

# **CUANTIFICACIÓN DE LA COMPLEJIDAD DE LA FIBRILACIÓN MEDIANTE EL AISLAMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE FRENTE DE ACTIVACIÓN MIOCÁRDICA**

*Trabajo Final de Máster*

Máster de Ingeniería Biomédica

Autor:

Xavier Ibáñez Català

Directores:

María de la Salud Guillem Sánchez

Francisco Javier Chorro Gascó



# **ÍNDICE**

<b>ACRÓNIMOS</b>	<b>III</b>
<b>SUMARIO</b>	<b>V</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
MOTIVACIÓN	1
OBJETIVOS	2
<b>ANTECEDENTES CLÍNICOS</b>	<b>3</b>
ANATOMÍA Y FISIOLÓGIA DEL SISTEMA CARDIORRESPIRATORIO	3
ELECTROFISIOLOGÍA CARDIACA	5
ACTIVIDAD ELÉCTRICA CELULAR: EL POTENCIAL DE ACCIÓN	5
PROPAGACIÓN DEL IMPULSO ELÉCTRICO: EL SISTEMA DE CONDUCCIÓN CARDIACA	7
ARRITMIAS CARDIACAS: LA FIBRILACIÓN	8
<b>ANTECEDENTES TÉCNICOS</b>	<b>9</b>
MODELOS ANIMALES	9
SISTEMA DE LANGENDORFF	10
TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DEL CORAZÓN	12
EGM UNIPOLAR	12
EGM BIPOLAR	13
APROXIMACIONES A LA CUANTIFICACIÓN DE LA COMPLEJIDAD DE LA FIBRILACIÓN	14
CLASIFICACIÓN DE MAPAS DE ISÓCRONAS	16
ESTRATEGIAS DE CUANTIFICACIÓN DE LA COMPLEJIDAD NO BASADAS EN MAPAS DE ISÓCRONAS	16
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>19</b>
PREPROCESADO	19
DETECCIÓN AUTOMÁTICA DE ACTIVACIONES	19
CONSTRUCCIÓN DE VOLÚMENES DE ACTIVACIÓN	19
AISLAMIENTO DE FRENTES SIMPLES DE ACTIVACIÓN	21

---

FRENTE SIMPLES DE ACTIVACIÓN, FUSIONES, FRACCIONAMIENTOS Y AFLORAMIENTOS	21
ALGORITMO DE SEGMENTACIÓN	21
<b>CUANTIFICACIÓN AUTOMÁTICA DE LA COMPLEJIDAD</b>	<b>24</b>
<b>ANÁLISIS DE RENDIMIENTO</b>	<b>24</b>
PREPARACIÓN EXPERIMENTAL	24
VALIDACIÓN DEL DETECTOR DE ACTIVACIONES.	27
VALIDACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD A CORTO PLAZO DEL CLASIFICADOR	27
VALIDACIÓN POR VERIFICACIÓN DE EFECTOS CONOCIDOS	27
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>27</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>29</b>
<hr/>	
<b>VALIDACIÓN DEL DETECTOR DE ACTIVACIONES</b>	<b>29</b>
<b>ANÁLISIS DE LA COMPLEJIDAD</b>	<b>30</b>
VALIDACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD A CORTO PLAZO	30
VALIDACIÓN POR VERIFICACIÓN DE EFECTOS CONOCIDOS	33
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>37</b>
<hr/>	
<b>CONTRIBUCIONES PRINCIPALES</b>	<b>37</b>
<b>COMPARACIÓN CON ESTUDIOS PREVIOS</b>	<b>38</b>
<b>APLICACIONES CLÍNICAS</b>	<b>39</b>
<b>LIMITACIONES</b>	<b>39</b>
<b>LÍNEAS FUTURAS</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>41</b>
<hr/>	
<b>CONTRIBUCIONES</b>	<b>43</b>
<b>PUBLICACIONES</b>	<b>43</b>
<b>PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.</b>	<b>43</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>45</b>
<hr/>	

## **ACRÓNIMOS**

EGM	Electrograma.
FC	Frente compacto.
FS	Frentes simples.
FV	Fibrilación ventricular.
IA	Instante de activación.
PA	Períodos de activación.
TD	Período dominante.
VPP	Valor predictivo positivo.



## **SUMARIO**

La cuantificación de la complejidad de los procesos fibrilatorios es una importante área de estudio ya que permite objetivar las modificaciones inducidas mediante una terapia concreta. No obstante, esta evaluación generalmente requiere el análisis de la señal por un observador experimentado, resultando una tarea tediosa que consume mucho tiempo y cuyos criterios pueden sufrir importantes variaciones interobservador, e, incluso, intraobservador.

El objetivo de este trabajo es automatizar la clasificación de mapas de isócronas de fibrilación clasificándolos en tres niveles de organización de acuerdo con los criterios propuestos por Konings en 1994.

Para ello se propone un método basado en el aislamiento espacio-temporal de frentes de activación epicárdica de registros de alta resolución espacial obtenidos durante fibrilación. Dicha metodología consta de dos bloques fundamentales: el primer bloque detecta las activaciones miocárdicas en cada electrograma manteniendo la continuidad espacio-temporal con sus vecinos; el segundo bloque utiliza la información del primero para aislar frentes de activación y evaluar la complejidad de fragmentos de señal cuya longitud se relaciona con la frecuencia fundamental de la fibrilación. De esta forma, los indicadores de complejidad obtenidos se independizan de la frecuencia. Dichos fragmentos se denominan periodos de activación y se establecen tres categorías de complejidad de acuerdo a los criterios propuestos por Konings, donde el tipo I indica mínima complejidad y el tipo III máxima complejidad.

El método se ha probado sobre registros de fibrilación ventricular obtenidos de 17 corazones aislados de conejo, perfundidos según la técnica de Langendorff y utilizando un multielectrodo con 121 puntos de sensado. Ocho de los conejos forman el grupo control y a los nueve restantes se les agrega a la perfusión una concentración de  $1\mu\text{M}$  de propranolol, un fármaco que tiene la propiedad de regularizar la fibrilación.

Para analizar el rendimiento del método, se comprueba, por un lado, el correcto funcionamiento del algoritmo de detección. Para ello se compara el error del algoritmo con el error que comenten diferentes observadores entre ellos al detectar manualmente las activaciones miocárdicas de registros fibrilatorios del grupo control.

Por otro lado, para testar el rendimiento del bloque de cuantificación de la complejidad, se comprueba que el algoritmo produce resultados reproducibles a corto plazo. Para ello se comparan los resultados obtenidos tras analizar segmentos consecutivos de registros de fibrilación del grupo control, ya que la fibrilación en una preparación estabilizada permanece invariable siempre que se mantengan constantes los parámetros electrofisiológicos, como la temperatura y la presión de la perfusión coronaria. Además, para comprobar la habilidad de nuestro método para detectar diferencias en la complejidad comparamos los indicadores obtenidos durante FV basal con los obtenidos en el grupo al que se le administra propranolol.

Se demostró la reproducibilidad del método ya que no se encontraron diferencias significativas al comparar los resultados obtenidos al analizar dos segmentos consecutivos. Por otro lado, la metodología propuesta permitió detectar cambios en la complejidad causados por el propranolol, con un aumento de los periodos de activación tipo I respecto del grupo control (49,9 vs. 21,2) y un decremento en los periodos de activación tipo II (39,4 vs. 62,5) y los tipo III (10,7 vs 16,3), siendo estas diferencias significativas ( $p < 0,001$ ).

Así pues, la metodología propuesta en el presente trabajo se muestra como una herramienta útil que nos permite determinar de forma rápida, automática y reproducible la complejidad de registros eléctricos multicanal de alta resolución espacial obtenidos durante arritmias fibrilatorias.

# **INTRODUCCIÓN**

## **MOTIVACIÓN**

La fibrilación cardiaca es una arritmia compleja cuyos mecanismos de iniciación, mantenimiento e interrupción permanecen parcialmente incomprendidos y, consecuentemente, son todavía materias de estudio relevantes[1-3]. El análisis de los cambios en la complejidad de la fibrilación producidos mediante el uso de fármacos o maniobras que alteran las propiedades electrofisiológicas del miocardio es de gran importancia para la completa comprensión de los mecanismos de mantenimiento de la arritmia y para desarrollar mejores terapias. Asimismo, el nivel de complejidad de la arritmia es relevante para estimar la probabilidad de revertir la arritmia mediante el uso de terapias eléctricas [4;5].

Las técnicas de mapeo cardiaco de alta resolución se han convertido en una herramienta de gran valor a la hora de analizar los patrones de activación durante la fibrilación y para extraer información sobre cómo se puede modificar la complejidad de la arritmia mediante acciones externas. A lo largo de la historia se han empleado diferentes estrategias para lidiar con el problema de la evaluación de la complejidad de los procesos fibrilatorios. La primera aproximación fue hecha por Wells y su equipo [6], que analizaron la morfología de los electrogramas obtenidos con un electrodo bipolar. Una vez disponibles los multielectrodos, que proveen al estudio electrofisiológico de una gran resolución espacial mediante el registro de múltiples electrogramas simultáneos, se empleó la información contenida en éstos para la construcción de mapas de isócronas, cuya complejidad se determinaba por inspección visual individualizada [7-9]. Con el objetivo de cuantificar la complejidad de los mapas de isócronas durante la fibrilación Konings propuso un criterio [9] que clasificaba la complejidad de los mapas en una escala desde tipo I a tipo III, correspondientes a niveles crecientes de complejidad.

Los métodos propuestos por Konings y Wells han sido ampliamente utilizados en la bibliografía[7;8;10-13], pero su principal desventaja es que necesitan que un observador experimentado realice una inspección visual de los datos, resultando una tarea muy laboriosa, tanto más cuanto más aumentamos la resolución del sistema de mapeo. Además, dado que ambas clasificaciones están basadas en aspectos cualitativos de la morfología de las señales o los mapas, los resultados pueden tener una variabilidad fruto de la subjetividad del observador.

Con el aumento del número de electrodos de registro, se han desarrollado estrategias con el objetivo de automatizar la evaluación de la complejidad de múltiples electrogramas registrados durante fibrilación [14-17]. Al contrario que las aproximaciones de Wells y Konings, estos autores no fragmentan la señal en complejos o en mapas de isócronas, sino que la cuantificación de la complejidad se basa en el aislamiento de los frentes de onda de activación del registro completo considerado como un todo. Aun siendo estas estrategias bastante precisas, su principal limitación es que el resultado que ofrecen es, por lo general, un índice abstracto sin una relación clara con los criterios anteriores.

## OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo es diseñar, implementar y evaluar una metodología que automatice por completo la clasificación de mapas epicárdicos basándose en los criterios establecidos por Konings.

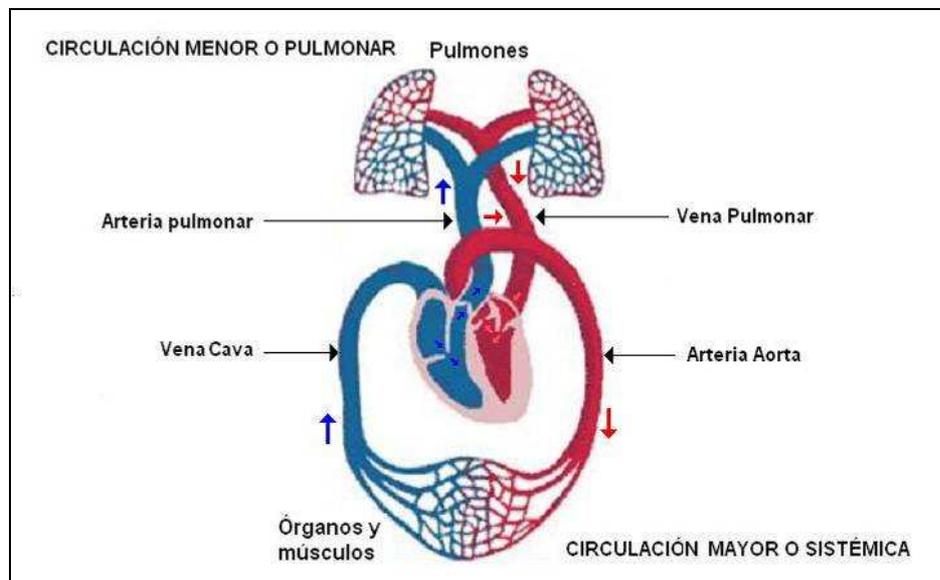
Para la correcta consecución del objetivo general se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Diseñar, implementar y evaluar un algoritmo que detecte automáticamente las activaciones miocárdicas, teniendo en cuenta tanto la información temporal contenida en cada electrograma, como la información espacial presente en los electrogramas vecinos, de forma que se mantenga una continuidad espacio-temporal entre las activaciones que permita determinar ondas o frentes de activación epicárdica.
2. Diseñar, implementar y evaluar un segundo algoritmo que utilice la información del bloque anterior para cuantificar la complejidad de la fibrilación. Dicho algoritmo se basará en el aislamiento espacio-temporal de frentes de activación en el epicardio en segmentos de señal cuya longitud se relaciona con la frecuencia fundamental de la fibrilación, de forma que los indicadores de complejidad obtenidos se independizan de la frecuencia.

# ANTECEDENTES CLÍNICOS

## ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL SISTEMA CARDIORRESPIRATORIO

El corazón es una víscera muscular que forma parte del sistema circulatorio junto a la sangre y el sistema de vasos sanguíneos. Es el encargado de bombear la sangre por todo el organismo permitiendo ésta circule y lleve los nutrientes y el oxígeno necesarios para la vida a todas las células del organismo (ver Figura 1).

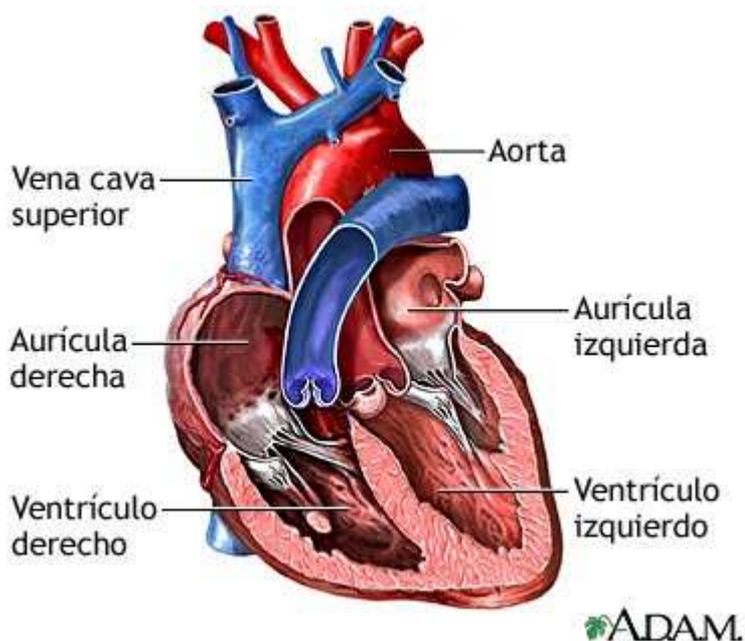


*Figura 1.* Sistema cardiorrespiratorio. En la parte superior se ve la *circulación menor o pulmonar* compuesta por la arteria pulmonar, los pulmones, y la vena pulmonar. Este circuito es el encargado de oxigenar la sangre. En la parte inferior se tiene la *circulación mayor o sistémica*, compuesta por la arteria aorta, los órganos y músculos del cuerpo, y la vena cava. Su función es llevar los nutrientes y la oxigenación a todas las células del cuerpo.

El corazón cuenta con cuatro cavidades comunicadas dos a dos, con un tabique intermedio, llamado tabique interauricular en las cámaras superiores y tabique interventricular en las inferiores. El tabique intermedio divide el corazón en dos partes, el denominado corazón derecho, encargado de recibir la sangre con dióxido de carbono (de color azul en la Figura 1) y bombearla hacia los pulmones, y el corazón izquierdo, encargado de recibir la sangre oxigenada de los pulmones (de color rojo) para luego bombearla al resto de órganos del cuerpo. Cada parte del corazón está formada por dos cámaras intercomunicadas, la cámara superior, la aurícula, recibe la sangre a través de las venas, y la inferior, el ventrículo, se encarga de dar impulso a la sangre para que pase a la red arterial. Para evitar el retroceso de la sangre en la bomba cardiaca tenemos válvulas, tanto en la separación de las aurículas con los ventrículos (válvula tricúspide en la parte derecha y la válvula mitral en la parte izquierda) como en el comienzo de las

arterias (válvula sigmoidea pulmonar en la parte derecha y la válvula sigmoidea aórtica en la parte izquierda) [18] (ver Figura 2).

Como hemos dicho, el corazón es una bomba que impulsa la sangre a través del circuito vascular para hacer llegar a todos los puntos del organismo los nutrientes y oxigenación necesarios, así como eliminar los residuos producto de la actividad normal de las células. La actividad mecánica del corazón se divide en dos fases: la sístole y la diástole.

