

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Departamento de Ingeniería Electrónica



**ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LOS EFECTOS DE LA
HIPOTERMIA Y LA HIPERTERMIA LOCALES SOBRE
LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS DEL
MIOCARDIO Y LA FRECUENCIA DE ACTIVACIÓN DE
LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

D. ÁLVARO TORMOS FERRANDO

Dirigida por:

Dr. D. JOSÉ MILLET ROIG

Dr. D. FRANCISCO JAVIER CHORRO GASCÓ

Valencia, 2005

A mis padres

A M. Carmen, Mireia y Andreu

*"Lo importante en ciencia no es tanto
obtener nuevos hechos como descubrir
nuevas formas de pensar sobre ellos."*

W. L. Bragg

Resumen

La influencia de la temperatura sobre la electrofisiología cardíaca es un hecho conocido, aunque los efectos de sus variaciones regionales sobre los parámetros electrofisiológicos del miocardio y sobre las características de la activación durante la fibrilación ventricular (FV) no han sido suficientemente investigados. En modelos experimentales, el análisis del efecto modulador ejercido por los cambios locales de temperatura puede aportar información sobre los mecanismos que sustentan la FV o los procedimientos encaminados a su control efectivo. En esta Tesis Doctoral se ha desarrollado un sistema de modificación de la temperatura miocárdica, en modelos de corazón aislado, capaz de crear condiciones de hipotermia e hipertermia controladas circunscritas a una región limitada del tejido. En su implementación se ha empleado un electrodo extraplano fabricado en tecnología thick-film que permite la aplicación de estímulos y el registro simultáneo de los electrogramas ventriculares a distintas temperaturas. Este sistema ha sido utilizado, en corazones aislados y perfundidos de conejo, para cuantificar los efectos de la hipotermia y la hipertermia locales sobre los parámetros característicos de la frecuencia de activación de la FV y sobre los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante estimulación basal. Para ello, se ha modificado la temperatura epicárdica de la pared libre del ventrículo izquierdo entre 17 °C y 42 °C. Los resultados obtenidos muestran que la hipotermia local prolonga los períodos refractarios ventriculares y reduce la velocidad de conducción durante la estimulación basal, teniendo la hipertermia el efecto contrario. A pesar de estas variaciones, la longitud de onda del proceso de activación no sufre cambios significativos. Por otra parte, durante la FV la hipertermia local acelera de manera reversible la activación en la zona en la que es aplicada, mientras que la hipotermia la enlentece. En el margen de temperaturas estudiado, existe una relación lineal entre la frecuencia dominante de la FV o el intervalo de activación promedio y la temperatura. Finalmente, las pruebas realizadas ponen de manifiesto que, al contrario de lo que ocurre con la hipotermia global, el enlentecimiento experimentado por la FV en la zona donde se efectúan los cambios de temperatura no consigue provocar modificaciones globales de la activación ni el cese de la arritmia.

Resum

La influència de la temperatura sobre l'electrofisiologia cardíaca és un fet conegut, encara que els efectes de les seues variacions regionals sobre els paràmetres electrofisiològics del miocardi i sobre les característiques de l'activació durant la fibril·lació ventricular (FV) no han sigut prou investigats. En models experimentals, l'anàlisi de l'efecte modulador exercit pels canvis locals de temperatura pot aportar informació sobre els mecanismes que sustenten la FV o els procediments encaminats al seu control efectiu. En esta Tesi Doctoral s'ha desenvolupat un sistema de modificació de la temperatura miocàrdica, en models de cor aïllat, capaç de crear condicions d'hipotèrmia i hipertèrmia controlades circumscrites a una regió limitada del teixit. En la seua implementació s'ha emprat un elèctrode extraplà fabricat en tecnologia thick-film que permet l'aplicació d'estímuls i l'enregistrament simultani dels electrogrames ventriculars a distintes temperatures. Este sistema ha sigut utilitzat, en cors aïllats i perfundits de conill, per a quantificar els efectes de la hipotèrmia i l'hipertèrmia locals sobre els paràmetres característics de la freqüència d'activació de la FV i sobre els paràmetres electrofisiològics obtinguts durant estimulació basal. La temperatura epicàrdica de la paret lliure del ventricle esquerre s'ha modificat entre 17 °C i 42 °C. Els resultats obtinguts mostren que la hipotèrmia local prolonga els períodes refractaris ventriculars i reduïx la velocitat de conducció durant l'estimulació basal, mentres que la hipertèrmia té l'efecte contrari. A pesar d'estes variacions, la longitud d'ona del procés d'activació no patix canvis significatius. D'altra banda, durant la FV la hipertèrmia local accelera de manera reversible l'activació en la zona en què és aplicada, mentres que la hipotèrmia l'alentís. En el marge de temperatures estudiat, hi ha una relació lineal entre la freqüència dominant de la FV o la mitja de l'interval d'activació i la temperatura. Finalment, les proves realitzades posen de manifest que, al contrari del que ocorre amb la hipotèrmia global, l'alentiment experimentat per la FV en la zona on s'efectuen els canvis de temperatura no aconseguix provocar modificacions globals de l'activació ni la interrupció de l'arítmia.

Abstract

The fact that temperature influences the electrophysiology of the heart is well known. However, the effects of their regional variations on the electrophysiological parameters of myocardium, or its influence on the activation process during ventricular fibrillation (VF), have not been sufficiently investigated. In experimental models, the analysis of the modulation effect caused by local changes of temperature, can contribute to obtain information on the mechanisms that support the VF, or the procedures for its effective control. In this doctoral thesis, a new system to perform changes on myocardial temperature in isolated heart models has been developed. Specifically, this system allows to cause controlled hypothermia and hyperthermia in limited regions of the tissue. Applying stimuli and registering ventricular electrograms at different temperatures, is possible thanks to an extraflat electrode. This system has been used to quantify the effects of hypothermia and local hyperthermia on the VF activation frequency parameters, in isolated and perfused rabbit hearts. The electrophysiological parameters during basal stimulation have also been obtained. The epicardial temperature in the free wall of the left ventricle has been modified from 17 °C to 42 °C. The results show that local hypothermia prolongs the ventricular refractory periods and decreases the conduction velocity during basal stimulation; hyperthermia has the contrary effect. The wavelength of the activation process does not suffer significant changes in spite of these variations. On the other hand, during the VF, local hyperthermia accelerates the activation in a reversible manner in the zone where it's applied; on the contrary, hypothermia slows the arrhythmia. In the range of temperatures studied, there is a lineal relation between the dominant frequency of the VF, or the average activation interval, and temperature. Finally, the tests carried out show that, reverse to caused by global hypothermia, the slowing of the VF, in the zone where the changes of temperature are performed, does not achieve global modifications of the activation neither the termination of the arrhythmia.

Agradecimientos

Con la presentación de este documento habrán concluido años de dedicación —habría que hacer memoria, pero han sido bastantes— a la Tesis Doctoral. Seguramente no quedará reflejado en estas páginas, pero han sido muchas las horas empleadas y bastantes las personas implicadas. Por ello, mediante estas líneas, me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de un modo u otro facilitaron el camino para la realización de este modesto trabajo.

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores Pepe y Javier la confianza que depositaron en mí al encomendarme esta tarea. Sin su incondicional apoyo y constante motivación no estaría ahora escribiendo esta página. Gracias por sus enseñanzas, consejos, respaldo y amistad.

Todo lo relacionado con la investigación es generalmente una labor colectiva. En este caso, al tratarse de un trabajo experimental, la participación coordinada de diversas personas ha sido realmente fundamental. Mi agradecimiento a los fisiólogos y cardiólogos del Laboratorio de Fisiología de la Universidad de Valencia con los que, junto a Javier, llegué a compartir largas tardes de experimentación. De todos ellos he aprendido: Ximo Cánoves, Luís Mainar, Estrella Blasco, Ángel Ferrero, Luís Such (hijo). Una mención muy especial para Luís Such (padre) por su implicación en la preparación y cuidadosa supervisión de los experimentos, también por su excelente sentido del humor, cualidad

compartida con Antonio Alberola, siempre dispuesto a ayudar con sus ingeniosas ideas. Gracias también, por supuesto, a Isabel, por su valiosa colaboración e inalterable simpatía. Tiene razón Javier, lo más importante en la investigación es el equipo. Y probablemente la mayor satisfacción que me ha proporcionado esta tesis sea haber formado parte de éste.

Desde aquí, cómo no, mi agradecimiento a los compañeros del grupo de Microelectrónica Híbrida de la UPV con los que compartí materiales y medios durante el desarrollo de los electrodos: Javier, Luís y en especial Eduardo, por enseñarme la tecnología de capa gruesa y habilitarme un lugar en el laboratorio.

Sin citar nombres —no sea cosa que quede fuera de la lista alguien que mereciera estarlo— cabe también un agradecimiento general a todos aquellos que me animaron para que me embarcara en esta aventura, y a los que me respaldaron una vez en ella. A todos los que me preguntaron una y otra vez cómo iba la cosa, a los que se interesaron por cuándo acababa y a los que han comprendido mi tardanza, la mayoría de ellos compañeros de la unidad docente de la ETSID en el Departamento de Ingeniería Electrónica de la UPV.

También son de agradecer los consejos recibidos de dos expertos en su campo: César Avellaneda, de la Facultad de Medicina, y Nieves Martínez, del Departamento de Estadística e Investigación Operativa de la UPV.

Gracias al Fondo de Investigación Sanitaria, por concedernos el proyecto PI020594, con el que se financió parcialmente esta investigación.

Finalmente, debo agradecer la paciencia de mi familia; de sacrificar su tiempo ha salido muchas veces el mío. Gracias a mis padres, mis suegros, mis hijos, pero sobre todo a M. Carmen, porque es ella quien ha sufrido en primera persona los "efectos secundarios" de este trabajo.

A todos ellos, y los que haya olvidado mencionar, Gracias!

Siglas y abreviaturas

APD	—	duración del potencial de acción
CE	—	concentración espectral entorno a la FrD
ECG	—	señal del electrocardiograma
EGM	—	señal del electrograma
FA	—	fibrilación auricular
FFT	—	transformada rápida de Fourier
FrD	—	frecuencia dominante de la señal de FV
FV	—	fibrilación ventricular
LO	—	longitud de onda del proceso de activación
n.s.	—	no significativo
PA	—	potencial de acción miocárdico
p.e.	—	por ejemplo
PRE	—	período refractario efectivo
PRF	—	período refractario funcional
PSD	—	densidad espectral de potencia
T	—	temperatura epicárdica local
TV	—	taquicardia ventricular
VC	—	velocidad de conducción del proceso de activación
VV	—	intervalo de activación
zMOD	—	zona donde se efectúan las modificaciones térmicas
zNORM	—	zona no sujeta a modificaciones térmicas

Índice general

Capítulo 1 - INTRODUCCIÓN	1
1.1 FISIOLÓGÍA DEL CORAZÓN.....	5
1.1.1 Anatomía y ciclo cardíaco	5
1.1.2 Origen y propagación de la excitación cardíaca.....	6
1.2 EL ELECTROGRAMA.....	10
1.2.1 Descripción.....	10
1.2.2 Detección de la activación	13
1.2.3 Morfología del EGM unipolar	14
1.3 FIBRILACIÓN VENTRICULAR. GENERALIDADES.....	15
1.3.1 Descripción.....	16
1.3.2 Perspectiva histórica.....	18
1.3.3 Aplicaciones clínicas de los estudios sobre la FV	21
1.4 MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS. LA REENTRADA.....	22
1.5 APROXIMACIONES METODOLÓGICAS AL ESTUDIO DE LA FV	25
1.5.1 Estudios basados en trabajos experimentales.....	25
1.5.1.1 Análisis de las características del ECG	26
1.5.1.2 Registros intracelulares o de los potenciales de acción monofásicos.....	27
1.5.1.3 Técnicas cartográficas o mapping	27

1.5.2 Estudios basados en simulaciones mediante ordenador	34
1.6 CARACTERÍSTICAS FRECUENCIALES DE LA FV	36
1.7 TEORÍAS SOBRE LA FV	39
1.8 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	46
1.8.1 Dependencia de las propiedades electrofisiológicas con la temperatura	47
1.8.2 Hipotermia/hipertermia y arritmias.....	48
1.8.3 Efectos durante la FV.....	51

Capítulo 2 - OBJETIVOS 55

2.1 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	59
2.2 FASES DE LA INVESTIGACIÓN	62

Capítulo 3 - MATERIAL Y MÉTODOS 65

3.1 SISTEMA DE PERFUSIÓN	69
3.2 PREPARACIÓN EXPERIMENTAL.....	71
3.3 ELECTRODO DISEÑADO	74
3.3.1 Sistema de modificación de la temperatura	74
3.3.2 Dispositivo-electrodo	77
3.3.3 Alternativas descartadas.....	84
3.4 INSTRUMENTACIÓN.....	88
3.5 SOFTWARE	92
3.6 CÁLCULOS ESTADÍSTICOS.....	96
3.7 ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO. PROTOCOLOS.....	96
3.7.1 Estimulación constante	96
3.7.2 Fibrilación Ventricular	106

Capítulo 4 - RESULTADOS 115

4.1 VARIACIONES DE LA FRECUENCIA DE ACTIVACIÓN DE LA FV CON LA TEMPERATURA.....	119
4.1.1 Intervalo de activación y frecuencia dominante. valores medios.....	119
4.1.1.1 Zona modificada.....	122
4.1.1.2 Zona normotérmica.....	129
4.1.2 Dispersión de las frecuencias dominantes y concentración espectral de la señal de fibrilación.....	136
4.1.2.1 Zona modificada.....	136
4.1.2.2 Zona normotérmica.....	138
4.2 VARIACIONES DE LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS DURANTE LA ESTIMULACIÓN CON TREN BASE CON LA TEMPERATURA	139
4.2.1 Período refractario.....	139
4.2.1.1 Zona modificada.....	140
4.2.1.2 Zona normotérmica.....	141
4.2.2 Velocidad de conducción.....	142
4.2.2.1 Zona modificada.....	144
4.2.2.2 Zona normotérmica.....	144
4.2.3 Longitud de onda	145
4.2.3.1 Zona modificada.....	146
4.2.3.2 Zona normotérmica.....	146
4.3 RELACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA DOMINANTE DE LA FV Y LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS	147

Capítulo 5 - DISCUSIÓN 151

5.1 EFECTOS DE LAS MODIFICACIONES LOCALES DE TEMPERATURA SOBRE LA FRECUENCIA DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FV	155
5.1.1 Efectos de la hipotermia local	155

5.1.2	Efectos de la hipertermia local	157
5.1.3	Reversibilidad de los cambios.....	157
5.1.4	Dispersión de FrD y concentración espectral.....	158
5.1.5	Afectación de la zona normotérmica.....	159
5.2	CAPACIDAD DE INTERRUPCIÓN DE LA ARRITMIA.....	161
5.3	VARIACIONES EN LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS PROVOCADAS POR LOS CAMBIOS DE TEMPERATURA.....	163
5.3.1	Variaciones de la refractariedad	163
5.3.2	Variaciones de la velocidad de conducción	166
5.3.3	Variaciones de la longitud de onda.....	167
5.4	RELACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FV Y LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS	168
5.5	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	169
 Capítulo 6 - CONCLUSIONES		 173
 Capítulo 7 - BIBLIOGRAFÍA		 177
 Futuras líneas de trabajo		 205
 Publicaciones científicas		 209
 Anexo - Tecnología "thick-film". Fabricación de los electrodos		 211
A.1	SUBSTRATOS.....	215
A.2	TINTAS.....	218

A.2.1 Pastas conductoras de metales nobles	221
A.2.2 Pastas resistivas.....	222
A.2.3 Pastas dieléctricas	222
A.2.4 Pastas de metales no nobles	223
A.2.5 Pastas poliméricas	223
A.3 PROCESO DE FABRICACIÓN	224
A.3.1 Pantallas serigráficas	225
A.3.2 Serigrafía	241
A.3.3 Ciclo térmico	251
A.4 BIBLIOGRAFÍA.....	257

Capítulo 1

Introducción

En la investigación realizada durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral, se han analizado las señales eléctricas obtenidas en la superficie epicárdica de modelos de corazón aislado, para la determinación de diversos parámetros electrofisiológicos a distintas temperaturas. Parte de estas determinaciones se han efectuado durante el funcionamiento del corazón en estimulación constante y otras en presencia de una arritmia letal, la fibrilación ventricular (FV).

En los primeros apartados de este capítulo se realiza una pequeña introducción a la fisiología básica del corazón, con especial atención al origen y propagación normal de la excitación cardíaca y a las características de la señal del electrograma. Luego, se describe el fenómeno de la FV, sus manifestaciones en el electrograma unipolar y sus implicaciones clínicas, desarrollando asimismo una breve perspectiva histórica sobre su estudio. A continuación, se resume el papel de la reentrada en los mecanismos de generación y

mantenimiento de la FV, y se detallan las aportaciones más importantes que los investigadores han realizado sobre esta arritmia, agrupadas según la técnica de estudio. El subapartado más extenso corresponde a los trabajos experimentales. Las frecuencias de activación durante la fibrilación ventricular son objeto de análisis en esta tesis, por lo que se dedica un apartado a las características frecuenciales de la FV y los principales estudios al respecto. El apartado siguiente intenta resumir la complejidad del problema exponiendo agrupadamente las principales teorías sobre la FV que actualmente son objeto de controversia e investigación, aunque en apartados previos ya se haya hecho referencia a ellas. Finalmente, se analiza el papel que se atribuye a la temperatura en las propiedades electrofisiológicas del corazón, así como el actual estado de conocimiento sobre los efectos de la hipotermia y la hipertermia, global y local, en los procesos fibrilatorios.

Índice del capítulo

1.1	FISIOLOGÍA DEL CORAZÓN.....	5
1.1.1	Anatomía y ciclo cardíaco	5
1.1.2	Origen y propagación de la excitación cardíaca.....	6
1.2	EL ELECTROGRAMA.....	10
1.2.1	Descripción.....	10
1.2.2	Detección de la activación	13
1.2.3	Morfología del EGM unipolar	14
1.3	FIBRILACIÓN VENTRICULAR. GENERALIDADES.....	15
1.3.1	Descripción.....	16
1.3.2	Perspectiva histórica	18
1.3.3	Aplicaciones clínicas de los estudios sobre la FV.....	21
1.4	MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS. LA REENTRADA.....	22
1.5	APROXIMACIONES METODOLÓGICAS AL ESTUDIO DE LA FV	25
1.5.1	Estudios basados en trabajos experimentales.....	25
1.5.1.1	Análisis de las características del ECG	26
1.5.1.2	Registros intracelulares o de los potenciales de acción monofásicos.....	27
1.5.1.3	Técnicas cartográficas o <i>mapping</i>	27
1.5.2	Estudios basados en simulaciones mediante ordenador	34
1.6	CARACTERÍSTICAS FRECUENCIALES DE LA FV	36
1.7	TEORÍAS SOBRE LA FV.....	39
1.8	INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	46
1.8.1	Dependencia de las propiedades electrofisiológicas con la temperatura.....	47
1.8.2	Hipotermia/hipertermia y arritmias	48
1.8.3	Efectos durante la FV.....	51

1.1 Fisiología del corazón

El corazón es uno de los órganos necesarios para la sustentación de la vida. Su misión es el bombeo de sangre a todas las partes del cuerpo gracias a la acción combinada de sus cuatro cámaras. La contracción y distensión de dichas cámaras se realiza de manera rítmica y organizada, de forma que se optimiza el gasto cardíaco [Geddes 1984].

1.1.1 Anatomía y ciclo cardíaco

La *Figura 1.1* muestra la configuración anatómica del corazón, que puede considerarse como una bomba biológica de tipo pulsátil que mantiene el flujo sanguíneo circulando por las "tuberías" del organismo a la presión y caudal necesarios. Este órgano se compone de cuatro cámaras (dos superiores o *aurículas* y dos inferiores o *ventrículos*) comunicadas dos a dos por las válvulas aurículo-ventriculares o válvulas AV (tricúspide y mitral). Los ventrículos están a su vez separados de las arterias aorta y pulmonar por sendas válvulas. La sangre fluye ininterrumpidamente hacia las aurículas a través de las venas cavas y pulmonares, y sale del corazón por las arterias aorta y pulmonar; es lo que se conoce como sistema cardiovascular.

El corazón es básicamente un músculo, el *miocardio*, compuesto por células excitables que se contraen al ser estimuladas por sus vecinas [Webster 1992]. Las paredes interiores constituyen el *endocardio*, mientras que la exterior recibe el nombre de *epicardio*. El *septum* es el tabique que separa los ventrículos. Un sistema de fibras especializadas y poco contráctiles distribuyen apropiadamente los impulsos eléctricos responsables de la contracción sincronizada del músculo cardíaco, dando lugar al ciclo cardíaco.

El ciclo cardíaco empieza con la *diástole*. Las válvulas AV se abren, fluyendo la sangre hacia los ventrículos por la diferencia de presión existente. La última fase de la diástole es la *sístole auricular*, en que las aurículas se contraen para acabar de llenar los ventrículos. La *sístole* comienza con el cierre

de las válvulas AV y la contracción isométrica de los ventrículos. La presión aumenta hasta abrir las válvulas aórtica y pulmonar, vaciando así las cámaras ventriculares. Estas válvulas se cierran con la relajación ventricular que llega a continuación, provocando ésta que se abran de nuevo las válvulas AV, completando así el ciclo.

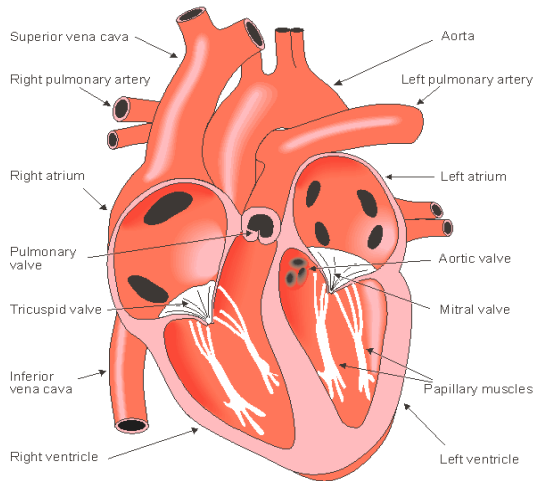


Figura 1.1 Anatomía del corazón

1.1.2 Origen y propagación de la excitación cardíaca

Las estructuras que constituyen el sistema de conducción eléctrica en el corazón son: el nodo sinusal o sinoauricular (nodo SA), las vías auriculares internodales, el nodo aurículo-ventricular (nodo AV), el haz de His con sus ramas y las fibras de Purkinje (*Figura 1.2*).

En condiciones normales, los impulsos que inician el ciclo cardíaco se originan en el nodo SA, que puede considerarse el marcapasos natural del corazón. Este nodo es una región de aproximadamente 3 mm de ancho y 1.5 cm de largo situada en la parte anterosuperior de la aurícula derecha. El tejido

del nodo SA se caracteriza por ser autoexcitable, esto es, que tras cada potencial de acción¹ no se alcanza un potencial de reposo sino que, sin necesidad de ningún estímulo externo, el potencial comienza a recuperarse de forma lineal hasta alcanzar de nuevo el umbral de disparo y generar otro potencial de acción. Este fenómeno se produce a un ritmo aproximado de un ciclo por segundo, aunque su velocidad exacta la regula el sistema neurovegetativo de acuerdo con las necesidades del organismo en cada instante.

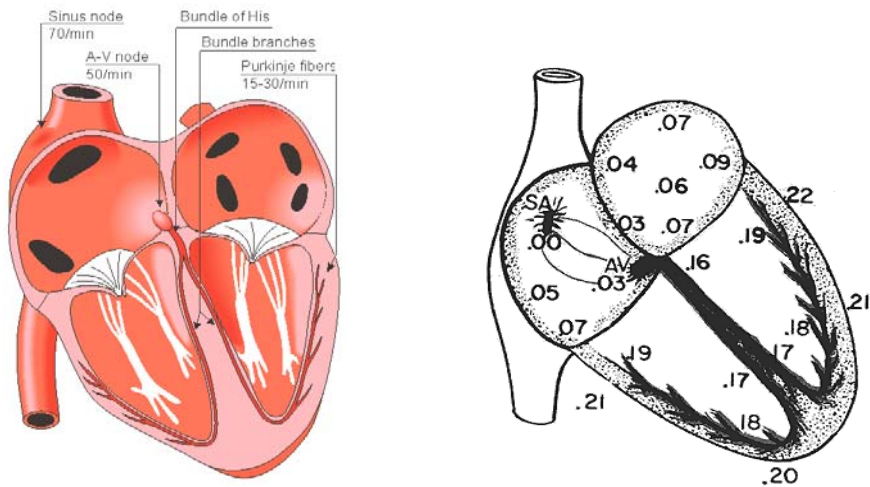


Figura 1.2 Conducción eléctrica del corazón. Izquierda: partes de este sistema. Derecha: avance de la onda de despolarización, en fracciones de segundo

El potencial de acción generado en el nodo SA se propaga a las fibras musculares auriculares vecinas. Debido a la estructura del tejido, el impulso se extiende a todo el miocardio auricular, que se contrae a su paso (sístole auricular). Sin embargo, el miocardio ventricular está separado del auricular

¹ Cuando las membranas de ciertas células excitables son despolarizadas por un estímulo superior a un umbral, el potencial intracelular sufre un cambio brusco y se hace transitoriamente positivo para retornar a continuación al nivel de reposo. Este cambio se denomina *potencial de acción*

por un tejido fibroso que impide la propagación de los impulsos, de forma que la contracción de las aurículas no tiene una continuidad inmediata con la de los ventrículos; es necesario que el potencial de acción llegue por otro camino a éstos últimos. Tomando como partida el nodo SA se conducen los impulsos hasta el nodo AV a través de las vías internodales. En el nodo AV la señal eléctrica es conducida a muy baja velocidad con el fin de introducir un retardo que produzca el decalaje temporal necesario entre la contracción de las aurículas y la de los ventrículos. La salida del nodo AV conecta con el haz aurículo-ventricular o de His. Este haz se divide en dos ramas que discurren por la pared que separa los ventrículos. Ambas ramas terminan ramificándose a su vez en el sistema de fibras de Purkinje. Las fibras de Purkinje están conectadas a las fibras del miocardio y se caracterizan por tener una velocidad de conducción muy alta. De este modo se garantiza que el impulso se transmitirá de forma casi simultánea a todos los puntos de los ventrículos para conseguir una contracción uniforme y eficaz.

Hay que resaltar que todas las células poseen un *período refractario*, esto es, un intervalo de tiempo durante el cual la célula que ha soportado un potencial de acción queda insensible a nuevos estímulos. Gracias a ello, el frente de onda que propaga el impulso a través del miocardio avanza sólo hacia adelante (*Figura 1.2*), sin que las células que van siendo excitadas puedan a su vez re-excitar a las que les precedían y crear de esa forma un sistema de oscilación realimentado.

El ciclo anteriormente descrito es el que controla la contracción sincrona de aurículas y ventrículos, y puede ser observado desde el *electrocardiograma* de superficie (ECG). La *Figura 1.3* muestra las formas de onda del impulso eléctrico en las diferentes células especializadas del sistema de conducción del corazón, y su relación temporal con la señal superficial del ECG (la latencia corresponde aproximadamente a la habitual en un corazón humano).

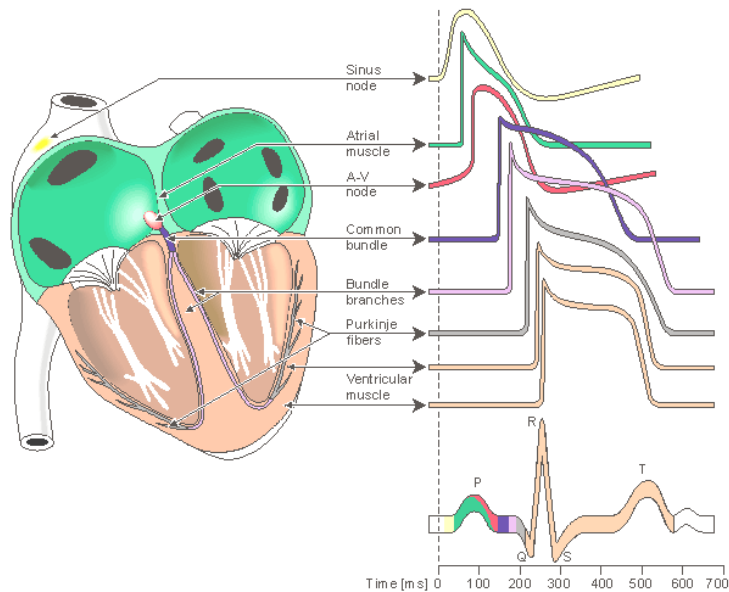


Figura 1.3 Electrofisiología del corazón. Formas de onda en el sistema de conducción eléctrica y señal del ECG conformada

El ECG es uno de los registros extracelulares que mayor información contiene acerca del funcionamiento de un órgano vital del organismo, su importancia para el diagnóstico clínico es esencial desde que en 1903 el holandés W. Einthoven lo registrara por primera vez utilizando un galvanómetro. En la *Figura 1.4* se muestra un electrocardiograma convencional real obtenido mediante una derivación estándar II [Webster 1992]. Al igual que en la *Figura 1.3*, pueden diferenciarse claramente las principales ondas constitutivas de un ECG (onda P, complejo QRS y onda T). La onda P se corresponde con la despolarización (contracción) de las aurículas, el complejo QRS con la despolarización de los ventrículos y la onda T con la repolarización (distensión) de los ventrículos. La repolarización auricular queda enmascarada por el complejo QRS.

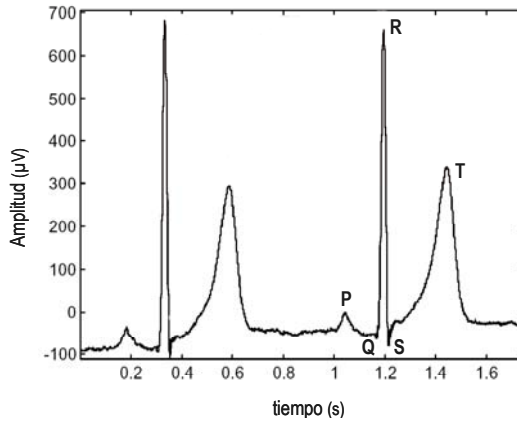


Figura 1.4 Señal del electrocardiograma

1.2 El electrograma

Cuando los potenciales de acción están tomados directamente sobre el miocardio, los registros obtenidos se denominan electrogramas, reconociéndose de forma abreviada como EGM. Al igual que ocurre con el ECG, el EGM puede registrarse de forma unipolar o bipolar, aunque en este caso con connotaciones distintas. Así, cuando la señal es amplificada en modo "single-ended" —es decir, un electrodo en contacto directo con el miocardio y un terminal de referencia más lejano— se reconoce como registro unipolar; si se amplifica en modo diferencial —es decir, un electrodo dual con las puntas de contacto muy cercanas amplificando la diferencia entre ambos— se reconoce como registro bipolar.

1.2.1 Descripción

El campo eléctrico producido en la zona situada entre el miocardio en reposo y el miocardio excitado puede ser descrito como un dipolo. Durante la excitación cardíaca, la aproximación de este dipolo hacia un electrodo explorador da una deflexión positiva que pasa posteriormente a una deflexión

negativa para regresar finalmente a la línea base. La despolarización causa también un dipolo, aunque de polaridad contraria.

La amplitud del electrograma unipolar es inversamente proporcional a la raíz cuadrada de la distancia entre el dipolo y el punto de adquisición. Por tanto, los electrogramas unipolares contienen una combinación de eventos eléctricos locales y distantes, siendo la contribución de éstos últimos (eventos distantes) decreciente proporcionalmente a la raíz cuadrada de la distancia al electrodo explorador. Todos los electrogramas analizados durante este trabajo fueron registrados de forma unipolar.

El electrograma bipolar se registra como la diferencia entre dos electrodos próximos en contacto directo con el corazón, por tanto se puede asumir que se corresponde con la diferencia entre dos electrogramas unipolares en cada uno de los puntos donde se sitúan los electrodos. Estos dos electrogramas unipolares difieren únicamente en la actividad local en el momento de la excitación. En el caso de que se produzca un pico en el electrograma bipolar, su amplitud es inversamente proporcional a la tercera potencia de la distancia entre el punto de adquisición y el dipolo. Si el frente de activación es perpendicular en relación al par de electrodos, el pico bipolar será de amplitud máxima, mientras que si es paralelo, ambos electrodos adquirirán la misma forma de onda al mismo tiempo y no se producirá ningún pico.

La *Figura 1.5* muestra un ejemplo de un segmento de EGM unipolar y otro bipolar, registrados durante el ritmo sinusal por un desfibrilador implantable o ICD (*internal cardioverter defibrillator*). De la misma manera, la *Figura 1.6* corresponde a un episodio de fibrilación ventricular.

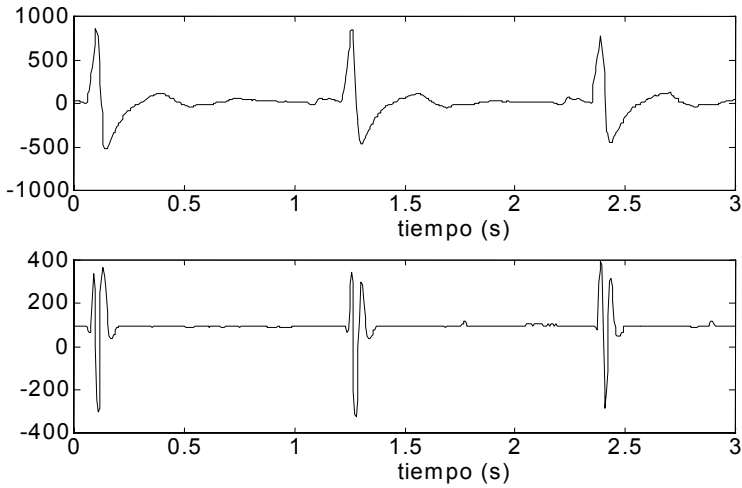


Figura 1.5 EGM unipolar y bipolar (registros clínicos obtenidos de un ICD). Arriba: extracto de ritmo sinusal para un electrograma unipolar. Abajo: el mismo extracto, correspondiente al electrograma bipolar

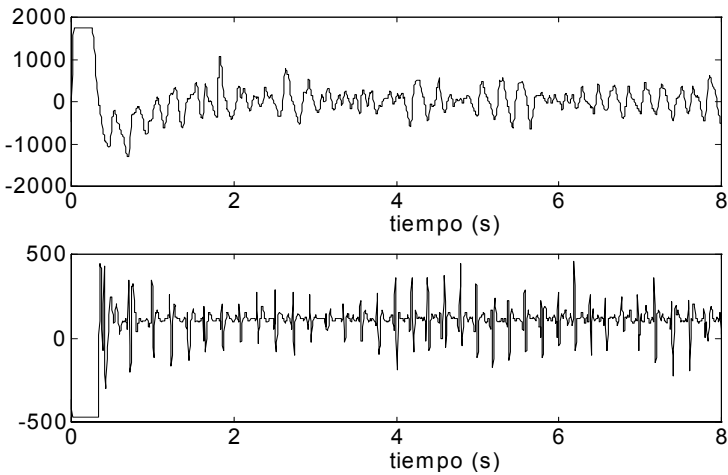


Figura 1.6 EGM unipolar y bipolar (registros clínicos obtenidos de un ICD). Arriba: extracto de fibrilación ventricular para un electrograma unipolar. Abajo: el mismo extracto, correspondiente al electrograma bipolar

1.2.2 Detección de la activación

En el análisis del EGM juega un papel primordial la detección de los instantes de activación, o momentos en los que se produce la despolarización del miocardio en el punto de registro de la señal. Esto es necesario, por ejemplo, en las técnicas de "mapping", donde, a partir de un registro multipunto del electrograma, se pretende construir mapas de activación en los que se pueda observar el recorrido espacial o avance de la onda (u ondas) de despolarización del miocardio. Prácticamente todas las técnicas de obtención automática de estos instantes de activación, están basadas en la búsqueda de la máxima pendiente negativa [Shenasa *et al.* 1996]. Las reglas fundamentales son dos:

- 1.- Búsqueda en cada electrograma de los puntos en que la pendiente negativa supera un umbral predefinido. Estos puntos se aceptan como posibles puntos de activación.

- 2.- Si dos o más instantes de tiempo cumplen el criterio dentro de una ventana predefinida, el instante con mayor pendiente será el elegido como tiempo de activación local.

Los distintos algoritmos existentes varían básicamente en el criterio de elección para el valor umbral, el ancho de la ventana y la forma en que la pendiente del electrograma es calculada (algoritmos de 2 puntos, 3 puntos ó 5 puntos). Algunos además tienen en cuenta un período refractario después de cada instante de tiempo en el que se detectó una activación. Otros usan un umbral para la pendiente en relación con las pendientes medidas en cada electrograma analizado.

La principal controversia en algoritmos unipolares es la elección del valor óptimo del umbral de la pendiente. El problema básico consiste en distinguir la actividad local (pendiente negativa elevada) de la actividad distante sin actividad local (asociado con una pendiente menor). Durante esta investigación los instantes de activación obtenidos para su posterior análisis y tratamiento

estadístico, se han determinado de forma semiautomática. Esto es, fijando manualmente una ventana de ancho variable (milisegundos) sobre la presunta activación y dejando que sea el algoritmo correspondiente el que asigne el instante exacto de la misma.

1.2.3 Morfología del EGM unipolar

En la morfología de los electrogramas unipolares se codifica gran parte de la actividad del corazón, lo que permite llegar a importantes conclusiones bajo un número de condiciones patológicas y fisiológicas, mientras que la morfología de complejos bipolares puede contener información valiosa sobre patrones de activación local.

El electrograma, de forma genérica, está compuesto por la contribución de dos tipos de eventos, por una parte se tiene los eventos eléctricos de campo cercano y por otra los eventos eléctricos de campo lejano [Warren *et al.* 1996]:

- Eventos eléctricos de campo cercano: son las contribuciones al electrograma por parte de la despolarización y repolarización ventricular. En el entorno de los dispositivos implantables se denomina “onda R” a la zona de la señal correspondiente a la despolarización y “onda T” a la repolarización (*Figura 1.7*).
- Eventos eléctricos de campo lejano: son las contribuciones al electrograma por parte de la despolarización y repolarización auricular. A la despolarización de la aurícula se le llama comúnmente “onda P”.

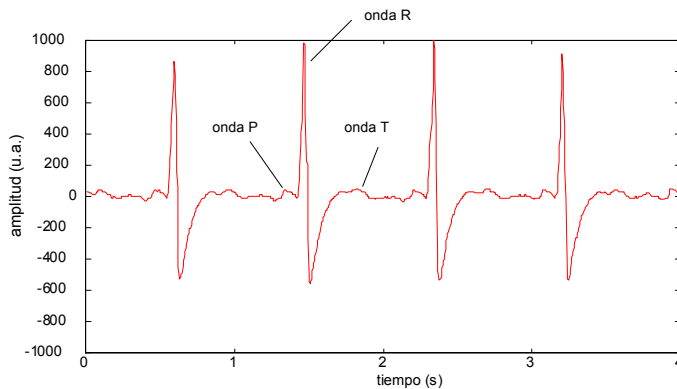


Figura 1.7 Morfología de un EGM unipolar correspondiente a un ritmo sinusal (amplitud en unidades arbitrarias)

Este tipo de notación deriva de la utilizada en el ECG y no tiene por qué coincidir con la notación empleada por los electrofisiólogos para los electrogramas intracavitarios. La despolarización auricular (onda P) indica el inicio del ciclo cardíaco. La onda R, resultado de la despolarización de la cámara ventricular, es la parte más importante del electrograma. Su periodicidad es la que se utiliza para determinar la longitud de ciclo (*rate*) y como identificador de posibles arritmias. En base a ello, un ciclo muy lento será clasificado como bradicardia, un ciclo muy rápido será clasificado como taquicardia y un ciclo desorganizado y caótico será clasificado como fibrilación. Entre otros parámetros, durante esta investigación se han analizado estos ciclos o intervalos entre activaciones —"intervalos VV" cuando corresponden al EGM ventricular— en episodios de fibrilación ventricular.

1.3 Fibrilación ventricular. Generalidades

El ritmo sinusal normal, entendiendo por éste aquel que tiene su origen en el automatismo del nódulo SA y se propaga a todo el miocardio a través del sistema de conducción, puede verse afectado por alguna alteración del automatismo o del sistema de conducción. En este caso se dice que existe una

arritmia. La fibrilación ventricular (FV) es la principal arritmia causante de muerte súbita cardíaca, responsable final del 75 al 85% de las muertes en personas con problemas cardíacos [Bayés *et al.* 1989, MedlinePlus 2004]. Así, por ejemplo, sólo en Estados Unidos, unas 300.000 personas aproximadamente fallecen cada año a consecuencia de esta alteración del ritmo cardíaco [Myerburg *et al.* 1990, Goldstein *et al.* 1994, Zipes & Wellens 1998, Zheng *et al.* 2001, AHA 2005]. Por esta causa la FV es clínicamente objeto de estudio desde diferentes perspectivas, especialmente en relación con mecanismos de prevención de su aparición y de algoritmos seguros para su rápida detección y tratamiento, principalmente estos últimos términos en el contexto de la desfibrilación automática [Martín-Huerta 1994, Madrid 1996, Aguinaga 1998, Rodríguez-Font 1999, Jetova & Mitev 2002, Kaup *et al.* 2004].

1.3.1 Descripción

La FV ha sido definida tradicionalmente como una actividad eléctrica cardíaca turbulenta, que implica una gran irregularidad de las ondas eléctricas que producen la excitación ventricular. Durante la FV la activación ventricular es descoordinada, lo que conlleva una tensión sistólica no efectiva. En consecuencia el gasto cardíaco disminuye bruscamente a niveles sumamente bajos, y la muerte habitualmente se produce en unos minutos como consecuencia de la falta de aporte de oxígeno a los órganos vitales, principalmente el cerebro. En el electrocardiograma la FV se diagnostica por la aparición de una actividad rápida e irregular, con cambios constantes en la morfología de los complejos ventriculares que son completamente aperiódicos e irregulares. A diferencia de lo que ocurre con otras arritmias, el ECG de una fibrilación ventricular posee siempre las siguientes características:

- El trazado es rápido y descoordinado
- No puede diferenciarse la onda P
- No se forman complejos QRS
- No existe ninguna actividad ventricular organizada

La *Figura 1.8* muestra un esquema conceptual de la fibrilación ventricular. Los trazados del ECG y del EGM durante la FV se asemejan a una onda sinusoidal distorsionada con frecuencias muy superiores a las de un ritmo sinusal normal, reflejo de múltiples focos de despolarización autosostenidos en el miocardio. La *Figura 1.9* muestra como ejemplo el ECG real de un corazón humano que ha entrado en FV, mientras que en la *Figura 1.10* puede observarse un segmento de dos segundos de FV registrado en la superficie epicárdica de un corazón aislado de conejo —en esta especie la frecuencia es sensiblemente más alta— durante uno de los experimentos realizados en este trabajo. Los avances en el conocimiento de los mecanismos básicos que determinan su inicio, su perpetuación o su cese son necesarios para intentar progresar en la prevención de la FV o en la efectividad de los procedimientos aplicados para su interrupción.

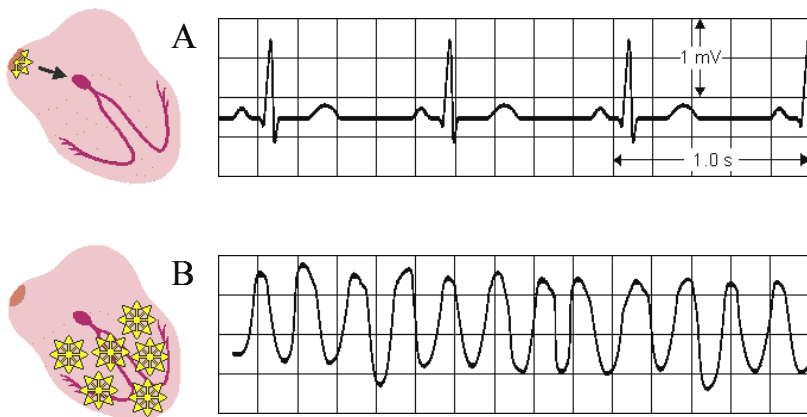


Figura 1.8 A - Ritmo sinusal normal. El impulso se propaga con normalidad desde el nodo SA. B - Fibrilación ventricular. Existen múltiples focos de despolarización en los ventrículos

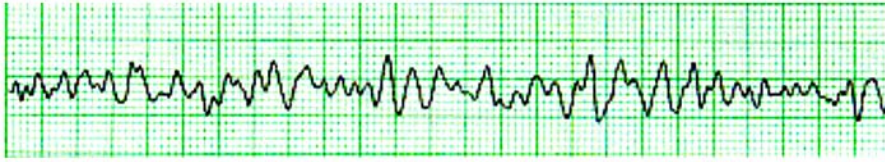


Figura 1.9 Registro del ECG de un corazón humano correspondiente a un episodio de FV, registrado en papel milimetrado a 25 mm/s [obtenido de Stephenson 2004]



Figura 1.10 Registro del EGM epicárdico correspondiente a un corazón aislado de conejo en FV, obtenido durante un experimento de este trabajo

1.3.2 Perspectiva histórica

Andreas Vesalius en su clásico libro de anatomía titulado *De Humani Corporis Fabrica*, publicado en 1543, ya se refería a los "movimientos semejantes a gusanos" que ocurrían inmediatamente antes de la muerte en los corazones de animales que él disecaba [Acierno 1994].

La fibrilación ventricular fue descrita probablemente por primera vez por Erichsen en 1842. Este autor la observó tras la ligadura de la arteria coronaria [Erichsen 1842]. Vulpian la etiquetó por primera vez de "movimiento fibrilar" al describirla en 1874, siendo la misma denominación que daba a la fibrilación auricular (FA) [Vulpian 1874]. McWilliam aportó una contribución destacada al describir en 1887, sin la ayuda de la electrocardiografía, muchas de las características de esta arritmia mortal, demostrando cómo la FV en el hombre podía ser revertida mediante la aplicación de choques eléctricos [McWilliam 1887, 1889]. En 1911, Levy y Lewis utilizaron el ECG para demostrar que cuando la FV ocurría durante la anestesia con cloroformo, frecuentemente estaba precedida por la aparición de extrasístoles ventriculares multiformes o

por taquicardia ventricular (TV) [Levy & Lewis 1911]. Sin embargo, fue August Hoffman el primero en publicar en 1912 el primer electrocardiograma de fibrilación ventricular en el hombre [Hoffman 1912]. El mismo año, Erlanger observó que corazones grandes de bovino fibrilaban con relativa facilidad y raramente la fibrilación se detenía con KCl, al contrario que ocurría con otros corazones más pequeños [Erlanger 1912].

En 1914, Garrey publicó el primer estudio sistemático de la relación existente entre la FV y el tamaño del corazón, estableciendo que era necesaria una "masa crítica" de tejido, al menos una cuarta parte del músculo ventricular en perros, para sostener la fibrilación [Garrey 1914]. También postuló que la fibrilación era producida por "... series de circuitos anulares de localización cambiante y complejidad múltiple". Garrey observó que anillos cortados de la base de ventrículos fibrilados de grandes galápagos mantenían el ritmo fibrilatorio. Además, si el anillo se conseguía lo suficientemente delgado, la actividad descoordinada se organizaba en ondas rotatorias alrededor del anillo, de forma similar a lo descrito independientemente por Mines como "movimientos de reentrada circular" [Mines 1913]. Lewis también abogó por el mecanismo de reentrada [Lewis 1915]. Estos estudios sentaron las bases del actual conocimiento de los mecanismos y dinámica de la FV.

De Boer, en 1923, demostró que una sola descarga eléctrica aplicada en la fase final de la sístole en el corazón de la rana desencadenaba la fibrilación de dicha cámara [De Boer 1923]. Louis Katz fue el primero en indicar en 1928 el peligro de las extrasístoles aparecidas en el período de la onda T, y posteriormente Wiggers y Wegria dieron a este intervalo el nombre de período vulnerable [Wiggers & Wegria 1940]. Fue Wiggers el primero en considerar que los frentes de ondas no se desplazaban solamente como circuitos reentrantes bidimensionales, si no en un medio tridimensional [Wiggers 1940].

En la década de los 50 se aceptaba que tanto las taquicardias auriculares como las ventriculares se producían por descargas repetitivas de un foco

ectópico [Scherf & Schott 1953] o por el desplazamiento de un frente de onda alrededor de un obstáculo [Mines 1914, Weiner & Rosenblueth 1946]. En ambos casos, y bajo ciertas condiciones, se postulaba que el impulso originado en el circuito reentrante o en un foco ectópico podía propagarse tan rápidamente que los tejidos vecinos no eran capaces de responder de un manera regular, dando lugar a la aparición del patrón caótico de la FV en el ECG. Sin embargo, en 1956, Moe propuso que el mecanismo de la fibrilación era diferente al de la taquicardia, afirmando que durante la fibrilación existía una total desorganización de la actividad. La arritmia fue entonces definida como el resultado de frentes de ondas desplazándose aleatoriamente, cambiando de número y dirección [Moe 1956]. En 1962, Moe postuló la hipótesis de las múltiples ondas de la FA [Moe 1962], y en 1964 Han y Moe establecieron la importancia de la dispersión del período refractario en la inducción de la fibrilación cardíaca [Han & Moe 1964]. En ese mismo año se consolidó la hipótesis de las múltiples ondas mediante el desarrollo del primer modelo computerizado de la fibrilación cardíaca en dos dimensiones [Moe *et al.* 1964]. El soporte experimental de esta teoría tuvo que esperar 20 años hasta el desarrollo de la tecnología del mapeo de alta resolución con múltiples electrodos. En 1985, Allesie *et al.*, en un modelo canino en el que se inducía FA mediante estas técnicas, confirmaron la teoría de las múltiples ondas descrita inicialmente por Moe [Allesie *et al.* 1985].

Si bien el modelo por ordenador de Moe pretendía simular la fibrilación auricular, numerosa literatura experimental posterior asume la hipótesis de las múltiples ondas para la FV [Downar *et al.* 1988, Epstein *et al.* 1995, Janse *et al.* 1995, Witkowski *et al.* 1998]. El consenso tradicional venía siendo que, aunque la activación focal pueda jugar un papel en la iniciación de la arritmia, el mantenimiento de ésta en los ventrículos tridimensionales implica la existencia de múltiples ondas nómadas con trayectorias cambiantes de un ciclo a otro [Moe 1962]. Sin embargo, en los últimos años, el avance en los modelos por ordenador y en la tecnología de mapeo cardíaco (sistemas ópticos y de mayor

resolución) han reavivado la controversia: ¿es la compleja dinámica de la FV el resultado de la generación y propagación aleatorias de múltiples ondas independientes [Choi *et al.* 2001, 2002], o son éstas últimas la consecuencia de la actividad sostenida de algún o algunos focos dominantes que activan los ventrículos a alta frecuencia? [Gray *et al.* 1995a, Jalife *et al.* 1998a,b, Samie *et al.* 2001] Esta cuestión aún es objeto de investigación en electrofisiología cardíaca —ver apartado 1.7 ("Teorías sobre la FV").

1.3.3 Aplicaciones clínicas de los estudios sobre la FV

Los avances en el conocimiento de los mecanismos básicos que determinan el inicio de la FV, su perpetuación o su cese, son necesarios para intentar progresar en la prevención de la misma o en la eficacia de los procedimientos utilizados para interrumpirla adecuadamente [Dalzell 1993, Chamberlain 1998, Brendorp *et al.* 2004].

El estudio de los mecanismos que regulan la perpetuación de la arritmia ha hecho surgir diversas hipótesis de trabajo que intentan explicar la transición de ritmos regulares hacia ritmos irregulares como la FV. Así, se ha postulado que serían fármacos antifibrilatorios aquellos que potenciaran la estabilidad de la activación reentrante, mientras que favorecerían la transición hacia la fibrilación aquellos que dieran lugar a su desestabilización [Weiss *et al.* 1999, Riccio *et al.* 1999, Cao *et al.* 1999, Hao *et al.* 2004], hecho que se ha relacionado con las características de las curvas de restitución de las propiedades eléctricas del miocardio ventricular [Riccio *et al.* 1999, Qu *et al.* 1999, Weiss *et al.* 2002].

Asimismo, los algoritmos de identificación de la FV en sus distintas manifestaciones son necesarios para conseguir el tratamiento eficaz de la arritmia mediante desfibriladores, tanto implantables como externos, estos últimos en el contexto de la desfibrilación con sistemas automatizados [Kern 1998]. Tanto la caracterización de la arritmia a partir del ECG de superficie o de los registros endocavitarios, como la predicción de los cambios en el patrón

fibrilatorio inducidos por fármacos u otros procedimientos, son útiles para perfeccionar los algoritmos de identificación de la arritmia en diversas situaciones y contextos [Waldo 1998, Jetova & Mitev 2002, Kaup *et al.* 2004].

Por otra parte, el análisis de los mecanismos implicados en la desfibrilación eléctrica hace posible optar por equipos cada vez más eficaces, tanto por sus modos de estimulación como por sus planteamientos. La investigación encaminada a conseguir otros procedimientos de desfibrilación además de los basados en los choques de corriente DC, bien sea utilizando otros modos de estimulación, o bien se trate de procedimientos basados o combinados con la administración de fármacos, es una de las tareas que pueden aportar resultados prometedores en el ámbito de los estudios sobre la FV [Larse *et al.* 2002].

1.4 Mecanismos de las arritmias. La reentrada.

En condiciones normales, un único impulso generado en el nodo sinusal activa las aurículas y los ventrículos. El impulso se propaga dando lugar a una onda de activación que despolariza los tejidos adyacentes excitables y va dejando atrás tejido inexcitable. Cuando esta onda de activación alcanza el final del músculo y queda rodeada de tejido inexcitable, se extingue. Hasta que no se genere un nuevo impulso sinusal, no se volverá a activar el corazón. Sin embargo, en ciertas circunstancias, la activación puede persistir sin extinguirse en una zona del corazón, durante el tiempo suficiente para que el tejido vecino recupere su excitabilidad —superando por tanto su período refractario—, con lo que el mismo impulso vuelve a reexcitar parcial o totalmente el corazón. Este estímulo se llama estímulo reentrante, y el mecanismo por el que se produce, reentrada.

El papel de la reentrada fue demostrado separadamente por Mines y Garrey [Mines 1913, Garrey 1914]. En las experiencias que desarrollaron estos autores observaron que un anillo de tejido excitable estimulado en un solo

punto propaga dos frentes de activación en direcciones opuestas que acaban cancelándose mutuamente al producirse su encuentro tras rodear el anillo. Pero si se genera un área de bloqueo transitorio que interrumpe prematuramente uno de los frentes —y que permite que el otro circule retrógradamente por el camino del anterior—, entonces se establece un fenómeno de movimiento circular autosostenido (*Figura 1.11*). Sin embargo, para que esto ocurra en el miocardio, debería existir algún tipo de heterogeneidad. En la práctica, una zona isquémica o infartada podría constituir el obstáculo central que posibilitara la existencia del fenómeno.

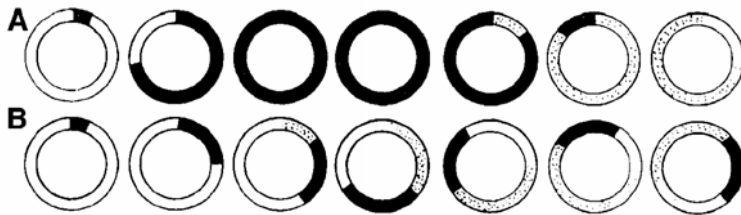


Figura 1.11 Modelo de reentrada anatómica. Tejido excitado, refractario, marcado en negro; excitable en blanco; refractario relativo a puntos. A: longitud de onda de la excitación mayor que la longitud del anillo. B: longitud de onda menor. Tras el giro, el frente de onda encuentra siempre tejido excitable; se genera la reentrada [obtenido de Mines 1913]

La ruta que conduce el impulso de nuevo al punto de partida, puede ser un circuito alrededor de un obstáculo anatómico central (reentrada anatómica), pero también una región de tejido inexcitable debido a la alta refractariedad de sus células (reentrada funcional). Allessie *et al.* caracterizaron diferentes tipos de excitación circular en aurículas de conejo, distinguiendo entre estos dos tipos de reentrada [Allessie *et al.* 1973, 1976, 1977] (*Figura 1.12*). Los circuitos de localización y tamaño estables dan lugar a reentradas ordenadas; los inestables generan reentradas desordenadas que pueden desembocar en FV.

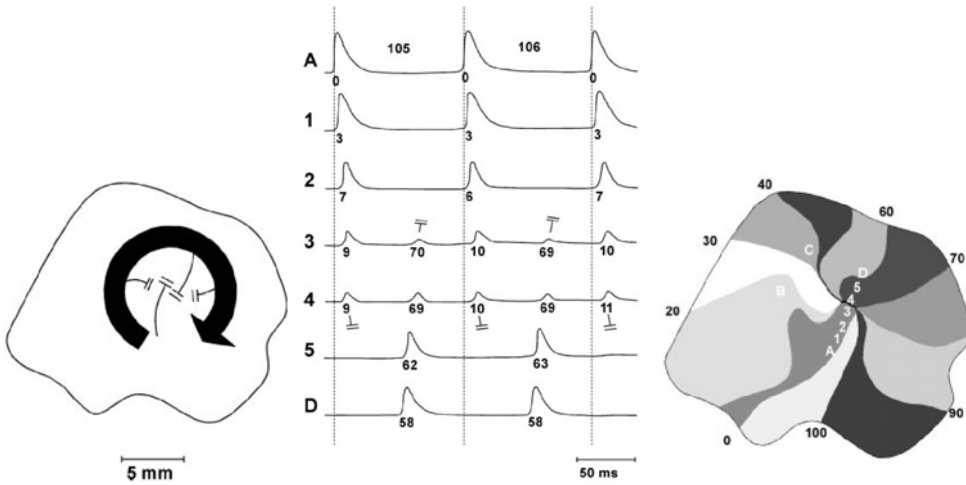


Figura 1.12 Reentrada funcional durante una taquicardia ventricular. Representación esquemática del movimiento reentrante con los bloqueos funcionales del núcleo (izq.), mapa de activación con isócronas a intervalos de 10 ms (dcha.) y electrogramas registrados en los puntos indicados (centro) [modificado de Allesie *et al.* 1977]

Entre los factores electrofisiológicos que favorecen la reentrada se encuentran la disminución de la velocidad de conducción y el acortamiento del período refractario, así como la dispersión de la duración del potencial de acción (APD) y la refractariedad. Estas circunstancias, unidas a la aparición de un estímulo prematuro, pueden crear un bloqueo unidireccional en el tejido y por tanto una reentrada. La aparición de este estímulo puede ser debida a la automaticidad anormal de algún grupo de células. En la práctica clínica, el aumento del tamaño del corazón, las drogas que alteran la refractariedad y el APD, y la existencia de zonas de tejido isquémico, pueden facilitar el fenómeno de reentrada.

La actividad reentrante en el tejido miocárdico ha sido objeto de estudio de numerosos trabajos experimentales y simulaciones por ordenador, donde se ha analizado el papel de la reentrada en la generación y sustentación de arritmias, en concreto la fibrilación ventricular —ver apartado 1.5

("Aproximaciones metodológicas al estudio de la FV") y apartado 1.7 ("Teorías sobre la FV").

