador general de disfunción endotelial; este resultado anómalo nos indica una reducción de la biodisponibilidad de ON a nivel de las arterias epicárdicas y la existencia asociada de una función arteriolar distal anormal.

El daño endotelial precede a la enfermedad coronaria angiográficamente detectable. La evidencia experimental sugiere que con los factores de riesgo coronario, como son el tabaco^{111,112}, la hipertensión arterial¹¹³, la diabetes¹¹⁴, la dislipemia^{115,116}, entre otros, y con el envejecimiento¹¹⁷ se produce disfunción endotelial. Se ha demostrado una respuesta a la acetilcolina paradójica en las arterias coronarias epicárdicas de pacientes con factores de riesgo coronario, en ausencia de lesiones aterosclerosas en la coronariografía¹¹⁸⁻¹²⁰. Esta pérdida de la biodisponibilidad del ON relacionada con los factores de riesgo coronario, estaría causada por una reducción de su síntesis y/o por su metabolismo acelerado.

En estudios necrópsicos y angiográficos, se ha demostrado la existencia de un proceso de aterosclerosis acelerada en los individuos consumidores

crónicos de cocaína^{121,122}. Estudios *in vitro* han demostrado que la cocaína causa defectos estructurales en la barrera formada por el endotelio, incrementando su permeabilidad a las proteínas de baja densidad¹²³ e incrementa la expresión de moléculas que promueven la adhesión y migración de leucocitos¹²⁴, fenómenos asociados con el inicio y progresión de la aterosclerosis. La cocaína también causa un incremento de la producción endotelial de endotelina¹²⁵ y una disminución de la producción de óxido nítrico¹²⁶, efectos que contribuirían a la vasoconstricción inducida por la cocaína. Estas alteraciones de la función endotelial estarían presentes en los individuos consumidores de cocaína en etapas muy precoces de la enfermedad aterosclerosa, Eichhorn et al.¹²⁷, al administrar acetilcolina intracoronaria en ocho individuos consumidores de cocaína y coronarias sin lesiones angiográficas, halló una respuesta vasoconstrictora y/o dolor torácico en seis de ellos. En este sentido Moliterno et al.¹¹¹, sugiere que la reducción de calibre de las arterias coronarias epicárdicas inducida por la cocaína y el tabaco esta potenciada por la existencia de disfunción endotelial, al demostrar una mayor vasoconstricción en los segmentos lesionados cuando se administró cocaína (2 mg/kg intranasal) o al fumar un cigarrillo.

Como hemos mencionado antes, la cocaína produce vasoconstricción de las arterias coronarias, tanto en pacientes con lesiones coronarias, como en pacientes con coronarias normales. Lange et al.³⁴ al administrar cocaína intranasal (2 mg/kg) a individuos sanos, halló una reducción del diámetro de las arterias coronarias y un aumento de las resistencias coronarias. Esta

vasoconstricción de los vasos epicárdicos e intramurales, se producía paralelamente a un aumento de las demandas de oxígeno (reflejado por un incremento del producto frecuencia cardíaca x presión arterial). Concluyendo que la cocaína produce una vasoconstricción intensa a través de un estímulo alfa-adrenérgico que predomina sobre los mecanismos de autorregulación local de las arterias coronarias.

Los consumidores de cocaína presentan una enfermedad aterosclerosa más severa a la esperada por su edad, y aquellos que mueren por una sobredosis de cocaína con frecuencia, sus arterias coronarias están más enfermas que los consumidores de cocaína fallecidos por otras causas¹²⁸. En el hombre la vasoconstricción inducida por la cocaína es más pronunciada en los segmentos con estenosis coronaria que en los libres de lesiones^{65,111}, reflejando un mayor grado de disfunción endotelial. Estos datos sugieren que los pacientes afectados de enfermedad coronaria aterosclerosa tienen mayor riesgo de padecer un evento isquémico al tomar cocaína.

La cocaína puede inducir la formación de trombos en las arterias coronarias, al estimular la activación y agregabilidad plaquetar^{129,130}, y al aumentar la concentración del PAI (inhibidor del activador del plasminógeno)¹³¹. La aterosclerosis prematura observada en estos pacientes supone un substrato que favorece la formación de trombos.

La patogénesis de la isquemia y el infarto de miocardio relacionados con el consumo de cocaína es probablemente multifactorial e incluye uno o más de los siguientes elementos¹³²:

A) Un aumento de la frecuencia cardíaca, de la presión arterial y de la contractilidad que produce un aumento de la demanda de oxígeno del miocardio con una oferta del suministro limitada, debido a la presencia de lesiones estenóticas fijas y/o vasoconstricción coronaria.

B) Una vasoconstricción y reducción del flujo coronario, producidas por un aumento de la estimulación alfa-adrenérgica, un aumento de la producción de endotelina y el descenso de la producción de óxido nítrico.

C) Aterosclerosis acelerada y trombosis coronaria favorecidos por el aumento de la producción del inhibidor del activador del plasminógeno, un aumento de la activación y de la agregabilidad plaquetar, y a un aumento de la permeabilidad endotelial.

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis de trabajo

La hipótesis del presente trabajo es que la cocaína causa una depresión de la función ventricular independiente de su efecto sobre el flujo sanguíneo coronario y que esta depresión se agrava en presencia de disfunción endotelial.

2.2. Objetivo general

Este estudio analiza los efectos de la administración sistémica de cocaína sobre el flujo sanguíneo coronario y la función ventricular en un modelo porcino, y si la inhibición de la síntesis del óxido nítrico mediante la administración intracoronaria de un antagonista de la L-Arginina (L-NAME) modifica la acción de la cocaína sobre la función ventricular.

2.3. Objetivos concretos

- 1.- Analizar el efecto de la administración de cocaína endovenosa sobre el flujo coronario y la función ventricular.

- 2.- Analizar el efecto de la administración de cocaína endovenosa sobre el flujo coronario y la función ventricular, cuando se inhibe la síntesis de óxido nítrico con L-NAME intracoronaria.

- 3.- Estudiar el efecto de la administración de cocaína endovenosa sobre la función ventricular, cuando se reduce de forma mecánica el flujo coronario.

4. Estudiar el efecto de la administración de cocaína endovenosa sobre el flujo coronario y la función ventricular, tras antagonizar con L-Arginina intracoronaria la inhibición de la síntesis del óxido nítrico producida por la L-NAME.

5. Estudiar el efecto de la administración de cocaína endovenosa sobre el flujo coronario y la función ventricular, al administrar conjuntamente nitroglicerina y L-NAME intracoronarias.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. Preparación animal.

Se utilizaron cincuenta y siete cerdos normales de ambos sexos, de una mezcla de razas Landrace y Large White con una edad de 3-4 meses y con un peso medio de 31 ± 4 Kg (rango de 24 a 42 Kg). Los cerdos fueron obtenidos de granjeros locales y alimentados con pienso.

Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la regulación para el uso de animales en el laboratorio experimental recomendadas por la Generalitat de Catalunya y por las normas de nuestra propia institución.

3.2. Protocolo quirúrgico.

Los cerdos se transportaron desde una granja agrícola y fueron alojados en el estabulario del hospital 24 horas antes del inicio del experimento en un ambiente tranquilo.

Los animales inicialmente se sedaron con la administración de una inyección intramuscular de azaperona (dosis de 2 mg/Kg), diez minutos después se canuló una vena de la oreja y se procedió a la anestesia del animal con tiopental sódico (Pentobarbital) a una dosis de 30 mg/Kg. Se disecó la vena mamaria con la finalidad de obtener un acceso venoso estable para la administración de fármacos. La anestesia del animal se mantuvo durante todo el experimento con una perfusión continua endovenosa de tiopental a razón de una dosis de 0,2 mg/Kg/min.

A continuación se procedió a la intubación endotraqueal y ventilación mecánica de los animales con un respirador de presión (Bid MarK 8, Palm Spring, California, EE.UU.). El electrocardiograma se monitorizó y registró de forma continua. Treinta minutos después de la intubación se obtuvo una gasometría arterial para ajustar los parámetros ventilatorios en caso necesario.

Una vez el animal estaba anestesiado y conectado al respirador, se realizó la disección de la arteria y vena femoral derecha; una vez expuesta la arteria se puncionó con una aguja 18 G y a su través se introdujo una guía en J, que se avanzó en el interior de la arteria, posteriormente se colocó un dilatador arterial del número 8F (Input 8F , BARD, CR Bard Ireland Ltd, Galway, Ireland), y a su través se avanzó, bajo control radiológico, un catéter Pigtail de doble luz 8F (Input 8F, BARD, CR Bard Ireland Ltd, Galway, Ireland) al ventrículo izquierdo para el registro continuo de la presión intraventricular y de la presión arterial.

Mediante una incisión lateral derecha del cuello se disecaron la vena yugular y arteria carótida común interna, y se colocó en la vena un introductor vascular 6F para la obtención de la presión de la aurícula derecha.

Se practicó una esternotomía media, las costillas se separaron con un retractor torácico y se expuso el corazón previa pericardiotomía. Se procuró una hemostasia efectiva durante todo el procedimiento. A continuación, se disecó cuidadosamente la arteria coronaria descendente anterior, en su porción distal a la primera diagonal, y se colocó en ella un fluxímetro electromagnético (rango 1.5-2.5 mm; Nihon-Koden MFV 3200, Tokio, Japón)

para la medición del flujo coronario. Se administró 200 µg de nitroglicerina tópicamente antes de emplazar el fluxímetro, para evitar un potencial espasmo coronario durante la disección. A continuación se administró 5000 U de heparina sódica intravenosa para prevenir la formación de trombos, esta dosis se repitió cada dos horas.

Para estudiar la contractilidad del músculo cardíaco se analizó el acortamiento segmentario de la fibra del miocardio mediante ultrasonidos. Se utilizó un sonomicrómetro (Sonomicrómetro Triton, California, EEUU), emplazándose un par de microcristales (2 mm de diámetro) en el epicardio del ventrículo izquierdo, a una profundidad de 6-8 mm en una región irrigada por la arteria coronaria descendente anterior. La Fracción de acortamiento (%SS) se calculó utilizando la fórmula $(LTD-LTS) \times 100/LTD$, donde LTD corresponde a la longitud telediastólica y LTS a la longitud telesistólica.

En los estudios en que se requirió la canulación de la arteria coronaria descendente anterior, a través de la arteria carótida común derecha se introdujo un catéter Judkins derecho High Flow 8F (BARD, CR, Bard Ltd, Galway, Ireland) que se posicionó en el ostium de la arteria coronaria izquierda, esta maniobra se realizó con guía de rayos X. Mediante una guía de angioplastia 0,014'' (Hyperflex Mit Pro/Ped coating, Bard) se colocó un catéter de infusión 3F (Cordis Europe N.V. Roden, Holland) en la arteria descendente anterior, a continuación se administró un bolo de heparina (5000 UI i.c.) antes de conectar el catéter de perfusión a una bomba de infusión

(Harvard Apparatus Inc, South Natick, MA, USA) para la perfusión intracoronaria continua de L-NAME.

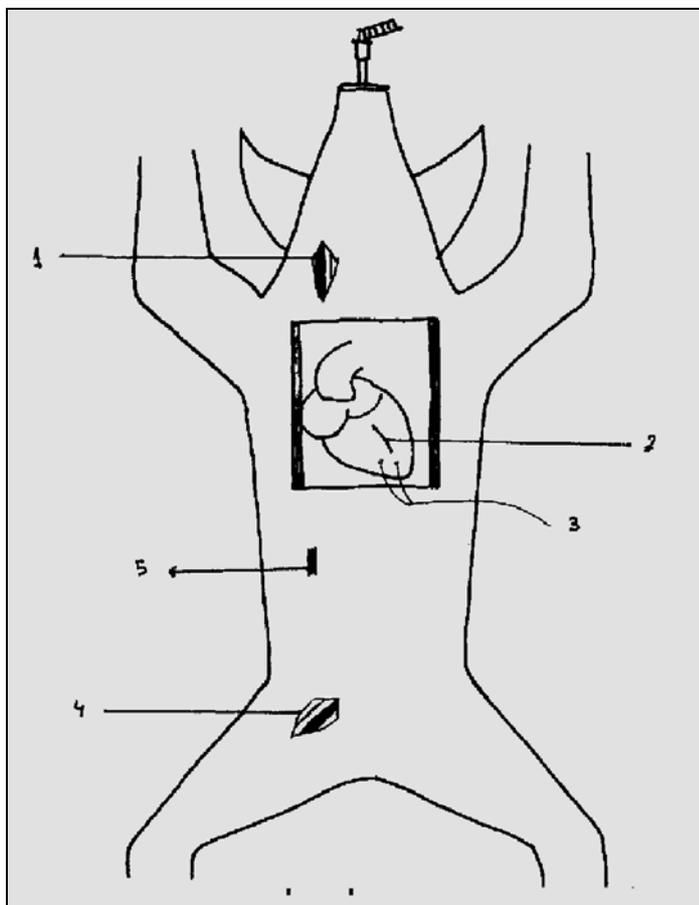


Figura 3.1.- Procedimiento quirúrgico común.

- 1.- Disección de la vena yugular interna y arteria carótida interna.
- 2.- Exposición de la arteria coronaria descendente anterior.
- 3.- Inserción de microcristales en el miocardio.
- 4.- Disección de la arteria y vena femoral derecha.
- 5.- Disección de la vena mamaria.

La señal del electrocardiograma (ECG), presión arterial (PA), presión de aurícula derecha (PAD), presión del ventrículo izquierdo (PVI) flujo

sanguíneo coronario pico y medio (FSC), y las curvas de motilidad del miocardio se registraron de forma continua y simultánea en un ordenador PC, donde se almacenaron en el disco duro para su posterior análisis. El software High Scan (Irisna SL., Barcelona) está expresamente configurado para el diseño y finalidades de este experimento, el programa registra automáticamente todos estos parámetros cada 30 segundos. El ECG, las curvas de presión arterial, presión intraventricular, flujo coronario y contractilidad se visualizaron en tiempo real en la pantalla del ordenador. El software del ordenador mide directa y continuamente los parámetros analizados, que son expresados en su valor numérico y correspondientes unidades.

Después de concluir la preparación quirúrgica, se esperó durante treinta minutos para permitir la estabilización de la presión arterial, de la frecuencia cardíaca y del flujo coronario.

En quince animales, además se analizó la dp/dt del ventrículo izquierdo, el gasto cardíaco y las resistencias arteriales periféricas.

En estos animales se siguió con el mismo procedimiento quirúrgico descrito, y además, con el fin de analizar estos parámetros adicionales, se realizó la disección de la arteria y vena femoral izquierdas. En la arteria según la técnica descrita anteriormente se introdujo un dilatador 8F a través del cuál se emplazó en el ventrículo izquierdo un catéter con micromanómetro (Millar SPR-524) para la obtención y registro continuo de la presión intraventricular y la dp/dt del ventrículo izquierdo.

El gasto cardíaco se analizó con la colocación de un fluxímetro electromagnético en la raíz de aorta (T206, Rb flow-meter, Transonic system).

El registro de la presión arterial en este subgrupo de animales se obtuvo con la cateterización de la arteria femoral derecha y posterior colocación de un dilatador arterial que se conectó a un transductor de presión.

La dP/dt y gasto cardíaco se registraron y analizaron de forma continua, junto con los demás parámetros en el ordenador PC.

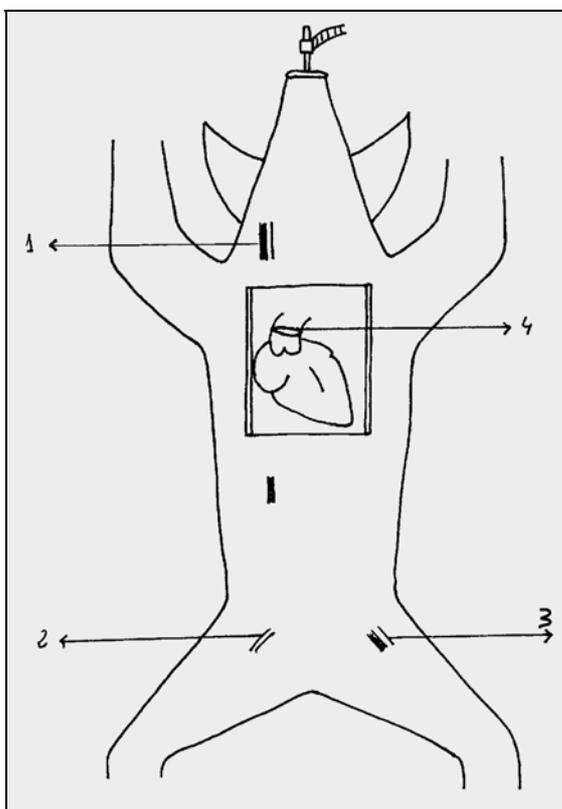


Figura 3.2.- Procedimiento quirúrgico llevado a cabo en 15 animales, para la medición de la dP/dt , gasto cardíaco y resistencias vasculares sistémicas.

- 1.- Disección de la vena yugular interna y arteria carótida interna.
- 2.- Disección de la arteria femoral derecha.
- 3.- Disección de la arteria y vena femoral izquierda
- 4.- Fluxímetro en la aorta

3.3. Parámetros analizados.

3.3.1. Parámetros hemodinámicos.

Se analizaron la frecuencia cardíaca (FC), la presión arterial sistólica (TAS), el doble producto (FC x TAS) y la presión telediastólica del ventrículo izquierdo (PTDVI).

En la siguiente tabla se muestran las variables y sus respectivas unidades

FC	TAS	DP	PTDVI
lpm	mmHg	lpm x mmHg	mmHg

3.3.2. Parámetros de contractilidad miocárdica

Se analizó la fracción de acortamiento de la fibra muscular obtenida por ultrasonidos.

LTD: Longitud telediastólica de la fibra miocárdica

LTS: Longitud telesistólica de la fibra miocárdica

FA: Fracción de acortamiento

La fracción de acortamiento se calculó como:

$$FA \% = (LTD - LTS) / LTD$$

En la tabla siguiente se muestran las variables y las unidades respectivas

LTD	LTS	FA
mm	mm	%

3.3.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.

Se analizó el flujo sanguíneo coronario (FSC) y se calculó la resistencia coronaria (RC) con la fórmula:

$$RC = \text{Presión arterial media} / \text{Flujo coronario}$$

En la siguiente tabla se muestran las variables y sus respectivas unidades

FSC	RC
ml/min	mmHg/ml/min

3.3.4. Parámetros adicionales de función ventricular.

En quince de los animales se analizaron además, las siguientes variables: la dP/dt del ventrículo izquierdo, el gasto cardíaco (GC) y las resistencias vasculares sistémicas (RVS).