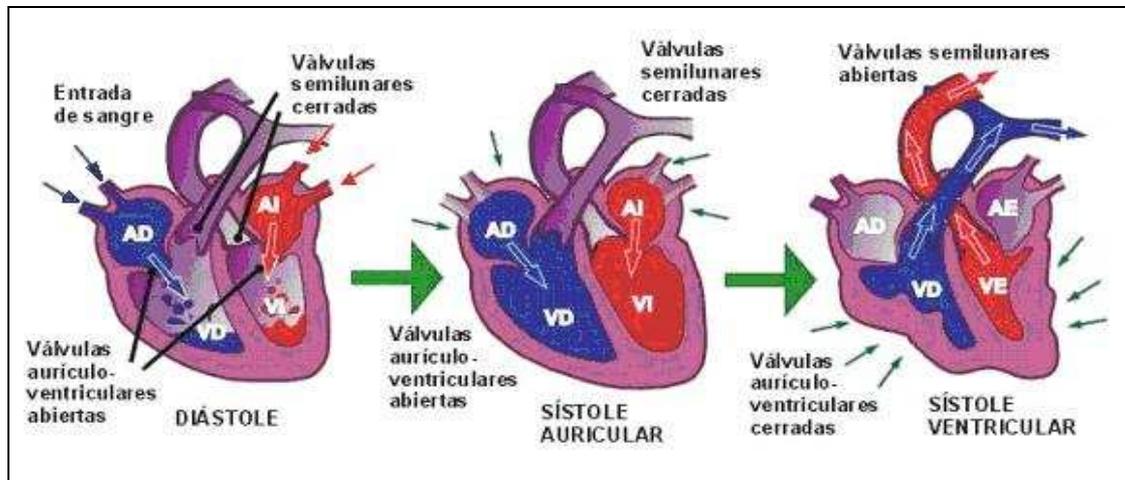


*Figura 2:* Anatomía del corazón. Se observan las cuatro cámaras y las diferentes válvulas que impiden el retroceso de la sangre, permitiendo que la circulación sea de sentido único.

El ciclo cardiaco comienza con la diástole. En esta fase las válvulas auriculoventriculares se abren, permitiendo que la sangre fluya hacia los ventrículos gracias a la diferencia de presión entre éstos y las aurículas. Una vez los ventrículos están casi llenos, el flujo de sangre hacia los éstos se va ralentizando en una etapa llamada diástasis. La última etapa de la diástole cardiaca es la sístole auricular, en la cual las aurículas se contraen para que la sangre que todavía permanece en ellas pase a los ventrículos, permitiendo un aumento del 30% de volumen de sangre en los ventrículos.

La segunda fase del ciclo cardiaco es la sístole, donde se produce una contracción isométrica de los ventrículos, en la cual no hay variación alguna de volumen, pero sí de presión, lo que provoca el cierre de las válvulas auriculoventriculares. Cuando la presión intraventricular supera la presión en las arterias (aorta o pulmonar, según el caso) las válvulas arteriales se abren, momento en el que empieza el vaciado, etapa que dura casi tres cuartas partes de la sístole. La sangre va pasando del ventriculo a la aorta hasta que se produce la relajación isométrica de las fibras ventriculares. Consecuentemente, la presión interventricular desciende, provocando el cierre de las válvulas arteriales y la

posterior apertura de las válvulas auriculoventriculares, finalizando así el ciclo cardiaco (ver Figura 3) [18].



*Figura 3:* El ciclo cardiaco. En esta figura se muestra el estado de las válvulas de cada una de las cámaras del corazón, en las etapas de diástole, sístole auricular y sístole ventricular.

## ELECTROFISIOLOGÍA CARDIACA

La eficiencia de la actividad de bombeo del corazón está íntimamente relacionada con que la contracción de las fibras musculares se realice de forma sincronizada. Tras esta actividad mecánica subyace una actividad eléctrica que es la encargada de mantener el sincronismo.

### *Actividad eléctrica celular: el potencial de acción*

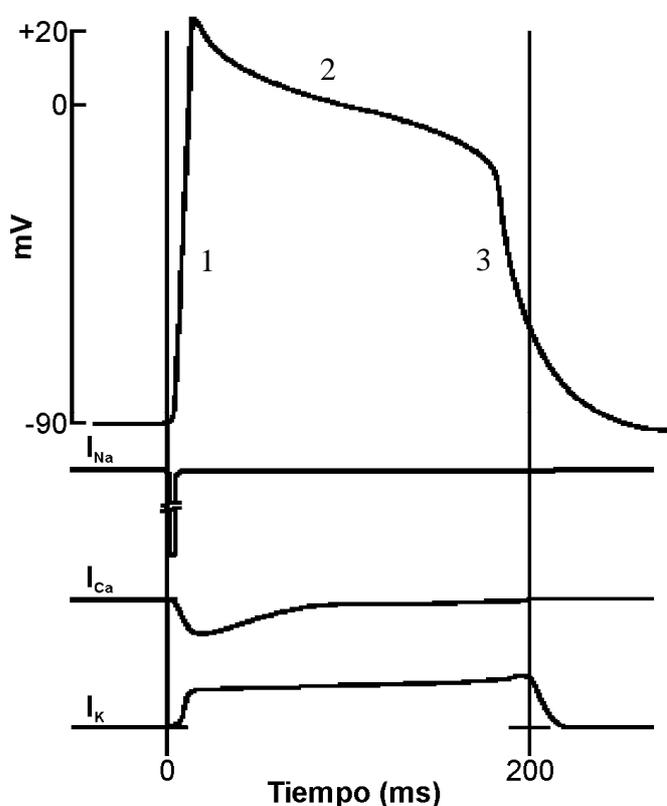
La membrana celular es una barrera que aísla casi perfectamente el medio intracelular del medio extracelular. Ambos medios son una disolución acuosa de diversas sustancias como proteínas, glucosa e iones; no obstante, las concentraciones iónicas de los medios intra y extracelular son diferentes. Esto hace que exista una diferencia de carga neta entre ambos medios, cosa que provoca que se cree una diferencia de potencial entre el interior de la célula y el exterior, que se denomina potencial de reposo y que, en la célula cardiaca, tiene un valor aproximado de  $-90$  mV (tomando como referencia el medio extracelular).

Por otra parte, algunas células, entre las que se incluyen los cardiomiocitos y las neuronas, son excitables, es decir, son capaces de aumentar autónomamente su potencial de reposo como consecuencia de un estímulo externo, generando lo que se conoce como potencial de acción. El potencial de acción tiene tres etapas claramente diferenciadas (ver Figura 4):

- **Despolarización:** ante un estímulo que supere un determinado umbral de disparo se tiene una subida rápida del potencial de membrana

llamada despolarización, que da inicio al potencial de acción. Esta fase se debe a una entrada rápida de cargas positivas en la célula (en concreto iones  $\text{Na}^+$ ) y alcanza valores alrededor de 25 mV.

- Meseta: en esta fase se detiene la entrada de  $\text{Na}^+$ , pero comienza a entrar en la célula otro catión,  $\text{Ca}^{2+}$ , a la vez que comienza a salir de la célula  $\text{K}^+$ . En esta fase el flujo de carga neto es casi nulo y el potencial de membrana se mantiene casi constante. Durante esta etapa, gracias al aumento de la concentración intracelular de calcio, el cardiomiocito se mantiene contraído.
- Repolarización: al final de la meseta el flujo de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  se hace cada vez más lento hasta desaparecer, pero la salida de  $\text{K}^+$  se mantiene, de forma que el potencial de membrana baja hasta el potencial de reposo.



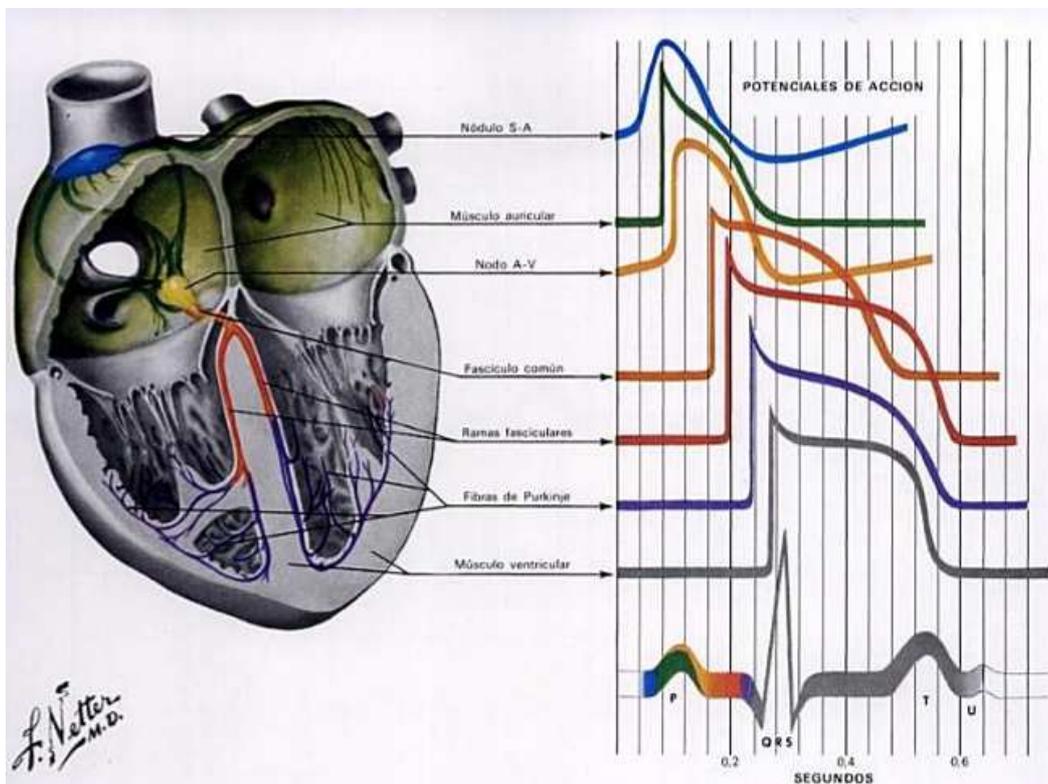
*Figura 4.* Potencial de acción de la célula cardíaca. Se distinguen claramente tres fases. 1) Despolarización, caracterizada por una rápida entrada de iones de sodio. 2) Meseta, donde la entrada de calcio y la salida de potasio equilibran el flujo neto de carga y el potencial permanece casi constante. 3) Repolarización, cesa la entrada de iones de calcio pero no la salida de potasio, con lo que la célula pierde carga positiva y, por tanto, su potencial de membrana baja hasta llegar al potencial de reposo. [19]

Como hemos visto, para que el potencial de acción se desencadene es necesario un estímulo externo (a excepción de algunas células que son autoexcitables). Este estímulo se puede simular en laboratorio mediante la inyección de corriente en la célula utilizando un electrodo, pero en el estado natural el estímulo que desencadena el potencial de acción de un cardiomiocito proviene de un cardiomiocito adyacente. Esto es así porque los cardiomiocitos están unidos entre sí por los llamados discos intercalares, que contienen unos canales especiales denominados *gap junctions*, que permiten el intercambio de iones entre células. De esta forma, cuando una célula se despolariza estimula a sus vecinas y éstas, si el estímulo es suficiente, se despolarizan y estimulan, a su vez, a sus vecinas. De esta forma, el estímulo eléctrico se transmite por todo el

miocardio en muy poco tiempo y el músculo cardiaco se contrae de forma sincrona [19].

### ***Propagación del impulso eléctrico: el sistema de conducción cardiaca***

No obstante, el estímulo eléctrico desencadenante de la contracción cardiaca en situaciones fisiológicas no se origina en el miocardio, sino que se genera en una estructura compuesta por células autoexcitables, el nodo sinusal, que funcionan como el marcapasos natural del corazón. Esta estructura está ubicada en la pared superior de la aurícula derecha y se denomina nodo sinusal. El estímulo se propaga por las aurículas a través del Haz de Bachmann (hacia la aurícula izquierda) y las vías internodales hasta llegar al nodo auriculoventricular. En este tejido situado en la parte inferior de la aurícula derecha, la señal sufre un retardo debido a la lenta conducción del nodo, cuyo objetivo es retardar el estímulo el tiempo suficiente para que los ventrículos se llenen de sangre. Tras pasar el nodo auriculoventricular, el estímulo atraviesa el Haz de Hiss, que se divide en dos ramas situadas en el interior del tabique interventricular y de las cuales derivan las fibras de Purkinje. Estas últimas son fibras gruesas de propagación muy rápida que permitirán que la excitación llegue casi simultáneamente a todo el ventrículo, provocando la contracción uniforme de éste. En la Figura 5 se puede ver el trayecto del estímulo a través de las diferentes estructuras de conducción del corazón, las diferentes formas del potencial de acción en cada una de ellas y los retrasos que sufre. [18].



*Figura 5.* Diferentes formas del potencial de acción y retardos que sufre a lo largo de las distintas estructuras de conducción del impulso eléctrico en el corazón. En la parte inferior se muestra el ECG y su relación temporal con los diferentes eventos que ocurren en el corazón.

Por otra parte, es importante destacar la ausencia de retornos del impulso eléctrico debido al periodo refractario celular, esto es, la incapacidad de generar un potencial de acción instantes después de haber terminado otro. Ésta propiedad de los cardiomiocitos permite que el estímulo, después de provocar la contracción de todo el miocardio, se extinga, evitando la creación de circuitos recirculantes que generen arritmias. La existencia de arritmias es una situación patológica que puede tener consecuencias graves e incluso mortales

## **ARRITMIAS CARDIACAS: LA FIBRILACIÓN**

Como hemos visto, el estímulo eléctrico que provoca la contracción miocárdica se propaga por el corazón haciendo que éste se contraiga de forma sincrónica. La pérdida de este sincronismo provoca una serie de situaciones patológicas que se engloban bajo la denominación de arritmias.

De entre todas las arritmias, la fibrilación es la más peligrosa, ya que provoca una contracción del miocardio totalmente descoordinada, resultando en una actividad mecánica totalmente ineficiente. Ésta arritmia puede darse en las aurículas y en los ventrículos. En el primer caso no es mortal, pero tiene graves consecuencias, ya que provoca un aumento de la frecuencia ventricular y, en las zonas auriculares en las que se producen remansos (como las orejuelas), se pueden generar trombos que posteriormente viajen por el torrente sanguíneo. En los ventrículos las consecuencias de la fibrilación son mucho más peligrosas: la tensión sistólica es totalmente inefectiva y, en consecuencia, la presión arterial cae. Este descenso de la presión arterial provoca una falta de oxígeno en todos los órganos, incluido el propio corazón. La fibrilación ventricular provoca la muerte en pocos minutos si no se revierte mediante un choque eléctrico.

Durante la fibrilación, la activación del miocardio es extremadamente heterogénea y compleja, cosa que ha motivado la creencia generalizada de que es el resultado de un proceso totalmente aleatorio. De hecho, los conceptos tradicionales se basan en la hipótesis de Moe [20] de que la fibrilación es el resultado de múltiples frentes de onda de activación que se mueven por el miocardio erráticamente dando lugar a patrones de excitación altamente irregulares. No obstante, la reciente aplicación de la teoría de sistemas dinámicos no lineales al estudio de la fibrilación, junto con las técnicas de mapeo cardiaco de alta resolución, han permitido pensar en la fibrilación como un problema de autoorganización de ondas eléctricas no lineales con un componente determinista y otro aleatoria [2].

# ANTECEDENTES TÉCNICOS

## MODELOS ANIMALES

En el ámbito de las enfermedades cardiovasculares, la utilización de modelos animales ha contribuido sustancialmente al progreso en el conocimiento de su patogenia y ha permitido el desarrollo de técnicas diagnósticas y la validación de procedimientos preventivos y terapéuticos, tanto farmacológicos como intervencionistas.

Aunque los modelos animales nunca se asemejan completamente a la realidad observada en la clínica, sí que permiten obtener información directa de determinados fenómenos con un control adecuado de diversas variables y utilizando procedimientos precisos, con frecuencia invasivos y difícilmente aplicables en estudios clínicos. La información obtenida a partir de los modelos animales requiere el análisis de su aplicabilidad a la patología humana, y por ello la información obtenida en ambos contextos debe ser complementaria.

Las principales ventajas de este tipo de modelos son la posibilidad de utilizar controles y de fijar las condiciones que podrían modificar los resultados al variar uno o varios factores. Entre las limitaciones se encuentran las diferencias existentes entre la enfermedad humana y la inducida experimentalmente, producidas, entre otras causas, por diferencias en los mecanismos de regulación genética o en los factores que determinan las funciones cardíaca y vascular. En la Tabla 1 se tiene un listado más completo de las ventajas y limitaciones que presenta el uso de modelos animales en el estudio de las enfermedades cardiovasculares [21].

Tabla 1. Ventajas y limitaciones del uso de modelos animales para el estudio de enfermedades cardiovasculares.

### VENTAJAS

- Información directa.
- Disponibilidad de controles.
- Modificación controlada de variables.
- Técnicas precisas.
- Disponibilidad de distintos modelos.
- Posibilidad de crear nuevos modelos.
- Ampliación de la capacidad de análisis.
- Acceso a las estructuras anatómicas.