1.5 Aproximaciones metodológicas al estudio de la FV

1.5.1 Estudios basados en trabajos experimentales

Los trabajos experimentales encaminados al estudio de la FV persiguen objetivos muy diversos que abarcan desde el análisis del papel de la isquemia y la necrosis miocárdica [Wit & Hanse 1992], hasta las técnicas y procedimientos para conseguir una desfibrilación efectiva [Curtis 1994]. Se han utilizado preparaciones experimentales in situ [Zipes *et al.* 1975, Aupetit *et al.* 1993, Chorro *et al.* 1996, Dorian y Newman 1997, Kwan *et al.* 1998], modelos de corazón aislado [Curtis 1998, Witkowski *et al.* 1998, Chorro *et al.* 1998, Wolk *et al.* 1999] o preparaciones con cultivos celulares [Tovar & Jones 1997]. Los estudios planteados han sido numerosos, tales como el análisis de los mecanismos de inicio y cese [Cha *et al.* 1994], la interferencia de los procesos fibrilatorios mediante técnicas de sobreestimulación, la demostración de ventanas excitables (*gaps*) durante la arritmia [Kirchhof *et al.* 1993, Kenknight *et al.* 1995, Chorro *et al.* 1998], el papel de la masa miocárdica en la perpetuación del proceso fibrilatorio [Garrey 1914, Zipes *et al.* 1975, Kim *et al.* 1997], los efectos desfibrilatorios o protectores de los fármacos [Wiener y Rosenblueth 1946, Zhou *et al.* 1992, Dorian y Newman 1993, Wolk *et al.* 1999] o la eficacia de las técnicas desfibrilatorias [Zhou *et al.* 1993, Chen *et al.* 1998, Dillon y Kwaku 1998, Dalzell 1998] entre otros.

En función de las técnicas de registro y análisis utilizadas, los trabajos experimentales sobre la FV pueden agruparse en tres grandes bloques:

- Análisis de las características del ECG
- Registros intracelulares o de los potenciales de acción monofásicos
- Técnicas cartográficas o mapping

1.5.1.1 Análisis de las características del ECG

Wiggers *et al.*, en 1930, describieron las características del proceso fibrilatorio y sus fases evolutivas combinando el análisis de las señales electrocardiográficas y el del movimiento de las paredes ventriculares obtenido mediante técnicas cinematográficas que permitían describir la progresión de las ondas de contracción durante la FV. La variación en la amplitud de las ondas del ECG ha sido uno de los parámetros utilizados para caracterizar la evolución del patrón fibrilatorio desde su inicio [Moe *et al.* 1941], y se ha discutido la utilidad de distinguir entre FV gruesa (mayor amplitud) y fina (menor amplitud) para establecer momentos diferenciados en la evolución de la misma. Así, Jones y Klein (1984) observan que durante la FV de reciente inicio coexisten simultáneamente episodios de "fibrilación gruesa" y "fibrilación fina", siendo sólo la fina la que persistiría tras 15 minutos. En estos estadios más tardíos de la arritmia, la FV fina probablemente refleja degeneración de la excitabilidad celular inducida metabólicamente. Weaver *et al.* (1985) concluyen que la aparición de la FV fina está relacionada en parte con la demora en el inicio del tratamiento de la arritmia, y que la amplitud de la fibrilación es un poderoso indicador del éxito tras la parada cardíaca. El análisis del trazado del ECG para la detección e identificación de la FV representa también un campo ampliamente explorado. Así, Nygards & Hulting (1977) propusieron un análisis frecuencial de la señal de ECG para la identificación de la FV durante la monitorización de pacientes en UVI. Diversos estudios posteriores han propuesto distintos algoritmos, basados tanto en el dominio frecuencial como en otros (wavelet, tiempo-frecuencia) para la detección de la FV o la discriminación entre FV y otras arritmias —como la TV o la taquicardia supraventricular— de cara a su aplicación en la desfibrilación automática [Thakor *et al.* 1990, Aubert 1994, Jetova & Mitev 2002, Jetova & Krasteva 2004].

1.5.1.2 Registros intracelulares o de los potenciales de acción monofásicos

Los estudios clásicos de Sano *et al.* (1958) y de Akiyama (1981), en los que se utilizaron microelectrodos para obtener los potenciales de acción (PA) de las fibras miocárdicas durante la FV, revelaron que el potencial de reposo, el PA y la pendiente de ascenso del mismo disminuían durante la activación rápida e irregular característica de la FV [Hogancamp *et al.* 1959]. Las observaciones efectuadas utilizando registros de los PA monofásicos han aportado información sobre los procesos fibrilatorios en el corazón humano [Swartz *et al.* 1993]. Durante la FV los ciclos definidos por los potenciales consecutivos eran más cortos que durante otras arritmias como las TV polimorfos. Asimismo, prácticamente no se registraron períodos diastólicos, es decir, no se alcanzaba la repolarización completa y había cierto grado de fraccionamiento de las señales registradas.

Girouard & Rosenbaum (1996), mediante técnicas ópticas y registros simultáneos de PA con microelectrodos, constataron que, con la técnica de mapeo óptico empleando tintes voltaje-dependientes, es posible obtener representaciones muy aproximadas de los potenciales de acción, con gran resolución y flexibilidad espacial, algo imposible con las técnicas convencionales.

1.5.1.3 Técnicas cartográficas o *mapping*

Los procedimientos cartográficos permiten obtener información espacial y temporal sobre la activación miocárdica durante las arritmias. Mediante el registro de electrogramas obtenidos con múltiples electrodos epicárdicos, endocárdicos y/o intramiocárdicos, se identifican los momentos de activación en cada uno de los puntos explorados, y con esta información se construyen las líneas isócronas que definen los frentes de activación en la zona abarcada por el electrodo. Asimismo, los mapas de isopotenciales muestran las zonas con idéntica amplitud de los voltajes en un momento determinado y sus

variaciones temporales, mientras que los mapas de isofrecuencias permiten visualizar la existencia de distintos focos de activación rápida o de dominios caracterizados por una frecuencia local predominante.

Durante los últimos 30 años, los dispositivos de registro múltiple de 16, 24 y 48 canales, han dado paso a sistemas de hasta 512 canales, basados en ordenador y con múltiples capacidades de mapeo ². Estos sistemas, mediante el registro simultáneo de los electrogramas unipolares o bipolares, han permitido el estudio de la FV cada vez con mayor resolución espacial y temporal, p.e. trabajos con 27 electrodos [Ideker *et al.* 1981], 192 electrodos [Dillon *et al.* 1988], 256 electrodos [Brugada *et al.* 1990] o 512 electrodos [Rogers *et al.* 1999]. El conocimiento de las arritmias ventriculares progresaría de nuevo con la aparición y desarrollo en paralelo, en la última década del pasado siglo, del mapeo óptico basado en fotodiodos o dispositivos CCD ³ aplicado al estudio de las arritmias en preparaciones *in vitro* [Davidenko *et al.* 1992, Efimov *et al.* 1994, Girouard *et al.* 1996, Choi *et al.* 2001]. En el sistema óptico, la fluorescencia que provocan los cambios del potencial transmembrana de las células cardíacas en marcadores sensibles a los cambios de voltaje, es registrada por videocámaras digitales de alta resolución espacial y temporal (*Figura 1.13*). Las imágenes obtenidas de la activación epicárdica son procesadas y analizadas *pixel*⁴ a *pixel* mediante técnicas de tratamiento de imagen. Los trabajos experimentales que se publican actualmente aplican alguno de estos dos sistemas (óptico o convencional) o bien una combinación de ambos, cada uno de ellos con sus ventajas y limitaciones.

² Perspectiva histórica completa en "Evolution of Mapping and Anatomic Imaging of Cardiac Arrhythmias" [Packer 2004]

³ Descripción de la técnica y revisión completa en "Optical mapping of cardiac excitation and arrhythmias" [Rosenbaum & Jalife 2001] y "Optical Mapping Of Cardiac Arrhythmias" [Arora *et al.* 2003]

⁴ Contractura de *picture elements* (unidades mínimas en que se divide la imagen captada y que pueden procesarse separadamente). Equivaldrían a electrodos en un sistema de mapeo convencional

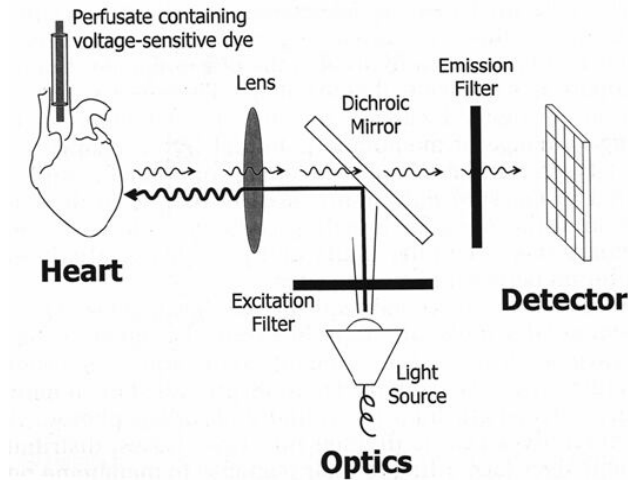


Figura 1.13 Sistema de mapeo óptico típico. La fuente de luz estimula la fluorescencia voltaje-dependiente de las moléculas del tinte, que ejercen de microsensores del potencial de membrana de las células cardíacas adyacentes, creando así una especie de potencial de acción óptico [obtenido de Rosenbaum & Jalife 2001]

Ideker *et al.* (1981), empleando 27 electrodos epicárdicos en las paredes de ambos ventrículos, cartografiaron los tres primeros segundos de la transición de la TV a la FV. En modelos de reperfusión isquémica, estos investigadores hallaron que la activación en el inicio de la FV se generaba en las fronteras de la zona isquémica y se propagaba en aparente organización hacia el resto de los ventrículos. Debido al limitado número de electrodos, no pudieron establecer la localización específica o la naturaleza de la arritmia.

Johnson *et al.* (1993), investigaron cuál debería de ser la distancia interelectrodo adecuada para mapear la FV sin pérdida de información significativa acerca de la secuencia de activación. Según el criterio de Nyquist, se requiere un espacio interelectrodo más pequeño que la mitad de la más pequeña longitud de onda para capturar importantes detalles de la muestra del proceso. Los resultados sugirieron que, para electrodos unipolares

extracelulares, un espacio interelectrodo del orden de 1 mm era el apropiado para estudiar la organización durante la FV [Bayly 1993a,b].

La FV ocurre en un medio tridimensional y, aunque existen trabajos en los que se ha abordado su análisis utilizando sistemas tridimensionales [Pogwizd y Corr 1987, Chen *et al.* 1988,1990], la metodología aplicada es compleja y requiere la inserción de electrodos en las paredes ventriculares que pueden alterar el proceso que se analiza. Así, Chen *et al.* (1988), mediante 40 electrodos de inserción con múltiples puntos de registro —configurando 120 registros intramurales en total—, identifican circuitos reentrantes completos durante la generación de la FV. A pesar de las limitaciones, el análisis del proceso de activación en la superficie de las paredes ventriculares permite describir y conocer con precisión diversos aspectos del proceso de activación global analizado. La observación frecuente de patrones de activación con propagación centrífuga desde el interior del área epicárdica abarcada por el electrodo se interpreta como un indicador de las características tridimensionales del proceso fibrilatorio en el miocardio ventricular [Lee *et al.* 1996]. La propagación de frentes de activación desde el endocardio hacia el epicardio se traduce en afloramientos del proceso en el área epicárdica analizada, y este fenómeno ocurre con frecuencia al analizar la FV. En los procesos fibrilatorios auriculares ocurre en mucha menor medida, ya que, aunque también influye el carácter tridimensional de las paredes auriculares, predomina la activación según una disposición bidimensional [Allessie *et al.* 1985, Kirchhof *et al.* 1993, Konings *et al.* 1994, Chorro *et al.* 1999].

Mediante técnicas cartográficas, se han descrito patrones evidentes de activación ventricular reentrante durante la FV, aunque algunos autores comprobaron que la reentrada epicárdica era relativamente infrecuente y de corta duración, sugiriendo que la reentrada sostenida era transmural o que los mecanismos que gobernaban la reentrada sostenida no eran muy importantes en la dinámica de la FV [Rogers *et al.* 1999]. También observaron que los

circuitos reentrantes se hacían más comunes, más grandes y más duraderos conforme la FV progresaba, lo cual podría explicar el incremento observado en la organización de la FV durante su primer minuto. Otros autores han observado que la incidencia de patrones de activación reentrante es baja, por lo que indican que el proceso fibrilatorio ventricular no parece sustentarse en procesos reentrantes estables y, cuando son objetivados, una de sus características es la limitada duración de los mismos [Lee *et al.* 1996, Kwan *et al.* 1998]. Lee *et al.* (1996) identificaron los patrones de activación reentrante en el estadio II de Wiggers de la FV, y analizaron los mecanismos de terminación y regeneración de estos patrones de activación en un modelo canino, viendo que los frentes de activación (ondas espirales) finalizan por interferencia con otros frentes de ondas o espontáneamente. Huang *et al.* (1998) cuantificaron los cambios en la activación epicárdica durante los primeros 40 segundos de la FV en un modelo porcino, observando que los patrones de activación están menos organizados a los 10 segundos que a los 0 segundos; posteriormente se van organizando de manera gradual. Davidenko *et al.* (1992) utilizaron un tinte voltaje-dependiente en combinación con un dispositivo CCD para grabar la actividad eléctrica de rodajas de músculo epicárdico de perro y oveja, y demostraron la existencia, en estos modelos, de ondas espirales nómadas. En algunos casos, un único rotor que se desplazaba rápidamente por el tejido era el causante de la actividad caótica observada en el ECG. Otros autores han postulado la necesidad de múltiples rotores para explicar los patrones fibrilatorios del ECG.

Utilizando técnicas de mapeo, también son comunes estudios sobre la acción de algunos fármacos en la dinámica fibrilatoria. Así por ejemplo, Kwan *et al.* (1998), analizaron los cambios en el patrón fibrilatorio producidos por la procainamida, que daba lugar a una disminución en el número de frentes de activación y en el número de veces que se fragmentan los mismos, lo cual contribuiría a la mayor probabilidad de finalización de la FV. Hillsley *et al.* (1995), describieron las modificaciones en el patrón fibrilatorio originadas por

el propanolol, viendo que disminuye el número de frentes de activación, y por el isoproterenol, que aumenta la cantidad de tejido activado por cada frente. Chorro *et al.* (2000a), constataron que tanto el verapamil como la flecainida y el sotalol disminuyen la complejidad de los patrones fibrilatorios, pese a los efectos divergentes del primero respecto de los otros en cuanto a la frecuencia de activación, la longitud de onda y el tamaño de los circuitos reentrantes.

Los sistemas de cartografía con electrodos múltiples, o los sistemas ópticos basados en marcadores sensibles a los cambios de voltaje, han supuesto el soporte metodológico de numerosos trabajos sobre la FV en busca de los mecanismos en los que se sustenta la arritmia. La presencia de reentradas funcionales ha sido demostrada en ventrículos infartados de perros [El-Sherif *et al.* 1982, Dillon *et al.* 1988], en tejido ventricular aislado [Davidenko *et al.* 1990, 1992] y corazones perfundidos [Schalij *et al.* 1992]. La activación gira como un remolino, sin un obstáculo central, debido a una menor excitabilidad en su centro de giro que hace la conducción más lenta que en la periferia. El fenómeno puede ocurrir en medios homogéneos —demostrado antes en tejido auricular [Allessie *et al.* 1973, 1976]—, en contraste con la necesidad de una dispersión de la refractariedad para la reentrada según la hipótesis de ondas múltiples de Moe. Un patrón irregular en el ECG podría ser producido por múltiples rotores simultáneos o por un rotor único con centro de giro migratorio [Jalife & Gray 1996]. Un centro vagando es considerado como una destacada característica de los rotores, cuya manifestación bidimensional son las ondas espirales. Aunque la actividad reentrante puede servir de fuente de activación durante la FV, la generación de estos frentes de ondas depende de la interacción de las ondas. Los nuevos frentes de ondas son generados cuando un frente de ondas interacciona con otro durante su período refractario. Los frentes de onda terminan espontáneamente o como resultado de fenómenos de interferencia.

Estudios cartográficos basados en estos modelos espirales de excitación, o en su expresión tridimensional, han aportado vías distintas de aproximación al estudio de los procesos fibrilatorios, tanto auriculares como ventriculares [Davidenko *et al.* 1992, Panfilov & Hogeweg 1996, Witkowski *et al.* 1998], y en ellos se han apoyado diversos trabajos en los que se propone que la evolución de ritmos organizados, como la TV, hacia la FV, ocurre debido a la desestabilización de los patrones de activación reentrante de acuerdo con la "teoría de la restitución eléctrica" [Winfree 1993, Riccio *et al.* 1999, Swissa *et al.* 2002]. En estos estudios experimentales se demuestra que los fármacos que reducen la pendiente de restitución (p.e. la Diacetil Monoxima y el Verapamil) impiden la inducción de la FV y convierten la ya existente en un ritmo periódico. En contraste, los fármacos que no reducen la pendiente de restitución (p.e. la procainamida) no dificultan la inducción de FV. En la misma línea, Cao *et al.* (1999) aprecian que la interacción de la restitución de la velocidad de conducción y del PRE, produce oscilaciones espacio-temporales en la activación cardíaca, que aumentan de amplitud conforme el ciclo de estimulación disminuye, causando finalmente ruptura de onda y FV. Estos hallazgos, y otros utilizando modelos computerizados, confirman un papel clave de la restitución de la velocidad de conducción y de la refractariedad en el inicio y el mantenimiento de la FV.

Wu *et al.* (2002), con una matriz óptica de 100x100 píxeles, examinaron la actividad de un área de 40mm² de ventrículo de corazón aislado de conejo, concluyendo la existencia de dos tipos distintos de FV dependiendo de las propiedades electrofisiológicas en el momento de su inducción: una FV rápida de difícil remisión con frecuencias dominantes muy elevadas y caracterizada por pequeñas ondas ambulantes, y una FV más lenta, con una periodicidad espacio-temporal más marcada. Estudios muy recientes mediante el sistema óptico de mapeo [Pak *et al.* 2003, Wu *et al.* 2004, Liu *et al.* 2004], han demostrado que la activación durante la FV se puede caracterizar por la existencia de una frecuencia dominante estable y muy localizada, apuntando

además que la ubicación del rotor responsable de la FV tendría que ver con estructuras anatómicas ventriculares (músculos papilares).

1.5.2 Estudios basados en simulaciones mediante ordenador

Moe *et al.* (1962, 1964) plantearon su hipótesis de la reentrada de múltiples frentes de activación para explicar los procesos fibrilatorios, utilizando para ello un modelo computerizado que simulaba el proceso de activación en el tejido miocárdico. Más recientemente, Abildskov (1994) utilizó también un modelo simulado para aportar datos que complementaban esta hipótesis. Este autor observó que la duración media de los períodos refractarios afectaba la vulnerabilidad de la preparación al modificar el número de respuestas precoces posibles por unidad de tiempo, mientras que la diferencia entre los valores máximo y mínimo de los períodos refractarios afectaba a la falta de uniformidad de la preparación.

Bardou *et al.* (1995) emplearon simulaciones basadas en un modelo de propagación de la onda de activación a través de la superficie ventricular que incluía áreas localizadas de isquemia, y en este modelo investigaron los efectos de la dispersión de los períodos refractarios. Las simulaciones mostraban que la isquemia era capaz de iniciar fenómenos de reentrada que se propagaban a través del ventrículo en su globalidad. El análisis estadístico de la probabilidad de reentradas en función del tamaño de las zonas isquémicas y de la tasa de dispersión de los períodos refractarios, puso de manifiesto la importancia de este último parámetro.

Qu *et al.* (1999) analizaron en una lámina bidimensional de tejido cardíaco simulada mediante ordenador, la importancia de la duración del potencial de acción y de la velocidad de conducción en la estabilidad de las reentradas en ondas espirales. Weiss *et al.* (1999), observando que el proceso de ruptura de la onda espiral en el tejido cardíaco simulado predecía con bastante exactitud la secuencia por la cual una taquicardia degeneraba en fibrilación en el tejido

cardíaco real, concluyeron que la modificación del APD y la restitución de la velocidad de conducción pueden prevenir la ruptura de la onda espiral en el tejido simulado, sugiriendo que los fármacos con efectos similares en el tejido cardíaco real podrían tener eficacia desfibrilatoria. Estos autores proponen que la desfibrilación se consigue de manera más efectiva combinando intervenciones basadas en alterar la restitución del potencial de acción, junto con otras intervenciones antitaquicardia, hechos que podrían servir para desarrollar nuevos fármacos antiarrítmicos [Weiss *et al.* 1999, Riccio *et al.* 1999, Cao *et al.* 1999].

Berenfeld y Jalife (1998) desarrollaron un modelo computerizado tridimensional de ventrículo de mamífero, que incluía el sistema de conducción de Purkinje y las uniones Purkinje-músculo distribuidas en el endocardio. Estos autores simularon la evolución de la actividad reentrante que afectaba al músculo y a la red de Purkinje. Los resultados sugerían que los afloramientos epicárdicos y la actividad endocárdica focal que se detectaban durante la FV podían originarse en la uniones Purkinje-músculo, que la amplitud del ECG podía disminuir al estabilizarse la reentrada y acortarse la longitud de onda del proceso de activación, y que el sistema de Purkinje podía tener un papel doble en la evolución de las reentradas, siendo esencial en los estadios iniciales e irrelevante cuando se establecían las reentradas intramiocárdicas.

La dinámica de las espirales tridimensionales de reentrada y su relación con las diferencias regionales del APD y las variaciones en la restitución, así como su dependencia de la anisotropía tridimensional de las fibras miocárdicas, ha sido objeto de estudio en diversos trabajos recientes con modelos computerizados [Fenton *et al.* 2002, Wellner *et al.* 2002, Berenfeld *et al.* 2003, Xie *et al.* 2004, Jalife & Berenfeld 2004]. Las simulaciones de la propagación de la activación cardíaca en modelos anatómicos del corazón en los que se contempla la heterogeneidad y la anisotropía de los tejidos sugieren

un papel primordial de la dinámica de algunos canales iónicos en la estabilidad y frecuencia de los rotores, pero también apuntan hacia la geometría de las fibras, que influiría decisivamente en su organización y evolución.

1.6 Características frecuenciales de la FV

La fibrilación ventricular puede ser descrita en términos de su manifestación electrocardiográfica. Las formas de onda del ECG o del EGM fibrilatorios suelen caracterizarse por parámetros como la amplitud y la frecuencia. Para los investigadores, la frecuencia de la onda de FV siempre ha sido un parámetro fundamental para intentar elucidar los mecanismos subyacentes de la arritmia.

La utilización de técnicas en el dominio de la frecuencia y basadas en la FFT (*Fast Fourier Transform*) ha ampliado la capacidad de análisis tradicional de las ondas fibrilatorias procedentes del ECG de superficie u obtenidas mediante electrodos epicárdicos o endocárdicos. En el espectro de frecuencias proporcionado por la FFT los componentes principales (dominantes) de las señales fibrilatorias se agrupan en bandas alrededor de valores definidos que se pueden identificar con facilidad, permitiendo así otra forma de caracterización de las fases evolutivas de la arritmia [Ropella 2001].

A pesar de su apariencia de forma de onda caótica, la señal de FV presenta un espectro acotado, en la mayoría de los casos con una frecuencia dominante clara, alrededor de la cual se concentra buena parte de la potencia de su espectro (*Figura 1.14*). En los momentos iniciales de la FV se han descrito frecuencias dominantes del espectro que se sitúan en torno a los 8-10Hz en modelos caninos [Martin *et al.* 1984, Carlisle *et al.* 1990a-b, Chorro *et al.* 1996], y en valores inferiores (alrededor de 5-6 Hz) en los humanos [Strohmeinger *et al.* 1994, 1997].

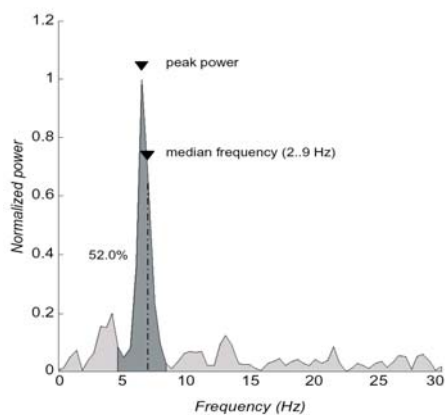


Figura 1.14 Diversos parámetros, como la frecuencia mediana, la de potencia máxima, o el porcentaje de potencia en una banda, pueden representar las características espectrales de una arritmia [obtenido de Ropella 2001]

La determinación de la frecuencia dominante, la media o la mediana de los valores obtenidos en el espectro, es una herramienta útil para caracterizar las acciones de agentes farmacológicos [Aupetit *et al.* 1993, Curtis 1994, Chorro *et al.* 1996, Wolk *et al.* 1999], o los efectos de la aplicación de maniobras de resucitación cardiopulmonar [Martín *et al.* 1984, Carlisle *et al.* 1990a-b, Zhou 1993, Chorro *et al.* 1996, Chen *et al.* 1998, Dillon y Kwaku 1998, Dalzell 1998]. Algunos autores, como Strohmenger *et al.* (1994) y Brown *et al.* (1991), comprobaron que, cuanto mayor era la frecuencia fibrilatoria media, mayor era la probabilidad de éxito en la desfibrilación. Recientemente, Indik *et al.* (2004) han comprobado que estos indicadores frecuenciales varían en función del peso y edad de los individuos.

El análisis en el dominio frecuencial de la fibrilación y su combinación con técnicas cartográficas de mapeo óptico o convencional constituye actualmente una valiosa herramienta para profundizar en el conocimiento de esta arritmia. Zaitsev *et al.* (2000) demostraron que las frecuencias dominantes de excitación no cambian continuamente en las superficies ventriculares, sino que permanecen constantes en regiones discretas denominadas dominios,

existiendo un pequeño número de éstos en los ventrículos. De entre ellos, uno solo (el de mayor frecuencia dominante) podría constituir el foco responsable, por "conducción fibrilatoria", de la aparente desorganización general de la actividad eléctrica. Numerosos estudios han analizado la distribución y estabilidad espacio-temporal de estas frecuencias, intentando interpretar su papel como indicadores de los patrones de activación fibrilatorios o como herramienta para cuantificar el grado de organización de la actividad eléctrica durante la FV [Qu *et al.* 2000, Berenfeld 2000, Chen *et al.* 2000, Choi *et al.* 2002, Valderrabano *et al.* 2002].

El análisis de las variaciones que sufre la frecuencia de la FV en condiciones que alteran la electrofisiología del miocardio, también ha sido objeto de estudio por distintos grupos de investigación. Para ello, se han empleado modificaciones mecánicas, térmicas y farmacológicas. Entre sus conclusiones, se han atribuido efectos depresores sobre la frecuencia fibrilatoria a drogas antiarrítmicas como la lidocaina, la flecainida o el sotalol, mientras que otros fármacos como el verapamil han evidenciado incrementar dicha frecuencia [Carlisle *et al.* 1990b, Chorro *et al.* 2000a]. De la misma manera, el estiramiento del miocardio ha demostrado incrementar de forma reversible la frecuencia de la FV [Chorro *et al.* 2000b], mientras que la hipotermia global del corazón ha manifestado el efecto contrario [Chorro *et al.* 2002a].

El análisis espectral de la FFT se ha visto ampliado mediante la aplicación de las transformadas tiempo-frecuencia, con el objeto de recabar información acerca de la distribución temporal de las frecuencias. Esta característica es esencial para establecer la dinámica de nacimiento y desaparición de éstas y en consecuencia abordar la dinámica de la FV con mayor detalle. De esta forma, utilizando matrices de electrodos epicárdicos, Moghe *et al.* (2000) demuestran la inestabilidad, en el tiempo y en el espacio, de las frecuencias de la FV. Patwardhan *et al.* (2000), aplicando dichas transformadas a la señal del ECG, no encuentran consistencias con la teoría de un único rotor acelerador, y Choi *et al.*

(2002), con técnicas de mapping sobre modelos de corazón aislado de conejo, definen la FV como la coexistencia de un número discreto de "blobs" o zonas con una frecuencia común y morfología poco definida que, con una corta vida media, aparecen y desaparecen continuamente de manera caótica, sugiriendo así que la FV es mantenida por la dinámica de cambios de múltiples ondas.

1.7 Teorías sobre la FV

Se sabe que la fibrilación ventricular es el resultado de una propagación turbulenta de la onda eléctrica de excitación cardíaca. Sin embargo, y a pesar de los numerosos avances al respecto, los mecanismos exactos de su inicio y mantenimiento permanecen todavía por descifrar. La aplicación de herramientas metodológicas cada vez más potentes, ha permitido que durante los últimos veinte años nuevos trabajos experimentales y simulaciones por ordenador hayan aportado luz sobre estos mecanismos. Estas investigaciones también han revelado diferentes manifestaciones de la arritmia, y han dado lugar a diversas hipótesis sobre su generación y perpetuación. Si bien ya han sido citadas en la clasificación metodológica del apartado anterior, ahora en éste se pretende clarificar las principales teorías que actualmente son objeto de controversia e investigación.

- Teoría de las ondas múltiples de Moe

Durante las últimas décadas, la hipótesis dominante sobre el mecanismo de la FV ha sido la de las ondas múltiples de Moe [Moe *et al.* 1964]. Moe formuló esta teoría sobre la base de simulaciones por ordenador de una matriz bidimensional de elementos excitables acoplados (autómata celular) con períodos refractarios aleatoriamente distribuidos. Según Moe, la fibrilación sobreviene como el resultado de la heterogeneidad en la refractariedad del tejido cardíaco. Una estimulación rápida, con intervalos de acoplamiento extremadamente cortos, provoca que sólo las células con mayor período refractario fallen en la respuesta. Como resultado se produce una

fragmentación de las ondas de excitación y la formación de múltiples ondas más pequeñas que forman lazos de reentrada inestables y ambulantes. Ocasionalmente, éstas desaparecen al chocar con otras ondas o con límites anatómicos. También pueden disgregarse y generar ondas hijas antes de encontrar zonas refractarias. Si el tamaño del tejido y el número de ondas son suficientemente grandes, el mantenimiento de la arritmia está asegurado.

Esta hipótesis (*multiple-wavelets*) logra explicar el fenómeno experimental de la persistencia de la FV tras el cese de la estimulación y la existencia de una determinada masa crítica. En relación con ella, ha habido numerosos intentos de caracterizar la distribución espacial de los períodos refractarios en el miocardio normal e isquémico, así como determinar la relación entre esta distribución y la incidencia de la arritmia [revisiones en Janse 1998 y Antzelevitch *et al.* 1999]. Estos estudios han evidenciado una correlación positiva entre heterogeneidad refractaria y fibrilación, pero no han podido probar fehacientemente que la primera sea una condición indispensable para el inicio y mantenimiento de la segunda.

- Teoría del rotor madre

El desarrollo de métodos avanzados de visualización del proceso eléctrico en el corazón —electrodos múltiples y más recientemente el mapeo óptico— así como la capacidad de nuevos métodos numéricos para el análisis de datos, han dado lugar a numerosos estudios que han cuantificado los patrones de excitación en la superficie del corazón durante la FV. De estos estudios se deriva que los patrones de activación pueden diferir significativamente de lo que predice la hipótesis de múltiples ondas de Moe. La diferencia principal es el pequeño número de estas ondas y su corta vida media. Como demostraron Gray *et al.* (1995b), en casos extremos la FV estaría producida por una única onda espiral nómada. Estos autores estimaron que, en promedio, el número de ondas espirales coexistentes simultáneamente durante la FV sería 1-2 en

conejos, 5 en ovejas y 15 en humanos, muchas de ellas sin llegar a completar un ciclo completo de reentrada [Gray *et al.* 1998].

El reducido número de ondas superficiales y la corta vida media de éstas podrían indicar que la FV es mantenida no por múltiples ondas ambulantes sino por unos pocos focos estables de activación rápida intramurales. Debido a su alta frecuencia las ondas generadas se fragmentarían, dando así lugar al complejo patrón que caracteriza a la FV. La posibilidad de este fenómeno de fibrilación inducida o "conducción fibrilatoria" ya fue considerado en relación con la fibrilación auricular [Moe & Abildskov 1959, Jalife *et al.* 1998a,b] y ha sido demostrado en humanos. Concretamente se ha constatado que un foco de FA puede ser identificado y eliminado por ablación, con el consecuente cese de la fibrilación [Jais *et al.* 1997, Haissaguerre *et al.* 2002]. Las evidencias experimentales de la propagación fibrilatoria se han puesto más recientemente de manifiesto al estudiarse la distribución de frecuencias de excitación (*Figura 1.15*) en las superficies endocárdicas y epicárdicas [Samie *et al.* 2001, Zaitsev *et al.* 2003, Wu *et al.* 2004]. Los mapas típicos de frecuencias dominantes (*Figura 1.16*) resultaron ser más simples y organizados de lo esperado, con unos pocos dominios o regiones de frecuencia uniforme con cierta estabilidad. Estos datos sugieren que los focos de alta frecuencia son los que propagan la fibrilación, y que los patrones complejos de la FV se deben a procesos secundarios de interacción con las heterogeneidades del medio, anatómicas y funcionales, de las ondas generadas por estos focos. Los autores postulan que estos focos son como vórtices, a modo de torbellinos o espirales tridimensionales ocultas entre las paredes ventriculares. La mayoría de estudios experimentales están realizados sobre modelos de corazón de pequeños mamíferos, pero la existencia de rotores de cierta estabilidad también ha sido constatada por Rogers *et al.* (1999, 2003) en corazones de cerdo de gran tamaño, aunque sin encontrar evidencias de que éstos fueran responsables de la FV.

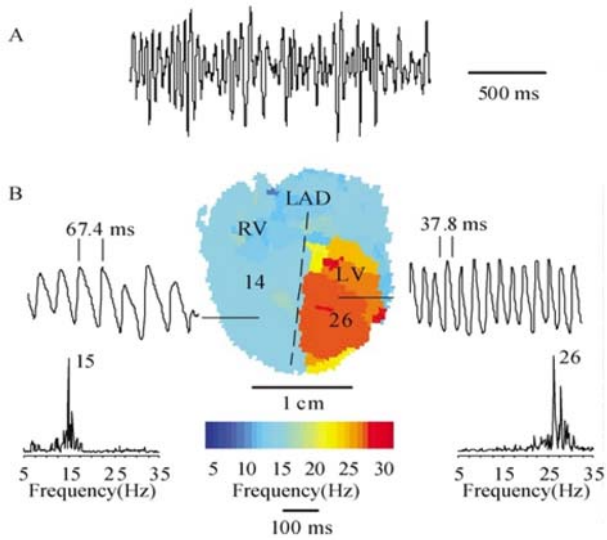


Figura 1.15 Análisis frecuencial de la FV mediante mapping óptico. A: ECG fibrilatorio. B: Mapa de frecuencias dominantes, registros y espectros correspondientes a un píxel de cada ventrículo. Datos procedentes de un corazón aislado de cobaya [obtenido de Samie *et al.* 2001]

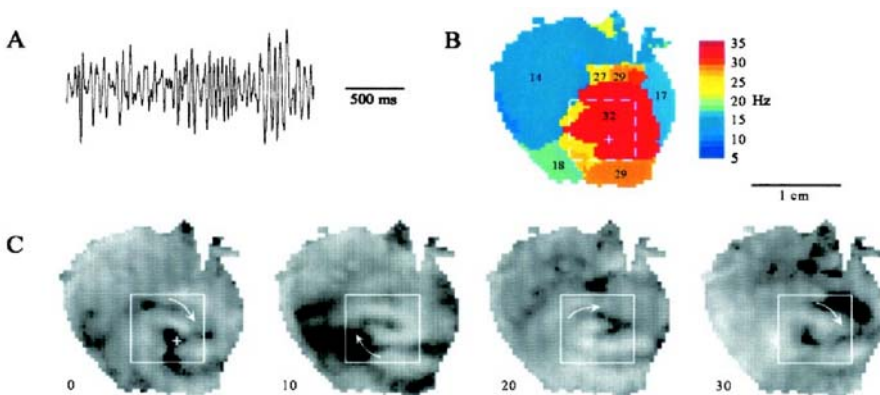


Figura 1.16 Dominios de frecuencias durante la FV y rotor madre. A: ECG fibrilatorio. B: mapa de frecuencias dominantes. C: Fotogramas tomados en 4 instantes (valores en ms) de una rotación completa de un rotor estable de alta frecuencia localizado en la pared anterior del VI [obtenido de Samie *et al.* 2001]

Aunque los resultados de estos trabajos apoyan la teoría de que existe un foco principal responsable de la fibrilación (*mother rotor hypothesis* o *focal source hypothesis*), otros investigadores han encontrado nuevos indicios de lo contrario. Los trabajos de Choi *et al.* (2001, 2002) y Valderrabano *et al.* (2002) —con corazones aislados de cobaya los primeros y de cerdo el segundo— no encuentran evidencias de conducción fibrilatoria, sino de dominios de frecuencia cambiantes de corta vida media, sugiriendo que la FV es mantenida por múltiples ondas inestables.

- Hipótesis de la rotura de rotores y la restitución

El crecimiento exponencial de la capacidad computacional ha potenciado las posibilidades de los modelos por ordenador para la propagación de la excitación cardíaca. Los estudios con modelos de autómatas celulares se han visto sustituidos por estudios con modelos que describen con mayor exactitud las interacciones entre células adyacentes y corrientes transmembrana [Luo & Rudy 1994, Panfilov 1999b, Tusscher *et al.* 2004, Livshitz *et al.* 2005], permitiendo la simulación de reentradas funcionales (también referidas como rotores de reentrada o espirales de reentrada) en grandes áreas bidimensionales [Winfree 1989, Panfilov & Holden 1990]. La onda espiral inicial acaba fragmentándose, en la zona próxima al centro, en ondas más pequeñas que giran sobre sí mismas creando otras espirales y en ocasiones fragmentándose a su vez para acabar complicando el patrón fibrilatorio. Este patrón es similar al descrito por Moe pero con una importante diferencia: ocurre en tejido cardíaco homogéneo. Este fenómeno se conoce como "rotura de rotores" (*spiral wave breakup*) y constituye la base para una alternativa a la teoría de las ondas múltiples de Moe. Panfilov & Hogeweg (1995, 1996), demostraron que la naturaleza tridimensional del tejido excitable facilita la rotura de la espiral. En un modelo anatómico del corazón basado en medidas experimentales exhaustivas de la estructura cardíaca [Hunter *et al.* 1997] comprobaron que el tamaño del corazón debía ser mayor que la longitud de

onda de la espiral para que ésta se fragmentara dando así lugar a la FV [Panfilov 1999a,b].

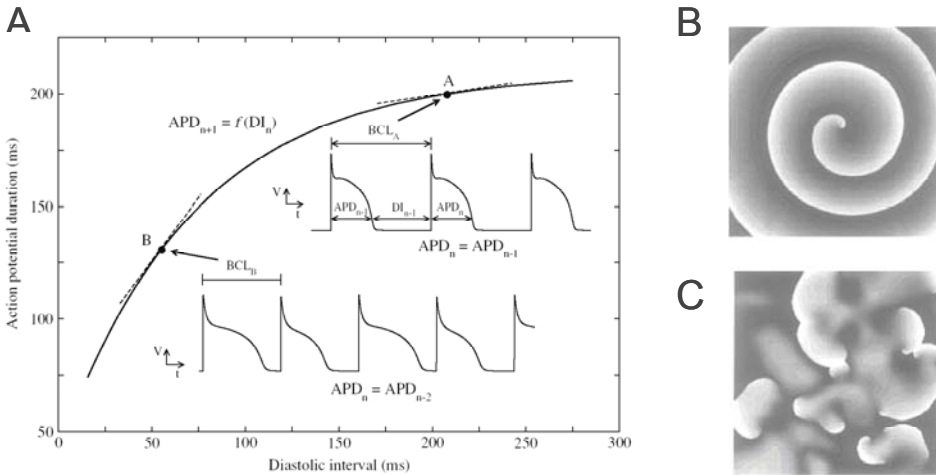


Figura 1.17 Rotura de rotores y restitución. A: Curva típica de restitución del APD. La duración del PA depende del intervalo diastólico precedente. Según la hipótesis de la restitución, si la longitud del ciclo de activación (BCL) corresponde a una zona con pendiente mayor que la unidad (punto B) resulta una secuencia largo-corto-largo de potenciales de acción, fenómeno conocido como alternancia del APD. B: Simulación de una espiral estable. C: Simulación de la desestabilización y fragmentación de la espiral, asociados a la alternancia del APD [obtenido de Weiss *et al.* 1999]

Aunque el mecanismo exacto de la rotura de la espiral aún no se conoce, hay muchas evidencias de que está relacionado con una inestabilidad consistente en la "alternancia" del APD. El fenómeno se conoce desde principios del siglo XX [Mines 1913] pero ha sido en la última década, mediante modelos matemáticos computacionales, cuando se ha estudiado intensivamente en relación con la estabilidad de la reentrada [Courtemanche *et al.* 1996]. La alternancia del APD ocurre cuando la pendiente de la curva de restitución del APD (*electrical restitution curve*) es mayor que la unidad [Nolasco & Dahlen 1968, Guevara *et al.* 1984, Courtemanche *et al.* 1996]. Esta curva relaciona el APD con el intervalo diastólico o tiempo transcurrido desde el final del PA precedente hasta el inicio del actual. Cuando las oscilaciones del APD son suficientemente grandes, se produce la ruptura de la espiral (Figura

1.17) [Qu *et al.* 1999, Weiss *et al.* 1999]. Koller *et al.* (1998) demostraron en modelos experimentales la existencia de curvas de restitución con pendientes máximas mayores que la unidad. Esta teoría —teoría de la restitución— ha sido apoyada por estudios en relación con la acción protectora de la FV que poseen algunos fármacos capaces de reducir la pendiente de la curva de restitución [Riccio *et al.* 1999, Garfinkel *et al.* 2000], previniendo la FV o incluso convirtiéndola en algunos casos en TV [Weiss *et al.* 1999]. Estudios experimentales recientes ponen de manifiesto que, además de la pendiente de esta curva, juegan un importante papel las dispersiones espaciales de la restitución del APD y la velocidad de conducción [Banville & Gray 2002].

- Estado actual

Aunque las tres hipótesis anteriores son las más populares, no constituyen el conjunto de mecanismos que se han propuesto para la FV. Otros mecanismos alternativos para la rotura de rotores, los cuales no requieren una curva de restitución abrupta, han sido descubiertos en simulaciones tridimensionales por ordenador [Chudin *et al.* 1999; Fenton *et al.* 2002]. Por ejemplo, la rotura de la espiral podría deberse a la anisotropía tridimensional del miocardio, debida a la rotación intramural de sus fibras. Se produciría un enrollamiento e inestabilidad del centro de organización del torbellino (filamento) que acabaría multiplicándose y fragmentándose al chocar con los límites del corazón. Choi *et al.* (2003), en trabajos con modelos de corazón aislado, encuentran nuevas evidencias de la influencia de la anisotropía de las fibras en la dinámica de la FV. ¿Cuál de los mecanismos propuestos hasta ahora es relevante? La formulación de esta pregunta parece asumir que la fibrilación es un solo fenómeno y que por tanto debería tener una única explicación. Sin embargo, cuanto más se sabe sobre ella más claro parece que éste podría no ser el caso. La FV podría no sólo tener varias manifestaciones y grados de complejidad, sino también varios mecanismos [Panfilov & Pertsov 2001, Wu *et al.* 2002, Chen *et al.* 2003].

No obstante, y simplificando al máximo la polémica, podría decirse que los investigadores al respecto se dividen actualmente en dos escuelas de pensamiento distintas. La primera considera la FV como un problema de inestabilidad y transitoriedad de rotores efímeros, los cuales se fragmentan en múltiples y pequeñas ondas espirales que se propagan aleatoriamente y dan finalmente lugar al carácter turbulento de esta arritmia. La rotura de ondas sería por tanto el verdadero mecanismo de la FV, con la reciente apreciación que, además del mecanismo tradicional de las heterogeneidades anatómicas o electrofisiológicas, la fragmentación es facilitada por las inestabilidades de la dinámica de la restitución. La segunda considera, en contraste con los mecanismos de ruptura, que, con las condiciones adecuadas, un único o pocos rotores de alta frecuencia con un carácter marcadamente estacionario serían los auténticos responsables de la FV. La rotura de ondas en la fibrilación sería un proceso pasivo debido al bloqueo de la conducción fibrilatoria de los impulsos emanados del foco principal, que se fragmentarían de una manera más organizada que aleatoria al interactuar con heterogeneidades fijas del tejido, lo que acabaría generando el complejo patrón fibrilatorio.

1.8 Influencia de la temperatura

Se sabe que las propiedades electrofisiológicas de las células cardíacas se ven influenciadas por la temperatura. En consecuencia, el proceso de propagación de la excitación eléctrica en el miocardio puede verse afectado, en condiciones normales o durante las arritmias, por los cambios de temperatura del tejido. Así pues, las condiciones hipotérmicas o hipertérmicas pueden dar lugar a diferencias importantes en los patrones de la excitación cardíaca respecto de la situación normotérmica (temperatura basal). Diversos trabajos, utilizando simulaciones por ordenador o preparaciones experimentales, han analizado los efectos de la hipotermia, y en mucho menor medida la hipertermia, en el potencial de acción miocárdico, en la dinámica de las corrientes iónicas que dan lugar a su generación y en la propagación de la activación en el tejido

cardíaco. El posible papel arritmogénico de ambas, o en algunos casos contrariamente protector, también ha sido analizado en diversos trabajos. Sin embargo, apenas se han realizado estudios sobre cómo afecta la temperatura a los patrones fibrilatorios durante las arritmias, y en concreto durante la fibrilación ventricular.

1.8.1 Dependencia de las propiedades electrofisiológicas con la temperatura

De los trabajos encaminados a analizar los efectos de la hipotermia sobre la electrofisiología del miocardio se deduce que ésta afecta a la cinética de los canales iónicos de las membranas celulares responsables de la activación y recuperación del potencial de acción. Concretamente se sabe que disminuye el potencial de reposo, incrementa la duración de los potenciales de acción ventriculares y prolonga los períodos refractarios [Mouritzen & Andersen 1966, Hoffman & Cranefield 1976, Sprung *et al.* 1995, Spear & Moore 1998]. Mediante la técnica de fijación del potencial de membrana en miocitos ventriculares de cobaya, Herve *et al.* (1992) observaron una disminución máxima de 6 mV en el potencial de reposo, y un alargamiento gradual en la duración de la fase de *plateau* del potencial de acción, al bajar la temperatura de 36 °C a 12 °C. Estos resultados eran similares a los obtenidos por otros autores [Liu *et al.* 1991, Bjornstad *et al.* 1991] que también pudieron registrar un ligero descenso en la pendiente de subida del PA durante la hipotermia aguda. Con modelos similares, Kiyosue *et al.* (1993) constataron aumentos importantes en el APD al disminuir 10 °C la temperatura, y atribuyeron el retardo en la repolarización a la disminución sufrida en las corrientes iónicas de calcio y potasio registradas. Simulando disminuciones de estas corrientes en modelos matemáticos del PA, se reproducía este efecto de manera aproximada. La diferente sensibilidad a la temperatura de los diversos canales iónicos sería la responsable del enlentecimiento final del PA, pudiendo tener un papel principal el descenso de la corriente diferida de potasio (I_k), y en menor

medida la corriente entrante de calcio (I_{Ca}), y la corriente entrante de potasio (I_{K1}) [Herve *et al.* 1992, Kiyosue *et al.* 1993, Spear & Moore 1998].

Las alteraciones sufridas por los potenciales de acción dan lugar a variaciones en la propagación del impulso eléctrico a través del miocardio. La refractariedad y la velocidad de conducción del proceso de activación también se ven influenciadas por la temperatura; mientras que la primera se prolonga, la segunda se reduce a medida que disminuye la temperatura [Mortensen *et al.* 1993, Bjornstad *et al.* 1994, Ujhelyi *et al.* 2001]. En cuanto a la longitud de onda, Smeets *et al.* (1986) observaron que enfriando muestras de tejido auricular hasta 27 °C no se registraban aumentos significativos de este parámetro, ya que el aumento de la refractariedad se veía compensado por la disminución en la velocidad de conducción. Por debajo de esta temperatura, la longitud de onda aumentaba debido a una fuerte prolongación del período refractario funcional. En el electrocardiograma de superficie, el alargamiento del intervalo QT y el ensanchamiento del complejo QRS son las manifestaciones típicas de las situaciones hipotérmicas [Davis 1993, Mortensen *et al.* 1993], además de una ralentización del ritmo cardíaco cuando la hipotermia es global.

Al contrario de lo que ocurre con la hipotermia, la hipertermia moderada acorta el potencial de acción e incrementa la velocidad de conducción [Tachibana *et al.* 1999, Simmers *et al.* 1995, Nygren *et al.* 2003].

1.8.2 Hipotermia/hipertermia y arritmias

Tanto la hipotermia como la hipertermia se han asociado tradicionalmente a un incremento de la susceptibilidad frente a arritmias ventriculares, y en particular a la fibrilación ventricular [Mouritzen & Andersen 1966, Torne *et al.* 1972, Eshel *et al.* 1990, Mortense *et al.* 1993, Bjornstad *et al.* 1994, Ujhelyi *et al.* 2001]. Durante la hipotermia, este efecto ha sido relacionado con un enlentecimiento en la conducción, un incremento en la dispersión de la repolarización y un aumento en la heterogeneidad de la refractariedad [Salama

et al. 1998, Tachibana *et al.* 1999]. El APD cambia significativamente incluso con ligeras variaciones de temperatura de 1 ó 2 grados centígrados, por lo que un enfriamiento o calentamiento no uniforme del corazón podría generar dispersión en la velocidad de conducción y la refractariedad, creando de esa manera un substrato para reentradas funcionales [Bjornstad *et al.* 1991].

Una mayor facilidad en la inducción de la FV por electroestimulación durante la hipotermia [Mortense *et al.* 1993] y durante la hipertermia [Kubota *et al.* 1988] ha sido puesta de manifiesto en modelos *in vivo* de perro. Así por ejemplo, Kuo *et al.* (1983), mediante el calentamiento regional a 43 °C por perfusión coronaria selectiva de corazones globalmente enfriados a 29 °C , comprobaron que la dispersión en la repolarización facilitaba la inducción de arritmias ventriculares, aplicando estímulos prematuros desde la zona de menor APD. De la misma manera, Tachibana *et al.* (1999) crearon un modelo experimental de FV fácilmente reproducible, combinando la estimulación prematura programada con el calentamiento y enfriamiento selectivo. Los mapas de activación mostraban la formación de zonas de bloqueo en la frontera de las regiones alteradas sólo cuando el frente de onda procedía de la zona caliente a la normotérmica o de la normotérmica a la fría. Ujhelyi *et al.* (2001) comprobaron, en un estudio con cerdos, que una bajada de 10 °C en la temperatura corporal resultaba altamente arritmogénica, disminuyendo la velocidad de conducción y prolongando la repolarización ventricular y la refractariedad. Aunque durante la hipotermia el umbral de inducción de la fibrilación disminuía, los requerimientos energéticos de la desfibrilación no eran, sin embargo, mayores que a temperatura basal. Según los autores, lo primero podría deberse a que la hipotermia favorece la desestabilización de los frentes de onda —al disminuir la velocidad de conducción y la excitabilidad y aumentar la dispersión de la refractariedad— mientras que lo segundo se justificaría por el uso de ondas bifásicas y la prolongación que experimenta la refractariedad.

Por otra parte, el enfriamiento del miocardio también ha demostrado curiosamente su capacidad para prevenir o modificar diferentes alteraciones del ritmo cardíaco. En este sentido, se han descrito efectos cardioprotectores de la hipotermia moderada frente a arritmias ventriculares, en modelos experimentales donde se aplica hipotermia tópica localmente [Hale & Kloner 1999, Schwartz *et al.* 2001]. La reoxigenación tras la hipoxia, cuando ocurre a unos grados por debajo de la temperatura basal, reduce la incidencia de arritmias ventriculares [Gambassi *et al.* 1994]. El enfriamiento miocárdico se ha empleado para detener arritmias reentrantes que se habían inducido previamente en preparaciones auriculares aisladas [Smeets *et al.* 1986], para acortar la longitud del ciclo fibrilatorio auricular [Chorro *et al.* 1990] y para el tratamiento de arritmias supraventriculares tras intervenciones quirúrgicas [Higashidate *et al.* 1987, Pfammatter *et al.* 1995]. Gracias al papel de la hipotermia como reductora de las necesidades metabólicas, su aplicación moderada puede resultar una técnica útil en la limitación del daño isquémico del tejido infartado y la recuperación de la función cardíaca [Hale & Kloner 1999, Miki *et al.* 1998, Dae *et al.* 2002], aunque esta aplicación se efectúe después de la isquemia [Schwartz *et al.* 2001]. También la hipertermia ha demostrado propiedades cardioprotectoras cuando es aplicada con anterioridad al daño isquémico [Yamashita *et al.* 1998]. En este caso podrían deberse posiblemente a un efecto potenciador de la producción de radicales libres [Arnaud *et al.* 2002].

Debido a su acción moduladora sobre la electrofisiología cardíaca, las modificaciones controladas de temperatura también pueden constituir una herramienta útil para dilucidar los mecanismos de acción de drogas antiarrítmicas, para crear modelos experimentales de arritmias o para simular condiciones patológicas que facilitan su aparición, tal como sucede en situaciones de isquemia miocárdica o de diversas alteraciones estructurales producidas por estiramiento, fibrosis o cicatrización de zonas del miocardio. Así por ejemplo, Spear & Moore (1998) estudiaron los efectos arritmogénicos de la quinidina, en un trabajo donde actuaban sobre la temperatura de

perfusión en corazones aislados de conejo. Recientemente, Nishida *et al.* (2004), en experimentos con corazones de perro *in vivo*, emplearon un sistema enfriador por circulación de agua fría para rebajar la temperatura local del tracto de salida del ventrículo derecho hasta 30 °C. Esta alteración producía un efecto elevador del punto J (final del QRS) en el ECG, tal y como ocurre con los pacientes afectados por el síndrome de Brugada. Los autores postulaban que este modelo canino de la patología podría simular aspectos electrofisiológicos similares a los que contribuyen a la manifestación clínica del síndrome. Si una anomalía localizada en la zona que aquí se enfriaba fuera el mecanismo de los episodios de FV que suele presentar el síndrome de Brugada, la eliminación del substrato arritmogénico podría significar la cura. Boersma *et al.* (2002) también utilizan modificaciones controladas de temperatura para estudiar los mecanismos de una arritmia, la taquicardia ventricular polimórfica. Estos investigadores emplean una sonda enfriadora —también en este caso el sistema para rebajar la temperatura se basa en la circulación de agua fría— para generar, en una fina capa de tejido ventricular perfundido, un gradiente de refractariedad que facilita la inducción de la arritmia (la refractariedad queda prolongada en el centro de la región analizada). En este trabajo se concluyó que un circuito de reentrada funcional desplazándose constituye el mecanismo de la TV polimórfica en un substrato con un importante gradiente de refractariedad.

1.8.3 Efectos durante la FV

A pesar de la información existente sobre las propiedades arritmogénicas o protectoras de la hipotermia y de la hipertermia, prácticamente no se ha realizado hasta el momento estudios sistemáticos sobre los efectos de la temperatura en los patrones de la fibrilación ventricular una vez ésta ha sido desencadenada. En este sentido, tan sólo pueden citarse algunos trabajos, como el de Strohmer *et al.* (1997). Estos autores, en un estudio donde investigan los efectos de la hipotermia en la frecuencia de la FV —en corazones de

pacientes sometidos a operaciones de *bypass* coronario— analizan la frecuencia mediana del espectro del ECG fibrilatorio, y concluyen que ésta es significativamente mayor durante la perfusión normotérmica que durante la perfusión hipotérmica.

En el trabajo experimental de Chorro *et al.* (2002a), con modelos de corazón aislado y perfundido de conejo, se analiza el efecto de la reducción aguda y brusca de temperatura sobre el patrón fibrilatorio. En este trabajo, la temperatura de la preparación se reduce mediante la inyección directa de líquido de perfusión frío en el ventrículo izquierdo. Tras el inicio de la perfusión fría, la frecuencia dominante de la FV y la temperatura decaen exponencialmente hasta la terminación de la arritmia (Figura 1.18), existiendo una correlación lineal entre ambos parámetros.

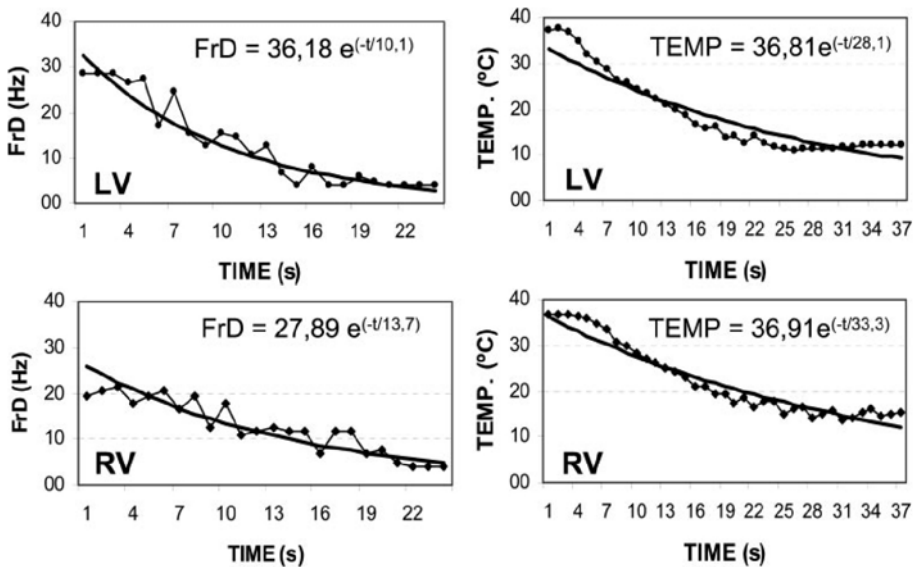


Figura 1.18 Disminución exponencial de la temperatura y la frecuencia dominante de la FV (FrD), en ambos ventrículos, con el enfriamiento agudo y global del miocardio. Los datos de FrD corresponden a un electrodo situado en el ventrículo izquierdo (arriba) o derecho (abajo). Las temperaturas corresponden al epicardio de cada ventrículo. t , tiempo desde el inicio del enfriamiento [obtenido de Chorro *et al.* 2002]

El cese de la FV ocurre preferentemente en el ventrículo izquierdo, y se relaciona con una importante depresión en la velocidad de conducción, la extinción de frentes de onda y la reducción de la complejidad de los mapas de activación registrados.

Capítulo 2

Objetivos

Índice del capítulo

2.1	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	59
2.2	FASES DE LA INVESTIGACIÓN	62

2.1 Justificación y objetivos de la investigación

En el capítulo de introducción se han expuesto los conocimientos extraídos de la literatura científica que motivaron el planteamiento y desarrollo de la presente Tesis Doctoral. A continuación se resumen las bases que justifican los principales objetivos del presente trabajo.

- Las propiedades electrofisiológicas de las células cardíacas se encuentran influenciadas por la temperatura. En consecuencia, el proceso de propagación de la excitación eléctrica en el miocardio puede verse afectado, en condiciones normales o durante las arritmias, por los cambios de temperatura del tejido. En este sentido, se sabe que la temperatura influye sobre los patrones fibrilatorios, y en concreto sobre la frecuencia de activación, pero apenas se han realizado estudios sistemáticos sobre la forma en que los cambios de temperatura afectan a la fibrilación ventricular una vez ésta ha sido desencadenada. Hasta el momento, los escasos trabajos existentes al respecto han abordado por separado el papel de la hipertermia y de la hipotermia, y los cambios estudiados han sido siempre consecuencia de modificaciones globales de la temperatura.
- Las características del patrón fibrilatorio ventricular no sólo se encuentran relacionadas con las propiedades electrofisiológicas del miocardio durante la propia FV, sino también con los parámetros que pueden obtenerse durante una estimulación basal, como ha sido demostrado en trabajos previos con modelos experimentales —su determinación durante la FV, aunque posible, está sujeta a mayores limitaciones—. Así pues, el análisis de los efectos de las variaciones térmicas sobre los parámetros electrofisiológicos determinados durante la estimulación constante, puede aportar información de utilidad sobre la arritmia.
- La perpetuación de los procesos fibrilatorios se ha relacionado con la existencia de una cantidad mínima de tejido excitable ("masa crítica"), siendo su cuantificación objeto de controversia. Por otra parte, trabajos previos con modelos de corazón aislado han demostrado que una reducción aguda y global de la temperatura del VI por debajo de 20 °C

impide el mantenimiento de la FV tras una fuerte disminución en la frecuencia de activación. La variación selectiva de temperatura en zonas más o menos extensas del miocardio, podría aportar datos de interés en relación con los mecanismos que sustentan la FV y los procedimientos encaminados a su control efectivo.