Las resistencias vasculares sistémicas se calcularon con la fórmula:

$$RVS = \frac{\text{Presión arterial media} - \text{Presión media de la aurícula derecha}}{\text{Gasto cardíaco}}$$

En la siguiente tabla se muestran las variables y sus respectivas unidades

dP/dt VI	GC	RVS
mmHg/seg	L/min	mmHg/l/min

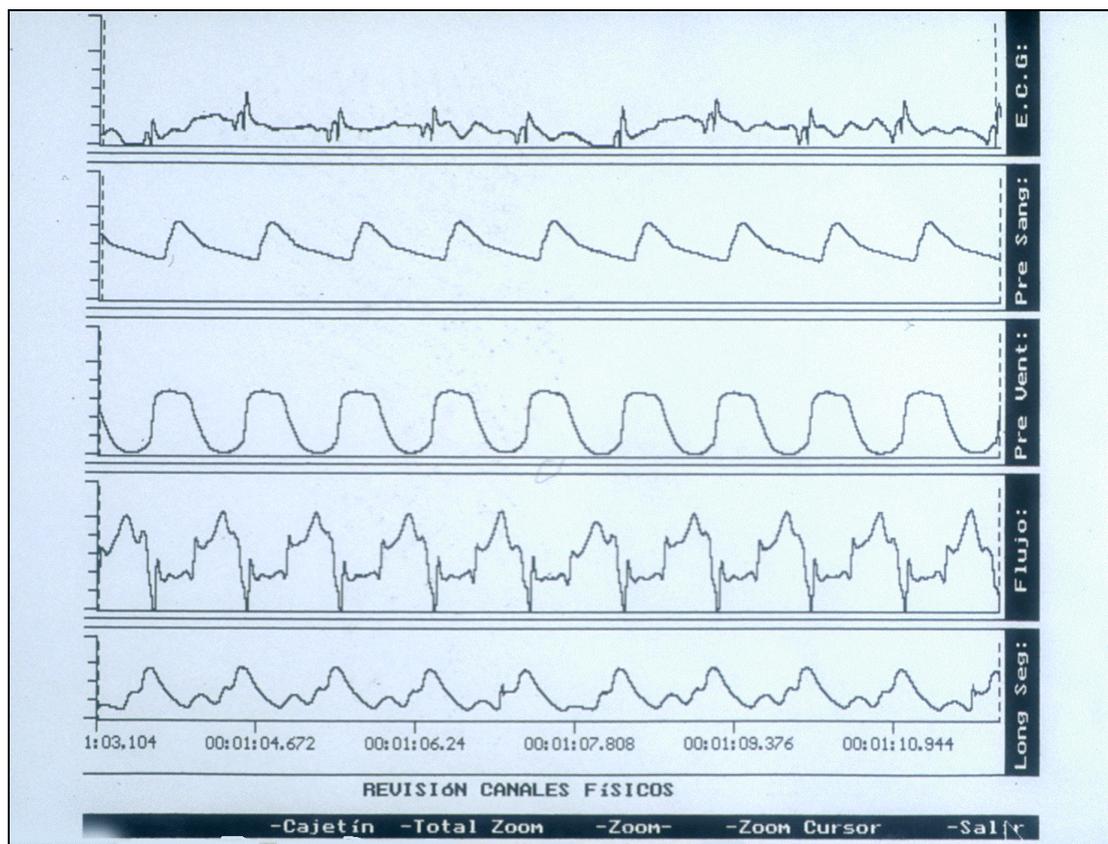


Figura 3.3. Hoja de registro gráfico que muestra de arriba hacia abajo el electrocardiograma, las curvas de presión arterial, de presión intraventricular, el flujo coronario y el registro de acortamiento de la fibra muscular cardíaca obtenida con ultrasonidos.

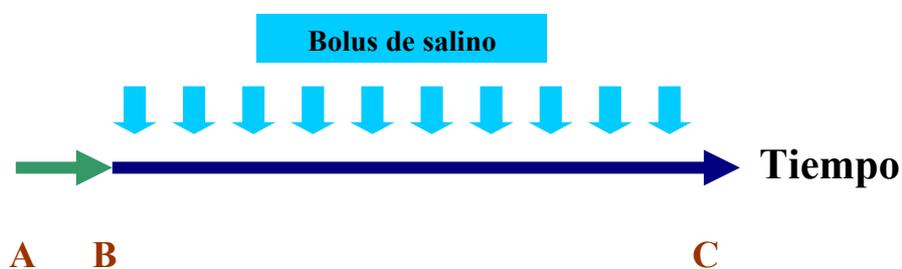
3.4. Diseño experimental.

Grupos de estudio. Los animales fueron distribuidos de forma aleatoria en seis grupos de estudio:

3.4.1. Grupo Control. Administración de suero fisiológico.

A los cinco cerdos de este grupo, con un peso de 33 ± 6 Kg, se les administró 10 ml de suero salino al 0.9%, en forma de bolus de 1ml cada 2' durante 20 minutos a una velocidad de 1 ml/min.

Estos animales constituyen el grupo control del experimento.



Fase de estabilización (A)

Se analizaron los valores basales (B) y al finalizar la perfusión de suero salino (C).

3.4.2. Grupo de intervención 1. Administración de cocaína.

En 17 cerdos (peso 31 ± 4 Kg), se administró 10 mg/Kg de cocaína, disuelta en 10 ml de suero salino al 0,9% . en forma de bolus de 1 ml (1 mg/Kg) cada 2' durante 20 minutos a una velocidad de 1 ml/min.



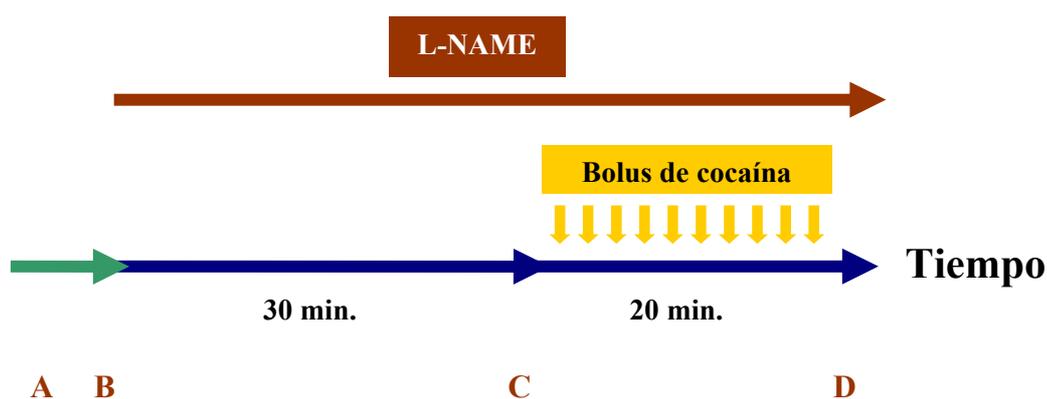
Fase de estabilización (A)

Se analizaron los valores basales (B) y al finalizar la perfusión de cocaína (C), o bien en el punto de máximo efecto (aparición de severa depresión ventricular, arritmias ventriculares o bloqueo aurículoventricular)

En cinco animales de este grupo se analizó además la dp/dt , el GC y las RVS.

3.4.3. Grupo de intervención 2. Administración de L-NAME y cocaína.

En 16 animales (peso 31 ± 4 Kg) se administró una perfusión continua intracoronaria de L-NAME a razón de $20 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. La L-NAME es un antagonista competitivo de la producción de ON. A los treinta minutos del inicio de la infusión de L-NAME, se administró cocaína a la misma dosis y siguiendo el mismo protocolo que en el grupo 1.



Fase de estabilización (A)

Perfusión de L-NAME →

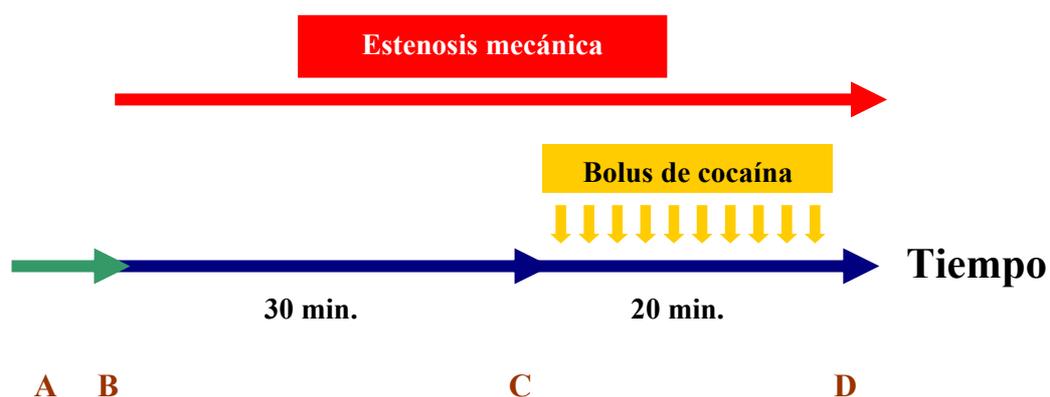
Bolos de cocaína ↓↓

Se analizaron los valores en situación basal (B), a los 30' de la perfusión de L-NAME i.c. (C) y por último al finalizar la administración de cocaína o en el punto de máximo efecto (D).

En cinco animales de este grupo se analizó además la dP/dt , el GC y las RVS.

3.4.4. Grupo de intervención 3. Estenosis mecánica coronaria y cocaína.

En nueve animales (peso de 30 ± 3 Kg) el flujo proximal de la arteria coronaria descendente anterior se redujo el 20% de su valor basal, con una oclusión externa mecánica proximal al fluxímetro, utilizando un hilo de seda grueso . Después se administró la cocaína a la misma dosis y protocolo que en los grupos anteriores.



Fase de estabilización (A)

Oclusión externa 

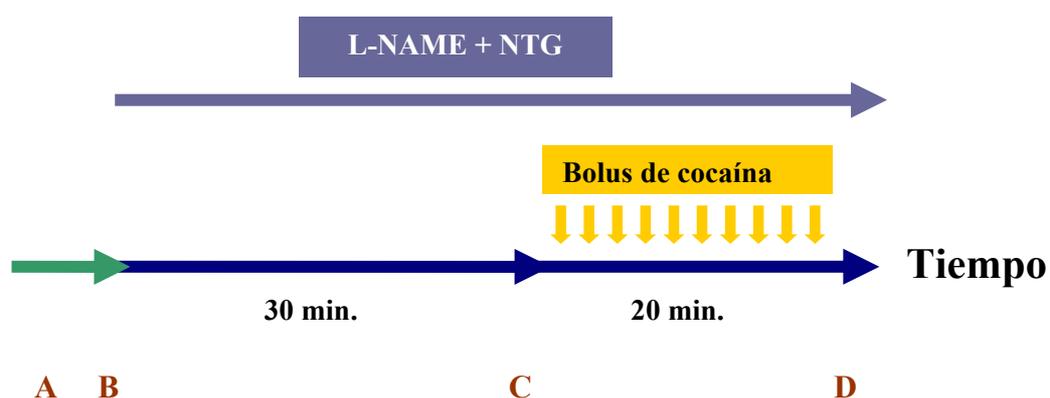
Bolus de cocaína 

Se analizaron los valores en situación basal (B), a los 30' de aplicar la oclusión mecánica externa (C) y por último al finalizar la administración de cocaína o en el punto de máximo efecto (D).

La reducción del 20% del flujo coronario mediante la obstrucción mecánica fue similar a la observada con la administración de L-NAME.

3.4.6. Grupo de intervención 5. Administración de Nitroglicerina + L-NAME y cocaína.

En cinco cerdos (28 ± 3 Kg) se administró nitroglicerina intracoronaria a razón de 5 ng/min. La nitroglicerina (NTG), se administró simultáneamente con la L-NAME. A los treinta minutos del inicio de la infusión de L-NAME y NTG intracoronaria, se administró la cocaína con el mismo protocolo.



Fase de estabilización (A)

L-NAME+NTG →

Bolus de cocaína ↓↓

Se analizaron los valores en situación basal (B), a los 30' de la infusión de L-NAME y NTG (C) y por último al finalizar la administración de cocaína o en el punto de máximo efecto (D).

En todos los animales de este grupo se analizó además la dp/dt , el GC y las RVS.

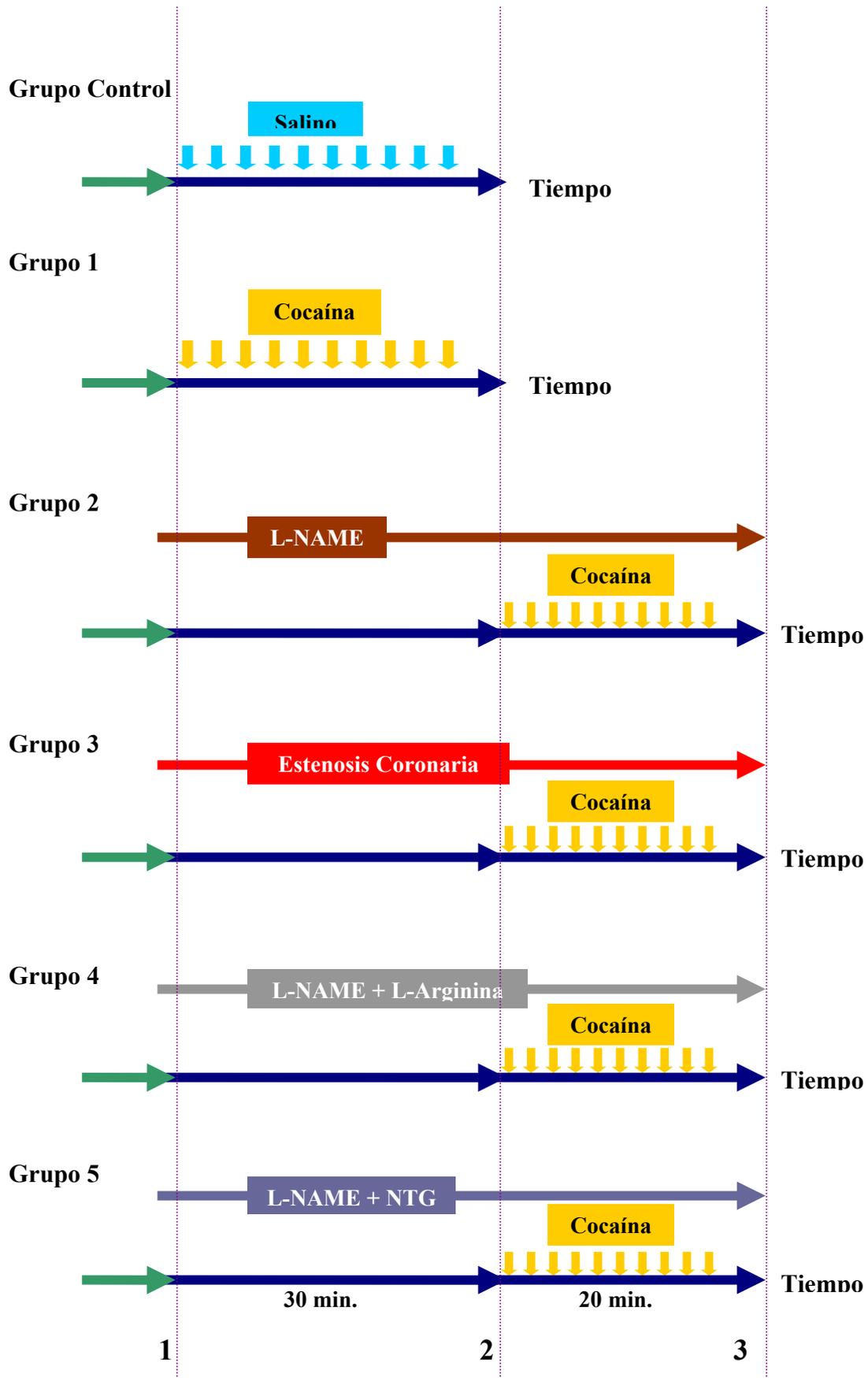


Figura 3.4. En la página anterior se representa un esquema que resume el diseño experimental en los seis grupos: grupo control y en los cinco grupos de intervención. El esquema muestra las diferentes intervenciones y los distintos momentos de medición de las variables estudiadas.

1. Medición de los parámetros en situación basal en los diferentes grupos.
2. Nueva medición de las variables estudiadas tras la administración de salino en el grupo control y de la cocaína en el grupo 1. En el grupo 2 durante la administración de L-NAME, en el grupo 3 durante la aplicación de la estenosis coronaria mecánica, en el grupo 4 tras la L-NAME+L-Arginina i.c. y en el grupo 5 tras la L-NAME+Nitroglicerina i.c.
3. En los grupos de intervención 2,3,4 y 5, una vez analizados los parámetros tras la intervención específica (2) de cada uno de ellos, se administró la cocaína y se analizaron las variables.

3.5. Determinación de la concentración plasmática de cocaína.

Este estudio se diseñó para investigar los efectos de la administración aguda y rápida de cocaína, tal como ocurre tras su administración intravenosa de cocaína o con la inhalación de crack a través de la mucosa.

Cinco minutos después de la administración de la cocaína, se obtuvo una muestra de sangre del animal. Las muestras obtenidas se introdujeron inmediatamente dentro de vacutainers conteniendo oxalato potásico y fluoruro sódico, a continuación se mezclaron suavemente antes de su centrifugación.

La concentración plasmática de benzoilecgonina y ecgonina metil éster y cocaína, se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a un detector NPD.

3.6. Lesión endotelial.

Al finalizar el experimento, los animales recibieron una sobredosis de tiopental sódico y se indujo una fibrilación ventricular eléctrica.

En los grupos de intervención 2 y 3, se extrajo el corazón, y se examinó el tronco común de la coronaria izquierda de los animales incluidos, para descartar la presencia de una lesión mecánica y/o formación de un trombo que pudiera haber modificado la respuesta del flujo coronario.

3.7. Fármacos.

1. Azaperona (Stresnil, Laboratorios Dr. Esteve, Barcelona)
2. Tiopental sódico (Pentotal Lab. Abbot S.A. , Madrid , España).
3. Nitroglicerina (Solinitrina endovenosa, Berenguer Infale, Sant Just Desvern, Barcelona). Inyectable Nitroglicerina 5 mg, Etanol absoluto, c.s.p. 5 ml.
4. L-NAME (N^w-nitro-L-Arginina Metil Éster, Sigma Química , Alcobendas , España) se preparó disuelta en suero salino al 0.9% a una concentración de 1 mg/ml, se perfundió a razón de 20 microgramos/kg/min.
5. L- Arginina (Sigma Química, Alcobendas , España) disuelta en suero salino al 0,9% a una concentración de 1 mg/ml, se administró a razón de 20 microgramos/kg/min.
6. Cocaína. La cocaína se disolvió en 10 ml de suero salino al 0.9% y se administró a una velocidad de 1 ml/min durante 20 minutos.

3.8. Instalaciones, instrumentación y técnicas utilizados para la realización del proyecto.

El protocolo experimental se realizó en las instalaciones de la Unidad de investigación animal de la Facultat de Medicina de Barcelona.

La unidad dispone de estabulario y personal para el cuidado de los animales, donde eran transportados el día anterior al experimento desde granjas situadas en las cercanías de Barcelona.