### LIMITACIONES

- Necesidad de extrapolar los resultados.
- Diferencias en la regulación genética.
- Diferencias anatómicas.
- Mecanismos fisiopatológicos distintos.
- Diferencias entre especies.
- Modelos *in vivo* frente *in vitro*.
- Distinta respuesta a fármacos.
- Variaciones inducidas por las técnicas.

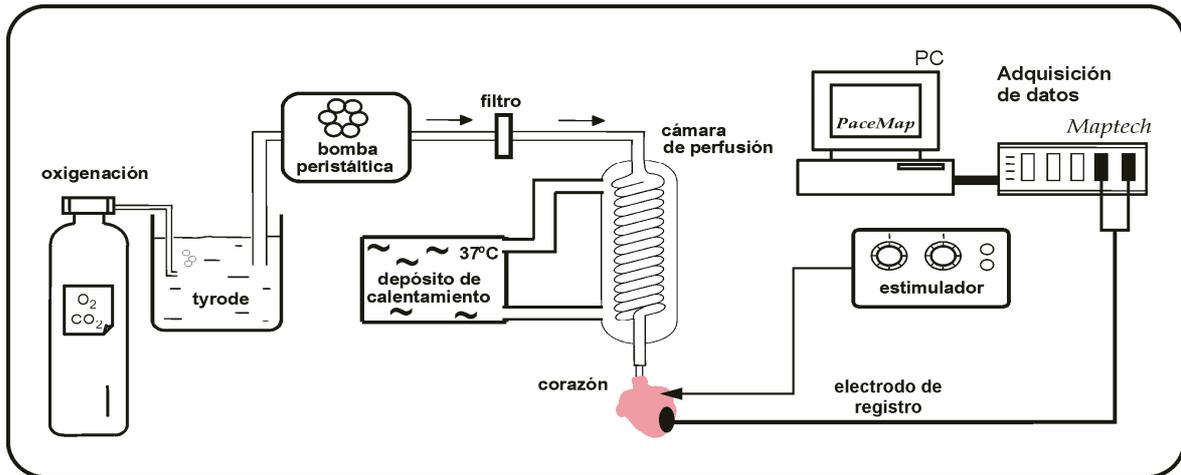
La elección adecuada del modelo experimental debe basarse fundamentalmente en la finalidad del estudio, es decir, hay que elegir aquel que mejor se adapte a los objetivos de la investigación, aunque en esta decisión influyen diversos factores, entre ellos las técnicas y los métodos disponibles para obtener la información, su disponibilidad y accesibilidad, las condiciones necesarias para la estabulación, el número de experimentos, el tipo de estudio, agudo o crónico y, en este último caso, su duración.

## **SISTEMA DE LANGENDORFF**

A la hora de realizar estudios sobre modelos animales el paradigma del corazón aislado es un método de trabajo muy utilizado, ya que permite mantener vivo el órgano mientras sus constantes electrofisiológicas se mantienen estables y controladas. A tal efecto, el empleo del sistema de perfusión inventado por Oscar Langendorff en 1897 es una práctica generalizada. Este sistema permite mantener vivo el corazón aislado de un mamífero para realizar estudios e investigaciones sobre éste, mientras mantiene constantes los parámetros electrofisiológicos como la temperatura, presión, concentración de nutrientes e iones en la perfusión, oxigenación, etc.

La máquina de perfusión de Langendorff, desarrollada sobre las bases establecidas por Elias Cyon en 1866 al perfundir un corazón aislado de rana, tiene la particularidad de perfundir el corazón de forma retrógrada, es decir, vía aorta, provocando el cierre de la válvula aórtica. De esta manera el líquido de perfusión pasa a través de las arterias coronarias, irriga el miocardio y es drenado al exterior por el propio sistema venoso cardiaco. Dado que es la propia presión de la perfusión la que cierra la válvula aórtica permitiendo la irrigación coronaria, el corazón se mantiene constantemente perfundido con independencia de que su actividad mecánica sea efectiva o no. [22] En la actualidad éste es el sistema más utilizado debido a su efectividad y su sencillez, y su funcionamiento general ha permanecido constante desde los tiempos de su creador, habiéndose incorporado únicamente algunas mejoras relativas al control de temperatura, de presión y de oxigenación (ver Figura 6).

Aunque a lo largo de la historia la perfusión se realizaba con suero de la especie del corazón o incluso de otras especies, en la actualidad se utilizan líquidos nutricios artificiales (solución de Tyrode, solución de Krebs-Henseleit, etc) que se oxigenan con una mezcla de O<sub>2</sub> (95%) y CO<sub>2</sub> (5%). Estos fluidos contienen las proporciones adecuadas de electrolitos y glucosa y pueden complementarse con albúmina o sangre, especialmente cuando se utilizan corazones de especies grandes. La presión de perfusión se mantiene constante (entre 60 y 80 mmHg), así como la temperatura (entre 36 y 37 °C) y el pH (entre 7,35 y 7,4) [21].



*Figura 6.* Esquema del sistema de Langendorff. El líquido nutritivo se bombea desde un tanque en el que se oxigena (izquierda) hasta la aorta (centro) mediante una bomba peristáltica. En su camino, pasa por un filtro, una válvula de regulación de presión y un sistema de control de temperatura basado en un intercambiador de calor tubular. A la derecha se tiene un esquema del sistema de estimulación eléctrica y del sistema de adquisición de datos. [21]

El empleo de corazón aislado en la experimentación tiene algunas características fundamentales que, si bien alejan el modelo de la realidad, permiten tener ciertos parámetros fisiológicos controlados. Por un lado, como ya hemos dicho, la perfusión cardíaca no depende de la efectividad de la actividad mecánica del corazón, cosa que permite estudiar de forma prolongada condiciones patológicas que supondrían la muerte de un animal, como la fibrilación ventricular de larga duración. Por otro lado, permite estudiar los fenómenos cardíacos sin influencias neurohumorales ya que el corazón está separado de la inervación vegetativa. [21] Estas características permiten obtener resultados altamente reproducibles.

Aunque este sistema supuso un gran avance en el estudio de la fisiología cardíaca y sigue siendo ampliamente utilizado en la actualidad, tiene algunas limitaciones y desventajas. Dado que el corazón se contrae sin realizar trabajo y la presión aórtica se mantiene constante, se tiene un flujo coronario más alto de lo normal. No obstante, existen variantes en las que, mediante diversos dispositivos (balón intraventricular relleno de líquido, perfusión desde la aurícula izquierda con conexión de la aorta a un sistema que regula la resistencia al flujo, etc), el corazón se contrae con una determinada carga [21]. Además, aunque el líquido nutritivo utilizado en la perfusión intenta imitar al plasma sanguíneo, éste no contiene proteínas, iones naturales, hormonas y otras moléculas que se hallan en la sangre. Esto último hace que la estabilidad electrofisiológica y, por tanto, la vida del corazón, esté limitada a unas pocas horas [22].

## TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DEL CORAZÓN

El potencial de acción se mide como la diferencia de tensiones entre el medio intracelular y el medio extracelular. Para medir esta diferencia de tensiones se necesita una micropipeta (fabricada generalmente con vidrio estirado) para pinchar la célula y medir el potencial en su interior sin destruirla (ver Figura 7). Este procedimiento requiere de un instrumental muy específico y su principal limitación es que necesita aislamiento celular, por lo que no permite estudiar el comportamiento de los tejidos, aspecto de vital importancia en el caso del corazón, donde el estímulo se transmite de una célula a la vecina a través de los *gap junctions*.

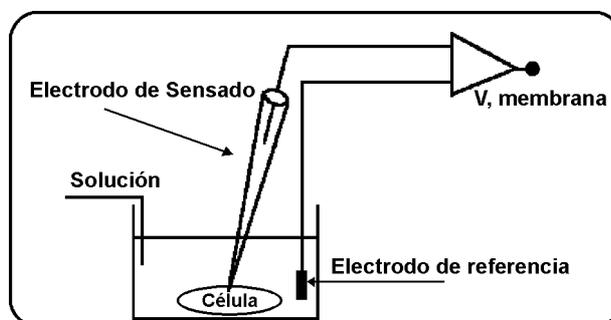


Figura 7. Registro del potencial de acción transmembrana. El electrodo de referencia (-) se coloca en la solución extracelular, mientras el electrodo de sentido (+) se introduce en la célula mediante una micropipeta.

Por ello se han desarrollado otros métodos de medición que permiten conocer el comportamiento eléctrico del tejido. En la clínica se utiliza de forma generalizada el electrocardiograma (ECG), que mide las diferencias de potencial creadas por la actividad eléctrica del corazón en diferentes puntos estandarizados de la superficie corporal llamados derivaciones. Otra manera más invasiva de captar la actividad eléctrica del corazón es el electrograma (EGM), que consiste en captar el campo eléctrico mediante uno o varios conductores apoyados sobre el tejido cardiaco. Existen diferentes variantes, que estudiaremos a continuación.

### *EGM Unipolar*

El EGM unipolar se realiza con un solo electrodo conectado al terminal positivo del amplificador mientras el terminal negativo se conecta generalmente a un punto de tensiones comunes que se considera la tierra del sistema. En la Figura 8 se puede ver un esquema del montaje y la señal obtenida. En el EGM unipolar contribuyen dos campos eléctricos, el campo cercano y el campo lejano. El campo cercano es el generado por las células que se encuentran en contacto con el electrodo. El campo lejano es generado por las células distantes que no están en contacto directo con el electrodo y su contribución es inversamente proporcional a la distancia a la que se encuentren del electrodo. La forma de onda

obtenida viene dada por la ecuación que relaciona el potencial extracelular  $\Phi_e$  en el punto  $p$  con el potencial intracelular  $\Phi_i$  [23]:

$$\Phi_e(p) = \frac{1}{4\pi\sigma_e} \int \frac{\nabla \cdot (\sigma_i \nabla \Phi_i)}{r} dV$$

donde  $\sigma_e$  y  $\sigma_i$  son, respectivamente, la conductividad eléctrica del medio exterior e interior y  $r$  la distancia entre el punto de observación  $p$  y el punto de integración.

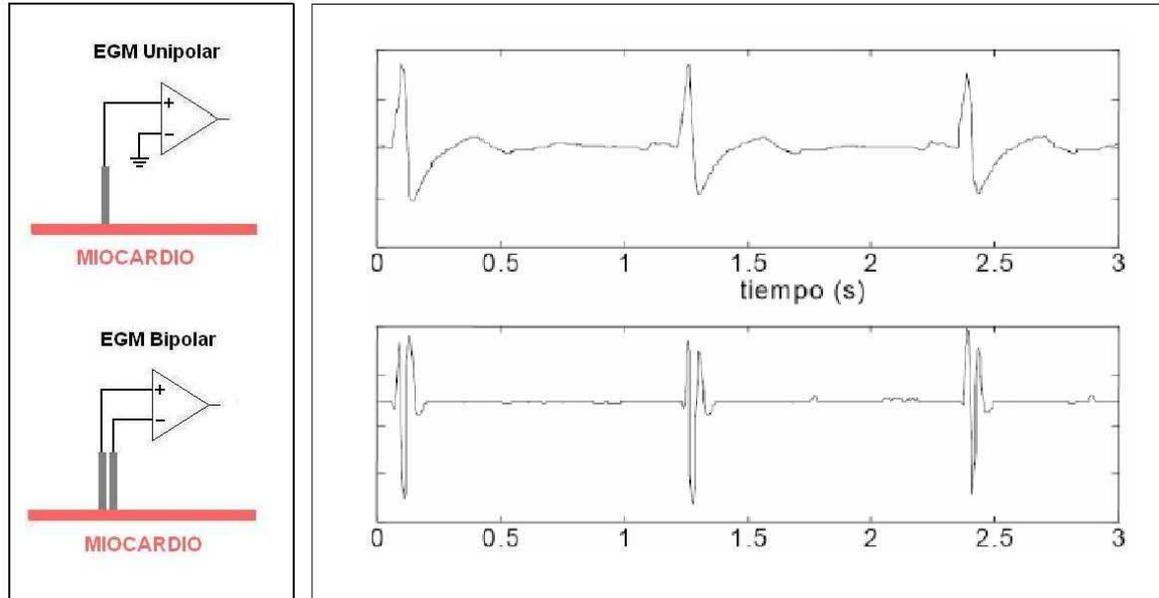


Figura 8. Ejemplo de EGM unipolar (arriba) y bipolar (abajo). Las fuertes pendientes negativas observadas en el EGM unipolar se corresponden con despolarizaciones del tejido bajo el electrodo. Obsérvese cómo la contribución del campo lejano se cancela en el caso del EGM bipolar, mientras sí aparece en el unipolar.

Con esta ecuación se puede deducir que las deflexiones positivas indican que un frente de onda se acerca, mientras que las deflexiones negativas indican que se aleja. Por tanto, si tenemos una deflexión positiva de amplitud considerable seguida de una deflexión negativa, podemos afirmar que un frente de onda ha pasado bajo el electrodo, dejando como indicador más representativo una fuerte pendiente de bajada. Así pues, cuando el tejido inmediatamente bajo el electrodo se despolariza se refleja en el EGM unipolar una derivada negativa de gran amplitud.

### ***EGM Bipolar***

El EGM bipolar se realiza con dos electrodos muy próximos entre sí en contacto directo con el miocardio, conectando uno al terminal positivo del amplificador diferencial y el otro al negativo, y por lo tanto podría decirse que corresponde con la diferencia de dos EGM unipolares muy próximos entre sí. En la Figura 8 se puede ver un esquema del montaje y de la señal obtenida. En este caso también se tiene la contribución del campo cercano y del campo lejano. No obstante, el segundo es menos relevante dado que el campo lejano captado por ambos electrodos es muy similar y prácticamente se anula al realizar la diferencia.

La amplitud de la señal registrada con este método está íntimamente ligada al ángulo del frente de onda respecto de la línea que forman el par de electrodos, siendo mayor cuanto más perpendicular sea la línea del frente de onda respecto de los electrodos. Este hecho constituye su mayor virtud y a la vez su mayor inconveniente, ya que son muy útiles para estudios de velocidad y dirección de propagación pero muy poco útiles cuando la activación es caótica como en los estudios de la fibrilación ventricular, donde la dirección de los frentes de onda cambia constantemente.

## APROXIMACIONES A LA CUANTIFICACIÓN DE LA COMPLEJIDAD DE LA FIBRILACIÓN

Desde que la comunidad científica llegó al convencimiento de que la fibrilación está compuesta por una parte determinista y otra aleatoria, y que, por tanto, es una arritmia que puede mostrar diferentes niveles de organización, se ha intentado cuantificar la complejidad de la fibrilación. Uno de los primeros intentos fue realizado por Wells y cols. [6], la morfología de electrogramas bipolares clasificándolos en tres categorías de complejidad. Con la generalización de los sistemas de mapeo cardiaco de alta resolución se crearon nuevos paradigmas. En los primeros tiempos, dado que el procesado de los electrogramas se realizaba de forma manual, la señal se dividía en segmentos y se evaluaba la complejidad de cada segmento. Con el aumento del número de electrodos de registro (ver Figura 9) y la aplicación de herramientas matemáticas e informáticas, se desarrollaron nuevas estrategias para automatizar la evaluación de la complejidad de la fibrilación.



Figura 9. Izquierda: fotografía de un multielectrodo para mapeo epicárdico con una matriz de 16 x 16 electrodos unipolares. Derecha: fotografía que muestra el uso del multielectrodo, apoyado sobre el epicardio.

Como hemos dicho, al generalizarse los sistemas de mapeo cardiaco de alta resolución, el análisis de la morfología de cada uno de los EGMs dejó de tener sentido, ya que se quería sacar provecho de la información espacial contenida en los registros. Para tener disponible en una misma herramienta la información espacial y la temporal se empezó a trabajar con mapas de isócronas.

Éstos consisten en detectar las activaciones miocárdicas (reflejadas en los EGMs como fuertes pendientes de bajada) y elegir una ventana temporal de interés. En la posición de cada electrodo se representa la diferencia de tiempo entre el inicio de la ventana y la siguiente activación en ese electrodo y se dibujan líneas (llamadas isócronas) uniendo los puntos que se activan en el mismo instante. Así, con una sola figura, se puede caracterizar el comportamiento espacio-temporal de los patrones de activación miocárdica. Obviamente, un mapa de isócronas sólo puede representar un único instante de activación por electrodo, con lo que es posible que en la creación de los mapas se pierda parte de la información contenida en la señal.

Uno de los hallazgos más importantes realizados gracias al uso de registros electrofisiológicos mediante multielectrodos fue realizado por Janse y cols. en 1980 [24]. En este trabajo se muestran dos mecanismos responsables de la arritmias en situación de isquemia aguda: uno de ellos es la aparición de focos ectópicos situados en el borde de la zona isquémica, el otro es la creación de reentradas en figura de ocho en el tejido isquémico debido a la heterogeneidad del periodo refractario (ver Figura 10). El patrón de activación en figura de ocho guarda un sorprendente parecido con los resultados del modelo computacional de Moe [20], en el que postula que la fibrilación se mantiene debido a la presencia de múltiples ondículas que se dividen y se fusionan unas con otras constantemente dando lugar a la actividad caótica que caracteriza a la fibrilación.

