

Posibilidades de manipulación farmacológica de los canales de potasio

C. González-García, R. Granja, J.M. Fernández, V. Izaguirre y V. Ceña

Departamento de Farmacología y Terapéutica e Instituto de Neurociencias.
Universidad de Alicante.

Introducción

Durante estos últimos años hemos asistido a una explosión de conocimiento sobre la relación estructura y función de los canales de K^+ . Este avance ha resultado de la utilización conjunta de técnicas de ADN recombinante con técnicas electrofisiológicas y farmacológicas¹. Como resultado de este incremento en su número, se ha producido una gran confusión en cuanto a la nomenclatura con la que nos referimos a los diversos tipos de canales de K^+ . Esta pequeña revisión va a estar dividida en 3 apartados: en primer lugar, una clasificación somera y, por tanto, no exhaustiva de los tipos de canales K^+ conocidos y de su función. En segundo lugar, se expondrán las acciones de alguno de los fármacos que se utilizan para bloquear las corrientes de K^+ y se indagará en cuáles son los determinantes moleculares de este bloqueo y, finalmente, hablaremos sobre un grupo de fármacos que tienen un gran potencial terapéutico como son los fármacos capaces de abrir canales de K^+ .

Clasificación de los canales de K^+

Una posible clasificación de canales de K^+ viene expresada en la tabla I. A partir de dicha

clasificación podemos ampliar brevemente la información sobre cada uno de los tipos de canales de K^+ presentes en la misma.

Rectificador retrasado (Delayed rectifier)

Es el canal que contribuye mayoritariamente a la corriente de K^+ dependiente de voltaje en la gran mayoría de las células^{2,3}. Cuando se registran las corrientes globales en una preparación, sus características cinéticas incluyen una activación sigmoidal y un cierre exponencial cuando se termina el pulso despolarizante³, siendo su inactivación muy lenta durante la duración del pulso. Este canal puede ser bloqueado mediante diversas manipulaciones farmacológicas como la aplicación de tetraetil amonio (TEA) desde el lado interno de la membrana plasmática. Desde este lado citoplásmico, el canal es también bloqueado por los iones Ca^{2+} y Ba^{2+} . No obstante, cuando los fármacos bloqueadores se aplican desde el exterior de la membrana plasmática, la situación es algo diferente, ya que la aplicación de TEA o 4-amino piridina (4-AP) sólo es capaz de producir bloqueo en ciertas preparaciones, mientras que en otras no lo produce. Esta diversidad sugiere la

TABLA I
CLASIFICACIÓN DE LOS CANALES DE POTASIO

<i>Tipo de canal</i>	<i>Bloqueadores específicos</i>
Rectificador retrasado	Citoplásmico: Ca^{2+} , Ba^{2+} , TEA Extracelular: TEA, 4-AP
Corriente transitoria (A)	Citoplásmico: TEA, Cs^- Extracelular: 4-AP
Rectificador anómalo	Citoplásmico: TEA Extracelular: Cs^+ , Ba^{2+}
Activado por Ca^{2+}	
Pequeña conductancia	Apamina
Gran conductancia	TEA, caribdotoxina
Regulados por neurotransmisores y segundos mensajeros	

posibilidad de que nos encontráramos frente a una familia de canales dependientes de voltaje en vez de frente a un único canal⁴, aspecto este sobre el que trataremos posteriormente. Un aspecto importante de las propiedades de un canal iónico consiste en conocer la función fisiológica que cumple en la célula. En el caso de los rectificadores retrasados se han propuesto dos funciones fundamentales para estos canales: repolarización durante la producción de un potencial de acción y contribución a la duración del período refractario en tejidos excitables.