Los estudios experimentales se llevaron a cabo en el quirófano de experimentación. Para la consecución de estos estudios se disponía del siguiente material:

Mesa y lámpara de quirófano.

Fuentes de oxígeno y vacío.

Respirador de presión (Bird Mark 8, Palm Spring, California , EE.UU.)

Material quirúrgico de disección. Bisturí eléctrico.

Desfibrilador interno y externo.

Cápsulas de presión. Manómetro de mercurio

Flujímetro electromagnético (Nihon- Kodon MFV 3200, Tokio , Japón)
para la determinación del flujo coronario.

Flujímetro electromagnético (T206, Rb flow-meter, Transonic system)
para la determinación del gasto cardíaco.

Polígrafo Coburn con registrador Astromet 9500 de 8 canales.

Bomba de infusión (Harvard Apparatus Inc, South Natick, MA,
EE.UU.)

Sonomicrómetro Tritón para la determinación de los cambios en el
engrosamiento sistólico de la pared ventricular.

Ordenador PC Fujitsu con software específico para análisis y
tratamiento de ondas de presión.

3.9. Análisis estadístico

Los datos están expresados como media \pm desviación estándar de la media. Se utilizó el test t-Student de muestras pareadas para el análisis estadístico de las diferencias entre las medidas realizadas antes y después de cada intervención.

Todos los parámetros fueron analizados en el máximo efecto de la cocaína, antes del desarrollo de arritmias o bloqueo auriculoventricular que pudiese interferir en la evaluación de la función ventricular.

Para comprobar la distribución normal de los valores en cada grupo de intervención, se empleó el test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnoff. La homogeneidad de las variancias entre los grupos fue determinada mediante el test de Levene.

Se utilizó el análisis de variancia para analizar la hipótesis nula de no diferencia entre los grupos de intervención. Se realizaron tests de contraste a posteriori para cada pareja de grupos, incluyendo una corrección del valor de p para comparaciones múltiples (test de Scheffé).

Las diferencias entre los grupos se consideraron estadísticamente significativas a un nivel del 95% ($p < 0,05$).

Los cálculos fueron realizados en el Instituto Municipal de Investigación Médica de Barcelona, usando el paquete estadístico SPSS/PC (SPSS, Inc, Chicago, USA).

4. RESULTADOS

4.1. GRUPO CONTROL.

Administración de suero fisiológico.

4.1.1. Parámetros hemodinámicos.

No se observaron diferencias entre los parámetros registrados en situación basal y tras la administración de suero fisiológico al 0.9%. La frecuencia cardíaca, la presión arterial y el doble producto, no se modificaron tras la administración de salino, como se muestra en la tabla 4.1. La presión telediastólica del ventrículo izquierdo permaneció así mismo inalterada.

Tabla 4.1. Parámetros hemodinámicos.

Grupo control (n=5)	FC lpm	TAS mmHg	DP lpm x mmHg	PTDVI mmHg
Basal	65±7	110±19	6940±1090	14±8
Fisiológico. 20 min.	62±5	107±23	6220±1040	16±10

FC: Frecuencia cardíaca, TAS: Tensión arterial sistólica, DP, Doble producto: FC x TA, PTDVI: Presión telediastólica ventrículo izquierdo.

4.1.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.

Los diámetros telediastólico y telesistólico de la fibra miocárdica, determinados mediante ultrasonidos, no se modificaron después de la administración de suero fisiológico. La fracción de acortamiento, permaneció estable con un valor basal de 17±5% vs 18±6% tras 20 min. de salino. (Tabla 4.2)

Tabla 4.2. Contractilidad de la fibra miocárdica

Grupo control (n=5)	LTD mm	LTS mm	FA %
Basal	7.6±1.4	6.3±1.3	17±5
Fisiológico	7.6±1.4	6.3±1.3	18±6

LTD: Longitud telediastólica de la fibra miocárdica, LTS: Longitud telesistólica de la fibra miocárdica, FA: Fracción de acortamiento.

4.1.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.

El flujo sanguíneo coronario y las resistencias coronarias en este grupo control fueron similares en estado basal y tras 20 min. de administración de salino. (Tabla 4.3)

Tabla 4.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.

Grupo control (n=5)	FSC ml/min	RC mmHg/ml/min
Basal	36±33	3.3±1.3
Fisiológico	40±36	2.6±1.8

FSC: Flujo sanguíneo coronario, RC: Resistencias coronarias.

4.2. GRUPO DE INTERVENCION 1.

Administración de cocaína.

4.2.1. Parámetros hemodinámicos.

La administración de cocaína indujo un aumento significativo de la frecuencia cardíaca, mientras que la presión arterial se redujo respecto al valor basal, sin alcanzar una significación estadística (Tabla 4.4). De esta manera el doble producto no se modificó después de la administración de la cocaína. La presión telediastólica del ventrículo izquierdo aumentó de una forma significativa tras la administración de cocaína (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Parámetros hemodinámicos

Grupo 1 (n=17)	FC lpm	TAS mmHg	DP lpm x mmHg	PTDVI mmHg
Basal	61±12	94±13	5730±1560	13±3
Cocaína	72±17*	85±23	6120±3910	15±2*

* p<0.05 versus basal

FC: Frecuencia cardíaca, TAS: Tensión arterial sistólica, DP, Doble producto: FC x TAS;

PTDVI: Presión telediastólica ventrículo izquierdo.

4.2.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.

Tras la administración de cocaína, se produjo un aumento significativo de la longitud telesistólica de la fibra miocárdica sin cambios en la longitud telediastólica. Como consecuencia la fracción de acortamiento se redujo en un

47%, pasando del 15±4% en estado basal, al 8±4% ($p<0.05$) tras la infusión de cocaína. (Tabla 4.5)

Tabla 4.5. Contractilidad de la fibra miocárdica

Grupo 1 (n=17)	LTD mm	LTS mm	FA %
Basal	7.8±1.4	6.6±1.2	15±4
Cocaína	7.9±1.8	7.2±1.6**	8±4*

* $p<0.05$ versus basal ** $p<0.005$ versus basal

LTD: Longitud telediastólica de la fibra miocárdica, LTS: Longitud telesistólica de la fibra miocárdica, FA: Fracción de acortamiento.

4.2.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.

El flujo sanguíneo coronario y las resistencias coronarias no se modificaron tras la administración de cocaína. (Tabla 4.6 y Figura 4.2)

Tabla 4.6. Flujo coronario y resistencias coronarias

Grupo 1 (n=17)	FSC ml/min	RC mmHg/ml/min
Basal	27±13	4.5±1.1
Cocaína	27±18	4.5±1.1

FSC: Flujo sanguíneo coronario, RC: Resistencias coronarias

4.2.4. Parámetros adicionales de función ventricular.

En cinco animales se determinó la dP/dt del ventrículo izquierdo, el gasto cardíaco y las resistencias vasculares sistémicas. (Tabla 4.7)

La dP/dt del ventrículo izquierdo se redujo significativamente, 1396 ± 424 mmHg/seg basal vs 902 ± 185 mmHg/seg ($p < 0.05$), tras la administración de cocaína.

El gasto cardíaco se redujo de forma significativa, de 1.2 ± 0.3 L/min basal a 0.9 ± 0.5 L/min. ($p < 0.05$), tras la administración de cocaína. Este descenso del gasto cardíaco tiene lugar sin que se produjeran cambios significativos de las resistencias vasculares sistémicas, aunque estas aumentaron, el aumento no fue significativo (Figura 4.2)

Tabla 4.7.

Grupo 1 (n=5)	dP/dtVI mmHg/seg	GC L/min	RVS mmHg/L/min
Basal	1396±424	1.2±0.3	3742±1288
Cocaína	902±185*	0.9±0.5*	5484±3111

* $p < 0.05$ versus basal

dP/dt VI: dP/dt del ventrículo izquierdo, GC: Gasto cardíaco, RVS: Resistencias vasculares sistémicas.

La cocaína alteró significativamente los parámetros de función ventricular, redujo la dP/dt del ventrículo izquierdo, disminuyó el gasto cardíaco, aumentó la presión telediastólica del ventrículo izquierdo y redujo la fracción de acortamiento de la fibra miocárdica. (Figura 4.1)

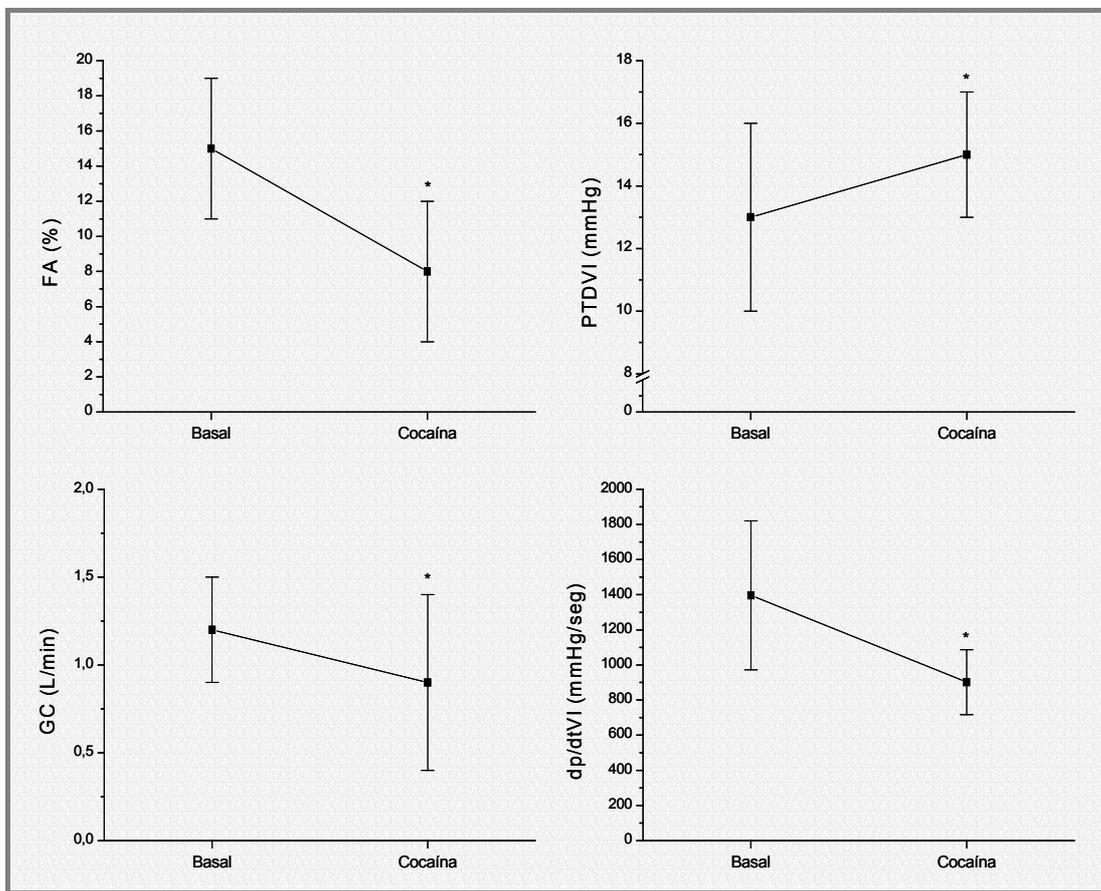


Figura 4.1. Grupo de intervención 1. Media y desviación estándar de la fracción de acortamiento, presión telediastólica, gasto cardíaco y dp/dt en situación basal y tras la administración de cocaína. La cocaína modificó todos los parámetros de función ventricular analizados. * $p < 0.05$ cocaína versus basal.

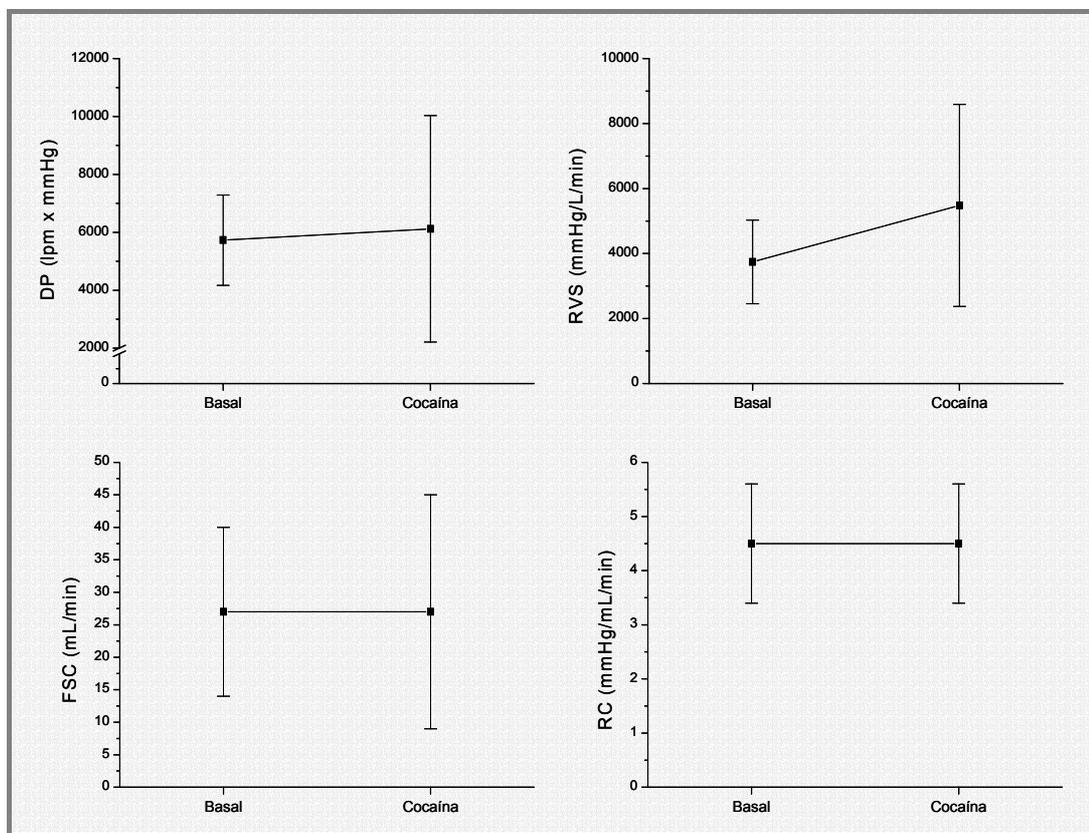


Figura 4.2. Grupo de intervención 1. Media y desviación estándar del doble producto, resistencias vasculares sistémicas, flujo coronario y resistencias coronarias. La cocaína no modificó de forma significativa estos parámetros. Las resistencias vasculares sistémicas muestran una tendencia a su incremento sin alcanzar un valor significativo.

4.3. GRUPO DE INTERVENCION 2.

Administración de L-NAME y Cocaína.

4.3.1. Parámetros hemodinámicos.

La infusión de L-NAME produjo una reducción significativa de la frecuencia cardiaca y un aumento de la presión arterial, sin alterar el doble producto.

Al administrar la cocaína e.v., la frecuencia cardiaca aumentó de manera significativa respecto al valor alcanzado con L-NAME, mientras que la presión arterial se redujo a valores próximos a los basales. El doble producto tampoco se modificó de forma significativa. (Figura 4.4)

La presión telediastólica del ventrículo izquierdo no se modificó con la infusión i.c. de L-NAME, respecto a su valor basal, mientras que aumentó de forma significativa tras la administración de cocaína. (Tabla 4.8)

Tabla 4.8. Parámetros hemodinámicos

Grupo 2 (n=16)	FC lpm	TAS mmHg	DP lpm x mmHg	PTDVI mmHg
Basal	72±17	93±16	5860±1240	11±3
L-NAME	60±12*	105±22*	6250±1680	10±2
L-NAME + Cocaína	66±9 [†]	99±20	6020±1730	13±3 [†]

* p<0.05 versus basal, [†] p<0.05 versus L-NAME

FC: Frecuencia cardíaca, TAS: Tensión arterial sistólica. DP, Doble producto: FC x TAS;

PTDVI: Presión telediastólica ventrículo izquierdo.

4.3.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.

Tras la administración de L-NAME la longitud telediastólica y telesistólica experimentaron un aumento significativo, sin producirse cambios en la fracción de acortamiento.

Después de la administración de cocaína se observó un aumento de la longitud telesistólica de la fibra miocárdica (6.8 ± 1.1 mm basal vs 7.1 ± 1 mm con L-NAME vs 7.7 ± 1.2 mm al añadir cocaína, $p < 0.05$). Este alargamiento de la fibra miocárdica en telesístole, da lugar a un descenso muy significativo de la fracción de acortamiento. (Tabla 4.9)

Tabla 4.9. Contractilidad de la fibra miocárdica

Grupo 2 (n=16)	LTD mm	LTS mm	FA %
Basal	7.8 ± 1.3	6.8 ± 1.1	12 ± 2
L-NAME	$8.1 \pm 1.2^*$	$7.1 \pm 1.0^*$	12 ± 3
L-NAME + Cocaína	8.0 ± 1.2	$7.7 \pm 1.2^\dagger$	$4 \pm 2^{\dagger\dagger}$

* $p < 0.05$ versus basal, $^\dagger p < 0.05$ versus L-NAME $^{\dagger\dagger} p < 0.0001$ versus L-NAME

LTD: Longitud telediastólica de la fibra miocárdica, LTS: Longitud telesistólica de la fibra miocárdica, FA: Fracción de acortamiento.

4.3.3. Flujo coronario y resistencias coronarias.

Con la infusión de L-NAME i.c. el flujo sanguíneo coronario se redujo en un 20% (26 ± 11 basal vs. 20 ± 10 tras L-NAME). Las resistencias coronarias aumentaron en un 58% después de 30 minutos de administrar L-NAME i.c. Al

añadir la cocaína e.v., no se detectaron cambios significativos del flujo coronario ni de las resistencias coronarias. (Tabla 4.10 y Figura 4.5)

Tabla 4.10. Flujo coronario y resistencias coronarias

Grupo 2 (n=16)	FSC ml/min	RC mmHg/ml/min
Basal	26±11	6.3±3.1
L-NAME	20±10*	10±7
L-NAME + Cocaína	20±11	11.6±7

*p<0.05 versus basal

FSC: Flujo sanguíneo coronario, RC: Resistencias coronarias

4.3.4. Parámetros adicionales de función ventricular.

En cinco animales de este grupo, se determinó la dP/dt del ventrículo izquierdo, el gasto cardíaco y las resistencias vasculares sistémicas. (Tabla 4.11)

La dP/dt del ventrículo izquierdo, el gasto cardíaco y las resistencias vasculares sistémicas no variaron de forma significativa a los 30 min. de la administración de L-NAME intracoronaria.

Al añadir cocaína endovenosa simultáneamente a la perfusión de L-NAME i.c. se produjo una reducción de la dP/dt y del gasto cardíaco y un aumento de las resistencias vasculares sistémicas, como se muestra en la tabla 4.11.

Tabla 4.11.