- El estudio de la influencia que puede tener la temperatura en la eficiencia de fármacos antiarrítmicos ante situaciones como la FV también resulta de gran interés. Los estudios que se han llevado a cabo, intentan descubrir los efectos moduladores de la variable temperatura en la acción de estos fármacos. Hasta el momento, todos ellos se han basado en la reproducción, en modelos experimentales, de estados de hipotermia o hipertermia globales. Pero la aplicación de nuevas técnicas para reproducir condiciones térmicas locales o gradientes de temperatura a lo largo del tejido miocárdico, permitiría desarrollar nuevos protocolos experimentales para su aplicación en futuras investigaciones.
- Diversos estudios en modelos *in vitro* e *in vivo* han puesto de manifiesto la importancia de la temperatura —global o local— en la incidencia de arritmias ventriculares, o en la progresión de la necrosis tras la isquemia miocárdica. Este hecho sugiere un posible potencial terapéutico en el uso de la hipotermia, incluso de la hipertermia, que todavía no ha sido suficientemente investigado. Es también por esto, que resulta interesante el desarrollo de técnicas que permitan la variación eficaz de la temperatura en regiones concretas del miocardio, de una forma controlada tanto en amplitud como en duración.
- La naturaleza y organización de la actividad eléctrica durante los procesos fibrilatorios son objeto de debate en la literatura científica actual. Una de las hipótesis postuladas para explicar la activación durante la FV plantea la existencia de zonas de activación rápida con conducción fibrilatoria hacia al resto del miocardio. De ser cierta esta teoría, la modificación del patrón fibrilatorio en una región del miocardio —p.e. mediante variaciones locales de temperatura— podría tener consecuencias globales sobre las características de la arritmia, y en concreto su frecuencia de activación.

Tomando en consideración los hechos expuestos anteriormente, se plantearon los dos objetivos principales de esta Tesis Doctoral. A continuación se exponen dichos objetivos, el segundo de los cuales constituye un objetivo general del cual se derivan los objetivos particulares que se relacionan.

1. Desarrollar un sistema de modificación de la temperatura miocárdica que permita provocar condiciones de hipotermia y de hipertermia controladas, circunscritas a una región limitada del tejido, en modelos de corazón aislado.

El sistema diseñado deberá permitir la estimulación programada y el registro multipunto de la actividad eléctrica del tejido cardíaco de la zona calentada o enfriada, al tiempo que se efectúan las modificaciones de temperatura. De este modo, se podrán realizar mapas de activación y se podrán determinar los parámetros electrofisiológicos necesarios en investigaciones experimentales. El sistema deberá validarse experimentalmente, comprobando la capacidad de registrar la señal del electrograma epicárdico a temperaturas superiores e inferiores al valor basal de perfusión y la estabilidad de la temperatura alcanzada durante el tiempo necesario.

La consecución de este primer objetivo es una condición indispensable para alcanzar el planteado a continuación, que es el que da título a la presente Tesis Doctoral.

2. Empleando el anterior sistema en un modelo experimental de corazón aislado y perfundido de conejo, estudiar los efectos producidos por las condiciones de hipotermia y de hipertermia locales sobre la frecuencia de activación de la fibrilación ventricular y sobre las propiedades electrofisiológicas del miocardio durante la estimulación basal. Este objetivo general puede concretarse en los siguientes objetivos particulares:

- 2.1. Analizar los efectos de la hipotermia y de la hipertermia sobre el intervalo de activación promedio (VV) y la frecuencia dominante de la FV (FrD).

- 2.2. Estudiar los efectos de la hipotermia y de la hipertermia sobre los parámetros electrofisiológicos basales (velocidad de conducción, períodos refractarios y longitud de onda del proceso de activación miocárdico).
- 2.3. Determinar la relación existente entre la frecuencia dominante del proceso fibrilatorio ventricular, y los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación basal.
- 2.4. Comprobar si los cambios locales de temperatura consiguen provocar modificaciones globales del proceso de activación durante la FV; es decir, si dichos cambios influyen en las zonas normotérmicas.
- 2.5. Determinar si las modificaciones producidas por los cambios locales de temperatura pueden llegar a impedir el mantenimiento de la FV, provocando así el cese de la arritmia.

2.2 Fases de la investigación

Al tratarse de un trabajo multidisciplinar, éste se ha llevado a cabo en estrecha colaboración con un equipo de fisiólogos y cardiólogos de la Universidad de Valencia y ha sido desarrollado en tres fases diferenciadas:

- Desarrollo de un dispositivo-electrodo_múltiple, en el laboratorio de Microelectrónica Híbrida de la Universidad Politécnica de Valencia.

En las instalaciones de este laboratorio se han ensayado diferentes materiales y técnicas para cumplir el primero de los objetivos, fabricando y aplicando diversos prototipos hasta encontrar la solución óptima que permitiera poner en práctica el protocolo experimental deseado. Con objeto de evaluar su comportamiento, cada uno de estos prototipos se ha aplicado en experimentos preliminares de corazón aislado hasta validar el sistema que proporcionaba un mejor rendimiento.

- Realización de los experimentos en los laboratorios del Departamento de Fisiología de la Universidad de Valencia.

El dispositivo-electrodo implementado, en su versión definitiva, ha sido aplicado para la modificación local de la temperatura y el registro de electrogramas ventriculares en una serie de experimentos con corazones de conejo aislados y perfundidos, formando parte de un protocolo global (ver capítulo *Materiales y Métodos*) donde también se ha utilizado un electrodo convencional para registrar la actividad eléctrica de la zona normotérmica. En estos experimentos siempre se ha contado con la dirección y colaboración del equipo investigador anteriormente mencionado .

- Procesado y análisis de los datos obtenidos.

Los datos correspondientes a los experimentos válidos han sido procesados y analizados —sobre PC, mediante software comercial y software específico del grupo de investigación y propio del presente estudio— con objeto de determinar los diferentes parámetros de interés para alcanzar los objetivos. Con esta finalidad, y a partir de la información obtenida de cada electrodo en cada una de las etapas del protocolo experimental, se han realizado los siguientes trabajos¹:

- Determinación de los instantes de activación local mediante localización manual de los instantes de despolarización en los electrogramas individuales, y posterior obtención de los intervalos de activación promedio, durante la FV.
- Análisis espectral de las señales registradas y obtención de las frecuencias dominantes, durante la FV.
- Determinación de los períodos refractarios ventriculares (efectivo y funcional) durante la estimulación con tren base.

¹ descripción detallada en el capítulo 3 ("Material y Métodos")

- Estimación de la velocidad de conducción durante la estimulación con tren base, tras la obtención de los mapas de activación necesarios. Cálculo de la longitud de onda del proceso de activación.
- Realización de cálculos y pruebas estadísticas sobre los datos obtenidos.

Capítulo 3

Material y métodos

El presente capítulo contiene la descripción detallada de los materiales, instrumentos, técnicas y métodos utilizados para la obtención de los resultados. En primer lugar se describe el método de perfusión utilizado para mantener con vida el corazón aislado, y se exponen los detalles de la preparación y ejecución de los experimentos. A continuación se resaltan las características principales de la instrumentación utilizada en el laboratorio de fisiología, así como del software empleado para la adquisición, tratamiento y análisis de los datos obtenidos durante estimulación base y fibrilación ventricular. Se explican las herramientas estadísticas y los protocolos aplicados, ilustrando con ejemplos particulares las medidas, cálculos y determinaciones que ha habido que efectuar para la obtención de los parámetros electrofisiológicos (períodos refractarios, velocidad de conducción, longitud de onda del proceso de activación y frecuencias dominantes de la FV).

Una parte muy importante de la investigación, la que constituye el primero de los objetivos de esta Tesis Doctoral, ha sido el desarrollo de un sistema capaz de provocar modificaciones locales de la temperatura y registrar simultáneamente los electrogramas epicárdicos. Es en este capítulo donde se describen las características del dispositivo-electrodo empleado para crear una zona de hipotermia/hipertermia local en un corazón perfundido a 37 °C. Varios métodos alternativos, que dieron lugar a prototipos descartados tras su experimentación, también son descritos, aunque de forma más general. Al final de este documento, en el Anexo, se explican con detalle los procesos de fabricación de la tecnología microelectrónica de capa gruesa con la que se desarrolló el electrodo utilizado.

Índice del capítulo

3.1	SISTEMA DE PERFUSIÓN	69
3.2	PREPARACIÓN EXPERIMENTAL	71
3.3	ELECTRODO DISEÑADO	74
3.3.1	Sistema de modificación de la temperatura.....	74
3.3.2	Dispositivo-electrodo.....	77
3.3.3	Alternativas descartadas	84
3.4	INSTRUMENTACIÓN	88
3.5	SOFTWARE	92
3.6	CÁLCULOS ESTADÍSTICOS.....	96
3.7	ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO. PROTOCOLOS	96
3.7.1	Estimulación constante	96
3.7.2	Fibrilación Ventricular.....	106

3.1 Sistema de perfusión

La investigación con corazón aislado y perfundido se remonta a la segunda mitad del siglo diecinueve¹. Pocos procedimientos metodológicos se han mantenido hasta la actualidad con tan pocos cambios, contribuyendo durante todo ese tiempo al conocimiento fundamental de la función cardíaca, el flujo coronario y el metabolismo cardíaco.

En 1895, Oscar Langendorff fue el primero en conseguir un corazón aislado de mamífero con plena actividad contráctil. A partir de este primer experimento, el método Langendorff [Langendorff 1895, 1903] ha constituido un pilar en la investigación farmacológica y fisiológica del corazón, participando en los mayores avances en el campo de la cardiología. El objetivo básico del método Langendorff es proveer al corazón aislado del oxígeno y los metabolitos necesarios por medio de una simple cánula insertada en la aorta ascendente. El líquido nutricio es impulsado a través de la aorta en el sentido contrario al de la circulación sanguínea. Esta perfusión retrógrada de la aorta cierra las válvulas aórticas y fuerza la circulación del fluido por las arterias coronarias durante el período diastólico, como ocurre en el ciclo cardíaco normal. El líquido continúa entonces a través del sistema coronario y eventualmente sale por el seno coronario en la aurícula derecha. El flujo coronario necesario depende del tamaño del corazón —entorno a 30 ml por minuto en corazones de conejo adulto—. Con esta técnica, las cámaras izquierdas del corazón permanecen esencialmente sin líquido, y los ventrículos se contraen contra la presión atmosférica de su interior. Puesto que la fuerza de contracción es proporcional a la presión interna del ventrículo algunos investigadores han presurizado de diferentes formas el ventrículo izquierdo para incrementar la fuerza contráctil (pinzado auriculoventricular, balón interno, etc.), no siendo el caso de esta experimentación.

¹ Perspectiva histórica completa en "The isolated perfused heart and its pioneers" [Zimmer 1998]

El sistema está formado por diversos tubos y cámaras de vidrio, por los que circula el líquido de perfusión antes de llegar a la cánula de inyección (*Figura 3.1*). Este líquido es impulsado desde un depósito exterior —en dicho depósito se realiza la oxigenación— hasta la parte más elevada por medio de una bomba peristáltica, habiendo pasado previamente por un filtro y un depósito de calentamiento. La presión de perfusión es controlada manual o automáticamente mediante un manómetro integrado en el sistema.

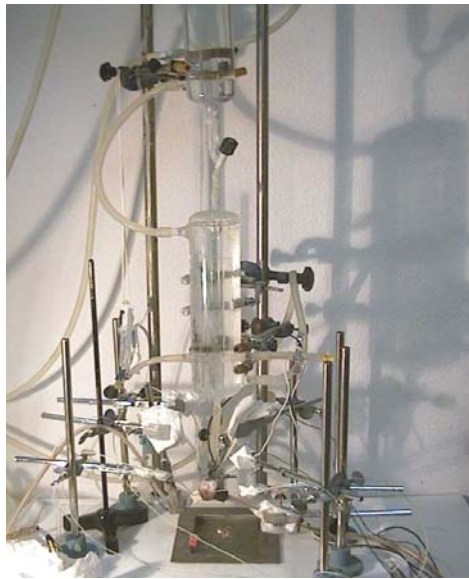


Figura 3.1 Sistema de perfusión Langendorff

Tras su conexión al sistema, el corazón se muestra en un primer momento inanimado —así lo ha estado desde el instante de su extracción—, pero pasados unos segundos recupera la automaticidad, propiedad intrínseca de este órgano. Gracias a la perfusión constante de las arterias coronarias con el líquido nutritivo, el corazón, aislado del resto del cuerpo, seguirá contrayéndose y relajándose al ritmo cardíaco normal durante horas.

3.2 Preparación experimental

La parte experimental de esta investigación tuvo lugar en los laboratorios del Departamento de Fisiología de la Universidad de Valencia. Los trabajos se realizaron de acuerdo con la legislación existente sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, determinada por la directiva del Consejo Europeo 86/609/CEE de 24 de noviembre de 1986 y por el Convenio del Consejo de Europa de 18 de marzo de 1986 —ratificado por España el 11 de agosto de 1988, BOE nº 256, de 25 de octubre de 1990².

Se han estudiado un total de dieciocho preparaciones válidas de corazón aislado y perfundido de conejos de raza New Zeland, de peso medio 3.1 ± 1.1 kg. Tras la anestesia con ketamina, heparinización³ y sacrificio de los animales, se procedió a la extracción del corazón (peso medio 10.3 ± 2.7 g) (Figura 3.2), sumergiéndolo a continuación en Tyrode⁴ a la temperatura de 4 °C (Figura 3.3).



Figura 3.2 Anestesia a través de la vena marginal izquierda (izq.) y extracción del corazón tras el sacrificio (dcha.)

Una vez aislada, la aorta se conectó a un sistema de Langendorff con objeto de perfundir retrógradamente el corazón a una presión de 60 mmHg y

² Texto en www.coe.int/T/E/Legal_affairs/Legal_co-operation/Biological_safety,_use_of_animals

³ Evita la coagulación de la sangre durante la extracción del corazón

⁴ Solución fisiológica a base de agua destilada, sales minerales y glucosa

una temperatura de $37\pm 0,5$ °C. La composición milimolar de la solución utilizada fue: NaCl 130; NaHCO₃ 24.2; KCl 4.7; CaCl₂ 2.2; NaH₂PO₄ 1.2; MgCl₂ 0.6, y glucosa 12. La oxigenación se efectuó con una mezcla de O₂ (95%) y CO₂ (5%).

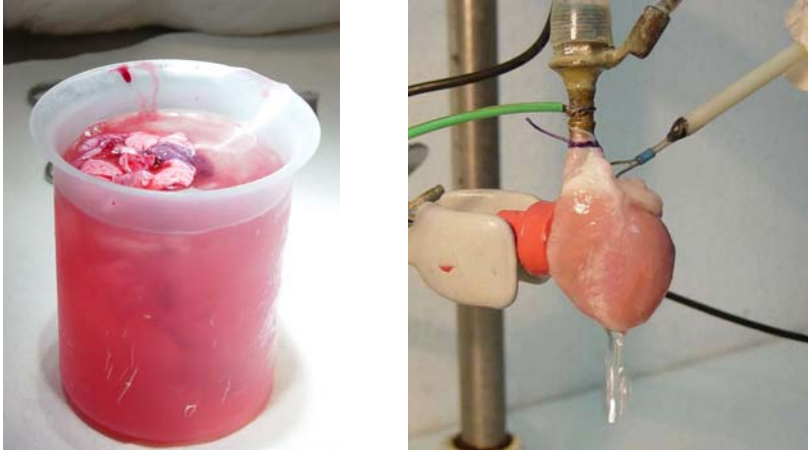


Figura 3.3 Inmersión de la preparación en Tyrode frío (izq.) y posterior conexión al sistema de perfusión Langendorff a través de la aorta (dcha.)

El dispositivo que se describe en el apartado 3.3 —electrodo múltiple modificador de la temperatura— fue posicionado en la pared latero-posterior del ventrículo izquierdo (Figura 3.4) con objeto de registrar los electrogramas unipolares correspondientes a la zona donde se provocarían más tarde las modificaciones térmicas controladas —a partir de ahora “zona modificada”—. Simultáneamente se registraron las señales epicárdicas de una zona alejada de la anterior, correspondiente al mismo ventrículo, mediante un electrodo múltiple convencional. Este último electrodo fue situado en la pared latero-anterior del ventrículo izquierdo —a partir de ahora “zona normotérmica”—, y consistió en una placa cuadrada de 1.5 cm de lado con 121 electrodos unipolares de acero inoxidable (diámetro 0.125 mm, distancia interelectrodo 1 mm) fabricado mediante la disposición en forma de matriz cuadrangular de cables de acero inoxidable con aislamiento de silicona, en molde de resina

epoxy. Como electrodo indiferente se utilizó una placa de Ag/AgCl de 4x6 mm colocada por encima de la aorta canulada. Mediante termopares, se monitorizó la temperatura de ambas zonas del epicardio ventricular (zona modificada y zona normotérmica), así como la del interior del ventrículo izquierdo. En este último caso el termopar se insertó en la aurícula izquierda, pasando a través de la válvula mitral hasta el interior del ventrículo.

La fotografía de la *Figura 3.5* muestra una vista real de la preparación —tomada desde arriba— con los electrodos situados en su posición definitiva. En el centro, puede apreciarse la parte superior del corazón, con el termopar endocavitario entrando en la aurícula izquierda a través de la arteria pulmonar; cerca de éste, el conjunto de elementos para la estimulación, monitorización y registro de las señales.

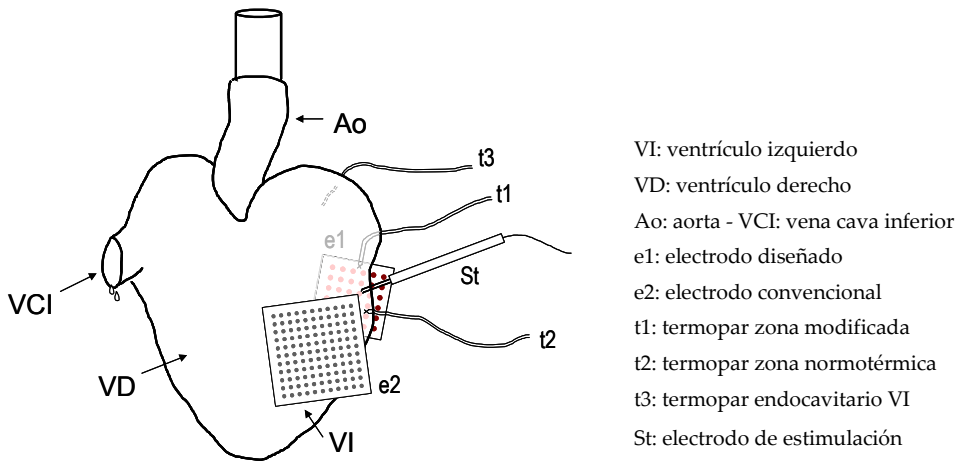


Figura 3.4 Representación esquemática de la situación de los electrodos y termopares en la preparación experimental utilizada

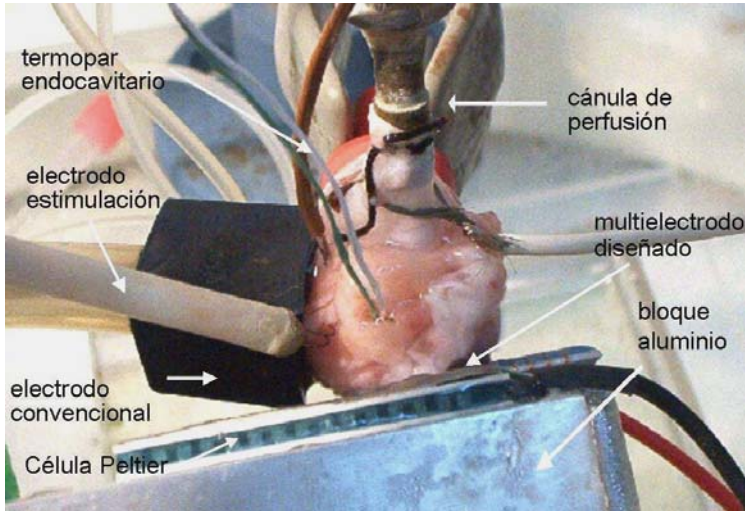


Figura 3.5 Aplicación de los electrodos a las paredes epicárdicas del ventrículo izquierdo

3.3 Electrodo diseñado

La búsqueda de un sistema capaz de producir modificaciones locales en la superficie epicárdica, consistentes en enfriamiento y calentamiento sobre la temperatura basal del tejido, ha desembocado finalmente, y tras el ensayo de diversas técnicas, en una solución integral. Esta solución consiste en un dispositivo-electrodo capaz de registrar los electrogramas unipolares del mapa epicárdico, al tiempo que crear la condición de hipotermia o hipertermia controlada en la misma región en la que se está realizando el registro. La necesidad de medir la temperatura en la zona modificada se ha resuelto de una forma más convencional, como se describirá más adelante.

3.3.1 Sistema de modificación de la temperatura

Para reducir la temperatura de forma controlada por debajo de su valor basal (37 °C), se ha empleado un refrigerador termoeléctrico o célula Peltier. Estos elementos son dispositivos de estado sólido basados en el "efecto Peltier". Los módulos comerciales consisten en múltiples pares de uniones o

termoelementos de semiconductor p y semiconductor n, conectados eléctricamente en serie y térmicamente en paralelo. Dos placas de material cerámico conforman y aíslan la "cara fría" y la "cara caliente" del módulo. Como material semiconductor suele emplearse el telururo de bismuto (Bi_2Te_3). El dispositivo actúa como una bomba térmica, transfiriendo continuamente calor de la cara fría a la caliente, de manera proporcional a la corriente inyectada (Figura 3.6). En la medida en que el calor acumulado en la cara caliente pueda ser disipado, se dispondrá de un sistema eficaz para reducir la temperatura de la cara fría, y por tanto la de aquel material al que se encuentre térmicamente unida. Al invertir el sentido de la corriente, se intercambia el comportamiento térmico de las caras.

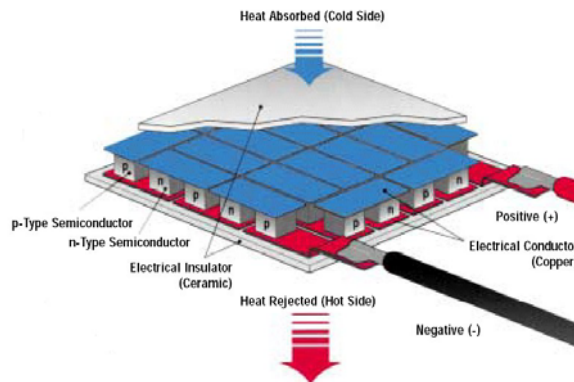


Figura 3.6 Estructura de un refrigerador termoelectrico

Las células Peltier constituyen una buena alternativa de refrigeración cuando la eficiencia energética no es un factor primordial —como es el caso de esta investigación— y sí lo es, por el contrario, el tiempo de respuesta, las dimensiones físicas del dispositivo refrigerante o la posibilidad de control de la temperatura obtenida. Como ventaja adicional, son capaces de calentar sobre la temperatura inicial con la misma facilidad con la que enfrían y sin necesidad de realizar alteración alguna en partes móviles. Estas características pueden

hacer de la refrigeración termoeléctrica una opción interesante como método de refrigeración/calentamiento para protocolos de modificación local de la temperatura en estudios experimentales como el nuestro. Hasta el momento, los escasos trabajos relacionados con esta Tesis Doctoral en los que se provoca hipotermia y/o hipertermia tópica (en modelos *in vitro* o *in vivo*), han empleado siempre otro tipo de técnicas más rudimentarias (apartado 1.8 de la Introducción).

La célula Peltier empleada en la implementación del dispositivo-electrodo ha sido un modelo de la firma Melcor[®], serie SealTEC⁵. Se trata de uno de los pocos modelos herméticos para condiciones húmedas que se encuentran actualmente en el mercado. El sellado perimetral del refrigerador evita que la humedad o los vapores entren en contacto con las uniones termoeléctricas o los conductores, condición indispensable en este caso ya que el líquido de perfusión acaba empapando completamente la superficie del dispositivo. Las características principales de este refrigerador termoeléctrico son:

- Capacidad 68.8 W
- Tensión y corriente máximas 15.4 V y 8.5 A
- Dimensiones 40x40x2.5 mm

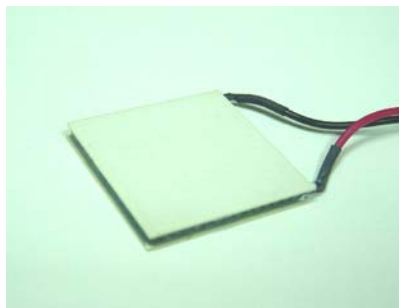


Figura 3.7 Célula Peltier sellada

⁵ características técnicas completas en www.melcor.com

3.3.2 Dispositivo-electrodo

Las modificaciones de temperatura y la adquisición de las señales eléctricas se llevaron a cabo mediante un dispositivo específico consistente básicamente en un electrodo extraplano unido a un refrigerador termoeléctrico. Tras la experiencia de su aplicación, y coincidiendo con la renovación del equipo de adquisición, la versión inicial de 16 puntos de contacto fue reemplazada durante la investigación por una nueva versión mejorada. Esta nueva versión del dispositivo fue la utilizada a partir del experimento 12 y básicamente difería de la primera en el número de electrodos, alguno de los materiales utilizados y la integración de los electrodos de estimulación. A continuación se describirán ambas versiones del electrodo múltiple, haciendo hincapié en su funcionamiento como “enfriador” local del epicardio, por ser ésta la característica que mayor dificultad conlleva y la que ha condicionado finalmente su diseño. Los dibujos esquemáticos de la *Figura 3.8* y la *Figura 3.9* muestran cada una de las partes del dispositivo diseñado y la distribución de éstas en una disposición estratificada.

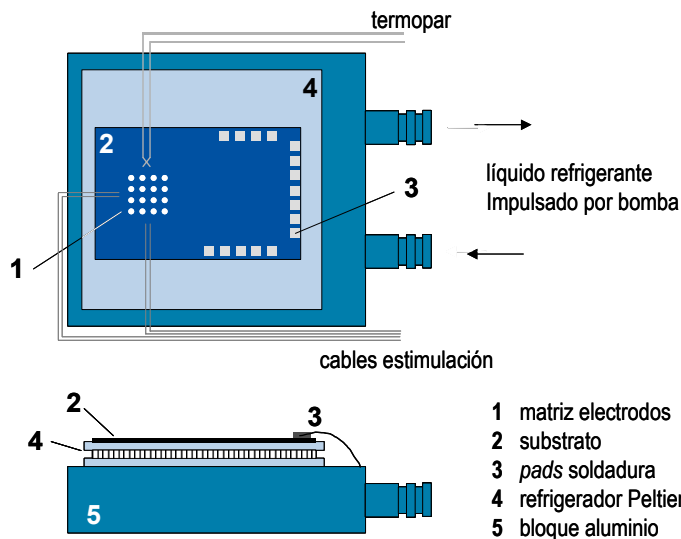


Figura 3.8 Esquema del dispositivo-electrodo diseñado (versión de 16 electrodos) en vistas frontal (arriba) y lateral (abajo)

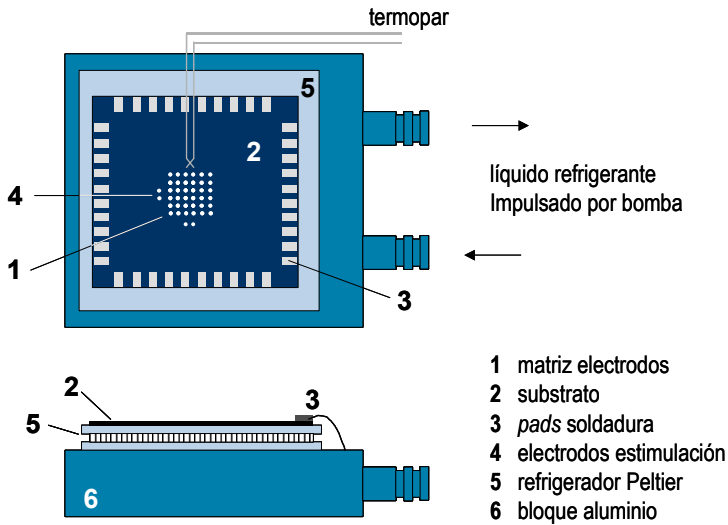


Figura 3.9 Esquema del dispositivo-electrodo diseñado (versión de 36 electrodos) en vistas frontal (arriba) y lateral (abajo)

Partiendo de la superficie destinada al contacto con el corazón, se dispone, a modo de capas, de los siguientes componentes: electrodo múltiple en sustrato cerámico, célula Peltier y bloque refrigerador de aluminio.

La matriz que conforma el electrodo múltiple hace contacto sobre el epicardio en una zona de reducidas dimensiones. La parte posterior del sustrato se une a la cara fría del refrigerador Peltier mediante una delgada lámina adhesiva de baja resistencia térmica (0.14 mm, 0.49 °C/W) asegurando una buena transferencia del calor. El refrigerador termoeléctrico se encuentra conectado a una fuente de alimentación cuya corriente es regulada manualmente hasta conseguir las temperaturas deseadas en la superficie epicárdica. El calor es bombeado por el efecto Peltier hacia la cara caliente del refrigerador, donde el bloque disipador de aluminio se encarga de mantener constante la temperatura de esta cara, posibilitando así la reducción de la temperatura de la cara fría. Hay que tener en cuenta que el corazón se encuentra continuamente perfundido con un líquido nutritivo a 37 °C, lo cual exige un continuo flujo de extracción de calor en la zona que se desea enfriar.

El bloque disipador consiste en una cavidad estanca, fabricada a medida, por la que circula un líquido refrigerante bajo la acción de una bomba centrífuga en un circuito cerrado. Dos electrodos bipolares de estimulación —externos con entrada lateral en el caso de la primera versión, e integrados en la segunda versión— y un termopar extraplano que se sitúa próximo a la matriz, completan el sistema.

Para la aplicación de las señales de los electrodos a la entrada analógica del equipo de adquisición de datos Maptech, se fabricó una interfaz específica mediante cables de cobre aislados de 0.2 mm de diámetro en tubo flexible de silicona. Se identificaron cada uno de ellos en el conector (*Figura 3.10*), para la construcción de la matriz de correspondencias canal-electrodo que permite posteriormente al software de representación reconocer la distribución espacial de las señales epicárdicas.

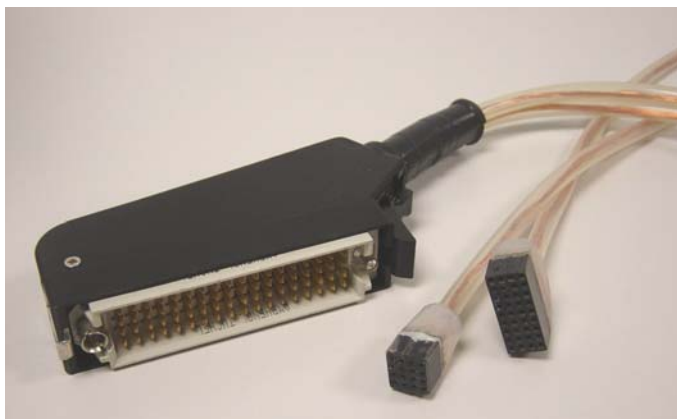


Figura 3.10 Cable de conexión fabricado para el conexionado de los electrodos al equipo de adquisición Maptech

La parte más destacable del dispositivo, y que ha conllevado mayor complicación en su implementación, ha sido el electrodo múltiple propiamente dicho o, lo que es lo mismo, la matriz de puntos de contacto que deben recoger la señal eléctrica de la superficie epicárdica para conducirla posteriormente

mediante cables hasta la entrada de los amplificadores del equipo de adquisición. Para su fabricación se ha empleado la tecnología "thick-film" ⁶. En esta tecnología los circuitos son fabricados depositando sucesivas capas de materiales conductores, aislantes y resistivos, sobre un substrato dieléctrico mediante técnicas serigráficas. La impresión de las pastas suele realizarse en varias etapas, una para cada capa, aplicándose entre paso y paso los ciclos térmicos adecuados para que los materiales endurezcan y adquieran sus propiedades nominales.

Electrodo de 16 contactos

Consiste en una matriz de 4x4 electrodos, que ocupa una superficie total de 4.5x4.5 mm aproximadamente, siendo la distancia intercentros de 1.5 mm. Para su implementación han sido impresas diversas capas sobre una delgada lámina de Alúmina⁷. Una pasta conductora de Plata se utiliza para imprimir las pistas que conducen la señal eléctrica hasta unos contactos de material soldable de Plata-Paladio. Una tinta polimérica de color azulado hace el papel de aislante protector, cubriendo toda la superficie excepto los puntos de contacto con el tejido cardíaco, que configurarán los electrodos de registro (*Figura 3.11*).

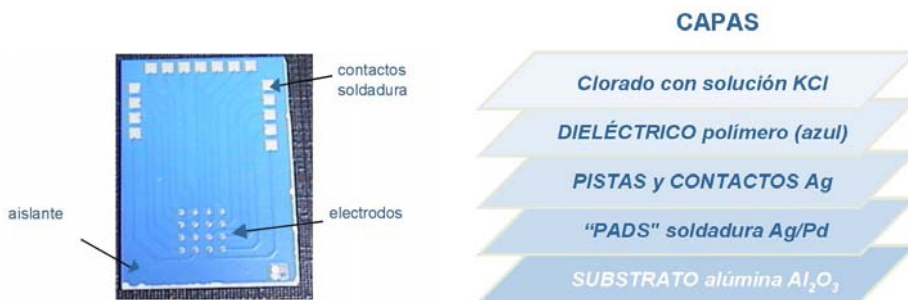


Figura 3.11 Electrodo de 16 contactos (fotografía antes de soldadura y ensamblado) y capas utilizadas en su fabricación mediante tecnología thick-film

⁶ Tecnología microelectrónica híbrida de capa gruesa. Se describe en el **Anexo** de esta memoria

⁷ Material cerámico de alta conductividad térmica (Al_2O_3), comúnmente utilizado como substrato de circuitos híbridos en tecnología thick-film

El proceso da lugar a un electrodo múltiple extraplano que consigue la conexión al equipo de adquisición mediante soldadura convencional de Sn/Pb en las terminaciones correspondientes. Los contactos de Plata han sido posteriormente clorados sumergiendo el electrodo en solución de ión cloro (KCl) a corriente constante, con el objeto de estabilizar su potencial de contacto, disminuir la impedancia de polarización y evitar su oxidación [Geddes 1972]. En la *Figura 3.12* puede apreciarse la matriz de electrodos completa, y en la *Figura 3.13* algunos detalles al microscopio.

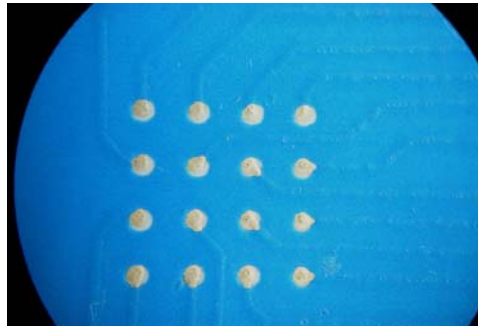


Figura 3.12 Vista al microscopio de la matriz de electrodos, en la versión de 16 contactos



Figura 3.13 Detalles al microscopio del electrodo extraplano antes de clorado y conexionado (versión de 16 contactos). Electrodos (izq. y centro) y *pads* para soldadura (dcha.)

Electrodo de 36 contactos

En este caso, un total de 36 electrodos ocupan una superficie aproximada de 35 mm², con una distancia de 1.2 mm entre electrodos. Las pistas conductoras (ancho de 200 micras) están realizadas en una primera capa con pasta de Plata-

Platino, utilizándose el mismo material para los terminales de conexión. Una última capa de Ag/AgCl cubre únicamente la superficie de cada electrodo, no siendo necesario por tanto el clorado, con la ventaja que ello implica (Figura 3.14). La superficie total de la zona de registro es aproximadamente 0.1 mm². Como puede observarse en las fotografías, también han sido integrados dos pares de electrodos bipolares de estimulación.



Figura 3.14 Electrodo de 36 contactos (fotografía antes de soldadura y ensamblado) y capas utilizadas en su fabricación mediante tecnología thick-film

En la Figura 3.15 y la Figura 3.16 se muestran algunas fotografías al microscopio tras el procesado de la primera capa, mientras que en la Figura 3.17 y la Figura 3.18 puede apreciarse el aspecto del electrodo tras la aplicación de la capa de aislante y el acabado final.



Figura 3.15 Vista al microscopio de la matriz de electrodos, en la versión de 36 contactos. Primera capa, antes del protector



Figura 3.16 Detalles al microscopio del electrodo extraplano en la versión de 36 contactos. Primera capa antes de protector (las unidades de la graduación sobreimpresa corresponden a centenares de micras)

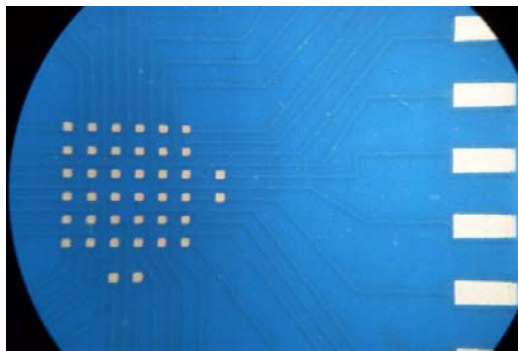


Figura 3.17 Vista al microscopio de la matriz de electrodos, en la versión de 36 contactos. Aspecto final



Figura 3.18 Detalles al microscopio del electrodo extraplano en la versión de 36 contactos. Contactos de Ag/Pd (izq.), capa de Ag/AgCl (centro) y pads para soldadura (dcha.) (las unidades de la graduación sobreimpresa corresponden a centenares de micras)

3.3.3 Alternativas descartadas

Las especiales características de la preparación cuya temperatura se pretendía modificar —su tamaño aproximado es el de una pequeña nuez, el tejido está siempre húmedo, la perfusión coronaria es constante y a una temperatura de 37 °C— y la necesidad del registro simultáneo y multipunto de la actividad eléctrica en la zona modificada, planteaban un problema técnico en cuanto a los materiales y métodos a utilizar. Durante la fase inicial de este trabajo, se desarrollaron y ensayaron diferentes sistemas para disminuir la temperatura, éstos arrojaron resultados sólo parcialmente satisfactorios sin llegar a proporcionar el rendimiento deseado. Tras su aplicación en experimentos previos, estos prototipos preliminares fueron finalmente descartados en favor de la solución adoptada descrita en el apartado anterior. Puesto que se trata de soluciones descartadas, se describirá brevemente en qué consistieron y, sobre todo, los motivos que ocasionaron su descarte.

- *Electrodo fabricado en molde de resina epoxy*

Uno de los prototipos desarrollados consistió en un electrodo múltiple construido mediante la disposición matricial de cables de acero inoxidable —en las primeras pruebas se utilizó cobre— de 0.2 mm de diámetro y con aislamiento de silicona, en un molde de forma cúbica relleno parcialmente con una resina epoxy⁸ de buena conductividad térmica (*Figura 3.19*). La búsqueda de un sistema rápido y eficaz de enfriamiento de la superficie epicárdica llevó a la utilización de un gas congelante —tetrafluoroetano— en forma de aerosol, aplicado a través de una cánula sobre el receptáculo interior del electrodo.

⁸ Compuesto de dos componentes (polímero y activador) que endurece al ser mezclados a temperatura ambiente, formando así una estructura rígida y resistente

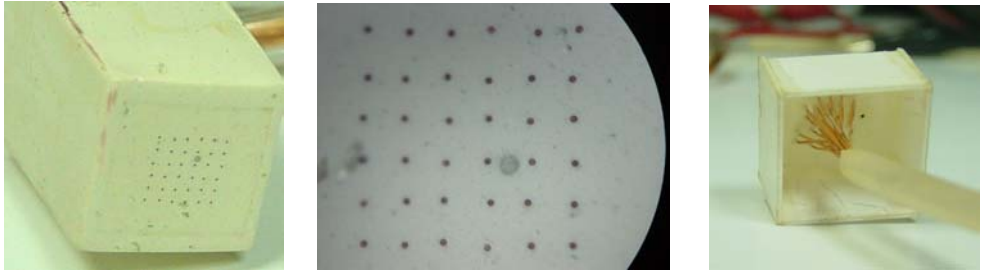


Figura 3.19 Algunos de los electrodos fabricados con molde de resina epoxy

El sistema resultó eficiente en cuanto a la capacidad de reducir la temperatura a valores mínimos —por debajo de 5 °C con facilidad—. El gas congelante fue capaz de reducir en pocos segundos la temperatura del molde del electrodo y, por conducción, de la superficie de contacto con el epicardio. No obstante, este sistema presentó serios inconvenientes que dificultaron su aplicación en este caso concreto.

En primer lugar, la reducción de temperatura se producía de manera brusca y poco controlada, existiendo un retardo de algunos segundos entre la aplicación del gas y la reducción de temperatura en la cara externa del electrodo, cuyo valor a alcanzar era difícilmente predecible. Por otra parte el mantenimiento de temperaturas bajas requería de un aporte continuo del fluido refrigerador en intervalos de pocos segundos. No se cumplía por tanto la condición de estabilidad de la temperatura en valores reproducibles, necesaria para la puesta en práctica del protocolo experimental programado.

Otro inconveniente que presentó el sistema de gas refrigerante tuvo su origen en el sistema de aplicación. Cada aplicación efectiva del gas venía seguida de una saturación transitoria del electrograma de 1 ó 2 segundos de duración. Este tipo de refrigerantes vienen comercializados en forma líquida en recipientes tipo aerosol. Su aplicación local en una cavidad de reducidas dimensiones hace necesaria la conducción del líquido mediante cánula hasta las cercanías de la zona que se desea enfriar, lugar en el que se producirá la evaporación. Probablemente, el imperceptible movimiento producido por el

impacto del líquido sobre la cara interna del electrodo resultó suficiente para alterar el potencial de contacto de la interfaz electrodo-tejido y forzar la adaptación de los filtros del sistema de adquisición a la nueva situación. El comportamiento fue similar al observado tras un ligero movimiento en el electrodo con ocasión de un roce accidental o intencionado.

- *Electrodo fabricado en cerámica mecanizable*

La conductividad térmica de la resina epoxy utilizada en la fabricación del electrodo anterior es superada ampliamente por la de muchos materiales cerámicos. La utilización de un electrodo de alguno de estos materiales podría mejorar la transferencia térmica con la cara sensible y por tanto facilitar su enfriamiento, reduciéndose así los inconvenientes del prototipo anterior. El problema esta vez radica en la necesidad de mecanización del material para la inserción de los cables que configuran la matriz de electrodos. El Shapal-M® —compuesto de Nitruro de Aluminio, de conductividad térmica $100\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ — es una cerámica mecanizable ideal para aplicaciones que necesitan una conducción eficiente de calor, pero su mecanizado requiere la utilización de brocas especiales, como las de carburo de silicio. Aún así, el taladrado de esta cerámica es un proceso extremadamente delicado, sobre todo cuando se emplean brocas de muy pequeño diámetro. En nuestro caso se utilizaron las necesarias para alojar conductores de 0.20 mm (*Figura 3.20*).

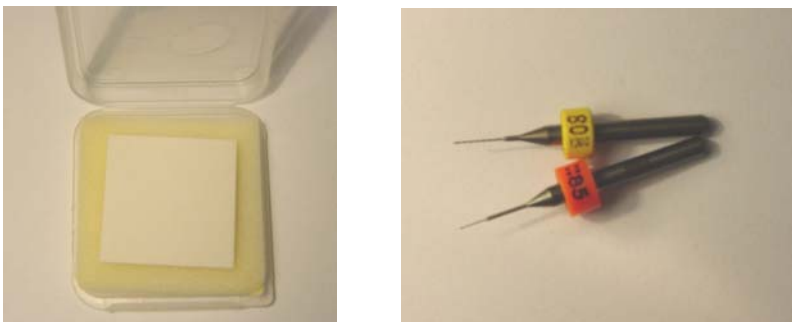


Figura 3.20 Lámina de Shapal-M® y brocas especiales de carburo de silicio empleadas en la fabricación de uno de los prototipos preliminares

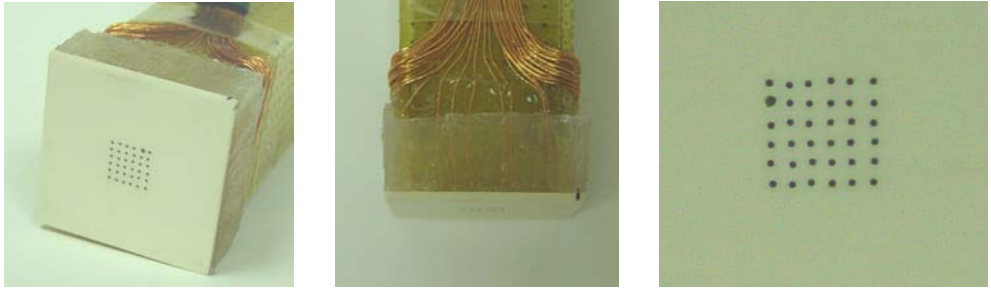


Figura 3.21 Diversas vistas del electrodo fabricado con Shapal-M®

Las ventajas de utilizar este material, con respecto a la resina epoxy, son una mayor densidad de electrodos —la viscosidad de la resina antes de su endurecimiento puede provocar fallos en el rellenado cuando la distancia interelectrodo es pequeña— y una mayor robustez, además de un menor espesor. Sin embargo resulta un inconveniente la necesidad de ajustar el diámetro del taladro al del cable aislado del electrodo, para asegurar la sujeción estable sin necesidad de sustancias adherentes. Una vez insertados, se fijan interiormente con una pequeña cantidad de adhesivo de alta conductividad térmica y se pule la superficie del electrodo.

Se fabricó de esta manera una matriz de 6x6 electrodos en una lámina cuadrada de unos 0.8 mm de espesor, ocupando ésta una superficie total de registro de aproximadamente 0.3 cm² (Figura 3.21). Un receptáculo interior de fibra de vidrio y silicona servía para aplicar el gas refrigerante. Tampoco en este caso los resultados fueron satisfactorios, aunque la mayor conductividad térmica de este electrodo permitió el aumento de la distancia a la que se produjo la aplicación del gas, siendo por tanto menor la presión ejercida y con ella la saturación de las señales. Las variaciones bruscas de temperatura y la dificultad de estabilización de ésta persistieron con este prototipo.

Tras su ensayo en experimentos preliminares, estos prototipos resultaron finalmente descartados, concluyéndose que el sistema para reducir la temperatura epicárdica mediante la aplicación de un gas congelante en la parte posterior de un electrodo cableado, no constituía un método apropiado para el

protocolo de modificación de temperatura previsto. Descartado este método, se consideró la posibilidad de una refrigeración líquida o bien una bomba termoeléctrica, siendo en este último caso más apropiado un electrodo extraplano, solución que finalmente se adoptó.

3.4 Instrumentación

Las señales correspondientes a los electrogramas unipolares epicárdicos fueron adquiridas y digitalizadas mediante un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca⁹ de 256 canales (ganancia 50-300, ancho de banda 1 Hz - 400 Hz, frecuencia de muestreo por canal 1 kHz, resolución 12 bits), almacenándose en soporte magnético para su posterior análisis. Durante la fase experimental de esta investigación el sistema fue actualizado, consistiendo esta actualización en una renovación del software y del soporte de almacenamiento de las señales capturadas. En la versión inicial —11 primeros experimentos— se realizó un volcado continuo en cinta magnética VHS, mientras que en la versión posterior el almacenamiento fue selectivo y se efectuó directamente sobre disco duro. Estos cambios sólo afectaron a la funcionalidad del software, la interfaz con el PC y la gestión de la información, suponiendo a partir de este punto un avance significativo en el tiempo de procesado de la información.



Figura 3.22 Sistema de adquisición *MapTech*. Caja de amplificadores y digitalización con los conectores de los electrodos (izq.) y software *PaceMap*[®] de representación y análisis (dcha.)

⁹ *MapTech* (Waalre, Holanda)

Las temperaturas epicárdicas de cada zona (modificada y normotérmica), así como la endocavitaria del ventrículo izquierdo, fueron registradas mediante termopares miniaturizados¹⁰ (Figura 3.23) conectados a sendos termómetros digitales¹¹. La disposición del termopar extraplano de la zona modificada viene descrita en el apartado 3.3.2. El termopar correspondiente a la zona normotérmica fue situado próximo al electrodo convencional, en la región fronteriza con la zona modificada. El termopar endocavitario se introdujo en el ventrículo izquierdo a través de la aurícula izquierda y la válvula auriculoventricular, hasta hacer contactar la unión termoeléctrica con el endocardio, aproximadamente en la parte que correspondería a la zona modificada.

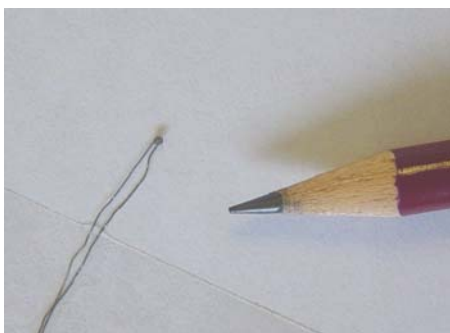


Figura 3.23 Termopar utilizado en la medida de temperatura de la zona modificada

Para la estimulación ventricular se utilizó un estimulador GRASS® S88 (Figura 3.24) provisto de unidad de aislamiento de estímulos. Cuando ésta debía realizarse desde la zona modificada, se utilizaron los electrodos laterales integrados en el multielectrodo diseñado y dispuestos para tal fin. La

¹⁰ Termopares tipo K, Ø0.2 mm y aislamiento de PTFE, según norma BS4937

¹¹ Fluke® 50II (John Fluke, USA)

estimulación desde la zona normotérmica se efectuó con un electrodo bipolar de estimulación convencional de acero inoxidable ($\varnothing 0.125$ mm, separación entre electrodos 1 mm). Los estímulos fueron ondas rectangulares, con una duración de 2 ms y amplitud doble del umbral diastólico.



Figura 3.24 Estimulador GRASS

La Figura 3.25 muestra una vista esquemática con la integración de toda la instrumentación mencionada sobre el modelo de corazón perfundido durante los experimentos. En ella, se muestran simplificada cada una de las partes y equipos utilizados durante la realización de éstos. A continuación se relacionan, a modo de resumen explicativo, estas partes.

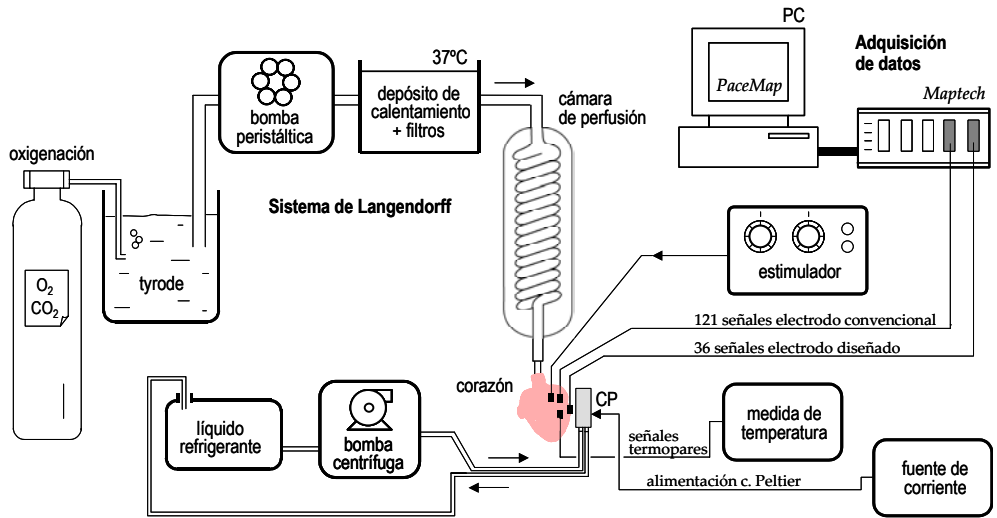


Figura 3.25 Vista esquemática de un experimento. Preparación, materiales y equipos utilizados. CP - bloque de disipación de la célula Peltier

1. El sistema Langendorff asegura la perfusión adecuada del modelo experimental a temperatura y presión constantes. Para ello, la mezcla nutricia, previamente preparada, es oxigenada e impulsada por la bomba peristáltica hasta entrar en la cámara de perfusión, previo paso por el depósito de calentamiento.
2. Los dos electrodos múltiples —el convencional y el diseñado para esta investigación, éste último formando parte del dispositivo modificador de la temperatura— se sitúan en sus localizaciones correspondientes de la pared libre del ventrículo izquierdo (zona normotérmica y zona modificada). Los terminales de estos electrodos son conectados al sistema de adquisición de datos Maptech, para el registro de los electrogramas.
3. Un electrodo externo de estimulación, utilizado durante la inducción de la fibrilación y en el test del extraestímulo desde la zona normotérmica (apartado 3.7.1), se sitúa en la región del epicardio limítrofe con el electrodo convencional. Éste electrodo de estimulación, y el que se ha integrado en el dispositivo-electrodo diseñado —ambos bipolares—, se conectan al estimulador que conformará el tren de excitación.

4. El termopar situado en la zona normotérmica, el introducido en el VI a través de la aurícula (ver apartado 3.2, Figura 3.4) y el integrado en el electrodo diseñado, se conectan a sendos termómetros digitales para la monitorización y registro de las temperaturas.
5. El líquido refrigerador¹² del depósito exterior se hace circular continuamente, por acción de la bomba centrífuga, a través del interior del bloque disipador del dispositivo-electrodo —se trata de un circuito cerrado—. El objeto de esta operación es evacuar el flujo de calor extraído hacia la cara externa de la célula Peltier durante el enfriamiento local de la preparación. De esta manera se mantiene constante la temperatura de esta cara y se facilita el ajuste de la temperatura de la zona modificada. El control se realiza de manera manual, actuando sobre los mandos de regulación gruesa y fina de la fuente de corriente constante, hasta que la temperatura de esta zona alcanza el valor deseado.

3.5 Software

En la fase de adquisición de las señales eléctricas durante los experimentos, y en el posterior procesado y análisis de los datos obtenidos, se utilizaron fundamentalmente dos entornos de trabajo (Figura 3.26). Por una parte el software *Cardio Mapping*[®], incorporado en el sistema de adquisición Maptech y actualizado durante el período experimental a la versión *PaceMap*[®]. Por otra, el entorno de trabajo Matlab[®] con un software propio, *MedMap*, que fue adaptado y ampliado a medida que fueron surgiendo las necesidades en el transcurso de la fase de procesado.

Cardio Mapping[®]: Software del sistema de mapeo cardiaco MapTech utilizado en la captura y análisis de los electrogramas de los 11 primeros experimentos. Desarrollado en 1990 funciona bajo sistema operativo MS-DOS en un ordenador personal de requerimientos mínimos. Realiza las funciones de

¹² Disolución de agua y etilenglicol

configuración de la adquisición, permitiendo el cambio de la ganancia, frecuencia de muestreo, control de la grabación, etc. Con objeto de que puedan ser analizados en el ordenador, permite la posterior transferencia hacia el PC de segmentos de hasta 4 segundos de electrogramas procedentes de la cinta magnética VHS donde han quedado almacenados —suele registrarse en modo continuo un experimento completo, en una o varias cintas dependiendo de la duración de éste—. La operación de extracción de los episodios significativos —p.e. los finales del test del extraestímulo o segmentos de fibrilación a analizar— requiere la localización exacta de éstos en la cinta. Para ello se cuenta con la ayuda de un monitor XY de rayos catódicos y de las referencias temporales de la videograbadora que han sido anotadas en el transcurso del experimento.

Una vez almacenados en el PC los registros temporales seleccionados, es posible su visualización por grupos de canales y la realización de diversas operaciones relacionadas con la cartografía de la actividad eléctrica cardíaca. En concreto, en este trabajo se realizó el marcado semiautomático de los tiempos de activación local para la medida de los períodos refractarios o de los intervalos de activación promedio durante la FV. También se construyeron mapas de activación epicárdica (líneas isócronas) con objeto de determinar la velocidad de conducción y se realizó la estadística de los intervalos de activación con la ayuda de los histogramas proporcionados. Previamente es necesario construir y suministrar al programa las matrices de correspondencia electrodo-canal que codificarán la distribución espacial de las señales.

La modernización del sistema MapTech antes de finalizar la fase experimental, implicó un cambio en la forma de almacenamiento de la información y supuso un avance significativo en el tiempo de postprocesado y análisis de las señales.

PaceMap®: Software de la nueva versión (año 2002) del sistema de mapeo cardíaco MapTech utilizado en la captura y análisis de los electrogramas de los

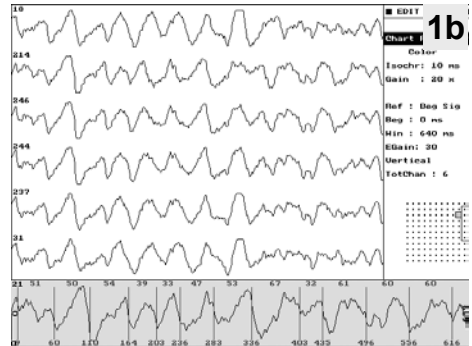
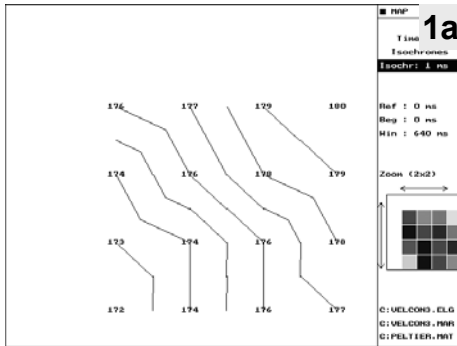
7 últimos experimentos. Realiza básicamente las mismas funciones que su predecesor, con la diferencia de que los electrogramas se almacenan en el disco duro del ordenador. Además, la extracción de los episodios significativos constituye en esta versión una tarea mucho más sencilla y rápida.

En PaceMap[®] se llevaron a cabo las mismas operaciones que en Cardio Mapping[®], aunque en este caso se utilizó la codificación de colores y la nueva utilidad de animación, además de las líneas isócronas, para la determinación de la velocidad de conducción. Además, debido a una limitación en los cálculos estadísticos, se programó una aplicación en MatLab[®] para poder visualizar los histogramas de los intervalos VV de la FV y calcular los estadísticos, a partir de un fichero ASCII de marcas exportadas.

