

**ESTUDIO DE LAS MODIFICACIONES FARMACOLÓGICAS
DE LOS EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS
PRODUCIDOS POR EL ESTIRAMIENTO LOCAL
MIOCÁRDICO A PARTIR DE TÉCNICAS DINÁMICAS DE
CARTOGRAFÍA ELÉCTRICA EN UN MODELO
EXPERIMENTAL DE CORAZÓN AISLADO DE CONEJO**

Irene del Canto Serrano

**Estudio de las modificaciones farmacológicas de los
efectos electrofisiológicos producidos por el
estiramiento local miocárdico a partir de técnicas
dinámicas de cartografía eléctrica en un modelo
experimental de corazón aislado de conejo**

Irene del Canto Serrano

Disertación presentada en
cumplimiento parcial de los
requisitos para el grado de

Doctor

Directores:

Prof. Dr. David Moratal Pérez

Departamento de Ingeniería Electrónica
Universitat Politècnica de València

Prof. Dr. Francisco Javier Chorro Gascó

Departamento de Medicina
Universitat de València



Universitat Politècnica de València
Valencia, diciembre de 2014

Programa de Doctorado en Tecnologías para la Salud y el Bienestar
Universitat Politècnica de València, 2014

Tesis Doctoral.

Estudio de las modificaciones farmacológicas de los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento local miocárdico a partir de técnicas dinámicas de cartografía eléctrica en un modelo experimental de corazón asilado de conejo.

Autor:

Irene del Canto Serrano

Directores de Tesis:

Prof. Dr. David Moratal Pérez
Departamento de Ingeniería Electrónica
Universitat Politècnica de València

Prof. Dr. Francisco Javier Chorro Gascó
Departamento de Medicina
Universitat de València

Esta Tesis se ha desarrollado en el Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular de la Universitat Politècnica de València, en el Departamento de Fisiología y en el Departamento de Medicina de la Universitat de València.

A mis padres

La ciencia no es proletaria ni burguesa,
sino profundamente revolucionaria
porque es creadora.

Jaime Vera

Agradecimientos

A mis directores de tesis. A David, por introducirme en el mundo de la investigación y no dejarme salir de él, con sus constantes ánimos y su confianza en mí. A Javier, por enseñarme la constancia y la satisfacción del trabajo bien hecho.

A Luis, porque me ha guiado en el aprendizaje y me ha transmitido su experiencia, sus conocimientos y las ganas de seguir ahondando en ellos.

A Antonio, por su generosidad.

A Laia y a Carlos, por ser mi soporte. A Laia, por su sensibilidad y porque siempre está. A Carlos, porque sus ánimos y su apoyo me han empujado a llegar hasta aquí.

A Germán, porque con nuestras charlas he aprendido a relativizar la importancia de las cosas del trabajo y de la vida.

A Luis (jr.), porque con él he entendido lo esencial que es la transparencia y la comunicación en un grupo de trabajo.

A todos mis compañeros, con los que he compartido experiencias profesionales y personales a lo largo de estos años: Manolo, Catia, Manu, Laura, Jaume y Nathalia.

A mis amigas, porque siempre me han apoyado a lo largo de este camino y junto a ellas he madurado.

A Mapi, porque el recuerdo de su vivencia me hizo comprender que la investigación sí vale la pena.

A mi familia, y sobre todo a mis padres, porque siempre me han apoyado de forma incondicional. A mis abuelas, Blanca y Araceli, que ya no están.

Y a Toni, por estar a mi lado, por su cariño, por ser mi cómplice.

Resumen

La electrofisiología cardíaca permite el estudio de la actividad eléctrica de regiones específicas del corazón y, por tanto, el análisis de las modificaciones de sus características en regiones sometidas a cambios tales como el estiramiento miocárdico agudo. El estiramiento miocárdico modifica las propiedades electrofisiológicas de los cardiomiocitos, originando arritmias cardíacas en diferentes situaciones patológicas. Los efectos mecánicos del estiramiento inducen cambios relacionados con el calcio, y son varios los mecanismos que han sido implicados, incluyendo un incremento de la entrada de Na^+ y la activación secuencial de los intercambiadores Na^+/H^+ y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (modo inverso), ligados a eventos autocrino/paracrinos.

Esta Tesis Doctoral tiene como principal objetivo el estudio de la posible participación de estos mecanismos en las respuestas electrofisiológicas al estiramiento mediante el análisis de las modificaciones farmacológicas de dichas respuestas.

Se han estudiado las modificaciones de las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular (FV) y de las propiedades electrofisiológicas miocárdicas inducidas por el estiramiento miocárdico agudo en 44 corazones de conejo aislados y perfundidos en un sistema Langendorff, utilizando electrodos múltiples epicárdicos y técnicas de cartografía eléctrica, bajo condiciones control ($n=9$) y durante la perfusión del antagonista de los receptores tipo 1 de angiotensina II losartán $1\mu\text{M}$ ($n=8$), del antagonista de los receptores tipo A de endotelina BQ-123 $0,1\mu\text{M}$ ($n=9$), del inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride (EIPA) $1\mu\text{M}$ ($n=9$) y del inhibidor de la corriente tardía de Na^+ ranolazina $5\mu\text{M}$ ($n=9$).

Para el análisis de la señal fibrilatoria, se han utilizado técnicas espectrales y técnicas de detección de la activación miocárdica, estudiando parámetros relacionados con la frecuencia, la organización (o regularidad) y la complejidad de la activación miocárdica durante la FV, así como la refractariedad miocárdica ventricular y la velocidad de conducción.

Los resultados muestran las modificaciones farmacológicas de los efectos electrofisiológicos del estiramiento. El EIPA y la ranolazina atenuaron el incremento de la frecuencia dominante de la FV y la disminución de la refractariedad miocárdica producidos por el estiramiento. Durante el estiramiento, la activación durante la FV fue más compleja en la serie control que en la serie con EIPA o con ranolazina, evaluada mediante los porcentajes de los tipos de mapas de activación, mientras que la organización de la activación, expresada a partir de la concentración espectral de la FV, fue mayor bajo la acción del EIPA y de la ranolazina. El losartán y el BQ-123 no produjeron modificaciones de las respuestas electrofisiológicas al estiramiento miocárdico.

En conclusión, la inhibición de la corriente tardía de entrada de Na^+ mediante ranolazina y la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ mediante EIPA atenúan los efectos electrofisiológicos responsables de la aceleración de la activación y del incremento de la complejidad de la activación miocárdica durante la FV producidos por el estiramiento local agudo. Por el contrario, el bloqueo de los receptores de angiotensina II mediante losartán y el bloqueo de los receptores de endotelina mediante BQ-123 no modifican estos efectos.

En resumen, los mecanismos implicados en las respuestas electrofisiológicas al estiramiento local agudo son contrarrestados por la inactivación de la corriente tardía de Na^+ y del intercambiador Na^+/H^+ , mientras que la liberación de angiotensina II y de endotelina parece no estar implicada en la cadena de eventos relacionada con los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento.

Resum

L'electrofisiologia cardíaca permet l'estudi de l'activitat elèctrica de regions específiques del cor i, per tant, l'anàlisi de les modificacions de les seues característiques en regions sotmeses a canvis com ara l'estirament miocàrdic agut. L'estirament miocàrdic modifica les propietats electrofisiològiques dels cardiomiocits, originant arítmies cardíques en diferents situacions patològiques. Els efectes mecànics de l'estirament induïxen canvis relacionats amb el calci, i son diversos els mecanismes que han estat implicats, incloent un increment de l'entrada de Na^+ i l'activació seqüencial dels intercanviadors Na^+/H^+ i $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (mode invers), lligats a esdeveniments autocrin/paracrins.

Aquesta Tesi Doctoral té com a principal objectiu l'estudi de la possible participació d'aquests mecanismes en les respostes electrofisiològiques a l'estirament mitjançant l'anàlisi de les modificacions farmacològiques d'aquestes respostes.

S'han estudiat les modificacions de les característiques de l'activació miocàrdica durant la fibril·lació ventricular (FV) i de les propietats electrofisiològiques miocàrdiques induïdes per l'estirament miocàrdic agut en 44 cors de conill aïllats i perfosos en un sistema Langendorff, utilitzant elèctrodes múltiples epicàrdics i tècniques de cartografia elèctrica, sota condicions control (n=9) i durant la perfusió de l'antagonista dels receptors tipus-1 d'angiotensina II losartan $1\mu\text{M}$ (n=8), de l'antagonista dels receptors tipus-A de endotelina BQ-123 $0,1\mu\text{M}$ (n=9), de l'inhibidor de l'intercanviador Na^+/H^+ 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride (EIPA) $1\mu\text{M}$ (n=9) i de l'inhibidor del corrent tardà de Na^+ ranolazina $5\mu\text{M}$ (n=9).

Per a l'anàlisi del senyal fibril·latori, s'han utilitzat tècniques espectrals i tècniques de detecció de l'activació miocàrdica, estudiant paràmetres relacionats amb la freqüència, l'organització (o regularitat) i la complexitat de l'activació miocàrdica durant la fibril·lació ventricular, així com la refractarietat miocàrdica ventricular i la velocitat de conducció.

Els resultats mostren les modificacions farmacològiques dels efectes electrofisiològics de l'estirament. L'EIPA i la ranolazina van atenuar l'increment de la freqüència dominant de la FV i la disminució de la refractarietat miocàrdica produïts per l'estirament. Durant l'estirament, l'activació durant la FV va ser més complexa en la sèrie control que en la sèrie amb EIPA o amb ranolazina, avaluada mitjançant els percentatges del tipus de mapes d'activació, mentre que l'organització de l'activació, expressada a partir de la concentració espectral de la FV, va ser més gran sota l'acció de l'EIPA i de la ranolazina. El losartan i el BQ-123 no van produir modificacions de les respostes electrofisiològiques a l'estirament miocàrdic.

En conclusió, la inhibició del corrent tardà d'entrada de Na^+ mitjançant ranolazina i la inhibició de l'intercanviador Na^+/H^+ mitjançant EIPA atenuen els efectes electrofisiològics responsables de l'acceleració de l'activació i l'increment de la complexitat de l'activació miocàrdica durant la FV produïts per l'estirament local agut. Per contra, el bloqueig dels receptors d'angiotensina II mitjançant losartan i el bloqueig dels receptors d'endotelina mitjançant BQ-123 no modifiquen aquests efectes.

En resum, els mecanismes implicats en les respostes electrofisiològiques a l'estirament local agut són contrarestats per la inactivació del corrent tardana de Na^+ i l'intercanviador Na^+/H^+ , mentre que l'alliberament d'angiotensina II i d'endotelina sembla no estar implicat en la cadena d'esdeveniments relacionada amb els efectes electrofisiològics produïts per l'estirament.

Abstract

Cardiac electrophysiology allows the study of the electrical activity in specific regions of the heart and, therefore, the analysis of the modifications of its characteristics in regions subjected to changes such as acute myocardial stretch. Myocardial stretch modifies the electrophysiological properties of cardiomyocytes, causing cardiac arrhythmias in different pathological situations. The mechanical effects of stretching induce related calcium changes, and there are several mechanisms that have been implicated, including an increase in the influx of Na^+ and the sequential activation of the Na^+/H^+ and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (reverse mode) exchangers, related to autocrine/paracrine events.

This doctoral thesis has as its main objective the study of the possible involvement of these mechanisms in the electrophysiological responses to stretch by analyzing the pharmacological modifications of these responses.

The changes in the characteristics of myocardial activation during ventricular fibrillation (VF) and myocardial electrophysiological properties induced by acute myocardial stretch have been studied in 44 isolated rabbit hearts perfused on a Langendorff system using epicardial multiple electrodes and electrical mapping techniques under control conditions ($n=9$) and during the perfusion of the angiotensin II type-1 receptor antagonist losartan $1\mu\text{M}$ ($n=8$), the endothelin-A receptor blocker BQ-123 $0.1\mu\text{M}$ ($n=9$), the Na^+/H^+ exchanger inhibitor 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride (EIPA) $1\mu\text{M}$ ($n=9$) and the late Na^+ current blocker ranolazine $5\mu\text{M}$ ($n=9$).

Spectral techniques and techniques for myocardial activation detection have been used for analysis in the frequency and in the time domain of fibrillatory signal, studying parameters related to the frequency, the organization (or regularity) and the complexity of myocardial activation during VF and ventricular refractoriness and conduction velocity.

The results show the pharmacological modifications of the electrophysiological effects of stretching. EIPA and ranolazine attenuated the increase in the VF dominant frequency produced by stretch. During stretch, myocardial activation during VF was more complex in the control series than with EIPA or ranolazine, evaluated by the percentages of activation map types, while the organization of activation, assessed by means of spectral concentration, was greater under EIPA and ranolazine. Losartan and BQ-123 did not modify the electrophysiological responses to myocardial stretch.

In conclusion, the inhibition of the late inward Na^+ current by ranolazine and the inhibition of the Na^+/H^+ exchanger by EIPA attenuate the electrophysiological effects responsible for the acceleration of the activation and the increase of the complexity of myocardial activation during VF produced by acute local stretching. In contrast, the angiotensin II receptor blocker losartan and the endothelin receptor blocker BQ-123 do not modify these effects.

In summary, the mechanisms involved in the electrophysiological responses to acute local stretch are counteracted by inactivation of late Na^+ current and Na^+/H^+ exchanger, whereas the release of angiotensin II and endothelin do not seem to be involved in the chain of events related to the electrophysiological effects of stretch.