Grupo 2 (n=5)	dP/dt VI mmHg/seg	GC L/min	RVS mmHg/L/min
Basal	2036±367	1.6±0.5	3095±1018
L-NAME	1896±320	1.3±0.4	4091±1779
L-NAME + Cocaína	1398±510*	1.1±0.4*	4812±2476*

*p<0.05 versus L-NAME

dP/dt VI: dP/dt del ventrículo izquierdo, GC: Gasto cardíaco, RVS: Resistencias vasculares sistémicas.

La administración conjunta de L-NAME i.c. y cocaína e.v. según el protocolo establecido produjo una depresión de la función ventricular, con una caída en la fracción de acortamiento, la dP/dt del ventrículo izquierdo, el gasto cardíaco y un aumento de la presión telediastólica del ventrículo izquierdo. (Figura 4.3)

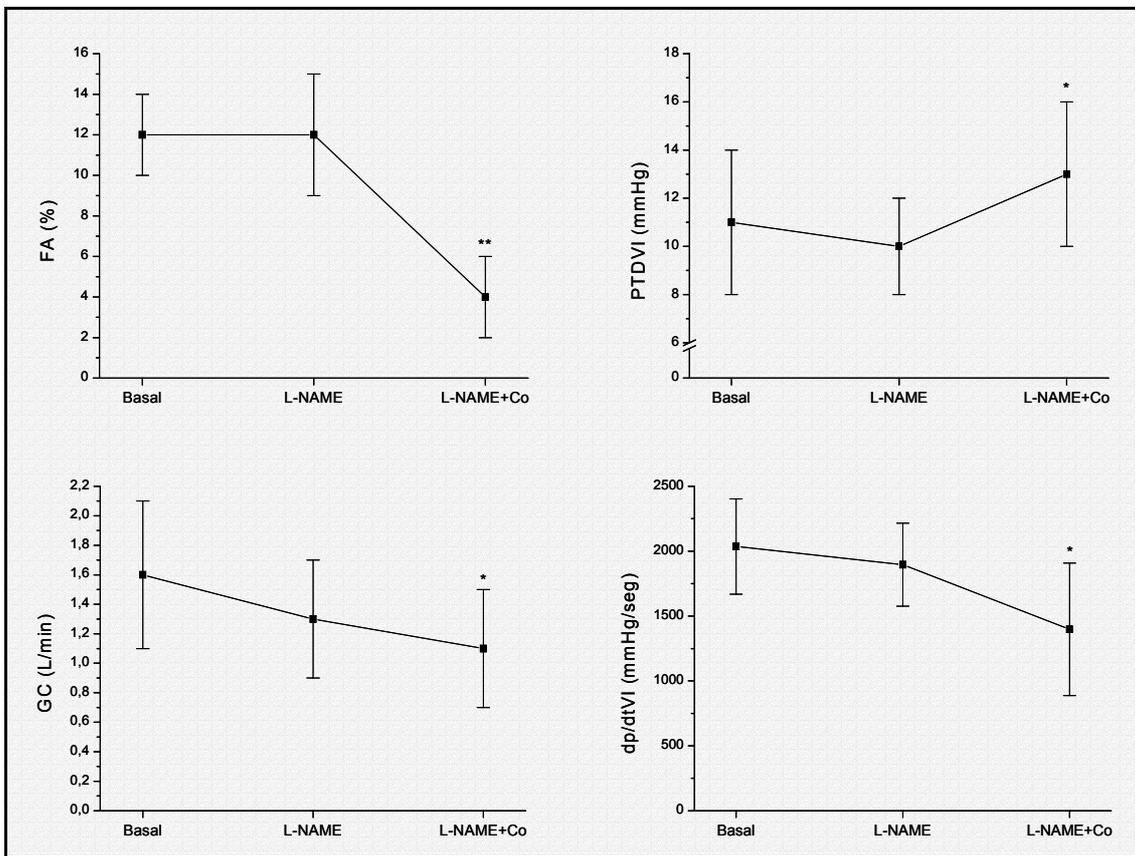


Figura 4.3. Media y desviación estándar de la fracción de acortamiento, presión telediastólica, gasto cardíaco y dp/dt. En estado basal, tras L-NAME y después de cocaína. La administración de L-NAME no modificó los parámetros de función ventricular, mientras que al añadir cocaína se alteran todos los parámetros analizados, induciendo una marcada depresión de la función sistólica.

(*p<0.0001, *p<0.05)

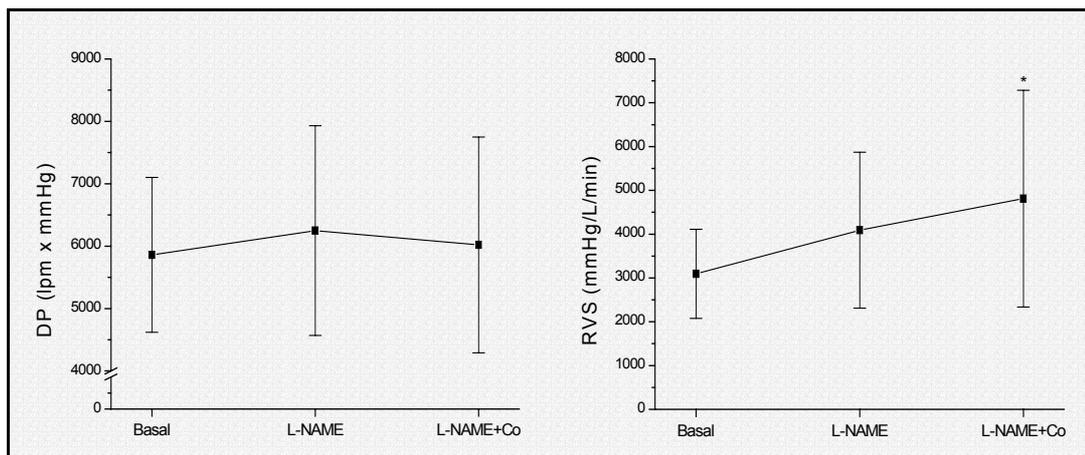


Figura 4.4. Media y desviación estándar del doble producto y resistencias vasculares sistémicas. La administración de L-NAME provoca una tendencia al aumento del doble producto y de las resistencias vasculares sistémicas. Al añadir cocaína se produce un aumento significativo de las resistencias vasculares sistémicas. (* $p < 0.05$)

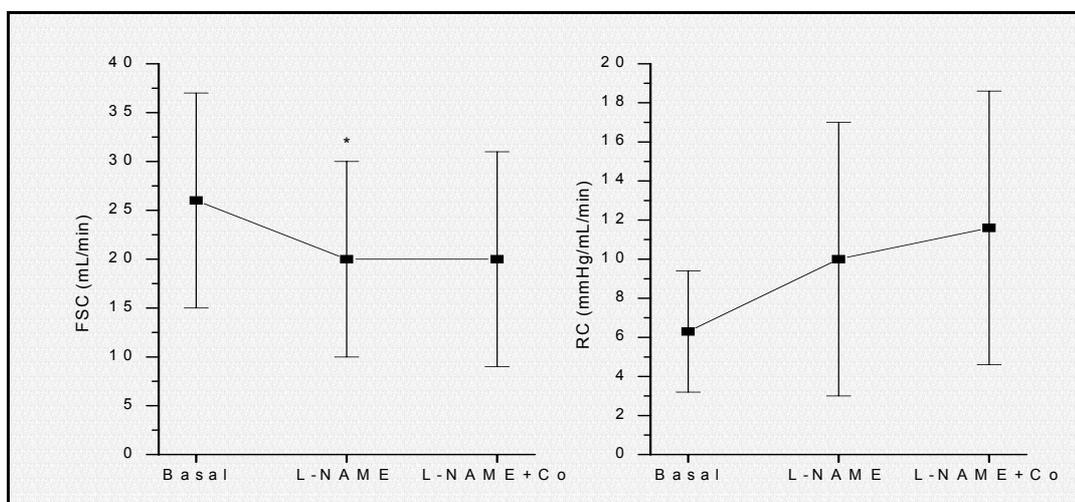


Figura 4.5. Media y desviación estándar del flujo coronario y de las resistencias coronarias. La administración de L-NAME causa un descenso del 20% del flujo coronario (* $p < 0.05$). En la gráfica de la izquierda se observa una clara tendencia al aumento de las resistencias coronarias tras L-NAME.

4.4. GRUPO DE INTERVENCION 3.

Estenosis mecánica coronaria y cocaína.

4.4.1. Parámetros hemodinámicos.

Al reducir el flujo sanguíneo coronario en un 20% respecto a su valor basal (31 ± 10 ml/min vs 23 ± 7 ml/min.), mediante la aplicación de una oclusión mecánica externa, no se produjo ningún cambio significativo de la frecuencia cardíaca ni de la presión arterial. (Tabla 4.12)

Tras la administración de cocaína e.v. tampoco se modificaron significativamente la frecuencia cardíaca, la presión arterial ni el doble producto.

Tabla 4.12. Parámetros hemodinámicos

Grupo 3.1 (n= 9)	FC lpm	TAS mmHg	DP lpm x mmHg
Basal	61±14	99±12	6030±1680
Estenosis coronaria	61±17	101±12	6160±1680
Estenosis + Cocaína	62±15	91±22	5640±1360

*p<0.05

FC: Frecuencia cardíaca, TAS: Tensión arterial sistólica, DP, Doble producto: FC x TAS.

4.4.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.

La función ventricular permaneció estable después de la reducción del 20% del flujo sanguíneo en la arteria coronaria descendente anterior (Tabla 4.13).

Tras la administración de cocaína e.v. la longitud telesistólica del ventrículo izquierdo aumentó de forma significativa, sin producirse cambios de la longitud telediastólica; dando lugar a una reducción significativa de la fracción de acortamiento (Tabla 4.13). El porcentaje de reducción de la fracción de acortamiento que se obtuvo es similar al obtenido al administrar cocaína sola y menor al que se produjo con la administración simultánea de cocaína e.v. y L-NAME i.c. (Figura 4.6)

Tabla 13. Contractilidad de la fibra miocárdica

Grupo 3.1 (n= 9)	LTD mm	LTS mm	FA %
Basal	6.1±1.2	5.0±1	17±4
Estenosis coronaria	6.1±1.1	5.0±1	16±4
Estenosis + Cocaína	5.9±1	5.4±1*	8±3*

*p= 0.005 versus estenosis coronaria

LTD: Longitud telediastólica de la fibra miocárdica, LTS: Longitud telesistólica de la fibra miocárdica, FA: Fracción de acortamiento.

4.4.3. Flujo coronario y resistencias coronarias

Al reducir el flujo coronario en un 20% mecánicamente, las resistencias coronarias no se modificaron de forma significativa. Al administrar cocaína e.v. tampoco se modificó de forma significativa el flujo coronario ni las resistencias coronarias (Tabla 4.14).

Tabla 14. Flujo coronario y resistencias coronarias

Grupo 3.1 (n=9)	FSC ml/min	RC mmHg/ml/min
Basal	31±10	2.1±0.7
Estenosis coronaria	23±7	2.9±0.9
Estenosis + Cocaína	25±8	2.7±0.7

FSC: Flujo sanguíneo coronario RC: Resistencias coronarias

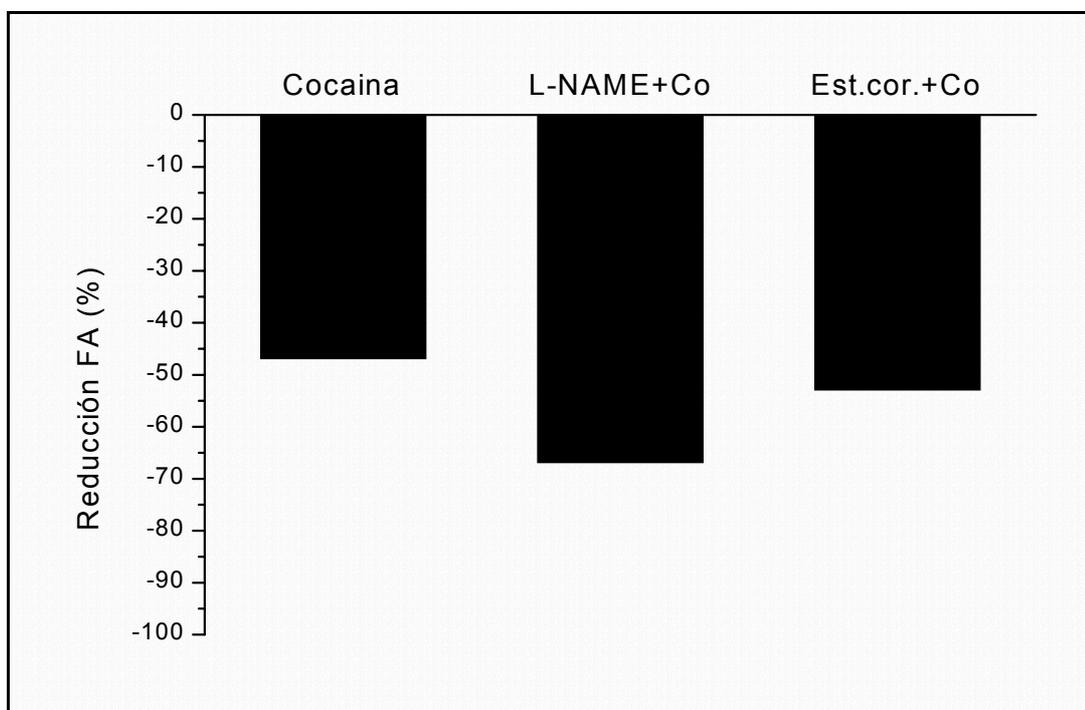


Figura 4.6. Gráfica que expresa el porcentaje de reducción de la fracción de acortamiento(FA) en los diferentes grupos analizados. Con la administración de cocaína (Grupo de intervención 1) y en el grupo de estenosis mecánica coronaria y cocaína (Grupo de intervención 3) se produjo una reducción similar en la fracción de acortamiento, del 47% y 50% respectivamente. En el grupo de la L-NAME y cocaína (Grupo de intervención 2) el porcentaje del 67% de reducción en la FA es de mayor magnitud que en los dos grupos anteriores.

4.5. GRUPO DE INTERVENCIÓN 4.

Administración de L-Arginina + L-NAME y cocaína.

4.5.1. Parámetros hemodinámicos.

La administración conjunta de L-NAME y L-Arginina intracoronarias no produjo ningún cambio significativo de la frecuencia cardíaca, no obstante la presión arterial aumentó ligeramente, sin modificarse el doble producto.

Al añadir cocaína e.v. se observó una tendencia a disminuir la presión arterial y aumentar la presión telediastólica del ventrículo izquierdo sin alcanzar un valor significativo. (Tabla 4.15)

Tabla 4.15. Parámetros hemodinámicos

Grupo 3.2 (n= 5)	FC lpm	TAS mmHg	DP lpm x mmHg	PTDVI mmHg
Basal	69±16	97±11	6634±1168	14±5
L-NAME+Arginina	65±17	106±12*	6773±1228	15±5
Cocaína	66±4	93±16	6214±1454	17±5

*p<0.05

FC: Frecuencia cardíaca, TAS: Tensión arterial sistólica, DP, Doble producto: FC x TAS; PTDVI: Presión telediastólica ventrículo izquierdo.

4.5.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica

En la tabla 4.16 observamos como la administración conjunta de L-NAME y L-Arginina i.c. aumentó la longitud, tanto telesistólica como telediastólica de la fibra miocárdica, y por tanto la fracción de acortamiento no se modificó con esta intervención.

En estos animales, al añadir la cocaína e.v. se produjo un aumento significativo en la longitud telesistólica, sin aumentar la longitud telediastólica, dando lugar a una reducción de la fracción de acortamiento (Tabla 4.16 y Figura 4.7). Reducción, similar a la observada con la administración de cocaína e.v. sola y a la obtenida con la cocaína e.v. después de provocar una estenosis coronaria mecánica.

Tabla 4.16. Contractilidad de la fibra miocárdica

Grupo 3.2(n= 5)	LTD mm	LTS mm	FA %
Basal	8.4±2.2	6.9±1.8	18±2
L-NAME+Arginina	8.6±2.2*	7.2±1.9*	17±2
Cocaína	8.5±2.3	7.7±2.2 [†]	9±3 ^{††}

*p<0.05 versus basal [†]p<0.05 ^{††}p<0.001 versus L-NAME-Arginina.

LTD: Longitud telediastólica de la fibra miocárdica, LTS: Longitud telesistólica de la fibra miocárdica, FA: Fracción de acortamiento.

4.5.3. Flujo coronario y resistencias coronarias

Cuando se administró L-Arginina i.c. simultáneamente con L-NAME no se produjo ningún cambio en el flujo coronario ni en las resistencias coronarias. Al añadir cocaína e.v. estas variables tampoco se modificaron de forma significativa (Tabla 4.17).

Tabla 4.17. Flujo coronario y resistencias coronarias

Grupo 3.2 (n= 5)	FSC ml/min	RC mmHg/ml/min
Basal	36±11	2.4±1.1
L-NAME+Arginina	37±13	2.6±1.4
Cocaína	30±12	3.3±1.3

FSC: Flujo sanguíneo coronario, RC: Resistencias coronarias

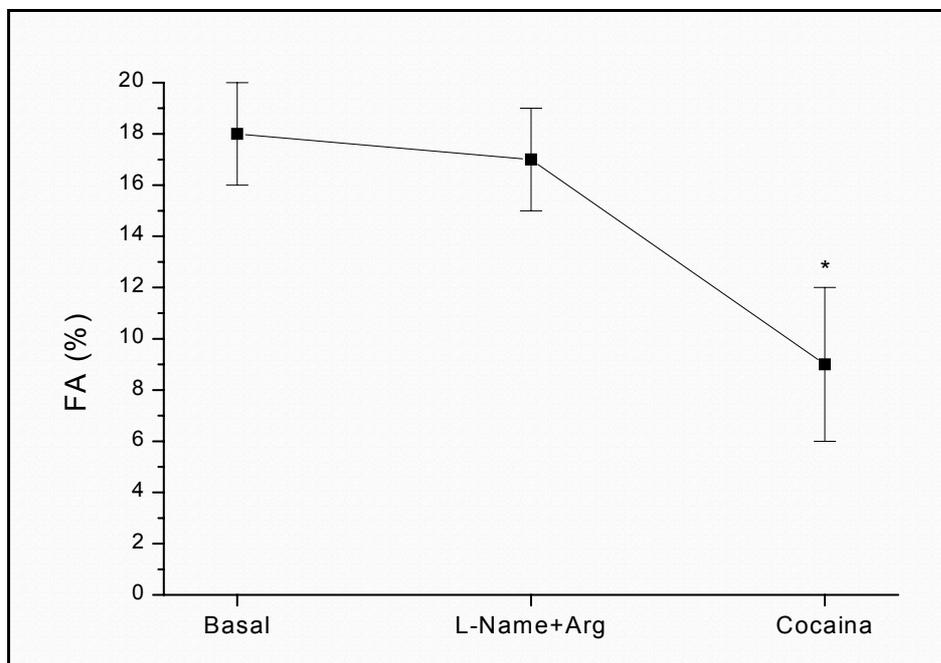


Figura 4.7. En esta gráfica se muestra la reducción de la fracción de acortamiento (FA) tras la administración de cocaína. La FA pasa de ser del $18 \pm 2\%$ basal al $17 \pm 2\%$ tras la administración conjunta de L-NAME+L-Arginina, reduciéndose al $9 \pm 3\%$ al administrar la cocaína ($p < 0.001$). Esta reducción del 47% del valor de la FA, es similar a la obtenida con la cocaína sola y con la estenosis mecánica coronaria + cocaína (Grupos de intervención 1 y 3), y menor a la que se observa en el grupo de la L-NAME + cocaína (Grupo de intervención 2).