Corrientes inactivantes (corrientes tipo A)

Una de las características de este tipo de corrientes consiste en que son de comienzo muy rápido y transitorias⁵. La inactivación del estado estacionario de esta corriente es completa cuando se mide al potencial de membrana de reposo. Generalmente este tipo de corriente no es la única corriente de K^+ presente en las células, sino que está acompañada por otros tipos de corrientes de K^+ como el rectificador retrasado. La corriente iónica generada por la activación de este grupo de canales de K^+ es bloqueada por la aplicación, en el lado extracelular de la membrana plasmática de 4-AP o mediante la aplicación en el lado citoplásmico de Cs^+ o TEA. Las funciones fisiológicas que se adscriben a este canal tienen que ver, sobre todo, con la repolarización del potencial de acción y la regulación de la velocidad de disparo de potenciales de acción.

En general, se considera, en sentido estricto, a estos 2 grupos de canales de K^+ dentro del grupo de los canales dependientes de voltaje. Cuando se intentaron aislar estos dos tipos de canales de K^+ , mediante técnicas de biología molecular, se observó que existía una familia de genes que codificaban diferentes canales de K^+ dependientes de voltaje⁴. Existen 6 grupos diferentes de genes, que codifican los diversos tipos de canales de K^+ dependientes de voltaje, denominados $Kv1$ a $Kv6$, aunque dentro de cada uno de estos grupos puede existir más de un gen. Aunque el grado de homología entre los diversos genes es grande, las pequeñas diferencias podrían condicionar la diferente sensibilidad a los fármacos bloqueadores.

Rectificadores anómalos (Inward rectifier)

En estos canales de K^+ , la conductancia se incrementa mediante la hiperpolarización, permitiendo la entrada de K^+ en la célula^{6,7}. La ca-

racterística biofísica más importante de este canal es la rectificación de la corriente que aparece a potenciales próximos al potencial de equilibrio para el K^+ . Esta corriente de K^+ es bloqueada por TEA (aplicado en el interior de la célula), Cs^+ y Ba^{2+} . Las funciones fisiológicas atribuidas a este tipo de canales de K^+ son, entre otras, las siguientes: generación de actividad marcapasos en el corazón, fertilización del huevo y regulación de la frecuencia de descarga de potenciales de acción.

Canales de K^+ activados por Ca^{2+}

Son canales de K^+ activados por concentraciones submicromolares de Ca^{2+} . En experimentos en los que se miden corrientes globales, la cinética y la dependencia de estas corrientes están relacionadas con la activación de corrientes de Ca^{2+} dependientes de voltaje⁸. Existen dos tipos de corrientes de K^+ activadas por Ca^{2+} , una de pequeña conductancia (15 pS) que es sensible a apamina y que, entre otras funciones celulares, es responsable de la producción de posthiperpolarizaciones⁹ y, por otro lado, una corriente de gran conductancia (150-250 pS) que se bloquea por bajas concentraciones de TEA y caribdotoxina y que contribuye a poner fin a la entrada de Ca^{2+} durante un potencial de acción y a la repolarización del potencial de acción^{10,11}. Ambos tipos de corriente se encuentran ampliamente distribuidos en células excitables y secretoras.

Canales regulados por segundos mensajeros

Existe un grupo, cada vez más numeroso, de canales de K^+ regulados por segundos mensajeros. Entre este grupo se encuentran, entre otros, canales que son inactivados por mecanismos de fosforilación acoplados a la activación de un receptor de serotonina como la corriente S presente en neuronas de *Aplysia*¹² y canales de K^+ que son activados directamente por proteínas G¹³. En este grupo de canales está incluido otro tipo de canal de K^+ que es el regulado por ATP, que desempeña un papel fundamental en la secreción de insulina en células β pancreáticas¹⁴.

Bases moleculares de la acción de los bloqueadores de canales de K^+ dependientes de voltaje

Hemos visto en el apartado anterior que los canales de K^+ dependientes de voltaje son

sensibles al bloqueo por determinados compuestos. Actuando desde el exterior de la célula existen dos tipos de compuestos que pueden interaccionar con el canal de K^+ : compuestos orgánicos, con carga positiva, entre los que los más comunes son TEA, 4-AP y quinidina y, por otra parte, toxinas como la caribdotoxina. Tomando como ejemplo el bloqueo que la administración de TEA desde el exterior de la célula ejerce sobre las corrientes de K^+ vamos a intentar comprender cuáles son los determinantes moleculares que condicionan dicha unión del bloqueador al canal.