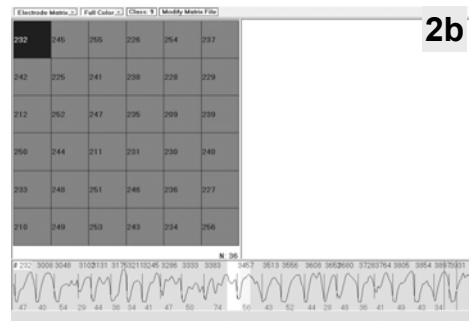
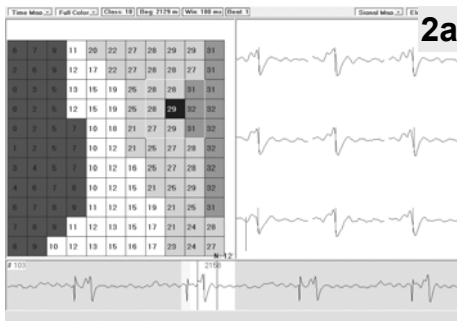
MedMap: Se trata de una aplicación desarrollada bajo entorno MatLab[®] en 2001 por nuestro grupo de investigación y el laboratorio de fisiología, con una funcionalidad ampliada en algunos aspectos respecto del software anterior. Captura los archivos de señales creados por Cardio Mapping[®] y es capaz de analizar las señales en el dominio del tiempo y de la frecuencia. En MedMap se pueden crear mapas de isócronas y también de isofrecuencias.

En este trabajo, Medmap se utilizó fundamentalmente para la comprobación y validación de mapas y espectros de frecuencia de las señales de FV. Mediante ligeras modificaciones y ampliaciones del código fuente de este programa se realizaron algunas correcciones y mejoras, se le dotó de la capacidad de importar los archivos de señales binarios generados por el nuevo software PaceMap[®], se automatizó el cálculo de las frecuencias dominantes de los espectros y se optimizó el cálculo estadístico por matrices de electrodos.

Cardio Mapping



PaceMap



MedMap

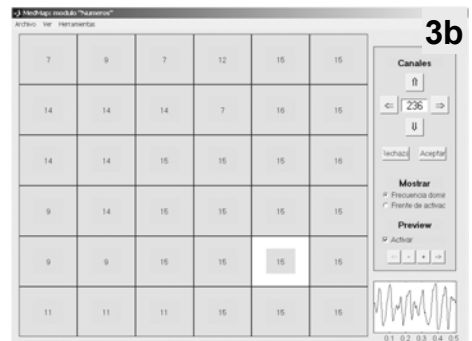
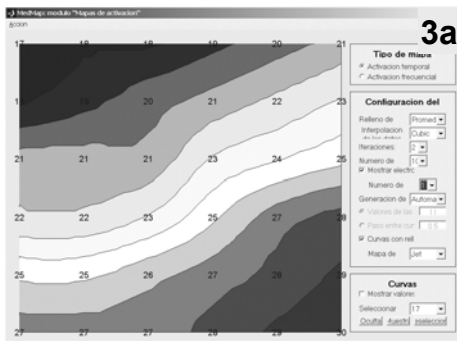


Figura 3.26 Software utilizado en la adquisición de las señales y su posterior análisis. 1a,2a,3a – Mapas de activación temporal epicárdica con isócronas y/o codificación de colores (matrices correspondientes a los electrodos utilizados). 1b,2b – Pantallas de edición de electrogramas para el marcado de los tiempos de activación (señales registradas con los electrodos diseñados). 3b – Frecuencias dominantes de las señales obtenidas con una matriz de 6x6 electrodos

3.6 Cálculos estadísticos

Los datos se han presentado como media \pm desviación estándar. La normalidad de los datos se ha verificado mediante el *test de Kolmogorov-Smirnov* antes de aplicar pruebas paramétricas. Las comparaciones entre dos grupos de datos se han realizado mediante el *test de Student* para datos apareados, mientras que las comparaciones múltiples han sido realizadas mediante el análisis de la varianza (ANOVA para medidas repetidas). Se han considerado significativas las diferencias para valores de p menores que 0.05. Las regresiones lineales entre pares de variables se han efectuado utilizando el método de mínimos cuadrados y para el análisis de regresiones lineales múltiples se ha utilizado el método escalonado (*stepwise regression*). Para el análisis estadístico se ha utilizado el paquete de análisis estadístico SPSS® (versiones 10.0.6 y 11.5.1) de la firma SPSS Inc., así como la hoja de cálculo Microsoft® Excel 2000.

3.7 Estudio electrofisiológico. Protocolos

De acuerdo con los objetivos establecidos para esta Tesis Doctoral, se han tenido que determinar tanto parámetros electrofisiológicos a partir de las señales obtenidas mediante estimulación programada, como parámetros indicadores de la frecuencia de activación durante fibrilación ventricular.

3.7.1 Estimulación constante

Para la determinación de los parámetros electrofisiológicos del tejido cardíaco durante la estimulación constante se empleó el *test del extraestímulo*.

- **Test del extraestímulo**

Se trata de un protocolo para determinar la refractariedad del tejido. Consiste en la aplicación de un tren de impulsos bipolares de excitación (tren base) con separación temporal fija (ciclo básico), seguido de un estímulo adicional tras un retardo variable. La operación se repite cíclicamente después de un tiempo

muerto. Tras cada repetición el estímulo extra se acerca más al tren base. La *Figura 3.27* muestra un ejemplo de este tipo de estimulación; el registro corresponde a uno de los electrodos ventriculares durante uno de los experimentos realizados.

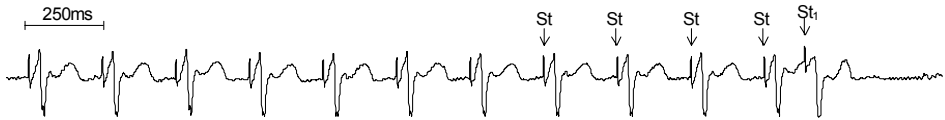


Figura 3.27 Test del extraestímulo. St.- estímulos consecutivos del tren base. St₁-extraestímulo

A partir de los datos obtenidos mediante la aplicación del test, pueden determinarse los siguientes parámetros ventriculares: período refractario efectivo, período refractario funcional, velocidad de conducción y longitud de onda del proceso de activación.

- Período Refractario Efectivo (PRE). El PRE ventricular se define como el intervalo $St-St_1$ más largo en que St_1 no va seguido de despolarización ventricular (*Figura 3.28*).

- Período Refractario Funcional (PRF). El PRF ventricular se define como el mínimo intervalo entre activaciones ventriculares inducidas por los estímulos (*Figura 3.28*).

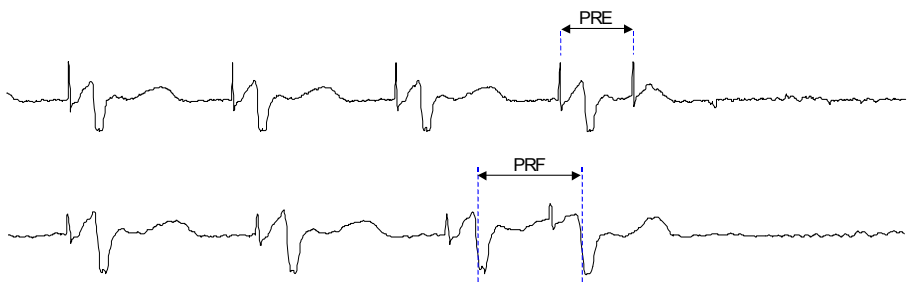


Figura 3.28 Período refractario efectivo (PRE) y período refractario funcional (PRF)

- Velocidad de Conducción (VC). Expresa la rapidez con la que se propaga la onda de activación a lo largo del tejido. Su estimación suele realizarse a partir del retardo existente entre la despolarización de dos zonas próximas en la dirección del frente de onda (t_r) y la distancia que las separa (d_{ab}).

$$VC = \frac{d_{ab}}{t_r}$$

- Longitud de Onda (LO). Se define como la distancia recorrida por la onda de despolarización durante la duración de su período refractario. Representa por tanto la longitud que recorrerá la onda en el tiempo que tarda el tejido en volver a ser excitable. Se calcula como el producto del período refractario funcional por la velocidad de conducción, determinados ambos para el mismo ciclo básico.

$$LO = PRF \cdot VC$$

- **Protocolo**

Veinte minutos después de situar los electrodos, y tras un registro basal inicial, se aplicó el test del extraestímulo ventricular con ciclo básico de 250ms y amplitud doble del umbral diastólico. El extraestímulo se emitió cada vez tras 12 estímulos del tren base, disminuyendo el intervalo de acoplamiento en escalones de 5ms desde 220ms hasta alcanzar el PRE. La estimulación se realizó en primer lugar a la temperatura basal de perfusión (37 °C), desde el electrodo de estimulación situado en la zona normotérmica. Una vez finalizado el test, éste se repitió utilizando los electrodos de estimulación de la zona modificada. A partir de los registros obtenidos en el electrodo convencional y el electrodo diseñado respectivamente, se determinaron PRE, PRF, VC y LO, tanto de la zona normotérmica como de la zona modificada.

Los parámetros mencionados se volvieron a determinar a los cinco minutos de disminuir la temperatura de la zona modificada hasta el mínimo

valor posible, actuando para ello sobre la corriente del dispositivo-electrodo. Se repitió el proceso tras suprimir los cambios de temperatura y alcanzar de nuevo el valor basal. En cada etapa quedaron registrados los valores de temperatura de cada una de las dos zonas epicárdicas, más la endocavitaria del ventrículo izquierdo.

Tras la fase de FV (ver más adelante), y 10 minutos después de desfibrilar el corazón mediante descarga DC de 5J con un desfibrilador monofásico específicamente construido con este fin —este desfibrilador consta de dos electrodos cóncavos de diámetro 2 cm—, se repitió el protocolo del test del extraestímulo a temperatura basal y tras aumentar la temperatura de la zona modificada hasta 42 °C¹³. Se determinaron de nuevo los parámetros en ciclo base, antes y durante la hipertermia, en ambas zonas. La *Tabla 3.1* resume el protocolo utilizado para el estudio electrofisiológico durante el ciclo base.

Tabla 3.1 Protocolo de aplicación del test del extraestímulo para el estudio electrofisiológico durante estimulación con tren base

Temperatura en zona modificada	Zona de estimulación	Electrodo de registro	Parámetros determinados
Tbasal (37 °C)	zMOD	Electrodo diseñado	PRE,PRF,VC y LO en zMOD
	zNORM	Electrodo convencional	PRE,PRF,VC y LO en zNORM
Hipotermia máxima	zMOD	Electrodo diseñado	PRE,PRF,VC y LO en zMOD
	zNORM	Electrodo convencional	PRE,PRF,VC y LO en zNORM
Tbasal (37 °C)	zMOD	Electrodo diseñado	PRE,PRF,VC y LO en zMOD
	zNORM	Electrodo convencional	PRE,PRF,VC y LO en zNORM
Temperatura en zona modificada	Zona de estimulación	Electrodo de registro	Parámetros determinados
Tbasal (37 °C)	zMOD	Electrodo diseñado	PRE,PRF,VC y LO en zMOD
	zNORM	Electrodo convencional	PRE,PRF,VC y LO en zNORM
Hipertermia	zMOD	Electrodo diseñado	PRE,PRF,VC y LO en zMOD
	zNORM	Electrodo convencional	PRE,PRF,VC y LO en zNORM

- **Cálculo de los parámetros**

Los registros correspondientes a cada test fueron almacenados en archivos individuales para su posterior procesamiento mediante el software de adquisición y análisis asociado al equipo de adquisición de las señales (*Figura 3.29*). Con la ayuda de este software se determinaron los parámetros mencionados, como se detalla a continuación.

PRE y PRF: Los períodos refractarios se calcularon como se describe en la *Figura 3.30*. La localización y marcado de los electrodos de registro se realizó en el programa PaceMap® (*Figura 3.31*).

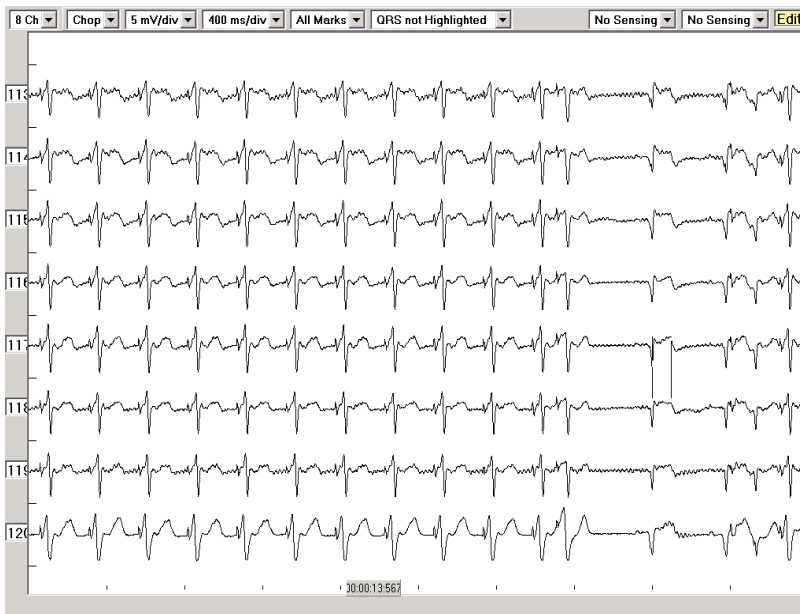


Figura 3.29 Programa PaceMap®. Pantalla de edición de electrogramas durante el test del extraestímulo (ciclo base 250ms)

¹³ Esta operación requiere la inversión del sentido de circulación de la corriente en la célula Peltier

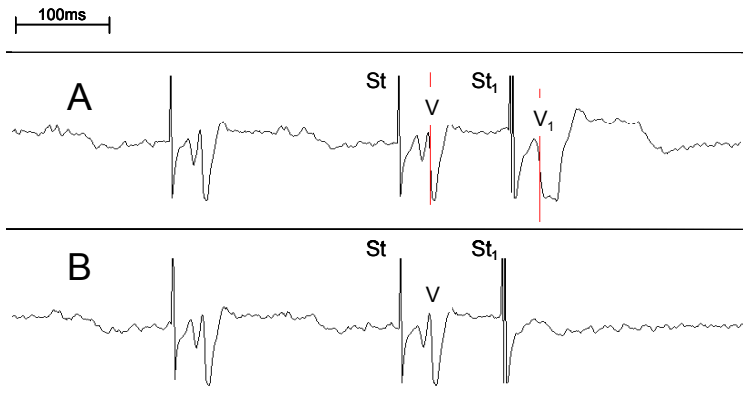


Figura 3.30 Determinación de períodos refractarios del ventrículo izquierdo (ciclo básico 250 ms) mediante el test del extraestímulo, en uno de los experimentos. A - PRF=124 ms (V-V1 mínimo). B - PRE=115 ms (St-St1 sin captura)

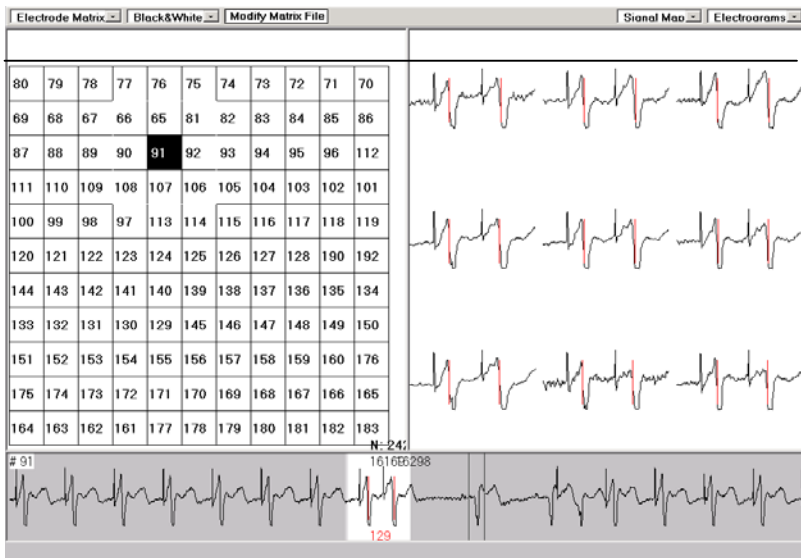


Figura 3.31 Determinación de los períodos refractarios en la pantalla de mapeo del programa PaceMap®. Marcado de las activaciones y medición del PRF de la zona normotérmica en uno de los experimentos

VC: La velocidad de conducción fue estimada de la manera que se describe a continuación. En uno de los últimos estímulos del tren base se identificaron los tiempos de activación local marcando de forma semiautomática en el software PaceMap® los instantes de máxima pendiente (dv/dt) de cada uno de los electrogramas ventriculares de los electrodos múltiples, obteniendo así el mapa de activación epicárdico de la zona correspondiente. Se identificó la dirección del frente de onda con ayuda de las isócronas o la codificación de color —también las secuencias de fotogramas— proporcionados por el software¹⁴. Finalmente se obtuvo VC dividiendo la distancia existente entre dos electrodos situados en la dirección de la propagación (5-7 mm aprox.) por la diferencia entre sus tiempos de activación local.

A continuación, se muestran algunos ejemplos que ilustran la determinación de la velocidad de conducción en diferentes situaciones. La *Figura 3.32* corresponde a un caso en el que el frente de onda atraviesa diagonalmente la zona cubierta por el electrodo modificador de la temperatura (secuencia de activación en la *Figura 3.33*). La *Figura 3.34* corresponde al cálculo de la velocidad de conducción en la zona modificada, a diferentes temperaturas, en uno de los experimentos. En este caso la propagación de la activación (despolarización) se produce longitudinalmente sobre la zona cubierta por los electrodos de registro (secuencia de activación en la *Figura 3.35*). La *Figura 3.36* muestra el cálculo de la VC en la zona normotérmica, con dos ejemplos distintos de propagación de la señal sobre la zona registrada.

LO: Se obtuvo como el producto $PRF \cdot VC$. En algunos experimentos no pudo ser determinada al no disponer de alguno de los datos (PRF y/o VC).

¹⁴ Software Cardio Mapping® en los 11 primeros experimentos; software PaceMap en el resto

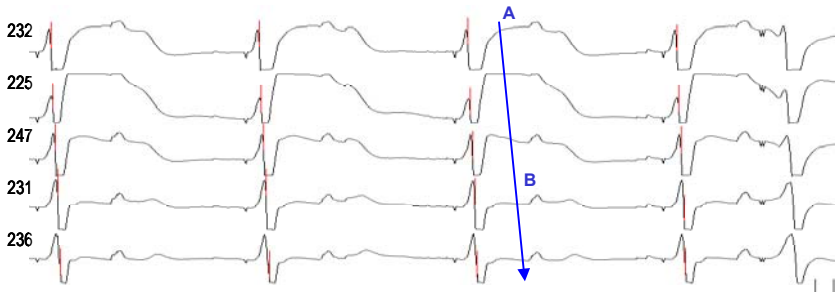
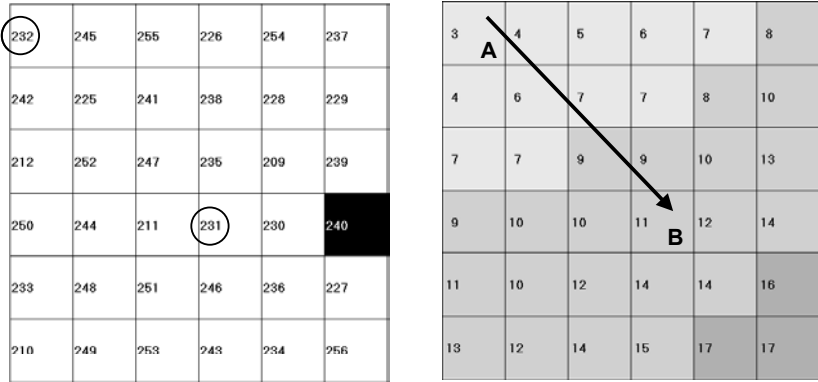


Figura 3.32 Estimación de la velocidad de conducción. Situación correspondiente a la zona modificada, a temperatura basal, en uno de los experimentos. Arriba: números de canal en la distribución espacial de la matriz diseñada, en su versión de 36 electrodos (izq.) y mapa de despolarización con los instantes de activación relativos (dcha.). A y B son los electrodos empleados para la estimación de VC. Distancia_{AB}=5.1 mm, Retardo=8 ms, VC=64 cm/s. Abajo: electrogramas registrados en la dirección del frente de onda

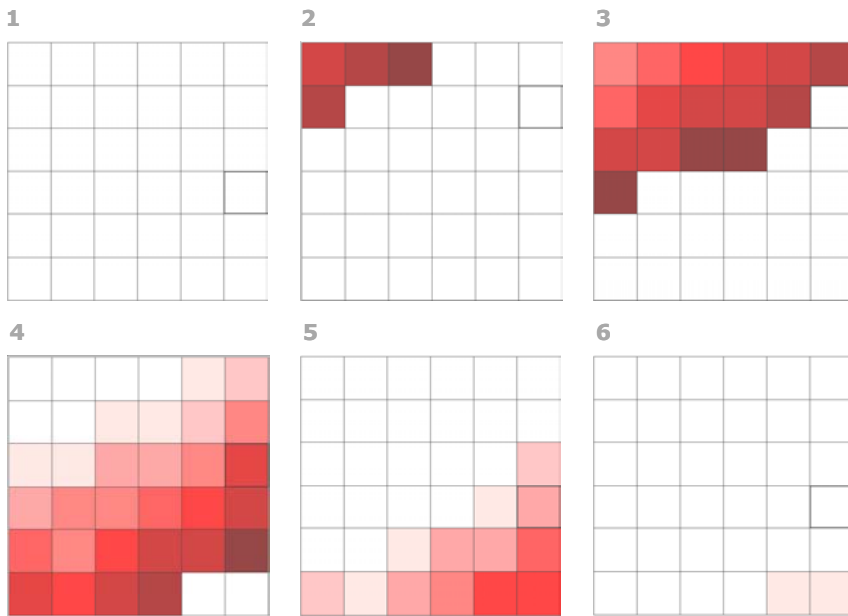


Figura 3.33 Secuencia de fotogramas correspondiente a una propagación en diagonal de la activación en la zona modificada (se corresponde con el caso mostrado en la *Figura 3.32*). Cada cuadro representa a un electrodo de la matriz. En cada uno de ellos, las tonalidades más oscuras representan activaciones más recientes y las más claras activaciones más antiguas

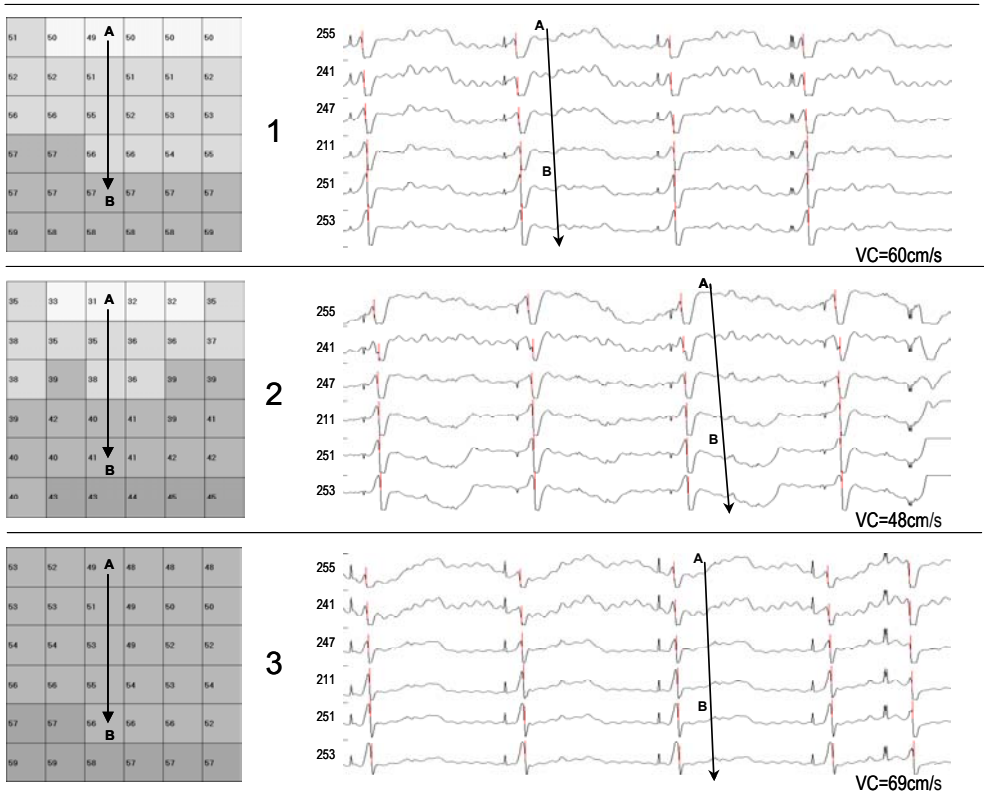


Figura 3.34 Estimación de la velocidad de conducción a diferentes temperaturas, en la zona modificada durante uno de los experimentos (1: temperatura basal, 2: hipotermia máxima, 3: hipertermia). Distancia_{AB}=4.8 mm. Matriz de tiempos relativos de activación (izq.) y electrogramas de los electrodos situados en la dirección del frente de onda (dcha.)

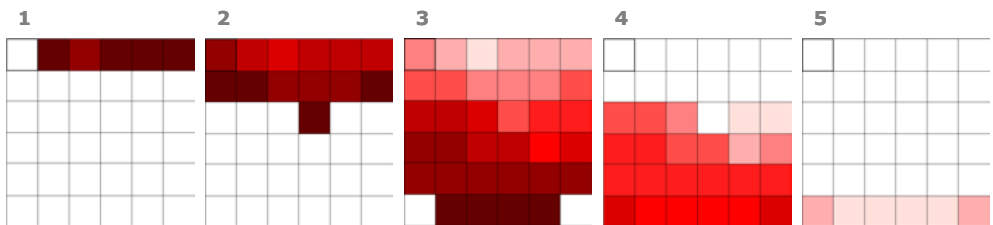


Figura 3.35 Secuencia de fotogramas correspondiente a una propagación longitudinal de la activación en la zona modificada (se corresponde con el caso 1 mostrado en la Figura 3.34). Cada cuadro representa a un electrodo de la matriz. En cada uno de ellos, las tonalidades más oscuras representan activaciones más recientes y las más claras activaciones más antiguas

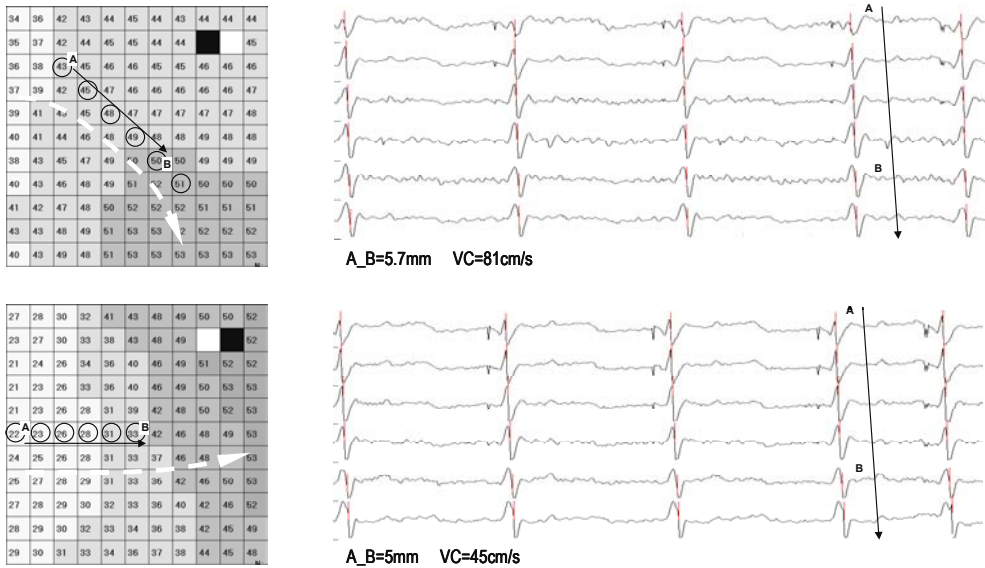


Figura 3.36 Estimación de la velocidad de conducción en la zona normotérmica en dos de los experimentos. Matriz de tiempos de activación y electrogramas de los electrodos en la dirección del frente de onda, marcados con un círculo. Arriba: el frente de onda realiza un cierto giro al atravesar la zona registrada. Abajo: la propagación es prácticamente longitudinal (A_B: distancia entre los electrodos utilizados para el cálculo)

3.7.2 Fibrilación Ventricular

La frecuencia de la FV fue analizada en ambas zonas, normotérmica y modificada, durante la condición basal (37 °C) y a cada una de las temperaturas alcanzadas en la zona modificada, tras las variaciones que se efectuaron con el dispositivo-electrodo diseñado. Los parámetros obtenidos, indicadores de esta frecuencia, fueron: el *intervalo de activación* (intervalo VV) y la *frecuencia dominante* del espectro de la señal fibrilatoria (FrD).

- **Intervalo VV y FrD**

- Intervalo VV: Tiempo transcurrido entre dos activaciones (despolarizaciones) locales consecutivas en el ventrículo (Figura 3.37). En el desarrollo de este documento, como es habitual en las fuentes consultadas, también se hace

referencia a dicho parámetro con el nombre de *intervalo de activación ventricular* o simplemente *intervalo de activación*.

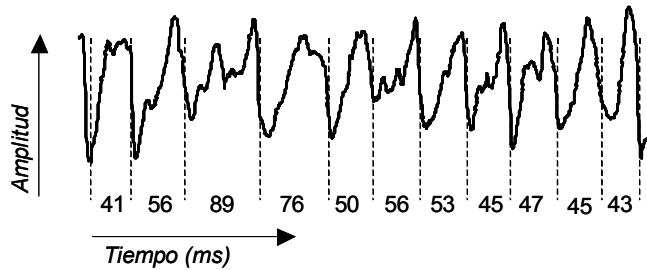


Figura 3.37 Intervalos de activación (en ms) en una fracción de un electrograma durante la FV

- FrD: Se trata de la frecuencia a la que la distribución espectral de potencia de la señal presenta el máximo de amplitud (*Dominant Frequency* o *Peak Frequency* [Ropella 2001]). Su concepto se ilustra en la Figura 3.38.

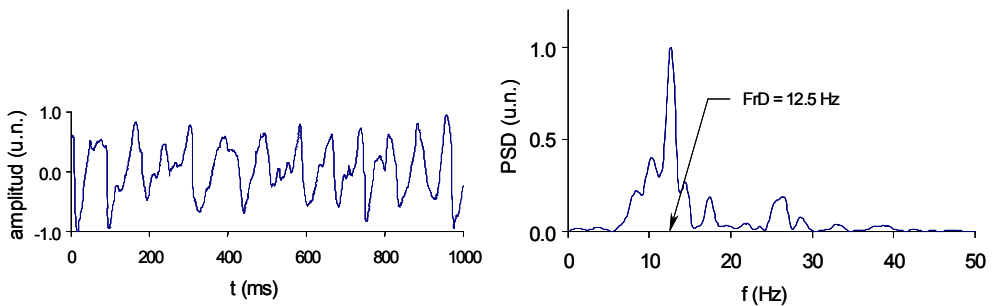


Figura 3.38 Serie temporal y espectro de potencia de una señal de fibrilación ventricular registrada durante la experimentación. PSD, Densidad Espectral de Potencia; FrD, frecuencia dominante; u.n., unidades normalizadas

- **Protocolo**

Se indujo la FV mediante estimulación a frecuencias crecientes a partir de 4Hz, manteniendo la perfusión coronaria durante la arritmia. La estimulación se efectuó incrementando lentamente la frecuencia hasta provocar la fibrilación o

perder la captura ventricular. En este último caso se repitió el proceso desde el inicio hasta desencadenar la arritmia. La fibrilación quedó identificada cuando el electrograma se caracterizaba por una rápida e irregular activación, con intervalos medios entre activaciones inferiores a 100 ms, presentando los mapas epicárdicos patrones de activación persistentemente variables durante esta etapa.

Dos minutos después del inicio de la FV se efectuó un registro basal de 4 segundos y se inició la maniobra de descenso escalonado de la temperatura epicárdica de la zona a modificar (escalones de 5 °C), incrementando lentamente la corriente que circula por la célula Peltier. Tras disminuir la temperatura hasta 32 °C y estabilizarse durante dos minutos en este valor, se efectuó un nuevo registro. El proceso se repitió para los escalones de 27 °C, 22 °C y 17 °C. Una vez finalizado el registro a la temperatura mínima, se inició la maniobra de ascenso escalonado de la temperatura, registrando de nuevo la señal a las temperaturas de 22 °C, 27 °C, 32 °C y 37 °C. Alcanzada de nuevo la temperatura basal en la zona modificada, se invirtió el sentido de circulación de la corriente a través del refrigerador termoeléctrico para aumentar la temperatura hasta 42 °C, registrar y volver a establecer la temperatura en su valor basal (37 °C). En los experimentos en los que técnicamente se presentaron dificultades para alcanzar la temperatura de 17 °C, se efectuó la subida desde el escalón de 22 °C.

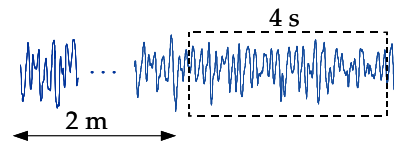
En cada escalón se registraron y almacenaron al menos 4 segundos de FV del ventrículo izquierdo, con ambos electrodos —el diseñado, situado en la zona modificada (zMOD), y el convencional, situado en la zona alejada (zNORM)—. Con estos datos se determinaron posteriormente frecuencias dominantes e intervalos de activación promedio. También quedaron registrados los valores de temperatura (T) de cada una de las dos zonas epicárdicas, más la endocavitaria del ventrículo izquierdo. La *Tabla 3.2* resume el protocolo utilizado para el estudio durante la FV.

Tabla 3.2 Protocolo de modificación de temperatura durante la FV

Condición térmica	Orden temporal	Escalón de temperatura	Zona de registro	Parámetros determinados
Normotermia	1	37 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
	2	32 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
Hipotermia	3	27 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
	4	22 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
Normotermia	5	17 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
	6	22 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
Hipertermia	7	27 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
	8	32 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
Normotermia	9	37 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
Hipertermia	10	42 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM
Normotermia	11	37 °C	zMOD	FrD, VV y T, en zMOD
			zNORM	FrD, VV y T, en zNORM

Nota:

- En cada caso, se registraron al menos 4 s de señal fibrilatoria, tras dos minutos de espera una vez estabilizada la temperatura
- Los parámetros se determinaron para cada electrodo de la matriz, y posteriormente se calcularon los valores promedio



• **Cálculo de los parámetros**

Al igual que ocurriera con los datos durante la estimulación constante, los registros correspondientes a cada episodio de fibrilación (escalones de temperatura) de ambas zonas, se archivaron en ficheros para su posterior procesamiento mediante diverso software (*Figura 3.39* y *Figura 3.40*). Para los cálculos se procesaron los 16 o 36 electrodos de la zona modificada y un número igual de la zona normotérmica, estos últimos seleccionados de la región central del electrodo convencional. Considerando conjuntamente todos

los experimentos, se analizaron un total de 356 episodios de FV, procesándose aproximadamente 17.500 registros de electrodos individuales válidos.

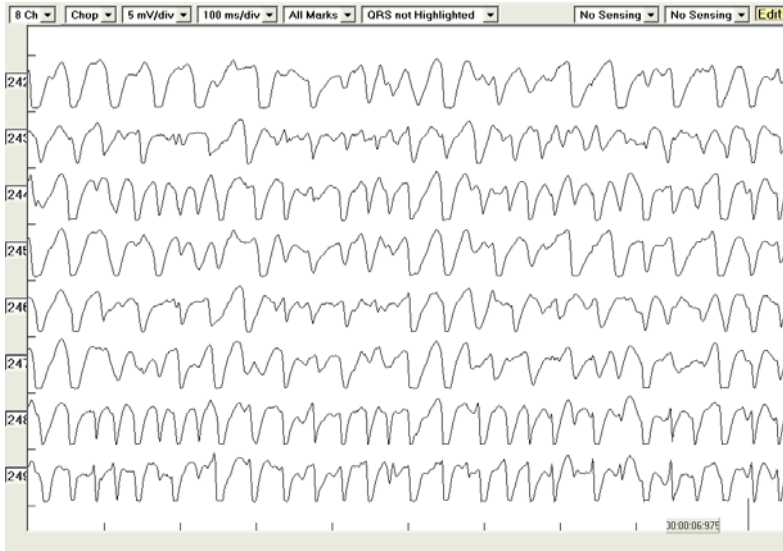


Figura 3.39 Programa PaceMap®. Pantalla de edición de electrogramas durante la fibrilación ventricular (electrogramas registrados con el electrodo diseñado, en zona modificada)

FrD: Tanto para la zona normotérmica como para la zona modificada, y en cada escalón de temperatura alcanzado durante las modificaciones efectuadas en el protocolo de la fibrilación, se obtuvieron las frecuencias dominantes de las señales de cada uno de los electrodos de las matrices correspondientes y se calculó posteriormente su valor promedio. También se calculó el promedio de las concentraciones espectrales entorno a la FrD, en un margen de ± 1 Hz, para cada señal procesada, como porcentaje frente a la potencia total. También se calcularon los valores de FrD mínima y máxima en cada zona, para cada una de las temperaturas. La estimación espectral se realizó mediante el método de

Welch¹⁵ [Welch PD, 1967] sobre registros de cuatro segundos, segmentados en bloques de 1024 puntos con un 50% de solapamiento y enventanado de Hamming (frecuencia de muestreo 1kHz). El procesamiento se realizó en MatLab® extrayendo la información de los archivos binarios suministrados por el software de adquisición de las señales.

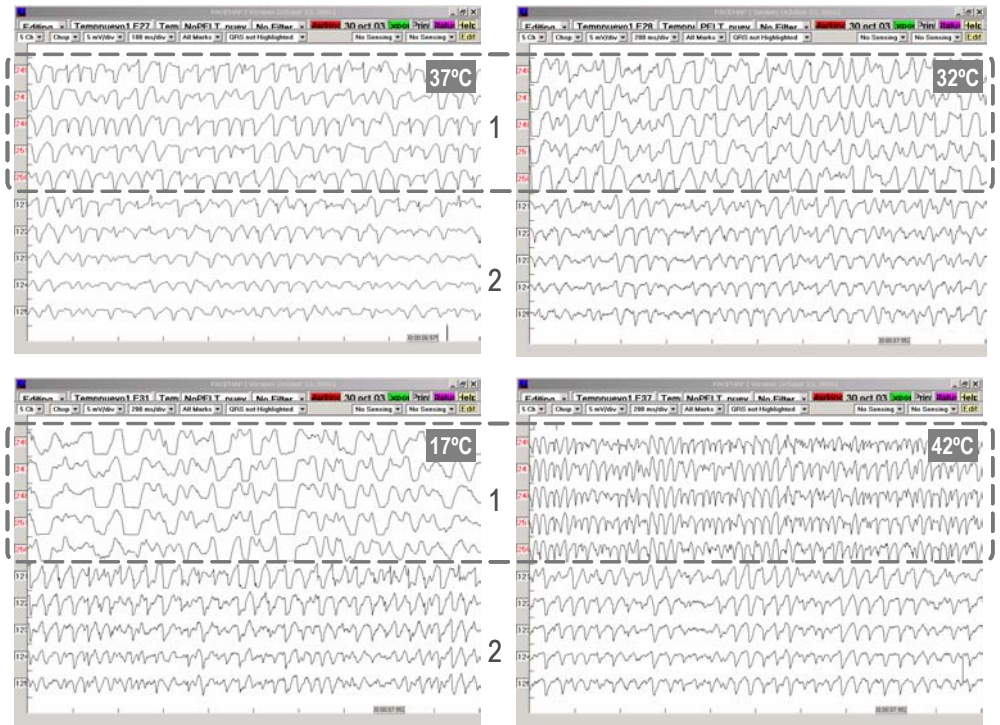


Figura 3.40 Muestra de los registros efectuados con diez de los electrodos utilizados, cinco de la zona modificada (1) y cinco de la zona normotérmica (2), a diferentes temperaturas, en uno de los experimentos. Se observa a simple vista una variación en la frecuencia de activación con la temperatura en la zona modificada

¹⁵ Método de estimación espectral en el que se promedia el periodograma modificado (basado en el algoritmo de la FFT) de los segmentos superpuestos en los queda dividida la serie temporal. Frente al periodograma convencional se reduce la varianza de la estimación, aunque también la resolución espectral

La *Figura 3.41* muestra un ejemplo de obtención de las frecuencias dominantes para dos electrodos, uno de cada zona, a tres temperaturas diferentes. La *Figura 3.42* muestra en las mismas condiciones los mapas de frecuencias dominantes de las áreas cubiertas por los electrodos, donde se identifican los valores máximos, mínimos y medios que se han obtenido en cada zona y a diferentes temperaturas.

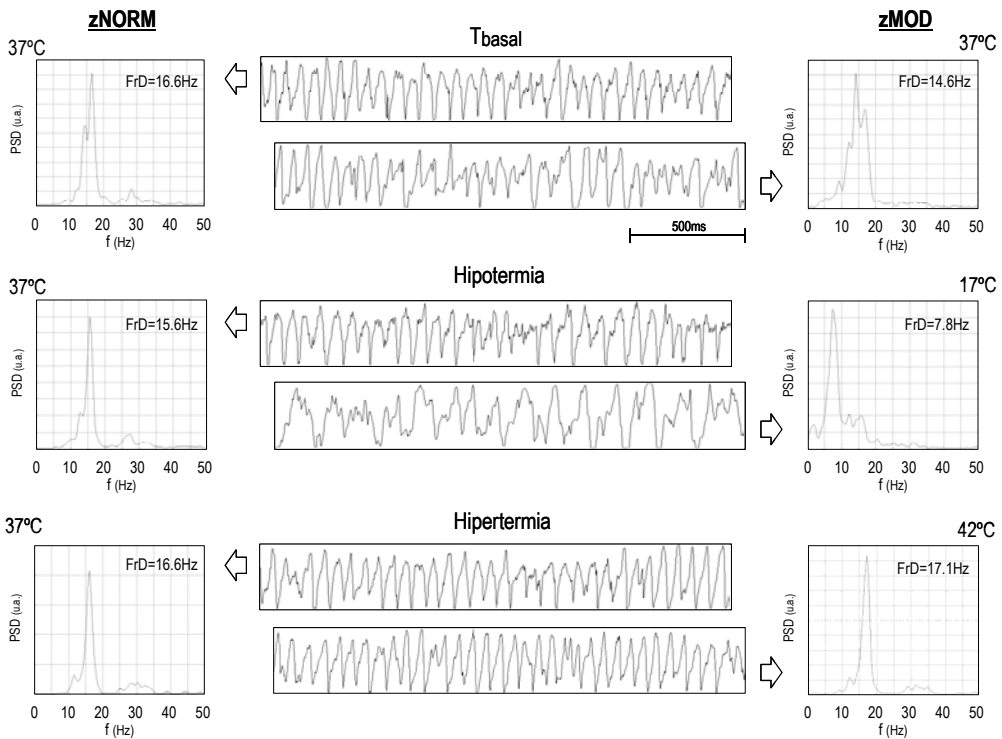


Figura 3.41 Electrogramas ventriculares obtenidos en uno de los experimentos con uno de los electrodos de cada zona (modificada -zMOD- y normotérmica -zNORM-) y sus correspondientes espectros de frecuencia a la temperatura basal, durante la hipotermia máxima y durante la hipotermia de la zona modificada. Se indican las frecuencias dominantes (FrD) obtenidas en cada caso

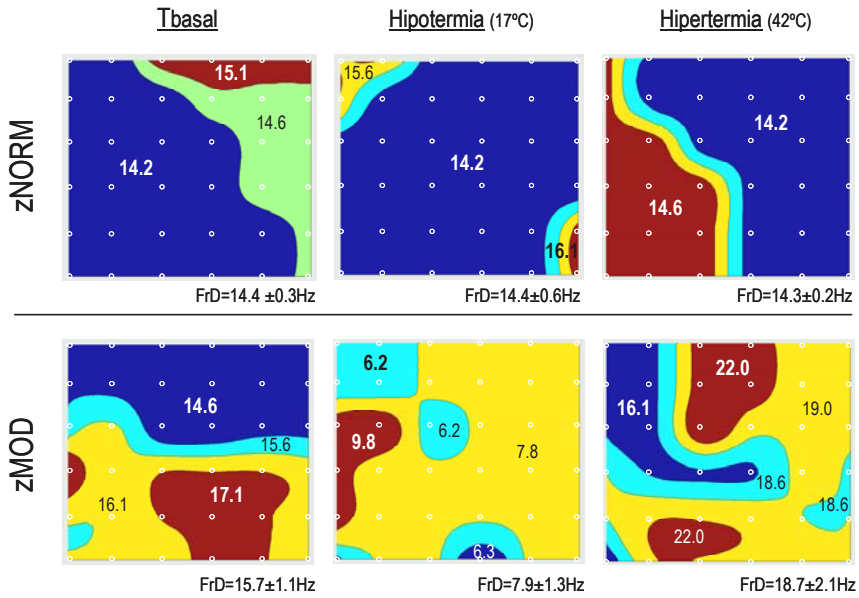


Figura 3.42 Mapas de isofrecuencias en los que se muestran (en letra mayor) los valores de FrD máxima y mínima registrados en cada zona a tres temperaturas diferentes en uno de los experimentos. Debajo de cada mapa: valores promedio y desviación estándar

Intervalo VV: Se obtuvo para todos los casos en los que se calculó la FrD —por tanto, en ambas zonas y a cada escalón de temperatura—. En los 2 primeros segundos de los segmentos de FV analizados en el dominio frecuencial se determinaron los intervalos entre activaciones ventriculares consecutivas. Los tiempos de activación se calcularon de forma semiautomática identificando los instantes de máxima pendiente negativa del electrograma. En los electrogramas con potenciales múltiples se asignó el instante de activación a la deflexión con máxima pendiente negativa, situando manualmente la ventana de marcado sobre el complejo de activación (Figura 3.43). Tras la construcción del histograma de intervalos de cada electrodo para la verificación y corrección de las marcas manuales, se representó el histograma global del conjunto, de donde se obtuvo el intervalo VV promedio (Figura 3.44).



Figura 3.43 Marcado semiautomático de los instantes de activación en el programa PaceMap®. Se muestran 8 de los electrogramas de la zona modificada (1 segundo en pantalla). Detalle: La marca se sitúa en la máxima pendiente dentro de la ventana w1-w2. Se indican los intervalos VV

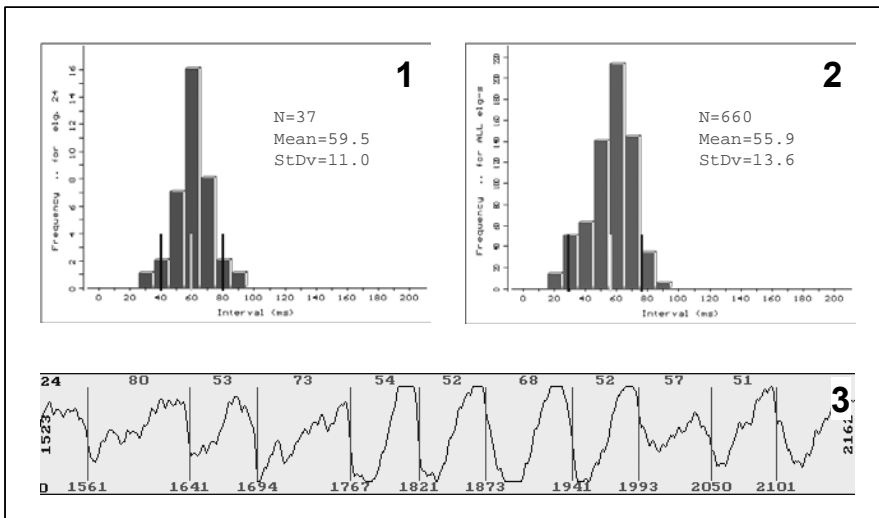


Figura 3.44 Obtención de los intervalos VV promedio con el programa Cardio Mapping®. 1- Histograma de intervalos para el electrodo seleccionado. 2- Histograma de intervalos para el total de electrodos de la matriz (número de determinaciones, media y desviación estándar). 3- Pantalla de edición con las marcas de las activaciones (tiempos absolutos e intervalos en ms)

Capítulo 4

Resultados

El sistema desarrollado mediante tecnología thick-film y un refrigerador termoeléctrico para la modificación local de la temperatura miocárdica y el registro simultáneo de la actividad eléctrica, ha tenido un funcionamiento satisfactorio en la implementación del protocolo empleado en esta investigación experimental. Tras una serie de experimentos preliminares con corazones aislados de conejo, el dispositivo diseñado ha sido utilizado en la cuantificación de los parámetros investigados en 18 preparaciones válidas. Siguiendo el protocolo establecido, la temperatura fue modificada desde 42 °C hasta 17 °C ó 22 °C, según experimento (durante la FV, la variación se efectuó en escalones de 5° C). La capacidad para reducir la temperatura miocárdica hasta su mínimo valor ha mostrado cierta dependencia de la presión ejercida por el electrodo sobre la pared ventricular, el tamaño del corazón o la forma en la que el líquido de perfusión alcanza la superficie del electrodo. En cualquier caso, en el rango mencionado, la variación de un escalón al siguiente se

consigue efectuar en uno o dos minutos, estabilizándose la temperatura en un rango máximo de ± 0.2 °C en cada experimento.

En el capítulo anterior ("Material y métodos") se han descrito los parámetros analizados en esta investigación, la manera de determinarlos y el protocolo experimental empleado. Ahora, en este capítulo, se presentan los resultados obtenidos tras la determinación de los parámetros y aplicación de los cálculos estadísticos, organizándose en tres apartados principales. En el primer apartado se presentan conjuntamente las variaciones con la temperatura de los dos parámetros representativos de la frecuencia de activación de la FV: el intervalo de activación y la frecuencia dominante de la distribución espectral de potencia de la señal fibrilatoria. Tras evaluar globalmente los efectos locales de la hipotermia y de la hipertermia, se exponen de manera más detallada, y por separado, los resultados obtenidos cuando se modifica escalonadamente la temperatura para cada una de las dos zonas donde se efectuaron los registros (modificada y normotérmica). Se muestran las temperaturas registradas en ambas zonas y en el endocardio. Para la zona modificada, se analiza la relación entre los parámetros mencionados y la temperatura, y se ofrecen algunos ejemplos de señales y espectros obtenidos. En este apartado se expone también la variación con la temperatura de las frecuencias dominantes máximas y mínimas de cada zona, así como la concentración espectral de la señal de fibrilación. En el segundo apartado se incluyen los resultados correspondientes a los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación con tren base —esto es, períodos refractarios efectivo y funcional, velocidad de conducción y longitud de onda—. Al igual que en el primer apartado, se evalúan las diferencias globales (esta vez únicamente durante la hipotermia máxima y la hipertermia) y se desarrollan los resultados por zona. Finalmente, en el último apartado se analiza la relación entre la frecuencia dominante y el intervalo de activación, así como la existente entre la frecuencia dominante y los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación con tren base.

Índice del capítulo

4.1	VARIACIONES DE LA FRECUENCIA DE ACTIVACIÓN DE LA FV CON LA TEMPERATURA.....	119
4.1.1	Intervalo de activación y frecuencia dominante. Valores medios	119
4.1.1.1	Zona modificada.....	122
4.1.1.2	Zona normotérmica.....	129
4.1.2	Dispersión de las frecuencias dominantes y concentración espectral de la señal de fibrilación	136
4.1.2.1	Zona modificada.....	136
4.1.2.2	Zona normotérmica.....	138
4.2	VARIACIONES DE LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS DURANTE LA ESTIMULACIÓN CON TREN BASE CON LA TEMPERATURA	139
4.2.1	Período refractario.....	139
4.2.1.1	Zona modificada.....	140
4.2.1.2	Zona normotérmica.....	141
4.2.2	Velocidad de conducción	142
4.2.2.1	Zona modificada.....	144
4.2.2.2	Zona normotérmica.....	144
4.2.3	Longitud de onda	145
4.2.3.1	Zona modificada.....	146
4.2.3.2	Zona normotérmica.....	146
4.3	RELACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA DOMINANTE DE LA FV Y LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS	147

4.1 Variaciones de la frecuencia de activación de la FV con la temperatura

En todos los casos incluidos en la parte del estudio que corresponde a este apartado, se han inducido episodios de FV sostenida a lo largo del período de tiempo establecido en el protocolo experimental durante la modificación escalonada de la temperatura epicárdica local (T). En dos de los experimentos la FV se detuvo espontáneamente mientras se reducía la temperatura desde el escalón de 22 °C al de 17 °C, y en ellos se volvió a inducir la arritmia mediante estimulación a frecuencias crecientes, repitiendo el protocolo desde la temperatura basal. En estos dos casos se analizaron los registros correspondientes al segundo episodio de FV.

4.1.1 Intervalo de activación y frecuencia dominante. Valores medios

Globalmente, los cambios locales de temperatura han dado lugar a variaciones significativas del intervalo de activación de la FV y la frecuencia dominante del espectro de la señal fibrilatoria en la zona modificada. Por otra parte, en la zona que no fue sujeta a modificación, estos parámetros han sufrido ligeras variaciones que no han alcanzado significación estadística. Los dos factores analizados en este apartado (intervalo VV y FrD) se encuentran altamente correlacionados, como se muestra en el apartado 4.3. Concretamente, en la zona donde se modificó la temperatura, la hipotermia ha provocado una sensible prolongación del intervalo VV y una disminución en los valores de la FrD de manera proporcional al valor de T, mientras que la hipertermia ha tenido el efecto contrario (*Figura 4.1* y *Figura 4.2*). Esta relación se ajusta perfectamente a un modelo lineal. Tanto FrD como VV presentan diferencias significativas interzonas durante la hipotermia (moderada o máxima) y durante la hipertermia, no existiendo éstas basalmente; es decir, antes o después de las modificaciones térmicas (*Figura 4.3*).

A continuación se exponen por separado los resultados obtenidos para cada una de las dos zonas donde se efectuaron los registros.

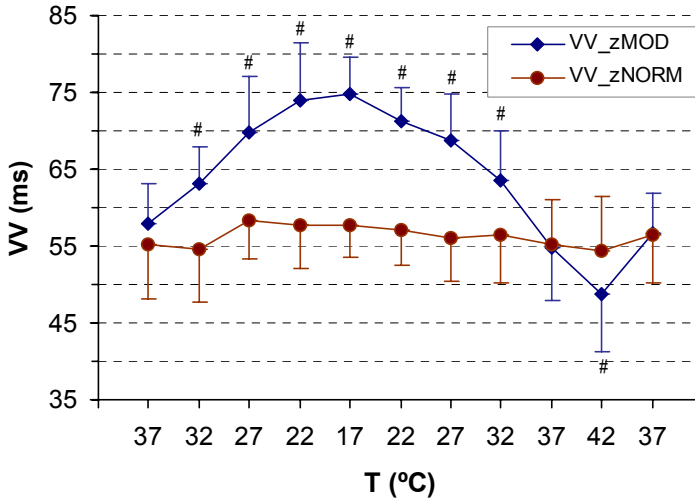


Figura 4.1 Intervalos de activación promedio de la FV (VV) —valores medios y desviación estándar— obtenidos en la zona modificada (zMOD) y en la zona normotérmica (zNORM) durante el protocolo de modificación de temperatura, para cada uno de los escalones de temperatura; diferencias significativas entre zonas, * $p < 0.001$

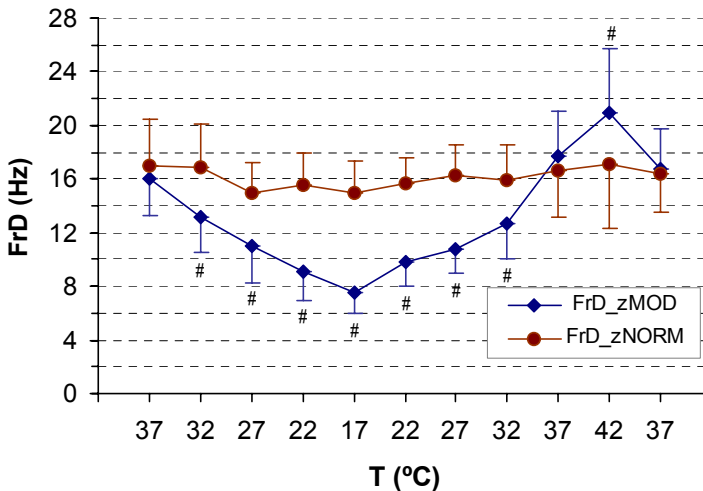
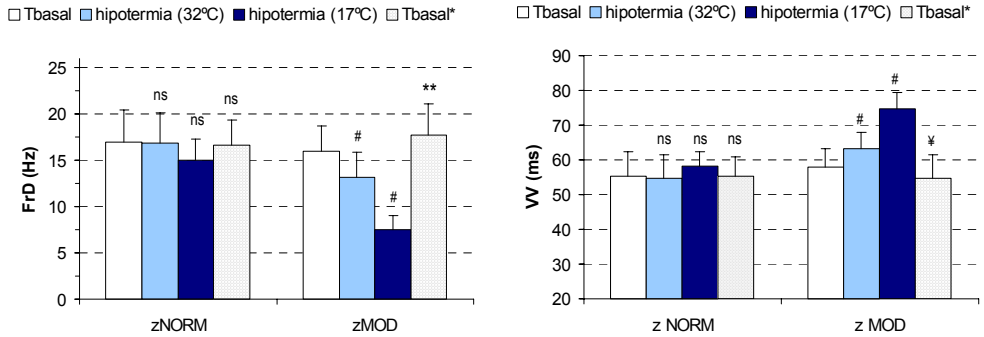


Figura 4.2 Frecuencias dominantes de la FV (FrD) —valores medios y desviación estándar— obtenidas en la zona modificada (zMOD) y en la zona normotérmica (zNORM) durante el protocolo de modificación de temperatura, para cada uno de los escalones de temperatura; diferencias significativas entre zonas, * $p < 0.001$

hipotermia



hipertermia

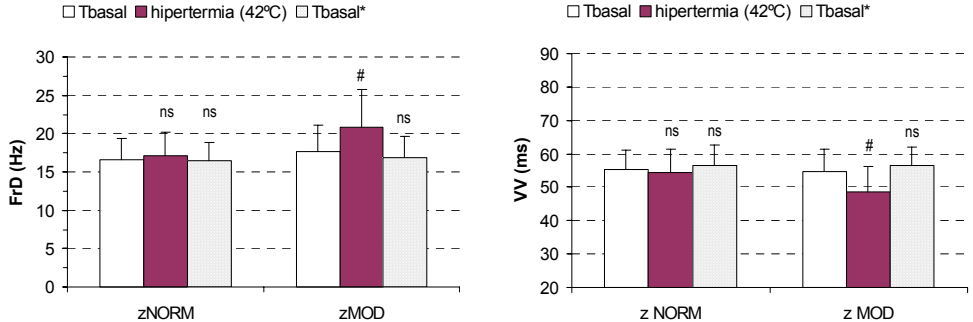


Figura 4.3 **Arriba:** Valores medios de la frecuencia dominante (izq.) y del intervalo de activación (dcha.) de la FV, registrados tanto en la zona modificada (zMOD) como en la zona normotérmica (zNORM) a la temperatura basal, durante el primer escalón de la hipotermia, durante el último escalón de la hipotermia y tras regresar a la temperatura de perfusión (Tbasal*). **Abajo:** Valores medios de la frecuencia dominante y del intervalo de activación de la FV, registrados tanto en la zona modificada como en la zona normotérmica durante el escalón de temperatura de 37 °C anterior a la hipertermia, durante la hipertermia (42 °C) y al retornar a la temperatura basal. Significación de las diferencias respecto del valor basal de su misma zona, # p<0.001 ** p<0.02 ¥ p<0.03; ns, diferencias no significativas

4.1.1.1 Zona modificada

En esta zona, las modificaciones de la temperatura epicárdica en el área de contacto con el electrodo diseñado han provocado cambios significativos en la FrD y el intervalo VV de la señal de fibrilación ($p < 0.001$).