Abreviaturas

AT ₁	receptores tipo 1 de angiotensina II
AV	aurículo-ventricular
CAE	canales activados por estiramiento
CaT	transitorios de Ca ²⁺
CE	Concentración espectral
dV/dt	derivada del voltaje respecto al tiempo
ECG	electrocardiograma
EKG	electrograma
EIPA	5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride
ET	endotelina
ET _A	receptores tipo A de endotelina
FA	fibrilación auricular
FD	frecuencia dominante de la señal fibrilatoria
FME	“feedback” mecanoeléctrico
FV	fibrilación ventricular
Hz	hercios
I _{CaL}	corriente de Ca ²⁺ de larga duración
I _f	corriente marcapasos
I _K	rectificador retardado
I _{K1}	corriente rectificadora interna
I _{Kr}	corriente rectificadora tardía, rápida
I _{Ks}	corriente rectificadora tardía, lenta
I _{Kur}	corriente rectificadora tardía, ultrarrápida
I _{Na}	corriente rápida de entrada de Na ⁺
I _{NaCa}	corriente iónica generada por el intercambiador Na ⁺ /H ⁺
MFS	mecanismo de Frank-Starling
ns	no significativo
PA	potencial de acción miocárdico
Pct5	percentil 5 de los intervalos VV
PRA	periodo refractario absoluto

PRE	periodo refractario efectivo
PRF	periodo refractario funcional
PRFFV	periodo refractario funcional durante la FV
PRR	periodo refractario relativo
PRT	periodo refractario total
PRT	periodo de recuperación total
PSN	periodo supernormal
RS	retículo sarcoplásmico
SA	sinoauricular
VC	velocidad de conducción
VV	intervalo de activación ventricular
ZE	zona modificada por el estiramiento
ZNE	zona no modificada por el estiramiento

Índice

Resumen	i
Resum	iii
Abstract.....	v
Abreviaturas	vii
Motivación.....	15
Hipótesis, objetivos y plan de trabajo.....	19
1. Introducción.....	25
1.1 Bases de la electrofisiología cardíaca.....	25
1.1.1 Anatomía y ciclo cardíaco.....	25
1.1.2 Origen y propagación del impulso eléctrico.....	28
1.1.3 El potencial de acción	33
1.1.4 Excitabilidad de la célula. Refractoriedad miocárdica.....	37
1.1.5 Acoplamiento excitación-contracción.....	40
1.1.6 Modos normal e inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$	45
1.1.7 Fuerza contráctil.....	48
1.1.8 El electrograma.....	49
1.1.9 Detección de la activación	52
1.1.10 Morfología del EGM unipolar	53
1.2 Estiramiento miocárdico	56
1.2.1 Efectos mecánicos producidos por estiramiento miocárdico.....	56
1.2.2 Efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento miocárdico	61
1.2.3 Efectos electrofisiológicos e influencia del Ca^{2+}	62

1.3 Fibrilación ventricular	65
1.3.1 Descripción de la FV.....	66
1.3.2 Perspectiva histórica de la fibrilación ventricular	67
1.3.3 El fenómeno de reentrada como base de la FV	69
1.3.4 Relación de los procesos fibrilatorios con las propiedades electrofisiológicas	71
1.4 Consideraciones metodológicas sobre el análisis de la FV.....	73
1.4.1 Estudios basados en trabajos experimentales.....	73
1.4.2 Preparación de origen animal.....	74
1.4.3 Técnicas de cartografía eléctrica.....	75
1.5 Análisis de las características de la activación miocárdica y parámetros electrofisiológicos	78
1.5.1 Análisis espectral: frecuencia dominante y concentración espectral.....	78
1.5.2 Análisis en el dominio del tiempo.....	82
1.5.3 Complejidad de la activación.....	84
1.5.4 Refractariedad	85
1.5.5 Velocidad de conducción.....	85
1.6 Resumen de la introducción y justificación de la investigación.....	86
2. Material y Métodos	89
2.1 Material	89
2.1.1 Animales de experimentación.....	89
2.1.2 Reactivos.....	89
2.1.3 Instrumentación.....	90
2.1.4 Software	94
2.2 Métodos.....	96
2.2.1 Preparación experimental.....	96
2.2.2 Protocolo experimental.....	102
2.2.3 Definición y determinación de los parámetros analizados.....	105

2.2.3.1 <i>Análisis espectral</i>	105
2.2.3.2 <i>Análisis de la FV en el dominio del tiempo</i>	107
2.2.3.3 <i>Análisis de los mapas de activación epicárdica durante la FV</i>	111
2.2.3.4 <i>Parámetros electrofisiológicos</i>	114
2.3 Análisis estadístico.....	117
2.4 Legislación.....	117
3. Resultados	119
3.1 Efectos del estiramiento local miocárdico	119
3.1.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV.....	119
3.1.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV.....	123
3.1.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos.....	125
3.2 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por el losartán.....	126
3.2.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV.....	126
3.2.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV.....	130
3.2.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos.....	133
3.3 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por el BQ-123	134
3.3.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV.....	134
3.3.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV.....	138
3.3.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros	

electrofisiológicos	140
3.4 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por el EIPA	142
3.4.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV.....	142
3.4.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV.....	147
3.4.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos.....	151
3.5 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por la ranolazina	152
3.5.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV.....	152
3.5.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV.....	157
3.5.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos.....	160
4. Discusión	163
4.1 Consideraciones sobre los métodos empleados.....	163
4.1.1 Respecto al modelo animal utilizado.....	163
4.1.2 Respecto a la preparación experimental de corazón aislado	164
4.1.3 Respecto a la metodología utilizada para la determinación de los parámetros	165
4.2 Consideraciones relativas a los resultados obtenidos.....	167
4.2.1 Efectos del estiramiento.....	167
4.2.2 Efectos del estiramiento bajo la acción de la ranolazina	169
4.2.3 Efectos del estiramiento bajo la acción del EIPA	172
4.2.4 Efectos del estiramiento bajo la acción del losartán y del BQ-123.....	174

4.3 Consideraciones finales respecto a los resultados	176
4.4 Implicaciones clínicas	177
4.5 Limitaciones del estudio	179
5. Conclusiones	181
6. Bibliografía.....	183
7. Publicaciones	199
7.1 Derivadas de Tesis Doctoral	199
7.2 No directamente relacionadas	201

Motivación

El estiramiento miocárdico puede estar presente en diversas situaciones clínicas, entre ellas la dilatación auricular o ventricular por sobrecargas de presión o de volumen [1-5] o las alteraciones regionales de contractilidad producidas por la isquemia miocárdica [6, 7]. Sus efectos como modulador de diversas arritmias cardíacas, así como los beneficios de tratamiento dirigidos a reducir sus acciones, han sido objeto de estudio en diversos trabajos tanto clínicos como experimentales [7, 8].

El estiramiento mecánico induce modificaciones en la actividad eléctrica y mecánica cardíaca. Los efectos mecánicos consisten en un incremento rápido (inmediato) y un incremento lento de la fuerza contráctil [9-11], mientras que los efectos electrofisiológicos, enmarcados en el concepto del “feedback” mecanoeléctrico [12-14], han sido implicados en el origen de arritmias cardíacas en diferentes situaciones caracterizadas por sobrecarga auricular o ventricular o contracción asíncrona [2, 3, 5, 15].

La acumulación de datos en las últimas décadas sobre la cadena de eventos que conducen al incremento de la fuerza parecen sugerir la implicación de fenómenos autocrino/paracrinos con liberación local de angiotensina II y endotelina, la activación del intercambiador Na^+/H^+ , el incremento de la entrada de Na^+ , la activación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en su modo inverso y el incremento de los transitorios de Ca^{2+} (para una revisión ver [11]).

Motivación

Por otro lado, existen numerosas descripciones de los efectos electrofisiológicos del estiramiento miocárdico [2, 12, 14, 16-20]. El estiramiento miocárdico da lugar a alteraciones del potencial de acción y del potencial de reposo [21, 22], o a la formación de post-despolarizaciones [20], efectos implicados en la aparición de arritmias cardíacas [5, 23].

Sin embargo, la parte electrofisiológica de la cadena de eventos que siguen al estiramiento es menos conocida. De hecho, los datos sobre la cadena de eventos relacionada con estos efectos electrofisiológicos y sus modificaciones farmacológicas son limitados. En 2009, en un estudio realizado en corazón aislado de conejo, Chorro et al. proporcionan información sobre esta cadena de eventos. Así, concluyen que la inhibición del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ reduce las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas producidas por el estiramiento [8]. La reducción de la actividad del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ reduciría la entrada de Ca^{2+} durante el estiramiento y las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas de los miocitos [18, 22, 24].

No obstante, se desconoce si la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ , o el bloqueo de los receptores de las sustancias que se ha postulado que intervienen en su activación tras el estiramiento miocárdico, como la angiotensina II y la endotelina [25-28], pueden ejercer también modificaciones de los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento.

Asimismo, se desconoce si la inhibición de la corriente tardía de Na^+ , que podría intervenir sobre el incremento del Na^+ intracelular producido por el estiramiento miocárdico [11, 18, 24-26, 29], puede modular las respuestas electrofisiológicas al estiramiento. Diversos estudios han demostrado que la ranolazina (un agente antianginoso) disminuye la corriente tardía de Na^+ [30-32] y por tanto las fisiopatologías asociadas a la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular, independientemente de la reducción de la entrada de Ca^{2+}

mediante los canales de Ca^{2+} o de la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ [30, 31]. Si el incremento de la entrada de Na^+ producida por el estiramiento puede ser modulada a través de la inhibición de la corriente tardía de Na^+ , entonces la ranolazina podría reducir los efectos relacionados con la consecuente activación del intercambiador Na^+/H^+ y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que provoca el estiramiento.

Entre las herramientas y modelos disponibles para estudiar las propiedades electrofisiológicas del miocardio, las técnicas de cartografía eléctrica cardíaca (a partir de señales de electrograma de superficie adquiridas mediante electrodos múltiples epicárdicos) aplicadas a un modelo de corazón aislado y perfundido de conejo permiten el registro multipunto de la actividad eléctrica epicárdica [8, 33, 34], y la obtención de información espacial y temporal sobre la activación miocárdica de una determinada zona durante las arritmias. En este modelo, el análisis de las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular ha permitido evidenciar cambios en las propiedades electrofisiológicas del miocardio, producidas por el estiramiento local agudo [7, 8, 35].

En los últimos años, se han desarrollado técnicas y algoritmos para la caracterización de la actividad fibrilatoria ventricular a partir de los electrogramas registrados, entre las cuales cabe destacar las técnicas de detección de la activación miocárdica para el análisis de la señal fibrilatoria en el dominio del tiempo (análisis temporal) [36] y para la creación de los mapas de activación [37], así como las técnicas espectrales para el análisis de la señal fibrilatoria en el dominio de la frecuencia (análisis espectral) [37-39]. El estudio de la actividad fibrilatoria permitirá a su vez caracterizar las propiedades electrofisiológicas del tejido miocárdico, los efectos que induce el estiramiento sobre ellas y las modificaciones que diversas sustancias, que intervienen en la cadena de eventos desencadenada por el estiramiento, pueden ejercer sobre dichos efectos.

Hipótesis, objetivos y plan de trabajo

Hipótesis

La investigación llevada a cabo a lo largo de esta Tesis Doctoral se basa en las siguientes hipótesis:

- (a) La inhibición del intercambiador Na^+/H^+ , cuya activación en el estiramiento constituye un paso previo a la activación del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, modifica los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento mecánico en el modelo experimental utilizado.
- (b) La inhibición de la corriente tardía de Na^+ modula el incremento de Na^+ intracelular producido por el estiramiento miocárdico y con ello modifica los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento mecánico en el modelo experimental utilizado.
- (c) El bloqueo de los receptores tipo 1 de angiotensina II o de los receptores tipo A de entotelina, cuya activación se ha relacionado con la respuesta al estiramiento en los miocitos, modifica los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento mecánico en el modelo experimental utilizado.

Objetivos

El principal objetivo de esta tesis doctoral es estudiar, en un modelo de corazón aislado de conejo, los mecanismos implicados en las respuestas electrofisiológicas al estiramiento local agudo ventricular, mediante el análisis de las modificaciones farmacológicas de dichas respuestas, a partir de las señales de electrograma de superficie adquiridas mediante electrodos múltiples epicárdicos.

Para ello, se proponen los siguientes objetivos específicos:

- Analizar los efectos del estiramiento miocárdico agudo sobre las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular y sobre las propiedades electrofisiológicas ventriculares.
- Analizar los efectos de un bloqueante de los receptores tipo 1 de angiotensina II, sobre las modificaciones de las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular y de las propiedades electrofisiológicas producidas por el estiramiento miocárdico agudo.
- Analizar los efectos de un bloqueante de los receptores tipo A de endotelina, sobre las modificaciones de las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular y de las propiedades electrofisiológicas producidas por el estiramiento miocárdico agudo.
- Analizar los efectos de un inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ , sobre las modificaciones de las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular y de las

propiedades electrofisiológicas producidas por el estiramiento miocárdico agudo.

- Analizar los efectos de un inhibidor de la corriente tardía de Na^+ , sobre las modificaciones de las características de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular y de las propiedades electrofisiológicas producidas por el estiramiento miocárdico agudo.

En particular, para cada uno de los análisis, se pretende determinar cómo afecta el estiramiento miocárdico agudo a :

- la frecuencia de activación durante la FV,
- la complejidad y la organización/regularidad de la activación durante la FV,
- la refractariedad miocárdica ventricular,
- la velocidad de conducción ventricular.

Plan de trabajo

El plan de trabajo propuesto para llevar a buen término esta Tesis Doctoral consistirá en:

1. Sacrificio de los animales para la extracción y posterior aislamiento y perfusión del corazón en un sistema Langendorff.
2. Someter al corazón a un grado controlado de estiramiento en la pared libre del ventrículo izquierdo.
3. En el corazón aislado y perfundido, determinar los siguientes parámetros durante la fibrilación ventricular inducida: frecuencia dominante, intervalos entre activaciones ventriculares consecutivas, complejidad de los mapas de activación epicárdica, periodo refractario funcional y velocidad de conducción, previamente al estiramiento local, durante el mismo y tras su supresión, tanto en una zona directamente sometida a estiramiento como en otra zona del mismo ventrículo no sometida a dicha manipulación.
4. Repetir el estudio electrofisiológico expuesto en los apartados 1, 2 y 3 (serie control), en otra serie distinta infundiendo un antagonista de los receptores tipo 1 de angiotensina II, el losartán.
5. Repetir el estudio electrofisiológico expuesto en los apartados 1, 2 y 3, en otra serie distinta infundiendo un antagonista de los receptores tipo A de endotelina, el BQ-123.
6. Repetir el estudio electrofisiológico expuesto en los apartados 1, 2 y 3, en otra serie distinta infundiendo un inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ , el EIPA.

Hipótesis, objetivos y plan de trabajo

7. Repetir el estudio electrofisiológico expuesto en los apartados 1, 2 y 3, en otra serie distinta infundiendo un inhibidor de la corriente tardía de Na^+ , la ranolazina.
8. Aplicar los correspondientes tests estadísticos para analizar las posibles modificaciones farmacológicas sobre las respuestas electrofisiológicas al estiramiento

Capítulo 1

1. Introducción

1.1 Bases de la electrofisiología cardíaca

1.1.1 Anatomía y ciclo cardíaco

El corazón se encuentra situado entre los pulmones, en la parte central del tórax, apoyado sobre el diafragma. Está formado principalmente por un músculo llamado *miocardio*, recubierto internamente por el *endocardio* y externamente por una membrana de dos capas denominada *pericardio*, cuya capa externa (pericardio parietal) está unida por ligamentos a la columna vertebral y al diafragma. La capa interna del pericardio (pericardio visceral) se encuentra unida al músculo cardíaco, y está separada de la capa externa por una cavidad con un líquido lubricante permitiendo que el corazón se mueva al latir, a la vez que permanece unido al cuerpo.