4.6. GRUPO DE INTERVENCION 5.

Administración de Nitroglicerina + L-NAME y cocaína.

4.6.1. Parámetros hemodinámicos

Con la administración simultanea de NTG i.c. y L-NAME i.c., se produjo un ligero aumento de la presión arterial, sin modificar la frecuencia cardíaca ni el doble producto. Al administrar la cocaína e.v. se observó un aumento del doble producto y de la presión telediastólica del ventrículo izquierdo, que no llegaron a ser significativos. (Tabla 4.18)

Tabla 4.18. Parámetros hemodinámicos

Grupo 3.1 (n=5)	FC lpm	TAS mmHg	DP lpm x mmHg	PTDVI mmHg
Basal	63±10	94±11	5981±1365	7±1
NTG+L-NAME	59±6	103±12*	6122±1261	8±1
Cocaína	70±15	103±13	7374±2267	11±4

*p< 0.05 versus basal.

FC: Frecuencia cardíaca, TAS: Tensión arterial sistólica, DP, Doble producto : FC x TAS ;

PTDVI: Presión telediastólica ventrículo izquierdo.

4.6.2. Parámetros de contractilidad de la fibra miocárdica.

La administración simultánea de nitroglicerina i.c. y L-NAME no modificó los diámetros telediastólico y telesistólico de la fibra miocárdica, ni la fracción de acortamiento. Al administrar cocaína e.v. aumentó el diámetro telesistólico, dando lugar a una reducción de la fracción de acortamiento, como se muestra en la tabla 4.19, la reducción de la FA fue similar a la obtenida con cocaína e.v. sola y al administrar cocaína e.v. después de una estenosis mecánica y tras la infusión i.c. de L-NAME y L-Arginina (Figura 4.8).

Tabla 19. Contractilidad de la fibra miocárdica

Grupo 3.3 (n=5)	LTD mm	LTS mm	FA %
Basal	5.9±1.4	5.1±1.1	14.2±1.6
NTG+L-NAME	5.9±1.3	5.1±1.1	14.6±1.5
Cocaína	5.9±1.4	5.5±1.3**	7±2.2**

**p<0.005 versus L-NAME y NTG.

LTD: Longitud telediastólica de la fibra miocárdica, LTS: Longitud telesistólica de la fibra miocárdica, FA: Fracción de acortamiento

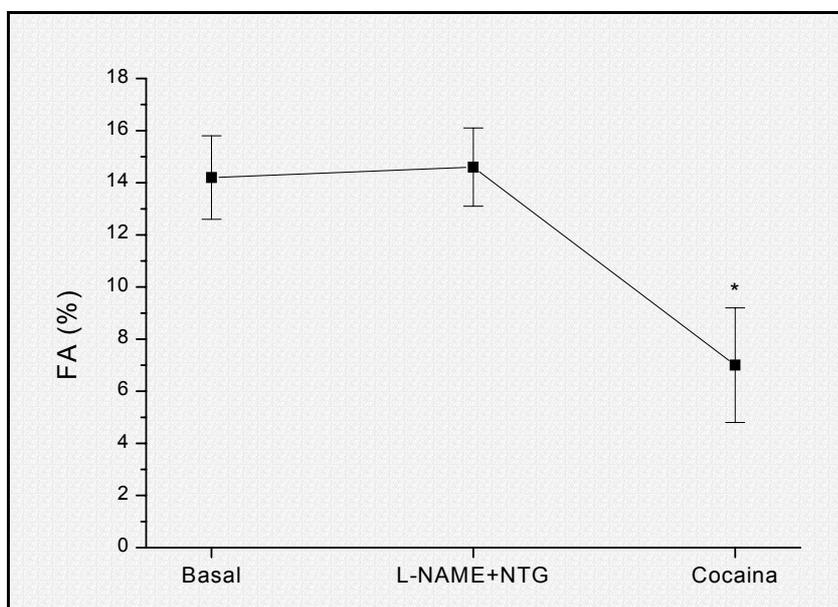


Figura 4.8. En esta gráfica se muestra la reducción de la fracción de acortamiento (FA) tras la administración de cocaína. La FA pasó de ser del $14 \pm 2\%$ basal al $14 \pm 6\%$ tras la administración conjunta de L-NAME+NTG, reduciéndose al $7 \pm 2.2\%$ al administrar la cocaína ($p < 0.005$). Esta reducción del 52% del valor de la FA, es similar a la obtenida con la cocaína sola (Grupo de intervención 1), con la estenosis mecánica coronaria + cocaína (Grupo de intervención 3) y en el grupo de la L-Arginina + cocaína (Grupo de intervención 4); y menor a la observada en el grupo de la L-NAME + cocaína (Grupo de intervención 2).

4.6.3. Flujo coronario y resistencias coronarias

Con la administración de NTG y L-NAME no se modificaron de forma significativa, ni el flujo coronario, ni las resistencias coronarias. Al administrar la cocaína e.v. se observó un aumento significativo de las resistencias coronarias. (Tabla 4.20 y Figura 4.9).

Tabla 4.20. Flujo coronario y resistencias coronarias

Grupo 3.3 (n=5)	FSC ml/min	RC mmHg/ml/min
Basal	39±13	2±0.9
NTG+L-NAME	35±14	2.5±1.2
Cocaína	33±12	2.8±1.3*

*p< 0.05 versus L-NAME y NTG.

FSC: Flujo sanguíneo coronario RC: Resistencias coronarias

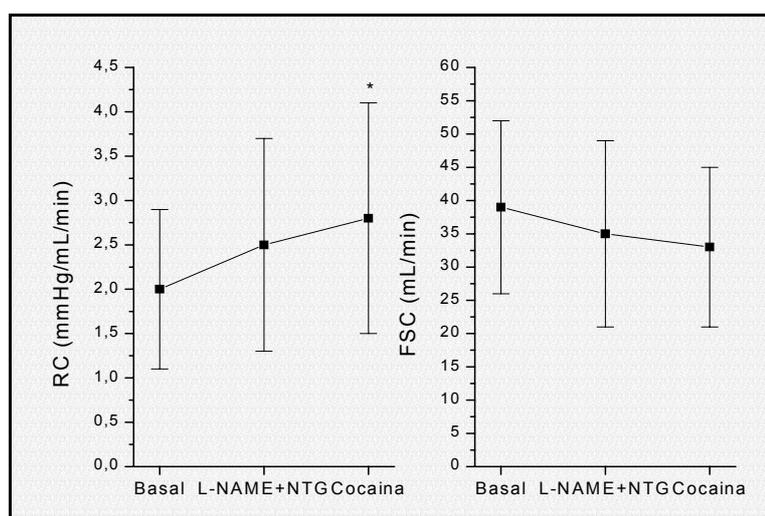


Figura 4.9. Al administrar la cocaína se obtuvo una tendencia al descenso del flujo coronario y un aumento significativo de las resistencias coronarias.

4.6.4. Parámetros adicionales de función ventricular.

La dP/dt del ventrículo izquierdo no se modificó con la administración conjunta de NTG y L-NAME i.c., sin embargo al añadir la cocaína e.v., esta se redujo de forma significativa, como se muestra en la tabla 4.21.

El gasto cardíaco se redujo de forma significativa con la administración de NTG y L-NAME, descenso que se incrementó con la perfusión de cocaína e.v. (Tabla 21)

Al administrar conjuntamente NTG y L-NAME se observó a nivel sistémico un aumento de las resistencias vasculares. Al añadir la cocaína e.v. se produjo un aumento adicional de las resistencias vasculares, como muestran los valores de la Tabla 4.21 y su representación gráfica en la Figura 4.10.

Tabla 4.21

Grupo 3.3 (n=5)	dP/dtVI mmHg/seg	GC L/min	RVS mmHg/L/min
Basal	1635±235	1.1±0.5	5955±3696
NTG+L-NAME	1622±225	1±0.4*	7309±4033**
Cocaína	1483±178 [†]	0.7±0.5 [†]	11862±6153 [†]

* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ versus basal, [†] $p < 0.05$ versus L-NAME y NTG

dP/dt VI: dP/dt del ventrículo izquierdo, GC: Gasto cardíaco, RVS: Resistencias vasculares sistémicas.

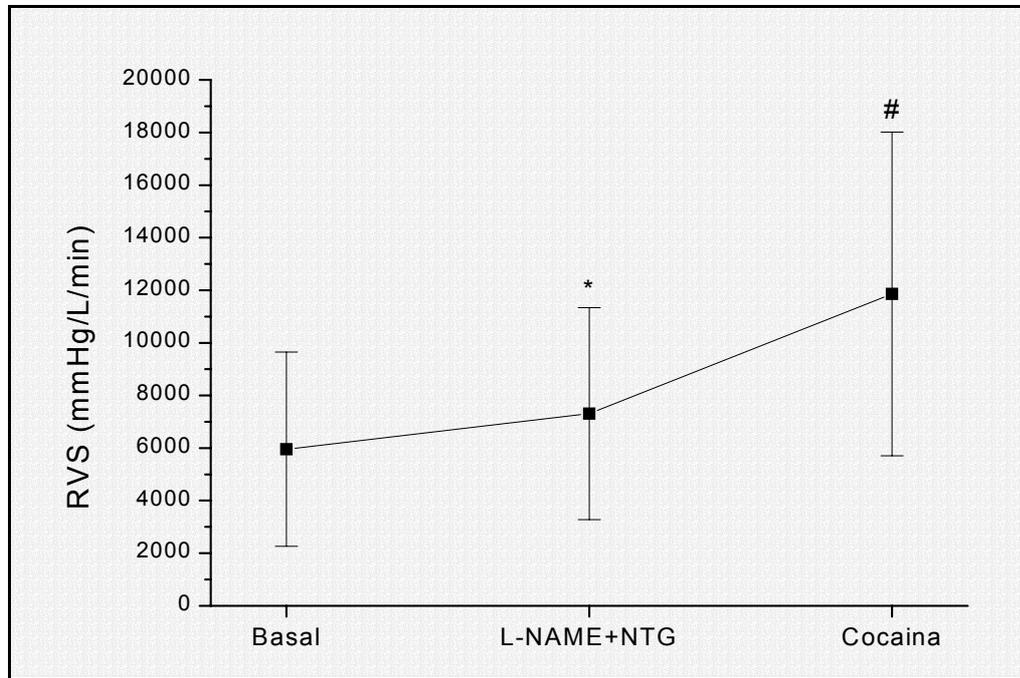


Figura 4.10. Gráfico que ilustra el progresivo aumento de las resistencias vasculares sistémicas, en primer lugar tras la administración de L-NAME y NTG i.c., y a continuación de la administración de la cocaína e.v.

* $p < 0.005$, # $p < 0.05$

4.7. COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS.

No se observaron diferencias entre los cinco grupos, respecto a los valores basales de presión arterial, frecuencia cardíaca, flujo coronario o en la fracción de acortamiento. La dosis total de cocaína que producía el máximo efecto sobre los parámetros hemodinámicos fue similar entre los grupos estudiados. La concentración plasmática media de cocaína cinco minutos después de finalizar su administración fue de 2.97 ± 1.8 ng/ml.

La reducción de la fracción de acortamiento inducida por la cocaína en los grupos de intervención, fue significativa respecto al placebo, utilizando el test estadístico de Anova ($p < 0.002$). La reducción de la fracción de acortamiento inducida por la cocaína después de la infusión intracoronaria de L-NAME fue significativamente mayor que la obtenida con la administración de cocaína sola o tras la administración de cocaína después de la reducción mecánica del flujo sanguíneo coronario, de la administración de L-Arginina-L-NAME y de la administración de NTG-L-NAME (Figura 4.11).

Al administrar L-NAME en el grupo de intervención 2 la reducción del flujo coronario y el aumento de las resistencias coronarias que se observó fue mayor que en el resto de grupos de intervención (Figura 4.12). Como se muestra en la Tabla 4.22 en estos animales se obtuvo una mayor reducción de la fracción de acortamiento de la fibra miocárdica.

El aumento de las resistencias vasculares sistémicas observado después de la administración de cocaína en los diferentes grupos de intervención donde

se analizó esta variable (Tabla 4.23) puede contribuir en parte al efecto depresor de la cocaína sobre la función ventricular.

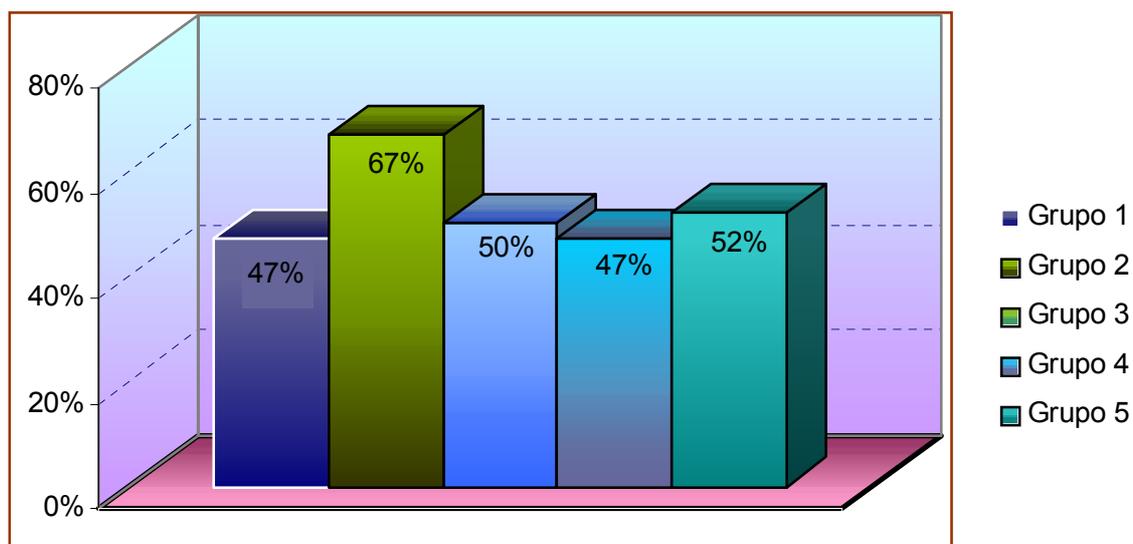


Figura 4.11. Cambios en la fracción de acortamiento de la fibra muscular (FA) del ventrículo izquierdo, antes y después de la administración de cocaína en los cinco grupos de intervención. El gráfico muestra la mayor reducción de la FA en el grupo de intervención 2 (67%) que se produce al administrar la cocaína tras la inhibición del óxido nítrico (ON) con L-NAME. En el resto de grupos de intervención la caída de la FA fue similar, entorno al 50%.

Grupos de intervención		FSC ml/min	RC mHg/ml/min	FA %
Grupo 1 n=17	Basal	27±13	4.5±1.1	15±4
	Cocaína	27±18	4.5±1.1	8±4*
Grupo 2 n=16	Basal	26±11	6.3±3.1	12±2
	L-NAME	20±10*	10±7	12±3
	Cocaína	20±11	11.6±7	4±2**
Grupo 3 n=9	Basal	31±10	2.1±0.7	17±4
	Est. Coro.	23±7	2.9±0.9	16±4
	Cocaína	25±8	2.7±0.7	8±3 [#]
Grupo 4 n=5	Basal	36±11	2.4±1.1	18±2
	L-Arg+L-NAME	37±13	2.6±1.4	17±2
	Cocaína	30±12	3.3±1.3	9±3 ^{##}
Grupo 5 n=5	Basal	39±13	2±0.9	14.2±1.6
	NTG+L-NAME	35±14	2.5±1.2	14.6±1.5
	Cocaína	33±12	2.8±1.3*	7±2.2 ^{###}

Tabla 4.22. La tabla muestra los valores del Flujo coronario (FSC), Resistencias coronarias (RC) y Fracción de acortamiento (FA) en cada grupo de intervención. En todos los grupos de intervención la administración de cocaína redujo la FA.

En el grupo 1 la cocaína causó un descenso de la FA sin alterar el flujo coronario ni las resistencias coronarias.

En el grupo 2 el pretratamiento con L-NAME produjo un descenso de FSC y una clara tendencia al aumento de las resistencias coronarias. En este grupo fue donde se observó una mayor reducción de la FA al administrar la cocaína.

En el grupo 3 al reducir el flujo coronario mecánicamente, no se alteraron las resistencias coronarias y al añadir la cocaína, la FA se redujo en la misma proporción que con solo cocaína.

En el grupo 4 al contrarrestar la inhibición del ON de la L-NAME con L-Arginina, no se modificaron el flujo coronario ni las resistencias coronarias y el grado de reducción de la FA tras la cocaína fue similar a la obtenida con solo cocaína.

En el grupo 5 la administración simultánea de nitroglicerina con la L-NAME, amortiguó los efectos de la inhibición del ON sobre el flujo coronario y las resistencias coronarias. Al administrar la cocaína la reducción de la FA también fue similar a la obtenida con solo cocaína.

Grupo 1 * $p < 0.05$, Grupo 2 ** $p < 0.0001$, Grupo 3 [#] $p < 0.005$, Grupo 4 ^{##} $p < 0.001$, Grupo 5 * $p < 0.05$, ^{###} $p < 0.005$

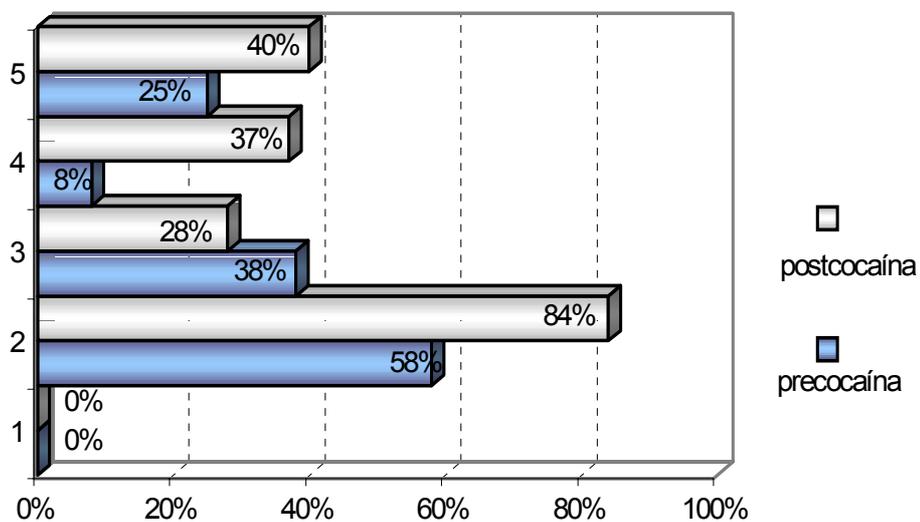


Figura 4.12. En este gráfico se puede apreciar como en el grupo de intervención 2, se produjo un mayor aumento de las resistencias coronarias al administrar L-NAME y al añadir posteriormente la cocaína que en el resto de grupos de intervención.