Basalmente ($T = 37.2 \pm 0.5$ °C) el valor promedio de la FrD en la zona alterada es de 16.0 ± 2.7 Hz y el del intervalo de activación 57.9 ± 5.2 ms. Durante la **hipotermia**, la FrD disminuye significativamente para cada escalón de 5 °C y se mantiene por debajo de los valores basales (*Figura 4.2*). En la fase de hipotermia máxima ($T = 17.2 \pm 1.5$ °C, $FrD = 7.5 \pm 1.5$ Hz, $p < 0.001$) el promedio de las desviaciones porcentuales respecto de los valores basales es de -51.8 ± 13.5 % ($p < 0.001$) (*Tabla 4.1, Figura 4.9*). El intervalo VV se comporta de manera inversa (*Figura 4.1*), aumentando significativamente a cada disminución de 5 °C, con un aumento del 30.1 ± 11.4 % a la temperatura mínima ($VV = 74.8 \pm 4.7$ ms, $p < 0.001$) (*Figura 4.11*).

Tabla 4.1 Frecuencias dominantes e intervalos VV obtenidos a cada escalón de temperatura en la *zona modificada*. Valores absolutos, y relativos al valor basal

	Escalón	T (°C)	FrD (Hz)	VV (ms)	ΔFrD (%)	ΔVV (%)
inicial	37	37.2 ± 0.5	16.0 ± 2.7	57.9 ± 5.2	-	-
bajada	32	31.9 ± 0.3	$13.2 \pm 2.7^*$	$63.2 \pm 4.8^*$	-17.5 ± 16.0	10.5 ± 10.0
	27	26.9 ± 0.6	$11.0 \pm 2.8^*$	$69.7 \pm 7.4^*$	-30.1 ± 17.9	21.5 ± 18.6
	22	22.4 ± 1.0	$9.1 \pm 2.1^*$	$73.9 \pm 7.5^*$	-43.9 ± 12.2	29.6 ± 17.0
	17	17.2 ± 1.5	$7.5 \pm 1.5^*$	$74.8 \pm 4.7^*$	-51.8 ± 13.5	30.1 ± 11.4
subida	22	21.9 ± 0.3	$9.8 \pm 1.8^*$	$71.2 \pm 4.4^*$	-38.5 ± 13.6	23.6 ± 9.2
	27	27.0 ± 0.4	$10.8 \pm 1.8^*$	$68.7 \pm 6.0^*$	-32.8 ± 14.6	20.4 ± 13.3
	32	32.0 ± 0.3	$12.7 \pm 2.7^*$	$63.6 \pm 6.3^*$	-19.7 ± 15.7	10.2 ± 10.4
	37	37.1 ± 0.2	$17.7 \pm 3.4^{\S}$	$54.7 \pm 6.7^*$	11.8 ± 16.4	-5.3 ± 9.7
	42 [#]	42.0 ± 0.1	$20.9 \pm 4.8^*$	$48.7 \pm 7.5^*$	17.8 ± 17.4	-10.6 ± 11.8
final	37 [#]	37.1 ± 0.3	16.8 ± 2.9	56.6 ± 5.3	-5.1 ± 11.5	4.6 ± 10.9

Los valores se presentan como media \pm desviación estándar

Diferencias significativas frente al valor basal * $p < 0.001$, \S $p < 0.02$, $\#$ $p < 0.03$

[#] porcentajes y significaciones respecto del escalón 37 subida

La *Tabla 4.1* muestra los resultados obtenidos a cada una de las temperaturas: temperatura basal (37 °C inicial), disminución escalonada hasta 17 °C en escalones de cinco grados Celsius (bajada), elevación escalonada hasta 42 °C (subida) y retorno a la temperatura basal (37 °C final). Se indican los valores de FrD e intervalos VV, tanto absolutos como relativos a la situación basal. Los datos porcentuales correspondientes a los dos últimos escalones se han referenciado al valor observado en el escalón de 37 °C inmediatamente anterior a la hipertermia (37 °C final), por ser ésta la referencia basal más próxima.

Los contrastes polinómicos aplicados mediante el procedimiento ANOVA de medidas repetidas al factor temperatura indican que, durante la bajada de temperatura desde el valor basal hasta su valor mínimo, la relación FrD-T se ajusta a un modelo lineal ($p < 0.001$), también durante la subida es significativo un ajuste lineal de esta relación ($p < 0.001$). Al efectuar posteriormente el análisis de regresión lineal entre FrD o intervalo VV y T, se obtienen las rectas de ajuste mostradas en la *Figura 4.4* para la bajada ($\text{FrD} = 0.43T - 0.26$, $r = 0.99$, $p < 0.001$; $\text{VV} = -0.90T + 92.35$, $r = 0.97$, $p < 0.005$) y la subida de temperatura ($\text{FrD} = 0.53T - 2.42$, $r = 0.97$, $p < 0.001$; $\text{VV} = -1.1T + 94.98$, $r = 0.98$, $p < 0.001$).

Durante la **hipertermia**, tras 2 minutos de estabilización de la temperatura en la zona modificada ($T = 42.0 \pm 0.1$ °C), se aprecia una elevación significativa del valor de la frecuencia dominante ($\text{FrD} = 20.9 \pm 4.8$ Hz, $p < 0.001$) y una disminución del intervalo VV ($\text{VV} = 48.7 \pm 7.5$ ms, $p < 0.001$) respecto del valor basal que corresponde al escalón inmediatamente anterior. El incremento relativo medio respecto de este valor basal ha sido de 17.8 ± 17.4 % para la FrD ($p < 0.001$) y de -10.6 ± 11.8 % para el intervalo de activación (*Tabla 4.1*, *Figura 4.9* y *Figura 4.11*).

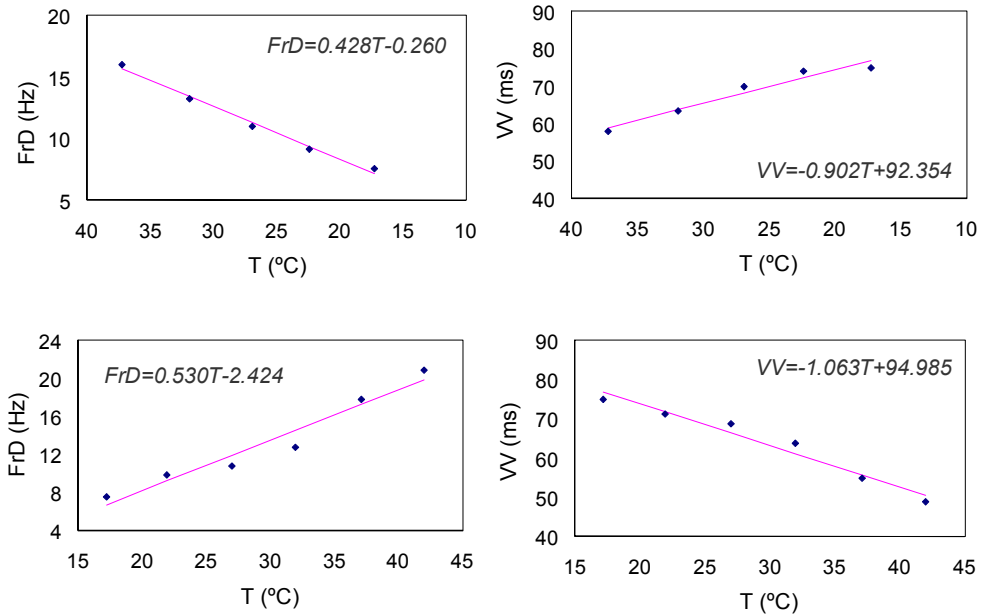


Figura 4.4 Rectas de regresión obtenidas al relacionar los valores medios de la frecuencia dominante (izq.) y del intervalo de activación de la FV (dcha.) con la temperaturas registradas en la zona modificada, tanto para la bajada (arriba) como la subida (abajo) de temperatura, durante el protocolo de variación de ésta

Como ejemplo del enlentecimiento local sufrido con la condición de hipotermia y la aceleración originada con la hipertermia de esa región, la Figura 4.5 muestra la evolución de la señal de FV (amplitud en función del tiempo) con la temperatura, en uno de los electrodos epicárdicos situados en la zona cuya temperatura se está modificando. En la Figura 4.6, puede también apreciarse el cambio experimentado en el dominio frecuencial de la señal de FV con la hipotermia, en un electrodo individual de la zona modificada. En la Figura 4.7, los datos corresponden a la hipertermia de esta zona.

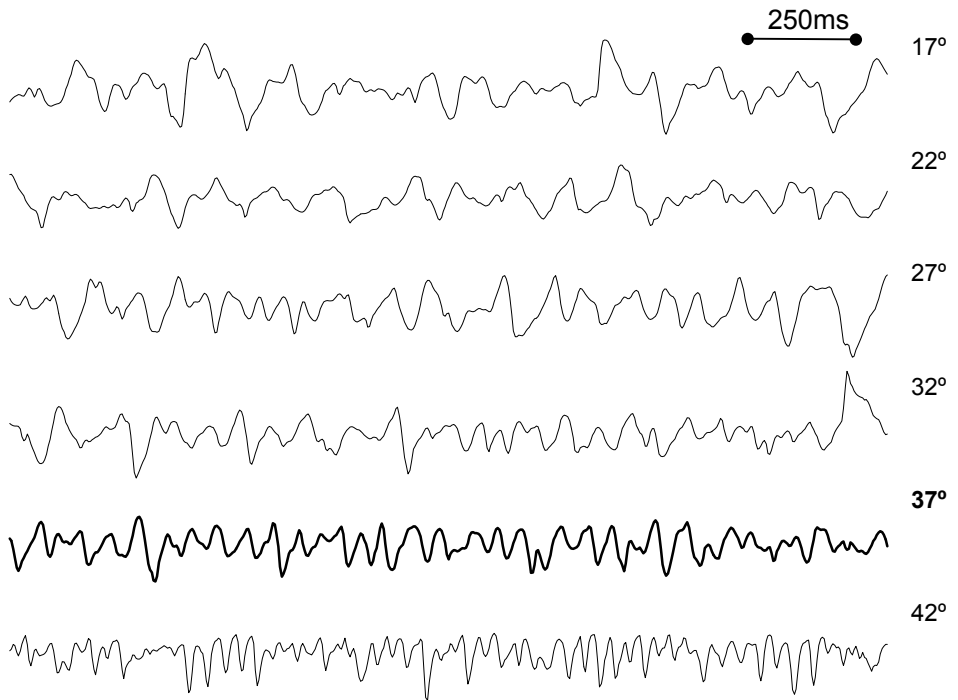


Figura 4.5 Registros de las señales de FV obtenidos a la temperatura basal (en trazo grueso) y a las temperaturas indicadas, en uno de los electrodos situados en la *zona modificada*, durante uno de los experimentos. Los registros corresponden a los 2 primeros segundos tras ser alcanzadas las temperaturas y estabilizadas durante 2 minutos

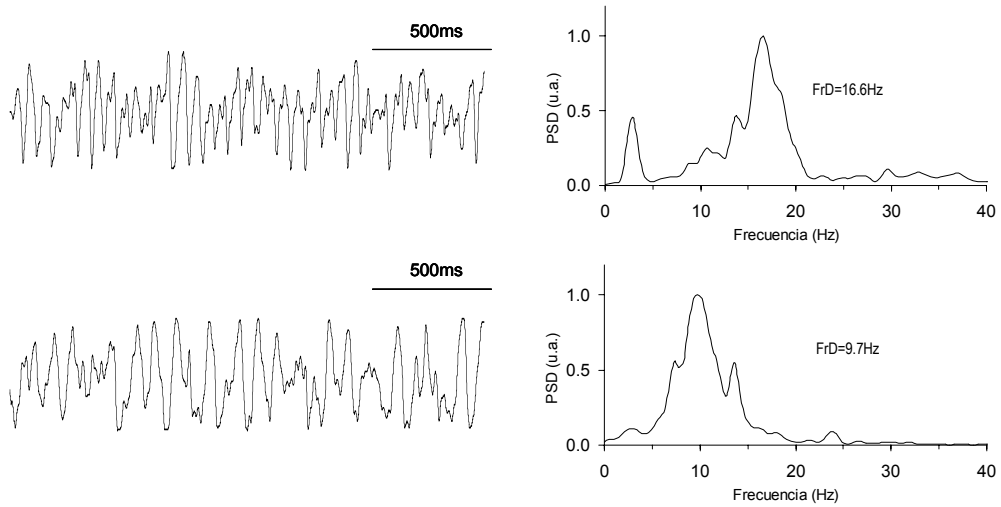


Figura 4.6 Electrograma y densidad espectral de potencia (unidades arbitrarias) correspondiente a uno de los electrodos de la zona modificada en uno de los experimentos. Datos obtenidos a la temperatura basal (arriba) y durante la hipotermia a la temperatura mínima (abajo). El registro mostrado corresponde a 2 segundos, mientras que el análisis espectral se realizó sobre 4 segundos de señal fibrilatoria

Los valores obtenidos (FrD y VV) para el paso por la misma temperatura en diferente sentido (subida o bajada) a las temperaturas de 22 °C, 27 °C, 32 °C y 37 °C, no difieren significativamente (Tabla 4.1, Figuras 4.8 a 4.11). Experimento a experimento los datos no evidencian la existencia de histéresis en la curva bajada-subida.

Una vez suprimidos los cambios de temperatura, FrD y VV toman valores similares a los basales, aunque con ligeras diferencias que sólo en el caso de la hipotermia llegan a tener significación estadística. Tras la hipotermia, FrD=17.7±3.4 Hz ($p<0.013$) y VV=54.7±6.7 ms ($p<0.026$). Tras la hipertermia, FrD=16.8±2.9 Hz ($p<0.084$) y VV 56.6±5.3 ms ($p<0.155$).

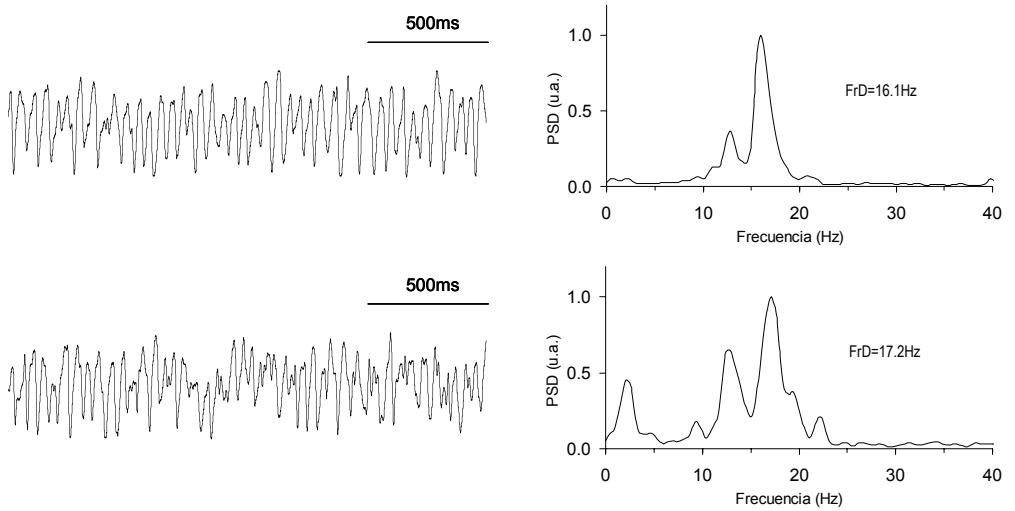


Figura 4.7 Electrograma y densidad espectral de potencia (unidades arbitrarias) correspondiente a uno de los electrodos de la zona modificada en uno de los experimentos. Datos obtenidos a la temperatura basal (arriba) y durante la hipertermia a 42 °C (abajo). El registro mostrado corresponde a 2 segundos, mientras que el análisis espectral se realizó sobre 4 segundos de señal fibrilatoria

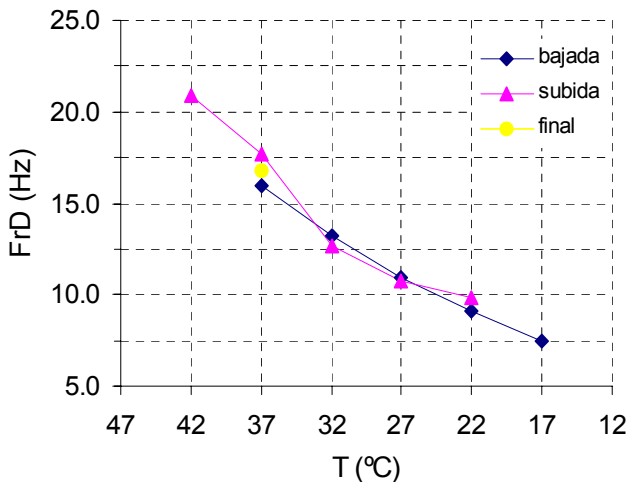


Figura 4.8. Valores medios de la FrD de la señal de FV en la zona modificada durante la bajada y subida de temperatura, así como su valor final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

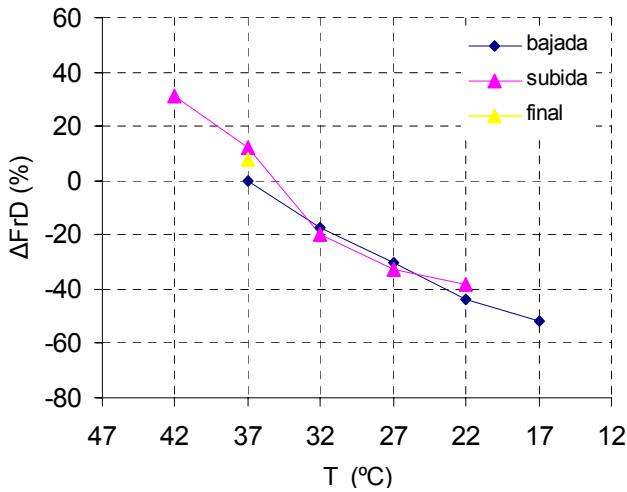


Figura 4.9 Variaciones relativas en la FrD media de la señal de FV (respecto del valor basal inicial) en la zona modificada, durante la bajada y subida de temperatura, así como valor su final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

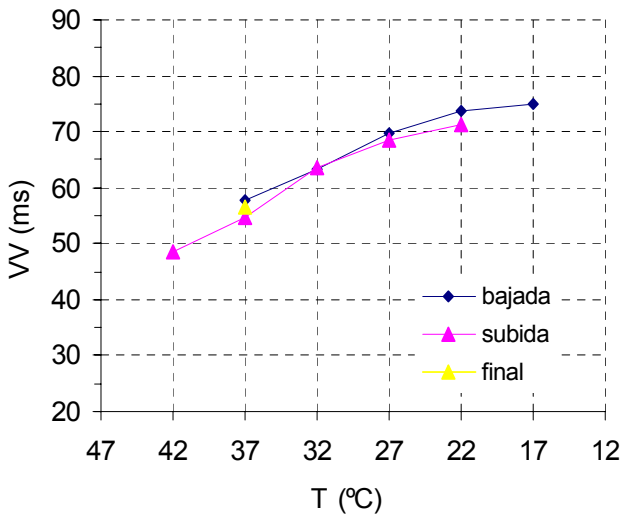


Figura 4.10 Valores medios del intervalo de activación de la FV en la zona modificada durante la bajada y subida de temperatura, así como su valor final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

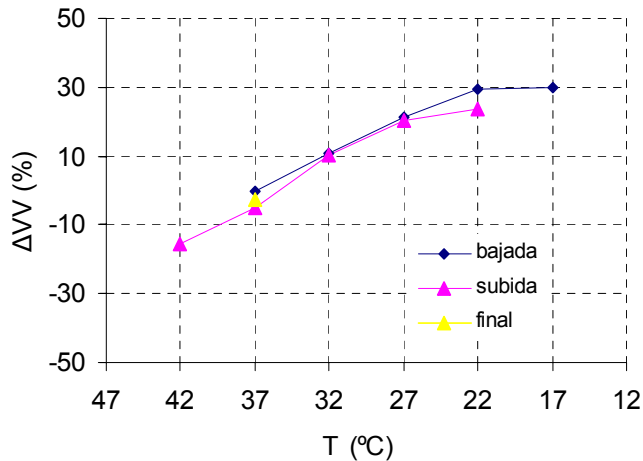


Figura 4.11 Variaciones relativas en el intervalo de activación de la FV (respecto del valor basal inicial) en la *zona modificada*, durante la bajada y subida de temperatura, así como su valor final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

4.1.1.2 Zona normotérmica

Las temperaturas epicárdicas de la zona normotérmica (región epicárdica latero-anterior del ventrículo izquierdo), y la endocavitaria del mismo ventrículo, se mantienen entorno a los valores basales cuando se efectúan las modificaciones térmicas de la otra zona (zona modificada, en pared latero-posterior del mismo ventrículo). Puede apreciarse, sin embargo, una débil variación de sus valores promedio, algo más acusada en el caso de la temperatura endocavitaria (Figura 4.12 y Figura 4.13). Estas variaciones se encuentran correlacionadas con las de la temperatura controlada de la zona modificada ($r=0.94$ y $r=0.96$ respectivamente, $p<0.001$). La máxima diferencial de T respecto del valor basal se produce en el escalón de temperatura mínima (17 °C), donde se ha experimentado un descenso de 0.7 °C en los valores

promedio de la temperatura de la zona normotérmica y de 1.1 °C en los de la temperatura endocavitaria (Tabla 4.2). En ningún caso estos cambios adquieren globalmente significación estadística.

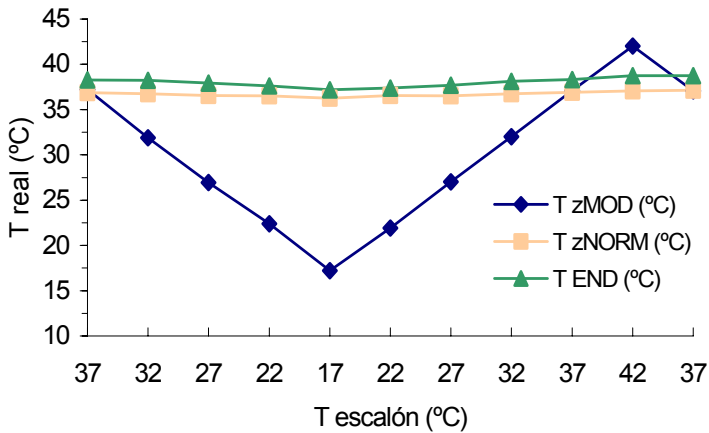


Figura 4.12 Temperaturas registradas (valores medios) en la zona modificada (T zMOD), en la zona normotérmica (T zNORM) y la endocavitaria del ventrículo izquierdo (T END), para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos.

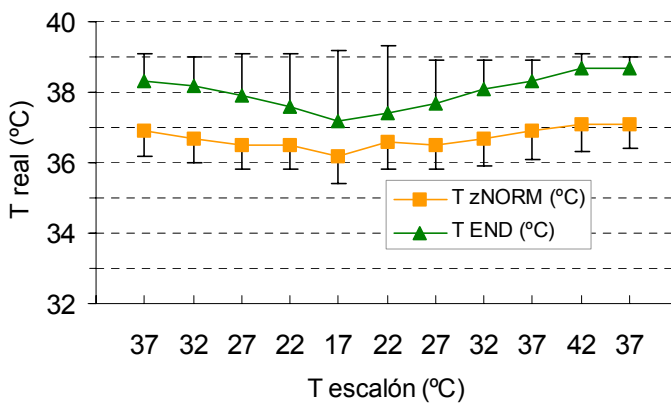


Figura 4.13 Temperaturas registradas (valores medios y desviación estándar) en la zona normotérmica (T zNORM) y la endocavitaria del ventrículo izquierdo (T END), en escala ampliada.

Tabla 4.2 Valores promedio de temperaturas en la zona normotérmica (Tnorm), zona modificada (Tmod) e interior del ventrículo izquierdo (Tend)

	Escalón	Tend (°C)	Tmod (°C)	Tnorm (°C)
inicial	37	38.3±0.8	37.2±0.5	36.9±0.7
bajada	32	38.2±0.8	31.9±0.3	36.7±0.7
	27	37.9±1.2	26.9±0.6	36.5±0.7
	22	37.6±1.5	22.4±1.0	36.5±0.7
	17	37.2±2.0	17.2±1.5	36.2±0.8
subida	22	37.4±1.9	21.9±0.3	36.6±0.8
	27	37.7±1.2	27.0±0.4	36.5±0.7
	32	38.1±0.8	32.0±0.3	36.7±0.8
	37	38.3±0.6	37.1±0.2	36.9±0.8
	42	38.7±0.4	42.0±0.1	37.1±0.8
final	37	38.7±0.3	37.1±0.3	37.1±0.7

En la zona normotérmica, la FrD y el intervalo VV de la señal de fibrilación sólo han experimentado ligeros cambios durante la modificación de la temperatura epicárdica de la otra zona, cambios que globalmente no han resultado significativos (*Figuras 4.1 a 4.2 y 4.16 a 4.19*). Únicamente el escalón de 27 °C ofrece diferencias con cierta significación estadística, tanto para el intervalo VV ($p < 0.03$) como la FrD ($p < 0.01$). Para este escalón se produce la máxima variación relativa promedio, que fue de $-10.0 \pm 13.7\%$ en la FrD y de $6.8 \pm 12.0\%$ en el intervalo VV.

Al igual que antes para la zona modificada, la *Tabla 4.3* ofrece ahora los resultados obtenidos en la zona normotérmica para cada una de los escalones de temperatura conseguidos en la zona modificada: temperatura basal (37 °C inicial), disminución escalonada hasta 17 °C en escalones de cinco grados Celsius (bajada), elevación escalonada hasta 42 °C (subida) y retorno a la temperatura basal (37 °C final). Se indican los valores de FrD e intervalo VV, tanto absolutos como relativos a la situación basal. Los datos porcentuales

correspondientes a los dos últimos escalones se han referenciado al valor observado en el escalón de 37 °C más próximo, es decir, el anterior a la hipertermia.

Tabla 4.3 Frecuencias dominantes e intervalos VV obtenidos en la zona normotérmica a cada escalón de temperatura. Valores absolutos, y relativos al valor basal

	Escalón	T (°C)	FrD (Hz)	VV (ms)	ΔFrD (%)	ΔVV (%)
inicial	37	36.9±0.7	17.0±3.5	55.2±7.1	-	-
	32	36.7±0.7	16.9±3.2	54.6±6.9	1.7±8.6	-2.0±5.6
bajada	27	36.5±0.7	15.0±2.2*	58.3±4.9§	-10.0±13.7	6.8±12.0
	22	36.5±0.7	15.6±2.4	57.7±5.6	-7.8±16.5	6.5±13.7
	17	36.2±0.8	15.0±2.3	57.7±4.2	-9.6±14.8	6.3±10.9
	22	36.6±0.8	15.7±1.9	57.1±4.6	-4.2±10.9	2.6±11.0
subida	27	36.5±0.7	16.3±2.2	56.1±5.6	-4.4±11.1	3.3±9.7
	32	36.7±0.8	15.9±2.7	56.4±6.1	-4.8±12.9	2.9±11.1
	37	36.9±0.8	16.6±2.8	55.2±5.8	-1.2±10.6	0.5±7.6
	42#	37.1±0.8	17.1±3.1	54.4±7.1	3.1±11.2	-1.5±7.2
final	37#	37.1±0.7	16.4±2.5	56.4±6.1	-1.2±10.4	2.4±7.3

Los valores se presentan como media ±desviación estándar

porcentajes respecto del escalón 37 subida

Significación de las diferencias frente al valor basal * p<0.01 , § p<0.03

A continuación, se muestran, como ejemplo, los electrogramas y los espectros correspondientes a uno de los electrodos situados en la zona normotérmica durante uno de los experimentos, antes y durante la hipotermia máxima (Figura 4.14) y la hipertermia (Figura 4.15). Las señales corresponden al mismo experimento que las mostradas anteriormente para un electrodo de la zona modificada en la Figura 4.6 y la Figura 4.7.

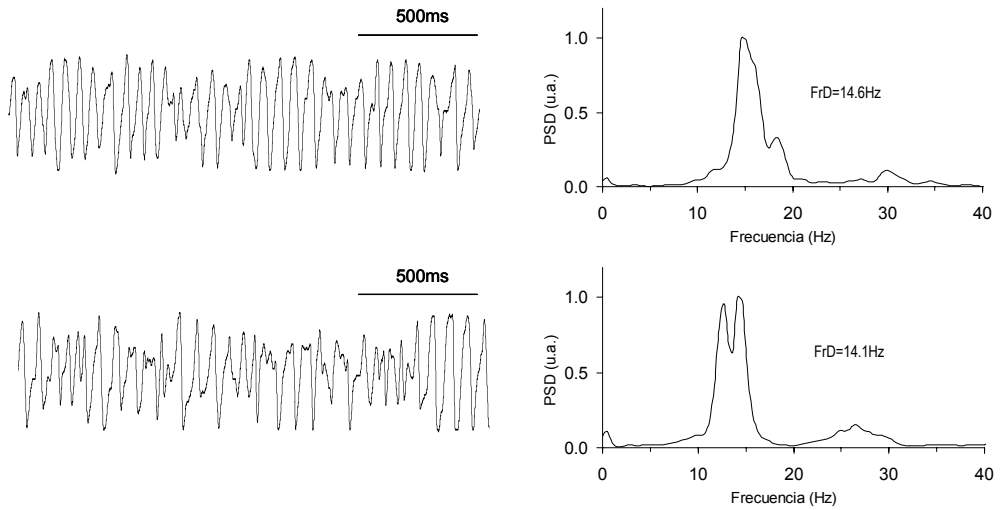


Figura 4.14 Electrograma y densidad espectral de potencia (unidades arbitrarias) correspondiente a uno de los electrodos de la zona normotérmica en uno de los experimentos. Datos obtenidos a la temperatura basal (arriba) y durante la hipotermia a la temperatura mínima (abajo). El registro mostrado corresponde a 2 segundos, mientras que el análisis espectral se realizó sobre 4 segundos de señal fibrilatoria

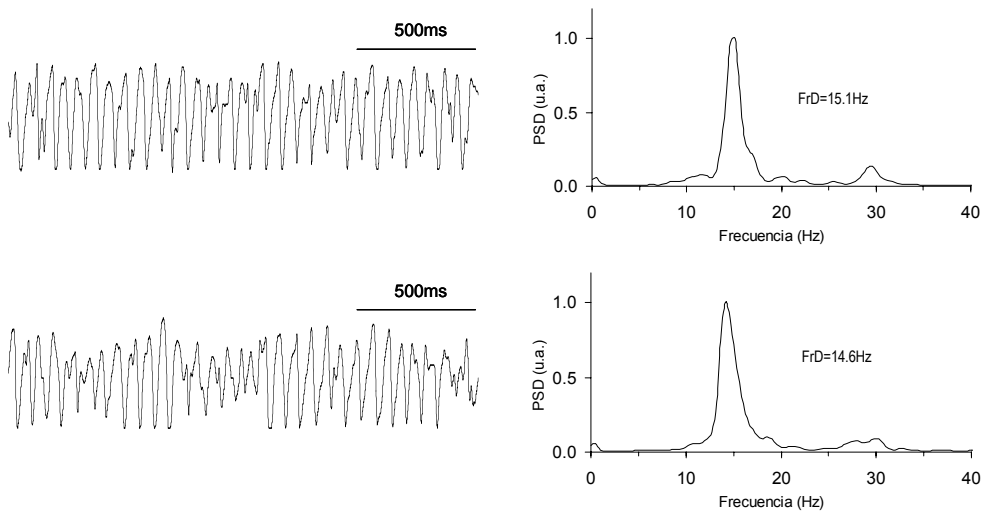


Figura 4.15. Electrograma y densidad espectral de potencia (unidades arbitrarias) correspondiente a uno de los electrodos de la zona normotérmica en uno de los experimentos. Datos obtenidos a la temperatura basal (arriba) y durante la hipertermia a 42 °C (abajo). El registro mostrado corresponde a 2 segundos, mientras que el análisis espectral se realizó sobre 4 segundos de señal fibrilatoria

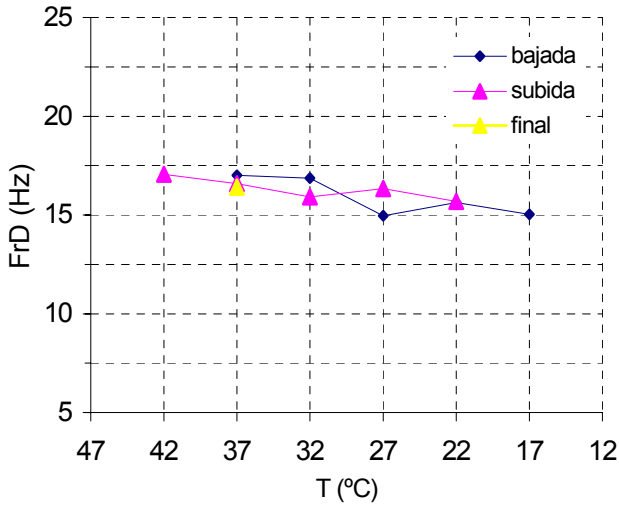


Figura 4.16 Valores medios de la FrD de la señal de FV en la zona normotérmica durante la bajada y subida de temperatura, así como valor final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

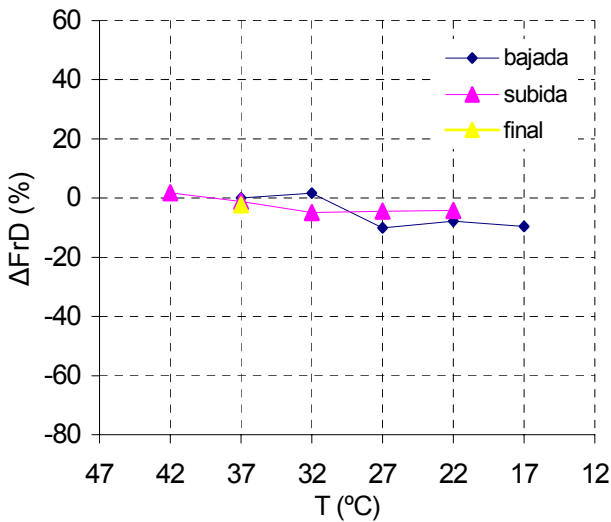


Figura 4.17 Variaciones relativas en la FrD media de la FV (respecto del valor basal inicial) en la zona normotérmica durante la bajada y subida de temperatura, así como valor final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

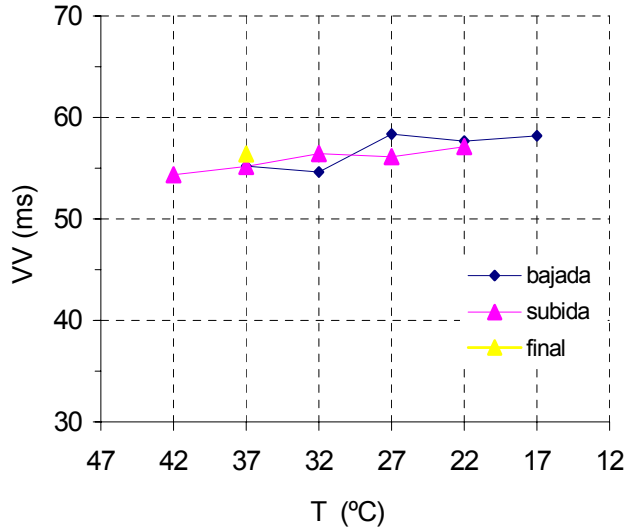


Figura 4.18 Valores medios del intervalo de activación de la FV en la zona normotérmica durante la bajada y subida de temperatura, así como valor final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

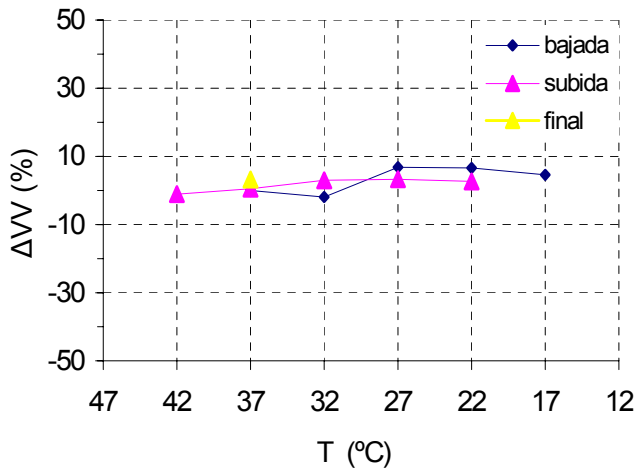


Figura 4.19 Variaciones relativas del intervalo de activación de la FV (respecto del valor basal inicial) en la zona normotérmica durante la bajada y subida de temperatura, así como valor final tras retornar a la temperatura basal, para cada uno de los escalones de temperatura reproducidos

4.1.2 Dispersión de las frecuencias dominantes y concentración espectral de la señal de fibrilación

Los datos de FrD de los apartados anteriores son el resultado de promediar las que a su vez corresponden a la media de las obtenidas en cada electrodo individual del electrodo múltiple de la zona correspondiente (una FrD por zona y temperatura). En este apartado se consideran los valores de FrD máxima y mínima que se ha llegado a registrar en cada caso.

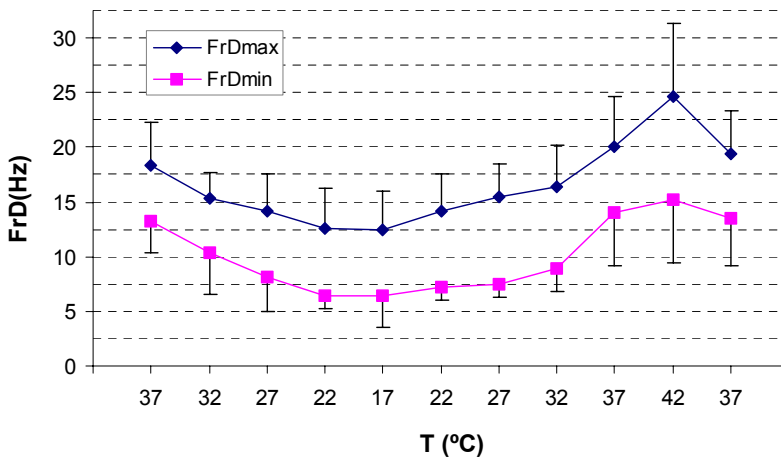


Figura 4.20 Evolución de la FrD máxima y mínima de la señal de FV en la zona modificada a las diferentes temperaturas. Los datos corresponden a las medias y desviación estándar de los valores máximos y mínimos de FrD registrados en el multielectrodo situado en esta zona

4.1.2.1 Zona modificada

Los valores de frecuencias dominantes máximas y mínimas registradas en la zona modificada, sufren globalmente un comportamiento similar al experimentado por los valores medios (Figura 4.20). La Tabla 4.4 muestra los datos correspondientes a esta zona.

Durante la **hipotermia**, se produce una disminución simultánea de las frecuencias máxima y mínima. Analizando las variaciones sufridas durante la

fase de máxima reducción de temperatura, ha existido una disminución significativa tanto del valor máximo de FrD, que pasa de 18.3 ± 4.0 Hz a 12.4 ± 3.6 Hz, como del valor mínimo, que pasa de 13.3 ± 3.0 Hz a 6.4 ± 2.8 Hz (esto supone que, a 17°C , FrD máxima y FrD mínima son 5.9 Hz y 6.9 Hz menores, respectivamente, que a 37°C , $p < 0.001$).

En cuanto a la **hipertermia**, ésta ha dado lugar a un incremento significativo del valor máximo de FrD desde 20.1 ± 4.5 Hz hasta 24.6 ± 6.7 Hz. Mientras que la FrD máxima aumenta claramente y de forma significativa en el escalón de 37°C a 42°C (aumento de 4.5 Hz, $p < 0.005$), el incremento en el valor promedio de la FrD mínima es mucho menor y no alcanza significación estadística (1.2 Hz, $p < 0.059$, al pasar de 14.0 ± 4.8 Hz a 15.2 ± 5.7 Hz). Sin embargo, si la comparación se realiza con el valor del escalón posterior (37°C , tras suprimir la hipertermia), sí existen diferencias significativas (1.7 Hz, $p < 0.005$).

Tabla 4.4 Valores promedio de: FrD máxima ($\text{FrD}_{\text{máx}}$), FrD mínima ($\text{FrD}_{\text{mín}}$), diferencia entre valor máximo y mínimo de FrD ($\text{FrD}_{\text{máx}} - \text{FrD}_{\text{mín}}$), y concentración espectral alrededor de FrD (CE), obtenidos en la *zona modificada* a cada escalón de temperatura

	Escalón	$\text{FrD}_{\text{máx}}$	$\text{FrD}_{\text{mín}}$	$\text{FrD}_{\text{máx}} - \text{FrD}_{\text{mín}}$	CE
inicial	37	18.3 ± 4.0	13.3 ± 3.0	5.0 ± 4.0	39.3 ± 10.5
	32	$15.3 \pm 2.4^*$	$10.4 \pm 3.8^*$	4.8 ± 3.1	35.5 ± 6.7
bajada	27	$14.1 \pm 3.4^*$	$8.1 \pm 3.1^*$	6.0 ± 4.0	$34.6 \pm 4.9^*$
	22	$12.6 \pm 3.6^*$	$6.4 \pm 1.1^*$	6.1 ± 3.5	35.0 ± 6.0
	17	$12.4 \pm 3.6^*$	$6.4 \pm 2.8^*$	6.0 ± 2.9	36.0 ± 5.1
	22	$14.2 \pm 3.4^*$	$7.2 \pm 1.2^*$	$7.0 \pm 2.9^*$	33.1 ± 5.4
subida	27	$15.5 \pm 3.0^*$	$7.5 \pm 1.2^*$	$8.0 \pm 3.3^*$	33.3 ± 6.1
	32	16.4 ± 3.8	$8.9 \pm 2.1^*$	$7.5 \pm 3.5^*$	$33.7 \pm 4.9^*$
	37	20.1 ± 4.5	14.0 ± 4.8	6.1 ± 6.0	38.4 ± 9.4
	42	$24.6 \pm 6.7^*$	$15.2 \pm 5.7^*$	$9.4 \pm 8.6^*$	32.7 ± 11.1
	final	37	19.4 ± 3.9	13.5 ± 4.3	5.9 ± 4.9

Los valores son medias \pm desviación estándar

* Diferencias significativas respecto del valor basal

Aunque los contrastes estadísticos realizados —mediante el procedimiento ANOVA de medidas repetidas— no confieren significación estadística global a las variaciones experimentadas con la temperatura por el valor promedio de las diferencias entre la máxima y la mínima frecuencia dominante (FrDmax-FrDmin), la comparación de cada escalón con el control sí arroja un aumento significativo a las temperaturas de 22°C, 27°C, 32°C y 42°C.

Por lo que respecta a la concentración espectral de la señal de FV calculada entorno a la FrD (± 1 Hz), su valor medio se mantiene por debajo de los valores basales cuando la temperatura disminuye (hipotermia) o aumenta (hipertermia) desde su valor inicial de 37 °C (Figura 4.21, Tabla 4.4), aunque estas variaciones no alcanzan significación estadística global. A dos temperaturas por debajo del valor basal (27°C y 32°C), la concentración espectral es menor si se compara directamente con la existente a 37°C.

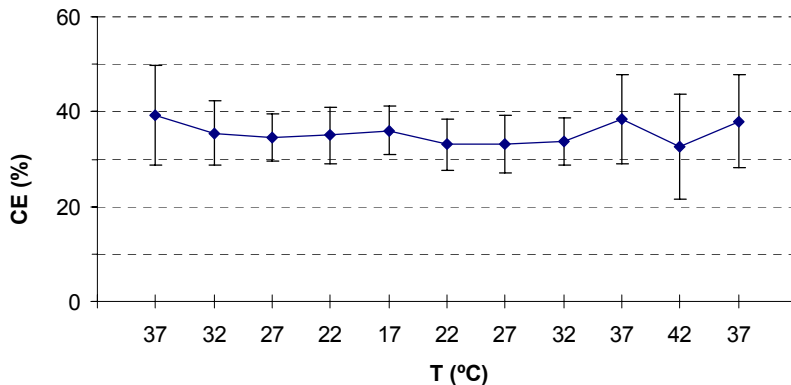


Figura 4.21 Valores medios y desviación estándar de las concentraciones espectrales alrededor de FrD, expresadas en valor porcentual (CE), obtenidos en la zona modificada

4.1.2.2 Zona normotérmica

La zona normotérmica no sufre variaciones significativas de los valores máximos y mínimos de la FrD, así como tampoco de la concentración espectral (Tabla 4.5).

Tabla 4.5 Valores promedio de: FrD máxima ($FrD_{m\acute{a}x}$), FrD mínima ($FrD_{m\acute{i}n}$), diferencia entre valor máximo y mínimo de FrD ($FrD_{m\acute{a}x}-FrD_{m\acute{i}n}$), y concentración espectral alrededor de FrD (CE), obtenidos en la zona normotérmica a cada escalón de temperatura

	Escalón	$FrD_{m\acute{a}x}$	$FrD_{m\acute{i}n}$	$FrD_{m\acute{a}x}-FrD_{m\acute{i}n}$	CE
inicial	37	21±8.5	13.7±3.1	7.6±10.3	39.0±11.4
	32	21.2±8.4	14.1±2.0	7.4±8.8	38.3±11.7
bajada	27	19.0±7.6	12.9±2.3	6.1±9.0	40.1±11.7
	22	18.1±3.2	13.4±2.7	4.7±4.3	38.7±9.4
	17	20.1±9	12.4±3.6	7.7±11.1	38.4±12.8
	22	18.0±3.7	14.6±2.2	3.3±3.7	40.8±10.1
subida	27	18.5±4.2	14.4±2.2	4.1±4.9	41.1±12.2
	32	17.7±3.5	14.5±2.7	3.2±2.7	41.3±9.7
	37	20.1±7.4	14.8±3.4	5.6±9.3	40.9±10.7
	42	20.9±7.7	14.8±2.4	6.1±7.6	39.9±11.6
final	37	18.8±3.7	14.9±2.3	3.8±3.5	41.7±10.7

Los valores son medias ±desviación estándar

4.2 Variaciones de los parámetros electrofisiológicos durante la estimulación con tren base con la temperatura

4.2.1 Período refractario

En la zona en que se modificó la temperatura, la hipotermia local máxima ha dado lugar a una prolongación significativa tanto del PRE como del PRF, respecto de su valor a la temperatura basal y respecto del valor registrado en la zona normotérmica (Figura 4.22); la hipertermia ha tenido el efecto contrario (Figura 4.23). Por otra parte, durante la hipertermia, los valores promedio de PRE y PRF de la zona normotérmica experimentaron un ligero aumento que llega a alcanzar significación estadística (no así durante la hipertermia). Tras la hipotermia, al volver a homogeneizarse la temperatura de la preparación (temperatura de perfusión 37 °C), las diferencias interzonas dejaron de ser significativas y estos parámetros volvieron a tomar valores similares a los basales.

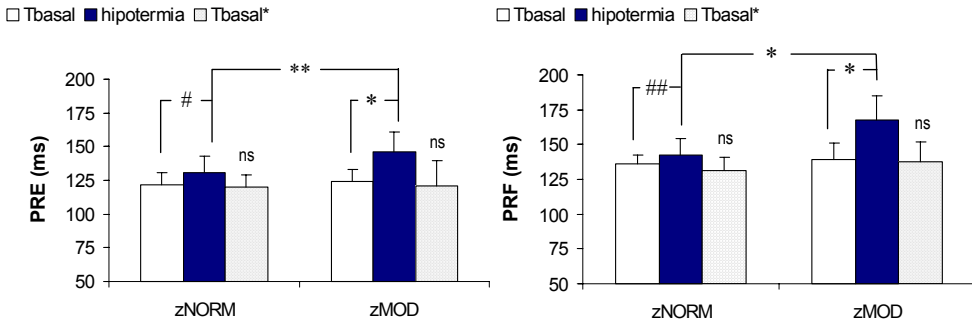


Figura 4.22 Período refractario efectivo (izq.) y período refractario funcional (dcha.) a la temperatura basal, durante la **hipotermia** máxima de la zona modificada y tras retornar a la situación basal (Tbasal*). Datos obtenidos en la *zona modificada* (zMOD) y la *zona normotérmica* (zNORM). Significación de las diferencias, * $p < 0.001$ ** $p < 0.006$ # $p < 0.005$ ## $p < 0.05$; ns, diferencias no significativas respecto del valor basal de su misma zona

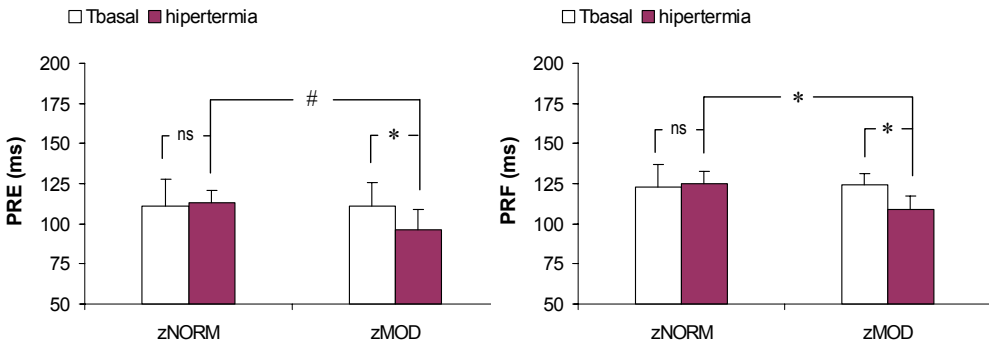


Figura 4.23 Período refractario efectivo (izq.) y período refractario funcional (dcha.), a la temperatura basal y durante la **hipertermia** (42 °C). Valores obtenidos en la *zona modificada* (zMOD) y *zona normotérmica* (zNORM). Significación de las diferencias, # $p < 0.005$ * $p < 0.001$; ns, diferencias no significativas

4.2.1.1 Zona modificada

En esta zona, las modificaciones de la temperatura en el área de contacto con el electrodo diseñado desde el valor de perfusión (37 °C) hasta su valor máximo (42 °C) y mínimo (17 °C ó 22 °C), han dado lugar en ambos casos a cambios significativos tanto en el período refractario efectivo como en el funcional.

Durante la fase de máxima hipotermia, el PRE y el PRF aumentaron respectivamente desde 124 ± 9 ms y 139 ± 12 ms, a 37°C , hasta 146 ± 15 ms y 168 ± 17 ms, a la temperatura mínima. Durante la hipertermia, el PRE disminuyó desde 111 ± 15 ms hasta 96 ± 13 ms y el PRF desde 124 ± 7 ms hasta 109 ± 8 ms. La *Tabla 4.6* recoge los valores absolutos promedio y las variaciones porcentuales promedio respecto de la situación basal, en esta zona.

Tabla 4.6 Período refractario efectivo y período refractario funcional, durante la hipotermia máxima y durante la hipertermia, en la *zona modificada*. Valores absolutos e incrementos relativos a la situación basal

		PRE (ms)	PRF (ms)	Δ PRE (%)	Δ PRF (%)
	Tbasal	124 ± 9	139 ± 12	–	–
HIPOTERMIA	Tmín	$146 \pm 15^\#$	$168 \pm 17^\#$	$17 \pm 9^\#$	$21 \pm 7^\#$
	Tbasal*	121 ± 19	138 ± 14	-2 ± 14	0 ± 13
	Tbasal	111 ± 15	124 ± 7	–	–
HIPERTERMIA	Tmáx	$96 \pm 13^\#$	$109 \pm 8^\#$	$-13 \pm 6^\#$	$-12 \pm 6^\#$

* retorno a la temperatura basal tras la hipotermia
Diferencias significativas respecto del valor basal correspondiente, # $p < 0.001$

4.2.1.2 Zona normotérmica

En esta zona, tras la disminución de la temperatura de la zona modificada hasta su valor mínimo, tanto el PRE como el PRF han sufrido ligeros cambios que llegan a presentar significación estadística. Durante la hipertermia no se aprecian diferencias significativas.

Durante la fase de máxima hipotermia, los valores promedio del PRE y del PRF aumentaron desde 122 ± 9 ms y 136 ± 12 ms a 37°C , hasta 131 ± 12 ms ($p < 0.005$) y 142 ± 12 ms ($p < 0.05$) a la temperatura mínima, respectivamente.

Durante la hipertermia no hubo cambios significativos. La *Tabla 4.7* recoge los valores absolutos promedio y las variaciones porcentuales promedio respecto de la situación basal, en esta zona.

Tabla 4.7 Período refractario efectivo y período refractario funcional, durante la hipotermia máxima y durante la hipertermia, en la *zona normotérmica*. Valores absolutos e incrementos relativos a la situación basal.

		PRE (ms)	PRF (ms)	Δ PRE (%)	Δ PRF (%)
	T _{basal}	122±9	136±6	–	–
HIPOTERMIA	T _{mín}	131±12 [#]	142±12 [§]	7±8 [#]	4±7 [§]
	T _{basal} *	120±9	131±10	-1±7	-4±5
HIPERTERMIA	T _{basal}	111±17	123±14	–	–
	T _{máx}	113±8	125±8	1±17	2±12

* retorno a la temperatura basal tras la hipotermia
Diferencias significativas respecto del valor basal, [#] p<0.005 [§]p<0.05

4.2.2 Velocidad de conducción

En la zona en que se modificó la temperatura, la hipotermia local máxima ha dado lugar a una disminución significativa de la velocidad de conducción respecto de su valor a la temperatura basal y respecto del valor registrado en la zona normotérmica, en la cuál no se aprecian cambios en la VC promedio (*Figura 4.24*). Por otra parte, durante la hipertermia no se aprecian cambios significativos en la VC de ninguna de las dos zonas, aunque el valor promedio de la zona modificada aumentó ligeramente respecto de su valor basal y respecto del valor registrado en la zona normotérmica (*Figura 4.25*). Tras las modificaciones de temperatura, y al volver a homogeneizarse ésta al valor de perfusión, las diferencias interzonas y respecto de la situación basal dejaron de ser significativas.

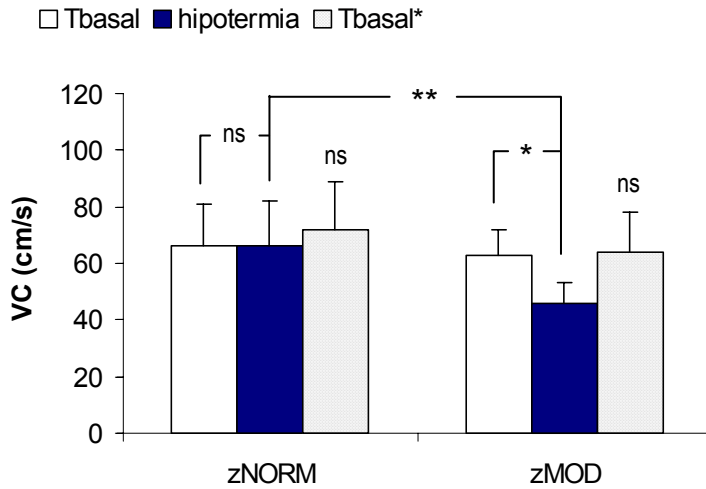


Figura 4.24 Velocidad de conducción a la temperatura basal, durante la **hipotermia** máxima de la zona modificada y tras retornar a la situación basal (Tbasal*). Datos obtenidos en la zona modificada (zMOD) y la zona normotérmica (zNORM). Significación de las diferencias: * $p < 0.001$ ** $p < 0.016$; ns, diferencias no significativas respecto del valor basal de la misma zona

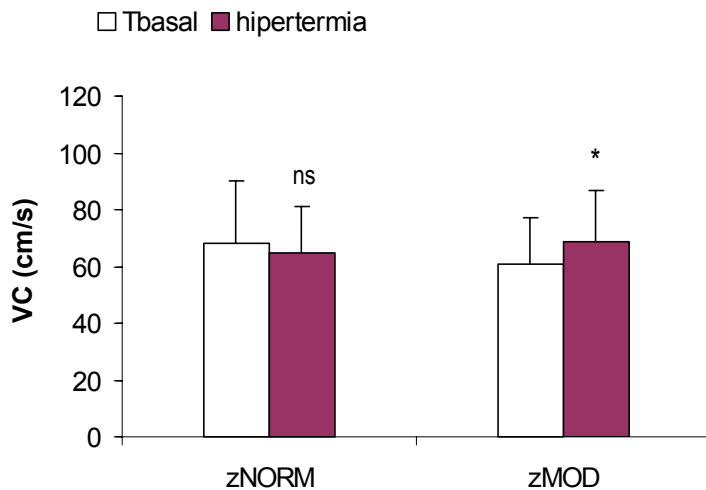


Figura 4.25 Velocidad de conducción a la temperatura basal y durante la **hipertermia** (42 °C) de la zona modificada. Datos obtenidos en la zona modificada (zMOD) y la zona normotérmica (zNORM); Diferencias respecto del valor basal de la misma zona: * $p < 0.05$; ns, no significativas

4.2.2.1 Zona modificada

Durante la fase máxima de la hipotermia, se registró en esta zona una disminución de la VC desde 63 ± 9 cm/s, a 37°C , hasta 46 ± 7 cm/s ($p<0.001$), a la temperatura mínima. Durante la hipertermia, el valor promedio de la VC aumentó desde 61 ± 16 cm/s hasta 69 ± 18 cm/s ($p<0.05$). La *Tabla 4.8* recoge los valores absolutos promedio y los aumentos porcentuales promedio respecto de la situación basal, en esta zona.

4.2.2.2 Zona normotérmica

En esta zona, no se registraron cambios significativos en la VC durante las modificaciones de temperatura en la zona modificada. La *Tabla 4.9* recoge los valores absolutos promedio y los aumentos porcentuales promedio respecto de la situación basal.

Tabla 4.8 Velocidad de conducción en la *zona modificada*, durante la hipotermia máxima y durante la hipertermia. Valores absolutos e incrementos relativos a la situación basal

		VC (cm/s)	ΔVC (%)
HIPOTERMIA	T _{basal}	63 ± 9	-
	T _{mín}	$46\pm 7^{\#}$	$-25\pm 14^{\#}$
	T _{basal} *	64 ± 14	0 ± 14
HIPERTERMIA	T _{basal}	61 ± 16	-
	T _{máx}	$69\pm 18^*$	$11\pm 12^*$

* retorno a la temperatura basal tras la hipotermia
Diferencias significativas respecto del valor basal, # $p<0.001$ * $p<0.05$

Tabla 4.9 Velocidad de conducción en la zona normotérmica, durante la hipotermia máxima y durante la hipertermia. Valores absolutos e incrementos relativos a la situación basal

		VC (cm/s)	Δ VC (%)
HIPOTERMIA	Tbasal	66±15	-
	Tmín	66±16	0±7
	Tbasal*	72±17	6±18
HIPERTERMIA	Tbasal	68±22	-
	Tmáx	65±16	-4±24

* retorno a la temperatura basal tras la hipotermia

4.2.3 Longitud de onda

No se han hallado cambios estadísticos significativos en la longitud de onda del proceso de activación, durante las modificaciones de temperatura, en ninguna de las dos zonas (normotérmica y modificada) (Figura 4.26).