La figura 1.1 muestra la configuración anatómica del corazón. Este órgano se compone de cuatro cámaras o cavidades, dos superiores denominadas *aurículas* y dos inferiores denominadas *ventrículos*, separadas por dos tipos de tabiques: el interauricular, que separa las aurículas y el interventricular, que separa los ventrículos. La aurícula derecha recoge de las venas cavas (superior e inferior) la sangre que retorna de su recorrido a través

1. Introducción

del sistema circulatorio y que precisa ser oxigenada, mientras que en la aurícula izquierda desembocan las cuatro venas pulmonares, con sangre oxigenada, dispuesta a ser bombeada al organismo. Las aurículas y los ventrículos están comunicados dos a dos por las válvulas aurículo-ventriculares o válvulas AV: válvula mitral, en la parte izquierda, y válvula tricúspide, en la parte derecha. Estas válvulas permiten el paso de sangre desde las aurículas hacia los ventrículos, impidiendo el paso en el sentido contrario. Con idéntica función encontramos la válvula pulmonar, que comunica el ventrículo derecho con la arteria pulmonar, y la válvula aórtica, que comunica el ventrículo izquierdo con la arteria aorta.

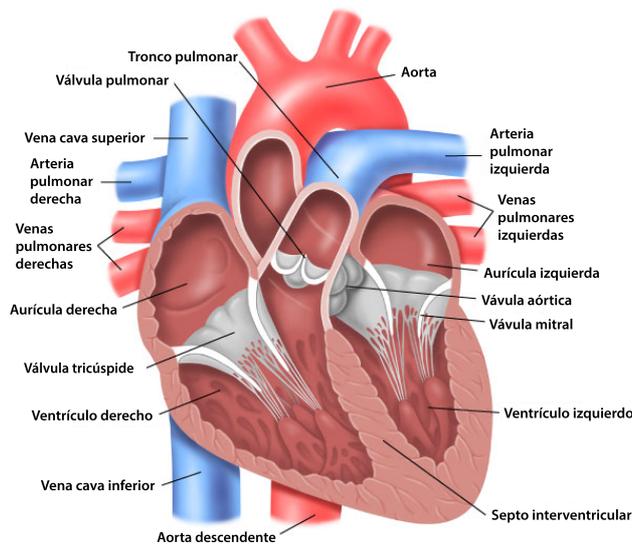


Figura 1.1. Anatomía del corazón (modificado de [40]).

El tejido muscular cardíaco está compuesto por un sincitio de muchas células musculares estriadas que se unen unas a otras por sus extremos, de forma que cuando una de ellas se excita el potencial de acción se propaga a todas sus vecinas, con el fin de realizar una contracción sincronizada del músculo cardíaco, dando lugar al ciclo cardíaco. No obstante, el corazón está

realmente formado por dos sincitios (el auricular y el ventricular) y, normalmente, los potenciales de acción no se conducen desde el sincitio auricular hacia el sincitio ventricular directamente a través del tejido fibroso que los separa, sino que son transmitidos por medio de un sistema de conducción especializado (ver apartado 1.1.2). Esta división del músculo cardíaco en dos sincitios funcionales permite que las aurículas se contraigan un pequeño intervalo de tiempo antes de la contracción ventricular, lo que permite su contribución al llenado de los ventrículos antes de que éstos se contraigan, que es importante para la eficacia del bombeo del corazón [41].

El ciclo cardíaco está formado por un periodo de relajación que se denomina *diástole*, seguido de un periodo de contracción denominado *sístole*. Durante el primer periodo de la diástole ventricular, las válvulas AV se abren, permitiendo que la sangre fluya hacia los ventrículos. Esto se debe a que, durante la sístole ventricular del ciclo anterior, se genera un aumento moderado de presión en las aurículas (debido a la llegada de sangre a través de las venas), y durante la fase de relajación ventricular disminuye rápidamente la presión intraventricular, de modo que la presión auricular pasa a ser mayor que la de los ventrículos (gradiente de presión). En la última fase de la diástole ventricular, ocurre la sístole auricular, durante la cual las aurículas se contraen para terminar de llenar los ventrículos.

La sístole ventricular comienza con el periodo de contracción isovolumétrica de los ventrículos. Inmediatamente después del comienzo de la contracción ventricular, se produce un aumento súbito de la presión ventricular que conlleva el cierre de las válvulas AV. Durante este periodo se produce contracción en los ventrículos, pero no vaciado porque todavía no se han abierto las válvulas aórticas y pulmonar. Cuando la presión ventricular aumenta hasta abrir estas válvulas, se produce la salida de la sangre (periodo de eyección). Al final de la sístole comienza súbitamente la relajación ventricular, lo que provoca una caída rápida de la presión intraventricular

1. Introducción

pasando a ser inferior a la de los grandes vasos. Por este motivo, el flujo de sangre se vuelve retrógrado (intentando pasar de las arterias a los ventrículos) y provoca el cierre de las válvulas aórtica y pulmonar. El músculo cardíaco sigue relajándose, aun sin modificarse el volumen ventricular (relajación isovolumétrica), disminuyendo la presión intraventricular hasta regresar a sus valores diastólicos. Después se abren las válvulas AV para comenzar un nuevo ciclo cardíaco.

1.1.2 Origen y propagación del impulso eléctrico

El miocardio es un tejido excitable capaz de conducir los impulsos eléctricos a través de un sistema propio de conducción con el fin de producir su contracción rítmica.

Así, el corazón está compuesto por tres tipos principales de miocardio: músculo auricular, músculo ventricular y las fibras musculares excitadoras y conductoras especializadas. Los tipos de músculo auricular y ventricular se contraen en gran medida de la misma manera que el músculo esquelético, con la diferencia de que la duración de la contracción es mucho mayor. Por el contrario, las fibras excitadoras y conductoras especializadas se contraen sólo débilmente debido a que contienen muy pocas fibrillas contráctiles; en lugar de ello, muestran ritmo y diversas velocidades de conducción, proporcionando un sistema de estimulación cardíaca que controla el latido.

Las estructuras que constituyen el sistema especializado de autoexcitación y conducción eléctrica en el corazón son: el nodo sinusal o sinoauricular (nodo SA), las vías auriculares internodales, el nodo aurículo-ventricular (nodo AV), el haz de His, los haces derecho e izquierdo del haz de His y las fibras de Purkinje (figura 1.2)

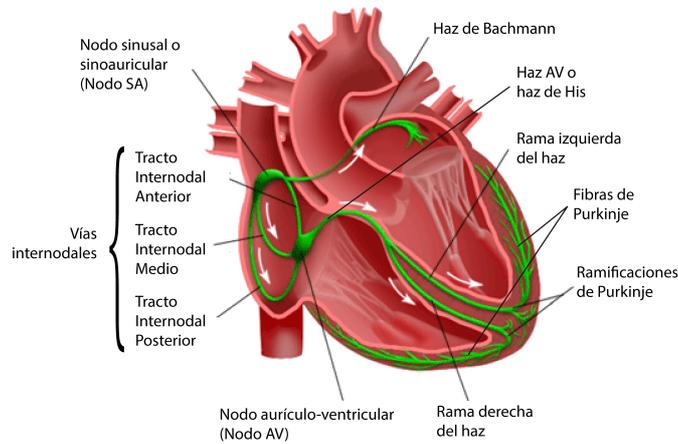


Figura 1.2. Sistema de autoexcitación y conducción eléctrica en el corazón (modificado de [42]).

En condiciones normales, los impulsos eléctricos que inician el ciclo cardíaco se originan en el nodo SA, que puede considerarse el marcapasos natural del corazón. Las células marcapasos tienen la capacidad de despolarizarse de forma espontánea (tejido autoexcitable).

El potencial de reposo (PR) de las células cardíacas está determinado por la permeabilidad selectiva de la membrana celular a varios iones. Principalmente, resulta de la distribución asimétrica de K^+ a ambos lados de la membrana (alta concentración intracelular relativa a la extracelular), que junto con la apertura de canales permeables al K^+ en la membrana celular en reposo (*canales de potasio rectificadores de entrada*, K_1), permite la difusión de K^+ al exterior de la célula, creando la corriente de potasio de rectificación interna (I_{K1}). Es por ello que el potencial de reposo en estas condiciones tiene a acercarse al potencial de equilibrio del K^+ (-96 mV). Pero este valor del PR no es el mismo en todas las regiones del miocardio [43].

En el nodo sinoauricular (SA), localizado en la pared posterolateral superior de la aurícula derecha, debido a la menor densidad (número de canales por μm^2 de membrana) de *canales de potasio rectificadores de entrada*, la

1. Introducción

conductancia para el K^+ es más baja y cobra más relevancia la permeabilidad para el Na^+ y el Ca^{2+} . Por lo que el PR se aleja del potencial de equilibrio del potasio, alcanzando valores de aproximadamente -60 mV (figura 1.3).

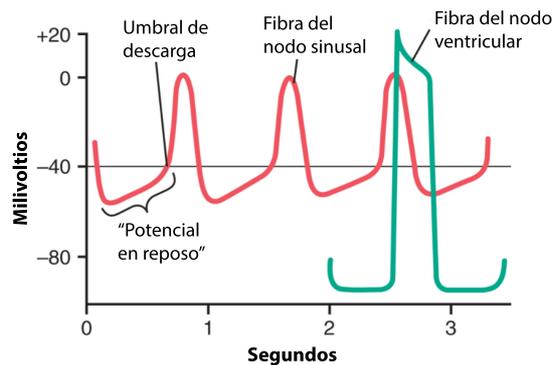


Figura 1.3. Comparación del PA del nodo SA con el de una fibra muscular ventricular [41].

Además, las células del nodo SA, a diferencia del resto de células cardíacas, presentan un PR inestable y tienen una despolarización espontánea progresiva que se produce durante la fase 4 del potencial de acción (PA) (ver apartado 1.1.3). Según Opie (2004) [44], son tres las corrientes iónicas que median la génesis del PA del nodo SA (figura 1.4). La corriente entrante I_f (denominada tipo “funny”) se activa cerca del final de la repolarización y está mediada por iones Na^+ debido a la presencia de canales lentos de sodio en las fibras del nodo sinusal. Esta corriente se activa con la hiperpolarización del potencial de membrana y permite la entrada de cargas positivas en la célula de forma gradual, y con ello, la despolarización progresiva y continua hasta que la membrana alcanza el umbral de activación para los canales de calcio (Ca^{2+}). Las corrientes de Ca^{2+} son la causa principal de la segunda mitad de la particular fase de despolarización de las células del nodo SA: corriente transitoria de Ca^{2+} tipo T (se abren brevemente) y corriente de Ca^{2+} tipo L (componente de larga duración y responsable del ascenso rápido del PA). Por

tanto, al abrirse estos canales, continúa el flujo de iones positivos al interior de la célula y, al alcanzarse aproximadamente los -40 mV se produce el PA, caracterizado por una rápida despolarización en la que el potencial de membrana alcanza valores positivos. Es entonces cuando se produce el rápido comienzo de la repolarización K^+ -dependiente provocado por la activación del rectificador retardado de la corriente de K^+ (I_K), que determina la no existencia de meseta. Esta corriente se activa por el umbral de despolarización total alcanzado en el punto más alto del PA, y decae con el tiempo (es tiempo dependiente) para permitir las corrientes de entrada de cationes e iniciar una nueva despolarización.

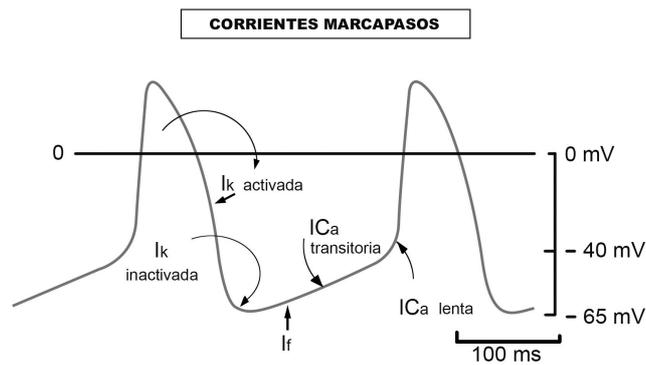


Figura 1.4. Las corrientes marcapasos en el nodo SA (modificado de [44]).

El impulso eléctrico generado en el nodo SA se transmite a las fibras musculares auriculares vecinas, propagándose así a través de todo el músculo auricular y provocando su contracción. Sin embargo, este impulso no puede alcanzar directamente a los ventrículos a causa del tejido fibroso que separa las dos cámaras cardíacas, y sólo puede hacerlo por una vía específica de conducción: el nodo AV [41]. Por tanto, el PA producido en el nodo SA se extiende a través de las aurículas hasta alcanzar el nodo AV a través de las vías internodales: tres pequeñas bandas que se incurvan a través de las paredes auriculares anterior, media y posterior [41] (figura 1.2). Además

1. Introducción

existe una banda interauricular anterior denominada *haz de Bachmann* que conduce el impulso eléctrico hacia la aurícula izquierda atravesando las paredes auriculares anteriores.

El impulso eléctrico es recogido en el nodo AV, localizado en la aurícula derecha debajo del origen de la válvula tricúspide. En el nodo AV, la señal eléctrica es conducida a muy baja velocidad, lo que produce un retraso en la conducción. Este retraso se debe a un diámetro más estrecho de las fibras que lo componen y a un menor número de uniones intercelulares en los discos intercalares situados entre las sucesivas células cardíacas, de tal modo que existe una gran resistencia a la conducción desde una fibra a otra [41]. Este retraso asegura un vaciado adecuado de la sangre desde las aurículas y con ello una contracción secuencial entre ambas cámaras.

La salida del nodo AV conecta con el haz de His. Este haz se divide en dos ramas, derecha e izquierda, que discurren por el tabique interventricular. Las ramas del haz de His terminan ramificándose en las fibras de Purkinje, que conducen el impulso eléctrico cardíaco al miocardio ventricular. Son fibras muy grandes, incluso mayores que las fibras musculares ventriculares normales, y se caracterizan por tener una velocidad de conducción muy alta (6 veces mayor que la del músculo ventricular normal) [41], permitiendo que la transmisión del impulso eléctrico cardíaco por el restante músculo ventricular sea casi inmediata. Se cree que la causa de la rapidez de transmisión de los PA en las fibras de Purkinje es el alto nivel de permeabilidad de las uniones de tal modo que los iones pasan con facilidad de una célula a la siguiente, aumentando así la velocidad de conducción [41].