Los números expresan en porcentaje la modificación de las resistencias coronarias después de cada intervención específica de cada grupo (barra azul) y después de añadir la cocaína (barra gris).

Grupos de intervención		DP ml/min	RVS mHg/ml/min	FA %
Grupo 1	Basal	5730±1560	3742±1288	15±4
	Cocaína	6120±3910	5484±3111	8±4*
Grupo 2	Basal	5860±1240	3095±1018	12±2
	L-NAME	6250±1680	4091±1779	12±3
	Cocaína	6020±1730	4812±2476*	4±2 [†]
Grupo 5	Basal	5981±1365	5955±3696	14.2±1.6
	NTG+L-NAME	6122±1261	7309±4033**	14.6±1.5
	Cocaína	7374±2267	11862±6153*	7±2.2

Tabla 4.23. En 5 animales de cada uno de estos tres grupos se analizaron las resistencias vasculares sistémicas (RVS). En los tres grupos la cocaína produjo un aumento de las RVS, que alcanzó un valor significativo en el grupo 2 y 5. El doble producto no se modificó en ninguno de estos tres grupos. De los datos expuestos en esta tabla se desprende que la mayor reducción de la FA en el grupo 2 no estaría directamente relacionada con un mayor aumento en este grupo de las resistencias vasculares sistémicas. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, [†] $p < 0.0001$.

5. DISCUSIÓN

El presente estudio examina los efectos de la administración aguda de cocaína sobre la función contráctil del miocardio y el flujo coronario, y si estos efectos se ven modificados tras la inhibición de la síntesis de óxido nítrico con la administración de L-NAME. Para ello hemos utilizado un modelo experimental animal con cerdos anestesiados con pentobarbital.

Los resultados principales de nuestro estudio confirman las observaciones previas que la cocaína induce una depresión directa de la contractilidad miocárdica, independiente de los cambios en el flujo coronario. Además, demuestran que la inhibición de la síntesis de óxido nítrico aumenta la disfunción ventricular inducida por la cocaína.

1. Efectos de la administración aguda de cocaína sobre el flujo coronario y la función ventricular.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que la administración de 10mg/Kg de cocaína endovenosa causa una depresión de la contractilidad del ventrículo izquierdo en el cerdo sometido a anestesia general con pentobarbital. La cocaína modificó todos los parámetros de función ventricular analizados: disminuyó la dP/dt del ventrículo izquierdo y el gasto cardíaco, aumentó la presión telediastólica del ventrículo izquierdo y redujo la fracción de acortamiento de la fibra miocárdica.

Esta alteración de la función ventricular se produjo sin que se modificaran de forma significativa el flujo coronario, las resistencias coronarias ni el doble producto.

La cocaína al inhibir la recaptación de catecolaminas a nivel presináptico, posee un efecto simpaticomimético intenso²⁹, que se traduce a nivel de la musculatura lisa vascular en una vasoconstricción por estimulación de los receptores alfa-adrenérgicos. En la circulación sistémica la cocaína aumenta las resistencias vasculares y la presión arterial, y en la circulación coronaria reduce el diámetro de los vasos epicárdicos, aumenta las resistencias coronarias y disminuye el flujo coronario. Los efectos cardiovasculares de la cocaína dependen del modelo experimental y de la dosis de cocaína utilizadas. En el animal sometido a anestesia con pentobarbital y por tanto sin la integridad del sistema nervioso autónomo, la respuesta adrenérgica esta amortiguada, y el aumento de las resistencias vasculares coronarias y sistémicas, así como el ascenso de la presión arterial, prácticamente quedan abolidos^{29,38}.

En nuestro estudio la administración de cocaína produjo un aumento significativo de la frecuencia cardiaca, paralelamente la presión arterial sistólica tendió a reducirse y el doble producto no se modificó sustancialmente. Se observó una tendencia al aumento de las resistencias vasculares sistémicas sin llegar a alcanzar un valor significativo. El flujo coronario y las resistencias coronarias tampoco se modificaron con la administración de cocaína. Los efectos directos de la cocaína sobre el flujo

sanguíneo coronario reportados en la literatura médica son dispares, en muchos estudios^{23,38,54,55} se ha documentado una reducción del calibre de las arterias coronarias y del flujo coronario, sin embargo en otros estudios experimentales se describe una vasodilatación coronaria, o bien una ausencia de cambios significativos del flujo sanguíneo coronario^{51,60,133}.

En nuestro modelo, con animales anestesiados con pentobarbital y con el tórax abierto, la cocaína produjo una depresión de la función ventricular, sin que se modificaran ni el flujo coronario ni las condiciones de carga del ventrículo izquierdo.

Los resultados de nuestro estudio concuerdan con las observaciones previas en perros, donde una dosis alta de cocaína (4 a 10 mg/kg) provoca una inmediata y profunda alteración de la función sistólica del ventrículo izquierdo evidenciada por una caída de la dP/dt ^{38,50} la fracción de eyección^{38,49,51} y un aumento de la presión telediastólica del ventrículo izquierdo^{38,49}.

En el hombre, Pitts et al.⁶⁸ infundieron cocaína directamente en la arteria coronaria izquierda alcanzando una concentración "local" de cocaína en el seno coronario relativamente alta, similar a las concentraciones plasmáticas de los estudios llevados a cabo en el animal de experimentación; estos autores observaron un efecto inotrópico negativo sobre la función ventricular, con un aumento del volumen telesistólico y un descenso de la fracción de eyección.

La demostración que la cocaína posee un efecto depresor de la función ventricular, independiente de las alteraciones del flujo coronario y de la

modificación de los determinantes del consumo de oxígeno, indica que la cocaína tiene un efecto inotrope negativo directo sobre el músculo cardíaco. En este sentido, nuestros resultados son similares a los obtenidos por otros autores en el animal de experimentación^{23,38,49,50,51}, en músculo cardíaco aislado^{24,52}, en cultivos de miocitos⁵³ y en el hombre⁶⁸. Este efecto inotrope negativo directo de la cocaína, está relacionado con sus propiedades como anestésico local y su capacidad para inhibir los impulsos eléctricos a nivel de la membrana celular¹³⁴.

2. Efecto de la administración de cocaína, durante la inhibición del óxido nítrico con L-NAME intracoronario sobre el flujo coronario y la función ventricular.

En nuestro estudio, se demuestra además que la inhibición de la síntesis de óxido nítrico mediante la infusión de L-NAME intracoronaria, aumenta el efecto inotrope negativo inducido por la cocaína sobre la función ventricular.

Administración de L-NAME intracoronario.

La N^w-Nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME) es un antagonista competitivo de la L-Arginina en la síntesis de óxido nítrico, no posee una actividad vasoconstrictora intrínseca y no afecta a otros sistemas de la pared vascular, su acción vasoconstrictora es enteramente endotelio dependiente,

resultado de la inhibición del óxido nítrico. La administración de L-NAME intracoronaria (20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ durante 30 min.) previa a la administración de la cocaína, produjo una ligera dilatación ventricular sin alterar la función ventricular. Todos los parámetros relacionados con la función ventricular, presión telediastólica del ventrículo izquierdo, la dP/dt del ventrículo izquierdo, el gasto cardíaco y la fracción de acortamiento, no se modificaron de forma significativa con la infusión intracoronaria de L-NAME.

Al administrar directamente la L-NAME en la circulación coronaria, cabe esperar que los efectos sistémicos sean menos manifiestos que los obtenidos tras su administración endovenosa sistémica. En nuestro estudio se produjo un aumento significativo de la presión arterial sistólica y paralelamente se redujo la frecuencia cardiaca, sin finalmente alterarse el doble producto. Tampoco se modificaron sustancialmente el gasto cardíaco ni las resistencias vasculares sistémicas, estas, mostraron una ligera tendencia a aumentar sin alcanzar un valor significativo.

Por el contrario, la administración de L-NAME intracoronaria, alteró sensiblemente la circulación coronaria, produjo un descenso significativo del flujo coronario y una clara tendencia al aumento de las resistencias coronarias. Este efecto vasoconstrictor de la L-NAME observado en nuestro estudio concuerda con los hallazgos de Tschudi et al.¹³⁵, en arterias aisladas de cerdo, con observaciones previas de nuestro grupo⁹² y de otros investigadores¹³⁶. Una respuesta vasoconstrictora similar se ha descrito con otros antagonistas de la

arginina, como la N^G-Monometil L-Arginina (L-NMMA), tanto en el animal de experimentación como en el hombre^{137,138}.

En condiciones de reposo, el óxido nítrico liberado por el endotelio determina el tono vasodilatador arterial basal, el diámetro epicárdico y la perfusión miocárdica. Con la inhibición de la síntesis de óxido nítrico mediante la L-NAME se produce la pérdida de su función reguladora sobre el tono vascular basal, dando lugar a un mayor predominio del tono vasoconstrictor intrínseco a nivel de los vasos epicárdicos y de resistencia. En nuestro estudio se observó una reducción del 23% del flujo coronario y un aumento del 58% de las resistencias coronarias después de la infusión de L-NAME en la circulación coronaria.

Administración de L-NAME intracoronario y cocaína endovenosa

Transcurridos 30 minutos de la perfusión de L-NAME intracoronaria, se administró de forma simultánea la cocaína endovenosa durante 20 minutos. En estos animales no observamos una reducción adicional del flujo coronario, al añadir la cocaína. Las resistencias coronarias tampoco aumentaron de forma significativa respecto al aumento alcanzado con la L-NAME aislada.

Al añadir la cocaína e.v. se produjo un ligero descenso de la presión arterial sistólica. Este descenso de la presión arterial estaría relacionado con la depresión ventricular ejercida por la cocaína. La frecuencia cardíaca aumentó ligeramente con la administración de cocaína, sin modificarse finalmente el

doble producto. Las resistencias vasculares sistémicas que tras la administración de L-NAME i.c. presentaban una tendencia a su aumento, al añadir la cocaína presentaron un aumento adicional estadísticamente significativo.

Con la administración conjunta de L-NAME y cocaína los parámetros de la función ventricular se alteraron significativamente, se observó un aumento de la presión telediastólica del ventrículo izquierdo, un descenso de la dp/dt del ventrículo izquierdo y del gasto cardíaco, y un marcado descenso de la fracción de acortamiento de la fibra miocárdica. La reducción de la fracción de acortamiento de la fibra miocárdica obtenida mediante ultrasonidos, al administrar L-NAME y cocaína (67% de reducción de la FA) es significativamente mayor a la obtenida con la administración de cocaína sola (47% de reducción de la FA). Estos resultados demuestran que la inhibición de la síntesis del óxido nítrico a nivel de la circulación coronaria, mediante la administración de L-NAME, potencia el efecto depresor de la cocaína sobre la función ventricular.

Nuestros resultados concuerdan con las observaciones previas de Heavner et al.^{139,140} realizados en animales y en estudios "in vitro" en músculo cardíaco aislado. Estos autores observaron un aumento de la cardiotoxicidad de la cocaína y de otros anestésicos locales (bupivacaína, lidocaína y tetracaína) con la supresión de la producción de óxido nítrico mediante la administración de L-NAME endovenoso.

3. Mecanismos a través de los cuales la L-NAME potencia la depresión de la función ventricular ejercida por la cocaína.

Varios mecanismos podrían a priori estar implicados en la interacción observada en nuestro estudio entre la cocaína y la L-NAME. En el diseño de nuestro estudio incluimos tres grupos de animales con tres intervenciones distintas, con el fin de estudiar la especificidad y los posibles mecanismos, a través de los cuales, la L-NAME puede potenciar el efecto depresor de la cocaína sobre la función contráctil del miocárdio.

1. Estenosis mecánica coronaria y cocaína.

La interacción entre la L-NAME y la cocaína observada en nuestro estudio, estaría relacionada con la reducción moderada del flujo coronario epicárdico y a la vasoconstricción de la microcirculación inducidos por la L-NAME. Para investigar el papel de la microcirculación en la acción de la L-NAME, a un grupo de animales, se les redujo el flujo coronario en un porcentaje similar al observado con la administración de L-NAME, mediante la aplicación de una oclusión mecánica externa en los vasos epicárdicos.

A diferencia de la clara tendencia al aumento de las resistencias coronarias obtenidos con la administración de L-NAME i.c., en este grupo de animales, tras la reducción mecánica del flujo coronario de la arteria coronaria Descendente Anterior, las resistencias coronarias no aumentaron y el

grado de disfunción ventricular obtenido al añadir la cocaína, fue similar al inducido por la cocaína sola y menor al obtenido con la administración conjunta de L-NAME y cocaína. Estos hallazgos, indican la relación entre el efecto vasoconstrictor sobre la microcirculación de la L-NAME y el mayor grado de deterioro de la función ventricular obtenido al administrar la cocaína a los animales pretratados con L-NAME.

Al administrar L-NAME i.c., estamos interfiriendo en la acción del óxido nítrico sobre el control vasomotor de los grandes vasos epicárdicos y de los microvasos de mayor tamaño, además de interactuar con los mecanismos de control metabólico y miogénico, que tienen lugar a nivel de la microcirculación más distal, y que determinan de forma conjunta la perfusión miocárdica y su capacidad de adaptación a diferentes estímulos como son el ejercicio y la hiperemia reactiva¹⁴¹.

La vulnerabilidad del miocardio a la cocaína tras la administración de L-NAME, observada en nuestro estudio, podría estar relacionada con la isquemia miocárdica producida y a la alteración de la regulación y adaptación del flujo coronario a las necesidades metabólicas del miocardio. Reducciones ligeras del flujo coronario pueden alterar de alguna manera la contractilidad del miocardio⁵⁹, y posiblemente a aumentar su susceptibilidad a determinadas agresiones como es el caso de la administración de cocaína. Smith y Canty¹⁴² demostraron que durante la isquemia, la producción de óxido nítrico en el endotelio interviene en la regulación de las resistencias coronarias, y que su

inhibición aumenta la vulnerabilidad del miocárdio a determinados estímulos, como son la isquemia y la reducción de la presión de perfusión.

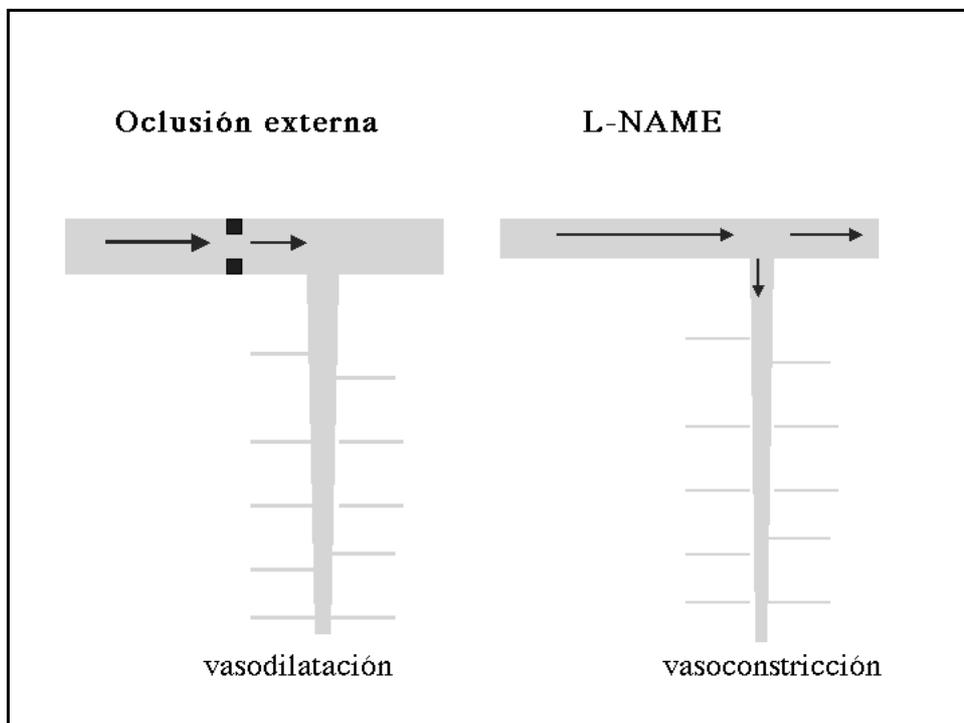


Figura 5.1. Al reducir de forma mecánica el flujo proximal, se desencadenan una serie de mecanismos de autoregulación distal a la obstrucción y a nivel de la microcirculación tendentes a contrarrestar y restablecer la perfusión. Al administrar L-NAME se inhibe el ON y se produce una reducción difusa del calibre de las arterias epicárdicas y de la microcirculación, con un aumento de las resistencias coronarias y una reducción efectiva del flujo a nivel del miocárdio.

2. Administración de L-Arginina+L-NAME y cocaína.

En nuestro estudio, al administrar conjuntamente la L-NAME y L-Arginina intracoronaria, y de esta manera contrarrestar la acción inhibitoria de la síntesis de óxido nítrico del falso substrato, no se produjo ningún deterioro de la función ventricular. Tampoco se modificaron el flujo coronario, ni las resistencias vasculares coronarias, ni tampoco las resistencias vasculares sistémicas.

Al añadir cocaína endovenosa a estos animales, se produjo una reducción de la fracción de acortamiento de la fibra miocárdica similar al obtenido con la administración de cocaína sola, y de menor cuantía al observado con la administración de L-NAME y cocaína.

Estas observaciones nos indican que la L-NAME potencia el efecto deletéreo de la cocaína sobre la función ventricular, a través de la inhibición de la síntesis de ON y a las alteraciones en la regulación del flujo coronario que acontecen secundariamente.

Con anterioridad, hemos comentado que la administración de L-NAME i.c. a razón de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. durante 30 minutos, antes de la administración de la cocaína, no modificó los parámetros de la función del ventrículo izquierdo. Estos resultados sugieren que la administración de L-NAME i.c. a la dosis de nuestro estudio no tiene, tampoco, una acción cardiodepresora. En este sentido Cohen et al.¹⁴³, con una dosis de L-NAME de 30 mg/kg endovenosa, en un modelo experimental en perros, describen un aumento de la presión arterial

media y de las resistencias vasculares sistémicas, y ningún efecto sobre la función ventricular. Sin embargo, en el mismo estudio dosis mucho más altas de L-NAME (300 mg/kg) produjeron una depresión miocárdica, no relacionada con aumentos de la postcarga, vasoconstricción coronaria o isquemia miocárdica.