Los estudios sobre la estructura, derivada de la secuencia, de los canales de K^+ dependientes de voltaje se han realizado, mediante mutagénesis dirigida, en canales de K^+ *Shaker*¹⁵. Dichos estudios han indicado la existencia de una región, denominada H5, que está formada por 19 aminoácidos y que parece formar el poro del canal¹⁶. En esta región del canal, los aminoácidos se numeran siempre del 1 al 19 para resaltar que esta región se conserva y aparece, aunque no siempre en la misma posición en la secuencia, en todos los tipos de canales de K^+ dependientes de voltaje clonados hasta hoy. Se ha observado que, en la familia de canales de K^+ dependientes de voltaje RCK, que están relacionados con *Shaker*, existe una diferente sensibilidad al bloqueo por TEA, siendo más sensibles RCK1 y RCK2 que RCK4 y RCK5. La sustitución de la treonina que ocupa la posición 19 de la región H5 en RCK2 por una lisina hace que ese canal pierda totalmente su sensibilidad a TEA¹⁷. En cambio, el cambio de la lisina, en posición 19 por cualquier aminoácido no cargado, vuelve al canal RCK4 muy sensible a TEA. Estos experimentos, junto con otros que sugieren que la incorporación de un aminoácido cargado en posición 1 disminuye la sensibilidad a TEA hacen suponer que los aminoácidos 1 y 19 forman parte del sitio de unión de TEA a los canales de K^+ dependientes de voltaje.

Fármacos que activan canales de K^+

Los fármacos que son capaces de abrir los canales de K^+ constituyen un grupo heterogéneo en cuanto a su estructura química como puede verse en la tabla II. No obstante esta diversidad de estructura, todos estos fármacos actúan, inicialmente, abriendo canales de K^+ regulados por ATP¹⁸.

Existen tres hechos importantes sobre la acción farmacológica de estos compuestos: producen una hiperpolarización de la célula, en

TABLA II
ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS DIVERSOS FÁRMACOS ACTIVADORES DE LOS CANALES DE POTASIO

Grupo químico	Fármaco
Benzopirano	Lemakalim
Tiourea / guanidina	Pinacidilo
Piridina	Nicorandilo
Pirimidina	Minoxidilo
Benzotiadiazina	Diazóxido
Tioformamida	RP 52891
Dihidropiridinas	Niguldipino

otras palabras, el potencial de membrana se desplaza hacia el potencial de equilibrio para el K^+ , con lo que se hace más negativo. En segundo lugar, su acción farmacológica se bloquea en presencia de elevadas concentraciones de K^+ extracelular y, en tercer lugar, sus acciones son bloqueadas por sulfonilureas¹⁹ lo que, junto al desplazamiento por sulfonilureas de la fijación de estos compuestos a membranas de músculo liso²⁰, apoya fuertemente la idea de que su lugar de acción es el canal de K^+ activado por ATP. No obstante, han comenzado a diseñarse algunos fármacos²¹ de este grupo capaces de actuar selectivamente sobre canales de K^+ activados por Ca^{2+} .

Las indicaciones terapéuticas de los fármacos que son capaces de abrir canales de K^+ podrían incluir la hipertensión arterial, el asma bronquial, la claudicación intermitente y la isquemia miocárdica.

Las bases terapéuticas de su acción en el asma vendrían determinadas, en primer lugar, por su acción hiperpolarizante sobre la fibra muscular lisa, lo que impediría que se abrieran canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje y, de esta forma, entrara Ca^{2+} al interior de la célula y se produjera la contracción de la célula muscular lisa²². Pero cada vez existen más evidencias que sugieren que estos compuestos podrían interferir con la producción de IP3 en respuesta a diversos agonistas²³.