1.1.3 El potencial de acción

La fase 4 del potencial de acción o potencial de reposo (PR) queda determinado por una conductancia mayor para el K^+ que para el Na^+ y el Ca^{2+} . En esta fase interviene principalmente la corriente de rectificación interna (I_{K1}), responsable de mantener el PR de las células ventriculares estable (a diferencia de lo que ocurre en las células marcapasos) y cercano al potencial de equilibrio para el K^+ (cercano a -80 mV en las células auriculares y ventriculares). En el momento que el PR alcanza el umbral de despolarización se genera el potencial de acción (PA) [43]. En la figura 1.5 se pueden ver las diferentes fases del potencial de acción con sus correspondientes corrientes implicadas tanto en las células auriculares como en las ventriculares de trabajo.

La primera fase del potencial de acción (fase 0) corresponde a la despolarización de la célula, en la que el valor del potencial se hace menos electronegativo, incluso llegando a valores positivos en las células auriculares, ventriculares, en las células del haz de His y en las de Purkinje [41, 43-45].

En las células de todas estas zonas del miocardio la fase 0 es rápida y de gran amplitud. Esto se debe a la activación de los canales de sodio voltaje-dependientes, que permiten la entrada rápida de Na^+ (I_{Na}) al interior de la célula, revirtiendo el valor del potencial a valores positivos en aproximadamente 1 ms. Cuando el potencial de membrana se aproxima al potencial de equilibrio para el Na^+ (aproximadamente a $+30$ mV), la corriente rápida de Na^+ se inactiva [41, 43-45]. En esta fase, también interviene (pero en un modo menor) el intercambiador Na^+/Ca^{2+} en su modo inverso.

1. Introducción

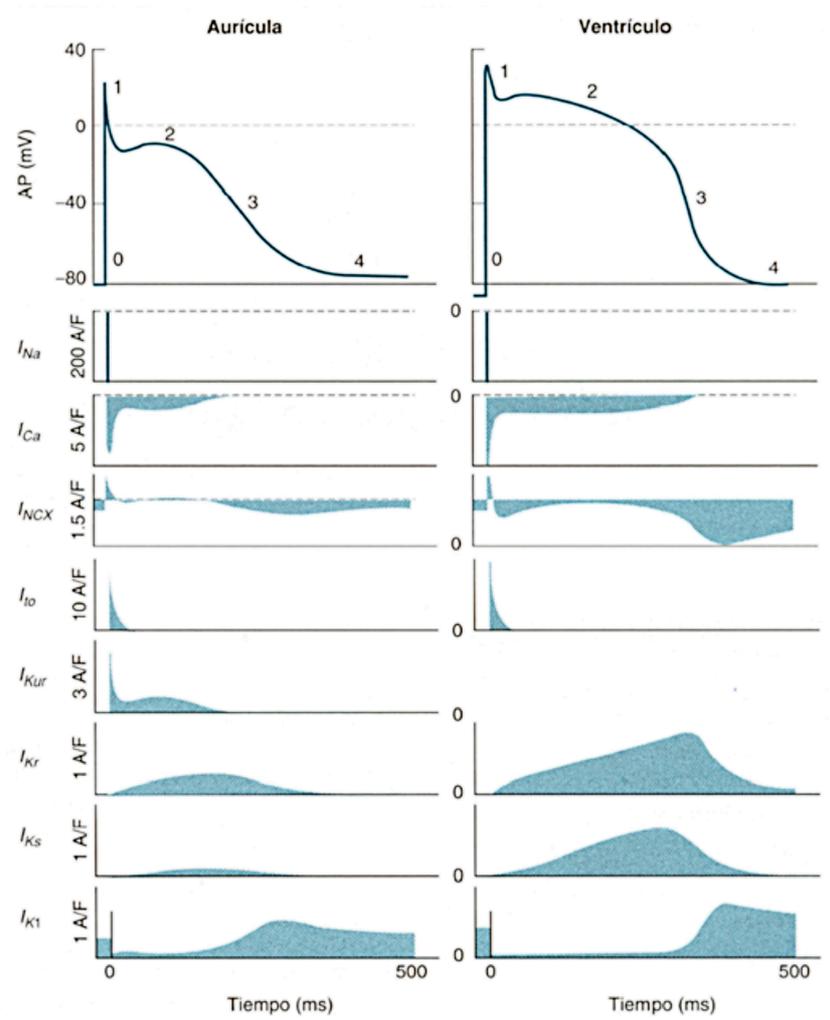


Figura 1.5. Fases del potencial de acción y de reposo cardíaco y corrientes implicadas en las células auriculares (izquierda) y ventriculares (derecha) [46].

A continuación, tiene lugar la fase de repolarización rápida, debida a la inactivación de la I_{Na} , y a la activación de la corriente transitoria de salida de K^+ (I_{to}), que se inactiva de forma dependiente del tiempo y del voltaje. Esta fase es denominada fase 1 del PA [41, 43-45].

En la fase de meseta del PA, el potencial se mantiene relativamente constante durante unos milisegundos (~ 200 ms en las células ventriculares humanas) y se debe a la activación voltaje-dependiente de la corriente de entrada de Ca^{2+} a través de los canales tipo L ($I_{\text{Ca-L}}$). Esta corriente se activa cuando el potencial de membrana alcanza alrededor de -25 mV y provee una corriente despolarizante que mantiene la meseta contra la acción repolarizante de las corrientes de salida de K^+ a través de los canales lentos de potasio de rectificación tardía, I_{Ks} [41, 43-45]. En el caso de las aurículas humanas y caninas, así como en el corazón de los ratones y de las ratas, existe una corriente adicional, la corriente ultrarrápida de potasio de rectificación tardía (I_{Kur}), que se activa más rápidamente que la I_{K} [8]. Esta fase se denomina fase 2. La corriente debida al intercambiador sodio-calcio $I_{\text{Na,Ca}}$ (3Na^+ hacia el interior, 1Ca^{2+} hacia el exterior en el modo normal, generando una corriente neta de entrada) también juega un papel relevante durante la fase 2 del PA, permitiendo el mantenimiento de la fase tardía de la meseta [47].

En la fase de repolarización (fase 3), los canales de calcio voltaje-dependientes de tipo L se cierran, mientras que los canales lentos de potasio de rectificación tardía (I_{Ks}) permanecen abiertos, lo que origina un cambio hacia valores negativos del potencial de membrana, que permite la apertura de los canales rápidos de potasio de rectificación tardía (I_{Kr}) y los canales de potasio de rectificación interna (I_{K1}). Esta corriente neta positiva hacia fuera causa la repolarización celular. Los canales de K^+ de rectificación tardía se cierran cuando el potencial de membrana recupera un valor de -80 a -85 mV, mientras que los canales de K^+ de rectificación interna (I_{K1}) seguirán activos durante toda la fase 4, contribuyendo a mantener el potencial de membrana en reposo [41, 43-45].

El intercambiador Na^+/H^+ regula el pH intracelular mediante el transporte de protones al exterior de la célula, intercambiándolos por un flujo de Na^+ hacia el interior de la célula, reduciendo el gradiente establecido por la

1. Introducción

bomba Na^+/K^+ (responsable de preservar los niveles iónicos intracelulares, transportando iones de K^+ hacia el interior de la célula e iones Na^+ hacia el exterior de la misma).

Existe una obvia relación entre el PA y el registro electrocardiográfico, o electrocardiograma (ECG), obtenido con electrodos situados sobre la superficie corporal (figura 1.6).

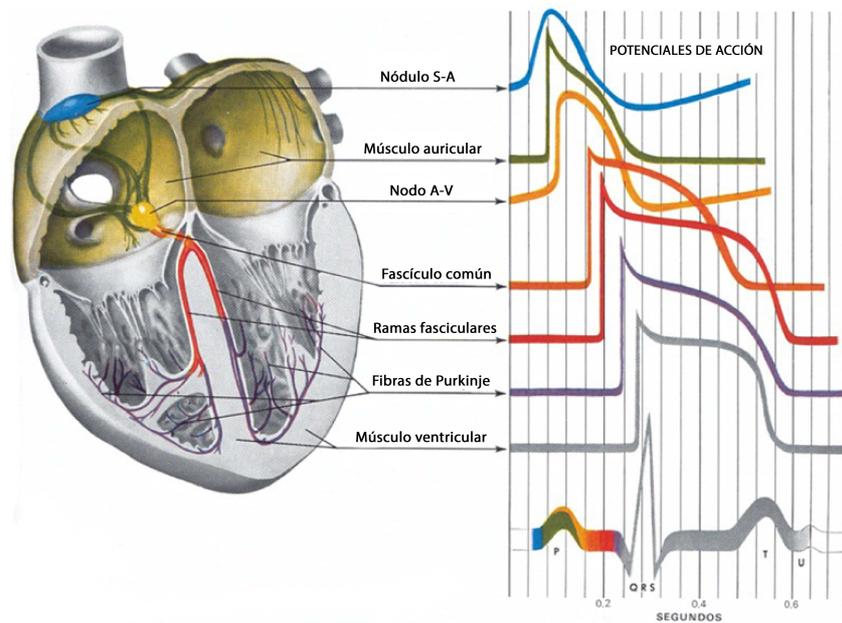


Figura 1.6. Relación temporal entre los PA en las diferentes regiones del corazón y la señal de ECG. Los PA están desplazados en el tiempo para reflejar la secuencia temporal de la propagación[48].

En la figura 1.6, pueden diferenciarse claramente las ondas constitutivas de un ECG (onda P, complejo QRS y onda T). La onda P (contracción auricular y fase de llenado ventricular tardío) es la representación del inicio de la excitación del nodo SA, la conducción sinoauricular, el inicio de la despolarización auricular, la llegada de la onda al nodo AV y la completa despolarización auricular. El segmento PR coincide con el

paso del impulso desde el nodo AV hacia el haz de His y luego a las fibras de Purkinje. El complejo QRS representa la despolarización ventricular. Los ventrículos siguen contraídos hasta después de que se haya producido la repolarización, es decir, hasta el final de la onda T [43].

1.1.4 Excitabilidad de la célula. Refractoriedad miocárdica

El periodo refractario es el intervalo de tiempo durante el cual la célula cardíaca es inexcitable o sólo puede ser excitada aplicando intensidades de corriente superiores a las necesarias cuando la célula se encuentra en reposo. A lo largo del PA se produce una variación de la excitabilidad del miocardio, distinguiéndose varios periodos de tiempo con diferente excitabilidad (figura 1.7). West [49] describió los periodos expuestos a continuación.

El período refractario absoluto (PRA) puede determinarse en la célula aislada y corresponde a un estado de inexcitabilidad total. Constituye el intervalo de tiempo durante el cual la célula no puede ser reexcitada por un estímulo externo, con independencia de la intensidad eléctrica utilizada. Por tanto, el estímulo no es capaz de producir una respuesta no solamente propagada, sino tampoco local. En las redes celulares, el PRA no puede determinarse con exactitud debido a los diferentes tiempos de recuperación de las diversas células en la red y generalmente, se determina el periodo refractario efectivo (PRE).

El período refractario efectivo (PRE) incluye el periodo refractario absoluto y aquel con respuestas generadas no propagadas. Es decir, durante este intervalo de tiempo puede producirse una respuesta local si se estimula con intensidad de corriente supraumbral, pero no se puede generar un PA propagado que transmita el impulso a través de toda la red celular. Éste termina cuando aparecen respuestas propagadas.

1. Introducción

El período refractario relativo (PRR) empieza al final del PRE y constituye el intervalo de tiempo tardío en el PA durante el cual puede generarse un potencial de acción propagado pero con un estímulo de intensidad aumentada.

Se denomina periodo refractario funcional (PRF) de la fibra, al intervalo más corto que separa dos respuestas normalmente propagadas.

En fibras de Purkinje y bajo ciertas condiciones en músculo cardíaco de trabajo, hay un periodo breve de tiempo, al final de la repolarización, en el cual las células son más excitables que en reposo: periodo supernormal (PSN). Durante este periodo, con un mínimo estímulo despolarizante, se puede iniciar un PA propagado.

El periodo de recuperación total (PRT) constituye el intervalo de tiempo desde el comienzo del PA hasta el final del periodo supernormal.

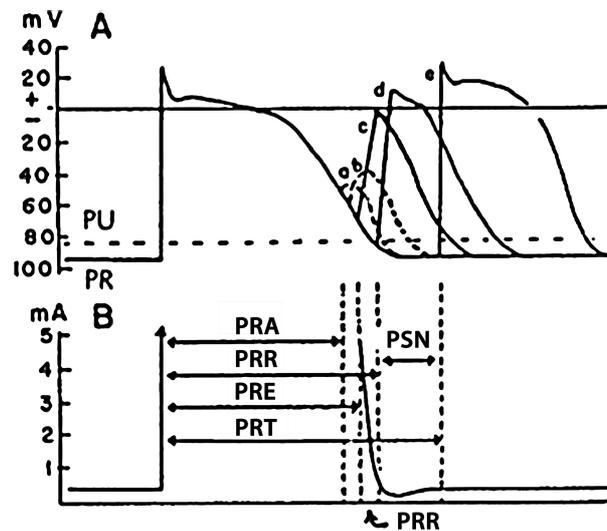


Figura 1.7. A) PA de membrana normal y respuestas a una serie de estímulos aplicados durante y el final de la repolarización y después del PA. B) Duraciones aproximadas del periodo refractario absoluto (PRA), periodo refractario total (PRT), periodo refractario efectivo (PRE), periodo de supernormal (PSN) y periodo refractario relativo (PRR) [10].

A diferencia de lo que ocurre en el músculo esquelético, la morfología en meseta del PA de las células cardíacas asegura un PRA mucho más amplio. Este hecho tiene una proyección funcional, que es impedir su tetanización, es decir que vuelva a ser reexcitada antes de haber finalizado su contracción, lo que provocaría la detención de su trabajo como bomba impulsante-aspirante.

La refractariedad cardíaca queda determinada, en gran medida, por los canales de calcio tipo L y por los canales rápidos de sodio voltaje-dependientes.

Así, durante todo el tiempo que el potencial de membrana permanece a niveles mayores de -60 mV (~ 200 ms), los canales rápidos de sodio voltaje-dependientes permanecen inactivados, requiriendo un periodo de recuperación, no pudiéndose dar una nueva despolarización [50]. Durante este intervalo de tiempo, el potencial de membrana se mantiene relativamente constante y a niveles mayores de -60 mV (figura 1.8), y para ello, es fundamental la participación de los canales de calcio tipo L, que a diferencia de los canales rápidos de sodio, presentan una cinética de inactivación mucho más lenta [41, 43].