3. Administración de Nitroglicerina+L-NAME y cocaína.

El mecanismo más importante en la potenciación del efecto depresor de la cocaína sobre la función ventricular por la L-NAME, es la vasoconstricción de la microcirculación coronaria. Para confirmar esta hipótesis administramos al último grupo de animales nitroglicerina intracoronaria, una sustancia vasodilatadora de los vasos epicárdicos y de la microcirculación endotelio-independiente, simultáneamente con la L-NAME y así, contrarrestar la vasoconstricción coronaria inducida por la L-NAME.

En estos animales, al administrar conjuntamente L-NAME y nitroglicerina intracoronaria, no se redujo el flujo coronario ni aumentaron las resistencias coronarias de forma significativa. Al añadirles la cocaína e.v., el grado de depresión de la función ventricular fue similar al obtenido con la administración de la cocaína sola, e inferior a la observada con la administración conjunta de L-NAME y cocaína. Estos hallazgos nos indican que la vasoconstricción de la microcirculación juega un papel importante en la

disfunción ventricular inducida por la cocaína cuando se inhibe el ON con la L-NAME.

Por otro lado, el aumento de las resistencias vasculares sistémicas, de la presión intraventricular y de los diámetros ventriculares, que hemos observado con la administración de L-NAME y al añadir la cocaína en el grupo de intervención 2, determina un aumento de la postcarga del ventrículo izquierdo y del consumo de oxígeno del miocárdio que puede contribuir en parte al deterioro de la función ventricular observada, al incidir en el desequilibrio entre la oferta y la demanda de oxígeno. Observaciones previas en el animal de experimentación, han relacionado la depresión de la función ventricular tras la administración de cocaína, con un aumento de la precarga⁴⁹ y de la postcarga^{49,144}, y a un aumento de la tensión telesistólica del miocárdio^{144,145}.

En nuestro estudio la administración de nitroglicerina i.c. contrarrestó en gran medida la vasoconstricción coronaria de la L-NAME y el flujo coronario no se modificó. Sin embargo, en este grupo de animales, como ocurría con la administración conjunta de L-NAME y cocaína, también se obtuvo un ligero aumento de la postcarga, como refleja el aumento significativo de la presión sistólica y de las resistencias vasculares sistémicas, sin modificarse pero, el doble producto.

Como hemos mencionado anteriormente, en este grupo de animales (NTG y L-NAME) al añadirles la cocaína e.v. la depresión de la función ventricular obtenida fue inferior a la observada tras la administración conjunta de L-NAME y cocaína (Grupo de intervención 2), mientras que en ambos

grupos, se producía un aumento de las resistencias vasculares sistémicas sin alterarse el doble producto. Estos resultados nos indican que en nuestro modelo experimental, con animales sometidos a anestesia, el aumento de las resistencias periféricas no es el principal responsable del mayor deterioro de la función ventricular, cuando la cocaína se administra conjuntamente con L-NAME.

La diferencia entre ambos grupos y que *a priori* podría explicar la mayor alteración de la fracción de acortamiento observada con la L-NAME y cocaína, la encontramos a nivel de la circulación coronaria. Al administrar la L-NAME i.c. (Grupo de intervención 2) se redujo el flujo coronario y aumentaron las resistencias coronarias, mientras que al administrar conjuntamente L-NAME y Nitroglicerina, el flujo coronario prácticamente no se modificó y las resistencias coronarias mostraron una menor tendencia a su aumento. En ambos grupos de animales la cocaína indujo un aumento adicional de las resistencias coronarias sin modificar el flujo coronario.

Estas observaciones refuerzan la idea de que la inhibición del óxido nítrico aumenta el efecto depresor directo de la cocaína sobre la función ventricular, mediante la alteración de los mecanismos reguladores del flujo coronario a nivel de la microcirculación.

Implicaciones clínicas

Actualmente se acepta que los factores de riesgo coronario pueden dañar al endotelio y alterar su función vasodilatadora. De hecho, la disfunción endotelial se considera el paso inicial hacia la aterosclerosis coronaria.

La cocaína presenta las propiedades de los factores de riesgo coronario clásicos¹⁴⁶, es capaz de alterar la función endotelial de las arterias coronarias y promover el desarrollo de lesiones aterosclerosas. En estudios necrópsicos y angiográficos, se ha demostrado la existencia de un proceso de aterosclerosis acelerada en los individuos consumidores crónicos de cocaína^{121,122}. En el hombre la vasoconstricción coronaria inducida por la cocaína es más pronunciada en los segmentos con estenosis que en los libres de lesiones^{65,111}, reflejando un mayor grado de alteración de la función endotelial. Muchos de los pacientes que presentan un infarto agudo de miocárdio relacionado con la cocaína son jóvenes, fumadores sin otros factores de riesgo y con una historia de consumo de cocaína¹⁴⁷, la mitad de ellos no presentan lesiones significativas en la coronariografía¹⁴⁸.

Actualmente sabemos que en el hombre, la administración aguda de cocaína puede producir una alteración de la función sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo⁶⁸. En este sentido, varios estudios realizados *in vitro*^{24,52,53} y en el animal de experimentación^{38,49-51}, demuestran que la cocaína presenta un efecto inotrópico negativo directo relacionado con sus propiedades

como anestésico local y a su capacidad de disminuir la biodisponibilidad del calcio intracelular¹⁴⁹.

Los resultados del presente estudio sugieren que la presencia de disfunción endotelial, con la consecuente alteración en la regulación del flujo coronario a nivel de la microcirculación, acentúa el efecto deletéreo de la cocaína sobre la función ventricular.

En el hombre y en el animal consciente la cocaína, debido a su efecto simpaticomimético, provoca aumentos importantes de la frecuencia cardíaca, presión arterial y contractilidad, principales determinantes de la demanda de oxígeno del miocárdio. Paralelamente la cocaína induce una vasoconstricción de las arterias epicárdicas y de los vasos de resistencia, que da lugar a una disminución del flujo coronario. En estas circunstancias, la pérdida de la integridad del endotelio coronario producida por los factores de riesgo cardiovascular o debidas al propio consumo de cocaína; puede incrementar la vasoconstricción inducida por la cocaína, y de esta manera inducir un mayor grado de isquemia del miocárdio.

La isquemia miocárdica secundaria al desequilibrio producido por el aumento de la demanda de oxígeno, asociado a vasoconstricción coronaria podría explicar algunas de las manifestaciones relacionadas con el abuso de esta droga, como son el dolor torácico, la insuficiencia cardíaca o incluso el infarto de miocárdio. La comprensión de estos mecanismos fisiopatológicos va a repercutir de forma positiva en la atención al enfermo que se presenta al

servicio de urgencias con un problema cardiovascular asociado al consumo de cocaína.

Limitaciones del estudio

El presente estudio ha sido realizado con animales anestesiados con tiopental sódico y no pueden ser extrapolados al hombre por completo. En estudios previos²⁹ se ha demostrado que la anestesia modifica los efectos hemodinámicos inducidos por la cocaína, por otra parte se han descrito diferencias en la respuesta a la cocaína entre diferentes especies¹⁵⁰. Considerando estas limitaciones pensamos que el modelo porcino usado en esta investigación, nos permite un estudio *in vivo* de la interacción entre la cocaína y la inhibición del óxido nítrico, y sus efectos sobre la función ventricular.

Aunque la disfunción endotelial se considera un proceso más complejo que el provocado por inhibición del óxido nítrico mediante L-NAME, este modelo de estudio de la disfunción endotelial mediante la administración de análogos de la L-Arginina, se ha utilizado ampliamente en investigaciones previas y nos permite una aproximación al estudio de las alteraciones en la regulación del flujo coronario que acontecen con la pérdida de la integridad del endotelio.

La dosis de cocaína utilizada en nuestro estudio, es una dosis similar a la usada en otros estudios experimentales en animales y la concentración

plasmática de cocaína en el punto de máximo efecto sobre el miocardio se encuentra dentro del rango de niveles que se obtienen después de consumir cocaína socialmente¹⁵¹ y que presentan los individuos fallecidos por intoxicación por cocaína².

6. CONCLUSIONES

1. En nuestro modelo experimental, la administración de cocaína endovenosa indujo una depresión de la contractilidad del miocardio sin modificar el flujo sanguíneo coronario. Estos resultados confirman que la cocaína posee un efecto inotrópico negativo directo sobre el miocardio.
2. La administración de cocaína, previa inhibición de la síntesis de óxido nítrico mediante la infusión de L-NAME por vía intracoronaria, produjo una depresión de la función ventricular significativamente mayor que la obtenida con la administración de cocaína aislada. Nuestros hallazgos sugieren que, la reducción del flujo coronario secundaria al bloqueo de la síntesis del óxido nítrico, puede contribuir al aumento de la disfunción ventricular observado en estas circunstancias.
3. La administración de cocaína durante reducción mecánica del flujo coronario, en un porcentaje similar al inducido con la L-NAME, provocó cambios en la función ventricular semejantes a los obtenidos con cocaína aislada. Estos hallazgos, nos indican que la reducción del flujo coronario epicárdico, no juega un papel importante en los efectos de la cocaína en este modelo experimental.

4. Al neutralizar con L-Arginina el bloqueo de la síntesis del óxido nítrico producido por la L-NAME, no se modificó el flujo coronario; en estas circunstancias, el deterioro de la función ventricular observado tras la administración de cocaína fue similar al obtenido con la administración de solo cocaína. Estos hallazgos confirman la relación entre la inhibición del óxido nítrico y el mayor efecto deletéreo de la cocaína sobre la función ventricular.

5. Al administrar conjuntamente L-NAME y una sustancia vasodilatadora endotelio-independiente como es la nitroglicerina, no se modificaron el flujo coronario ni la función ventricular. Al administrar la cocaína a estos animales el grado de depresión de la función ventricular fue similar a la obtenida con la administración de solo cocaína. Estos resultados muestran la relación entre la vasoconstricción de la microcirculación producida por la L-NAME y el mayor grado de disfunción ventricular tras la administración de la cocaína.

En resumen, la administración conjunta de cocaína y L-NAME induce un mayor deterioro de la función ventricular, secundario a la vasoconstricción de la microcirculación producida por la inhibición de la síntesis del óxido nítrico. Ello sugiere que en pacientes con factores de riesgo coronario y disfunción endotelial, los efectos de la cocaína pueden verse agravados.

7. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Gitter MJ, Goldsmith SR, Dunbar DN, Sharkey. Cocaine and Chest Pain: Clinical Features and Outcome of Patients Hospitalized to Rule Out Myocardial Infarction. *Ann Intern Med* 1991;115:277-82.
- 2.- Virmani R, Robinnowitz M, Smialek JE, Smyth DF. Cardiovascular effects of cocaine: An autopsy study of 40 patients. *Am Heart J* 1988;115:1068-75.
- 3.- Kloner RA, Hale SL, Alker KJ, Rezkalla S. The Effects of Acute and Chronic Cocaine Use on the Heart. *Circulation* 1992;85:407-19.
- 4.- Isner JM, Estes M, Thompson PD, Constanzo-Nordin MR, Subamanian R, Miller G, et al. Acute Cardiac Events Temporally Related to Cocaine Abuse. *N Engl J Med* 1986;315:1438-43.
- 5.- Wiener RS, Lockhart TL, Schwartz RG. Dilated Cardiomyopathy and Cocaine Abuse. Report of Two Cases. *Am J Med* 1986;81:699-701.
- 6.- Brody SL, Slovis CM, Wrenn KD. Cocaine-Related Medical Problems: Consecutive Series of 233 Patients. *Am J Med* 1990;88:325-331.
- 7.- Pitts WR, Lange RA, Cigarroa JE, Hillis LD. Cocaine-induced myocardial ischemia and infarction: pathophysiology, recognition, and management. *Prog Cardiovas Dis.* 1997;40:65-76.
- 8.- Smith HWB III, Liberman HA, Brody SL, Battey LL, Donahue BC, Morris DC. Acute myocardial infarction temporally related to cocaine use: clinical, angiographic, and pathophysiologic observations. *Ann Intern Med.* 1987;107:13-18.

- 9.- Office of Applied Studies. Year end 1999 emergency department data from the Drug Abuse Warning Network. Rockeville, Md. : Substance Abuse and Mental Health Services Administration, August 2000. (DHHS publication no. (SMA) 00-3462).
- 10.- Marzuk PM, Tardiff K, Leon AC. et al. Fatal injuries after cocaine use as a leading cause of death among young adults in New York City. *N Engl J Med* 1995;332:1753-7.
- 11.- Billman GE. Cocaine: A review of its toxic actions on cardiac function. *Crit Rev Toxicol* 1995;25:113-132.
- 12.- Preliminary estimates from the Drug Abuse Warning Network (DAWN) Advance report No. 2. Rockeville, Md.: Substance Abuse and Mental Health Services Administration, Office of Applied Studies, 1994:29.
- 13.- Fuente: Ministerio del interior. Plan Nacional contra las Drogas. www.mir.pnd/es.
- 14.- Pollin W. The danger of cocaine. *JAMA* 1985;254: 98.
- 15.- Qureshi AI, Fareed KS, Guterman LR, Hopkins N. Cocaine use and the Likelihood of Nonfatal Myocardial Infarction and stroke. Data From the Third national health and Nutrition Examination Survey. *Circulation* 2001;103:502-506.
- 16.- Warner EA. Cocaine Abuse. *Ann Inter Med* 1993;119:226-235.
- 17.- Warner EA. Is your patient using cocaine? Clinical signs that should raise suspicion. *Postgrad Med* 1995;98:173-180.

- 18.- Schneider DJ. Cardiac ramifications of cocaine abuse. *Coronary Artery Disease* 1991;2:267-273.
- 19.- Ness RB, Grisso JA, Hirschinger N, et al. Cocaine and tobacco use and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med* 1999;340:333-9.
- 20.- Das G. Cardiovascular effects of cocaine abuse. *Intl J Clin Pharmacol Ther Tox* 1993;31:521-528.
- 21.- Hale SL, Lehmann MH, Kloner RA. Electrocardiographic Abnormalities After Acute Administration of Cocaine in the Rat. *Am J Cardiol* 1989;63:1529-30.
- 22.- Przymara DA, Dambach HE. Direct actions of cocaine on cardiac cellular electrical activity. *Circ Res* 1989;65:185-192.
- 23.- Hale SL, Alker KJ, Rezkalla SH, Einsenhauer AC, Kloner RA. Nifedipine protects the heart from the acute deleterious effects of cocaine if administered before but not after cocaine. *Circulation* 1991;83:1437-1443.
- 24.- Morcos NC, Fairhurst AS, Henry WL: Direct but reversible effects of cocaine on the myocardium. (abstract) *J Am Coll Cardiol* 1988;9:172^a.
- 25.- Bauman JL, Grawe JJ, Winecoff AP, Hariman RJ. Cocaine-related sudden cardiac death: A hypothesis correlating basic science and clinical observations. *J Clin Pharmacol* 1994;34: 902-911.
- 26.- Clarkson CW, Chang C, Stolfi A, et al. Electrophysiological effects of high cocaine concentration on intact canine heart. *Circulation* 1993;87:950-962.

- 27.- Innoue H, Zipes BP: Cocaine-induced supersensitivity and arrhythmogenesis. *J Am Coll Cardiol* 1988, 11:867-874.
- 28.- Isner JM, Chokshi SK. Cardiovascular complications of cocaine. *Curr Probl Cardiol* 1991; 64:94-123.
- 29.- Wilkerson DR. Cardiovascular Effects of Cocaine in Conscious Dogs: Importance of Fully Functional Autonomic and Central Nervous Systems. *J Pharmacol Exp Ther* 1988;246:466-71.
- 30.- Cousineau D, Goresky, CA. and Rose CP. Decreased basal cardiac interstitial norepinephrine release after neural uptake inhibition in dogs. *Cir. Res.* 1986; 58:859-866.
- 31.- Chiueh CC and Kopin IJ. Centrally mediated release by cocaine of endogenous epinephrine and norepinephrine from the sympathoadrenal medullary system of unanesthetized rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1978;205:148-154.
- 32.- Vogpatanasin W, Mansour Y, Chavosham B et al. Cocaine stimulates the human cardiovascular System via a central mechanism of action. *Circulation* 1999;100:497-502.
- 33.- Daniel WC, Lange RA, Landau C, Willard JE, Hillis LD. Effects of the intracoronary infusion of cocaine on coronary arterial dimensions and flow in humans. *Am J Cardiol.* 1996;78:288-291.
- 34.- Lange RA, Cigarroa RG, Clyde W, Yancy JR, et al. Cocaine-induced coronary artery vasoconstriction. *N Engl J Med* 1989;321:1557-62.

- 35.- Bernardis CM. Centrally mediated hemodynamic effects of cocaine in rabbits: the role of local anesthetic actions and biogenic amine re-uptake blockage. *Eur J Pharmacol* 1996 Jun 20;307(1):33-9.
- 36.- Goldfrank LR, Hoffman RS. The cardiovascular effects of cocaine. *Ann Emerg Med* 1991;20:165-75.
- 37.- Egashira K, Morgan KG, Morgan JP. Effects of cocaine on excitation-contraction coupling of aortic smooth muscle from the ferret. *J Clin Invest* 1991;87:1322-1328.
- 38.- Hale SL, Alker KJ, Rezkalla S, Figures G, Kloner RA. Adverse effects of cocaine on cardiovascular dynamics, myocardial blood flow, and coronary artery diameter in experimental model. *Am Heart J* 1989;118:927-33.
- 39.- Vitullo JC, Karam R, Mekhai N, Wicker P, Engelmann GL, Khairallah PA: Cocaine-induced small vessel spasm in isolated rat hearts. *Am J Pathol* 1989;135:85-91.
- 40.- Shibata S, Hattori K, Sakurai I, Mori J, Fujiwara M. Adrenergic Innervation and Cocaine-Induced Potentiation of Adrenergic Responses of Aortic Strips From Young and Old Rabbits. *J Pharmacol Exp Ther* 1971;177:621-32.
- 41.- Newlin DB. Effect of cocaine on vagal tone: A common factors approach. *Drug Alcohol Depend* 1995; 37:211-216.
- 42.- Newlin DB, Wong CJ, Stapleton JM, London ED. Intravenous cocaine decreases cardiac vagal tone, vagal index (derived in Lorenz space, and heart

period complexity approximate entropy) in cocaine abusers. *Neuropsychopharmacology* 2000 Nov ; 23(5):560-8.

43.- Shannon RP, Stambler BS, Komamura K, Ihara T, Vatner F. Cholinergic Modulation of the Coronary Vasoconstriction Induced by Cocaine in Conscious Dogs. *Circulation* 1993;87:939-949

44.- Kloner RA, Hale S. Unraveling the complex effects of cocaine on the Heart. *Circulation* 1993;87:1046-1047.

45.- Stambler BS, Komamura K, Ihara T, Shannon RP. Acute intravenous cocaine causes transient depression followed by enhanced left ventricular function in conscious dogs. *Circulation* 1993; 87:1687–1697.

46.- Garfinkel A, Raetz SL, Harper RM. Heart rate dynamics after cocaine administration. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19:453–459.