Una de sus indicaciones terapéuticas más prometedoras podría ser en la enfermedad isquémica miocárdica. Estos compuestos, a dosis bajas, son capaces de disminuir el tamaño del infarto en perros con oclusión de la coronaria anterior²⁴. No obstante, las acciones eléctricas de los fármacos que abren canales de K^+ consisten fundamentalmente en, por una parte, acortar la duración del potencial de acción cardíaco y, por otra, aumentar la concentración

de K^+ extracelular que despolarizaría la zona isquémica y así produciría un descenso en la contractilidad miocárdica²⁵. Este descenso en la contractilidad disminuiría el consumo de oxígeno y disminuiría el daño isquémico.

BIBLIOGRAFÍA

- Rudy B. Diversity and ubiquity of K^+ channels. *Neuroscience* 1980; 25: 729-749.
- Hodgkin AL, Huxley AF. The components of membrane conductance in the giant axon of Loligo. *J Physiol* 1952; 116: 473-479.
- Bezanilla F. Gating of sodium and potassium channels. *J Membr Biol* 1985; 88: 97-111.
- Pongs O. Structural basis of voltage-gated K^+ channel pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13: 359-365.
- Connor JA, Stevens CF. Voltage clamp studies of a transient outward membrane current in gastropod neural somata. *J Physiol* 1971; 231: 21-30.
- Hagiwara S, Miyasaki S, Rosenthal NP. Potassium current and the effect of cesium on this current during anomalous rectification of the egg membrane of a starfish. *J Gen Physiol* 1976; 67: 621-638.
- Noble D. The surprising heart: A review of recent progress in cardiac electrophysiology. *J Physiol* 1984; 353: 156-159.
- Meech RW. Calcium-dependent potassium activation in nervous tissues. *A Rev Biophys Bioeng* 1978; 7: 1-18.
- Blatz MA, Magleby KL. Single apamin-blocked Ca^{2+} activated K^+ channels of small conductance in cultured rat skeletal muscle. *Nature* 1986; 323: 718-720.
- Miller C, Moczydlowski E, Latorre R, Phillips M. Charybdotoxin, a protein inhibitor of single Ca^{2+} -activated K^+ channels from mammalian skeletal muscle. *Nature* 1985; 313: 316-318.
- Romey G, Lazdunski M. The coexistence in rat muscle cells of two distinct classes of Ca^{2+} dependent K^+ channels with different pharmacological properties and different physiological functions. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 118: 669-674.
- Klein M, Camardo J, Kandel ER. Serotonin modulates a specific potassium current in the sensory neurons that show presynaptic facilitation in *Aplysia*. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1982; 79: 5.713-5.717.
- Logothetis DE, Kim D, Northup JK, Neer EJ, Clapham DE. Specificity of action of guanine nucleotide-binding regulatory protein subunits on the cardiac muscarinic K^+ channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 5.814-5.818.
- Dunne MJ, Petersen OH. Potassium selective ion channels in insulin-secreting cells: physiology, pharmacology and their role in stimulus-secretion coupling. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1.071: 67-82.
- Durell SR, Guy HR. Atomic scale structure and functional models of voltage-gated potassium channels. *Biophys J* 1992; 62: 238-250.
- Pongs O. Structure-Function studies on the pore of potassium channels. *J Membr Biol* 1993; 136: 1-8.
- MacKinnon R, Yellen G. Mutations affecting TEA blockage and ion permeation in voltage-activated K^+ channels. *Science* 1990; 250: 276-279.
- Weston AH, Edwards G. Recent progress in potassium channel opener pharmacology. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 47-54.
- Quast U, Cook NS. In vitro and in vivo comparison of two K^+ channel openers diazoxide and cromakalim and their inhibition by glibenclamide. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 250: 261-271.
- Bray KM, Quast U. A specific binding site for K^+ channel openers in rat aorta. *J Biol Chem* 1992; 267: 11.689-11.692.
- Olesen SP, Munch E, Moldt P, Drejer J. Selective activation of Ca^{2+} -dependent K^+ channels by novel benzimidazolone. *Eur J Pharmacol* 1994; 251: 53-59.
- Hamilton TC, Weir SW, Weston AH. Comparison of the effects of BRL 34915 and verapamil on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Br J Pharmacol* 1986; 88: 103-111.
- Challiss RAJ, Patel N, Arch JRS. Comparative effects of BRL 38227, nitrendipine and isoprenaline on carbachol- and histamine-stimulated phosphoinositide metabolism in airway smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 997-1.003.
- Auchampach JA, Murayama M, Cavero I, Gross GJ. The new K^+ channel opener aprikalim (RP 52891) reduces experimental infarct size in dogs in the absence of hemodynamic changes. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 259: 961-967.
- Mitani A, Kinoshita K, Fukamachi K, Sakamoto M, Kurisu K, Tsuruhara Y et al. Effects of glibenclamide and nicorandil on cardiac function during ischemia and reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am J Physiol* 1991; 261: H1.864-H1.871.