Al avanzar la repolarización, cuando el potencial de membrana disminuye de -60 a -70 mV, como se ha comentado, puede producirse un PA propagado. A estos valores, la tasa de movimiento de entrada de Na^+ es tan lenta que es necesaria una intensidad de corriente mucho mayor para que ésta alcance la suficiente rapidez para generar el PA, que será de menor voltaje. Además, existe un movimiento de salida de iones de K^+ a través de la membrana celular durante la repolarización, el cual tiende a contrarrestar los efectos de la corriente de entrada de Na^+ [41, 43].

1. Introducción

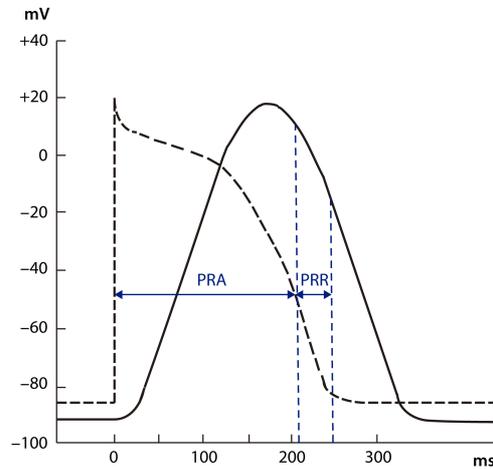


Figura 1.8. Relación temporal entre el PA y la curva de contracción de los miocitos [43].

1.1.5 Acoplamiento excitación-contracción

El músculo cardíaco es de tipo estriado. Está compuesto por un conjunto de células o fibras cardíacas dispuestas en un entrelazado unidas entre sí, formando un sincitio. Éstas a su vez están compuestas por un conjunto de miofibrillas, y éstas por un conjunto de miofilamentos. En el sarcoplasma que rodea a las miofibrillas también hay un extenso retículo, denominado retículo sarcoplásmico, cuya característica principal es que contiene iones Ca^{2+} que son parcialmente liberados al sarcoplasma cuando la célula se excita. Entre una célula y otra se encuentran los discos intercalares, formando uniones comunicadas para la difusión de iones.

Estos miofilamentos son de dos tipos: filamentos gruesos compuestos de miosina y filamentos finos compuestos principalmente de actina. Ambos componen la unidad estructural y funcional básica para el proceso de la contracción: el sarcómero, ya que el acortamiento de dicha unidad es el que lleva a la contracción miocárdica. El sarcómero se sitúa entre dos finas particiones denominadas discos Z, a los cuales se une uno de los extremos del filamento de actina (figura 1.9) [51]

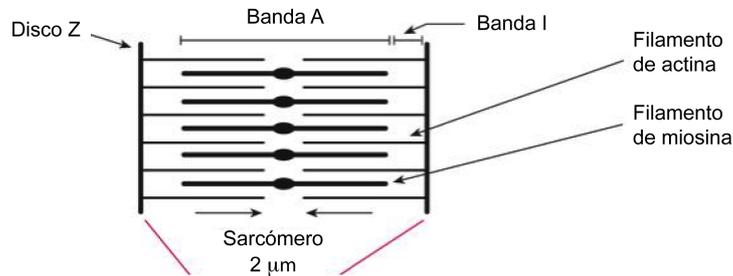


Figura 1.9. Representación esquemática de la organización de los componentes de un sarcómero.

Cada filamento grueso se compone de ~400 moléculas de miosina, que es una proteína formada por dos cadenas ligeras que forman la cola o porción alargada y dos cadenas pesadas que forman la cabeza o porción globular (figura 1.10). Esta última presenta actividad ATPasa, que proporciona la energía necesaria para el proceso de contracción a partir de la hidrólisis del ATP.

Cada filamento fino se compone de varias proteínas: actina, compuesta por dos cadenas dispuestas en doble hélice; tropomiosina, que actúa de esqueleto e inhibe la interacción entre actina y miosina; y troponina, proteína reguladora del proceso de contracción, uniéndose a la tropomiosina y a la actina a intervalos regulares. La troponina tiene tres subunidades: troponina T que se une a la tropomiosina, troponina C que tiene una gran afinidad por los iones calcio y troponina I que tiene una función inhibitoria [41, 49]. El complejo troponina-tropomiosina tiene un papel fundamental en el inicio de la contracción. Además, cada molécula de actina tiene un punto de unión (punto activo) para una cabeza de miosina (figura 1.10).

En estado de reposo, los puntos activos están bloqueados por el complejo troponina-tropomiosina, por lo que la interacción entre la actina y la miosina es inhibida (figura 1.10.a).

1. Introducción

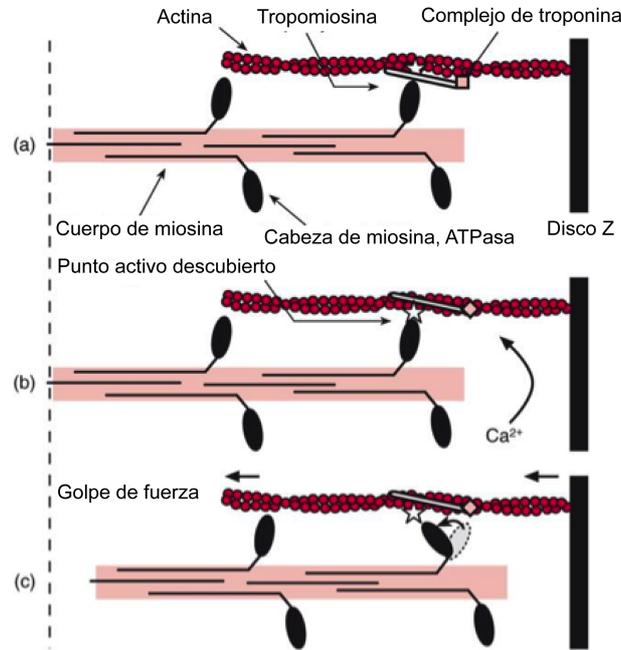


Figura 1.10. Fases del ciclo de puentes actina-miosina. (a) Reposo: los puntos activos de la actina (estrella blanca) están bloqueados por la tropomiosina (barra blanca). (b) El Ca^{2+} desplaza el complejo troponina-tropomiosina, quedando así libres los puntos activos de la actina. Esto permite que la cabeza de miosina forme el puente cruzado con la actina. (c) La flexión de la cabeza de miosina desplaza el filamento de actina y el disco Z hacia el centro del sarcómero. A continuación, la cabeza se separa y se vuelve a unir a lo largo del filamento de actina (modificado de [51]).

Ante la llegada del estímulo eléctrico (potencial de acción) a la membrana de la fibra miocárdica, éste se propaga al interior de la fibra a través de sistema transversal de túbulos (túbulos T). Los túbulos, al igual que la membrana, poseen canales de Na^+ y Ca^{2+} y por tanto transmiten el impulso eléctrico rápidamente hacia el interior de la fibra, produciendo liberación de iones calcio al sarcoplasma a través de los canales de calcio dependientes de voltaje (Ca^{2+} tipo L) del sarcolemma (membrana). El calcio que entra a la célula activa a continuación los canales de liberación de calcio en la membrana del retículo sarcoplásmico, denominados receptores de rianodina, y situados en las regiones del retículo sarcoplásmico cercanas a los túbulos T [51]. Esta

activación permite por tanto la liberación de calcio del retículo sarcoplásmico al sarcoplasma (liberación de calcio inducida por el calcio). Existe entonces un aumento transitorio del Ca^{2+} intracelular, el transitorio de calcio (figura 1.11, parte izquierda). Los transitorios de calcio (CaT) son eventos espacio-temporales de la concentración de calcio citosólico que siguen al estímulo [52].

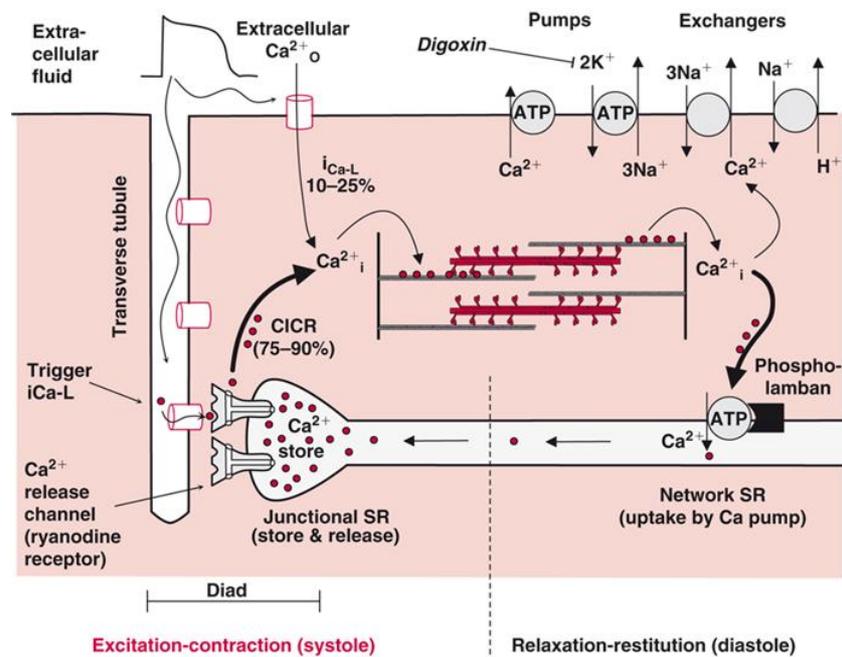


Figura 1.11. Ciclo del calcio durante la sístole (izquierda) y durante la diástole (derecha). SR: retículo sarcoplásmico; CICR: liberación de calcio inducida por calcio [51].

El calcio citoplasmático se une a la troponina C, causando un cambio conformacional que origina un desplazamiento del complejo troponina-tropomiosina: queda así libre el punto activo de la actina, lo que permite que la cabeza de miosina interactúe con la actina, formando lo que se conoce como puente cruzado (figura 1.10.b).

1. Introducción

La cabeza de miosina (función ATPasa) hidroliza el ATP en ADP y fosfato inorgánico, y la energía liberada redirecciona (cambiando la configuración) la cabeza de miosina dirigiéndola hacia el brazo del puente cruzado, arrastrando con ella el filamento de actina hacia el centro del sarcómero (figura 1.10.c). Inmediatamente después del desplazamiento, la cabeza se separa automáticamente del punto activo y recupera su dirección extendida. A su vez, el ADP y el fosfato liberados permitirán la unión de una nueva molécula de ATP. La escisión de esta molécula nueva de ATP dará comienzo a un nuevo ciclo, si se mantiene alta la concentración de calcio intracelular. De esta manera, el proceso se realiza una y otra vez (ciclos de puentes de actina-miosina o ciclos de puentes cruzados), acortando progresivamente el sarcómero, hasta que los filamentos de actina hayan desplazado los discos Z hasta los extremos de los filamentos de miosina. La suma espacio-temporal del deslizamiento longitudinal entre todos los filamentos de actina y miosina constituye el proceso contráctil [51].

En el cese de la contracción muscular, se produce la desunión de los iones Ca^{2+} de la troponina C y por tanto su liberación. El calcio citoplasmático es recapturado activamente por el retículo sarcoplásmico mediante la bomba de calcio ATPasa, regulada por la proteína *fosfolambán* y pequeñas cantidades son expulsadas de la célula miocárdica mediante el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (modo normal) y por bombas de calcio del sarcolema que trabajan contra el gradiente de concentración de calcio y consumen ATP (figura 1.11, parte derecha) [51]. El intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ también es importante ya que introduce 3 iones Na^+ por cada ion Ca^{2+} que expulsa, por lo que el interior de la célula tiende a hacerse más positivo (despolarización) durante la extrusión del Ca^{2+} . En un potencial de acción normal, interviene principalmente en alargar la repolarización, pero veremos el funcionamiento de dicho intercambiador cuando existe un incremento de la concentración intracelular de calcio ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) o de la concentración intracelular de sodio ($[\text{Na}^+]_i$)

(apartado 1.1.6). El calcio se almacena en el retículo sarcoplásmico hasta la llegada de un nuevo potencial de acción [41].

1.1.6 Modos normal e inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

En su modo normal, el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ extrae Ca^{2+} mediante el intercambio de Ca^{2+} intracelular por Na^+ extracelular. Esta salida de Ca^{2+} compensa la entrada de Ca^{2+} en cada latido y es el principal modo de acción del intercambiador. Sin embargo, el intercambiador también puede trabajar en su modo inverso, provocando la entrada de Ca^{2+} intercambiando Ca^{2+} extracelular por Na^+ intracelular [41].

El intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ sigue la siguiente relación: $3\text{Na}^+:1\text{Ca}^{2+}$, generando una corriente eléctrica I_{NaCa} y jugando por tanto un papel importante en la actividad eléctrica del corazón. Como podemos ver en la figura 1.12.a, para potenciales de membrana negativos con respecto a su potencial de inversión ($E_{\text{NaCa}} = 3E_{\text{Na}} - 2E_{\text{Ca}}$, donde E_{Na} y E_{Ca} son los potenciales de equilibrio de ambos iones, respectivamente), el intercambiador funciona en su modo normal y genera una corriente positiva de entrada. Para potenciales positivos con respecto a E_{NaCa} , el intercambiador trabaja en su modo inverso y genera una corriente positiva de salida [53].

1. Introducción

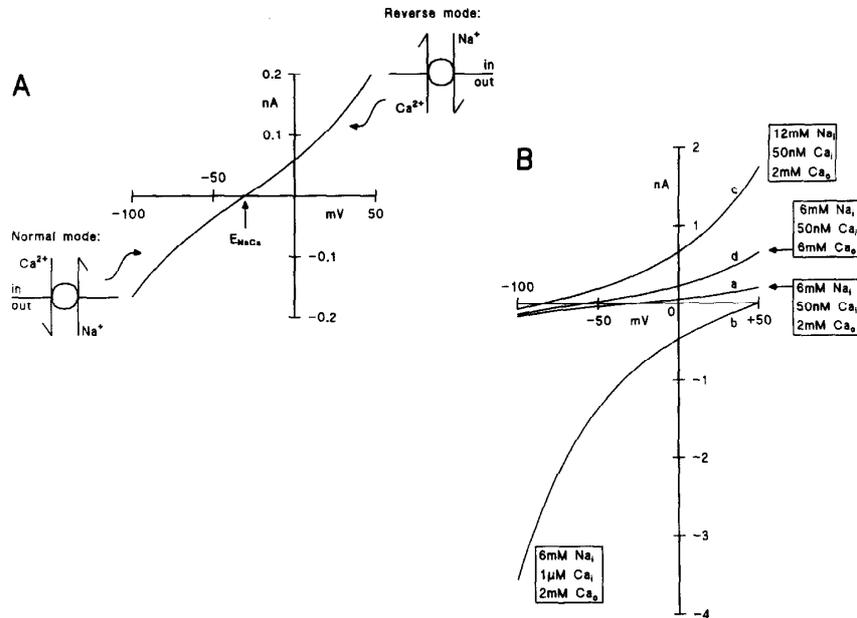


Figura 1.12. Intercambiador Na⁺/Ca²⁺ y corriente I_{NaCa} (obtenida mediante modelización matemática) (A) I_{NaCa} con [Ca²⁺]_i = 50 nM, [Ca²⁺]_o = 2 mM y [Na⁺]_i = 6 mM. (B) I_{NaCa} con varios valores de [Ca²⁺]_i, [Ca²⁺]_o y [Na⁺]_i [53].