47.- Schwartz AB, Janzen D, Jones RT, Boyle W: Electrocardiographic and hemodynamic effects of intravenous cocaine in awake and anesthetized dogs. *J Electrocardiol* 1989;11:1337-1342.

48.- Beckman KJ, Parker RB, Hariman RJ, Gallastegus JL, Javaid JI, Bauman JL: Hemodynamic and electrophysiological actions of cocaine. *Circulation* 1991;83:1799-1807.

49.- Bedotto JB, Lee RW, Lancaster LD, Olajos M, Goldman S. Cocaine and cardiovascular function in dogs: effects on heart and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11:1337-42.

- 50.- Abel FL, Wilson SP, Zhao RR, Fennell WH: Cocaine depresses the canine myocardium. *Cir Shock* 1989; 28: 309-319.
- 51.- Fracker TD, Temesy-Armos PN, Brewter PS, Wilkerson RD: Mechanisme of cocaine-induced myocardial depression in dogs. *Circulation* 1990; 81: 1012-1016.
- 52.-Simkhovich BZ, Kloner RA, Alker KJ, Giaconi JA. Time course of direct cardiotoxic effects of high cocaine concentration in isolated rabbit heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 23:509–516.
- 53.- Qiu Z, Morgan JP. Differential effects of cocaine and cocaethylene on intracellular Ca²⁺ and myocardial contraction in cardiac myocytes. *Br J Pharmacol* 1993; 109:293–298.
- 54.- Hayes SN, Moyer TP, Morley D, Bove AA: Intravenous cocaine causes epicardial coronary vasoconstriction in the intact dog. *Am Heart J* 1991; 121: 1639-1648.
- 55.- Egashira K, Pipers F, Rush J, Morgan JP: Intravenous cocaine causes constriction of coronary arteries in the intact miniature pig (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 21A.
- 56.- Kuhn FE, Gillis RA, Wahlstrom SK, Visner MC, Shaer GL: Cocaine induced deleterious effects on the canine coronary circulation (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1989;13:79A.
- 57.- Rongione AJ, Isner JM: Cocaine-induced contraction of vascular smooth muscle is inhibited by calcium channel blockade (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1989; 13:78^a.

58.- Chokshi SK, Gal D, Isner JM: Vasoospasm caused by cocaine metabolite: A possible explanation for delayed onset of cocaine-related cardiovascular toxicity (abstract). *Circulation* 1989;80 (suppl II):II-132.

59.- Vatner D: Correlation between acute reductions in myocardial blood flow and function in conscious dogs. *Circ Res* 1986;47:291-207.

60.- Resnick RB, Kestenbaum RS, Schwartz LK. Acute systemic effects of cocaine in man: a controlled study by intranasal and intravenous routes. *Science* 1977;195:696-698.

61.- Kumor K, Sherer M, Thompson L, Cone E, Mahaffey J, Jaffe JH: Lack of cardiovascular tolerance during intravenous cocaine infusions in human volunteers: *Life Sci* 1988;42:2063-2071.

62.- Fishman MW, Schuster CR, Resnekov L, Shick JFE, Krasnegor NA, Fennell W, Freedman DX: Cardiovascular and subjective effects of intravenous cocaine administration in humans. *Arch Gen Psychiatry* 1976;33:983-989.

63.- Lange RA, Willard JE. The cardiovascular effects of cocaine. *Heart Dis Stroke* 1993;2:136-141.

64.- Lange RA, Cigarroa RG, Flores ED et al. Potentiation of cocaine-induced coronary vasoconstriction by beta adrenergic blockade. *Ann Intern Med* 1990;112:897-903.

65.- Flores ED, Lange RA, Cigarroa RG, Hillis LD. Effect of cocaine on coronary artery dimensions in atherosclerotic coronary artery disease:

Enhanced vasoconstriction at sites of significant stenoses. *J Am Coll Cardiol* 1990;16:74-76.

66.- Brogan WC III, Lange RA, Kim AS et al. Alleviation of coronary-induced coronary vasoconstriction by nitroglicerin. *J Am Coll Cardiol* 1991;18:581-586.

67.- Richards IS, Kulkarni AP, Bremner WF. Cocaine-induced arrhythmia in human foetal myocardium in vitro. Possible mechanism for foetal death in utero. *Pharmacol Toxicol* 1990;66:150-154.

68.- Pitts WR, Vongpatanasin W, Cigarroa JE, Hillis LD, Lange RA. Effects of the Intracoronary Infusion of Cocaine on Left Ventricular Systolic and Diastolic Function in Humans. *Circulation*.1998;97:1270-1273.

69.- Escobedo LG, Ruttember AJ, Agocs MM, Anda RF, Wetli CV. Emerging patterns of cocaine use and the epidemic of cocaine overdosedeadths inDade Country, Florida. *Arch Pathol Lab Med* . 1991;115:900-905.

70.- Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*1980;288:373-6

71.- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric Oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:525-6.

72.- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9265-9.

73.- Palmer RM, Asthon DS, Moncada S. Vascularendothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-6.

74.- Feron O, Saldana F, Michel JB, Michel T. The endotelial nitric-oxide synthase-caveolin regulatory cycle. *J Biol Chem* 1998;273:3125-3128.

75.- Kelly RA, Balligand JL, Smith TW. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res* 1996;79:363-380.

76.- Alonso J, Sánchez De Miguel L, Montón M, Casado S, López Farré A. Endothelial-cytosolic proteins bind to the 3'-UTR region of the endothelial nitric oxide synthase mRNA. Regulation by tumor necrosis factor- α . *Mol. Cell Biol* 1997;5719-5726.

77.- Waldman SA, Murad F. Biochemical mechanisms underlying vascular smooth muscle relaxation: the guanylate cyclase-cyclic GMP system. *J Cardiovas Pharmacol* 1988;12:Suppl 5:S115-S118.

78.- Griffith TM, Edwards DH, Davies RL, Harrison TJ, Evans KT. EDRF coordinates the behaviour of vascular resistance vessels. *Nature* 1987;329:442-5.

79.- Moncada S. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992; 145:201-27.

80.- Beckman JS, Koppenol WH: Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996;271:C1424-1437.

81.- Mohan P, Brutsaert DL, Paulus WJ, et al. Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP. *Circulation* 1996; 93: 1223-1229.

- 82.- Haywood GA, Tsao PS, von der Leyen HE, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in human heart failure. *Circulation* 1996; 93: 1087-1094.
- 83.- Hare JM, Colucci WS. Role of nitric oxide in the regulation of myocardial function. *Prog Cardiovasc Dis* 1995 Sep-Oct;38(2):155-66.
- 84.- Drexler H. Nitric oxide synthases in the failing human heart: A double-edged sword ? (Editorial). *Circulation* 1999; 99:2972-2975.
- 85.- Balligand J-L, Kelly RA, Marsden PA, et al. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signalling system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:347-351.
- 86.- Johnson PC. Autoregulation of blood flow. *Circ Res* 1986;58:483.
- 87.- Smith TP, and Canty JM. Modulation of coronary autoregulatory responses by nitric oxide: Evidence for flow-dependent resistance adjustments in conscious dogs. *Circ. Res.* 1992;72:1296.
- 88.- Ueeda M, Silva SK, Olsson RA. Nitric oxide modulates coronary autoregulation in the guinea pig. *Cir Res* 1992;70:1296.
- 89.- Lansman JB, Hallman TJ, Rink TJ. Single stretch-activated ion channels in vascular endothelial cells as mechanotransducers ? *Nature* 1987; 325:811-813.
- 90.- Berne RM. The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. *Circ. Res.* 1980;47:807.

91.- Belardinelli L, Linden J, and Berne RM. The cardiac effects of adenosine. *Prog Cardiovasc. Dis.* 1989; 32:73.

92.- Heras M, Roig E, Pérez-Villa F, Paz M, Melis G, Rigol M, Sanz G. The role of endogenous nitric oxide in the response of coronary blood flow to tachycardia. *Coronary Artery Disease* 1996;7:149-154.

93.- Duffy SJ, Castle SF, Harper RW, Meredith IT. Contribution of vasodilator prostanoids and nitric oxide to resting flow, metabolic vasodilation, and flow-mediated dilation in human coronary circulation. *Circulation* 1999;100:1951-1957.

94.- Ishibashi Y, Ducker DJ, Zhag J, Bache RJ. ATP-sensitive K^+ channels, adenosine, and nitric oxide-mediated mechanisms account for coronary vasodilation during exercise. *Circ Res* 1998;82:346-359.

95.- Brown IP, Thompson CI, Belloni FL. Role of nitric oxide in hypoxic coronary vasodilation in isolated perfused guinea pig heart. *Am J Physiol* 1993;264:H821-H829.

96.- Cooke JP, Rossitch E, Jr, Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest* 1991;88:1663-71.

97.- Miura H, Wachtel RE, Liu Y, et al. Flow-induced dilation of human coronary arterioles: important role of Ca^{2+} -activated K^{+} channels. *Circulation* 2001;103:1992-8.

98.-Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassege E. Crucial role of the endothelium in the vasodilator response to flow in vivo. *Hypertension* 1985;8:37-44.

- 99.- Joannides R, Haefeli WE, Linder L, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995;91:1314-9.
- 100.- Vane JR, Anggard E, and Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323:27.
- 101.- Lefroy DC, Crake T, Uren NG, et al. Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on epicardial coronary artery caliber and coronary blood flow in humans. *Circulation* 1993; 88:43.
- 102.- Furchgott RF, Carvalho MH, Khan MT, and Matsunaga K. Evidence for endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels by acetylcholine. *Blood Vessels* 1987; 24:145.
- 103.- Kuo L, Davis MJ, Chillan WM. Endothelium-dependent, flow-induced dilatation of isolated coronary arterioles. *AM J Physiol* 1990; 259:H1063-H1070.
- 104.- Stamler JS, Loh E, Roddy MA, et al. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation* 1994;89:2035-2040.
- 105.- Chilian WM: Coronary microcirculation in health and disease. Summary of an NHLBI workshop. *Circulation* 1997;95:522-528.
- 106.- Feigl EO. Neural control of coronary blood flow. *J Vasc Res* 1998;35:85-92.

107.- Mohrman DE, Feigel EO. Competition between sympathetic vasoconstriction and metabolic vasodilation in the canine coronary circulation. *Circ Res* 1978;42:79-86.

108.- Zanzinger J, Czachurski J, Sessler H. Inhibition of sympathetic vasoconstriction is a major principle of vasodilatation by nitric oxide in vivo. *Circ Res* 1994;75:1073-77.

109.- Zeiher AM, Drexler H, Wollschläger H, and Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991;83:391.

110.- Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, Husain S, Arora S, Gilligan DM, Panza JA, Cannon RO. Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary artery atherosclerosis. *J Clin Invest* 1995;95:1747-55.

111.- Moliterno DJ, Willard JE, Lange RA, Negus BH, Boehrer JD, Glamann BD, et al. Coronary-Artery Vasoconstriction Induced by cocaine, Cigarette Smoking, or Both. *N Engl J Med* 1994;330:454-9.

112.- Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. Cigarette Smoking Is Associated With Dose-Related and Potentially Reversible Impairment of Endothelium-Dependent Dilatation in Healthy Young Adults. *Circulation* 1993;88(part 1):2149-2155.

113.- Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal Endothelium-dependent Vascular Relaxation in Patients With essential Hypertension. *N Engl J Med* 1990;323:22-7.

- 114.- Mc Veigh GE, Brennan GM, Johnston GD, Mc Dermott BJ, Hayes JR. Attenuated endothelium-dependent and independent responses in non-insulin-dependent diabetes mellitus. In: Moncada S, Marletta MA, Hibbs JB Jr, Higgs EA, eds. *The biology of nitric oxide*. Vol 1. London: Portland Press, 1992:332-3.
- 115.- Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Hoeg JM, Panza JA. The Role of Nitric Oxide in Endothelium-Dependent Vasodilation of Hypercholesterolemic Patients. *Circulation* 1993;88:2541-7.
- 116.- Flavahan NA. Atherosclerosis or lipoprotein-induced endothelial dysfunction. Potential mechanisms underlying reduction in EDRF/Nitric oxide activity. *Circulation* 1992;85: 1927-38.
- 117.- Egashira K, Inou T, Hirroka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Kuga T, Urabe Y, Takeshita A. Effects of age on endothelium-dependent vasodilation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans. *Circulation* 1993;88:77-81.
- 118.- Heras M, Pérez-Villa F, Roig E, Melis G, Serra A, Betriu G, Sanz G. Endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries in patients with a first myocardial infarction. *Eur Heart J* 1992; 13 (suppl):296.
- 119.- Vrints Ch, Bult H, Hitter E, Herman AG, Snoeck J. Impaired endothelium-dependent cholinergic coronary vasodilation in patients with angina and normal coronary arteriograms. *Am J Coll Cardiol* 1992;19:21-31.
- 120.- Thorne S, Mullen MJ, Clarkson P, et al. Early endothelial dysfunction in adults at risk from atherosclerosis: Different responses to L-arginine. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:110-116.

- 121.- Om A, Warner M, Sabri N et al. Frequency of Coronary Artery Disease and Left Ventricular Dysfunction in Cocaine Users. *Am J Cardiol* 1992;69:1549-52.
- 122.- Kolodgie FD, Virmani R, Cornhill JF et al. Increase in atherosclerosis and adventitial mast cells in cocaine abusers: An alternative mechanism of cocaine-associated vasoospasm and thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:1553-60.
- 123.- Kolodgie FD, Wilson PS, Mergner WJ, Virmani R. Cocaine-induced increase in the permeability function of human vascular endothelial cell monolayers. *Exp Mol Pathol* 1999;66:109-22.
- 124.- Gan X, Zhang L, Berger O, et al. Cocaine enhances brain endothelial adhesion molecules and leukocyte migration. *Clin Immunol* 1999;91:68-76.
- 125.- Wilbert-Lampen U, Seliger C, Zilker T, Arendt RM. Cocaine increase the endothelial release of immunoreactive endothelin and its concentration in human plasma and urine: reversal by coincubation with sigma receptor antagonists. *Circulation* 1998;93:385-90.
- 126.- Mo W, Singh AK, Arruda JA, Dunea G. Role of nitric oxide in cocaine-induced acute hypertension. *Am J Hypertens* 1998;11:708-14.
- 127.- Eichhorn EJ, Grayburn PA, bedotto JB et al. Abnormal endothelium-dependent coronary vasoreactivity and intimal proliferation in patients with chronic cocaine abuse (Abstr.) *Clinical Reseach* 1990;38,Nº2.

- 128.- Dressler FA, Malekzadesh S, Roberts WC. Quantitative analysis of amounts of coronary arterial narrowing in cocaine addicts. *Am J Cardiol* 1990;65:303-8.
- 129.- Rezkalla SH, Mazza JJ, Kloner RA, Tillema V, Chang SH. The effects of cocaine on human platelets in healthy subjects. *Am J Cardiol* 1993;72:243-6.
- 130.- Kugelmass AD, Oda A, Monahan K, Cabral C, Ware JA. Activation of human platelets by cocaine. *Circulation* 1993;88:876-83.
- 131.- Moliterno DJ, Lange RA, Gerard RD, Willard JE, Lacker C, Hillis LD. Influence of intranasal cocaine on plasma constituents associated with endogenous thrombosis and thrombolysis. *Am J Med* 1994;96:492-6.
- 132.- Lange RA, Hillis LD. Cardiovascular complications of cocaine use. *N Engl J Med* 2001;345:351-58.
- 133.- Friedrichs GS, Wei H-M, Merrill GF. Coronary vasodilation caused by intravenous cocaine in the anesthetized beagle. *Can J Physiol Pharmacol* 1990;68:893-897.
- 134.- Catterall W, Mackie K. Anestésicos locales. En: Gilman & Goodman. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Novena edición. Volumen I, página 353. Ed. McGraw-Hill Interamericana. New York 1996.
- 135.- Tschudi M, Richard V, Bühler FR, Lüscher TF. Importance of endothelium-derived nitric oxide in porcine coronary resistance arteries. *Am J Physiol* 1991;260:H13-H20.

136.- Kostic MM, Petronijevic MR, Jakovljevic VL. Role of nitric oxide (NO) in the regulation of coronary circulation. *Physiol Res* 1996;45(4):273-8.

137.- Shioda N, Morishima N, Nakayama K et al. Flow-mediated vasodilation of human epicardial coronary arteries: effect of inhibition of nitric oxide synthesis. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27(2):304-10.

138.- Quyyumuni AA, Dakak N, Mulcahy D, Andrews NP, Husain S, Panza JA, Cannon RO. Nitric oxide activity in the atherosclerotic human coronary circulation. *J Am Coll Cardiol* 1997;29(2):308-17.

139.- Heavner JE, Shi B, Pitkanen M. Effects of nitric oxide synthesis inhibition with or without nitric oxide inhalation on responses to systemic cocaine administration in rats. *Life Sci* 1995;57(7):715-28.

140.- Heavner JE, Shi B, Pitkanen M. Nitric oxide synthesis inhibition modifies the cardiotoxicity of tetracaine and lidocaine. *Anesth Analg* 1999;88(4):717-22.

141.- Gattullo D, Pagliardo P, Marsh NA, Losano G. New insights into nitric oxide and coronary circulation. *Life Sci* 1999;65(21):2167-74.

142.- Smith TP, Canty JM. Modulation of Coronary Autoregulatory Responses by Nitric Oxide. *Circulation Res* 1993;73:232-240.

143.- Cohen RI, Chen L, Scharf SM. The effects of high dose NG-nitro-L-arginine-methyl ester on myocardial blood flow and left ventricular function in dogs. *J Crit Care* 1996; 11(4):206-13.

- 144.- Liu CP, Tunin C, Kass DA. Transient Time Course of Cocaine-Induced Cardiac Depression Versus Sustained Peripheral vasoconstriction. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:260-8.
- 145.- Mehta PM, Graiger TA, Lust RM, Movahed A, et al. Effect of Cocaine on left Ventricular Function: Relation to Increased Wall Stress and Persistence after Treatment. *Circulation* 1995,91:3002-9.
- 146.- Cregler LI. Cocaine : The newest risk factor for cardiovascular disease. *Clin Cardiol.* 1991;4:449-456.
- 147.- Mittleman MA, Mintzer D, Maclurz M, Tofler GH, Sherwood JB, Muller JE. Triggering of myocardial infarction by cocaine. *Circulation* 1999;99:2737-41.
- 148.- Minor RL Jr, Scott BD, Brown DD, Winniford MD. Cocaine-induced myocardial infarction in patients with normal coronary arteries. *Ann Intern Med* 1991;115:797-806.
- 149.- Huang L, Woolf JH, Ishiguro Y, Morgan JP,. Effect of cocaine and methylecgonidine on intracellular Ca²⁺ and myocardial contraction in cardiac myocytes. *Am J Physiol* 1997;278:H893-H901.
- 150.- Shannon RP, Mathier MA, Shen YT. Coronary vascular responses to short-term cocaine administration in conscious baboons compared with dogs. *J Am Coll Cardiol* 2000;35(5):1347-54.