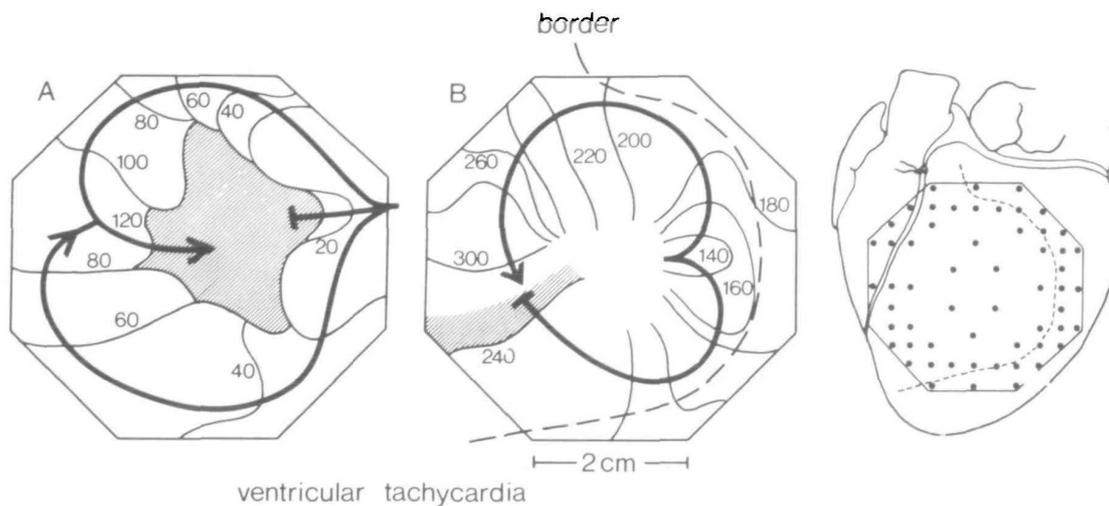
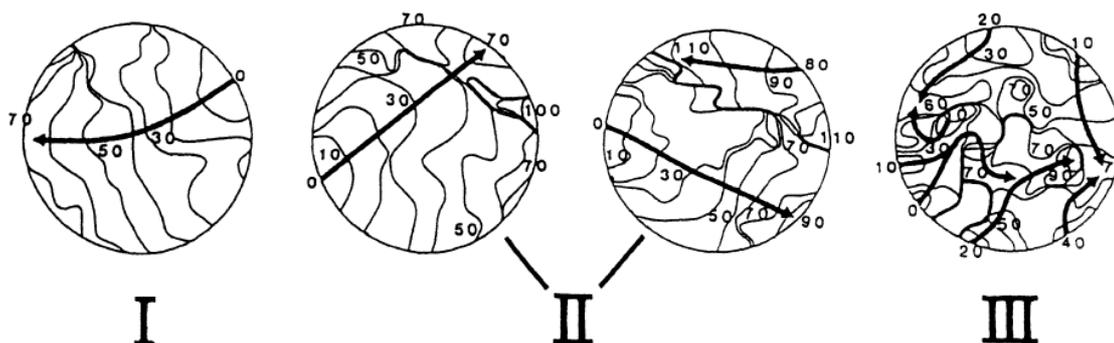


Figura 10. La heterogeneidad del periodo refractario en la zona isquémica bloquea el paso de derecha a izquierda de un frente de activación que sí encuentra paso rodeando la zona isquémica (A). Al alcanzar el lado contrario de la zona isquémica, ésta ya no se encuentra en periodo refractario y conduce un frente de activación de izquierda a derecha, dando lugar a la reentrada en figura de ocho (B). La línea discontinua marca el borde de la zona isquémica. A la derecha se muestra la configuración del multielectrodo y la ligadura realizada en la coronaria descendente anterior izquierda para producir la isquemia. [25]

### *Clasificación de mapas de isócronas*

En 1994, Konings y cols. [9] establecieron un criterio para la clasificación de la complejidad de mapas de isócronas durante fibrilación auricular que se ha acabado generalizando como un estándar de facto. El criterio clasifica los mapas en tres tipos, del I al III, con un grado de complejidad creciente (ver Figura 11, definidos de la siguiente manera:

- Tipo I: un único frente de onda que se propaga sin un retraso en la conducción significativo, exhibiendo únicamente pequeñas líneas de bloqueo o áreas de conducción lenta sin interrumpir la dirección principal de propagación.
- Tipo II: patrones de activación caracterizados bien por un frente de onda asociado a una cantidad considerable de líneas de bloqueo o zonas de conducción lenta o bien formados por dos frentes de onda diferentes.
- Tipo III: tres o más frentes de onda con áreas de conducción lenta y múltiples líneas de bloqueo.



*Figura 11.* Criterio empleado por Konings para la clasificación de mapas de isócronas durante fibrilación auricular. Mapa tipo I: un solo frente de onda sin retraso de la conducción ni líneas de bloqueo. Mapa tipo II: un frente de onda con líneas de bloqueo o dos frentes de onda. Mapa tipo III: tres o más frentes de onda. [9]

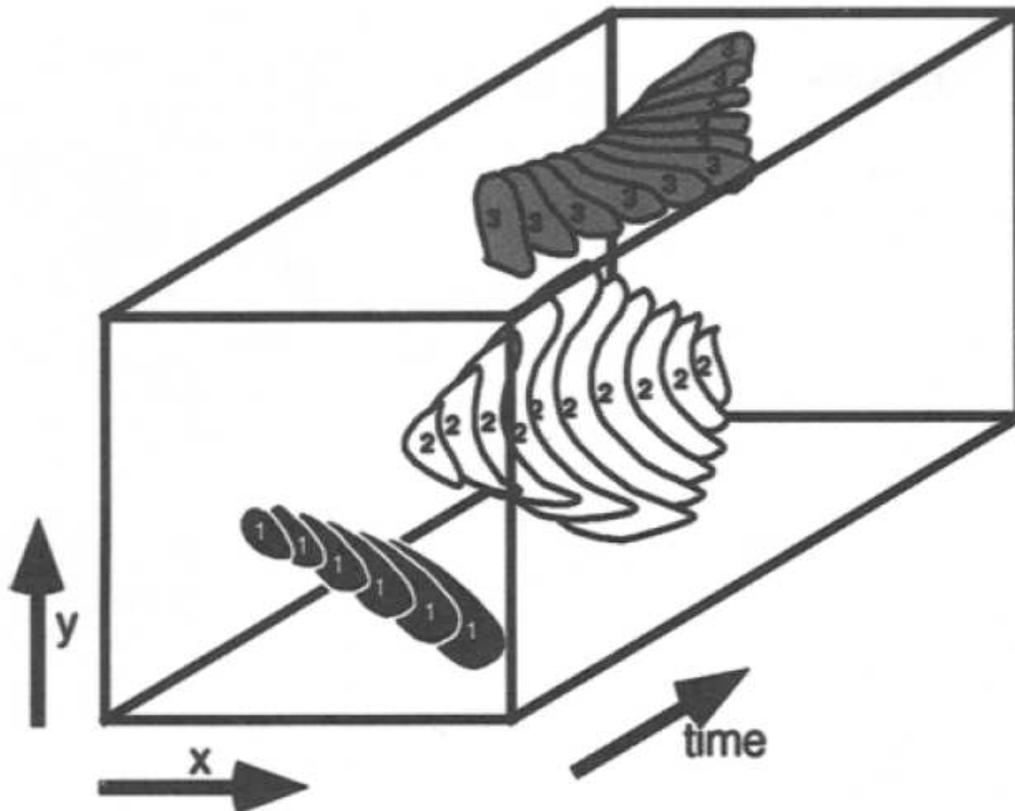
Como ya se ha dicho, la clasificación de Konings ha sido ampliamente utilizada en la bibliografía [7;8;10-13], pero tiene un inconveniente fundamental: necesita que un observador experimentado realice la inspección visual de los mapas de isócronas, resultando una tarea muy laboriosa. Además, como hemos visto, la clasificación se basa en parámetros cualitativos de los mapas, cosa que puede producir resultados con alta variabilidad fruto de la subjetividad del observador.

### *Estrategias de cuantificación de la complejidad no basadas en mapas de isócronas*

A lo largo de los años se han aplicado estrategias basadas en herramientas matemáticas y de procesado de señal para automatizar la evaluación de la

complejidad de los procesos fibrilatorios. Describiremos brevemente algunas de ellas.

Rogers y su equipo [17] definieron un parámetro llamado multiplicidad para cuantificar la complejidad de patrones de activación epicárdicos. El método para calcularlo se basa en el aislamiento espacio-temporal de los frentes de activación, construyendo un espacio tridimensional en el que dos de las dimensiones se corresponden con las dimensiones espaciales del electrodo mientras la tercera representa el tiempo [16], tal y como se muestra en la Figura 12. A partir de esa estructura de datos, se calcula la semejanza entre todas las posibles parejas de ondas aisladas y, posteriormente, se crean agrupaciones de ondas similares que representan patrones de activación repetitivos. Así pues, la multiplicidad se define como el número de agrupaciones necesarias para representar el 90% de la actividad total del episodio estudiado. Por ejemplo, un patrón de activación repetitivo, como el ritmo sinusal, tiene una multiplicidad igual a uno, lo cual quiere decir que la misma morfología activa repetidamente el área mapeada. Así pues, es esperable que un episodio fibrilatorio tenga una multiplicidad mayor que uno.



*Figura 12.* Diagrama de tres frentes de onda independientes contenidos en una estructura de datos tridimensional, donde dos de las dimensiones se corresponden con la superficie del electrodo mientras la tercera es el tiempo. Cada una de las superficies planas representa el área del electrodo activada en cada uno de los instantes muestreados. [16]

Otras aproximaciones se basan en considerar la fibrilación como un sistema dinámico no lineal y emplear herramientas utilizadas en la descripción de este tipo de sistemas, como la descomposición de Karhunen-Loève. La

descomposición de Karhunen-Loève es una representación de un proceso estocástico como una combinación lineal infinita de funciones ortogonales. Bayly y cols. [14] cuantifican la complejidad de la fibrilación calculando el número de modos de Karhunen-Loève necesarios para alcanzar el 90% de la varianza de la señal representada.

El principal inconveniente de estas herramientas es que sus resultados son, por lo general, indicadores abstractos sin una relación clara con los criterios clásicos y, por tanto, su uso no llega a generalizarse.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **PREPROCESADO**

A cada uno de los EGMs registrados se le aplica un filtro paso alto para eliminar las frecuencias cercanas a la continua, con una frecuencia de corte de 0,7 Hz (Butterworth, orden 10). A continuación, se eliminan las posibles interferencias de red mediante un filtro elimina banda con una atenuación mínima entre 49.2 y 50.8 Hz de 10 dB (Butterworth, orden 4).

### **DETECCIÓN AUTOMÁTICA DE ACTIVACIONES**

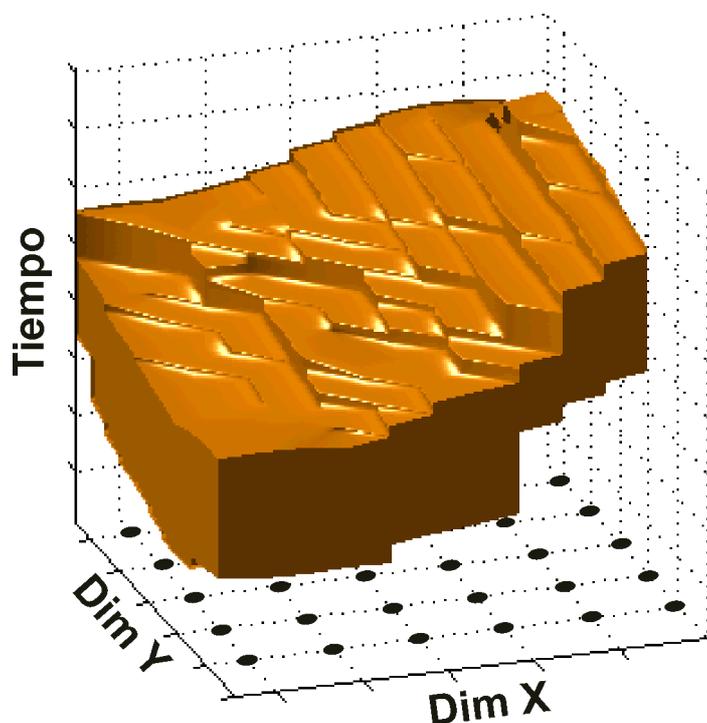
Como hemos visto, en los EGMs unipolares, la activación del tejido miocárdico que se encuentra justo debajo del electrodo de registro se observa como una deflexión negativa brusca. Por otra parte, dado que los miocitos que se despolarizan no están aislados sino que forman parte de un tejido, las deflexiones que detectemos como activaciones miocárdicas deberán tener activaciones vecinas de forma que el frente de onda despolarizadora tenga continuidad espacio-temporal. Así pues, definimos las activaciones miocárdicas como deflexiones negativas que conserven una continuidad espacio-temporal con sus vecinas. Para incrementar la robustez de la detección ante oscilaciones de la línea base, se establece que dichas deflexiones deben cruzar un umbral, que se fija como el 10% del máximo valor del EGM.

El instante de activación miocárdica (IA) se calculó como aquel instante con mayor derivada negativa cruzando por el umbral definido anteriormente. Para su cálculo se utilizó un filtro derivador de 5 puntos. A continuación, la detección de los IAs se depuró buscando la máxima derivada negativa en una ventana de 8 ms alrededor de la detección previa. En el caso de que se detectaran dos IAs separados menos de 25 ms, se descartó aquel IA en el que el EGM presentara menor amplitud absoluta. Después de computar todos los IAs candidatos, se construyó un mapa de posibles IAs en el que se definieron áreas con dos o más IAs candidatos conectados en el espacio y en el tiempo (en una ventana de 5 ms). Se requirió que al menos un electrodo de los que formaban el área cumpliera un criterio de amplitud para considerar dicha área como válida. Dicho criterio fue que, en una ventana de 10 ms alrededor del IA, el EGM tuviera una amplitud menor que el 30% del mínimo valor del EGM. Es decir, que la deflexión alcanzara valores suficientemente negativos. Aquellos IAs que no formaran parte de ninguna de estas áreas, o aquellas áreas que no cumplieran el criterio de amplitud, se considerarían falsas detecciones y serían descartados.

### **CONSTRUCCIÓN DE VOLÚMENES DE ACTIVACIÓN**

Para cada IA se definió un periodo de 20 ms en el que se considera que la actividad perdura. En la bibliografía que se refiere a corazón de conejo se suele

considerar una línea de bloqueo cuando la velocidad de conducción es menor de 5 cm/s, esto es que el tiempo entre dos activaciones en electrodos consecutivos separados por 1 mm sea superior a 20 ms [7;8]. Para cada instante de tiempo se asignó a cada electrodo un estado activo o inactivo de acuerdo a estos lapsos de tiempo de activación. Dichos estados se utilizaron para construir una estructura de datos en tres dimensiones donde dos de las dimensiones se corresponden con las dimensiones espaciales del multielectrodo mientras la tercera dimensión representa el tiempo (ver Figura 13) [16]. A continuación se construyen volúmenes de activación conectando los puntos activos vecinos en esta estructura tridimensional. Para rellenar los pequeños huecos que pudiera haber en estos volúmenes se utiliza una modificación del algoritmo *close*, [26] cuyo uso está generalizado en el tratamiento digital de imagen, adaptándolo a estructuras tridimensionales. Finalmente, los volúmenes constituidos por menos de 70 puntos se eliminan, dado que constituirían frentes de onda representados únicamente en 3 electrodos, demasiado pequeños para aportar información y considerados, por lo tanto, como ruido.



*Figura 13.* Volumen de activación. Representación tridimensional de un frente de activación que se propaga a lo largo de toda la superficie del multielectrodo. Los puntos negros representan la posición de los electrodos de registro en la superficie del multielectrodo. Ésta es una visión esquemática, en aras de la simplicidad de la imagen no se representan todos los puntos de registro.

## AISLAMIENTO DE FRENTES SIMPLES DE ACTIVACIÓN

### *Frentes simples de activación, fusiones, fraccionamientos y afloramientos*

Cada uno de los volúmenes de activación puede estar constituido por uno o más frentes simples (FS), que son sub-volúmenes que están conectados en todos los instantes. Haciendo un símil, un volumen de activación sería un árbol, mientras los FSs serían las ramas, es decir, cada uno de los volúmenes elementales que integran el volumen de activación. No obstante, un volumen de activación puede estar formado por un solo FS, al igual que un árbol puede tener una sola rama.