Intercambiador Na⁺/Ca²⁺ y PA

En reposo, el potencial de membrana es negativo con respecto a E_{NaCa} e I_{NaCa} es una corriente de entrada (figura 1.13). Durante la fase 0 del PA, el potencial de membrana se hace positivo con respecto a E_{NaCa} e I_{NaCa} pasa a ser brevemente una corriente de salida. Sin embargo, a causa de los transitorios de Ca²⁺ (incremento transitorio de la concentración de Ca²⁺ intracelular), el potencial inverso E_{NaCa} se desplaza hacia valores más positivos, por lo que el potencial de membrana vuelve a ser más negativo que E_{NaCa} y la corriente vuelve a ser de entrada. A medida que [Ca²⁺]_i disminuye, E_{NaCa} se desplaza hacia valores negativos e I_{NaCa} se convierte de nuevo en corriente de salida. Por tanto, durante el PA, existe una componente bifásica de la corriente de entrada I_{NaCa} dependiente del transitorio de Ca²⁺.

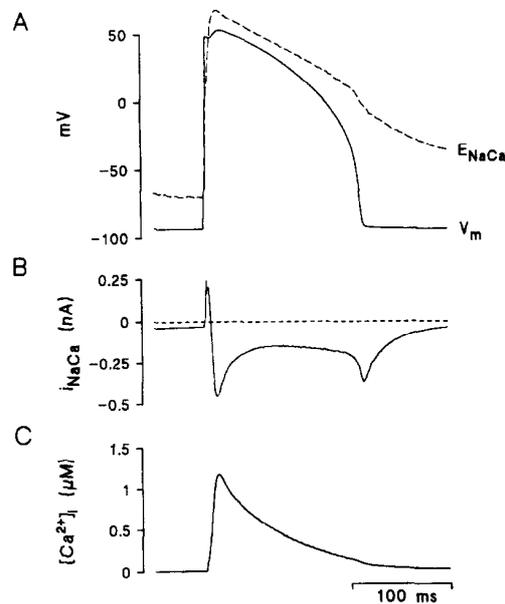


Figura 1.13. Cambios en I_{NaCa} durante el potencial de acción (calculado mediante modelización matemática). (A) Potencial de membrana (línea continua) y E_{NaCa} (línea discontinua). (B) I_{NaCa} . (C) Concentración intracelular de Ca^{2+} [53].

Intercambiador Na^+/Ca^{2+} y concentraciones intracelulares de Na^+ y Ca^{2+}

El modo normal del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (I_{NaCa} entrante) depende principalmente de la concentración intracelular de Ca^{2+} . Cualquier intervención que afecte a la amplitud del transitorio de Ca^{2+} , afectará a la corriente I_{NaCa} [53]. La figura 1.12.b muestra el efecto de un aumento de $[Ca^{2+}]_i$.

El modo inverso del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (I_{NaCa} saliente) depende principalmente de la concentración intracelular de Na^+ . Cuando aumenta $[Na^+]_i$, también lo hace I_{NaCa} , especialmente para los potenciales de membrana más positivos. La figura 1.12.b muestra el efecto de un incremento de $[Na^+]_i$.

1. Introducción

1.1.7 Fuerza contráctil

Cuando se evalúan las propiedades contráctiles del músculo, es importante especificar el grado de tensión del músculo cuando empieza a contraerse, que se denomina precarga, y especificar la carga contra la que el músculo ejerce su fuerza contráctil, que se denomina postcarga. A su vez, es importante conocer los mecanismos intrínsecos del miocardio que regulan la fuerza de contracción.

Conceptos de precarga y postcarga

La precarga depende de la presión telediastólica P , el radio de la cámara ventricular r y el espesor de la pared ventricular w , según la ley de Laplace [51]:

$$precarga = \frac{P \cdot r}{2w} \quad (1.1)$$

Del mismo modo, la postcarga depende de la presión aórtica sistólica P_a , el radio de la cámara ventricular r y el espesor de la pared ventricular w , según la ley de Laplace [51].

Habitualmente, se considera que la precarga es la presión telediastólica en sí misma y la postcarga es la presión aórtica sistólica en sí misma, es decir la presión en contra de la que el ventrículo debe contraerse.

La importancia de los conceptos de precarga y postcarga es que en muchos estados funcionales anormales del corazón o de la circulación, la presión durante el llenado del ventrículo (precarga), la presión arterial contra la que se debe contraer el ventrículo (postcarga) o ambas están muy alteradas respecto a su situación normal [41].

Mecanismo de Frank-Starling

La ley de Frank-Starling (también llamado, mecanismo de Frank-Starling) establece que el corazón posee una capacidad intrínseca de adaptarse a volúmenes crecientes de flujo sanguíneo, es decir, cuanto más se llena de sangre el ventrículo durante la diástole, mayor será el volumen de sangre expulsado durante la subsecuente contracción sistólica (volumen de eyección) y por tanto mayor gasto cardíaco [41]. Esto significa que la fuerza de contracción aumentará a medida que el corazón es llenado con mayor volumen de sangre y ello es consecuencia directa del efecto que tiene el incremento de carga sobre la fibra muscular. Dicho aumento de la carga en el ventrículo, estira el miocardio e intensifica la afinidad que tiene la troponina-C por el calcio [51], aumentando así la fuerza contráctil (ver apartado 1.1.5).

1.1.8 El electrograma

Cuando las potenciales de acción se obtienen directamente sobre el miocardio, los registros se denominan electrogramas, reconociéndose de forma abreviada como EGM. Al igual que ocurre con el ECG, el EGM puede registrarse de forma unipolar o bipolar, aunque en este caso con connotaciones distintas. Así, cuando la señal es amplificada en modo “*single-ended*” –es decir, un electrodo en contacto directo con el miocardio (“electrodo explorador”) y un terminal de referencia más lejano– se reconoce como registro unipolar; si se amplifica en modo diferencial –esto es, un electrodo dual con las puntas de contacto muy cercanas amplificando la diferencia entre ambos– se reconoce como registro bipolar. Todos los electrogramas analizados en este estudio fueron registrados de forma unipolar, y por ello, nos centraremos en la descripción de su registro e interpretación.

1. Introducción

Descripción del registro unipolar y su interpretación

El potencial registrado es extracelular, pero es un resultado directo de las corrientes iónicas transmembrana generadas durante el potencial de acción de las células miocárdicas excitadas. La separación de las cargas eléctricas generadas en la zona situada entre el miocardio excitado –o activo– (cargas extracelulares negativas) y el miocardio en reposo (cargas extracelulares positivas) crea dipolos eléctricos [37]. Un dipolo se define como cargas iguales y opuestas (q), separadas una pequeña distancia (d), y se describe por el momento de dipolo, un vector orientado desde la carga negativa hacia la carga positiva, cuya amplitud es $q \times d$. El campo eléctrico producido en la zona situada entre el miocardio excitado y el miocardio en reposo puede ser descrito entonces por la suma vectorial de todos los dipolos [37]. Este dipolo eléctrico resultante modela el frente de onda de activación (figura 1.14.a).

Durante la excitación cardíaca, la aproximación de este dipolo (frente de activación) hacia un electrodo explorador produce el registro de una deflexión positiva que pasa posteriormente a una deflexión negativa cuando éste se aleja del electrodo, para regresar finalmente a la línea base (figura 1.14.b).

La amplitud del electrograma unipolar es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia entre el dipolo y el punto de registro. Por tanto, los electrogramas unipolares contienen una combinación de eventos eléctricos locales y distantes, siendo la contribución de estos últimos (eventos distantes) decreciente proporcionalmente al cuadrado de la distancia al electrodo explorador. La figura 1.15 muestra dos ejemplos de EGM unipolar, el primero registrado durante el ritmo sinusal y el segundo corresponde a un episodio de fibrilación ventricular.

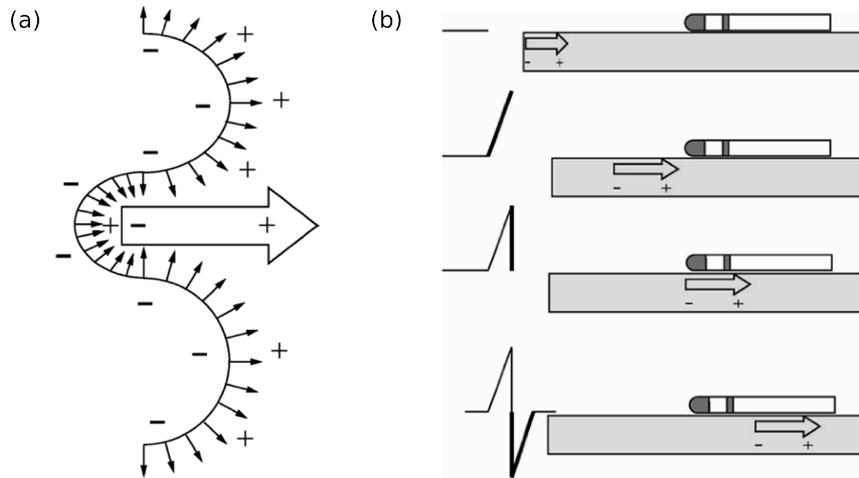


Figura 1.14. Registro unipolar y su interpretación. (a) La separación de las cargas eléctricas generadas en la zona situada entre el miocardio activado y el miocardio en reposo crea dipolos eléctricos (flechas pequeñas y negras). El campo eléctrico producido en la zona situada entre el miocardio activado y el miocardio en reposo se representa por un dipolo eléctrico resultado de la suma vectorial (flecha grande y blanca) de todos los dipolos. (b) Cuando el frente de activación se aproxima al electrodo explorador, se registra una deflexión positiva, y cuando se aleja de éste, se registra una deflexión negativa [37].

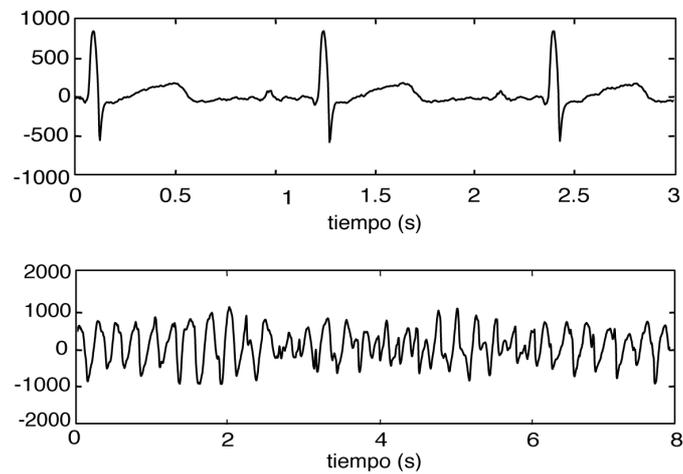


Figura 1.15. Ejemplos de EGM unipolares registrados en ventrículo, en ritmo sinusal (arriba) y durante un episodio de fibrilación ventricular (abajo).

1. Introducción

1.1.9 Detección de la activación

En el análisis del electrograma, es esencial la detección de los instantes de activación, o momentos en los que se produce la despolarización del miocardio en el punto de registro de la señal. Esto es necesario, por ejemplo, en las técnicas cartográficas en donde, a partir de un registro multipunto del electrograma, se construyen mapas de activación en los que se observa el avance de las ondas de despolarización del miocardio y se puede estudiar la dinámica de la activación miocárdica. También es necesario para la obtención de los intervalos entre activaciones consecutivas (frecuencia de la activación miocárdica), de la refractariedad del tejido miocárdico y de la velocidad de conducción.

Como hemos comentado en el apartado anterior, cuando un frente de onda alcanza un electrodo unipolar, se produce una deflexión positiva seguida de una deflexión negativa, dejando como indicador más representativo una fuerte pendiente de bajada. En los registros unipolares, la mayor parte de técnicas de obtención automática de los instantes de activación se basan por tanto en la búsqueda de la máxima pendiente negativa (dV/dt negativa máxima) [36, 54]. Las reglas fundamentales son dos:

1. Búsqueda en cada electrograma de los puntos en los que la pendiente negativa supera un umbral predefinido. Estos puntos se aceptan como posibles puntos de activación.
2. Si dos o más instantes de tiempo cumplen el criterio dentro de una ventana predefinida, el instante con mayor pendiente será el elegido como tiempo de activación local.

Los algoritmos basados en derivadas son simples y rápidos, derivan la señal y la comparan con un umbral de decisión obtenido de la señal original. Los distintos algoritmos varían básicamente en el criterio de elección para el valor umbral, el ancho de ventana y la forma en que la pendiente del

electrograma es calculada (utilizando 2 puntos, 3 puntos o 5 puntos sobre la curva). Algunos además tienen en cuenta un periodo refractario después de cada instante de tiempo en el que se detecta una activación. Otros utilizan un umbral para la pendiente (de -0,2 a -2,5 mV/ms) en relación con las pendientes medidas en cada electrograma analizado [37].

La principal controversia de este tipo de algoritmos es la elección del valor óptimo del umbral de pendiente ya que se escoge por ensayo y error dependiendo de las características de la señal sin tener un método de selección del mismo [36]. El problema básico consiste en distinguir la actividad local (pendiente negativa elevada) de la actividad distante sin actividad local (asociada con una pendiente menor).

Existen igualmente algoritmos de detección basados en la transformada wavelet continua (CWT), más robustos frente al ruido y a los cambios de la línea base y artefactos [37]. No obstante, en esta investigación los electrogramas (tomados directamente sobre la superficie epicárdica) no presentaban en su mayoría ruido de alta frecuencia ni artefactos de movimiento. Por tanto, los instantes de activación se han determinado de forma semiautomática aplicando un algoritmo de detección basado en derivada y modificando manualmente dichas detecciones, añadiendo o eliminando marcas en el registro, teniendo presente las activaciones inmediatamente anterior y posterior detectadas en el electrodo, así como las detectadas en los puntos de registro adyacentes (ver apartado 1.5.2 y 2.2.3.2) [55].

1.1.10 Morfología del EGM unipolar

En la morfología de los electrogramas unipolares se codifica gran parte de la actividad del corazón, lo que permite llegar a importantes conclusiones en diferentes condiciones fisiológicas y patológicas.