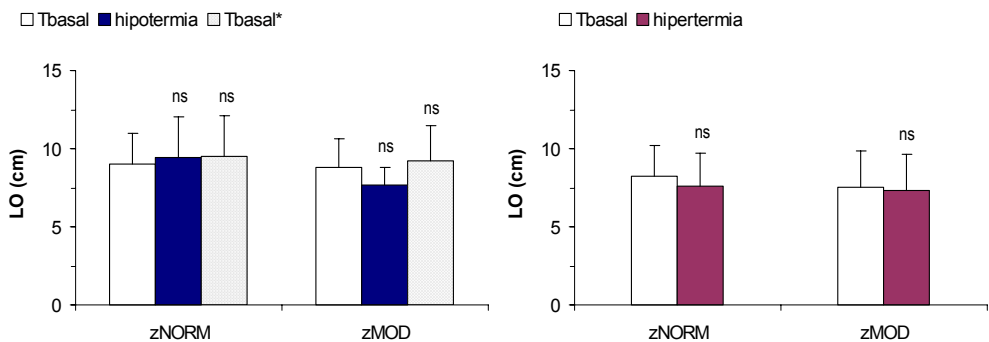


Figura 4.26 Longitud de onda del proceso de activación. Valores obtenidos en la zona modificada (zMOD) y la zona normotérmica (zNORM). Izquierda: Datos correspondientes a la temperatura basal, durante la hipotermia máxima de la zona modificada y tras retornar a la situación basal (Tbasal*). Derecha: Datos a la temperatura basal y durante la hipertermia (42 °C); ns, diferencias no significativas respecto del valor basal de la misma zona

A continuación (*Tabla 4.10* y *Tabla 4.11*), se ofrecen los valores absolutos promedio y los aumentos porcentuales promedio respecto de la situación basal, en cada una de las zonas.

4.2.3.1 Zona modificada

En esta zona, aunque existieron algunas diferencias en el valor promedio de la LO durante la hipotermia (7.7 ± 1.1 cm a 17°C vs. 8.8 ± 1.8 cm a 37°C) y durante la hipertermia (7.3 ± 2.3 cm a 42°C vs. 7.6 ± 2.3 cm a 37°C), éstas no alcanzaron significación estadística en ninguno de los dos casos.

Tabla 4.10 Longitud de onda en la *zona modificada*, durante la hipotermia máxima y durante la hipertermia. Valores absolutos e incrementos relativos a la situación basal

		LO (cm)	ΔLO (%)
HIPOTERMIA	Tbasal	8.8 ± 1.8	-
	Tmín	7.7 ± 1.1	-6.4 ± 15.5
	Tbasal*	9.2 ± 2.3	5.7 ± 26.5
HIPERTERMIA	Tbasal	7.6 ± 2.3	-
	Tmáx	7.3 ± 2.3	-5.4 ± 9.3

* retorno a la temperatura basal tras la hipotermia

4.2.3.2 Zona normotérmica

En esta zona tampoco hubo cambios significativos en la LO, durante la hipotermia (9.4 ± 2.6 cm a 17°C vs. 9.0 ± 2.0 cm a 37°C) ni durante la hipertermia (7.6 ± 2.1 cm a 42°C vs. 8.2 ± 2.0 cm a 37°C).

Tabla 4.11 Longitud de onda en la zona normotérmica, durante la hipotermia máxima y durante la hipertermia. Valores absolutos e incrementos relativos a la situación basal

		LO (cm)	Δ LO (%)
HIPOTERMIA	T _{basal}	9.0±2.0	-
	T _{mín}	9.4±2.6	4.5±12.9
	T _{basal} *	9.5±2.6	3.1±22.3
HIPERTERMIA	T _{basal}	8.2±2.0	-
	T _{máx}	7.6±2.1	-8.1±23.5

* retorno a la temperatura basal tras la hipotermia

4.3 Relación entre la frecuencia dominante de la FV y los parámetros electrofisiológicos

En primer lugar se ha estudiado la relación existente entre los dos parámetros obtenidos mediante análisis espectral y mediante análisis temporal de la señal fibrilatoria. A continuación se ha analizado la relación de la frecuencia dominante de la señal de FV con los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación con el tren base.

- **Correlación entre FrD e intervalo VV de la FV**

En la *Figura 4.27* se muestra el diagrama de dispersión en el que se aprecia la relación entre los valores obtenidos de frecuencias dominantes y los intervalos de activación promedio, durante la FV. Se han considerado conjuntamente los datos correspondientes a las situaciones basales y a las distintas temperaturas en ambas zonas (electrodos múltiples) en el conjunto de experimentos (354 casos en total). Cada uno de estos datos corresponde al valor promedio de los determinados en cada electrodo individual. En el margen de valores obtenidos en esta experimentación, el coeficiente de correlación entre estas dos variables fue alto ($r=0.911$, $p<0.001$). Al relacionar la frecuencia dominante de la FV (FrD,

en Hz) con la inversa del intervalo de activación (IVV, en s^{-1}), la recta de regresión obtenida fue: $FrD=1.385 \cdot IVV - 8.842$, $r=0.919$, $p<0.001$ (Figura 4.28).

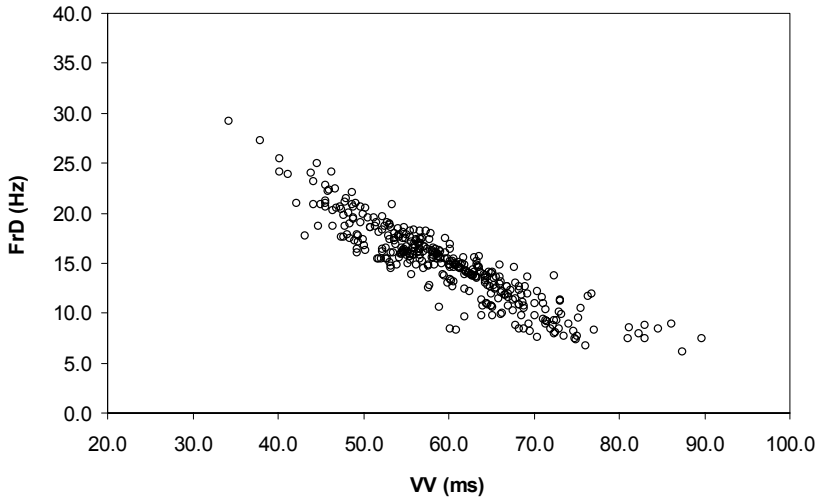


Figura 4.27 Diagrama de dispersión con las frecuencias dominantes promedio (FrD) proporcionadas por el análisis espectral, y los intervalos de activación promedio (VV) proporcionados por el análisis en el dominio del tiempo

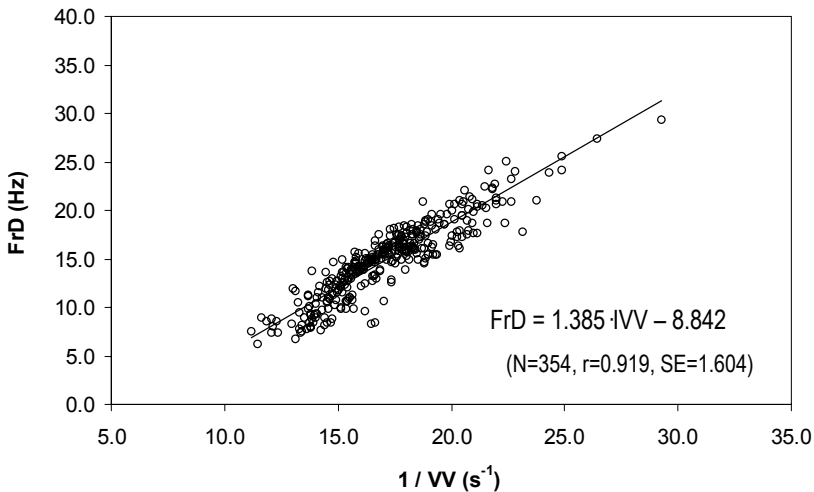


Figura 4.28 Recta de regresión obtenida al relacionar las frecuencias dominantes promedio (FrD), proporcionadas por el análisis espectral, con la inversa de los intervalos VV promedio (IVV), proporcionados por el análisis en el dominio del tiempo

- **Correlación entre FrD y los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación con tren base**

En este caso se han considerado conjuntamente los parámetros correspondientes a las situaciones basales y durante las modificaciones de temperatura en la zona modificada, es decir: temperatura basal anterior a la hipotermia, hipotermia máxima, temperatura basal anterior a la hipertermia, e hipertermia.

Al efectuar el análisis de regresión simple entre FrD y cada uno de los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación con tren base a la misma temperatura, se han obtenido regresiones significativas con los períodos refractarios efectivo y funcional, no así con la velocidad de conducción ni con la longitud de onda de la señal (*Tabla 4.12*).

Tabla 4.12. Correlación simple entre la frecuencia dominante de la FV y cada uno de los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación con tren base. PRE - Período refractario efectivo. PRF - Período refractario funcional. VC - Velocidad de conducción. LO - Longitud de onda

FrD - PRE	FrD - PRF	FrD - VC	FrD - LO
r= -0.756	r= -0.765	r= 0.330	r= -0.239
p< 0.001	p< 0.001	p< 0.07	p< 0.231

Al realizar el análisis de regresión múltiple (método escalonado) entre FrD y los parámetros mencionados, las variables independientes incluidas en la función han sido, en primer lugar PRE, y en segundo lugar VC (r=0.834, p<0.001).

Capítulo 5

Discusión

Los resultados presentados en el capítulo anterior serán discutidos en éste, el cual se divide en varios apartados. En primer lugar se discutirán los efectos de las modificaciones locales de temperatura sobre la frecuencia de activación de la fibrilación ventricular. Se analizarán los efectos de la hipotermia y de la hipertermia sobre el intervalo de activación y la frecuencia dominante de la FV en la zona en la que se modifica la temperatura, la reversibilidad de los cambios producidos en dicha zona y los efectos sobre la zona normotérmica. En segundo lugar se analizará la capacidad de los cambios locales de temperatura para interrumpir la arritmia. A continuación se discutirán las variaciones sufridas por los parámetros electrofisiológicos analizados (refractariedad, velocidad de conducción y longitud de onda del proceso de activación) durante la hipotermia y la hipertermia. La relación entre la frecuencia de activación durante la FV y dichos parámetros, se analizará en el siguiente apartado. Por último, se describirán las limitaciones del estudio experimental realizado.

Índice del capítulo

5.1	EFFECTOS DE LAS MODIFICACIONES LOCALES DE TEMPERATURA SOBRE LA FRECUENCIA DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FV	155
5.1.1	Efectos de la hipotermia local	155
5.1.2	Efectos de la hipertermia local.....	157
5.1.3	Reversibilidad de los cambios	157
5.1.4	Dispersión de FrD y concentración espectral	158
5.1.5	Afectación de la zona normotérmica	159
5.2	CAPACIDAD DE INTERRUPCIÓN DE LA ARRITMIA.....	161
5.3	VARIACIONES EN LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS PROVOCADAS POR LOS CAMBIOS DE TEMPERATURA	163
5.3.1	Variaciones de la refractariedad	163
5.3.2	Variaciones de la velocidad de conducción	166
5.3.3	Variaciones de la longitud de onda	167
5.4	RELACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA DE ACTIVACIÓN DURANTE LA FV Y LOS PARÁMETROS ELECTROFISIOLÓGICOS	168
5.5	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	169

5.1 Efectos de las modificaciones locales de temperatura sobre la frecuencia de activación durante la FV

Los resultados proporcionados por el análisis espectral de las señales fibrilatorias epicárdicas y por el análisis de los histogramas de los ciclos de activación ventricular, muestran que la hipotermia aplicada localmente posee un efecto enlentecedor sobre la arritmia en la zona donde se efectúa la aplicación. Por el contrario, la hipertermia provoca una aceleración local de la activación ventricular en la zona considerada.

Los dos métodos de análisis de la frecuencia de activación han proporcionado información superponible. La frecuencia dominante de la FV y la media del intervalo de activación están claramente relacionadas (correlación negativa elevada en el margen de valores obtenidos). La recta de regresión que relaciona FrD con la inversa de VV muestra una pendiente próxima a la unidad. Estos resultados son compatibles con los obtenidos por otros autores que han expresado correlaciones elevadas entre la longitud de los ciclos ventriculares y los picos espectrales de las señales unipolares registradas en modelos experimentales de fibrilación [Chorro *et al.* 2000a].

Cabe destacar que, hasta el momento, apenas existían estudios en donde se hubieran analizado sistemáticamente los efectos de la temperatura sobre la frecuencia de activación una vez ha sido desencadenada la fibrilación ventricular, y en las pocas referencias existentes al respecto se aborda únicamente el papel de la hipotermia generalizada [Strohmenger *et al.* 1997, Chorro *et al.* 2002].

5.1.1 Efectos de la hipotermia local

El efecto enlentecedor de la disminución global de temperatura —no así el de su aumento— sobre la activación ventricular durante la FV, ha sido demostrado por Chorro *et al.* (2002) en un modelo experimental de similares características, aunque con diferentes técnicas y distinto protocolo. En el

trabajo citado, la reducción de la temperatura se realiza mediante inyección directa de Tyrode frío (4 °C) en el interior del ventrículo o en el sistema de perfusión. Como consecuencia, se produce transitoriamente una hipotermia generalizada que es capaz de interrumpir la arritmia cuando la temperatura epicárdica disminuye por debajo de los 20 °C. A diferencia de éste, en el presente trabajo la aplicación de la hipotermia se realiza de forma tópica y controlada, quedando ésta limitada a la región del ventrículo abarcada por el electrodo modificador. Esto último se deduce de los datos obtenidos a partir de los registros de temperatura efectuados en zonas distantes del área de contacto con dicho electrodo, zonas que no han experimentado variaciones significativas de su temperatura. Además, la disminución de la temperatura se efectúa de manera escalonada y no en régimen transitorio, estabilizándose ésta durante varios minutos antes de cuantificar los parámetros que se analizan. El estudio se ha realizado para cada escalón y los efectos sobre la frecuencia de activación se han manifestado significativos en todas las fases de la hipotermia —hipotermia máxima (22 °C-17 °C), moderada (27 °C) y leve (32 °C).

El ajuste lineal de la relación FrD-T, que en nuestro caso se ha obtenido para la zona modificada y utilizando los valores promedio de cada escalón durante la disminución gradual de la temperatura local, es muy similar al presentado por el trabajo mencionado durante la reducción brusca y global de la temperatura, sobre todo en lo que concierne a la pendiente de dicha recta —FrD=0.428T-0.260, frente a FrD=0.43T-1.63 (perfusión fría global) y FrD=0.44T-1.49 (inyección directa en interior del ventrículo izquierdo) de Chorro *et al.* (2002)—. Estos resultados sugieren una dependencia lineal de la frecuencia de activación con la temperatura, en el rango estudiado, que no depende de la velocidad de cambio de esta última.

Aunque la temperatura sólo fue registrada en tres puntos diferentes —en la región modificada del ventrículo izquierdo (zMOD), en la zona alejada situada en el mismo ventrículo (zNORM), y en el interior de éste— los datos

obtenidos permiten pensar en la existencia de un gradiente de temperatura, desde la superficie epicárdica abarcada por el dispositivo-electrodo hasta las otras zonas donde la temperatura no sufre cambios significativos. De manera similar, Schwartz *et al.* (2001), en un estudio con cerdos *in vivo* en los que estudiaban los efectos cardioprotectores de la hipotermia tópica, constataron la existencia de un gradiente de temperaturas a lo largo de la pared ventricular, registrando adicionalmente la temperatura del interior de la pared ventricular con un termopar de inserción. En su caso indujeron la hipotermia mediante la aplicación de una bolsa con solución salina a 0 °C, directamente sobre la zona del epicardio que más tarde se convertiría en isquémica por oclusión coronaria.

5.1.2 Efectos de la hipertermia local

En lo referente a la hipertermia, no existen estudios experimentales en los que se hayan cuantificado los efectos de ésta sobre la frecuencia de la FV. Se sabe, sin embargo, que el calentamiento moderado del miocardio posee un efecto en la electrofisiología del tejido, contrario al que produce el enfriamiento; esto es, se acorta la duración de los potenciales de acción y se incrementa la velocidad de conducción [Kuo *et al.* 1983, Tachibana *et al.* 1999]. Nuestros resultados evidencian una aceleración de la señal fibrilatoria durante la hipertermia (42 °C) similar en magnitud al enlentecimiento experimentado durante la hipotermia moderada (32 °C). No se ha experimentado con temperaturas superiores, ya que se podría provocar un daño irreversible en el tejido cardíaco.

5.1.3 Reversibilidad de los cambios

Una vez suprimidos los cambios de temperatura, FrD y VV toman valores similares a los basales, aunque con ligeras diferencias que sólo en el caso de la hipotermia llegan a tener significación estadística (antes de la hipotermia: FrD=16.0±2.7 Hz y VV=57.9±6.7 ms; tras la hipotermia: FrD=17.7±3.4 Hz, $p<0.02$ y VV=54.7±6.7 ms, $p<0.03$). Estas diferencias no parecen estar originadas por cambios remanentes en el tejido tras la normalización de la temperatura,

puesto que los valores medios de FrD obtenidos al remitir los cambios son algo superiores a los de partida —inferiores en el caso de VV—. Los cambios producidos por el aumento de la temperatura epicárdica se han mostrado reversibles puesto que, tras la hipertermia, las ligeras diferencias observadas en los valores promedio de FrD e intervalo VV no poseen significación estadística (antes de la hipertermia: FrD=17.7±3.4 Hz y VV=54.7±6.7 ms; tras la hipertermia: FrD=16.8±2.9 Hz, n.s., y VV 56.6±5.3 ms, n.s.).

Por otro lado, al comparar los valores obtenidos en cada escalón de subida de T (22 °C, 27 °C, 32 °C y 37 °C) con los obtenidos en los respectivos escalones de bajada, no se han encontrado diferencias significativas en estos parámetros. Tampoco la observación de las curvas trazadas independientemente para cada experimento mostró la existencia de tendencia alguna, por lo que no hay evidencia de histéresis en la curva que relaciona la frecuencia de activación durante la FV con la temperatura.

5.1.4 Dispersión de FrD y concentración espectral

Durante la hipotermia, los valores de FrD máxima y mínima de las señales registradas en zMOD evolucionan de forma similar al promedio, por lo que el enlentecimiento registrado en la frecuencia de activación al enfriar la zona modificada se debe a una disminución tanto de los valores máximos como mínimos de las frecuencias locales de activación de dicha zona.

Por otra parte, la aceleración de la FV causada por la hipertermia, parece sobre todo provocada por un aumento de los valores máximos. Un comportamiento como éste, para un modelo similar, se ha descrito en relación con la dilatación [Chorro *et al.* 2002b]. Según dicho estudio, la dilatación ventricular provoca un aumento de los valores promedio y mínimo de FrD de la zona afectada, pero especialmente de su valor máximo. A diferencia de sus resultados, en nuestro caso, las pruebas estadísticas aplicadas no evidencian globalmente variaciones en las diferencias entre valores máximos y mínimos de FrD cuando se modifica la temperatura, aunque sí se han registrado

diferencias en algunos escalones de temperatura. En este sentido, los resultados obtenidos no permiten concluir si las modificaciones de temperatura provocan, o no, cambios en la heterogeneidad de los patrones de las frecuencias de activación en la zona modificada. Un estudio más completo requeriría del análisis de los mapas de distribución de las frecuencias de activación locales y su evolución con la temperatura —en ese caso sería conveniente una mayor resolución espacial en la determinación de las frecuencias, para lo cuál se necesitaría un mayor número de electrodos en la zona modificada.

En cuanto a la concentración espectral de la señal fibrilatoria entorno a su componente principal de su espectro de potencias, al analizar las diferencias entre la situación basal y la hipotermia máxima o la hipertermia, no se han encontrado cambios estadísticamente significativos en las señales registradas con los dos electrodos utilizados. Además, analizando experimento a experimento la correlación CE-T en la zona modificada, sólo en 5 casos resultó significativa (positiva en dos de ellos y negativa en tres). De estos datos no se deduce que las variaciones de temperatura modifiquen siempre en el mismo sentido el grado de organización de las señales fibrilatorias.

5.1.5 Afectación de la zona normotérmica

En contraste con la teoría de las ondas múltiples de Moe, una de las hipótesis vigentes sobre los mecanismos de inicio y mantenimiento de la fibrilación ventricular plantea la existencia de zonas de activación rápida cuya presencia determina la propagación o "conducción fibrilatoria" hacia el resto del miocardio [Jalife *et al.* 1998a,b]. Según esta hipótesis, un único o pocos rotores de alta frecuencia, de carácter marcadamente estacionario, serían los responsables de la FV. Los frentes de onda emanados del foco principal se fragmentarían al interactuar con las heterogeneidades del tejido, y serían los responsables del complejo patrón fibrilatorio. Esta hipótesis ha sido respaldada por algunos estudios experimentales con modelos de corazón aislado de

diferentes especies —conejo [Chen *et al.* 2000], oveja [Zaitsev *et al.* 2000] y cobaya [Samie *et al.* 2001]—, en los que se emplea el análisis espectral de las señales epicárdicas y las técnicas cartográficas de alta resolución (mapeo óptico) para demostrar la existencia de regiones o dominios discretos en el miocardio, caracterizados por una frecuencia dominante y dotados de cierta organización espacio-temporal.

Si la teoría del foco estacionario responsable de la FV fuera cierta, los factores que modifican la excitabilidad de las células miocárdicas podrían alterar las características funcionales de las ondas espirales que sustentan la fibrilación y los patrones de transmisión desde las zonas de activación más rápida hacia el resto del tejido. De esta manera, la modificación local de la temperatura en una zona del miocardio (zona modificada) podría tener consecuencias en el proceso de activación de zonas distantes (zonas normotérmicas).

En el presente trabajo, aunque los valores promedio de FrD y VV de la zona normotérmica del ventrículo analizado han experimentado ligeros cambios en la misma dirección que los de la zona modificada, las pruebas estadísticas aplicadas no les han dotado globalmente de significación estadística. Comparando por pares los valores de los parámetros obtenidos a cada temperatura con los basales, sólo se registra una modificación significativa de VV y FrD para el escalón de 27 °C ($p < 0.03$ y $p < 0.01$, respectivamente). La máxima variación porcentual de FrD en zNORM es $-10.0 \pm 13.7\%$, frente a $-51.8 \pm 13.5\%$ en zMOD, no registrándose en paralelo un cambio significativo de la temperatura de dicha zona. Las altas desviaciones típicas en comparación con el valor promedio, junto con el hecho de la no significación global y que en escalones más bajos de T no se mantenga la tendencia, restan protagonismo a dicha variación.

Analizando cada experimento por separado, no se presentaron casos en los que la FrD de la zona normotérmica mostrara una correlación alta con la

temperatura de la zona modificada, o similar a la obtenida en esta última. Tan sólo en dos de los experimentos se obtuvo una correlación moderada ($r=0.706$ y $r=0.674$, $p<0.03$) —en zMOD, FrD se correlacionó bien con T en todos ellos ($r=0.912\pm 0.05$, $p<0.001$)—, que en este caso podría deberse a una ligera transmisión de las variaciones de temperatura, desde la zona modificada hasta la normotérmica.

A la vista de estos resultados, el análisis de las variaciones en la frecuencia de activación de la zona normotérmica no parece evidenciar afectación en ésta como consecuencia de lo ocurrido en la zona modificada, donde sí se producen cambios en la activación. Esta afirmación es compatible con la hipótesis de las múltiples ondas, pues el proceso de activación en el área abarcada por el electrodo convencional dependería fundamentalmente de las propiedades electrofisiológicas de dicha zona. Aún así, las limitaciones del estudio (densidad y número de electrodos, ubicación fija de los electrodos, no realización de mapas de activación en la zona modificada durante la FV, ...) no permiten descartar la existencia de conducción fibrilatoria en nuestro modelo. Hay que tener en cuenta que el electrodo modificador sólo cubre una parte del VI. Si el rotor responsable de la FV no se encontrara en esta zona, o estuviera localizado más cerca del endocardio que del epicardio, su frecuencia no se vería afectada por la temperatura del electrodo.

5.2 Capacidad de interrupción de la arritmia

La perpetuación de los procesos fibrilatorios se ha relacionado con la existencia de un número suficiente de frentes de onda reentrantes simultáneos que hacen posible que el proceso fibrilatorio no se extinga espontáneamente —teoría de las ondas múltiples de Moe [Moe 1962]—. Si disminuyera este número, aumentaría la probabilidad de cese, y esta disminución podría originarse si aumentara el tamaño de los circuitos reentrantes. El tamaño de estos circuitos se ha relacionado entre otros factores con la longitud de onda del proceso de

activación, y por tanto con la refractariedad y la velocidad de conducción. Éstos dos últimos parámetros se ven afectados por la temperatura [Mortensen *et al.* 1993, Bjornstad *et al.* 1994, Ujhelyi *et al.* 2001].

Por otra parte, se sabe que la hipotermia puede llegar a impedir el mantenimiento de la FV [Chorro *et al.* 2002]. Pero, a diferencia de lo que ocurre cuando se enfría de forma aguda y generalizada el ventrículo izquierdo desde el endocardio —o todo el corazón desde el sistema de perfusión—, en los experimentos de la presente investigación las modificaciones locales en el margen de temperaturas estudiado no ha demostrado, de forma reproducible, capacidad de interrupción de la arritmia. Este hecho puede estar relacionado con dos factores: el mantenimiento de la masa crítica necesaria para la perpetuación de la FV [Garrey 1914, Zipes *et al.* 1975, Kim *et al.* 1997], y el propio valor de temperatura obtenida. El área afectada por el enfriamiento selectivo de la superficie de contacto del epicardio con el electrodo, algo menos de la mitad de la correspondiente a la pared libre del ventrículo izquierdo, no debe ser suficiente para que se produzca la exclusión de la masa ventricular necesaria en el proceso de excitación. Por otra parte, en el modelo experimental utilizado, la mínima temperatura alcanzada (17 °C) corresponde tan solo al epicardio ventricular, estando el resto del corazón perfundido a 37 °C. Cuando en el estudio de Chorro *et al.* (2002) se detiene la FV, la temperatura epicárdica es de 20 °C, pero ésta es el resultado del enfriamiento global por conducción, desde el interior del ventrículo (inyección directa) o desde el propio flujo coronario (perfusión fría), zonas en las que, con probabilidad, la temperatura ha llegado a alcanzar valores sensiblemente menores.

Durante los experimentos de esta investigación, hubo dos casos en los que la fibrilación cesó mientras se efectuaba la reducción de temperatura —no así durante el control—. Éstos, que no fueron reproducibles, podrían consistir en ceses espontáneos no relacionados con este factor, de igual manera que en los ocurridos de manera esporádica en alguno de los experimentos, a los pocos

minutos de la inducción de la FV y en este caso sin existir cambio alguno en las condiciones de la preparación.

5.3 Variaciones en los parámetros electrofisiológicos provocadas por los cambios de temperatura

El análisis de la activación ventricular durante la FV es complejo debido a las características de la arritmia y a las limitaciones de las técnicas utilizadas. La fibrilación posee características tridimensionales, habiéndose observado patrones de activación variables en distintos planos al de la superficie epicárdica [Lee *et al.* 1996]. Además, durante la arritmia se produce la coexistencia de diferentes frentes de onda que acaban fragmentándose al colisionar entre sí o con las heterogeneidades del tejido, razones por las que la determinación experimental de parámetros como la velocidad de conducción y los períodos refractarios durante la FV es una labor ciertamente complicada, y presenta diversas limitaciones [Chorro *et al.* 2000a]. En el estudio objeto de esta Tesis Doctoral, se ha optado por analizar únicamente la influencia de la temperatura en los parámetros electrofisiológicos determinados durante la estimulación constante, puesto que su estimación resulta más fiable que la realizada durante la FV, y también éstos han sido relacionados con las características de la arritmia [Chorro *et al.* 2000a].

5.3.1 Variaciones de la refractariedad

En el presente estudio se ha observado que la modificación de la temperatura local del epicardio ejerce un efecto modulador sobre la FV en la zona afectada, con una correlación lineal entre la frecuencia de activación de la FV y la temperatura del epicardio. La frecuencia de activación de la FV se ha relacionado con la longitud de onda, pero sobre todo con el período refractario [Chorro *et al.* 2000a]. Por otra parte, se sabe que la hipotermia prolonga los períodos refractarios ventriculares [Sprung *et al.* 1995, Salama *et al.* 1998], efecto que ha sido atribuido a la ralentización de las corrientes iónicas responsables

de la repolarización [Herve *et al.* 1992, Kiyosue *et al.* 1993]. En consecuencia, el enlentecimiento o aceleración de la arritmia podría estar asociado con una modificación de este parámetro.

Efecto de la hipotermia

El alargamiento del período refractario efectivo por la hipotermia —no así el funcional— ha sido analizado con diferentes propósitos en modelos *in vivo* y aislados. Ujhelyi *et al.* (2001), en un estudio con cerdos en el que analizan los requerimientos energéticos de la desfibrilación, encuentran que una hipotermia global de 30 °C alarga el PRE entre un 5 % y un 15 %. Por su parte, Boersma *et al.* (2002), en una lámina aislada de tejido ventricular de conejo, registran una prolongación media del PRE de un 24 % al enfriar por debajo de 15 °C la zona central del tejido. Para disminuir la temperatura local y provocar así un gradiente de refractariedad que facilite la reentrada, utilizan una sonda metálica con circulación de agua fría —en su punta incluye 37 electrodos—, aunque no tienen un control exacto sobre la temperatura conseguida en el tejido. En el presente trabajo, al igual que en los estudios mencionados, en los que tanto el modelo experimental como el protocolo y las técnicas utilizadas son diferentes, se ha observado una prolongación significativa del PRE y el PRF con la hipotermia. El promedio de los incrementos porcentuales del PRE local durante la hipotermia máxima (22 °C-17 °C) ha sido 17±9 %, mientras que el del PRF —no analizado en ninguno de los estudios precedentes— ha aumentado 21±7 % respecto de los valores a temperatura basal. Además, el presente estudio ha permitido constatar la reversibilidad de dichos efectos, puesto que las diferencias remiten al regresar a la temperatura basal.

Efecto de la hipertermia

Se sabe que el calentamiento del miocardio acorta la fase de repolarización ventricular [Kuo *et al.* 1983, Kubota *et al.* 1988], y con ella la refractariedad del tejido, aunque la información disponible al respecto es muy escasa. Tachibana *et al.* (1999), en un estudio con perros anestesiados en el que intentan crear un

modelo reproducible para inducir la FV, registran un descenso significativo del PRE con la hipertermia moderada del ventrículo izquierdo (126 ± 13 ms, a 42°C , frente a 176 ± 34 ms, a 35°C). Nuestros resultados demuestran la existencia de este efecto en el corazón de conejo aislado, pues el promedio de las variaciones experimentadas por el PRE y el PRF durante la hipertermia ha sido $13 \pm 6\%$ y $12 \pm 6\%$, respectivamente.

Afectación de la zona normotérmica

Los resultados durante la estimulación con tren base muestran claramente los efectos de las variaciones locales de la temperatura en la zona que se modifica, pero, al igual que ocurriera con la frecuencia de activación de la FV, el valor promedio de los períodos refractarios de la llamada zona normotérmica sufre una ligera desviación en el mismo sentido que los de la zona modificada (aunque muy atenuada en comparación con aquella). En el caso del PRE y el PRF durante la hipotermia (no así durante la hipertermia), estas desviaciones se convierten en diferencias significativas. De la misma manera, en el estudio de Boersma *et al.* (2002), los autores también registraron en la mitad de los experimentos un pequeño, pero significativo, incremento del PRE —se encontraba entre 5 y 15 ms, similar, por tanto, a nuestro caso—. Se sugirió entonces que esta circunstancia podía ser debida a la transmisión parcial del enfriamiento local. Este efecto también podría estar presente en nuestro trabajo, donde varios factores —desproporción en la prolongación de los períodos refractarios de ambas zonas, aparición de diferencias interzonas altas y significativas sólo durante las modificaciones de temperatura, estimación de la refractariedad a la temperatura más baja (por tanto con mayor probabilidad de transmisión), medida de la temperatura de la zona normotérmica en un único punto— sugieren el hecho de que, pese a las leves diferencias registradas en la llamada zona normotérmica, los cambios en la refractariedad se circunscriben al área cuya temperatura se modifica.

5.3.2 Variaciones de la velocidad de conducción

Son escasos los trabajos en los que se ha abordado la cuantificación de las modificaciones de la velocidad de conducción del proceso de activación miocárdica por efecto de las variaciones de temperatura, aunque también se han aportado datos indirectos relacionando este parámetro con la duración del intervalo QT, o la del complejo QRS [Ujhelyi *et al.* 2001]. A pesar de la limitación de los datos, los resultados de estos estudios —realizados con diferentes técnicas y en modelos experimentales distintos al nuestro— sugieren la existencia de una dependencia directa de la VC con la temperatura de la preparación.

En nuestro trabajo, al igual que ocurriera con los períodos refractarios, las velocidades de conducción fueron determinadas a la temperatura basal y durante la hipotermia máxima e hipertermia local. La hipotermia local (22 °C-17 °C) ha dado lugar a una disminución de la VC en la zona modificada de un 27 %, mientras que la hipertermia ha originado un aumento de un 13%, si bien en este último caso con menor significación estadística. Comparando con otros trabajos, Smeets *et al.* (1986) observaron una disminución del 38 % en la VC respecto de su valor a temperatura basal, al enfriar a 27 °C tejido auricular de conejo. Un resultado similar fue el aportado por Nygren *et al.* (2003), que, en ventrículos de ratones enfriados a 32 °C, registraron velocidades de conducción menores en un 28% a las obtenidas a 37 °C. Por otra parte, los efectos del calentamiento sobre la velocidad de propagación del impulso eléctrico han sido analizados por Simmers *et al.* (1995) que, en preparaciones ventriculares de miocardio canino, registraron un incremento del 14% en la VC al perfundir el tejido a temperaturas entre 41.5 °C y 42.5 °C.

Las modificaciones sufridas por la velocidad de conducción, al igual que las de la refractariedad, se han mostrado reversibles en el modelo utilizado, puesto que al suspender las modificaciones locales de temperatura las

diferencias remitieron, presentando entonces la VC valores promedio muy similares a los registrados a la temperatura basal.

En cuanto a la zona normotérmica, no se han evidenciado variaciones significativas de la velocidad de conducción durante las modificaciones de temperatura de la otra zona. Si los cambios locales en la VC se explican por alteraciones en la dinámica de los canales iónicos de las células cardíacas que constituyen el tejido excitable, es lógico pensar que los cambios locales de temperatura no deben afectar al proceso de conducción de zonas cuya temperatura no se ve afectada.

5.3.3 Variaciones de la longitud de onda

La longitud de onda del proceso de activación se ha definido como la distancia recorrida por la onda de despolarización durante un tiempo igual al período refractario (Wiener & Rosenblueth 1946). Este parámetro representa por tanto la longitud que recorrerá la onda en el tiempo que tarda el tejido en volver a ser excitable. La facilidad en la inducción de arritmias basadas en reentradas funcionales se relaciona, entre otros factores, con este parámetro, como ha sido demostrado por Smeets *et al.* (1986) y Rensma *et al.* (1988) en tejido auricular. La disminución de la LO favorecería la coexistencia de ondas de activación simultáneas sustentadoras del proceso fibrilatorio, mientras que su prolongación tendría un efecto antiarrítmico, al aumentar el tamaño y disminuir el número de los circuitos reentrantes.

La velocidad de conducción del impulso eléctrico y la refractariedad del tejido se ven afectadas por la temperatura del miocardio. En consecuencia, las variaciones de estos parámetros podrían dar lugar a cambios significativos de la LO. Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran un aumento del PRF con la hipotermia, acompañado de una disminución paralela de la VC, en la zona modificada. Por el contrario, durante la hipertermia el PRF disminuye y la VC aumenta. Las acciones divergentes sobre ambos parámetros pueden conducir a resultados diversos sobre la LO —según el predominio de

los cambios sobre uno u otro—, como ha podido constatarse al analizar las modificaciones de la LO por acción de fármacos [Allessie *et al.* 1998, Chorro *et al.* 2000a], o por efecto de la dilatación ventricular [Chorro *et al.* 1998]. Las determinaciones que hemos efectuado con ciclos de 250 ms tras las modificaciones de temperatura, muestran una acción equilibrada y contrapuesta sobre ambos parámetros, por lo que no se obtienen modificaciones significativas en la LO en ninguna de las zonas analizadas. No obstante, esto no significaría necesariamente que la LO durante la FV no esté afectada por la hipotermia/hipertermia local. De hecho, Chorro *et al.* (2000a), al analizar el efecto de varios fármacos (flecainida, verapamil y sotalol) sobre el proceso de activación, observaron que la LO no sufría variaciones significativas durante la estimulación con tren base, pero en las determinaciones efectuadas durante la FV el predominio de la acción sobre la refractariedad conducía a un aumento significativo de la LO.

5.4 Relación entre la frecuencia de activación durante la FV y los parámetros electrofisiológicos

En el modelo utilizado, la hipotermia y la hipertermia local han modificado tanto la frecuencia de activación durante el proceso fibrilatorio como algunos de los parámetros electrofisiológicos determinados durante la estimulación con tren base, hechos que permiten analizar la relación existente entre los mismos. Los aumentos de la longitud de onda implican una reducción en el número de frentes de ondas originados durante los procesos fibrilatorios y una disminución de la frecuencia de activación durante este tipo de arritmias. Este hecho ha sido demostrado durante la fibrilación auricular [Wang *et al.* 1992]. En nuestro estudio se han encontrado correlaciones inversas y significativas entre la frecuencia de activación de la FV, determinada mediante análisis espectral, y los períodos refractarios efectivo y funcional durante la estimulación basal ($r=0.756$, $p<0.001$, y $r=0.765$, $p<0.001$). No ha existido, sin embargo, correlación significativa de la FrD con la longitud de onda, y aunque

el análisis de la correlación con la velocidad de conducción ha estado cercano a alcanzar significación estadística, el coeficiente de correlación ha sido bajo (signo positivo). Estos resultados son compatibles con los obtenidos en el estudio de Chorro *et al.* (2000a), en el que se analizaba cómo afectan ciertos fármacos a la frecuencia de activación. A pesar de haber realizado también la estimación de los parámetros durante la FV, estos autores encontraron correlaciones más altas de la FrD con los períodos refractarios—incluso con los obtenidos durante la estimulación con tren base— que con la LO o la VC. En nuestro caso, tras el análisis de correlación múltiple aplicado a los datos obtenidos, son las variables PRE y VC—obtenidas ambas durante estimulación basal—, en este orden, las que mejor predicen el valor de FrD de la FV. En el estudio anteriormente citado, fueron los períodos refractarios funcionales, determinados durante la FV y durante el tren base respectivamente, las variables independientes de la regresión.

Teniendo en cuenta las limitaciones metodológicas, y que no se ha trabajado exactamente con los mismos parámetros, la información obtenida en nuestra investigación reforzaría la teoría de que son las modificaciones en la refractariedad las mayores responsables de las variaciones de la frecuencia de activación durante la FV.

5.5 Limitaciones del estudio

El estudio de la frecuencia de la señal fibrilatoria efectuado en el presente trabajo está sujeto a las limitaciones de las técnicas empleadas en la obtención de los parámetros representativos. Es limitado tanto el tiempo de análisis de las señales como la resolución espacial conseguida, especialmente en la zona modificada, donde el número máximo de electrodos y la distancia mínima que los separa quedan acotados por la tecnología que se ha empleado en su fabricación.

En trabajos experimentales previos de similares características [Chorro *et al.* 1998], se ha comprobado que en el modelo experimental utilizado, si se mantiene la perfusión coronaria durante la arritmia, las características de la misma son estables y los parámetros obtenidos son reproducibles. Si bien es posible que durante los primeros segundos tras la modificación de la FV existan transitorios en la organización de la actividad eléctrica, razón por la que se ha esperado un tiempo antes del registro de las señales tras la estabilización de la temperatura.

El análisis del proceso fibrilatorio se efectúa en las zonas epicárdicas abarcadas por los electrodos múltiples, y no se obtiene información directa sobre el resto del miocardio. Por tanto, en relación con el tamaño de los electrodos, hay que considerar que pueden quedar fuera del análisis fenómenos que ocurran en áreas no exploradas. El hecho de que los electrodos sean epicárdicos limita la recogida de la información a la superficie de las paredes ventriculares. Esta limitación es común a la de diversos trabajos en los que se estudia la FV utilizando electrodos múltiples o sistemas ópticos. Además, cuando se interpretan los resultados obtenidos con sistemas de cartografía epicárdica, se ha de tener presente que el proceso fibrilatorio ventricular ocurre en un medio tridimensional. Por estos motivos, las conclusiones del estudio se refieren a las zonas analizadas.

Durante el protocolo utilizado, la localización en el ventrículo izquierdo del electrodo que modifica la temperatura, se ha mantenido fija. Esto limita las posibilidades de observación del hipotético fenómeno de conducción fibrilatoria desde la zona enfriada/calentada. Si el rotor madre responsable de la fibrilación, al que diversos trabajos le han atribuido cierta estabilidad espacial, tuviera una localización preferente en otras zonas del miocardio [Samie *et al.* 2001], quedaría lejos del área de influencia.

Aunque la temperatura de la llamada zona normotérmica ha sido registrada en su región fronteriza con el área modificada, y no se han

observado variaciones significativas, no puede descartarse totalmente la transmisión parcial de las modificaciones térmicas desde el área alterada, pues la medida se ha efectuado en un sólo punto del epicardio. De igual manera, se ha asumido que la temperatura de la zona modificada por el electrodo diseñado es uniforme.

Debido a la dificultad para la determinación precisa de los parámetros de refractariedad y velocidad de conducción durante la FV, puesta de manifiesto en los trabajos en los que se ha llevado a cabo [Chorro *et al.* 2000a], se ha optado por analizar únicamente el comportamiento de estos parámetros durante la estimulación con tren base, lo que supone una limitación en la información obtenida.

Finalmente, cabe resaltar que la extrapolación al ser humano de los resultados de una experimentación llevada a cabo con modelos animales, debería efectuarse teniendo en cuenta las diferencias interespecies.

Capítulo 6

Conclusiones

A continuación se resumen las principales conclusiones de la presente Tesis Doctoral, relacionándolas con los objetivos particulares expuestos para la misma en el capítulo 2.

1. *Desarrollar un sistema de modificación de la temperatura miocárdica, que permita provocar condiciones de hipotermia y de hipertermia controladas, circunscritas a una región limitada del tejido, en modelos de corazón aislado.*

Se ha diseñado, implementado y aplicado un método original que permite simultáneamente la modificación de la temperatura en un área limitada de la superficie epicárdica, la aplicación de estímulos y el registro de los electrogramas de dicha zona, en modelos de corazón aislado y perfundido de conejo. El sistema desarrollado permite fijar con rapidez la temperatura al valor deseado en la zona de contacto con el epicardio (en el margen de 17 °C a 42 °C) y estabilizarla durante el tiempo necesario. Durante la perfusión a temperatura basal (37 °C), estas modificaciones se realizan sin cambios significativos de temperatura en zonas distantes del epicardio o en el endocardio del ventrículo afectado. La aplicación de este dispositivo en un protocolo experimental ha permitido obtener los resultados cuyas conclusiones se relacionan a continuación.

2. *Empleando el anterior sistema en un modelo experimental de corazón aislado y perfundido de conejo...*
 - 2.1. *Analizar los efectos de la hipotermia y de la hipertermia sobre el intervalo de activación promedio (VV) y la frecuencia dominante de la FV (FrD).*

La hipertermia local acelera de manera reversible la activación durante la FV en la zona en la que se aplica, mientras que la hipotermia la enlentece. En el margen de 17 °C a 42 °C existe una relación lineal entre la FrD o el intervalo VV con la temperatura.

- 2.2. *Analizar los efectos de la hipotermia y de la hipertermia sobre los parámetros electrofisiológicos basales (velocidad de conducción, períodos refractarios y longitud de onda del proceso de activación miocárdico).*

Las variaciones locales de temperatura generan heterogeneidad en las propiedades electrofisiológicas cardíacas. La hipotermia local prolonga la refractariedad y disminuye la velocidad de conducción de manera reversible, mientras que la hipertermia posee el efecto contrario. Estas variaciones no se acompañan de modificaciones significativas en la longitud de onda del impulso cardíaco, debido a las acciones divergentes sobre el período refractario funcional y la velocidad de conducción.

- 2.3. *Analizar la relación entre la frecuencia dominante del proceso fibrilatorio ventricular, y los parámetros electrofisiológicos obtenidos durante la estimulación basal.*

Existe una relación directa entre la FrD de la FV y los períodos refractarios ventriculares obtenidos durante estimulación basal. Esto sugiere que son las modificaciones en la refractariedad las mayores responsables de las variaciones de la frecuencia de activación durante la FV.

- 2.4. *Determinar si los cambios locales de temperatura consiguen provocar modificaciones globales del proceso de activación durante la FV; es decir, si dichos cambios se transmiten hacia zonas normotérmicas.*

Las modificaciones locales de la frecuencia de activación inducidas por variaciones en la temperatura miocárdica no se propagan de manera significativa a otras zonas del tejido.

- 2.5. *Determinar si las modificaciones producidas por los cambios locales de temperatura pueden llegar a impedir el mantenimiento de la FV, provocando así el cese de la arritmia.*

A pesar del enlentecimiento experimentado por la FV en la pared posterior del VI, la hipotermia local de esta zona no consigue provocar modificaciones globales de la activación ni el cese de la arritmia.

Capítulo 7

Bibliografía

Abildskov 1994

Abildskov JA. Additions to the wavelet hypothesis of cardiac fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1994 Jun; 5(6):553-9

Acierno 1994

Acierno LJ. Historia de la Cardiología. Edika Med. Barcelona. 1994; 334-345

Aguinaga et al. 1998

Aguinaga L, Mont L, Anguera I, Valentino M, Matas M, Brugada J. Pacientes con cardiopatía estructural, síncope de etiología desconocida y arritmias ventriculares inducibles tratados con desfibrilador implantable. *Rev Esp Cardiol*. 1998; 51(7):566-71

AHA 2005

American Heart Association. Heart disease and stroke statistics - 2005 update. Technical report. American Heart Association. 2005

Akiyarna 1981

Akiyarna T. Intracellular recording of in situ ventricular cells during ventricular fibrillation. *Am J Physiol*. 1981; 240(4): H465-71

Allessie et al. 1973

Allessie MA, Bonke FIM, Schopman FJG. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. *Circ Res.* 1973; 33(1): 54-62

Allessie et al. 1976

Allessie MA, Bonke FIM, Schopman FJG. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia (II). The role of non uniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block as studied with multiple microelectrodes. *Circ Res.* 1976; 39(2): 168-77

Allessie et al. 1977

Allessie MA, Bonke FI, Schopman FJ. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia (III). The "leading circle" concept: a new model of circus movement in cardiac tissue without the involvement of an anatomical obstacle. *Circ Res.* 1977 Jul; 41(1):9-18

Allessie et al. 1985

Allessie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, Hollen J. Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife J eds. *Cardiac Arrhythmias*. New York: Grune & Stratton; 1985:265-76

Allessie et al. 1998

Allessie MA, Wijffels MC, Dorland R. Mechanisms of pharmacologic cardioversion of atrial fibrillation by Class I drugs. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1998 Aug; 9(8 Suppl):S69-77

Antzelevitch et al. 1999

Antzelevitch C, Yan GX, Shimizu W, Burashnikov A. Electrical heterogeneity, the ECG, and cardiac arrhythmias. In: *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside* (Zipes DP & Jalife J eds.), 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders. 1999. 222-38.

Arnaud et al. 2002

Arnaud C, Joyeux M, Garrel C, Godin-Ribuot D, Demenge P, Ribuot C. Free-radical production triggered by hyperthermia contributes to heat stress-induced cardioprotection in isolated rat hearts. *Br J Pharmacol.* 2002 Apr; 135(7):1776-82

Arora et al. 2003

Arora R, Das MK, Zipes DP, Wu J. Optical Mapping Of Cardiac Arrhythmias. *Indian Pacing Electrophysiol J.* 2003; 3(4):187-196

Aubert et al. 1994

Aubert AE, Denys BG, Ector H, De Geest H. Automatic detection of ventricular tachycardia and fibrillation using ECG processing and intramyocardial pressure measurement. *Comput Biomed Res.* 1994 Oct; 27(5):367-82

Aupetit et al. 1993

Aupetit JF, Timour Q, Chevrel G, Loufoua-Moundanga J, Omar S, Faucon G. Attenuation of the ischaemia-induced fall of electrical ventricular fibrillation threshold by a calcium antagonist, diltiazem. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1993 Nov; 348(5):509-14

Banville et al. 2002

Banville I, Gray RA. Effect of action potential duration and conduction velocity restitution and their spatial dispersion on alternans and the stability of arrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2002 Nov; 13(11):1141-9

Bardou et al. 1995

Bardou AL, Auger PM, Achour S, Dumeé P, Birkui PJ, Govaere MC. Effect of myocardial infarction and ischemia on induction of cardiac reentries and ventricular fibrillation. *Acta Biotheor.* 1995 Dec; 43(4):363-72

Bayés et al. 1989

Bayés de Luna A, Coumel P, Leclercq JF. Ambulatory sudden cardiac death: mechanisms of production of fatal arrhythmia on the basis of data from 150 cases. *Am Heart J* 1989; 117(1): 151-9

Bayly et al. 1993a

Bayly PV, Johnson EE, Idriss SF, Ideker RE, Smith WM. Efficient electrode spacing for examining spatial organization during ventricular fibrillation. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1993 Oct; 40(10):1060-6

Bayly et al. 1993b

Bayly PV, Johnson EE, Wolf PD, Greenside HS, Smith WM, Ideker RE. A quantitative measurement of spatial order in ventricular fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1993 Oct; 4(5):533-46

Berenfeld & Jalife 1998

Berenfeld O, Jalife J. Purkinje-muscle reentry as a mechanism of polymorphic ventricular arrhythmias in a 3-dimensional model of the ventricles. *Circ Res.* 1998 Jun 1; 82(10):1063-77

Berenfeld *et al.* 2000

Berenfeld O, Mandapati R, Dixit S, Skanes AC, Chen J, Mansour M, Jalife J. Spatially distributed dominant excitation frequencies reveal hidden organization in atrial fibrillation in the Langendorff-perfused sheep heart. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2000 Aug; 11(8):869-79

Berenfeld *et al.* 2003

Berenfeld O, Wellner M, Pertsov AM. Equilibration of scroll wave filaments in the ventricular wall and the minimal principle. *Int. J. Bifur. Chaos* 2003. 13 (12):3723-31

Bjornstad *et al.* 1991

Bjornstad H, Tande PM, Refsum H. Cardiac electrophysiology during hypothermia. Implications for medical treatment. *Arctic Med Res.* 1991; 50 Suppl 6:71-5

Bjornstad *et al.* 1993

Bjornstad H, Tande PM, Lathrop DA, Refsum H. Effects of temperature on cycle length dependent changes and restitution of action potential duration in guinea pig ventricular muscle. *Cardiovasc Res.* 1993 Jun; 27(6):946-50

Bjornstad *et al.* 1994

Bjornstad H, Mortensen E, Sager G, and Refsum H. Effect of bretylium tosylate on ventricular fibrillation threshold during hypothermia in dogs. *Am J Emerg Med.* 1994 Jul; 12(4):407-12

Boersma *et al.* 2002

Boersma L, Zetelaki Z, Brugada J, Allessie M. Polymorphic reentrant ventricular tachycardia in the isolated rabbit heart studied by high-density mapping. *Circulation.* 2002 Jun 25; 105(25):3053-61

Brendorp *et al.* 2003

Brendorp B, Pedersen OD, Elming H, Kober L, Torp-Pedersen C. Can antiarrhythmic drugs save lives in patients with congestive heart failure? *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2003 Jul; 1(2):191-202

Brown *et al.* 1991

Brown CG, Griffith RF, Van Ligten P, Hoekstra J, Nejrnan G, Mitchell L. Median frequency. A new parameter for predicting defibrillation success rate. *Ann Emerg Med.* 1991 Jul; 20(7):787-9.

Brugada et al. 1990

Brugada J, Boersma L, Kirchhof C, Brugada P, Havenith M, Wellens HJ, Allessie M. Double wave reentry as a mechanism of acceleration of ventricular tachycardia. *Circulation*. 1990 May; 81(5):1633-43

Cao et al. 1999

Cao JM, Qu Z, Kim YH, Wu TJ, Garfinkel A, Weiss JN, Karagueuzian HS, Chen PS. Spatiotemporal heterogeneity in the induction of ventricular fibrillation by rapid pacing: importance of cardiac restitution properties. *Circ Res*. 1999 Jun 11; 84(11):1318-31

Carlisle et al. 1990a

Carlisle EJ, Allen JD, Kernohan WG, Anderson J, Adgey AA. Fourier analysis of ventricular fibrillation of varied etiology. *Eur Heart J*. 1990 Feb; 11(2):173-81

Carlisle et al. 1990b

Carlisle EJ, Allen JD, Kernohan WG, Leahey W, Adgey AA. Pharmacological analysis of established ventricular fibrillation. *Br J Pharmacol*. 1990 Jul; 100(3):530-4.

Cha et al. 1997

Cha YM, Birgersdotter-Green U, Wolf PL, Peters BB, Chen PS. The mechanism of termination of reentrant activity in ventricular fibrillation. *Circ Res* 1994; 74: 495-506

Chamberlain 1998

Chamberlain DA. Antiarrhythmic drugs in resuscitation. *Heart*. 1998 Oct; 80(4):408-11

Chen et al. 1988

Chen PS, Wolf PD, Dixon EG, Danieley ND, Frazier DW, Smith WM, Ideker RE. Mechanism of ventricular vulnerability to single premature stimuli in open-chest dogs. *Circ Res*. 1988 Jun; 62(6):1191-209

Chen et al. 1990

Chen PS, Wolf PD, Melnick SD, Danieley ND, Smith WM, Ideker RE. Comparison of activation during ventricular fibrillation and following unsuccessful defibrillation shocks in open-chest dogs. *Circ Res*. 1990 Jun; 66(6):1544-60

Chen et al. 1998

Chen PS, Swerdlow CD, Hwang C, Karagueuzian HS. Current concepts of ventricular defibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1998 May; 9(5):553-62

Chen et al. 2000

Chen J, Mandapati R, Berenfeld O, Skanes AC, Jalife J. High-frequency periodic sources underlie ventricular fibrillation in the isolated rabbit heart. *Circ Res*. 2000 Jan 7-21; 86(1):86-93

Chen et al. 2003

Chen PS, Wu TJ, Ting CT, Karagueuzian HS, Garfinkel A, Lin SF, Weiss JN. A tale of two fibrillations. *Circulation*. 2003 Nov 11; 108(19):2298-303

Choi et al. 2001

Choi BR, Liu T, Salama G. The distribution of refractory periods influences the dynamics of ventricular fibrillation. *Circ Res*. 2001 Mar 16; 88(5):E49-58

Choi et al. 2002

Choi BR, Nho W, Liu T, Salama G. Life span of ventricular fibrillation frequencies. *Circ Res*. 2002 Aug 23; 91(4):339-45

Choi et al. 2003

Choi BR, Liu T, Lavasani M, Salama G. Fiber orientation and cell-cell coupling influence ventricular fibrillation dynamics. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2003 Aug; 14(8):851-60

Chorro et al. 1990

Chorro FJ, Kirchhof CJ, Brugada J, Allessie MA. Ventricular response during irregular atrial pacing and atrial fibrillation. *Am J Physiol*. 1990 Oct; 259(4):H1015-21

Chorro et al. 1996

Chorro FJ, Sanchez-Munoz JJ, Sanchis J, Cortina J, Bataller M, Guerrero J, Espi J, Ruiperez JA, Lopez-Merino V. Modifications in the evolution of the dominant frequency in ventricular fibrillation induced by amiodarone, diltiazem, and flecainide. An experimental study. *J Electrocardiol*. 1996 Oct; 29(4):319-26

Chorro et al. 1998

Chorro FJ, Egea S, Mainar L, Canoves J, Sanchis J, Llavador E, Lopez-Merino V, Such L. Modificaciones agudas de la longitud de onda del proceso de activación

auricular inducidas por la dilatación. Estudio experimental. *Rev Esp Cardiol* 1998; 51:874-83

Chorro et al. 1999

Chorro FJ, Egea S, Mainar L, Canoves J, Llavador E, Sanchis J, Such L, Lopez-Merino V. Reduction of atrial fibrillation inducibility by radiofrequency ablation: An experimental study. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1999 Mar; 22(3):421-36

Chorro et al. 2000a

Chorro FJ, Canoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Such L, Lopez-Merino V. Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol: an experimental study. *Circulation*. 2000 Apr 4; 101(13):1606-15

Chorro et al. 2000b

Chorro FJ, Canoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Soria E, Such LM, Rosado A, Such L, Lopez-Merino V. Opposite effects of myocardial stretch and verapamil on the complexity of the ventricular fibrillatory pattern: an experimental study. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2000 Nov; 23(11):1594-603

Chorro et al. 2002a

Chorro FJ, Guerrero J, Ferrero A, Tormos A, Mainar L, Millet J, Canoves J, Porres JC, Sanchis J, Lopez-Merino V, Such L. Effects of acute reduction of temperature on ventricular fibrillation activation patterns. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Dec; 283(6):H2331-40

Chorro et al. 2002b

Chorro FJ, Millet J, Ferrero A, Cebrian A, Canoves J, Martinez A, Mainar L, Porres JC, Sanchis J, Lopez Merino V, Such L. Effects of myocardial stretching on excitation frequencies determined by spectral analysis during ventricular fibrillation. *Rev Esp Cardiol*. 2002 Nov; 55(11):1143-50

Courtemanche et al. 1996

Courtemanche M, Keener J P, Glass L. A delay equation representation of pulse circulation on a ring of excitable media. *J Appl Math*. 1996. 56: 119-42

Curtis 1994

Curtis MJ. Chemical defibrillation in acute myocardial ischaemia: a hypothesis. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 1994 Jan-Mar; 5(1):1-17

Curtis 1998

Curtis MJ. Characterisation, utilisation and clinical relevance of isolated perfused heart models of ischaemia-induced ventricular fibrillation *Cardiovasc Res.* 1998 Jul; 39(1):194-215

Dae et al. 2002

Dae MW, Gao DW, Sessler DI, Chair K, Stillson CA. Effect of endovascular cooling on myocardial temperature, infarct size, and cardiac output in human-sized pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002 May; 282(5):H1584-91

Dalzell 1998

Dalzell GWN. Determinants of successful defibrillation. *Heart.* 1998 Oct; 80(4):405-7

Davidenko et al. 1990

Davidenko JM, Kent PF, Chialvo DR, Michaels DC, Jalife J. Sustained vortex-like waves in normal isolated ventricular muscle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990 Nov; 87(22):8785-9

Davidenko et al. 1992

Davidenko JM, Pertsov AV, Salomonsz R, Baxter W, Jalife J. Stationary and drifting spiral waves of excitation in isolated cardiac muscle. *Nature.* 1992 Jan 23; 355(6358):349-51

Davis 1993

Davis RF. Etiology and treatment of perioperative cardiac arrhythmias, *Cardiac Anesthesia* 3rd edition. Edited by Kaplan JA, Philadelphia, WB Saunders. 1993, 170-205

De Boer 1923

De Boer S. Die Physiologie und Pharmakologie des Flimmers. 1923; *Ergeb. Physiol* 1923; 21: 1

Dillon & Kwaku 1998

Dillon SM, Kwaku KF. Progressive depolarization: a unified hypothesis for defibrillation and fibrillation induction by shocks. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1998 May; 9(5):529-52

Dillon *et al.* 1988

Dillon SM, Allesie MA, Ursell PC, Wit AL. Influences of anisotropic tissue structure on reentrant circuits in the epicardial border zone of subacute canine infarcts. *Circ Res.* 1988 Jul; 63(1):182-206

Dorian & Newman 1993

Dorian P, Newman D. Effect of sotalol on ventricular fibrillation and defibrillation in humans. *Am J Cardiol.* 1993 Aug 12; 72(4):72A-79A

Dorian & Newman 1997

Dorian P, Newman D. Tedisamil increases coherence during ventricular fibrillation, and decreases defibrillation energy requirements. *Cardiovasc Res.* 1997 Feb; 33(2):485-94

Downar *et al.* 1988

Downar E, Harris L, Mickleborough LL, Shaikh N, Parson ID. Endocardial mapping of ventricular tachycardia in the intact human ventricle: evidence for reentrant mechanisms. *J Am Coll Cardiol.* 1988 Apr; 11(4):783-91

Efimov *et al.* 1994

Efimov IR, Huang DT, Rendt JM, Salama G. Optical mapping of repolarization and refractoriness from intact hearts. *Circulation.* 1994 Sep; 90(3):1469-80

El-Sherif *et al.* 1982

El-Sherif N, Mehra R, Gough WB, Zeiler RH. Ventricular activation patterns of spontaneous and induced rhythms in canine 1-day-old myocardial infarction. Evidence for focal and reentrant mechanisms. *Circ Res.* 1982 Aug; 51(2):152-66

Epstein *et al.* 1995

Epstein AE, Ideker RE. Ventricular fibrillation. In: *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside* (Zipes DP & Jalife J eds.), 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1995. 927-33.