Un FS puede provenir de la *fusión* de dos o más FSs que no estuvieran conectados en instantes previos. También puede resultar en un *fraccionamiento* en dos o más FSs no conectados en instantes posteriores (ver Figura 14). Por otra parte, un FS puede originarse fuera de área sensada por el multielectrodo y aparecerá en ésta por uno de los bordes, o bien puede nacer en el interior del área, caso éste último que denominamos *afloramiento*. Por otra parte, aquellos FSs constituidos por menos de 15 puntos fueron descartados. Por último, aquellos volúmenes de activación que contuvieran un FS que representara el 90% de su actividad se definieron como frentes compactos (FC), ya que no incluyen fusiones o fraccionamientos relevantes.

La nomenclatura y los conceptos definidos anteriormente se pueden resumir en el siguiente cuadro:

- Volumen de Activación =  $\sum_{i=1}^N \text{FS}_i$
- Si  $N = 1 \rightarrow$  Volumen de Activación = FS
- Si  $N \geq 3 \rightarrow$  Volumen de Activación contiene fusiones o fraccionamientos
- $N \neq 2$
- $\text{FS}_j \geq 0,9 \cdot \sum_{i=1}^N \text{FS}_i \Leftrightarrow$  Volumen de activación es un frente compacto (FC)

### *Algoritmo de segmentación*

Antes de proceder a la cuantificación de la organización, los volúmenes de activación construidos para el registro completo se dividieron en períodos de activación (PA) de una longitud comparable al período dominante de la FV (TD).

Para calcular el período dominante de la FV se obtuvo la densidad espectral de potencia de cada uno de los EGMs unipolares utilizando el

periodograma de Welch con una ventana de Hamming de 1,25s de longitud y un solape del 50%. Se determinó la frecuencia dominante de cada EGM ( $F_i$ , donde  $i$  se refiere al número de canal) como aquella frecuencia entre 5 y 35 Hz con mayor densidad espectral de potencia. La frecuencia dominante del registro se definió como el promedio de todos los valores  $F_i$ . El período dominante (TD) se definió como la inversa de la frecuencia dominante.

Los PAs se eligieron de tal forma que su longitud perteneciera al rango  $[0,8 \cdot TD, 1,2 \cdot TD]$  y en cuyos instantes iniciales y finales hubiera un mínimo número de puntos activos. Así, los registros fueron divididos en PAs consecutivos como se muestra en la Figura 15.

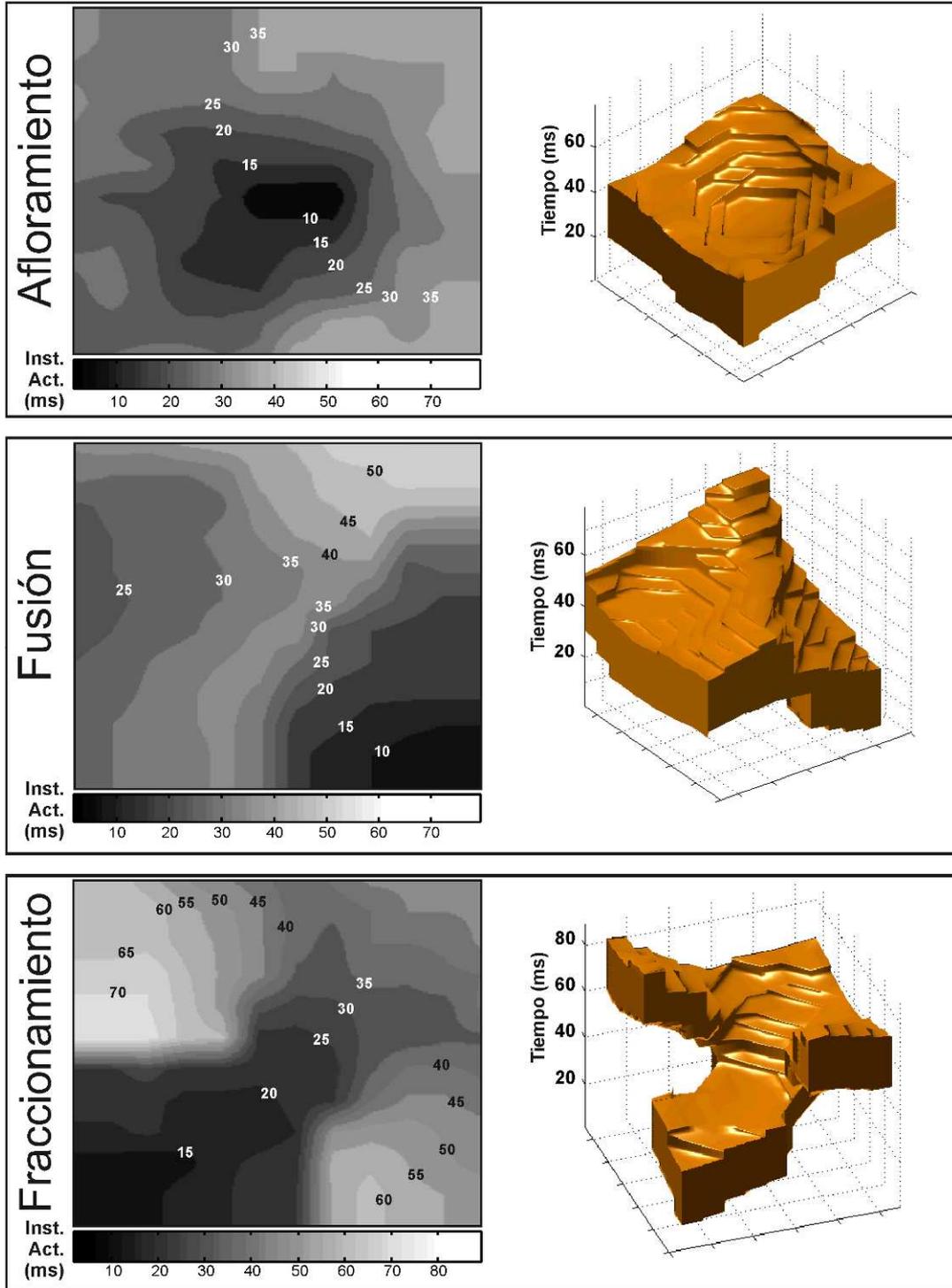


Figura 14. Mapas de isócronas y volúmenes de activación correspondientes a un afloramiento, una fusión y un fraccionamiento. La columna izquierda muestra los mapas de isócronas de acuerdo con una escala de grises: colores oscuros representan activaciones tempranas mientras colores claros representan activaciones más tardías. En la columna derecha se muestran los volúmenes de activación de los mismos frentes de onda. El panel superior muestra un afloramiento, con un frente de onda originado en el centro del multielectrodo. El panel central muestra una fusión de dos frentes de onda. Por último, el panel inferior muestra un fraccionamiento de un frente de onda en dos ondas diferenciadas.

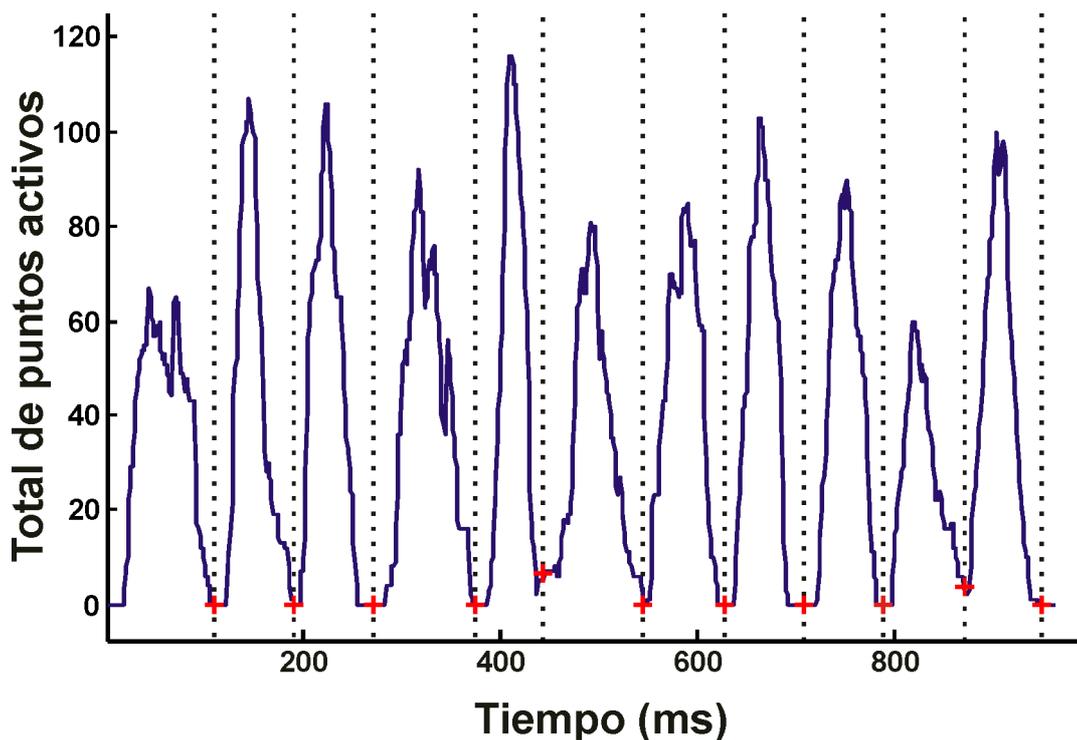


Figura 15. Segmentación de un registro en PAs consecutivos. Se muestra la variación temporal del número total de puntos activos. Los puntos de inicio y fin de cada PA (marcados en rojo) se corresponden con instantes de mínima tasa de puntos activos.

## CUANTIFICACIÓN AUTOMÁTICA DE LA COMPLEJIDAD

Basándonos en el número de FSs detectadas y las relaciones entre ellas, la complejidad de cada uno de los PAs se determinó de acuerdo a los tres tipos de mapas de isócronas durante FV propuestos por Konings [9]:

- Tipo I: existe un FC que representa el 90% del total de puntos activos en el PA.
- Tipo II: existe bien (1) un FC que representa el 70% del total de puntos activos en el PA además de un FS o bien (2) un volumen de activación que represente el 85% de la actividad total del PA y que esté constituido por tres FS, que sería el caso de que existiera un único fraccionamiento o fusión de relevancia.
- Tipo III: resto de casos.

## ANÁLISIS DE RENDIMIENTO

### *Preparación experimental*

Se utilizaron 17 corazones de conejo que fueron aislados y perfundidos según la técnica de Langendorff. Tras anestesiar a los animales con ketamina (25 mg/kg i.m.) y tratarlos con heparina para prevenir trombos que puedan obstruir las

coronarias, los conejos fueron sacrificados y se practicó una toracotomía para posterior resección e inmersión del corazón en una solución de Tyrode frío (4°C). Tras aislar el corazón, la aorta se conectó al sistema Langendorff para perfundir una solución de Tyrode a una presión de 60 mmHg y a una temperatura de  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (ver Figura 16). La composición milimolar del líquido de perfusión fue la siguiente: 130 NaCl;  $\text{NaHCO}_3$  24,2; KCl 4,7;  $\text{CaCl}_2$  2,2;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1,2;  $\text{MgCl}_2$  0,6 y glucosa 12. La oxigenación se llevó a cabo con una mezcla de 95%  $\text{O}_2$  y un 5% de  $\text{CO}_2$ . Los procedimientos empleados en este estudio cumplen las recomendaciones para el cuidado y uso de animales del Instituto Nacional de Salud (NIH) de EEUU y del Institutional Animal Care and Use Committee.

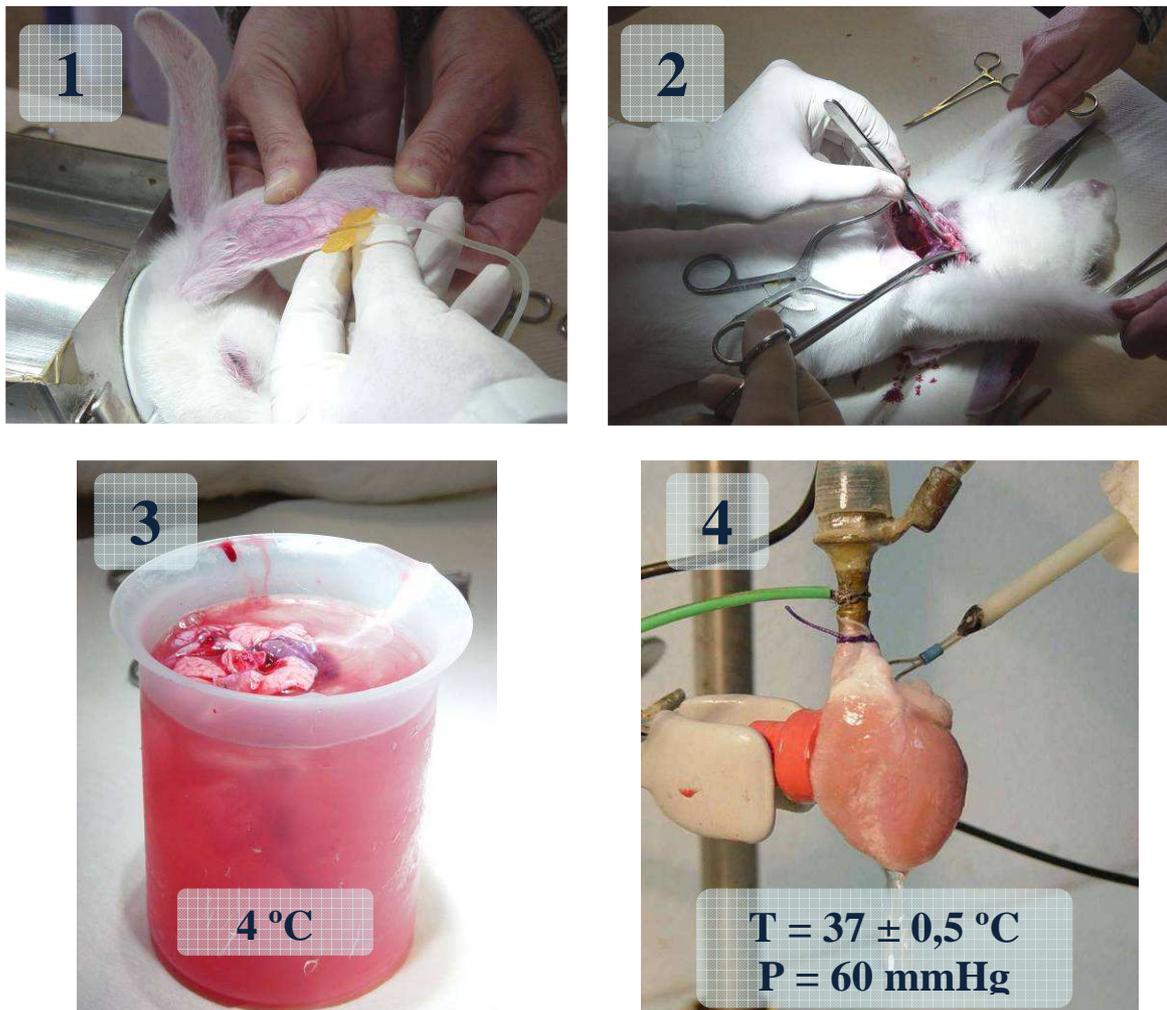


Figura 16. Proceso de aislamiento y posterior colocación del corazón en el sistema de perfusión Langendorff. 1) Anestesia con ketamina (25 mg/kg i.m.) y heparinización. 2) Toracotomía y pericardiotomía para posterior resección del corazón. 3) Inmersión del corazón en Tyrode a 4 °C para provocar parada cardíaca por hipertermia. 4) Conexión del corazón al sistema de perfusión Langendorff. La reperfusión cardíaca con condiciones fisiológicas normales (temperatura  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ; presión 60 mmHg) provoca la vuelta del corazón a ritmo sinusal.

Para testar el algoritmo de aislamiento espacio temporal de frentes de activación, los 17 casos se aleatorizaron en un grupo control, en el que no se administró fármaco alguno, y un grupo al que se le administró propranolol junto con la perfusión en una concentración de 1  $\mu$ M. Ocho de los casos formaron el grupo control y los nueve restantes formaron el grupo propranolol.

Treinta minutos después de posicionar el corazón en el sistema Langerdorff, se indujo FV mediante estimulación eléctrica a frecuencias crecientes desde 4 a 20 Hz, y la perfusión coronaria se mantuvo durante la arritmia. La estimulación se llevó a cabo mediante un electrodo bipolar (diámetro = 0,125 mm, distancia interelectrodo = 1 mm) localizado en la zona superior del multielectrodo. Se utilizó un estimulador GRASS S88 (Grass Instruments Inc., Quince, MA, USA) equipado con una unidad de aislamiento del estímulo (SIU5) para efectuar la estimulación. La señal empleada para estimular fue un pulso rectangular de 2 ms de anchura de pulso y una intensidad del doble que el umbral diastólico. Se identificó la FV mediante inspección visual de los EGMs registrados en tiempo real. La estimulación se detuvo una vez alcanzada la FV.