1. Introducción

El electrograma ventricular, de forma genérica, está compuesto por la contribución de dos tipos de eventos, los eventos eléctricos de campo cercano y los eventos eléctricos de campo lejano [56]:

- Eventos eléctricos de campo cercano: son las contribuciones al electrograma por parte de la despolarización y repolarización ventricular (figura 1.16).
- Eventos eléctricos de campo lejano: son las contribuciones al electrograma por parte de la despolarización (figura 1.16) y repolarización auricular.

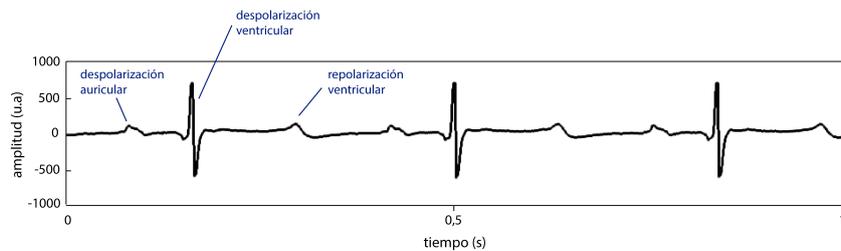


Figura 1.16. Morfología de un EGM unipolar correspondiente a un ritmo sinusal (amplitud en unidades arbitrarias).

La despolarización auricular indica el inicio del ciclo cardíaco. La onda correspondiente a la despolarización de la cámara ventricular es la parte más amplia del electrograma. Su periodicidad (así como su inversa, la frecuencia) se utiliza para determinar la longitud de ciclo y como identificador de posibles arritmias. En base a ello, un ciclo muy lento será clasificado como bradicardia, un ciclo muy rápido será clasificado como taquicardia y un trazado desorganizado y caótico con ciclos muy rápidos será clasificado como fibrilación.

1. Introducción

En la presente investigación, tienen especial protagonismo determinados parámetros cuya determinación se realiza sobre el electrograma, éstos son:

- en FV, los intervalos entre dos despolarizaciones ventriculares consecutivas, cuya determinación se ha descrito en el apartado anterior,
- en FV, la velocidad de conducción, a partir de la identificación de los instantes de activación en dos puntos distintos producidos por un mismo frente de onda, y
- en FV, los patrones de activación, y a partir de los mismos la complejidad de los mapas de activación.

El interés y justificación de la utilización de todos estos parámetros se detalla en el apartado 1.5. En el apartado 2.2.3 se concreta su determinación.

1. Introducción

1.2 Estiramiento miocárdico

El estiramiento miocárdico está presente en diferentes situaciones clínicas caracterizadas por sobrecarga de volumen o de presión auricular o ventricular [2-5]. También está presente en situaciones en las que existen anomalías de la contractilidad regional producidas por la isquemia miocárdica, especialmente en la zona limítrofe entre el miocardio isquémico y el miocardio normal o entre el tejido cicatrizado y el miocardio normal [4, 6, 7].

El estiramiento miocárdico modifica las propiedades electrofisiológicas y la actividad mecánica de los cardiomiocitos [8].

1.2.1 Efectos mecánicos producidos por estiramiento miocárdico

Los efectos mecánicos consisten en un incremento rápido (inmediato, atribuido al mecanismo de Frank-Starling) seguido de un incremento lento –*slow force response* (SFR)– de la fuerza contráctil [9, 26, 28, 57]. La SFR es el equivalente *in vitro* del “efecto Anrep”, descrito en 1912 en preparaciones *in vivo* y que consiste en un mecanismo por el cual el corazón se adapta a un incremento abrupto de la postcarga, inmediatamente después de que el mecanismo de Frank-Starling haya tenido lugar [11, 51].

El incremento rápido (primera fase) está relacionado con un incremento en la sensibilidad de los miofilamentos al Ca^{2+} , mientras que la SFR (segunda fase) se ha asociado con un incremento paralelo de la amplitud de los transitorios de Ca^{2+} (incremento transitorio de la concentración de Ca^{2+} intracelular) [9-11, 27, 28] (figura 1.17).

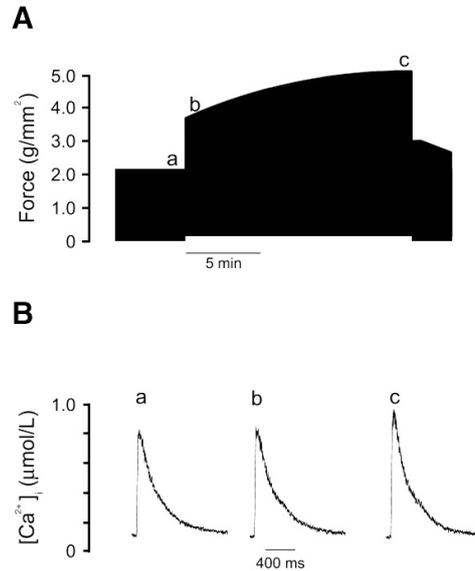


Figura 1.17. Efecto del estiramiento en la fuerza contráctil (A) y en los transitorios de Ca^{2+} (B) en un músculo papilar. El estiramiento produce un incremento inicial (rápido) de la fuerza contráctil (a-b, panel A), que no requiere de un aumento de los transitorios de Ca^{2+} (a y b, panel B). A continuación, se produce un incremento progresivo de la fuerza durante los 10-15 minutos siguientes, la SFR (b-c, panel A), debido a un incremento de los transitorios de Ca^{2+} (c, panel B) (modificado de [27]).

Este incremento lento de la fuerza que sigue al estiramiento, y que se relaciona con el incremento del Ca^{2+} intracelular, ha sido objeto de estudio de varios trabajos, que han clarificado de forma gradual los mecanismos que intervienen en el proceso [10, 11, 24, 27-29, 58, 59].

En la célula cardíaca, la mayor entrada de Ca^{2+} se produce a través de los canales de Ca^{2+} tipo L. Sin embargo, no existe ninguna evidencia de que estos canales contribuyan al incremento de los transitorios de Ca^{2+} durante la SFR [Hongo K 1996-60, Calaghan 2003-16].

Por otra parte, para explicar este efecto, se ha utilizado frecuentemente la apertura de los canales activados por estiramiento (SAC) [16], permeables al Na^+ y al Ca^{2+} [61]. Se ha sugerido que la apertura de

1. Introducción

estos canales es un posible mediador de los cambios inducidos por el estiramiento en los transitorios de Ca^{2+} . Sin embargo, varios estudios han observado que la eliminación de la permeabilidad al Ca^{2+} de dichos canales no tiene efecto sobre los transitorios de Ca^{2+} , mientras que la eliminación de la permeabilidad al Na^+ sí que los reduce [18, 24]. Por tanto, la entrada directa de Ca^{2+} a través de los SAC no parece incrementar directamente la amplitud de los transitorios de Ca^{2+} durante el estiramiento. Se ha descrito por tanto un modo indirecto del incremento del transitorio de Ca^{2+} , secundario al incremento de la concentración de Na^+ intracelular ($[\text{Na}^+]_i$) que se produce en el estiramiento [11, 18, 24–26, 29, 58] (figura 1.18).

Este hecho se explica del siguiente modo: el incremento de $[\text{Na}^+]_i$ conduce a la activación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en su modo inverso ($\text{Ca}^{2+}_{\text{in}}-\text{Na}^+_{\text{out}}$, ver apartado 1.1.6), incrementando la entrada de Ca^{2+} y consecuentemente el transitorio de Ca^{2+} . El incremento de $[\text{Na}^+]_i$ es capaz de desplazar el potencial inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ hacia valores más negativos, permitiendo así el funcionamiento del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ durante una mayor fracción de tiempo del potencial de acción [28]. Por otro lado, el incremento de $[\text{Na}^+]_i$ reduciría la salida de Ca^{2+} a través del funcionamiento del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en modo normal durante la diástole, provocando una acumulación de Ca^{2+} intracelular [28]. En resumen, el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ interviene en el incremento de Ca^{2+} intracelular producido durante el estiramiento. De hecho, son numerosos los estudios que han comprobado la participación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. En estos trabajos, la inhibición del modo inverso del intercambiador producía un decremento en la respuesta inotrópica lenta al estiramiento y en la magnitud de los transitorios de Ca^{2+} [11, 26, 27, 58].

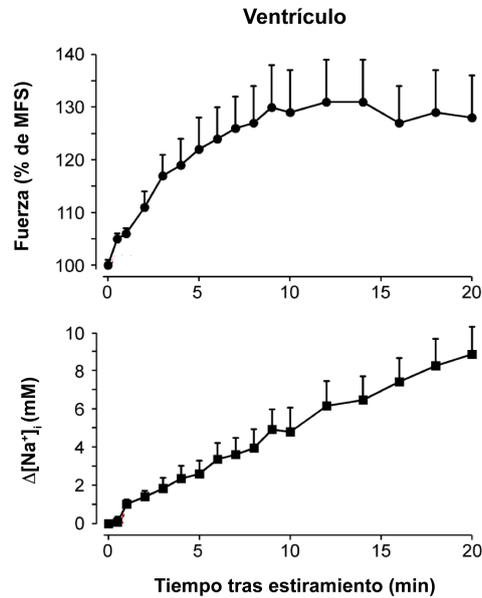


Figura 1.18. Cambios inducidos en la $[\text{Na}^+]_i$ durante la SFR en el miocardio ventricular. Abreviaturas: MFS = valor de la fuerza alcanzado debido al mecanismo de Frank-Starling (modificado de [10]).

Sin embargo, en cuanto a los mecanismos que intervienen en el incremento de la entrada de Na^+ durante la SFR, existe una mayor controversia. Diversos autores atribuyen este aumento a los SAC [18, 24, 29], mientras que otros estudios han demostrado que el mecanismo responsable es la activación del intercambiador Na^+/H^+ , ya que su inhibición disminuye o anula la respuesta lenta al estiramiento [10, 24, 58, 59].

En la activación del intercambiador Na^+/H^+ y la consecuente activación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, se han implicado mecanismos autocrinos/paracrinos que engloban la liberación local de angiotensina II y de endotelina [11, 27]. La cadena de eventos puede observarse en la figura 1.19. El estiramiento miocárdico provoca la liberación de angiotensina II que, a través de la estimulación de los receptores tipo 1 de angiotensina II (AT_1), desencadena la liberación/formación de endotelina (ET). La endotelina activa

1. Introducción

los receptores tipo A de ET (ET_A), y a través de ellos estimula la actividad del intercambiador Na^+/H^+ [11, 26, 27]. El incremento de $[Na^+]_i$ activará el modo inverso del intercambiador Na^+/Ca^{2+} ($Ca^{2+}_{in}-Na^+_{out}$), incrementando la entrada de Ca^{2+} y consecuentemente el transitorio de Ca^{2+} .

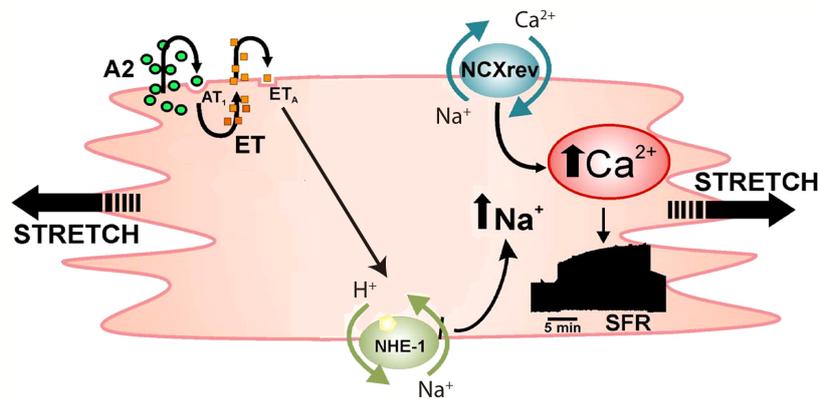


Figura 1.19. Representación esquemática de la cadena de eventos desencadenada por el estiramiento miocárdico. El estiramiento miocárdico promueve la liberación de angiotensina II que a través de la estimulación de los receptores AT_1 , induce la liberación/formación de ET. ET estimula la actividad del intercambiador Na^+/H^+ , a través de los receptores ET_A . El aumento de $[Na^+]_i$ favorece la acumulación de Ca^{2+} intracelular a través del intercambiador Na^+/Ca^{2+} funcionando en su modo inverso (modificado de [11]).

Sin embargo, diversos estudios han considerado la respuesta inotrópica independiente de mecanismos autocrino/paracrinos con liberación secuencial de angiotensina II y de endotelina y activación de los receptores AT_1 y ET_A [10, 58]. Estos trabajos atribuyen el incremento de la entrada del Na^+ a la estimulación directa, mediada mecánicamente por el estiramiento, de la actividad del intercambiador Na^+/H^+ , y no mediante el modo indirecto que implica la liberación de las sustancias antes mencionadas.

1.2.2 Efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento miocárdico

Las propiedades electrofisiológicas de los cardiomiocitos son sensibles al estiramiento mecánico. Este fenómeno se conoce como “feedback” mecanoeléctrico [12-14]. Se define como el proceso por el cual la actividad mecánica modifica la actividad eléctrica de los miocitos, es decir, las propiedades electrofisiológicas del miocardio. Este fenómeno ha sido implicado en el origen de arritmias cardíacas en diferentes situaciones caracterizadas por sobrecarga auricular o ventricular [1, 2, 4, 5, 21] o isquemia miocárdica [6]. En isquemia miocárdica, la región que bordea la zona dañada (menos o nada elástica) está expuesta a un mayor estiramiento y sirve como foco para las arritmias desencadenadas por estiramiento.

Existen numerosos estudios que describen los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento ventricular. Entre ellos, destacamos los siguientes resultados: el estiramiento despolariza el potencial de reposo [12, 14, 22, 62], acorta la duración del potencial de acción [1, 12-14, 16, 18, 22, 63], reduce la refractariedad miocárdica [12, 63, 64], e induce la formación de post-despolarizaciones [19, 20, 22, 65]. La post-despolarización se define como una oscilación del voltaje de membrana que puede producirse tras haberse completado la repolarización (post-despolarización tardía) o durante dicha fase (post-despolarización temprana) [20].

Semejantes cambios en las propiedades electrofisiológicas del miocardio se consideran arritmogénicos [66], y están implicados en la aparición de arritmias cardíacas [2, 3, 5, 21, 23]. Asimismo, se han descrito modificaciones de los patrones de activación miocárdica durante la fibrilación tanto auricular como ventricular por efecto del estiramiento miocárdico agudo [2, 7, 8, 66], que consisten fundamentalmente en una aceleración de la arritmia y un incremento de la complejidad de los patrones de activación,

1. Introducción

efectos relacionados con el acortamiento de la refractariedad y de la longitud de onda del proceso de activación y con el aumento de la dispersión de los periodos refractarios.