DISCUSIÓN

E. DEL POZO: En relación con las posibles aplicaciones terapéuticas de los agentes que abren canales de potasio, hemos observado

que la cromakalina, un agonista del canal de potasio, potencia de forma dosisdependiente el efecto analgésico de diferentes agonistas

mu, en concreto de morfina, buprenorfina y metadona, así como la clonidina; este efecto es inhibido también de forma dosisdependiente por sulfonilureas. Por otro lado, también comprobamos que inhibía la actividad epileptogénica del pentilentetrazol, y en este sentido estos agentes podrían tener utilidad. Quisiera también referirme a la posible influencia del tejido sobre el efecto de los agonistas del canal de potasio en el sentido de que parece que en músculo liso, cromakalina y pinacidiolo actúan también en canales de potasio calcio dependientes, mientras que en otro tipo de preparaciones como en músculo esquelético, músculo cardíaco o células pancreáticas el efecto es más específico sobre canales de potasio ATP dependientes. ¿Podría aclarar estas diferencias?

- V. CEÑA: Uno de los aspectos a los que no me he referido en la charla es la supuesta selectividad de estos fármacos, y esta selectividad no se refiere tan sólo a su efecto sobre canales de potasio. Por ejemplo, estos fármacos pueden inhibir la entrada de calcio en músculo liso por un mecanismo hiperpolarizante, ya que al hiperpolarizar la polaridad de apertura del canal de calcio voltaje dependiente disminuye y, por tanto, se van a abrir menos canales de calcio. Pero aparte de eso hay otro efecto interesante que consiste en que estos compuestos son también capaces de inhibir las contracciones inducidas por agonistas, y cuando se inhiben contracciones inducidas por agonistas que están mediadas probablemente por liberación de calcio del retículo endoplásmico a través de la generación de IP₃ hay que pensar que junto a esta acción en la membrana existen otras acciones intracelulares. Se ha descrito que en células de músculo liso alguno de estos compuestos son capaces de inhibir la síntesis de IP₃ en respuesta a un agonista, lo cual es otro mecanismo de acción que puede contribuir a esa acción vasodilatadora y que no tiene nada que ver con su acción sobre canales iónicos en la membrana.
- F. SALA: ¿Cuál es el mecanismo íntimo por el que actúan estos abridores sobre los distintos canales de potasio?
- V. CEÑA: Parece ser que su mecanismo de acción consiste a nivel de competición con el sitio de fijación de ATP al canal. No una competición directa, sino que de alguna forma modulan la sensibilidad del canal al ATP.
- J. LÓPEZ BARNEO: Entonces sugiero que se les llame agonistas del canal sensible de ATP, ya

que el término «abridores de canales de potasio» es confuso puesto que induce a pensar en los canales de potasio clásicos voltaje dependientes. Me interesaría saber cómo está el estado actual de la farmacología de los agonistas o abridores de canales de potasio, pero no centrada en los canales regulados por ATP sino más en general. Usted se ha referido antes a los canales de potasio regulados por calcio.