Erichsen 1842

Erichsen JE. On the influence of the coronary circulation on the action of the heart. *London Med.* 1842; 2: 561-562

Erlanger 1912

Erlanger J. Observations on the physiology of Purkinje tissue. *Am J Physiol.* 30:395-419

Eshel *et al.* 1990

Eshel G, Safar P, Sassano J, Stezoski W. Hyperthermia-induced cardiac arrest in dogs and monkeys. *Resuscitation*. 1990 Oct; 20(2):129-43

Fenton *et al.* 2002

Fenton FH, Cherry EM, Hastings HM, Evans SJ. Multiple mechanisms of spiral wave breakup in a model of cardiac electrical activity. *Chaos*. 2002 Sep; 12(3):852-892

Gambassi *et al.* 1994

Gambassi G, Cerbai E, Pahor M, Capogrossi MC, Carbonin P, and Mugelli A. Temperature modulates calcium homeostasis and ventricular arrhythmias in myocardial preparations. *Cardiovasc Res*. 1994 Mar; 28(3):391-9.

Garfinkel *et al.* 2000

Garfinkel A, Kim YH, Voroshilovsky O, Qu Z, Kil JR, Lee MH, Karagueuzian HS, Weiss JN, Chen PS. Preventing ventricular fibrillation by flattening cardiac restitution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 May 23; 97(11):6061-6.

Garrey 1914

Garrey WE. The nature of fibrillatory contractions of the heart: its relation to tissue mass and form. *Am J Physiol* 1914; 33: 397-414

Geddes 1972

Geddes LA. *Electrodes and the measurements of bioelectric events*. Wiley Interscience. New York, 1972

Geddes 1984

Geddes LA. *Cardiovascular devices & their applications*. John Wiley & Sons. New York, 1984

Girouard & Rosenbaum 1996

Girouard SD, Rosenbaum DS. Unique properties of cardiac action potentials recorded with voltage-sensitive dyes. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1996 Nov; 7(11):1024-38

Girouard *et al.* 1996

Girouard SD, Pastore JM, Laurita KR, Gregory KW, Rosenbaum DS. Optical mapping in a new guinea pig model of ventricular tachycardia reveals mechanisms for multiple wavelengths in a single reentrant circuit. *Circulation*. 1996 Feb 1; 93(3):603-13

Goldstein et al. 1994

Goldstein S, Bayés de Luna A, Guindo J: Sudden death, Mounth Kisko. Futura Publishing Co. Inc.; New York, 1994

Gray et al. 1995a

Gray RA, Jalife J, Panfilov AV, Baxter WT, Cabo C, Davidenko JM, Pertsov AM. Mechanisms of cardiac fibrillation. *Science*. 1995 Nov 17; 270(5239):1222-3

Gray et al. 1995b

Gray RA, Jalife J, Panfilov A, Baxter WT, Cabo C, Davidenko JM, Pertsov AM. Nonstationary vortexlike reentrant activity as a mechanism of polymorphic ventricular tachycardia in the isolated rabbit heart. *Circulation*. 1995 May 1; 91(9):2454-69

Gray et al. 1998

Gray RA, Pertsov AM, Jalife J. Spatial and temporal organization during cardiac fibrillation. *Nature*. 1998 Mar 5; 392(6671):75-8

Guevara et al. 1984

Guevara MR, Ward G, Shrier A, Glass L. Electrical alternans and period doubling bifurcations. *Proceedings of the IEEE Computers in Cardiology*. 1984; 562: 167-170

Haissaguerre et al. 2002

Haissaguerre M, Shoda M, Jais P, Nogami A, Shah DC, Kautzner J, Arentz T, Kalushe D, Lamaison D, Griffith M, Cruz F, de Paola A, Gaita F, Hocini M, Garrigue S, Macle L, Weerasooriya R, Clementy J. Mapping and ablation of idiopathic ventricular fibrillation. *Circulation*. 2002 Aug 20; 106(8):962-7

Hale & Kloner 1999

Hale SL, Kloner RA: Myocardial hypothermia: A potential therapeutic technique for acute regional myocardial ischemia. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1999 Mar; 10(3):405-13

Han & Moe 1964

Han J, Moe GK. Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle. *Circ Res*. 1964 Jan; 14:44-60

Hao *et al.* 2004

Hao SC, Christini DJ, Stein KM, Jordan PN, Iwai S, Bramwell O, Markowitz SM, Mittal S, Lerman BB. Effect of beta-adrenergic blockade on dynamic electrical restitution in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004 Jul; 287(1):H390-4

Herve *et al.* 1992

Herve JC, Yamaoka K, Twist VW, Powell T, Ellory JC, Wang LC. Temperature dependence of electrophysiological properties of guinea pig and ground squirrel myocytes. *Am J Physiol.* 1992 Jul; 263(1):R177-84

Higashidate *et al.* 1987

Higashidate M, Takanashi Y, Fujiwara T, and Imay Y. A new method to induce topical cooling of the right atrium for treatment of supraventricular tachyarrhythmia: an experimental study. *Ann Thorac Surg.* 1987 Mar; 43(3):313-7

Hillsley *et al.* 1995

Hillsley RE, Bollacker KD, Simpson EV, Rollins DL, Yarger MD, Wolf PD, Smith WM, Ideker RE. Alteration of ventricular fibrillation by propranolol and isoproterenol detected by epicardial mapping with 506 electrodes. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1995 Jun; 6(6):471-85

Hoffman 1912

Hoffman A. Fibrillation of ventricles and the end of an attack of paroxysmal tachycardia in man. *Heart* 1912; 3: 213-8

Hoffman & Cranefield 1976

Hoffman BF, Cranefield PF. *Electrophysiology of the Heart.* Mount Kisco, NY: Futura, 1976, 95-8

Hogancamp *et al.* 1959

Hogancamp CE, Kardesch M, Danforth VM. Transmembrane electrical potentials in ventricular tachycardia and fibrillation. *Am Heart J* 1959; 57:214-222

Huang *et al.* 1998

Huang J, Rogers JM, Kenknight BH, Rollins DL, Smith WM, Ideker RE. Evolution of the organization of epicardial activation patterns during ventricular fibrillation. *Cardiovasc Electrophysiol.* 1998 Dec; 9(12):1291-1304

Hunter et al. 1997

Hunter PJ, Smail BH, Nielson PMF, LeGrice IJ. A mathematical model of cardiac anatomy. In: Computational biology of the heart (ed. Panfilov AV & Holden AV). Wiley 1997. 171-215

Ideker et al. 1981

Ideker RE, Klein GJ, Harrison L, Smith WM, Kasell J, Reimer KA, Wallace AG, Gallagher JJ. The transition to ventricular fibrillation induced by reperfusion after acute ischemia in the dog: a period of organized epicardial activation. *Circulation*. 1981 Jun; 63(6):1371-9

Indik et al. 2004

Indik JH, Donnerstein RL, Berg MD, Samson RA, Berg RA. Ventricular fibrillation frequency characteristics and time evolution in piglets: a developmental study. *Resuscitation*. 2004 Oct; 63(1):85-92

Jais et al. 1997

Jais P, Haissaguerre M, Shah DC, Chouairi S, Gencel L, Hocini M, Clementy J. A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation. *Circulation*. 1997 Feb 4;95(3):572-6

Jalife & Gray 1996

Jalife J, Gray RA. Drifting vortices of electrical waves underlie ventricular fibrillation in the rabbit heart. *Acta Physiol Scand*. 1996 Jun; 157(2):123-31.

Jalife et al. 1998a

Jalife J, Gray RA, Morley GE, Davidenko JM. Self organization and the dynamical nature of ventricular fibrillation. *Chaos*. 1998 Mar; 8(1):79-93

Jalife et al. 1998b

Jalife J, Berenfeld O, Skanes A, Mandapati R. Mechanisms of atrial fibrillation: mother rotors or multiple daughter wavelets, or both? *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1998 Aug; 9(8 Suppl):S2-12

Jalife & Berenfeld 2004

Jalife J, Berenfeld O. Molecular mechanisms and global dynamics of fibrillation: an integrative approach to the underlying basis of vortex-like reentry. *J Theor Biol*. 2004 Oct 21; 230(4):475-87

Janse *et al.* 1995

Janse MJ, Wilms FJG, Coronel R. Ventricular fibrillation is not always due to multiple wavelet reentry. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1995 Jul; 6(7):512-21

Janse 1998

Janse MJ. Vulnerability to ventricular Fibrillation. *Chaos.* 1998 Mar; 8(1):149-156

Jetova & Krasteva 2004

Jekova I, Krasteva V. Real time detection of ventricular fibrillation and tachycardia. *Physiol Meas.* 2004 Oct; 25(5):1167-78.

Jetova & Mitev 2002

Jekova I, Mitev P. Detection of ventricular fibrillation and tachycardia from the surface ECG by a set of parameters acquired from four methods. *Physiol Meas.* 2002 Nov; 23(4):629-34

Jones *et al.* 1984

Jones DL, Klein GJ. Ventricular fibrillation: the importance of being coarse? *J Electrocardiol.* 1984 Oct; 17(4):393-9

KenKnight *et al.* 1995

KenKnight BH, Bayly PV, Gerstle RJ, Rollins DL, Wolf PD, Smith WM, Ideker RE. Regional capture of fibrillating ventricular myocardium. *Circ Res.* 1995 Oct; 77(4):849-55

Kern 1998

Kern KB. Public access defibrillation: a review. *Heart* 1998; 80:402-4

Kim *et al.* 1997

Kim YH, Garfinkel A, Ikeda T, Wu TJ, Athill CA, Weiss JN, Karagueuzian HS, Chen PS. Spatiotemporal complexity of ventricular fibrillation revealed by tissue mass reduction in isolated swine right ventricle. Further evidence for the quasiperiodic route to chaos hypothesis. *J Clin Invest.* 1997 Nov 15; 100(10):2486-500

Kirchhof *et al.* 1993

Kirchhof C, Chorro F, Scheffer GJ, Brugada J, Konings K, Zetelaki Z, Allessie M. Regional entrainment of atrial fibrillation studied by high-resolution mapping in open-chest dogs. *Circulation.* 1993 Aug; 88(2):736-49

Kiyosue et al. 1993

Kiyosue T, Arita M, Muramatsu H, Spindler AJ, and Noble D. Ionic mechanisms of action potential prolongation at low temperature in guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol*. 1993 Aug; 468:85-106

Koller et al. 1998

Koller ML, Riccio ML, Gilmour RF Jr. Dynamic restitution of action potential duration during electrical alternans and ventricular fibrillation. *Am J Physiol*. 1998 Nov; 275(5):H1635-42

Konings et al. 1994

Konings KT, Kirchhof CJ, Smeets JR, Wellens HJ, Penn OC, Allessie MA. High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. *Circulation*. 1994 Apr; 89(4):1665-80

Kubota et al. 1988

Kubota I, Lux RL, Burgess MJ, Abildskov JA. Activation sequence at the onset of arrhythmias induced by localized myocardial warming and programmed premature stimulation in dogs. *J Electrocardiol*. 1988 Nov; 21(4):345-54

Kuo et al. 1983

Kuo CS, Munakata K, Reddy P, Surawicz B. Characteristics and possible mechanisms of ventricular arrhythmias dependent on the dispersion of action potential durations. *Circulation*. 1983 Jun; 67(6):1356-67

Kwan et al. 1998

Kwan YY, Fan W, Hough D, Lee JJ, Fishbein MC, Karagueuzian HS, Chen PS. Effects of procainamide on wave-front dynamics during ventricular fibrillation in open-chest dogs. *Circulation*. 1998 May 12;97(18):1828-36

Langendorff 1895

Langendorff, O. Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. *Pflügers Arch*. 1895. 61:291-332

Langendorff 1903

Langendorff, O. Geschichtliche Betrachtungen zur Methode des überlebenden Warmblüterherzens. *Muench. Med. Wochenschr* 1903. 50:508-9

Lee et al. 1996

Lee JJ, Kamjoo K, Hough D, Hwang C, Fan W, Fishbein MC, Bonometti C, Ikeda T, Karagueuzian HS, Chen PS. Reentrant wave fronts in Wiggers' stage II

ventricular fibrillation: Characteristics, and mechanisms of termination and spontaneous regeneration. *Circ Res.* 1996 Apr; 78(4):660-75

Levy & Lewis 1911

Levy AG, Lewis T. Heart irregularities, resulting from the inhalation of low percentages of chloroform vapour, and their relationship to ventricular fibrillation. *Heart* 1911; 3:99-112

Lewis 1915

Lewis T. *Lectures on the Heart*. New York: Hoeber. 1915

Liu *et al.* 1991

Liu B, Arlock P, Wohlfart B, Johansson BW. Temperature effects on the Na and Ca currents in rat and hedgehog ventricular muscle. *Cryobiology.* 1991 Feb; 28(1):96-104

Liu *et al.* 2004

Liu YB, Pak HN, Lamp ST, Okuyama Y, Hayashi H, Wu TJ, Weiss JN, Chen PS, Lin SF. Coexistence of two types of ventricular fibrillation during acute regional ischemia in rabbit ventricle. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2004 Dec; 15(12):1433-40

Livshitz *et al.* 2005

Livshitz L, Decker K, Faber G, O'hara T, Silva J, Rudy Y, Ten Tusscher KH, Noble D, Noble PJ, Panfilov AV. Comments on "A model for human ventricular tissue". *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005 Jan; 288(1):H453

Luo & Rudy 1994

Luo CH, Rudy Y. A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. II. Afterdepolarizations, triggered activity, and potentiation. *Circ Res.* 1994 Jun; 74(6):1097-113

Madrid *et al.* 1998

Madrid AH, Cinca J, Moro C. Registro nacional de desfibriladores automáticos implantables en 1996. *Rev Esp Cardiol.* 1998; 51:349-355

Martin *et al.* 1984

Martin G, Cosin J, Such M. The evaluation of ECG power spectrum during ventricular fibrillation. *Eur Heart J* 1984; 5:356-363

Martín-Huerta *et al.* 1994

Martín-Huerta E, Moro Serrano C, Novo L, Madrid AH, Lage J, Mestre IL. Implante pectoral de desfibrilador automático por cardiólogos en un laboratorio de electrofisiología. *Rev Esp Cardiol* 1994; 47:706-709

McWilliam 1887

McWilliam JA. Fibrillar contraction of the heart. *J Physiol* 1887; 8:296

McWilliam 1889

McWilliam JA. Electrical stimulation of the heart in man. *Br Med J.* 1889; 1:348

MedlinePlus 2004

MedlinePlus encyclopedia. US National Library of Medicine. 2004. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/encyclopedia.html>

Miki *et al.* 1998

Miki T, Liu G, Cohen M, and Downey J. Mild hypothermia reduces infarct size in the beating rabbit heart. A practical intervention for acute myocardial infarction? *Basic Res Cardiol.* 1998 Oct; 93(5):372-83

Mines 1913

Mines GR. On dynamic equilibrium in the heart. *J Physiol* 1913; 46:349-83

Mines 1914

Mines GR. On circulating excitation in heart muscles and their possible relation to tachycardia and fibrillation. *Trans R Soc Can (Section IV).* 1914; 43-52

Moe *et al.* 1941

Moe GK, Harris S, Wiggers CJ. Analysis of the initiation of fibrillation by electrocardiographic studies. *Am J Physiol.* 1941; 134: 473-87

Moe 1956

Moe GK. Introductory remarks to part III of experimental methods for the evaluation of drugs in various disease states. *Ann NY Acad Sci.* 1956; 64: 540-2

Moe 1962

Moe GK. On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1962; 140: 183-188

Moe et al. 1964

Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA. A computer model of atrial fibrillation. *Am Heart J.* 1964; 67: 200-20

Moe & Abildskov 1959

Moe GK, Abildskov JA. Atrial Fibrillation as a self-sustained arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J.* 1959. 58:59-70

Moghe et al. 2000

Moghe SA, Qu F, Leonelli FM, Patwardhan AR. Time-frequency representation of epicardial electrograms during ventricular fibrillation. *Biomed Sci Instrum.* 2000; 36:45-50

Mortensen et al. 1993

Mortensen E, Berntsen R, Tveita T, Lathrop DA, and Refsum H. Changes in ventricular fibrillation threshold during acute hypothermia. A model for future studies. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 1993 Oct-Dec; 4(4):313-9

Mouritzen & Andersen 1966

Mouritzen CV and Andersen MN. Mechanisms of ventricular fibrillation during hypothermia. Relative changes in myocardial refractory period and conduction velocity. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1966 Apr; 51(4):579-84

Myerburg et al. 1990

Myerburg R., Kessler KM, Interin A, Fernandez P, Kimura S, Kozlovskis PL, Furukawa T, Bassett AL, Castellanos A. Clinical and experimental pathophysiology of sudden cardiac death. In: *Cardiac Electrophysiology* DP Zipes, J Jalife (eds): Saunders, Philadelphia and London. 1990; 666-77

Nishida et al. 2004

Nishida K, Fujiki A, Mizumaki K, Sakabe M, Sugao M, Tsuneda T, Inoue H. Canine model of Brugada syndrome using regional epicardial cooling of the right ventricular outflow tract. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2004 Aug; 15(8):936-41

Nolasco & Dahlen 1968

Nolasco J, Dahlen R. A graphic method for the study of alternation in cardiac action potentials. *J Appl Physiol.* 1968. 25:191-6

Nygards & Hulting 1977

Nygards, ME, Hulting J. Recognition of ventricular fibrillation from the power spectrum of the ECG. Proceedings of the IEEE Computers in Cardiology. 1977; 393-7

Nygren *et al.* 2003

Nygren A, Kondo C, Clark RB, Giles WR. Voltage-sensitive dye mapping in Langendorff-perfused rat hearts. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003 Mar;284(3):H892-902

Packer 2004

Packer DL. Evolution of mapping and anatomic imaging of cardiac arrhythmias. J Cardiovasc Electrophysiol. 2004 Jul; 15(7):839-54

Pak *et al.* 2003

Pak HN, Oh YS, Liu YB, Wu TJ, Karagueuzian HS, Lin SF, Chen PS. Catheter ablation of ventricular fibrillation in rabbit ventricles treated with beta-blockers. Circulation. 2003 Dec 23; 108(25):3149-56.

Panfilov & Holden 1990

Panfilov AV, Holden AV. Self-generation of turbulent vortices in a two-dimensional model of cardiac tissue. Phys Lett. 1990. A147:463-6

Panfilov & Hogeweg 1995

Panfilov AV, Hogeweg P. Mechanisms of cardiac Fibrillation. Science. 1995 Nov 17; 270(5239):1223-4

Panfilov & Hogeweg 1996

Panfilov AV, Hogeweg P. Scroll breakup in a three-dimensional excitable medium Phys Rev. 1996 Feb; 53(2):1740-3

Panfilov 1999a

Panfilov AV. Three-dimensional organization of electrical turbulence in the heart. Phys Rev. 1999. E59:R6251-4

Panfilov 1999b

Panfilov, A. V. Three-dimensional wave propagation in mathematical models of ventricular fibrillation. In: Cardiac electrophysiology: from cell to bedside (Zipes DP & Jalife J eds.), 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1999. 271-7

Panfilov & Pertsov 2001

Panfilov AV, Pertsov AM. Ventricular fibrillation: evolution of the multiple-wavelet hypothesis. *Phil Trans R Soc Lond.* 2001. 359:1315-25

Patwardhan *et al.* 2000

Patwardhan A, Moghe S, Wang K, Leonelli F. Frequency modulation within electrocardiograms during ventricular fibrillation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Aug; 279(2):H825-35

Pfammatter *et al.* 1995

Pfammatter JP, Paul T, Ziemer G, and Kallfelz HC. Successful management of junctional tachycardia by hypothermia after cardiac operations in infants. *Ann Thorac Surg.* 1995 Sep; 60(3):556-60.

Pogwizd & Corr 1987

Pogwizd SM, Corr PB. Electrophysiologic mechanisms underlying arrhythmias due to reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation.* 1987 Aug; 76(2):404-26

Qu *et al.* 1999

Qu Z, Weiss JN, Garfinkel A. Cardiac electrical restitution properties and stability of reentrant spiral waves: a simulation study. *Am J Physiol.* 1999 Jan; 276(1):H269-83

Qu *et al.* 2000

Qu F, Moghe SA, Leonelli FM, Patwardhan AR. Time averaged spatial distribution of epicardial dominant frequencies during ventricular fibrillation. *Biomed Sci Instrum.* 2000; 36:379-83

Rensma *et al.* 1988

Rensma PL, Allessie MA, Lammers WJ, Bonke FI, Schalij MJ. Length of excitation wave and susceptibility to reentrant atrial arrhythmias in normal conscious dogs. *Circ Res.* 1988 Feb;62(2):395-410

Riccio *et al.* 1999

Riccio ML, Koller ML, Gilmour RF. Electrical restitution and spatiotemporal organization during ventricular fibrillation. *Circ Res.* 1999 Apr 30;84(8):955-63

Rodríguez-Font *et al.* 1999

Rodríguez Font E, Viñolas Prat X. Muerte súbita (III). Causas de muerte súbita. Problemas a la hora de establecer y clasificar los tipos de muerte súbita. *Rev Esp Cardiol* 1999; 52:1004-1014

Rogers et al. 1999

Rogers JM, Huang J, Smith WM, Ideker RE. Incidence, evolution, and spatial distribution of functional reentry during ventricular fibrillation in pigs. *Circ Res.* 1999 Apr 30; 84(8):945-54

Rogers et al. 2003

Rogers JM, Huang J, Melnick SB, Ideker RE. Sustained reentry in the left ventricle of fibrillating pig hearts. *Circ Res.* 2003 Mar 21; 92(5):539-45

Ropella 2001

Ropella KM. Frequency domain analysis of endocardial signals. *Ann Ist Super Sanita.* 2001; 37(3):351-9

Rosenbaum & Jalife 2001

Optical mapping of cardiac excitation and arrhythmias. Rosenbaum DS & Jalife J eds. Armonk, New York. Editorial Futura Publishing Co. Inc. 2001

Salama et al. 1998

Salama G, Kanai AJ, Huang D, Efimov IR, Girouard SD, Rosenbaum DS. Hypoxia and hypothermia enhance spatial heterogeneities of repolarization in guinea pig hearts: analysis of spatial autocorrelation of optically recorded action potential durations. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1998 Feb; 9(2):164-83

Samie et al. 2001

Samie FH, Berenfeld O, Anumonwo J, Mironov SF, Udassi S, Beaumont J, Taffet S, Pertsov AM, Jalife J. Rectification of the background potassium current: a determinant of rotor dynamics in ventricular fibrillation. *Circ Res.* 2001 Dec 7; 89(12):1216-23

Sanjuan et al. 1994

Sanjuan R, Morell S, Ruiz R, Ibanez M, Cortina J, Vicente Monmeneu J, Valls A, Blasco M, Garcia Civera R, Botella S. Incidencia y significado de los potenciales tardíos en pacientes con muerte súbita abortada. *Rev Esp Cardiol.* 1994; 47:157-154

Sano et al. 1958

Sano T, Tsuchihasih R, Shimamoto T. Ventricular fibrillation studied by the microelectrode method. *Circ Res.* 1958 Jan; 6(1):41-6

Schalij *et al.* 1992

Schalij MJ; Lammers WJE, Rensma PL, Allessie MA. Anisotropic conduction and reentry in perfused epicardium of rabbit left ventricle. *Am J Physiol.* 1992 Nov; 263(5):H1466-78

Scherf & Schott 1953

Scherf D, Schott A. *Extrasystoles and Allied Arrhythmias.* New York: Grune & Stratton. 1953; 342-55

Schwartz *et al.* 2001

Schwartz DS, Bremner RM, Baker CJ, Uppal KM, Barr ML, Cohen RG, Starnes VA. Regional topical hypothermia of the beating heart: preservation of function and tissue. *Ann Thorac Surg.* 2001 Sep; 72(3):804-9

Shenasa *et al.* 1996

Shenasa M, Borggreffe M, Breithardt G, Haverkamp W, Hindricks G Cardiac mapping. New York: Futura Publishing Co. Inc. 1996

Simmers *et al.* 1995

Simmers TA, De Bakker JM, Wittkampf FH, Hauer RN. Effects of heating on impulse propagation in superfused canine myocardium. *J Am Coll Cardiol.* 1995 May;25(6):1457-64

Smeets *et al.* 1986

Smeets JLRM, Allessie MA, Lammers JEP, Bonke FIM, Hollen J. The wavelength of the cardiac impulse and reentrant arrhythmias in isolated rabbit atrium: the role of heart rate, autonomic transmitters, temperature, and potassium. *Circ Res.* 1986 Jan; 58(1):96-108

Spear & Moore 1998

Spear JF, Moore EN. Modulation of quinidine-induced arrhythmias by temperature in perfused rabbit heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1998 Mar; 274(3):H817-28

Sprung *et al.* 1995

Sprung J, Laszlo A, Turner LA, Kampine JP, and Bosnjak ZJ. Effects of hypothermia, potassium and verapamil on the action potential characteristics of canine cardiac Purkinje fibers. *Anesthesiology.* 1995 Mar; 82(3):713-22

Stephenson 2004

Stephenson E. Ventricular Fibrillation. eMedicine Journal serial online . 2004. Available at: <http://www.emedicine.com/ped/topic2398.htm>. Accessed Dec. 7, 2004

Strohmenger et al. 1994

Strohmenger HU, Lindner KH, Lurie KG, Welz A, Georgieff M. Frequency of ventricular fibrillation as a predictor of defibrillation success during cardiac surgery. *Anesth Analg*. 1994 Sep; 79(3):434-8

Strohmenger et al. 1997

Strohmenger HU, Lindner KH, Brown CG. Analysis of the ventricular fibrillation ECG signal amplitude and frequency parameters as predictors of countershock success in humans. *Chest*. 1997 Mar; 111(3): 584-589

Swartz et al. 1993

Swartz JF, Jones JL, Fletcher RD. Characterization of ventricular fibrillation based on monophasic action potential morphology in the human heart. *Circulation*. 1993 Jun; 87(6):1907-14

Swissa et al. 2002

Swissa M, Qu Z, Ohara T, Lee MH, Lin SF, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Weiss JN, Chen PS. Action potential duration restitution and ventricular fibrillation due to rapid focal excitation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 May; 282(5):H1915-23

Tachibana et al. 1999

Tachibana H, Kubota I, Yamaki M, Watanabe T, and Tomoike H. Canine model of ventricular fibrillation using programmed stimuli and localized myocardial warming or cooling. *Jpn Heart J*. 1999 Mar; 40(2):179-88

Thakor et al. 1990

Thakor NV, Zhu YS, Pan KY. Ventricular tachycardia and fibrillation detection by a sequential hypothesis testing algorithm. *IEEE Trans Biomed Eng*. 1990 Sep; 37(9):837-43

Tovar & Jones 1997

Tovar OH, Jones JL. Epinephrine facilitates cardiac fibrillation by shortening action potential refractoriness. *J Mol Cell Cardiol*. 1997 May; 29(5):1447-55.

Towne et al. 1972

Towne ED, Geiss WP, Yanes HO, Rahimtoola SH. Intractable ventricular fibrillation associated with profound hypothermia. Successful treatment with partial cardiopulmonary bypass. *N Engl J Med.* 1972 Nov 30; 287(22):1135-6

Tusscher et al. 2004

Tusscher KH, Noble D, Noble PJ, Panfilov AV. A model for human ventricular tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004 Apr; 286(4):H1573-89

Ujhelyi et al. 2001

Ujhelyi MR, Sims JJ, Dubin SA, Vender J, and Miller AW. Defibrillation energy requirements and electrical heterogeneity during total body hypothermia. *Crit Care Med.* 2001 May; 29(5):1006-11

Valderrabano et al. 2002

Valderrabano M, Yang J, Omichi C, Kil J, Lamp ST, Qu Z, Lin SF, Karagueuzian HS, Garfinkel A, Chen PS, Weiss JN. Frequency analysis of ventricular fibrillation in Swine ventricles. *Circ Res.* 2002 Feb 8; 90(2):213-22

Vulpian 1874

Vulpian A. Notes sur les effets de la faradisation directe des ventricules du coeur chez le chien. *Arch Physiol Norm Path.* 1874; 6:975

Waldo 1998

Waldo AL. Low-energy atrial defibrillation: a promising new technique. *Circulation.* 1998 Sep 1; 98(9):833-4

Wang et al. 1992

Wang Z, Page P, Nattel S. Mechanism of flecainide's antiarrhythmic action in experimental atrial fibrillation. *Circ Res.* 1992 Aug; 71(2):271-87

Warren et al. 1996

Warren JA, Dreher RD, Jaworski RV, Putzke JJ, Russie RJ. Implantable Cardioverter Defibrillators. *Proceedings of the IEEE Computers in Cardiology.* 1996 Mar; 84(3): 468-79

Weaver et al. 1985

Weaver VY, Cobb LA, Dennis D, Roberta R, Alfred HP, Copass CK. Amplitude of ventricular fibrillation waveform and outcome after cardiac arrest. *Ann Intern Med.* 1985 Jan; 102(1): 53-5

Webster 1992

Webster JG (ed.). Medical instrumentation. Application and design. Boston: Houghton Mifflin Company, 1992

Weiner & Rosenblueth 1946

Weiner N, Rosenblueth A. The mathematical formulation of the problem of conduction of impulses in a network of connected excitable elements, specifically in cardiac muscle. Arch Inst Cardiol Mex. 1946; 16:205-65

Weiss *et al.* 1999

Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Qu Z, Chen PS. Chaos and the transition to ventricular fibrillation. A new approach to antiarrhythmic drug evaluation. Circulation. 1999 Jun; 99(21):2819-26

Weiss *et al.* 2002

Weiss JN, Chen PS, Qu Z, Karagueuzian HS, Lin SF, and Garfinkel A. Electrical restitution and cardiac fibrillation. Cardiovasc Electrophysiol. 2002 Mar; 13(3):292-5

Welch 1967

Welch, PD. The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: a method based on time averaging over short, modified periodograms. IEEE Trans Audio Electroacoust. 1967; 15:70-73

Wellner *et al.* 2002

Wellner M, Berenfeld O, Jalife J, Pertsov AM. Minimal principle for rotor filaments. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Jun 11; 99(12):8015-8

Wiener & Rosenblueth 1946

Wiener N, Rosenblueth A. The mathematical formulation of the problem of conduction of impulses in a network of connected excitable elements, specifically in cardiac muscle. Arch Inst Cardiol Mex 1946; 16:205-65

Wiggers & Wegria 1940

Wiggers CJ, Wegria R. Ventricular fibrillation due to single localized induction and condenser shocks applied during the vulnerable phase of ventricular systole. Am J Physiol 1940; 128:500-3

Wiggers 1940

Wiggers CJ. The mechanism and nature of ventricular fibrillation. Am Heart J. 1940; 20:399-412

Wiggers *et al.* 1930

Wiggers CJ, Bell JR, Paine M. Studies of ventricular fibrillation produced by electric shock: II. Cinematographic and electrocardiographic observations on the natural process in the dog's heart: its inhibition by potassium and the revival of coordinated beats by calcium. *Am Heart J.* 1930; 5:351-65

Winfree 1989

Winfree AT. Electrical instability in cardiac muscle: phase singularities and rotors. *J Theor Biol.* 1989 Jun 8; 138(3):353-405

Winfree 1993

Winfree AT. How does ventricular tachycardia decay into ventricular fibrillation? In: *Cardiac Mapping*. Shenassa M, Borggrefe M. eds. Mount Kisco, NY: Futura Publishing Co. Inc.; 1993: 655-80

Wit & Hanse 1992

Wit AL, Janse MJ. Experimental models of ventricular tachycardia and fibrillation caused by ischemia and infarction. *Circulation* 1992; 85(Suppl 1): 132-42

Witkowski *et al.* 1998

Witkowski FX, Leon LJ, Penkoske PA, Giles WR, Spano ML, Ditto WL, Winfree AT. Spatiotemporal evolution of ventricular fibrillation. *Nature.* 1998 Mar 5; 392(6671):78-82

Wolk *et al.* 1999

Wolk P, Kane KA, Cobbe SM, Fecks XIN. Facilitation of spontaneous defibrillation by moxonidine during regional ischaemia in an isolated working rabbit heart model. *Eur J Pharmacol.* 1999 Feb 12; 367(1):25-32

Wu *et al.* 2002

Wu TJ, Lin SF, Weiss JN, Ting CT, Chen PS. Two types of ventricular fibrillation in isolated rabbit hearts: importance of excitability and action potential duration restitution. *Circulation.* 2002 Oct 1; 106(14):1859-66

Wu *et al.* 2004

Wu TJ, Lin SF, Baher A, Qu Z, Garfinkel A, Weiss JN, Ting CT, Chen PS. Mother rotors and the mechanisms of D600-induced type 2 ventricular fibrillation. *Circulation.* 2004 Oct 12; 110(15):2110-8

Xie *et al.* 2004

Xie F, Qu Z, Yang J, Baher A, Weiss JN, Garfinkel A. A simulation study of the effects of cardiac anatomy in ventricular fibrillation. *J Clin Invest.* 2004 Mar; 113(5):686-93

Yamashita *et al.* 1998

Yamashita N, Hoshida S, Taniguchi N, Kuzuya T, Hori M. Whole-body hyperthermia provides biphasic cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in the rat. *Circulation.* 1998 Oct 6; 98(14):1414-21

Zaitsev *et al.* 2000

Zaitsev AV, Berenfeld O, Mironov SF, Jalife J, Pertsov AM. Distribution of excitation frequencies on the epicardial and endocardial surfaces of fibrillating ventricular wall of the sheep heart. *Circ Res.* 2000 Mar 3; 86(4):408-17

Zaitsev *et al.* 2003

Zaitsev AV, Guha PK, Sarmast F, Kolli A, Berenfeld O, Pertsov AM, de Groot JR, Coronel R, Jalife J. Wavebreak formation during ventricular fibrillation in the isolated, regionally ischemic pig heart. *Circ Res.* 2003 Mar 21; 92(5):546-53

Zhou *et al.* 1992

Zhou X, Guse P, Wolf PD, Rollins DL, Smith WM, Ideker RE. Existence of both fast and slow channel activity during the early stage of ventricular fibrillation. *Circ Res.* 1992 Apr; 70(4):773-786

Zhou *et al.* 1993

Zhou X, Wolf PD, Rollins DL, Afework Y, Smith WM, Ideker RE. Effects of monophasic and biphasic shocks on action potentials during ventricular fibrillation in dogs. *Circ Res.* 1993 Aug; 73(2): 325-334

Zimmer 1998

Zimmer, HG. The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers. *News Physiol Sci.* 1998 Aug; 13:203-210

Zipes & Wellens 1998

Zipes DP, Wellens HJ. Sudden Cardiac death. *Circulation.* 1998 Nov 24; 98(21):2334-51

Zipes *et al.* 1975

Zipes DP, Fischer J, King RM, Nicoll AB, Jolly WW. Termination of ventricular fibrillation in dogs by depolarizing a critical amount of myocardium. *Am J Cardiol.* 1975 Jul; 36(1):37-44

Futuras líneas de trabajo

Las investigaciones realizadas durante una Tesis Doctoral están encaminadas a cumplir unos objetivos concretos que se plantean con antelación, y que acotan el estudio a realizar tanto en extensión como en profundidad. No obstante, es habitual que a lo largo de su realización se vislumbren diferentes líneas de investigación que, aún guardando relación con los trabajos realizados, quedan apartadas de los objetivos iniciales o fuera del ámbito de la tesis. Estas líneas de investigación, podrían dar lugar a nuevas tesis o trabajos de investigación.

A continuación se exponen algunas de las ideas que han ido surgiendo durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral, en las que podrían centrarse investigaciones futuras de interés. También los trabajos realizados en relación con los objetivos que se han formulado, son susceptibles de ser ampliados en un futuro.

1. La alteración de las propiedades electrofisiológicas del tejido cardíaco mediante modificaciones locales de temperatura, y el registro simultáneo de la actividad eléctrica de la zona afectada, han sido posibles gracias a la implementación del electrodo modificador de la temperatura. El desarrollo de electrodos con mayor densidad de puntos de registro —probablemente sería necesario emplear técnicas multicapa o tecnología *thin-film*—, facilitaría la aplicación de técnicas cartográficas de alta resolución que permitirían obtener mapas de activación o de frecuencias dominantes, durante la FV, en la zona analizada. De esta manera, se podrían investigar las modificaciones en los patrones de activación ventricular provocadas por los cambios locales de temperatura, o analizar la dinámica de los dominios de frecuencia como se hace en alguno de los trabajos citados en el capítulo de introducción. Además, el aumento en la resolución espacial facilitaría la estimación de los parámetros electrofisiológicos durante la propia fibrilación con suficientes garantías.
2. Algunos trabajos recientes han encontrado evidencias experimentales, en modelos similares al empleado en este trabajo, de la existencia de un foco persistente de alta frecuencia durante la FV, lo que apoyaría la teoría del rotor madre. Este foco, responsable de la arritmia, estaría localizado en alguna zona del ventrículo izquierdo. Sin embargo, los mecanismos de la FV aún son objeto de debate. En esta investigación, se ha analizado el efecto a distancia de las modificaciones de la frecuencia de activación local, pero el electrodo que modifica la temperatura ha mantenido invariante su localización en la misma región de la pared posterior del ventrículo izquierdo. En este sentido, sería interesante el establecimiento de nuevos protocolos en los que se ampliaran las probabilidades de observación del hipotético fenómeno de conducción fibrilatoria desde una zona del miocardio hacia el resto del tejido. Esto se conseguiría, por ejemplo, con distintas ubicaciones de la zona modificada, en cada experimento.

3. Con independencia de las mejoras en la resolución espacial de los mapas de activación, el sistema modificador de temperatura desarrollado en la presente Tesis Doctoral podría perfeccionarse y ampliarse con objeto de continuar investigando los efectos de las variaciones locales de temperatura en futuros experimentos. En este sentido:
- El control electrónico de la temperatura alcanzada en el tejido permitiría crear perfiles programados de variación, altamente reproducibles. Podrían establecerse protocolos para estudiar, por ejemplo, la dinámica de los cambios en la FV provocados por la hipotermia o la hipertermia, con objeto de profundizar en los mecanismos de la arritmia.
 - La temperatura de cada zona ha sido cuantificada en un solo punto, pero sería interesante disponer de mayor información. La integración de sensores de temperatura miniaturizados en el propio electrodo, permitiría obtener mapas de temperatura, pudiéndose entonces relacionar la distribución espacial de frecuencias con la de esta variable.
 - La perpetuación de los procesos fibrilatorios ha sido relacionada con la existencia de una masa mínima necesaria para sustentar la arritmia (masa crítica). Por otra parte, se ha demostrado que el enfriamiento agudo y global del corazón detiene la FV tras una fuerte depresión en la conducción del impulso. Con un sistema capaz de excluir del proceso fibrilatorio una cantidad variable de masa miocárdica (mediante la hipotermia local aguda), se podrían generar las condiciones necesarias para estudiar los mecanismos de cese de esta arritmia. Para ello, se podría diseñar un dispositivo que cubriera zonas extensas del epicardio ventricular, pudiéndose controlar de forma independiente la temperatura aplicada en cada una de ellas. Este

dispositivo podría estar basado en refrigeradores termoeléctricos u otros métodos de enfriamiento.

4. Las variaciones locales de la temperatura epicárdica han demostrado que modifican el patrón fibrilatorio de la zona afectada. Por ello, los efectos moduladores de la hipotermia y la hipertermia podrían utilizarse como una herramienta para ahondar en los mecanismos de acción de ciertos fármacos (tanto proarrítmicos como antiarrítmicos).
5. Aunque la hipotermia ha demostrado propiedades cardioprotectoras y se ha manifestado efectiva en la preservación de tejidos en condiciones traumáticas, varios estudios también la han asociado con un incremento en la susceptibilidad a arritmias ventriculares, y en particular a la FV. Por otra parte, la hipotermia aguda ha sido capaz de detener la fibrilación en modelos de corazón aislado como el utilizado. Puesto que los tratamientos con hipotermia pueden inducir arritmias ventriculares, interesa conocer hasta qué punto ésta puede facilitar o dificultar la desfibrilación. Puesto que no se ha indagado lo suficiente en este campo, sería interesante analizar la influencia de la hipotermia local sobre el umbral fibrilatorio o los requerimientos energéticos de la desfibrilación.

Publicaciones científicas

a las que esta Tesis Doctoral ha dado lugar

Congresos internacionales

Tormos A, Millet J, Such L, Chorro FJ. Effects of local temperature variation on ventricular fibrillation dominant frequency. Proceedings of the *IEEE Computers in Cardiology 2003*. Vol 30: pp 497-500. Thessaloniki (Grecia). 21-24 Sep 2003

Tormos A, Millet J, Chorro FJ, Such L. Modifications in the Activation Process during Ventricular Fibrillation by Local Hyperthermia. Proceedings of the *IEEE Computers in Cardiology 2004*. Vol 31: pp 25-28. Boston (EEUU). 19-22 Sep 2004

Tormos A, Millet J, Chorro FJ, García E, Gil L, Ibáñez J. Thick-film Multielectrode Device for Thermal Modifications in Isolated Heart Experiments. *V Conference on Electronic Devices CDE-05*. Vol 5 (nº30): pp.1-4. Tarragona (España). 2-4 Feb 2005

Tormos A, Millet J, Chorro FJ, Such L, Cánoves J, Mainar L, Blasco E, Trapero I. Changes in Ventricular Refractoriness and Conduction Velocity induced by Local Hypothermia and Hyperthermia. *IEEE Computers in Cardiology 2005*. Aceptado. Lyon (Francia) Sep 2005

Congresos nacionales

Tormos A, Millet J, Chorro FJ, García E, Such L. Desarrollo de un Electrodo Múltiple en Tecnología Thick-film para Registros Específicos de Electrogramas en Experimentación In-vitro. *XX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*. Vol 20, pp 269-272. Zaragoza, 27-29 Nov 2002

Tormos A, Chorro FJ, Mainar L, Millet J, Moratal D, Blasco E, Trapero I, Such L Efectos de la Hipertermia Localizada Sobre la Activación Durante la Fibrilación Ventricular. *XXXIX Congreso nacional de la Sociedad Española de Cardiología*. Revista Española de Cardiología 2003 Vol. 56 (supl. 2) Sevilla, 15-18 Oct 2003

Tormos A, Chorro FJ, Trapero I, Such M. L, Mainar L, , Cánoves J, Millet J, Bodí V, Sanchís J, Such L. Temperatura y Frecuencia de Activación Durante la Fibrilación Ventricular. Efectos de la Hipotermia e Hipertermia Localizadas. *XXI Reunion de la Sociedad Valenciana de Cardiología*. Latido 2004. Vol 10 (nº2). Oropesa del Mar, 5-7 Mayo 2004

Tormos A, Millet J, Chorro FJ, Trapero I, Such M. L, Such B. L. Efecto de la Hipotermia y de la Hipertermia Local Sobre la Frecuencia de Activación de la Fibrilación Ventricular. Un Estudio Experimental. *XXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*. Vol 22, pp 375-378. Santiago de Compostela, 11-13 Nov 2004

Anexo

Tecnología "thick-film". Fabricación de los electrodos

Los electrodos utilizados en la fase experimental de esta investigación han sido desarrollados mediante la tecnología de fabricación de circuitos microelectrónicos híbridos de capa gruesa (*thick-film hybrid technology*). Las posibilidades de miniaturización y la alta conductividad térmica de los substratos fueron las razones fundamentales por las que se optó por esta solución. A pesar de tratarse de diseños de aparente simplicidad, los medios disponibles y las especiales características que debían reunir estos electrodos (tamaño, densidad, resolución, materiales, etc.) han convertido su implementación en una labor ciertamente delicada, prácticamente de artesanía. A continuación se describen de forma genérica los materiales que se utilizan y las etapas y procesos que se siguen en la fabricación de circuitos con esta

tecnología. La mayoría de las fotografías que se muestran corresponden a los equipos y materiales que se emplearon en el Laboratorio de Microelectrónica Híbrida del Departamento de Ingeniería Electrónica de la UPV durante la fabricación de estos electrodos.

La tecnología híbrida de capa gruesa consiste básicamente en dispensar, mediante técnicas serigráficas, pastas de distintas características eléctricas sobre sustratos aislantes, aplicando los correspondientes ciclos térmicos entre etapas para conseguir el endurecimiento de las capas y las propiedades nominales de los materiales. De esta manera, los dos componentes fundamentales de un sistema híbrido son las pastas o tintas y los sustratos.

Índice del anexo

A.1	SUBSTRATOS	215
A.2	TINTAS.....	218
A.2.1	Pastas conductoras de metales nobles	221
A.2.2	Pastas resistivas	222
A.2.3	Pastas dieléctricas.....	222
A.2.4	Pastas de metales no nobles	223
A.2.5	Pastas poliméricas	223
A.3	PROCESO DE FABRICACIÓN	224
A.3.1	Pantallas serigráficas.....	225
A.3.2	Serigrafía.....	241
A.3.3	Ciclo térmico	251
A.4	BIBLIOGRAFÍA.....	257

A.1 Substratos

El sustrato es el soporte donde se monta el sistema. Está compuesto por conductores, dieléctricos y componentes serigrafiados o montados. Su función es triple (*Tabla A.1*):

- Mecánica, como soporte del sistema.
- Eléctrica, pues es un aislante que permite la realización de pistas y componentes pasivos.
- Térmica, pues es el medio para disipar el calor del sistema.

Tabla A.1 Propiedades de los sustratos

Características mecánicas	
✓ Elevada dureza.	✓ Baja porosidad y alta pureza.
✓ Coeficiente de expansión térmica similar al del silicio.	✓ Pequeña rugosidad y alta planaridad.
Características eléctricas	
✓ Alta rigidez dieléctrica.	✓ Elevada tangente de pérdidas.
✓ Alta resistencia de aislamiento.	✓ Baja constante dieléctrica.
Características térmicas	
✓ Elevada estabilidad térmica.	✓ Elevada conductividad térmica.
Otras características	
✓ Alta resistencia química.	✓ Bajo coste.
✓ Químicamente inerte.	

Existen diferentes tipos de sustratos. En función de sus características:

CERÁMICOS

- Alta resistencia mecánica.
- Alta resistencia al calor.
- Alta resistencia a la corrosión.
- Buena disipación térmica.

ACERO ESMALTADO

- Alta resistencia mecánica.
- Buena disipación térmica.

POLIMÉRICOS

- Muy baratos.
- Flexibles.

Los substratos más habituales en microelectrónica híbrida son:

Alúmina (óxido de aluminio Al_2O_3) al 96 % o 99 %. Es el substrato más utilizado por sus buenas características y bajo coste, por lo que se empleó para la fabricación de los electrodos desarrollados para esta investigación. Su conductividad térmica se sitúa entre $26 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ y $35 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$, a $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

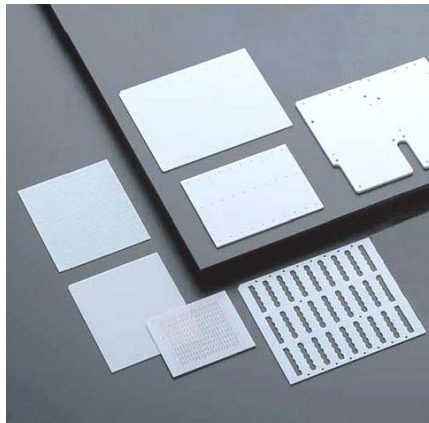


Figura A.1 Substratos de Alúmina, de Kyocera®

Green Tape multicapa co-fired. Es una cerámica en fase húmeda semirrigida que se emplea normalmente para realizar sistemas multicapa.

Óxido de berilio. Cerámica de excelente disipación térmica, pero tóxica y cara.

Nitruro de Aluminio. Tiene una conductividad térmica entre la de la alúmina y la del óxido de berilio. Posee la desventaja de que su superficie se oxida durante el quemado y deben emplearse pastas específicas para este tipo de substrato. La característica mecánica que le diferencia de otros substratos es la

posibilidad de mecanizado. Se empleó en la fase preliminar de esta investigación para la fabricación de un electrodo múltiple, mediante taladrado e inserción de conductores.

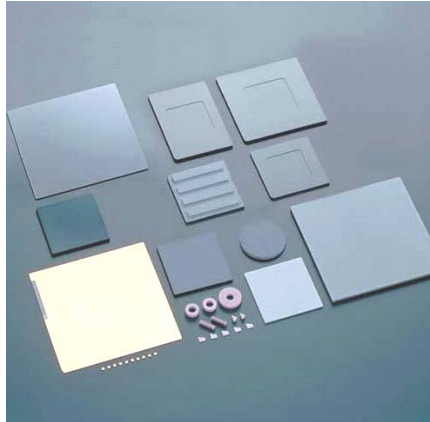


Figura A.2 Substratos de Nitruro de Aluminio, de Kyocera®

Carburo de Silicio. Tiene una conductividad térmica muy buena, pero también deben emplearse pastas específicas.

Mullite. Es una combinación de alúmina y silicio. Es cara.

Acero esmaltado. Es una base de acero revestido de un esmalte aislante. Constituye una buena alternativa a la alúmina en ciertas aplicaciones con esfuerzos mecánicos. Es un substrato económico.

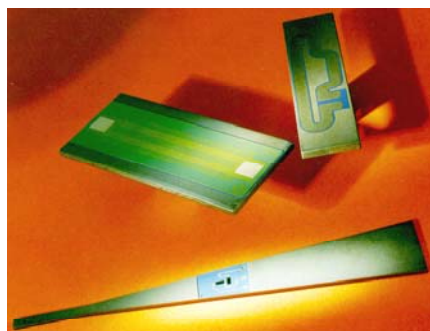


Figura A.3 Acero revestido con dieléctrico, de Heraeus®

Material		Silicon Nitride (Si ₃ N ₄)		Silicon Carbide (SiC)		Zirconia (ZrO ₂)	Alumina (Al ₂ O ₃)				Aluminum Nitride AlN		Sapphire	
Kyocera No.		SN-220	SN-235P	SC-211	SC-1000	Z-201N	A-479	A-479G	99.9% Alumina	99.95% Alumina	AN2000	AN2170	SA-100	
Color		Black	Gray	Black	Black	Ivory	99% White	99.5% Ivory	99.9% Ivory	99.95% white	Ivory	Brown	99.99% Transparent	
Bulk Density	—	3.2	3.2	3.2	3.16	6.0	3.8	3.8	3.95	3.95	3.2	3.4	3.97	
Water Absorption	%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Mickers Hardness Load 500g		GPa	13.7	14.2	23.5	24.0	12.3	16.2	17.6	17.6	20.6	10.0	10.0	22.5
Flexural Strength (4-point Bending *3-point Bending)	R.T.	kg/mm ² MPa	60 590	69 676	55 539	49 480	100 *980	31 *304	33 *323	50 *490	60 *588	27 267	35 343	70 *686
	800°	kg/mm ² MPa	61 600	69 676	—	—	42 *412	28 *274	—	—	—	25 246	—	—
	1000°	kg/mm ² MPa	52 510	60 600	48 470	49 480	28 *274	18 *176	—	—	—	24 235	—	—
	1200°	kg/mm ² MPa	33 323	40 392	40 392	49 480	17 *167	—	—	—	—	21 208	—	—
	1300°	kg/mm ² MPa	12 117	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1400°	kg/mm ² MPa	—	—	36 353	49 480	—	—	—	—	—	—	—	—
Fracture Toughness (K _{1C}) M.J	MPa m	5.7	5.9	5.6	—	6.7	—	—	—	—	3.1	1.8	—	
Young's Modulus R.T.	x10 ⁶ psi GPa	43 294	43 294	63 431	63 430	30 206	50 343	53 363	56 391	56 391	43 298	44 304	69 470	
Poisson's Ratio R.T.	—	0.28	0.28	0.16	0.17	0.31	0.25	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	—	
Coefficient of Linear Thermal Expansion	40-400°C	(x10 ⁶) ^o C	2.6	2.6	4.0	3.9	10.5	7.1	7.1	—	—	5.0	4.8	—
	40-900°C	C	3.2	3.1	4.4	4.5	11.0	7.9	7.9	—	—	5.4	—	
Thermal Conductivity R.T.	cal/cm · sec · °C	0.05	0.06	0.15	0.31	0.009	0.06	0.06	0.08	0.09	0.22	0.41	0.10	
	W/m · K	21	25	63	130	4	25	25	33	37	91	170	42	
Specific Heat R.T.	cal/g · °C	0.16	0.16	0.15	0.16	0.12	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18	
Heat Shock Resistance ΔT	°C	550	670	400	300	300	300	—	—	—	290	350	—	
Volume Resistivity R.T.	Ω · cm	>10 ¹⁴	>1 ⁴	8x10 ¹⁴	10 ³	2x10 ¹²	>10 ¹⁴	>10 ¹⁴	>10 ¹⁴	>10 ¹⁴	>10 ¹⁴	>10 ¹⁴	>10 ¹⁶	

Figura A.4 Resumen de características de substratos de Kyocera®

A.2 Tintas

Las tintas o pastas son los materiales fundamentales de esta tecnología. Se basan, en general, en una estructura de tres constituyentes básicos:

- Material activo o fase funcional, que define sus propiedades eléctricas.
- Ligante permanente, que permite la adherencia al sustrato.
- Vehículo o soporte, que le confiere cualidades serigráficas.

Los dos primeros constituyentes se conocen como *fracción mineral* y el último como *fracción orgánica*, la cual desaparece (se evapora) después de la serigrafía. El ligante permanente está constituido por partículas de vidrio con un bajo punto de fusión (borosilicatos de plomo, aluminosilicatos, óxidos metálicos) o, en el caso de las pastas poliméricas, por un plastificante. El vehículo se emplea para mezclar el material activo y el ligante, proporcionando un carácter serigrafiable a la pasta. Puede estar formado por ligantes temporales como la etilcelulosa, solventes como el terpinol y agentes tensioactivos.

Las características fundamentales de las pastas se dividen en:

- Eléctricas.
- Reológicas, comportamiento viscoso de la pasta sometida a una fuerza.
- Tixotrópicas, variación de viscosidad en función de una tensión.
- Mecánicas.

A continuación se relacionan las características más destacables.

a) Características eléctricas:

- Resistividad, se expresa en Ω /cuadro.
- Disipación, expresada en W/cm^2 .
- Coeficiente de temperatura, expresado en $ppm^{\circ}C^{-1}$.
- Tensión de trabajo.
- Coeficiente dieléctrico (en pastas dieléctricas).
- Angulo de pérdidas (en pastas dieléctricas).

b) Características reológicas:

- Viscosidad, expresada en cP (centipoises)

c) Las características tixotrópicas implican una estructura interna de pasta que queda rota al ser agitada pero que se reorganiza al volver al reposo. Las tintas

para capa gruesa deben disminuir su viscosidad durante el proceso de serigrafía y retornar a su viscosidad original una vez finalizado.

d) Características mecánicas. Se pueden destacar:

- Estabilidad
- Compatibilidad tinta-substrato y tinta-tinta.
- Adhesión
- Envejecimiento.
- Reproducibilidad.
- Dilución
- Rendimiento.
- Resolución.

En función del proceso de quemado, las pastas se pueden dividir en pastas de baja temperatura y pastas de alta temperatura:

Las pastas de baja temperatura son:

- Poliméricas, que utilizan una resina cargada con una fracción mineral cuyo tratamiento térmico se sitúa por debajo de los 200 °C.
- Minerales, que utilizan un vidrio de baja temperatura en el quemado (sobre 650 °C).

Las pastas de alta temperatura son:

- Pastas de metales preciosos para conductores.
- De RuO₂ para resistores.
- De metales no preciosos, como el Cobre.
- De carburos, silicatos, nitruros o boruros para resistores compatibles con el Cu.
- Boratos o titanatos para dieléctricos.

A.2.1 Pastas conductoras de metales nobles

Se caracterizan por tener muy baja resistividad, asegurando una buena conducción eléctrica. Los materiales más comunes son: Oro, Plata, Platino y aleaciones de estos materiales entre sí o con Paladio. La más utilizada, por su bajo coste, es la de Plata pura o con aleaciones de Platino o Paladio, las cuales le confieren mayor disipación de potencia y mejor soldabilidad, aunque empeora la conductividad. Las pastas de aleaciones de Plata suelen comercializarse en variantes, según la proporción de este metal. Las pastas de Oro son empleadas en alta frecuencia, para aplicaciones donde sea necesario el *wire-bonding* y el *die-bonding*¹. Suelen también presentarse con aleaciones de Platino y de Paladio. Las pastas de Platino se emplean en sistemas termométricos (resistencia termométrica de platino) o para sensores (tipo redox), pero normalmente se encuentran en aleaciones de Au o Ag para conductores.

En la fabricación de los electrodos (versiones de 16 y 36 contactos) se han utilizado cuatro tipos de pastas conductoras:

- Plata (C1075S), Plata-Paladio (C2129) y Plata-Platino (C1076S), de la firma Heraeus².
- Plata- Cloruro de Plata (C61003D7), de la firma GEM³.



Figura A.5 Pasta de Plata-Paladio, de Ferro[®]

¹ Técnicas de conexionado de terminales en microelectrónica

² www.wc-heraeus.com

³ [www. http://cgi.www.g-e-m.com](http://cgi.www.g-e-m.com)

A.2.2 Pastas resistivas

Por su función las pastas resistivas tienen una formulación más compleja que las conductoras, normalmente están constituidas por aleaciones de óxidos. La diferente resistividad se consigue con distintas concentraciones, tamaños y distribución de los elementos. Los compuestos más utilizados son los óxidos de rutenio o las aleaciones de Plata/óxido de Paladio, éste último en desuso.

Los óxidos de Rutenio, se utilizan con dopantes con el fin de obtener distintos coeficientes de temperatura (positivos o negativos).



Figura A.6 Pasta de RuO_2 , de Heraeus®

A.2.3 Pastas dieléctricas

Este tipo de pastas se utilizan en varias aplicaciones, puentes (*cross-over*), dieléctrico de condensadores y protección de circuitos. El puente tiene como objeto aislar conductores serigrafados en varias capas. Como condensadores deben ofrecer un coeficiente dieléctrico elevado. Como protectoras sirven de recubrimiento contra agentes corrosivos, polvo, etc.

En general, estas pastas están formadas por mezclas de vidrio (aluminio-silicatos de plomo) y polvos cerámicos (Al_2O_3 y ZrO_2); también se encuentran mezclas con TiO_2 .



Figura A.7 Pasta protectora de Heraeus®

A.2.4 Pastas de metales no nobles

El elevado coste de las pastas basadas en metales nobles encarece los sistemas de capa gruesa. Como alternativa existen pastas de metales no preciosos como el Aluminio, el Cobre y el Níquel. El problema de estos metales suele ser su soldabilidad y el quemado en atmósferas inertes.