Cinco minutos después de la inducción de FV se inició el registro de EGMs unipolares utilizando un multielectrodo compuesto por 121 electrodos unipolares de acero inoxidable (distribución cuadrada: 11x11; diámetro del electrodo = 0,125 mm; distancia interelectrodo = 1 mm). El multielectrodo se apoyó en la superficie epicárdica de la pared libre del ventrículo izquierdo. Como electrodo de referencia se utilizó una placa de plata de 4 mm x 6 mm ubicada sobre la aorta canulada (ver Figura 17).



Figura 17. El multielectrodo se ubica en la superficie epicárdica de la pared libre del ventrículo derecho. Se utiliza un electrodo de estimulación ventricular para inducir la fibrilación ventricular mediante estimulación a frecuencias crecientes. Un electrodo bipolar permite registrar en todo momento la respuesta auricular. La referencia se colocó sobre la aorta canulada.

Durante FV se obtuvieron registros de 10 segundos con un sistema de mapeo de la actividad eléctrica del miocardio (MAPTECH, Waalre, The Netherlands). Los EGMs fueron amplificados con una ganancia entre 100–300, filtrados paso banda (frecuencias de corte 1 y 400 Hz) y multiplexados. Se utilizó una frecuencia de muestreo de 1 kHz.

### ***Validación del detector de activaciones.***

Para comprobar el correcto funcionamiento del detector automático de activaciones se seleccionaron aleatoriamente cuatro de los registros control y 3 observadores entrenados e independientes determinaron las activaciones en todos los electrodos en los primeros 2 segundos de registro. Dichas determinaciones se realizaron por inspección visual mediante una herramienta software que marca automáticamente el punto de máxima derivada negativa en una zona acotada manualmente mediante el ratón (PaceMap 2002, Waalre, The Netherlands).

Para la comparación se consideraron coincidentes aquellas marcas que se encontraran como mucho a 5 ms de separación. Consecutivamente se tomó cada uno de los observadores como patrón de oro y se calculó la sensibilidad y el valor predictivo positivo (VPP) de los otros observadores y del algoritmo en comparación con el patrón de oro, así como el error medio entre marcas coincidentes, en milisegundos.

### ***Validación de la reproducibilidad a corto plazo del clasificador***

Para comprobar la reproducibilidad a corto plazo del algoritmo de clasificación, se analizaron los dos primeros segundos de los casos control y se compararon con los resultados fruto de analizar los dos segundos consecutivos. Los datos obtenidos incluyen el TD, el número de fraccionamientos, fusiones y afloramientos por segundo y el porcentaje de PAs clasificados como tipo I, II y III.

### ***Validación por verificación de efectos conocidos***

El propranolol es un fármaco que tiene la propiedad de regularizar la FV, como se analiza en diferentes estudios [8; 27]. Con el objetivo de comprobar la capacidad del método descrito anteriormente para discriminar entre diferentes grados de organización en la VF, se procedió a cuantificar la organización del grupo control y del grupo propranolol. Se obtuvieron los mismos parámetros indicados en el apartado anterior para los registros completos (10 segundos) del grupo de control y se compararon con los obtenidos para el grupo propranolol.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos se presentan como el promedio  $\pm$  la desviación estándar. Las comparaciones entre conjuntos de datos se hicieron mediante el test  $t$  de Student para datos pareados y no pareados en el caso de la validación de la reproducibilidad y de la verificación de efectos conocidos, respectivamente. Las diferencias entre variables cualitativas se analizaron mediante el test  $\chi^2$ . Las diferencias se consideraron significativas cuando  $p < 0,05$ .



## RESULTADOS

### VALIDACIÓN DEL DETECTOR DE ACTIVACIONES

En la Figura 18 se muestra el resultado de la detección de la activación miocárdica en tres electrodos consecutivos en un tramo de señal de 1 segundo.

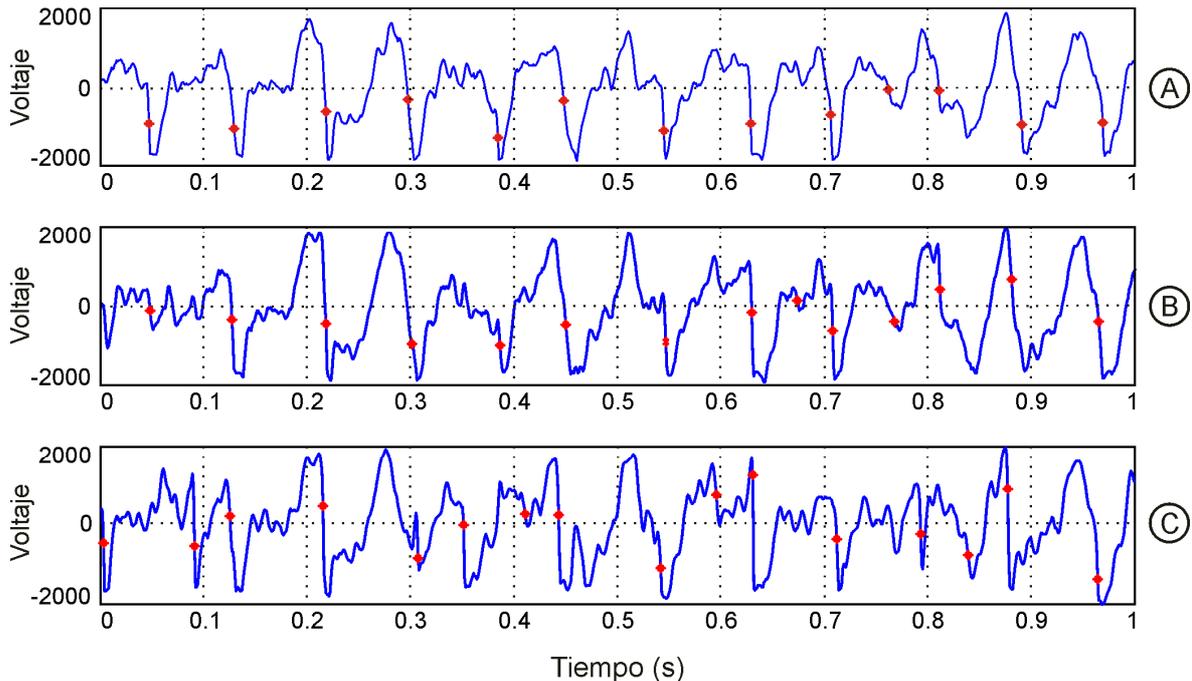


Figura 18. Resultado de la detección automática de las activaciones miocárdicas en tres electrodos consecutivos. Se muestra un tramo de señal de un segundo. Los rombos rojos indican el instante en el que el algoritmo determina que existe una activación miocárdica en cada registro. Se puede observar algún pequeño error de detección, como en el electrodo B a los 0,68 segundos.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de sensibilidad, VPP y error medio que tienen dos de los observadores y el algoritmo de detección automática de activaciones al comparar las detecciones con las de un tercer observador que se ha considerado patrón de oro. Como podemos ver en la tabla, tanto la sensibilidad como el VPP del algoritmo automático se encontraron en el mismo rango que las comparaciones hechas entre observadores, esto es [88,33; 98,22] en el caso de la sensibilidad y [88,33; 98,22] en el del VPP. La sensibilidad promedio del algoritmo es de 94,64%, mientras la sensibilidad entre observadores tiene un valor promedio de 94,27%. El VPP promedio del algoritmo es de 92,70%, mientras el VPP promedio interobservador es de 94,27. Por último, que la detección automática tiene 1,06 ms de error en promedio, con valores muy cercanos a 1 ms en todos los casos.

Tabla 2. Sensibilidad, VPP (valor predictivo positivo) y error medio entre tres observadores y el algoritmo de detección automática.

Patrón de Oro: Observador A	Sensibilidad (%)	VPP (%)	Error Medio (ms)
Observador B	97,00	94,08	0
Observador C	98,22	88,33	0
Detección automática	96,34	90,98	1,10
Patrón de Oro: Observador B	Sensibilidad (%)	VPP (%)	Error Medio (ms)
Observador A	94,08	97,00	0
Observador C	97,69	90,31	0
Detección automática	95,95	93,14	1,05
Patrón de Oro: Observador C	Sensibilidad (%)	VPP (%)	Error Medio (ms)
Observador A	88,33	98,22	0
Observador B	90,31	97,69	0
Detección automática	91,63	93,98	1,03

## ANÁLISIS DE LA COMPLEJIDAD

La Figura 19 muestra un ejemplo de cada uno de los tres tipos de PAs clasificados por el algoritmo. En el panel superior se observa una única onda propagándose a lo largo de la superficie del electrodo sin encontrar bloqueos significativos; dicho caso se clasificó como tipo I. En el panel central se tienen dos volúmenes de activación independientes incluidos en el mismo PA sin presentar fraccionamientos ni fusiones ninguno de los dos; este PA se clasificó como tipo II. Por último, en el panel inferior se tienen dos volúmenes de activación, uno de los cuales incluye una fusión; por tanto, dicho PA se clasificó como tipo III.

### *Validación de la reproducibilidad a corto plazo*

La Tabla 3 resume las medidas obtenidas en el test de reproducibilidad. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados del análisis de los segundos 1–2 (segmento A) y los segundos 3–4 (segmento B) al respecto del ciclo dominante ni al número de afloramientos, fusiones o fraccionamientos por segundo.

Tabla 3. Medidas obtenidas en el test de reproducibilidad. Se muestra el promedio  $\pm$  desv. est. del ciclo dominante (TD), tasa de afloramientos por segundo (Aflor), tasa de fusiones por segundo (Fus) y tasa de fraccionamientos por segundo (Frac) para los segundos 1–2 (segmento A) y los segundos 3–4 (segmento B). *ns*: no significativo.

	<b>Segmento A</b>	<b>Segmento B</b>	<b>Diferencia</b>
TD (ms)	67.2 $\pm$ 9.6	68.9 $\pm$ 9.7	<i>ns</i>
Aflor	3.9 $\pm$ 3.4	4.3 $\pm$ 1.5	<i>ns</i>
Fus	15.1 $\pm$ 3.3	15.4 $\pm$ 1.7	<i>ns</i>
Frac	18.5 $\pm$ 4.5	17.1 $\pm$ 2.1	<i>ns</i>

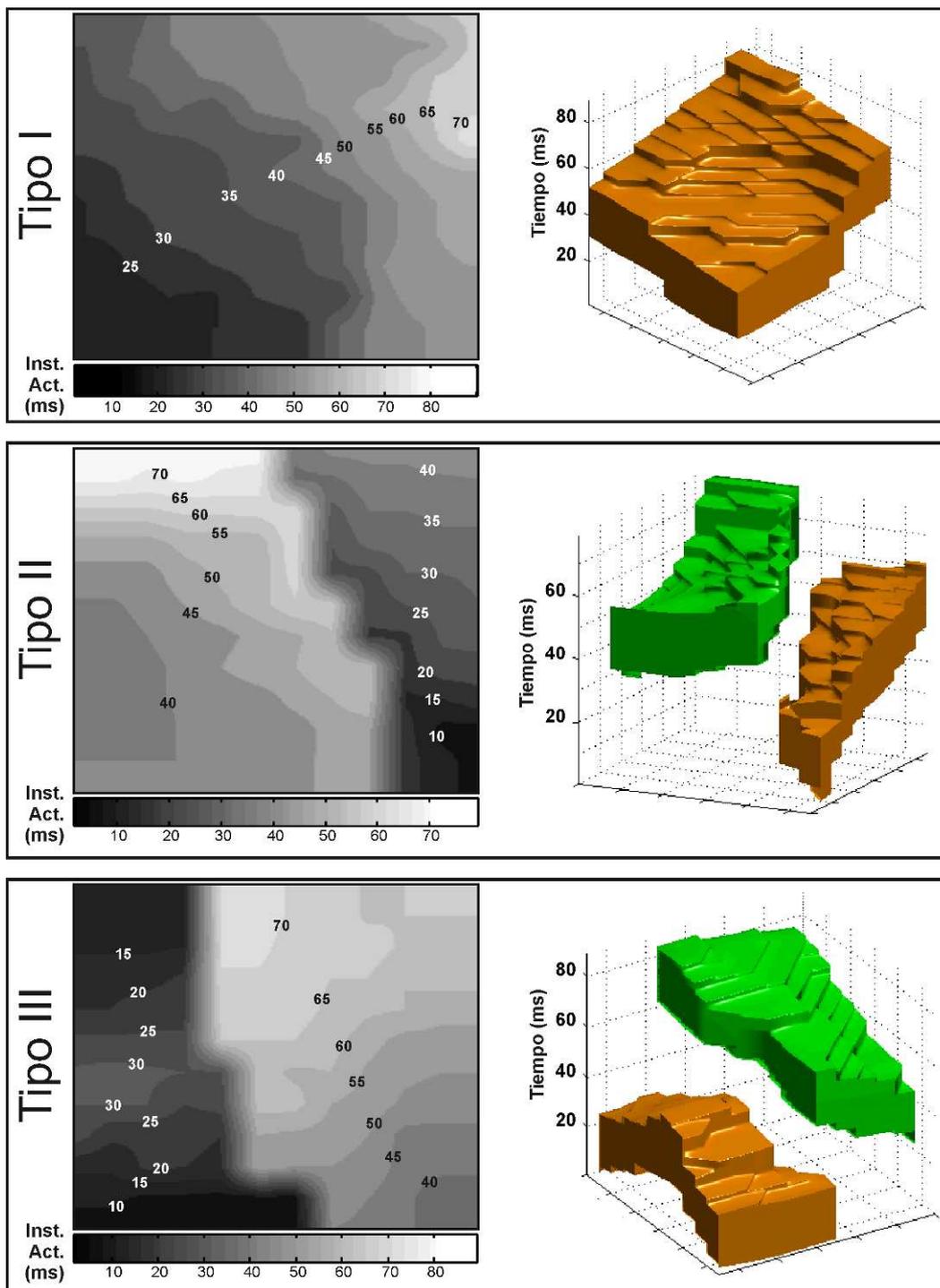


Figura 19. Mapas de isócronas y volúmenes de activación de los tres tipos de PAs clasificados según su nivel de complejidad. El panel superior muestra un PA *tipo I* en el que un frente simple se propaga a lo largo de toda la superficie del multielectrodo. El panel central muestra un PA *tipo II* con dos frentes de activación: el primero se propaga desde una esquina y se bloquea aproximadamente en la línea media del multielectrodo; un segundo frente simple se interna en la superficie sensada desde un lateral y se propaga hasta verse bloqueado de nuevo en la línea media del multielectrodo. El panel inferior muestra un PA *tipo III* con tres frentes simples: dos de ellos colisionan en la parte izquierda del multielectrodo, mientras un tercero recorre la superficie sensada desde la esquina inferior derecha.

En la Figura 20 se muestran las medidas de organización de la FV obtenidas en el test de reproducibilidad. La clasificación de los PAs pertenecientes a los segmentos A y B no difirieron significativamente en los porcentajes de PAs tipo I ( $19,2 \pm 12,2$  vs.  $19,1 \pm 12,5$ ), tipo II ( $69,5 \pm 8,4$  vs.  $67,6 \pm 8,6$ ) y tipo III ( $11,3 \pm 9,7$  vs.  $13,1 \pm 8,9$ ),  $p = 0,910$ .

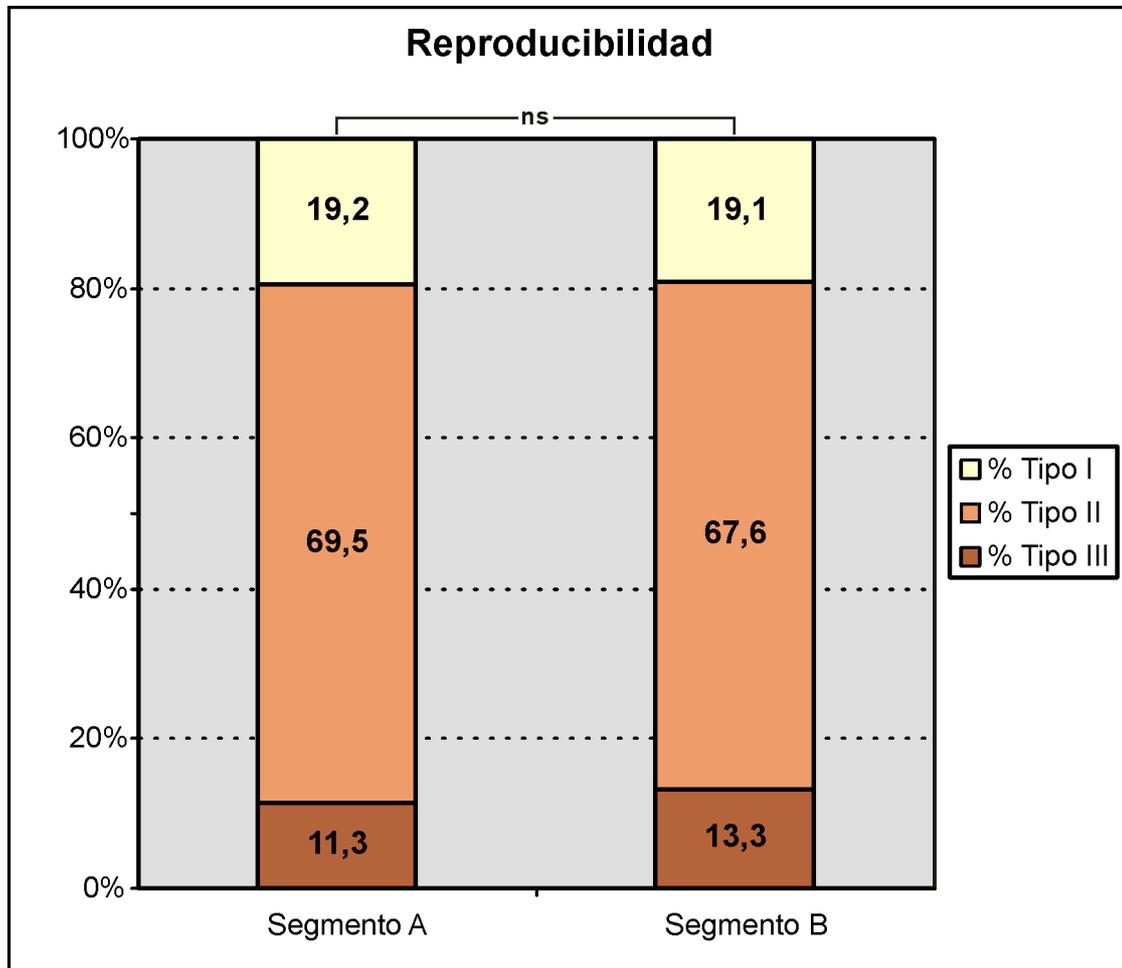


Figura 20. Resultados de la medida de la organización en el test de reproducibilidad a corto plazo. Se muestran los porcentajes medios de PAs tipo I, tipo II y tipo III para los segmentos A (segundos 1–2) y los segmentos B (segundos 3–4). No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre segmentos consecutivos.