- V. CEÑA: Desconozco si existen fármacos que específicamente sean capaces de abrir canales de potasio voltaje dependientes. De hecho, el nombre de estos fármacos debe atribuirse históricamente a que fueron los primeros compuestos en los cuales se demostró una acción directa de capacidad de abrir un tipo de canal de potasio, e inicialmente se consideraron muy selectivos para el canal de potasio dependiente de ATP. Actualmente con estudios de modificaciones químicas de la molécula se han obtenido algunos compuestos capaces de abrir selectivamente canales de potasio activados por calcio. La cuestión que subyace en esto es ¿hasta qué punto estas son moléculas absolutamente selectivas para abrir un tipo de canales y no tienen otras acciones? De hecho muchos de estos compuestos que originalmente se consideraron fármacos que eran capaces de abrir selectivamente el canal de potasio dependiente de ATP tienen otras acciones intracelulares.
- J. TAMARGO: Los que trabajamos en vasos con este tipo de fármacos hemos tenido la oportunidad de demostrar que modifican la liberación de calcio desde el retículo sarcoplásmico en preparaciones incubadas en 0 calcio, y que son capaces de inhibir la entrada de calcio inducida por noradrenalina en preparaciones tratadas con 10⁻⁵ mol de D600. Esto implica necesariamente que tiene que ser la entrada de calcio inducida por noradrenalina, no sensible a bloqueadores de canales de calcio voltaje dependientes, es decir, la entrada de calcio a través de canales dependientes de receptor o inducida por noradrenalina. Además, tanto la disminución de IP₃ como la disminución de la liberación de calcio desde el retículo sarcoplásmico parece ser siempre un fenómeno voltaje dependiente, al menos en el músculo esquelético, ya que al hiperpolarizar la membrana disminuye la posibilidad de liberación de calcio.
- A.G. GARCÍA: Me ha llamado la atención el comentario de la Dra. del Pozo sobre el efecto analgésico de alguno de estos fármacos acti-

vadores de canales de potasio sensibles a ATP, y ello porque se oponen a la entrada de calcio por inactivarse los canales de calcio mediante la hiperpolarización que producen como antes comentaba el Dr. Ceña. Si como se ha demostrado, los calcioantagonistas muestran un efecto sinérgico con los opioides en cuanto a analgesia, ¿no es incongruente que los activadores de canales de potasio, que bloquean indirectamente la entrada de calcio, tengan efecto analgésico?

E. DEL POZO: Los activadores de canales de potasio bloquean la entrada de calcio indirectamente. Existen datos electrofisiológicos que indican que los agonistas kappa bloquean directamente canales de calcio y en la analgesia inducida por estos agentes los agonistas y los antagonistas de los canales de potasio ATP-dependientes no tienen ningún efecto. O sea, que se puede discriminar la interacción de los agonistas-antagonistas del canal de potasio con los diferentes opiáceos, según que éstos ejerzan su acción directamente a través

de un canal de potasio o bien la ejerzan directamente a través de un canal de calcio.

A.G. GARCIA: Teniendo en cuenta lo dicho hasta ahora ¿no sería interesante disponer de una molécula híbrida? Es decir, una molécula en la que se pudieran conjugar algunas propiedades que contrarrestaran los efectos no deseables de estos fármacos, concretamente un bloqueador beta que a su vez produjera una activación de canales de potasio podría resolver muchos problemas. ¿Les parece factible el diseño de un fármaco híbrido de estas características?

C. SUNKEL: Sí, esta es la tendencia en la actualidad. Se intenta diseñar fármacos con una actividad dual para conseguir dos efectos, o un efecto que antagonice algún otro efecto no deseado.

V. CEÑA: En este contexto, existe un fármaco, nivaldipino, que claramente es un derivado de dihidropiridina y es también un antagonista del calcio.