A.2.5 Pastas poliméricas

El ligante es un polímero termoendurecedor o fotocurable. Los primeros tienen una temperatura de polimerización que varía entre 60 °C y 200 °C, mientras que los segundos se polimerizan mediante luz ultravioleta.

Estas pastas están formadas por tres componentes: ligante, disolvente y relleno. El ligante consiste en una materia plástica termo/fotoendurecible a base de formaldehidos de fenol, garantizando la robustez mecánica durante todo el proceso y la adhesión al sustrato. Tiene una estructura formada por macromoléculas lineales, siendo soluble y fusible. Durante los ciclos térmicos se produce un "fileteado" entre moléculas bajo el efecto de la temperatura. Se obtiene finalmente una estructura rígida y dura, a partir de la cual el ligante es insoluble e infusible.

Los disolventes usuales son de origen orgánico. El tipo y cantidad determinan el valor de viscosidad. Dichos disolventes desaparecen durante la fase de secado. Los materiales de relleno o carga determinan el comportamiento eléctrico de las pastas, pudiendo ser de granos metálicos (Plata, Cobre, etc) para las conductoras, de granos de Grafito para las resistivas y sin carga para las aislantes.

Las pastas poliméricas están teniendo un espectacular avance en el campo de los sensores. Existen líneas específicas para fabricación de sensores basados en este tipo de pastas.

En la fabricación de los electrodos se ha utilizado una pasta polimérica de relleno mineral y silicona modificada (ESL 240-SB⁴) para la capa más externa. Esta capa es la que ha proporcionado el aislamiento eléctrico necesario protegiendo toda la superficie, excepto el área sensible de cada electrodo de la matriz, con una película semisatinada de color azulado de unos 25 μm de espesor (ver apartado *Métodos* de esta memoria).

A.3 Proceso de fabricación

Los circuitos electrónicos de capa gruesa se realizan siguiendo un proceso de varias etapas, que pueden variar en función del tipo de circuito a implementar. El proceso de fabricación de un sistema thick-film se muestra en la *Figura A.8*. Este mismo proceso, a excepción de algunas de las etapas, es el que se ha aplicado a la fabricación de los electrodos de este trabajo. La tecnología de capa gruesa se basa en las técnicas serigráficas (*Figura A.9*). Se utiliza una pantalla donde se adhiere una tela (de distintos tamaños de apertura) sobre la cual se ha fijado un *film* fotosensible. El film permite, mediante métodos fotográficos (empleando un fotolito), delimitar las zonas por donde debe pasar la pasta a través de la tela, empleando una rasqueta.

A.3.1 Pantallas serigráficas

La función del marco o pantalla es mantener tensada la tela y servir de fijación en la máquina de serigrafiar. Los parámetros básicos a considerar en esta parte del proceso son:

- ✓ Marco
 - Dimensiones y material del marco.
- ✓ Tela
 - Número de Mesh, trama, orientación de la malla y tensado.
- ✓ Emulsión
 - Tipo y Espesor.
- ✓ Espesor final
- ✓ Insolación y revelado

- Marcos

Los marcos suelen ser de acero extruido o aluminio (*Figura A.10*) y deben soportar la fuerza de tensado. Se recomienda que el ancho de la pantalla sea al menos tres veces el ancho del circuito. Si el marco es demasiado pequeño recibirá una sobrecarga en los bordes de la rasqueta, y en consecuencia se deteriorará la malla (*Figura A.11*).

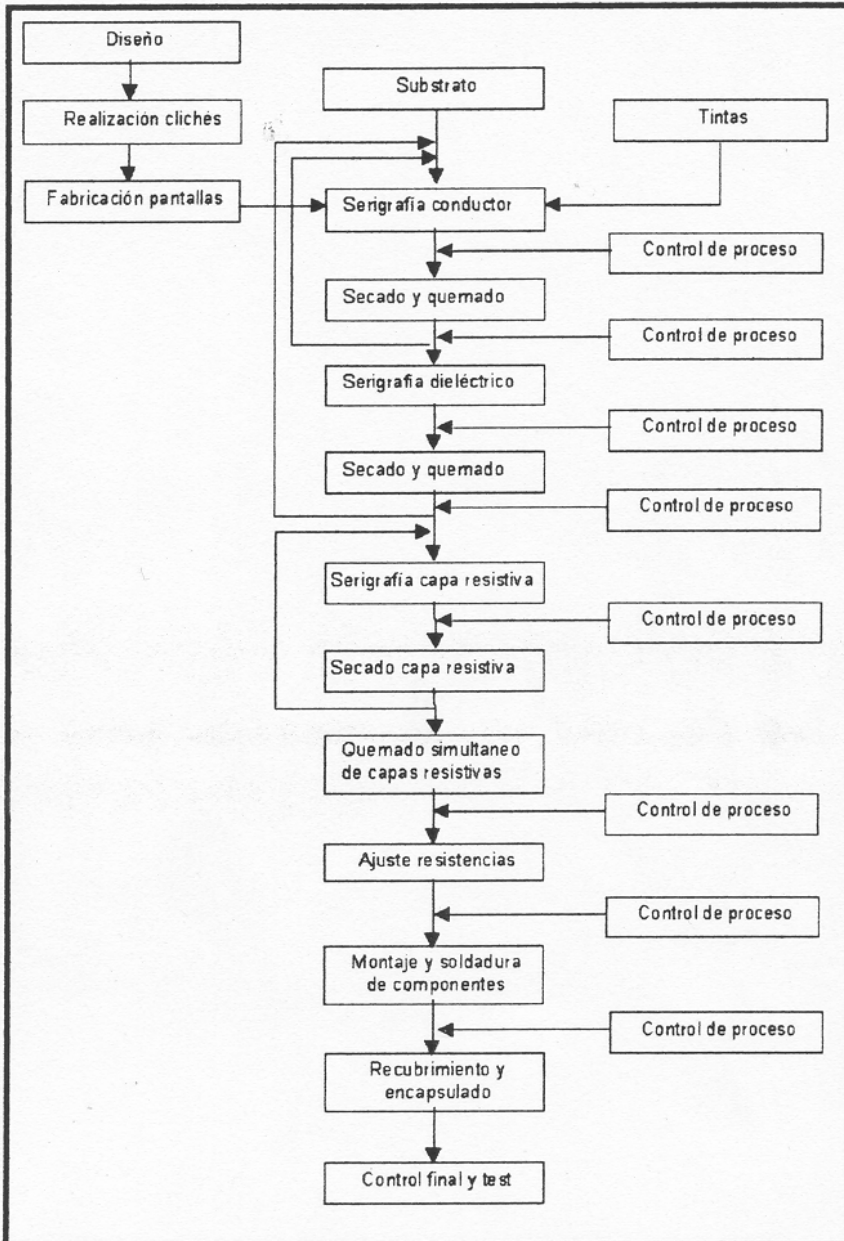


Figura A.8 Etapas del proceso tecnológico de capa gruesa

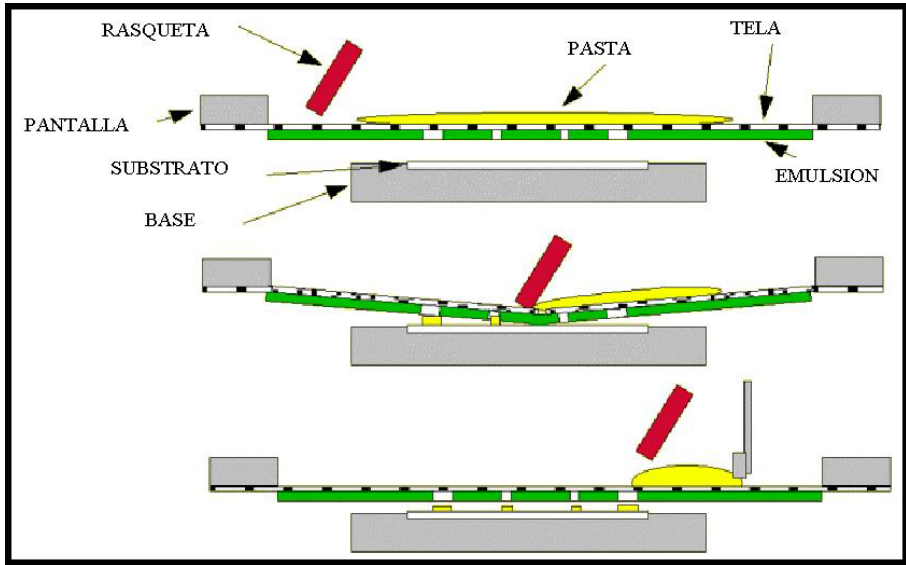


Figura A.9 Proceso serigráfico de aplicación de las pastas a través de la tela

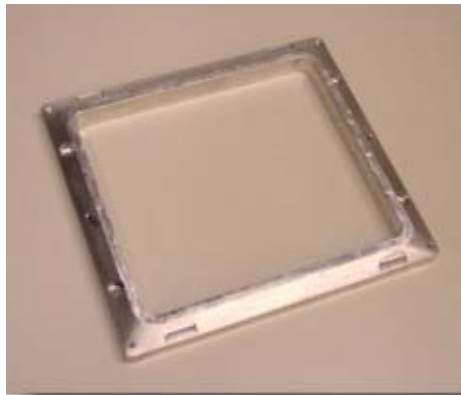


Figura A.10 Marco de aluminio

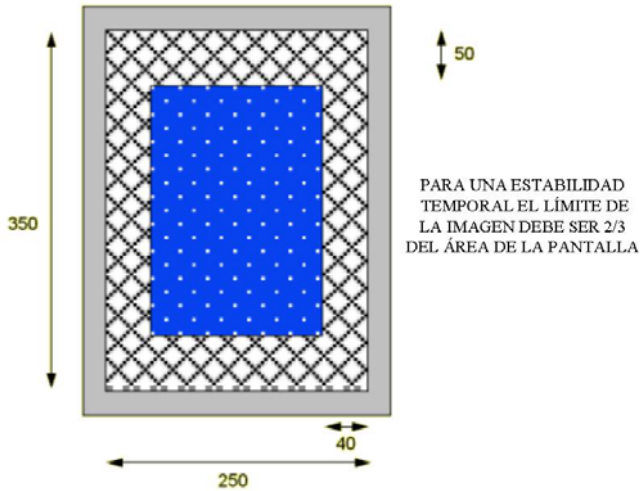


Figura A.11 Relación entre tamaño de pantalla y film

- Telas

Las telas sirven de soporte para el film fotosensible y deben tener una determinada apertura de malla para dejar pasar la cantidad suficiente de pasta. Para colocarlas en el marco deben tensarse y pegarse a él. Las telas, de hilos entrecruzados, pueden ser de poliéster, nylon o acero inoxidable (Figura A.12), estas últimas se suelen utilizar en grandes tiradas debido a su gran resistencia.

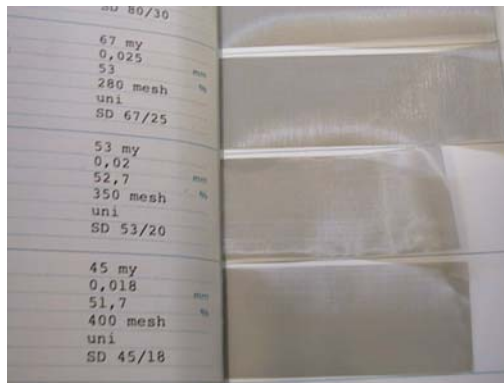


Figura A.12 Telas de acero inoxidable

Las telas se caracterizan por formar una red de hilos con un grosor y una distancia entre ellos muy homogénea, dando lugar a sus características principales: número Mesh (hilos/pulgada), diámetro y espesor del hilo, y superficie abierta. Estos factores serán determinantes a la hora de elegir la tela según el tipo de pasta a emplear, ya que por estas características se obtendrá un mayor o menor espesor de capa de pasta sobre el sustrato (además, el espesor final, también depende del espesor de la película fotosensible). El tipo de tela depende mucho del tipo de pasta utilizado, normalmente el rango viene determinado por los valores de la *Tabla A.2*.

Tabla A.2 Relación entre tipo de pasta y malla recomendada

TIPO DE PASTA	Malla (apertura/diámetro- Mesh)
Conductora, línea mínima 300µm	59/32-280
Conductora, línea mínima 200µm	50/30-325
Conductora, línea mínima 150µm	53/24-325
Conductora, línea mínima 100µm	40/23-400
Pasta de soldar (smt normales)	300/65-70
Resistencias	95/45-180
Dieléctricos	56/32-300
Overglace	224/100-80

El espesor final de la pasta en húmedo viene dado por la siguiente relación:

$$E_p = E_T \cdot A + E_F$$

donde:

- Ep : Espesor final de la pasta en húmedo
- ET : Espesor de la tela.
- A: Proporción de apertura de la malla (superficie libre)
- Ef: Espesor de la película fotosensible.

Para las pastas resistivas y dieléctricas se utiliza una tela de poliéster de 180 Mesh, que posee un espesor de 91 μm con una proporción de superficie libre del 33 % y utiliza una película fotosensible de espesor 50 μm . En estas condiciones, se obtiene un espesor de la pasta:

$$E_p = (91 \mu\text{m} \times 0,33) + 50 \mu\text{m} = 80 \mu\text{m}$$

Para las pastas conductoras se utiliza una tela de poliéster de 350 Mesh, que posee un espesor de 70 μm con una proporción de superficie libre del 23 % y una película fotosensible de espesor 30 μm . En estas condiciones, se obtiene un espesor de la pasta:

$$E_p = (70 \mu\text{m} \times 0,23) + 30 \mu\text{m} = 46 \mu\text{m}$$

La orientación de la tela (*Figura A.13*) es importante a la hora de su colocación sobre la pantalla. Desde un punto de vista mecánico, la estabilidad máxima se obtiene tensando la tela con los hilos formando un ángulo (ángulo Mesh) respecto al marco de 45°; además, al pasar la rasqueta se ejerce una menor tensión, siempre perjudicial, sobre los hilos (*Figura A.14*).

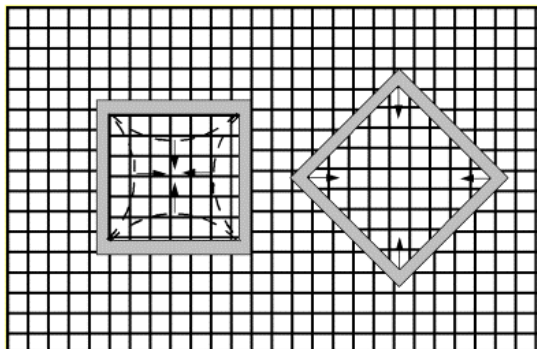


Figura A.13 Orientación de la tela

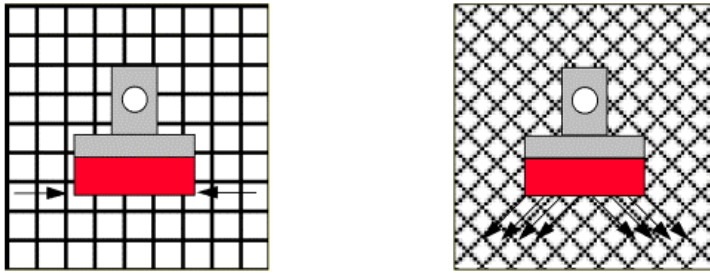


Figura A.14 Presión de la rasqueta en función del ángulo Mesh

La tela se debe tensar sobre el marco de modo que la tensión de la malla, más la tensión que producirá la rasqueta sobre ésta, sea menor que el sector de alargamiento elástico (reversibilidad). Si superamos ese valor, entraremos en el sector de alargamiento plástico, que es irreversible, y esto supondría la degradación de la malla (Figura A.15).

Las telas de acero inoxidable poseen un límite de alargamiento más alto, en el sector del alargamiento elástico, que las telas sintéticas de poliéster o nylon. El acero inoxidable se puede tensar de 30 a 35 N/cm, y el poliéster de 18 a 20 N/cm.

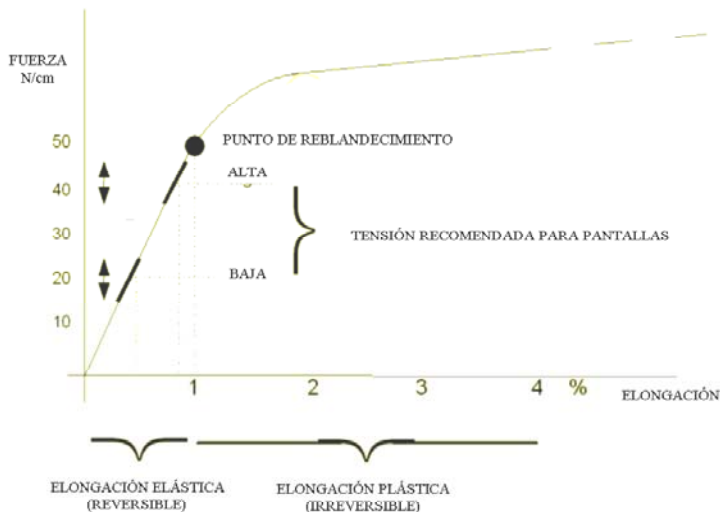


Figura A.15 Curva de tensado de una malla para serigrafía

Para tensar la tela, se corta al tamaño adecuado y se coloca sobre una mesa de tensado, que sujeta la tela con pinzas por todos sus lados mientras el marco está debajo. La tela se estira de forma controlada, hasta conseguir la tensión deseada (puede medirse con un *NewtonTester*).

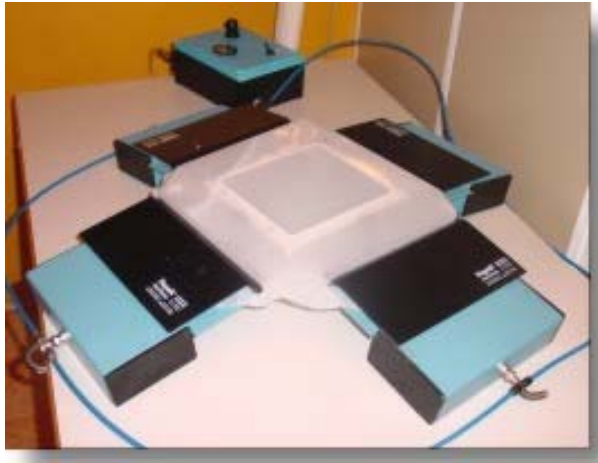


Figura A.16 Tensado de tela mediante grapas neumáticas

Una vez tensada la tela, se encola la malla sobre el marco con un pegamento específico para este tipo de tensados. El tiempo de secado depende del producto en concreto (entre 15 y 30 minutos).

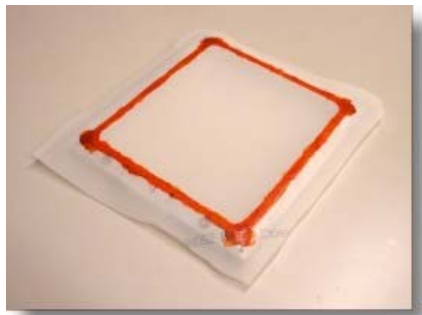


Figura A.17 Tela encolada al marco

Tras el tensado y pegado de la tela al marco, tenemos la pantalla preparada para colocar el film fotosensible, pero, con objeto de evitar partículas de grasa que podrían evitar la correcta adherencia del film a la tela, debemos desengrasar la tela con algún producto específico para este tipo de proceso. La aplicación suele realizarse con un pincel de pelos muy suaves con objeto de no dañar la tela.

- Film fotosensible

Para realizar la transferencia de la imagen a la tela, se realizan varios procesos. El primero consiste en añadir una capa o film fotosensible a la tela, la cual endurece por secado. Después se coloca el fotolito sobre el conjunto tela-film y se insola con luz actínica⁵, de tal forma que las zonas iluminadas por la luz quedan endurecidas e incrustadas en la tela al polimerizar el film (*Figura A.18*). Por otra parte las zonas en sombra se eliminan mediante el revelado (*Figura A.18*).

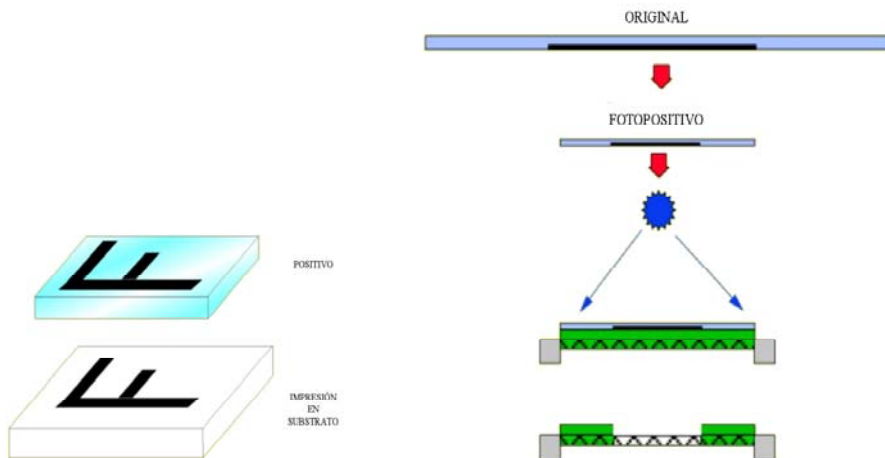


Figura A.18 Transferencia por positivo (izq.) y proceso de insolado (dcha.)

⁵ Radiación en el espectro de la luz azul al ultravioleta. Muy activa con el material fotosensible

Existen dos tipos de emulsión o film fotosensible:

- *Método directo* (Figura A.19): se emplea una emulsión polímera líquida fotosensible directa, es muy barata pero es difícil conseguir un espesor de capa constante por estar en forma líquida.

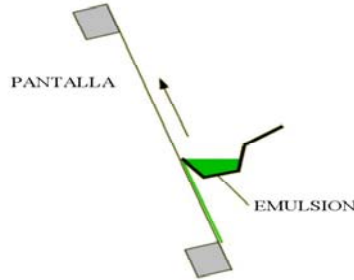


Figura A.19 Emulsión fotosensible

- *Método indirecto* (Figura A.20): se emplea una emulsión polímera en film, la cual consiste en una lámina plástica de distintos espesores, de 5 a 100 micras, que se coloca sobre la pantalla previamente humedecida.



Figura A.20 Película fotosensible

Después de colocar el film se debe secar la pantalla en una secadora (Figura A.21), de esta manera se elimina la humedad de la pantalla y se endurece la emulsión fotosensible, adquiriendo de esta forma la consistencia adecuada (Figura A.22). El proceso de secado dura de 5 a 10 minutos a la temperatura de 40 °C.



Figura A.21 Secadora de pantallas

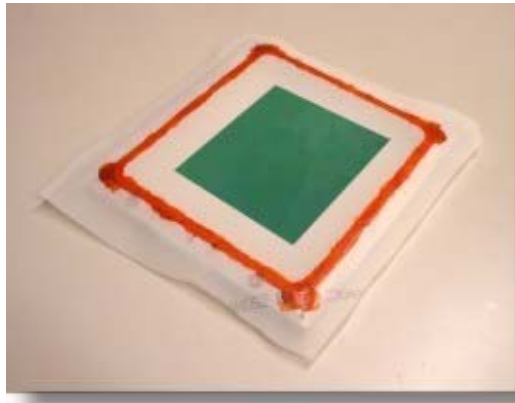


Figura A.22 Pantalla con film, ya seca

La capa fotosensible no sólo sirve para definir el área que quedará libre para el paso de la pasta (Figura A.23), sino que definirá también el espesor de capa final de la pasta sobre el sustrato (Figura A.24) y la precisión en la dispensación de dicha pasta (Figura A.25).

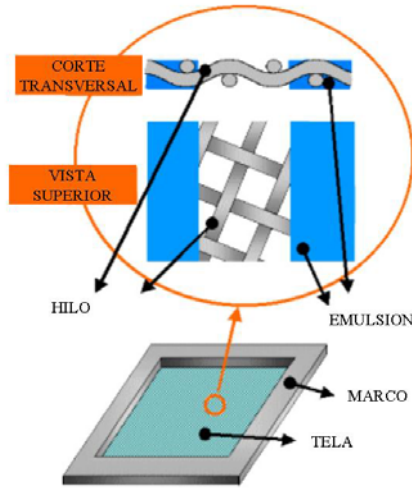


Figura A.23 Pantalla: tela + film

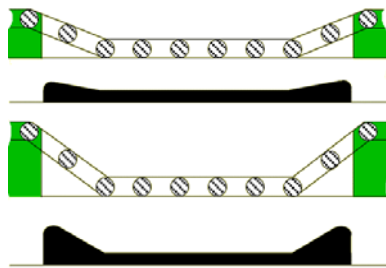


Figura A.24 Efecto del fotosensible en el espesor de capa

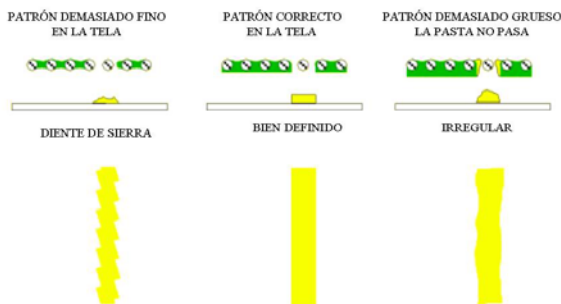


Figura A.25 Efecto del fotosensible en la definición de capa

- Insolado y revelado

Una vez preparada la pantalla con el film, se coloca el fotolito sobre la capa fotosensible de la pantalla. La *Figura A.26* muestra algunos de los fotolitos utilizados durante el proceso de revelado de los electrodos que se fabricaron para este trabajo. Se realizaron imprimiendo los diseños desarrollados en AutoCad® sobre soporte de acetato, con impresora láser (1200 ppp). Debido a la resolución requerida en este caso (pistas de 200 μm) es crítico el ajuste de las opciones del software de impresión para conseguir la definición y opacidad óptimas que aseguren una insolación óptima. El conjunto fotolito+pantalla se coloca en una insoladora (*Figura A.27*), con el lado de fotolito+film hacia la fuente de luz (*Figura A.28*). A continuación se realiza la insolación durante un tiempo preciso; en el cálculo de este tiempo se tienen en cuenta las variables suministradas por el fabricante de la emulsión en función de la insoladora y ciertos parámetros complementarios: distancia de la pantalla a la fuente de luz, tipo de tela, Mesh de la tela, temperatura, humedad y potencia de la lámpara.

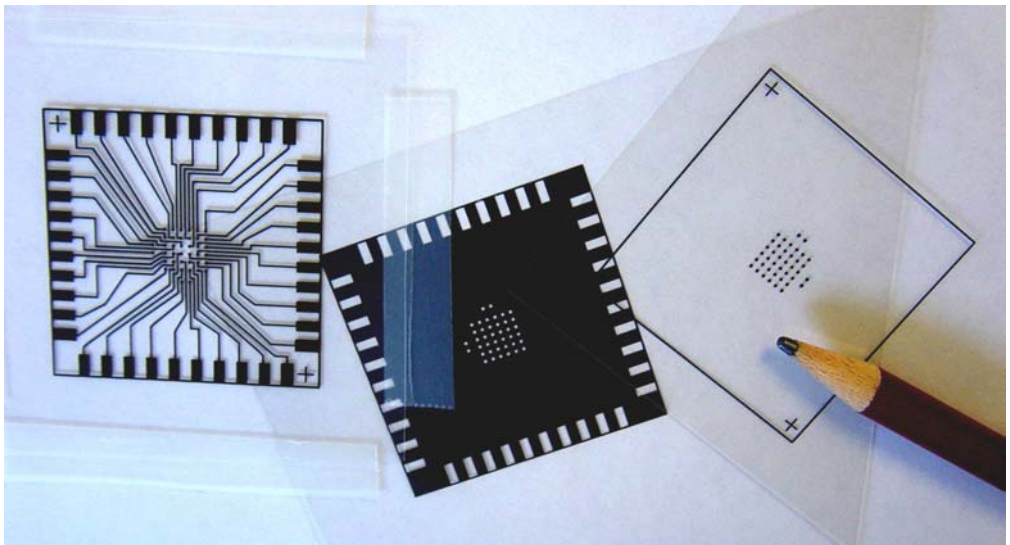


Figura A.26 Fotolitos empleados en la fabricación del electrodo de 36 contactos



Figura A.27 Insoladora para pantallas

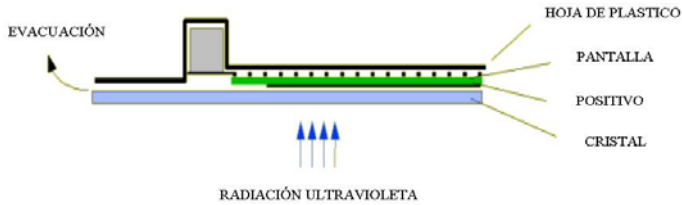


Figura A.28 Proceso de insulado con vacío

Para realizar el revelado de la imagen se utiliza el método más adecuado según el tipo de emulsión fotosensible empleado; lo más habitual es utilizar un chorro suave de agua (Figura A.29) sobre la pantalla, tanto sobre un lado como sobre el otro.



Figura A.29 Pica utilizada en el revelado (a la dcha. de la imagen)

El proceso finaliza eliminando la humedad existente, mediante el secado de las pantallas durante 5-10 min. a 45 °C (Figura A.30).

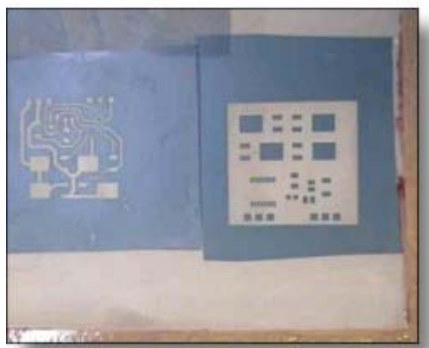


Figura A.30 Pantalla revelada

Se pueden utilizar bloqueadores y retocadores para completar el proceso. Los bloqueadores se emplean para rellenar las zonas no expuestas al film y que no deben quedar al aire (para no dejar pasar pasta inútilmente, por ejemplo por los contornos); los retocadores sirven para redefinir el motivo sobre el film en el caso de una mala insolación o revelado. Una vez utilizadas para la serigrafía, las pantallas pueden limpiarse con el disolvente adecuado (según el

tipo de pasta) para eliminar la tinta completamente de la tela, pudiendo así ser reutilizadas en otro momento.

A continuación se muestran algunos ejemplos, por ambas caras, de algunas de las pantallas acabadas utilizadas en la fabricación de los dos electrodos definitivos. Las fotografías corresponden a la pantalla completa o a detalles del área efectiva, una vez utilizadas en la serigrafía y limpiadas.

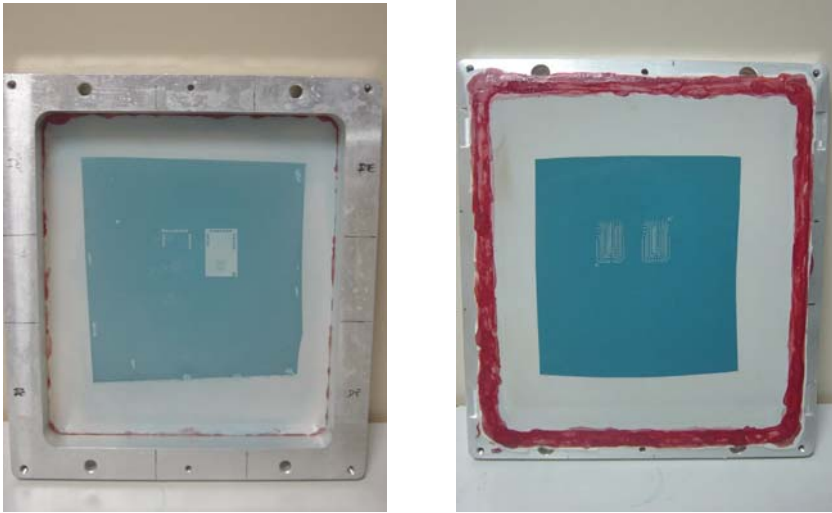


Figura A.31 Pantallas acabadas (electrodo múltiple de 16 contactos). Pantalla para la capa de pads y de protección, del lado de aplicación de la pasta (izq.). Pantalla para la capa de conductores, del lado del sustrato (dcha.)

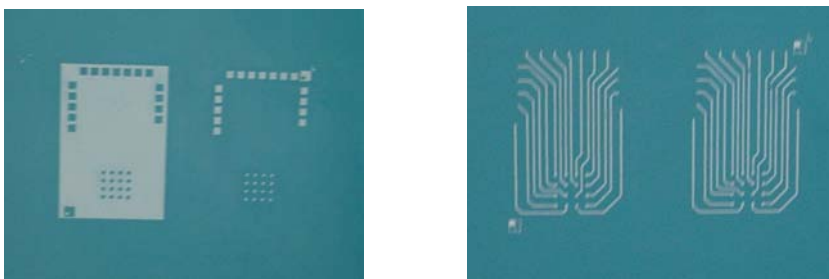


Figura A.32 Ampliación del área activa de la tela en la figura anterior

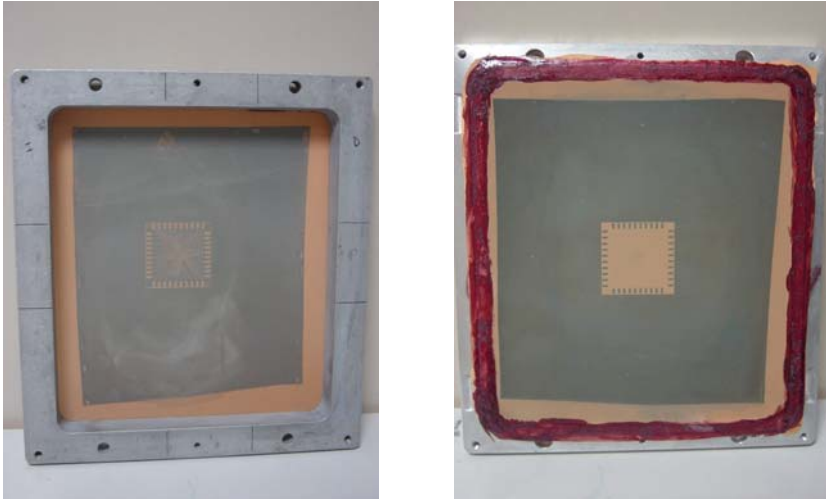


Figura A.33 Pantallas acabadas (electrodo múltiple de 36 contactos). Pantalla para la capa de pads y conductores, del lado de aplicación de la pasta (izq.). Pantalla para la capa de protección, del lado del sustrato (dcha.)

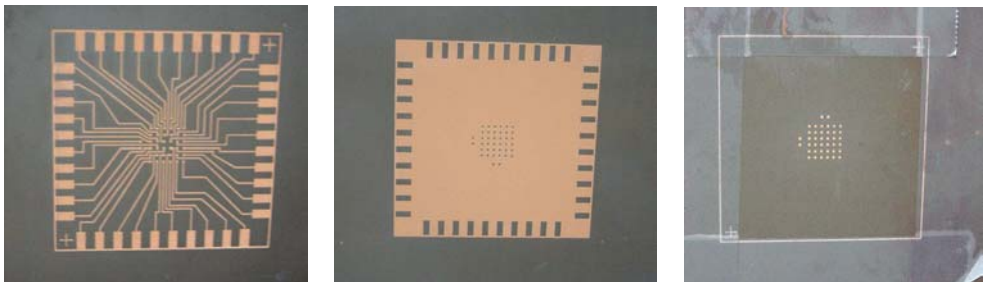


Figura A.34 Ampliación de las áreas activas de la tela en las pantallas del electrodo de 36 contactos. De izq. a dcha.: conductores y pads de soldadura, capa protectora aislante y capa de Ag/AgCl en los puntos de registro.

A.3.2 Serigrafía

Una vez realizadas las pantallas, el siguiente paso en la fabricación de circuitos de capa gruesa es realizar la serigrafía. La serigrafía es la técnica general de

impresión de un dibujo con pastas o tintas sobre el sustrato. De esta forma se consigue una homogeneidad de espesor y buena definición.

Existen dos métodos de serigrafía:

- ✓ Serigrafía por contacto: es el empleado en pasta de soldadura, en este método la tela de la pantalla se apoya sobre toda la superficie del sustrato.
- ✓ Serigrafía fuera de contacto: en este método la pantalla no se apoya sobre el sustrato, salvo en la zona en que la rasqueta presiona hacia abajo la malla, apoyándola sobre la zona de sustrato que se serigrafía. Es la que se suele emplear en capa gruesa ya que se obtiene mayor precisión.

Existen diferentes factores que influyen en la serigrafía (*Figura A.35 y Figura A.36*), siendo de gran importancia la elección de:

- Las tintas o pastas a utilizar
- La rasqueta
- La maquina de serigrafía y sus ajustes

Teniendo en cuenta los factores anteriores, y antes de llegar al producto final, suelen realizarse diversas pruebas preliminares, que ayudan a encontrar los ajustes óptimos en la serigrafía con máquina automática.



Figura A.35 Factores físicos de influencia en la serigrafía

3 FACTORES Y 3 FACTORES AMBIENTALES DEL PROCESO DE IMPRESIÓN

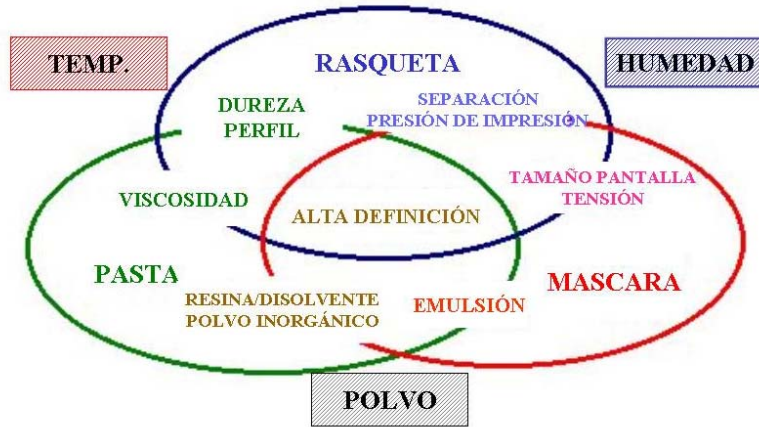


Figura A.36 Factores ambientales de influencia en la serigrafía

- Pastas

La pasta o tinta que va a ser serigrafiada requiere de una preparación previa que consiste en la agitación dentro del bote durante varios minutos, para que disminuya su viscosidad y adquiera la temperatura ambiente (Figura A.37). La pasta debe depositarse sobre la pantalla con una cantidad suficiente para que cubra toda el área de trabajo, con un espesor aproximado de 1mm. Se deposita delante de la rasqueta en el sentido de la serigrafía, a lo largo y en paralelo.

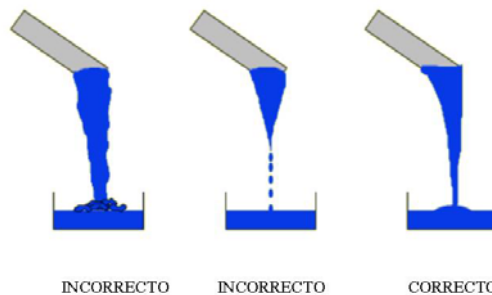


Figura A.37 Viscosidad adecuada para serigrafía

- Rasqueta

La rasqueta tiene como misión:

- Forzar a la pantalla a tener un contacto con el sustrato en la superficie a imprimir.
- Forzar la pasta a través de las superficies abiertas.
- Eliminar el exceso de pasta de la superficie de la pantalla.

Como características principales propias, se debe tener en cuenta el material, tamaño, forma, dureza y durabilidad. Como características de funcionamiento se deben considerar el ángulo de ataque, la distancia a la pantalla y la distancia de salida.

El material suele ser de poliuretano y su durabilidad depende del tipo de pantallas utilizadas. El tamaño influye en la presión que se ejerce sobre la pantalla, suele tomarse un mínimo de 10mm mayor por cada lado de la imagen a imprimir (*Figura A.38*).

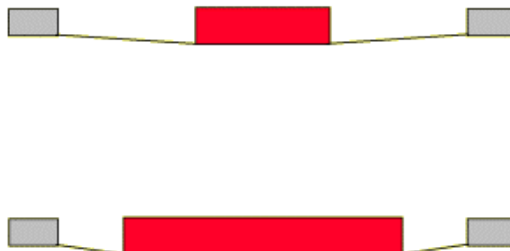


Figura A.38 Influencia del tamaño respecto a la presión ejercida

La forma va a depender del tipo de pasta a imprimir, de si tiene que realizar doble pasada e incluso de las formas del dibujo a realizar. La forma básica es en "V", existiendo tres variaciones básicas: en cuchillo, en diamante y rectangular (*Figura A.39*).

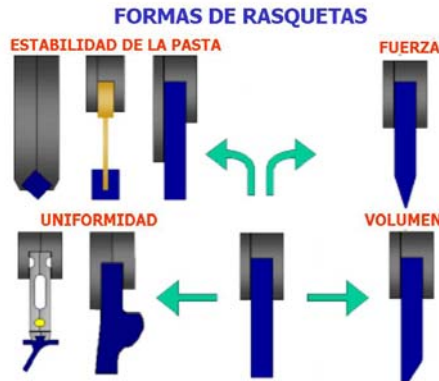


Figura A.39 Diversas formas de rasqueta

La dureza de la rasqueta dependerá del tipo de pasta a emplear. La dureza suele venir codificada según el color de la rasqueta.

Como característica de funcionamiento destaca el ángulo de ataque. Dicho ángulo, conjuntamente con la velocidad del recorrido, controla la cantidad de tiempo disponible para el relleno de las áreas abiertas de la pantalla (Figura A.40). Si se reduce el ángulo, la fuerza aplicada es menor y la tinta puede escaparse por debajo del borde; por lo contrario si la rasqueta es demasiado vertical, la flexibilidad y el tiempo de llenado se reduce (Figura A.41). El ángulo ideal de presentación de 60 grados, el cual, cuando se aplica la fuerza, se convierte en, aproximadamente 45 grados (Figura A.42).

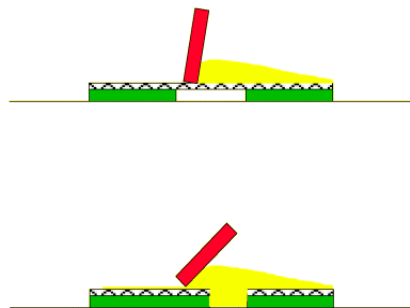


Figura A.40 Relación ángulo-deposito

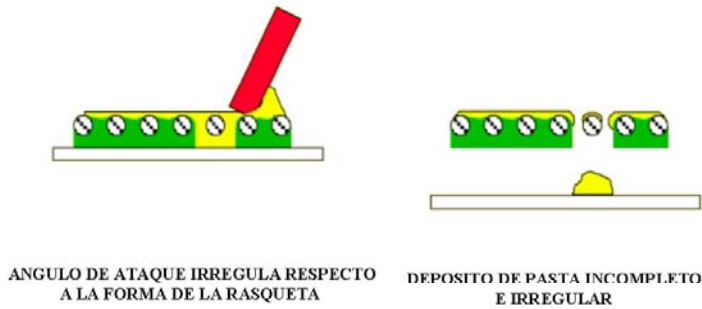


Figura A.41 Efecto del ángulo de ataque respecto al depósito de pasta

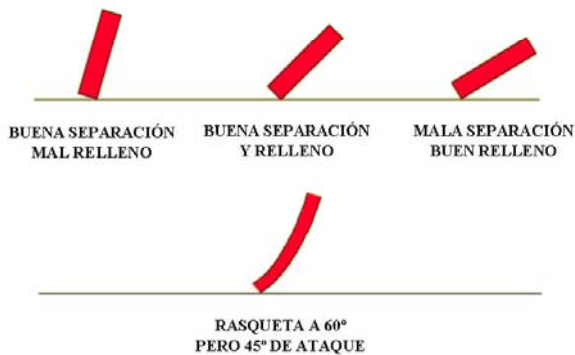


Figura A.42 Efecto del ángulo de ataque respecto al depósito de pasta

Después de la operación la pantalla debe despejar justo detrás de la zona de trabajo, para recoger toda la pasta depositada en la superficie de la pantalla. Si hay retraso en elevarse el movimiento será incontrolado y dará lugar a una impresión de calidad variable (Figura A.43).

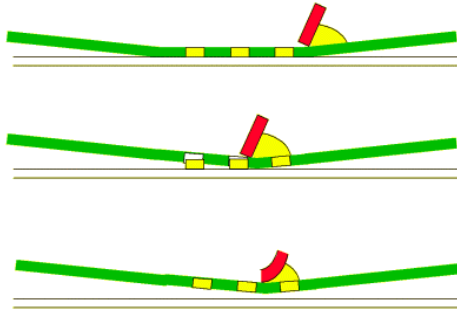


Figura A.43 Posición de recogida de la pasta

Se debe tener en cuenta la separación del sustrato respecto de la pantalla (*snap-off*) y la rasqueta. En la Figura A.44 se muestra la relación adecuada entre distancias en función del tipo de tela.

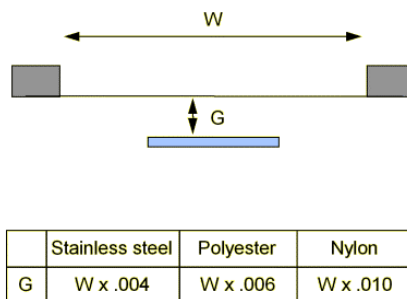


Figura A.44 Relación de distancias

Otros factores a tener en cuenta son la velocidad y presión de la rasqueta, ya que permiten definir el espesor final de capa. A mayor presión menor espesor de capa; a mayor velocidad, mayor espesor de capa (Figura A.45). La presión debe variar con el tipo de pasta pero suele oscilar entre 0.1 y 1 kg/cm; mientras que la velocidad oscila entre los 5 y 30 cm/s.

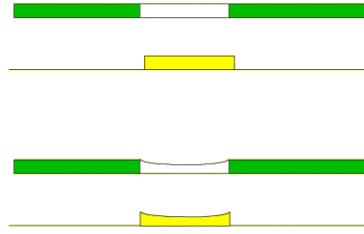


Figura A.45 Efecto de diferente presión/velocidad sobre el espesor de capa

También influye en este aspecto el paralelismo de la rasqueta sobre el sustrato, ya que si no está alineada con respecto a la pantalla y sustrato se ejercerán distintas presiones en distintas zonas de impresión.

Un factor que también afecta a la impresión es el llamado *Downstop* (Figura A.46), es decir la distancia inicial donde comienza el recorrido la rasqueta. Si es demasiado bajo puede dañar al sustrato y si es demasiado alto puede afectar a la impresión.

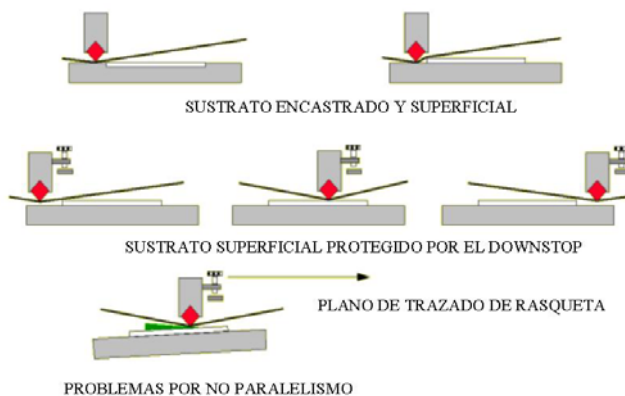


Figura A.46 Downstop

- Maquinas de serigrafía

Por su estructura y método operativo el conjunto de máquinas puede ser clasificado en:

- ✓ Manuales
- ✓ Semiautomáticas
- ✓ Automáticas

Se diferencian en la posibilidad de modificar parámetros de forma manual o por programación. Estas máquinas permiten:

- Colocación del substrato
- Montaje de la pantalla sobre la máquina
- Centrado de marcas
- Reglajes (X, Y, ángulo, snap-off, Downstop, ...)
- Carga de pasta en la pantalla con ayuda de una espátula
- Vacío
- Abatimiento de la pantalla sobre el substrato
- Selección de velocidad
- Selección presión
- Subida de la pantalla
- Corte de vacío
- Retirada de substrato



Figura A.47 Máquina semiautomática AUREL® C1010, utilizada en la serigrafía de los electrodos

- Nivelado y secado

Una vez realizada la serigrafía, se deja reposar de 5 a 10 minutos a temperatura ambiente. Durante este tiempo la pasta retorna a las características de viscosidad que tenía antes de la serigrafía y se nivela su espesor, reduciéndose las marcas que han dejado los hilos durante la serigrafía.



Figura A.48 Factores de influencia en el secado



A.3.3 Ciclo térmico

Tras de la impresión serigráfica, y después que la pasta haya reposado sobre el substrato durante un tiempo entre 5 a 10 minutos, debe comenzar el "ciclo térmico" consistente en:

- Un secado en estufa
- Un "quemado" en horno

- Quemado a baja temperatura

Las pastas polímeras se someten a un quemado a temperaturas comprendidas entre 60 °C y 200 °C, en períodos desde 10 minutos hasta 2 horas.

- Quemado a alta temperatura

Después de un secado durante 10 minutos a 150°C la "cohesión" de los depósitos es realizada en hornos cuyo perfil térmico (temperatura en función del tiempo) y atmósfera son previamente programados.

Un perfil típico, como el mostrado en la *Figura A.50*, presenta tres fases:

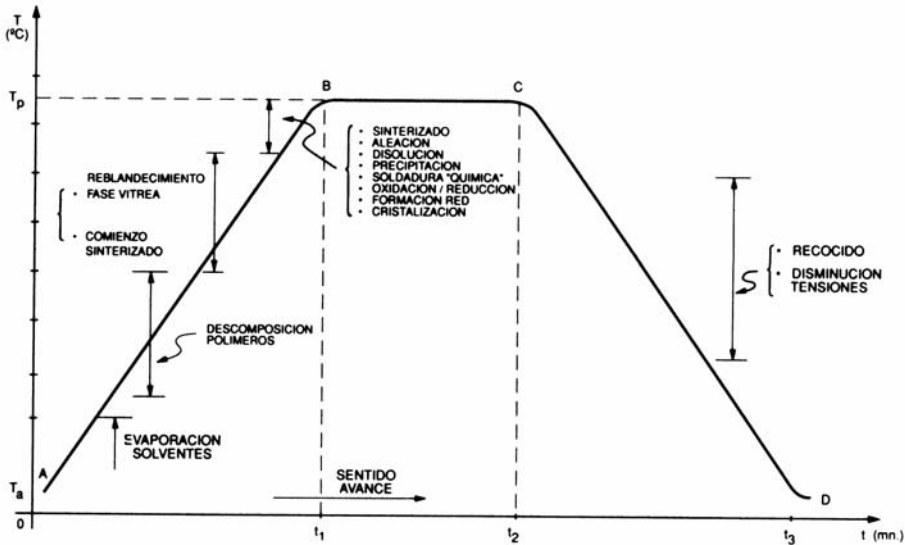


Figura A.50 Ciclo de quemado típico

Fase AB

En ella se eliminan y queman los componentes orgánicos de la tinta, es decir se producen:

- Evaporación del solvente
- Reblandecimiento de la fase vítrea
- Comienzo de la sinterización
- Descomposición de los polímeros

La velocidad de subida o de calentamiento viene dada por la pendiente de la curva tiempo-temperatura, y es del orden de 50 °C/min.

Fase BC

Durante esta segunda fase, la temperatura permanece estable y se realiza la sinterización de la fase funcional o metálica con las partículas "cristalinas" de la tinta, fijándose ésta al sustrato. Esta fase se puede considerar la más crítica, debiendo mantenerse la temperatura del horno dentro de una

tolerancia con desviaciones inferiores a 5 °C, para poder conseguir las transformaciones de:

- Sinterización
- Aleación
- Disolución
- Precipitación
- Unión o soldadura "química"
- Oxidación/reducción
- Formación de redes cristalinas
- Cristalización

Fase CD

Aquí se produce el enfriamiento, y durante ella, a una velocidad de nuevo aproximada a 50 °C/min, tiene lugar:

- Un tratamiento de "recocido"
- Disminución de tensiones internas

Los tiempos y temperaturas de las fases anteriores dependen del tipo de pasta y son especificadas por el fabricante. No obstante, un ciclo convencional puede durar de 30 minutos (corto) a 55 minutos (largo), con la siguiente distribución de tiempos parciales:

0 – T1, calentamiento. Estimado en unos 20 minutos.

T1-T2, permanencia a temperatura máxima. Estimado en 20 minutos.

T2-T3, enfriamiento. Estimado en 15 minutos.

En lo que se refiere a temperaturas, el ciclo se caracteriza por:

- Un calentamiento en estufa a temperatura comprendida en el intervalo de 25 °C a 140 °C, para eliminar una fracción orgánica volátil.
- Una combustión o pirólisis de los ligantes orgánicos a temperatura comprendida entre 140 °C y 500 °C.
- Una sinterización con fusión de la fase vítrea a temperatura comprendida entre 500 °C y 1000 °C.



Figura A.51 Esquema del proceso de quemado

- Hornos de quemado

Los hornos para el quemado de las pastas deben presentar un conjunto de características de entre las cuales destacan:

- Reproducción del perfil exigido
- Reproducibilidad
- Rendimiento
- Atmósfera adecuada

Por su método operativo pueden clasificarse en:

- Estáticos no programables
- Estáticos programables
- Continuos de zonas

Por la fuente de caldeo pueden clasificarse en:

- Convencionales
- Infrarrojos

En la *Figura A.52* se muestra el horno de quemado empleado en los ciclos térmicos aplicados durante las fases de fabricación de los electrodos.



Figura A.52 Horno de quemado, estático programable, empleado en la fabricación de los electrodos

Una vez finalizado el último ciclo térmico, el circuito obtenido (en nuestro caso la matriz de electrodos) ya está listo para las operaciones de soldadura, conexionado, etc. Previamente, si el tamaño es menor que el del sustrato, es posible que se deba cortar por el contorno prefijado. En nuestro caso esta operación se realizó con el primero de los electrodos (16 contactos). Se requiere una herramienta de corte adecuada según el tipo de sustrato utilizado (*Figura A.53*). Los sustratos cerámicos como la Alúmina son de una dureza extraordinaria pero muy frágiles, por lo que la operación es muy delicada. Hay que tener en cuenta que la rotura total o parcial de la delgada lámina de sustrato no presenta reparación posible.

La *Figura A.54* y la *Figura A.55* muestran diversas vistas de los electrodos desarrollados, una vez finalizados los procesos descritos en este anexo.

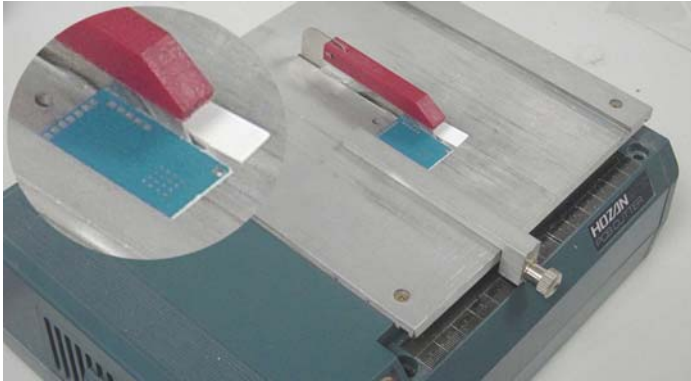


Figura A.53 Corte del electrodo para eliminar el sustrato sobrante durante la fabricación del electrodo en su versión de 16 contactos. Vista ampliada en la esquina superior izquierda

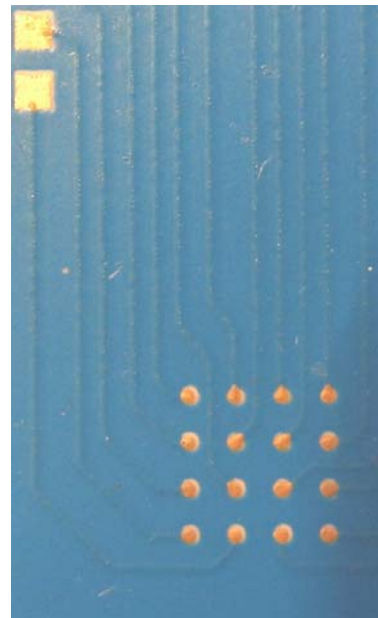
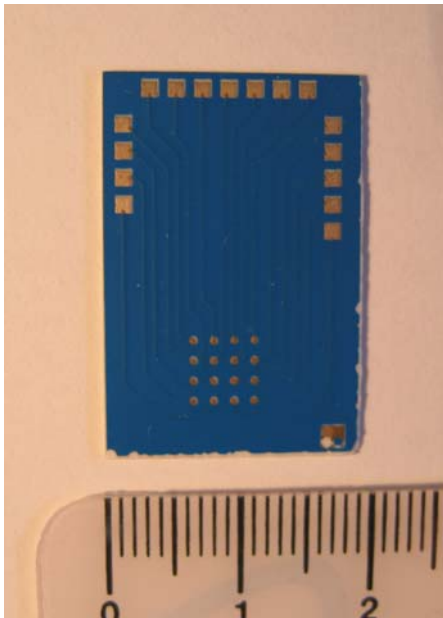


Figura A.54 Vista general (izq.) y ampliada (dcha.) del electrodo acabado en su versión de 16 contactos

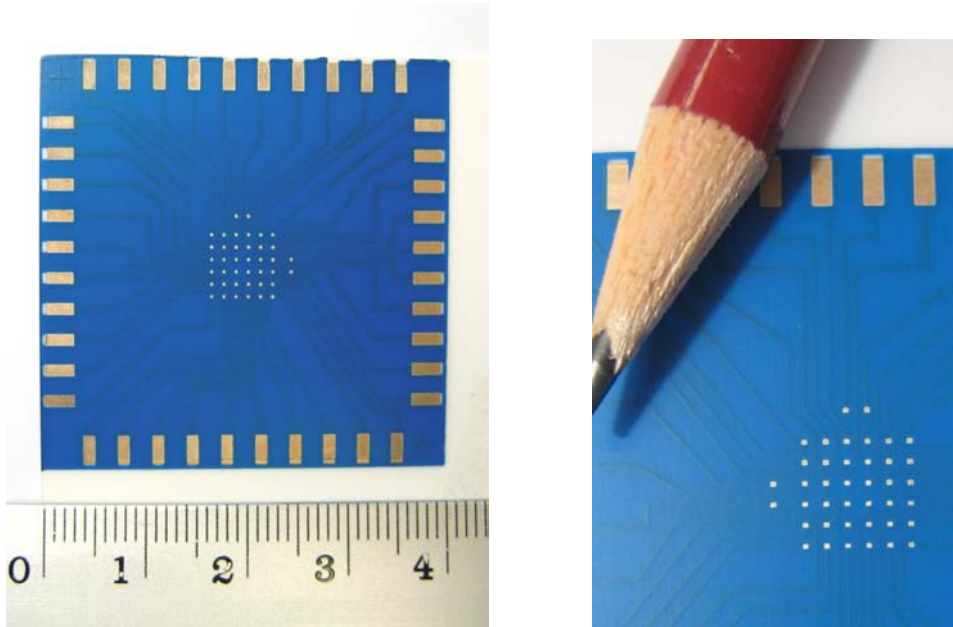


Figura A.55 Vista general (izq.) y ampliada (dcha.) del electrodo acabado en su versión de 36 contactos

A.4 Bibliografía

- J.E. Sergent, C.A. Harper. *Hybrid Microelectronics Handbook 2nd Ed.* McGraw-Hill Inc. 1995
- R. Alvarez Santos. *Tecnología microelectrónica 1. Diseño de Circuitos.* Editorial Ciencia 3. 1988.
- R. Alvarez Santos. *Tecnología microelectrónica 3. Circuitos Híbridos.* Editorial Ciencia 3. 1988.