### *Validación por verificación de efectos conocidos*

La Tabla 4 muestra los resultados obtenidos en el grupo control y el grupo propranolol. Se observó un aumento significativo del TD cuando se utiliza propranolol de 17 ms. Por otra parte, la tasa de fusiones, fraccionamientos y afloramientos por segundo se reduce significativamente durante el uso del fármaco: los afloramientos se reducen a la mitad, mientras las fusiones y los fraccionamientos se reducen a un tercio aproximadamente.

Tabla 4. Medidas obtenidas en el test verificación de efectos conocidos. Se muestra el promedio  $\pm$  desv. est. del ciclo dominante (TD), tasa de afloramientos por segundo (Aflor), tasa de fusiones por segundo (Fus) y tasa de fraccionamientos por segundo (Frac) para los casos control y de los casos en los que se agrega propranolol a la perfusión. \*:  $p < 0,001$

	Control	Propranolol	Diferencia
TD (ms)	68.6 $\pm$ 10.4	85.8 $\pm$ 4.3	*
Aflor	4.0 $\pm$ 0.8	2.0 $\pm$ 1.1	*
Fus	14.6 $\pm$ 2.4	5.3 $\pm$ 4.2	*
Frac	17.7 $\pm$ 2.3	5.9 $\pm$ 3.7	*

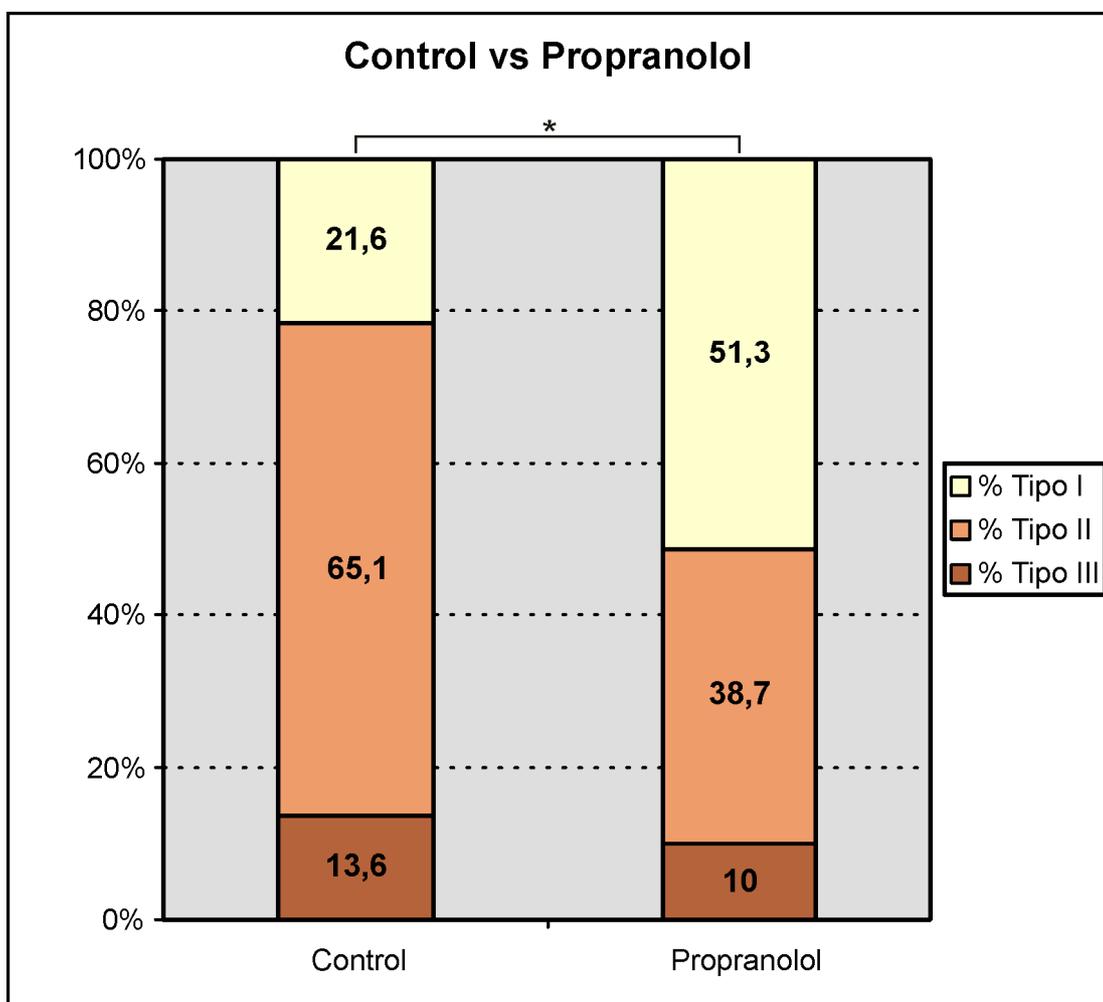


Figura 21. Resultados de la medida de la organización en el test de verificación de efectos conocidos. Se muestran los porcentajes medios de PAs tipo I, tipo II y tipo III para los casos control y para los casos a los que se les ha añadido propranolol en la perfusión. Existen diferencias significativas entre ambos grupos ( $p < 0,005$ ).

En la Figura 21 se muestran los resultados de la clasificación de PAs obtenida para el grupo control y para el grupo propranolol. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de PAs tipo I ( $21,6 \pm 10,6$  vs.  $51,3 \pm 24,9$ ), tipo II ( $65,1 \pm 6,3$  vs.  $38,7 \pm 20,1$ ) y tipo III ( $13,3 \pm 9,0$  vs.  $10,0 \pm 9,0$ ),  $p < 0,001$ . El incremento de los PAs clasificados como tipo I y el decremento de los PAs tipo II y III refleja una reducción de la complejidad de la FV cuando se administra propranolol.



# **DISCUSIÓN**

## **CONTRIBUCIONES PRINCIPALES**

Este trabajo presenta una metodología desarrollada con el propósito de automatizar la cuantificación de la complejidad de mapas de isócronas durante la fibrilación de una manera objetiva, rápida y reproducible. El método se basa en la detección automática de las activaciones miocárdicas durante la fibrilación para realizar una representación tridimensional de los patrones de activación y descomponer el ritmo fibrilatorio en sus frentes de activación constituyentes. Esta estructura de datos tridimensional es dividida en periodos de activación de una longitud relacionada con la frecuencia fundamental de la fibrilación, lo que permite que el análisis de la complejidad sea independiente de la frecuencia de la señal, ya que la aceleración de la actividad fibrilatoria no siempre tiene que ir de la mano de patrones de activación más complejos. En cada uno de los periodos de activación se cuantifican los frentes de activación en términos de las fusiones, fraccionamientos internos y las relaciones de volumen entre las ondas constituyentes de los frentes de activación. Dicha cuantificación nos permite clasificar cada uno de los periodos de activación en tres niveles de complejidad según el criterio de Konings [9], que ha sido y es ampliamente utilizado en el análisis de la complejidad de los procesos fibrilatorios [7;8;10;11].

En el apartado de validación del detector automático de activaciones se observa que el método presenta unos valores de sensibilidad y valor predictivo positivo dentro del rango marcado por la variabilidad interobservador. Es decir, la metodología de detección comete un error comparable al error que existe entre dos observadores debido a la subjetividad intrínseca del proceso de decisión. Por otro lado, al analizar el error medio observamos que apenas depende de que observador tomemos como referencia, sino que siempre toma valores muy cercanos a 1 ms. Por lo tanto, este error parece ser sistemático, debido presumiblemente a que el programa que se utiliza para marcar las activaciones manualmente utiliza un método de cálculo para la derivada diferente al empleado por nuestra metodología. No obstante, dado que el programa es propietario y de código cerrado, no podemos saberlo con certeza. En cualquier caso, este error de 1 ms es igual a la resolución temporal que nos ofrece el sistema de digitalización, que tiene una velocidad de muestreo de 1 kHz. La ventaja fundamental del algoritmo presentado es que automatiza por completo la detección de activaciones. Se evita, por tanto, la necesidad de intervención de un usuario que determine cada una de las activaciones, ofreciendo un ahorro importante de tiempo.

El método de clasificación propuesto ha mostrado resultados reproducibles a corto plazo durante fibrilación estable, lo cual da que pensar que los resultados son válidos ya que no son aleatorios, sino que reflejan un nivel de organización similar para registros de FV parecidos. Por otra parte, la metodología propuesta ha demostrado ser capaz de discriminar entre diferentes niveles de complejidad. Nuestro método refleja un aumento de los PAs tipo I y un descenso de los PAs

tipo II y tipo III cuando se agrega propranolol a la solución de perfusión comparado con los resultados obtenidos durante fibrilación basal. Estos resultados son consistentes con los reportados por Hillsley y cols. [27], que observó una reducción del número de frentes de activación en el área sensada al usar propranolol. Por otra parte, los resultados de la cuantificación de la FV basal y de la modificada mediante propranolol son similares a los obtenidos por Chorro y cols. en fibrilación basal [7;8;28] y durante el uso de propranolol [8].

Así pues, la metodología propuesta produce resultados similares a los obtenidos en otros estudios, siendo capaz de diferenciar entre diferentes escenarios de complejidad, todo ello de una forma completamente automática, minimizando, de esta forma, el tiempo empleado en este tipo de análisis.

## COMPARACIÓN CON ESTUDIOS PREVIOS

Por lo general, la evaluación de la complejidad de la fibrilación se ha venido realizando por inspección visual de los mapas de isócronas. [7;8;10;11]. Esta aproximación tiene dos limitaciones fundamentales, a saber: por un lado, tiene un factor subjetivo que puede llevar a una alta tasa de variación entre observadores; por otro lado, la proyección en un plano bidimensional de una actividad que tiene lugar en un dominio tridimensional puede provocar pérdida de información ya que no se pueden representar frentes de activación superpuestos. La representación tridimensional de los patrones de activación de la fibrilación se ha utilizado en estudios previos para superar esta limitación [16;29], pero a pesar de ello, la inspección visual de los mapas de isócronas sigue siendo el método más utilizado por la mayoría de los laboratorios. [7;8;10;11].

Si bien los métodos propuestos por Rogers y cols. [17] y Bayly y cols. [14] ofrecen resultados exactos, éstos están muy alejados de la práctica generalizada de cuantificación de mapas de isócronas. Nuestro método, apoyándose en técnicas avanzadas de tratamiento de señal como las utilizadas por Rogers o Bayly, ofrece indicadores compatibles con los niveles de organización propuestos por Konings, de forma que se simplifica la interpretación de los mismos.

Por otra parte, el método propuesto no sólo permite analizar la complejidad de la FV en los mismos términos que propuso Konings, sino que además aporta información para un análisis más exhaustivo basado en la cantidad de fusiones, fraccionamientos y afloramientos observada. Además, dado que la metodología realiza un seguimiento de cada frente de activación desde que aparece en el área explorada hasta que desaparece, permite, con escasas modificaciones, cuantificar la dirección de entrada de los frentes de onda y determinar direcciones preferentes.

En cuanto a la detección automática de las activaciones miocárdicas, la mayoría de autores utilizan algoritmos sencillos que determinan la activación en aquellos puntos en los que la derivada del registro es suficientemente negativa. Por ejemplo, Bollacker y cols [29] establecen un umbral para la derivada tomando registros sobre tejido sometido a crioablación y comparándolos con registros sobre tejido vivo. Así, consideran que ha habido una activación cuando la derivada toma valores menores a los que toma en el tejido muerto, donde únicamente hay conducción electrotonica de potenciales lejanos. Este método

tiene la limitación de que asume que todos los electrodos hacen buen contacto con el epicardio y que las señales no se saturan en el sistema de amplificación, dos condiciones que no se pueden asegurar en nuestro caso. Es por ello que nuestro método hace uso de la información espacial que nos brinda el multielectrodo para determinar activaciones a partir de los electrodos vecinos.

## APLICACIONES CLÍNICAS

Un método automático para cuantificar diferentes niveles de complejidad de los procesos fibrilatorios tiene diversas aplicaciones potenciales. Por un lado, podría ser utilizado para cuantificar los efectos inducidos mediante el uso de drogas o maniobras que alteren las propiedades electrofisiológicas del tejido miocárdico, como se hace en [7;8;28]. También se puede emplear para analizar las diferencias entre áreas del epicardio [30]. Además, puede ser útil para determinar la correlación entre la energía necesaria para desfibrilar y la complejidad de la arritmia [4;5]. Este trabajo presenta una forma eficiente de objetivar el análisis de la complejidad y, dado que automatiza por completo todo el proceso de clasificación, reduce enormemente la cantidad de tiempo necesaria para llevar a cabo dicha tarea, favoreciendo un aumento de la productividad de la comunidad científica del ámbito.

Por otra parte, la metodología propuesta tiene la ventaja de que puede migrar a otras tecnología de registro de forma sencilla, por ejemplo empleando multielectrodos con diferentes configuraciones o más puntos de registro, registros procedentes de BSPM (*Body Surface Potencial Mapping*) [31;32] o registros obtenidos mediante equipos de mapeo óptico [33; 34].

## LIMITACIONES

La FV tiene lugar en un volumen y es, por tanto, un proceso tridimensional. La metodología propuesta para cuantificar la complejidad de la FV se basa en registros de la actividad eléctrica de una superficie bidimensional de aproximadamente  $1 \text{ cm}^2$ , que representa entre un 5% y un 10% de la superficie total del epicardio. Aunque esta metodología ha mostrado su utilidad para estudiar variaciones en la complejidad inducidas mediante modificaciones electrofisiológicas, no permite extraer conclusiones precisas del proceso fibrilatorio completo. Sistemas de registro más precisos emplean hasta 80 agujas dotadas de varios puntos de registro que se introducen en el miocardio para registrar la actividad eléctrica en 3 dimensiones [35], pero este procediendo tiene el riesgo de dañar en exceso el tejido cardiaco, modificando las propiedades electrofisiológicas del miocardio. En cualquier caso, la metodología propuesta podría adaptarse a diferentes configuraciones de electrodos de registro.

Por otro lado, dado que la clasificación en los tres tipos de mapas está basada en la velocidad de conducción y en las líneas de bloqueo que se dibujan cuando ésta es muy baja, un cambio en la velocidad introducirá un sesgo en la clasificación. Se podría considerar medir previamente la velocidad de conducción e introducirla como parámetro a la hora de realizar la evaluación.

Por último, es previsible que el hecho de considerar un área mayor en la misma fibrilación produzca resultados de complejidad diferentes, dado que el número de frentes de onda por PA será mayor. Este hecho no constituye un problema siempre y cuando se comparen registros de fibrilación obtenidos con electrodos que cubran áreas iguales. No obstante, si el área se hiciera muy grande se podría llegar a un extremo en el que el algoritmo se saturase y presentase siempre los mismos resultados, sin importar el nivel de organización de la fibrilación registrada.

## LÍNEAS FUTURAS

A la vista de las limitaciones anteriores surgen algunas líneas interesantes de cara a mejorar la metodología de cuantificación de la complejidad de la fibrilación presentada en este trabajo. Por un lado, dado que la velocidad de conducción se puede ver afectada por el uso de fármacos y ésta es de vital importancia a la hora de considerar si dos activaciones adyacentes se unen o no, cabría la posibilidad de introducir la velocidad de conducción como parámetro.

Por otra parte, sería interesante estudiar cómo varían los resultados al variar el área sobre la que se registra. Para esto sería útil realizar un estudio a diferentes escalas de los mismos episodios. Este estudio aportaría información útil para hacer los criterios de clasificación independientes del tamaño del área bajo estudio, teniendo en cuenta, por ejemplo, parámetros como la densidad superficial de frentes de onda, de fusiones o fraccionamientos.

Además, el estudio de la influencia del tamaño del área de estudio en los resultados de la clasificación permitiría aplicar la metodología descrita en este trabajo a estudios electrofisiológicos de todo el epicardio mediante el uso de multielectrodos con forma de calcetín [36]. Para ello habría que resolver previamente cómo representar una superficie aproximadamente cónica como es la del epicardio en la estructura de datos tridimensional utilizada en este trabajo. Para ello deberíamos considerar que el multielectrodo tiene una forma de sector circular, que es el resultado de desarrollar una superficie cónica. También podríamos encontrar el problema de que la separación entre electrodos no sea uniforme, con lo que habría que calcular tiempos de propagación entre electrodos diferentes dependiendo de la zona en la que nos encontremos. Superar estos problemas nos permitiría, además, adaptar la metodología propuesta a registros obtenidos mediante *Body Surface Potential Mapping*, si bien sería necesario redefinir el concepto de activación.

## **CONCLUSIÓN**

La cuantificación de la complejidad de la fibrilación es de gran importancia para entender los mecanismos de perpetuación de la arritmia y para comparar la efectividad de drogas y maniobras utilizadas para controlar la actividad fibrilatoria. Este trabajo presenta una metodología completamente automatizada capaz de analizar la complejidad de los procesos fibrilatorios en términos similares a aquellos empleados en la investigación médica. El método presentado permite cuantificar diferentes niveles de complejidad sin ningún tipo de intervención por parte del usuario, produciendo resultados objetivos, rápidos y reproducibles.

Por un lado, se ha desarrollado un algoritmo capaz de detectar las activaciones miocárdicas en registros multicanal tomados mediante sistemas de mapeo epicárdico durante fibrilación de forma totalmente automática con una sensibilidad y VPP en el rango de valores que se obtienen al comparar dos observadores independientes. Por otro lado, se ha diseñado e implementado un segundo algoritmo que, partiendo de las activaciones detectadas automáticamente, aísla frentes de activación y analiza las relaciones entre ellos. Esto nos permite realizar una clasificación de la complejidad basada en los criterios que propuso Konings en 1994. Además, el aislamiento y posterior análisis de los frentes de activación produce unos resultados, como el número de frentes, de fraccionamientos, fusiones o afloramientos que pueden resultar útiles de cara a un análisis más detallado de la complejidad.

La reproducibilidad del algoritmo de clasificación de la complejidad ha sido probada analizando dos fragmentos consecutivos de señales fibrilatorias en situación basal procedentes de ocho corazones aislados y perfundidos de conejo, obteniéndose resultados satisfactorios. Por otro lado, para validar el algoritmo, se han comparado los resultados obtenidos en los ocho corazones en situación basal con los resultados del análisis de las señales obtenidas de nueve corazones a los que se les suministró propranolol en la perfusión a una concentración de 1  $\mu$ M. La comparación mostró una reducción significativa de la complejidad de la fibrilación al suministrar propranolol, hecho que coincide con los efectos que se atribuyen a dicho fármaco en la bibliografía.

Así pues, el presente trabajo propone una metodología original que permite automatizar por completo el análisis de la complejidad, utilizando unos criterios similares a los que se emplean en la investigación médica y produciendo resultados objetivos y reproducibles.



# CONTRIBUCIONES

## PUBLICACIONES

El presente Trabajo Fin de Máster se resume en las siguientes publicaciones y comunicaciones a congresos:

- **2D isochronal correlation method to detect pacing capture during ventricular fibrillation [37]**, presentado en el 4<sup>th</sup> Congress for Medical and Biomedical Engineering 2008 (MBEC) en Amberes (Bélgica). En este trabajo se presentó el algoritmo de detección automática de activaciones y un algoritmo para la detección semiautomática de la captura miocárdica basado en correlación 2D de mapas de isócronas no descrito en este trabajo.
- **Clasificación de la Complejidad de Procesos Fibrilatorios mediante Aislamiento Espacio-Temporal de Ondas de Activación [38]**, presentado en el XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB) en noviembre de 2009 en Cádiz. Este trabajo describe una versión preliminar del algoritmo de aislamiento espacio-temporal y de clasificación de ondas de activación según sus niveles de complejidad.
- **Spatio-temporal wavefront isolation: an approach to quantify fibrillation complexity**, aceptado para presentación oral en el Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología en septiembre de 2010 en Estocolmo (Suecia). Este trabajo describe la última versión del algoritmo de aislamiento espacio-temporal y de clasificación de ondas de activación, incluyendo mejoras en la formación de los frentes de activación relativas a la velocidad de conducción.
- **Spatio-temporal wavefront isolation: an approach to quantify fibrillation complexity**, enviado para publicación en IEEE Transactions on Biomedical Engineering. Este artículo resume el contenido del presente Trabajo Fin de Máster.

## PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.

Este trabajo ha sido realizado en el marco de los siguientes proyectos de investigación:

- Título del proyecto: **ÉNFASIS: Exploración de nuevas técnicas de procesado y análisis de la fibrilación auricular. Aportación de los sistemas multi-derivación. (TEC2005-08401-C02-01/TCM).**
  - Entidad financiadora: MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CIENCIA.

- Investigador principal: José Millet Roig
  
- Título del proyecto: **Exploración de nuevas técnicas de procesado y análisis de la fibrilación. aportación de los sistemas multi-derivación. Subp: exploracion de nuevas tecnicas de procesado y analisis de la fibrilacion.**
  - Entidad financiadora: UPV. Vicerrectorado de Investigación, Desarrollo E Innovación.
  - Investigador principal: José Millet Roig
  
- Título del proyecto: **REDINSCOR (RD06/0003/0010)**
  - Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III
  - Investigador principal: Francisco Javier Chorro Gascó.

## **REFERENCIAS**

- [1] R. E. Ideker and J. M. Rogers, "Human ventricular fibrillation: wandering wavelets, mother rotors, or both?," *Circulation*, vol. 114, no. 6, pp. 530-532, Aug.2006.
- [2] J. Jalife, "Ventricular fibrillation: mechanisms of initiation and maintenance," *Annu. Rev. Physiol*, vol. 62, pp. 25-50, 2000.
- [3] J. N. Weiss, P. S. Chen, T. J. Wu, C. Siegerman, and A. Garfinkel, "Ventricular fibrillation: new insights into mechanisms," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1015, pp. 122-132, May2004.
- [4] T. H. Everett, J. R. Moorman, L. C. Kok, J. G. Akar, and D. E. Haines, "Assessment of global atrial fibrillation organization to optimize timing of atrial defibrillation," *Circulation*, vol. 103, no. 23, pp. 2857-2861, June2001.
- [5] G. Q. Villani, G. Nollo, F. Ravelli, M. Piepolo, and A. Capucci, "Capture of atrial fibrillation reduces the atrial defibrillation threshold," *Pacing Clin. Electrophysiol.*, vol. 25, pp. 1159-1165, 2002.
- [6] J. L. Wells, Jr., R. B. Karp, N. T. Kouchoukos, W. A. MacLean, T. N. James, and A. L. Waldo, "Characterization of atrial fibrillation in man: studies following open heart surgery," *Pacing Clin. Electrophysiol.*, vol. 1, no. 4, pp. 426-438, Oct.1978.
- [7] F. J. Chorro, I. Trapero, J. Guerrero, L. M. Such, J. Canoves, L. Mainar, A. Ferrero, E. Blasco, J. Sanchis, J. Millet, A. Tormos, V. Bodi, and A. Alberola, "Modification of ventricular fibrillation activation patterns induced by local stretching," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 16, no. 10, pp. 1087-1096, Oct.2005.
- [8] F. J. Chorro, I. Trapero, L. Such-Miquel, F. Pelechano, L. Mainar, J. Canoves, A. Tormos, A. Alberola, L. Hove-Madsen, J. Cinca, and L. Such, "Pharmacological modifications of the stretch-induced effects on ventricular fibrillation in perfused rabbit hearts," *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol*, vol. 297, no. 5, p. H1860-H1869, Nov.2009.
- [9] K. T. Konings, C. J. Kirchhof, J. R. Smeets, H. J. Wellens, O. C. Penn, and M. A. Allessie, "High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans," *Circulation*, vol. 89, no. 4, pp. 1665-1680, Apr.1994.
- [10] M. A. Allessie, "Atrial electrophysiologic remodeling: another vicious circle?," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 9, no. 12, pp. 1378-1393, Dec.1998.
- [11] M. A. Allessie, M. C. Wijffels, and R. Dorland, "Mechanisms of pharmacologic cardioversion of atrial fibrillation by Class I drugs," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 9, no. 8 Suppl, p. S69-S77, Aug.1998.
- [12] K. Kumagai, K. Uno, C. Khrestian, and A. L. Waldo, "Single site radiofrequency catheter ablation of atrial fibrillation: studies guided by simultaneous multisite

- mapping in the canine sterile pericarditis model," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 36, no. 3, pp. 917-923, Sept.2000.
- [13] L. T. Mainardi, V. D. Corino, L. Lombardi, C. Tondo, M. Mantica, F. Lombardi, and S. Cerutti, "Linear and nonlinear coupling between atrial signals. Three methods for the analysis of the relationships among atrial electrical activities in different sites," *IEEE Eng Med. Biol. Mag.*, vol. 25, no. 6, pp. 63-70, Nov.2006.
- [14] P. V. Bayly, B. H. KenKnight, J. M. Rogers, E. E. Johnson, R. E. Ideker, and W. M. Smith, "Spatial organization, predictability, and determinism in ventricular fibrillation," *Chaos.*, vol. 8, no. 1, pp. 103-115, Mar.1998.
- [15] J. Huang, J. M. Rogers, B. H. KenKnight, D. L. Rollins, W. M. Smith, and R. E. Ideker, "Evolution of the organization of epicardial activation patterns during ventricular fibrillation," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 9, no. 12, pp. 1291-1304, Dec.1998.
- [16] J. M. Rogers, M. Usui, B. H. KenKnight, R. E. Ideker, and W. M. Smith, "A quantitative framework for analyzing epicardial activation patterns during ventricular fibrillation," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 25, no. 5, pp. 749-760, Sept.1997.
- [17] J. M. Rogers, M. Usui, B. H. KenKnight, R. E. Ideker, and W. M. Smith, "Recurrent wavefront morphologies: a method for quantifying the complexity of epicardial activation patterns," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 25, no. 5, pp. 761-768, Sept.1997.
- [18] A. C. Guyton and J. E. Hall, "El corazón," in *Tratado de Fisiología Médica*, 11 ed Elsevier España, 2006, pp. 113-171.
- [19] W. Ganong, in *Fisiología Médica*, 20 ed. I. Vázquez, Ed. México DF: El Manual Moderno, 2010, pp. 71-92.
- [20] G. K. MOE, W. C. RHEINBOLDT, and J. A. ABILDSKOV, "A COMPUTER MODEL OF ATRIAL FIBRILLATION," *Am. Heart J.*, vol. 67, pp. 200-220, Feb.1964.
- [21] F. J. Chorro, L. Such-Belenguer, and V. Lopez-Merino, "Animal models of cardiovascular disease," *Rev. Esp. Cardiol.*, vol. 62, no. 1, pp. 69-84, Jan.2009.
- [22] M. Skrzypiec-Spring, B. Grotthus, A. Szelag, and R. Schulz, "Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium," *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, vol. 55, no. 2, pp. 113-126, Mar.2007.
- [23] R. Plonsey, "Action Potencial Sources and Their Volume Conductor Fields," *Proceedings of the IEEE*, vol. 65, no. 5, pp. 601-611, 1977.
- [24] M. J. Janse, F. J. van Capelle, H. Morsink, A. G. Kleber, F. Wilms-Schopman, R. Cardinal, C. N. d'Alnoncourt, and D. Durrer, "Flow of "injury" current and patterns of excitation during early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. Evidence for two different arrhythmogenic mechanisms," *Circ. Res.*, vol. 47, no. 2, pp. 151-165, Aug.1980.

- [25] M. J. Janse, H. Morena, J. Cinca, J. W. Fiolet, W. J. Krieger, and D. Durrer, "Electrophysiological, metabolic and morphological aspects of acute myocardial ischemia in the isolated in the isolated porcine heart. Characterization of the "border zone", " *J. Physiol (Paris)*, vol. 76, no. 7, pp. 785-790, 1980.
- [26] R. Jain, R. Kasturi, and B. Schunck, *Machine vision*. USA: Mc Graw Hill, 1995, pp. 61-70.
- [27] R. E. Hillsley, K. D. Bollacker, E. V. Simpson, D. L. Rollins, M. D. Yarger, P. D. Wolf, W. M. Smith, and R. E. Ideker, "Alteration of ventricular fibrillation by propranolol and isoproterenol detected by epicardial mapping with 506 electrodes," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 6, no. 6, pp. 471-485, June 1995.
- [28] F. J. Chorro, E. Blasco, I. Trapero, J. Canoves, A. Ferrero, L. Mainar, L. Such-Miquel, J. Sanchis, V. Bodi, J. M. Cerda, A. Alberola, and L. Such, "Selective myocardial isolation and ventricular fibrillation," *Pacing Clin. Electrophysiol.*, vol. 30, no. 3, pp. 359-370, Mar. 2007.
- [29] K. D. Bollacker, E. V. Simpson, R. E. Hillsley, S. M. Blanchard, R. J. Gerstle, G. P. Walcott, R. L. Callihan, M. C. King, W. M. Smith, and R. E. Ideker, "An automated technique for identification and analysis of activation fronts in a two-dimensional electrogram array," *Comput. Biomed. Res.*, vol. 27, no. 3, pp. 229-244, June 1994.
- [30] J. M. Rogers, J. Huang, R. W. Pedoto, R. G. Walker, W. M. Smith, and R. E. Ideker, "Fibrillation is more complex in the left ventricle than in the right ventricle," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 11, no. 12, pp. 1364-1371, Dec. 2000.
- [31] M. S. Guillem, A. M. Climent, F. Castells, D. Husser, J. Millet, A. Arya, C. Piorkowski, and A. Bollmann, "Noninvasive mapping of human atrial fibrillation," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 20, no. 5, pp. 507-513, May 2009.
- [32] A. Sippensgroenewegen, F. X. Roithinger, H. A. Peeters, A. C. Linnenbank, N. M. van Hemel, P. R. Steiner, and M. D. Lesh, "Body surface mapping of atrial arrhythmias: atlas of paced P wave integral maps to localize the focal origin of right atrial tachycardia," *J. Electrocardiol.*, vol. 31 Suppl, pp. 85-91, 1998.
- [33] B. R. Choi, W. Jang, G. Salama, "Spatially discordant voltage alternans cause wavebreaks in ventricular fibrillation", *Heart Rhythm*, vol. 4, no. 8, pp. 1057-1068, Aug. 2007.
- [34] Y. S. Ishiguro, H. Honjo, T. Opthof, Y. Okuno, H. Nakagawa, M. Yamazaki, M. Harada, H. Takanari, T. Suzuki, M. Morishima, I. Sakuma, K. Kamiya, and I. Kodama, "Early termination of spiral wave reentry by combined blockade of Na<sup>+</sup> and L-type Ca<sup>2+</sup> currents in a perfused two-dimensional epicardial layer of rabbit ventricular myocardium," *Heart Rhythm.*, vol. 6, no. 5, pp. 684-692, May. 2009.
- [35] N. Chattipakorn, P. C. Fotuhi, S. C. Chattipakorn, and R. E. Ideker, "Three-dimensional mapping of earliest activation after near-threshold ventricular

- defibrillation shocks," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 14, no. 1, pp. 65-69, Jan.2003.
- [36] K. Umapathy, S. Masse, E. Sevaptsidis, J. Asta, S. S. Krishnan, and K. Nanthakumar, "Spatiotemporal frequency analysis of ventricular fibrillation in explanted human hearts," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 56, no. 2, pp. 328-335, Feb.2009.
- [37] X. Ibáñez-Català, M. Guillem, A. Climent, F. J. Chorro, F. Pelechano, I. Trapero, E. Roses, A. Guill, A. Tormos, and J. Millet, "2D Isochronal correlation method to detect pacing capture during ventricular fibrillation," in *4th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering*, 22 ed. Springer Berlin Heidelberg, Ed. Belgium: Springer, 2009, pp. 14-17.
- [38] X. Ibáñez-Català, A. M. Climent, E. Roses, F. J. Chorro, I. Trapero, F. Pelechano, L. Such-Miquel, J. Millet, and M. S. Guillem, "Clasificación de la complejidad de procesos fibrilatorios mediante aislamiento espacio-temporal de ondas de activación," *XXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB)*, 2009, pp. 553-556.