1.2.3 Efectos electrofisiológicos e influencia del Ca^{2+}

Los efectos eléctricos y mecánicos no son independientes, y los cambios en las concentraciones de Ca^{2+} intracelular pueden influenciar la actividad eléctrica mediante la modulación de las corrientes dependientes de Ca^{2+} , como por ejemplo la corriente rectificadora de K^+ y la corriente del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ [16, 53].

Un incremento anormal del Ca^{2+} intracelular se ha considerado un mecanismo arritmogénico [68] por diversos motivos. Entre los procesos implicados en la arritmogénesis, se encuentran la actividad focal y la reentrada en sus distintas modalidades [69]. Por un lado, se ha descrito que el incremento del Ca^{2+} citosólico puede acortar la duración del potencial de acción [12, 70], mediante la activación de la corriente de salida de potasio I_{K1} e inhibiendo la entrada de Ca^{2+} transmembrana (acelerando la repolarización). Esto implica un acortamiento de la refractariedad, efecto que favorece la reentrada (apartado 1.3.3).

Por otro lado, la actividad focal puede intervenir tanto en el desencadenamiento como en el mantenimiento de la arritmia y en ella intervienen las post-despolarizaciones, cuya relación con la homeostasis y el manejo del Ca^{2+} en los cardiomiocitos es estrecha [19, 20, 22, 65, 71]. El incremento de Ca^{2+} intracelular conduce a la sobrecarga de Ca^{2+} del RS. El RS, sobrecargado de calcio, puede liberar (de forma espontánea) Ca^{2+} durante la fase temprana de la diástole, produciendo un incremento diastólico de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [19, 20, 51, 65]. Este incremento estimula la expulsión del Ca^{2+} mediante el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ($3\text{Na}^+_{\text{in}}-1\text{Ca}^{2+}_{\text{out}}$) [53]. El flujo neto de

entrada de cargas positivas provocará una oscilación del voltaje de membrana tras el PA (post-despolarización tardía) (figura 1.20). Si la post-despolarización es suficientemente amplia y alcanza el umbral, se producirá un potencial de acción y podrá desencadenar la arritmia [19, 20, 51, 65].

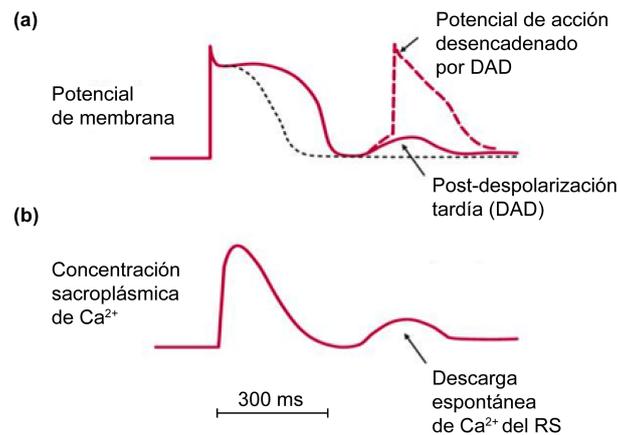


Figura 1.20. La descarga parcial del RS sobrecargado de Ca^{2+} durante la diástole (b) estimula el intercambiador electrógeno $3Na^{+}-1Ca^{2+}$, causando un flujo neto de entrada de cargas positivas y una postdespolarización tardía (DAD, (a)). Si la postdespolarización alcanza el umbral, desencadenará un potencial de acción prematuro (línea discontinua roja) [51]

No obstante, este incremento de Ca^{2+} intracelular se produce en el estiramiento de forma secundaria al incremento de Na^{+} intracelular. Como hemos comentado previamente, el estiramiento mecánico induce un incremento en la entrada de Na^{+} a los miocitos, activando el intercambiador Na^{+}/H^{+} , que provoca la activación del modo inverso del intercambiador Na^{+}/Ca^{2+} , incrementando así la entrada de Ca^{2+} , considerándose este último el principal responsable de cambios en las propiedades electrofisiológicas cardíacas. Una disminución de $[Na^{+}]_i$ conlleva una reducción de la entrada de Ca^{2+} a través del modo inverso del intercambiador Na^{+}/Ca^{2+} , como se ha descrito en diferentes situaciones [72]. La inhibición de este intercambiador

1. Introducción

reduce los efectos electrofisiológicos del estiramiento mecánico, como se ha observado en un estudio previo utilizando un modelo experimental similar al de esta tesis [8]: la reducción de la actividad del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ reduciría la entrada de Ca^{2+} durante el estiramiento y las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas de los miocitos [18, 22, 24].

Por otro lado, se ha asociado la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular con el aumento de la corriente tardía (o persistente) de sodio (I_{NaL}). I_{NaL} se crea cuando los canales de sodio se mantienen abiertos largos periodos de tiempo durante el potencial de acción [73]. Un incremento de I_{NaL} eleva la concentración intracelular de Na^+ y por tanto incrementa $[\text{Ca}^{2+}]_i$ mediante el modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ [74]; y se ha mostrado que la inhibición de dicha corriente atenúa este incremento [75, 76]. Diversos estudios han mostrado que la ranolazina ejerce un efecto protector contra las arritmias cardíacas [77-79]. Sus mecanismos de acción incluyen una reducción de las corrientes I_{NaL} e I_{Kr} [30-32, 79, 80]. No obstante, hay que tener en cuenta que los bloqueantes de la corriente I_{Kr} ejercen un mayor efecto en la duración del PA auricular que en la duración del PA ventricular [79]. El efecto inhibitorio de la ranolazina sobre la I_{NaL} es el responsable del efecto protector del fármaco en relación con la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular, independientemente de la reducción de la entrada de Ca^{2+} a través de los canales de Ca^{2+} o de la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ [30, 31]. La inhibición de I_{NaL} constituye por tanto un posible tratamiento de las arritmias cardíacas asociadas con la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular [31, 32, 77], como lo son las desencadenadas en situaciones en las que está presente el estiramiento miocárdico.

En resumen, podemos decir que existe la posibilidad de modular los efectos electrofisiológicos del estiramiento a partir de sustancias que afecten directa o indirectamente al manejo del Ca^{2+} en los cardiomiocitos.

1.3 Fibrilación ventricular

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

La fibrilación ventricular (FV) es la arritmia cardíaca más grave y la principal arritmia causante de muerte súbita cardíaca, responsable final del 80% de estos casos [81, 82]. La aparición de la FV implica la pérdida de la contracción efectiva del corazón, la anulación del gasto cardíaco y la muerte súbita del sujeto, si no se revierte mediante choques eléctricos en un plazo de breve [41].

Por estas causas, la FV es clínicamente objeto de estudio desde diferentes perspectivas, especialmente en relación con las estrategias encaminadas a prevenir su aparición y plantear algoritmos seguros para su rápida detección y tratamiento, en el contexto de la desfibrilación automática [83].

El campo experimental cobra un papel muy importante en el estudio de la electrofisiología del corazón y ayuda a conocer mejor los mecanismos de aparición y perpetuación de estas arritmias, abriendo nuevas vías para mejorar las pruebas diagnósticas, la prevención y el tratamiento de este tipo de situaciones [8, 84].

1. Introducción

1.3.1 Descripción de la FV

Se trata de una arritmia en la que existe una activación eléctrica desordenada, que se traduce mecánicamente en una contracción ventricular rápida y descoordinada, produciendo una tensión sistólica no efectiva y en consecuencia un bombeo muy reducido o nulo de sangre [85]. El trazado electrocardiográfico se caracteriza por la aparición de una actividad rápida e irregular, con cambios constantes en la morfología, voltaje y frecuencia de los complejos ventriculares, que son completamente aperiódicos e irregulares [41, 85]. La figura 1.21 muestra como ejemplo el ECG real de un corazón humano que ha entrado en FV, mientras que en la figura 1.22 puede observarse un segmento de dos segundos de FV registrado en la superficie epicárdica de un corazón aislado de conejo (en esta especie, la frecuencia es sensiblemente más alta). Los avances en el conocimiento de los mecanismos básicos que determinan su inicio, su perpetuación o su cese son necesarios para intentar progresar en la prevención de la FV o en la efectividad de los procedimientos aplicados para su control.

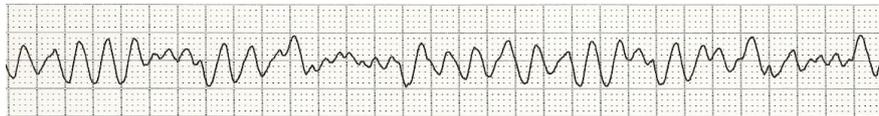


Figura 1.21. Registro del ECG de un corazón humano correspondiente a un episodio de FV, registrado en papel milimetrado a 25 mm/s (obtenido de [86]).



Figura 1.22. Registro del EGM epicárdico correspondiente a un corazón aislado de conejo en FV (la igualdad en la amplitud se debe a que el registro está truncado) (obtenido de [35]).

1.3.2 Perspectiva histórica de la fibrilación ventricular

Las estrategias para la prevención y el tratamiento de la FV pasan por conocer los mecanismos de inicio y mantenimiento de la arritmia. En estudios clásicos, Andreas Vessalius ya se refería a los “movimientos semejantes a gusanos” que ocurrían inmediatamente antes de la muerte en los corazones de animales que él disecaba [84]. La fibrilación ventricular fue descrita por primera vez por Erichsen en 1842 y su registro mediante ECG en humano fue publicado por primera vez en 1912 por August Hoffman [69].

El estudio de la inducción de la FV se remonta al trabajo original de Ludwig y Hoffa en 1850 en el que se utilizaba una fuerte corriente farádica (corriente alterna muy irregular de baja frecuencia) para inducir la FV. Sin embargo, no fue hasta 1940 cuando Wiggers y Wegria establecieron en un trabajo fundamental que la FV podía ser inducida cuando un estímulo prematuro fuerte se aplicaba durante un cierto periodo del ciclo cardíaco. Este periodo, conocido como *periodo vulnerable*, corresponde a una porción de la onda T del electrocardiograma [69], y cae cerca del final del periodo refractario [84]. En 1964, Han y Moe establecieron la importancia de la dispersión del periodo refractario en la inducción de la fibrilación cardíaca [84].

Un importante aspecto relativo a la capacidad para el mantenimiento de la FV una vez instaurada fue la hipótesis de la “masa crítica”, enunciada por Garrey (1914) en el primer estudio sistemático de la relación existente entre la FV y el tamaño del corazón. Esta hipótesis plantea que la dificultad para inducir la FV y la facilidad para la recuperación espontánea una vez inducida la arritmia es mayor cuanto menor es la masa del miocardio. Por debajo de un determinado número de centímetros cuadrados, no era posible el mantenimiento de la FV y por encima de esta superficie era posible el mantenimiento de la misma en una forma de movimiento reentrante de la onda de excitación. Estas aportaciones han sido más recientemente

1. Introducción

confirmadas por diversos autores (Allessie et al. 1973, Allessie et al. 1976, Smeets et al. 1986, citados por [87]).

Mines (1913 y 1914, citados por [87]) propuso que las taquiarritmias de los seres humanos se asentaban en movimientos circulares y predijo la aparición de excitación por mecanismos de reentrada en corazones portadores de vías aurículoventriculares accesorias, como se confirmó con posterioridad. Asimismo, planteó la existencia de un bloqueo unidireccional como factor necesario para la iniciación del proceso reentrante y también observó que la iniciación y el mantenimiento de la reentrada eran dependientes de la velocidad de conducción y del periodo refractario.

Estos estudios asentaron las bases del actual conocimiento de los mecanismos y la dinámica de la FV.

¿Qué tipo de actividad es la que mantiene a la FV? La hipótesis de Moe (1962) plantea la existencia de múltiples ondas pequeñas (*wavelets*) que se producen simultáneamente y son independientes, desplazándose por trayectos al azar y que van cambiando. Este autor propuso que el mecanismo de la fibrilación era diferente al de la taquicardia, afirmando que durante la fibrilación existía una total desorganización de la actividad. La arritmia fue entonces definida como el resultado de una serie de frentes de ondas desplazándose aleatoriamente, cambiando de número y dirección [84]. Moe y Abildskov (1959) probaron que esta arritmia, independientemente de la causa que la originara, podía auto-sostenerse y mantenerse en un estado estable, para lo que se requería la existencia de repolarizaciones no homogéneas en el tejido miocárdico; y en 1964, Han y Moe establecieron la importancia de la dispersión del periodo refractario en la inducción de la fibrilación cardíaca (Moe 1959 y Han 1964, citados por [84]).

Sin embargo, la hipótesis de *wavelets* no se consolidó hasta 1985, con el desarrollo de técnicas de mapeo electrocardiográfico de alta resolución [88].

Actualmente, se plantea si las múltiples *wavelets* son en realidad el resultado de la actividad sostenida de fuentes de actividad reentrante producidas por uno o pocos circuitos y que activan a muy alta frecuencia al miocardio ventricular. Debido a su alta frecuencia, las ondas generadas se fragmentarían, dando así lugar al complejo patrón que caracteriza la FV. Esta idea contrasta con la hipótesis más clásica según la cual el mantenimiento de la fibrilación en los ventrículos implica a un gran número de *wavelets* de activación inestables, cuyos trayectos habitualmente cambian al azar de un ciclo al siguiente, si bien en el proceso de la arritmia puede jugar un papel importante la activación focal [89, 90]. Respecto a las investigaciones que plantean la existencia de una o pocas fuentes de actividad reentrante (rotores) cabe mencionar a Jalife y Gray 1996 y Jalife et al. 1998, citados por [84].

1.3.3 El fenómeno de reentrada como base de la FV

Durante la actividad eléctrica normal, un único impulso generado en el nodo sinusal continúa propagándose hasta activar todo el corazón. El impulso se propaga dando lugar a una onda de activación que despolariza los tejidos adyacentes excitables y va dejando atrás tejido inexcitable, es decir en periodo refractario. Cuando todas las fibras se han despolarizado y se encuentran en una fase completamente refractaria, el impulso se extingue. Hasta que no se genere un nuevo impulso sinusal, no se volverá a activar el corazón. Sin embargo, en ciertas circunstancias, la activación puede persistir sin extinguirse en una zona del corazón, durante el tiempo suficiente para que el tejido vecino recupere su excitabilidad (superando por tanto el periodo refractario), con lo que el mismo impulso vuelve a reexcitar parcial o totalmente el corazón. Este mecanismo se conoce como reentrada [91].

Para explicar este concepto, consideramos un anillo circular que representa una tira del músculo cardíaco (figura 1.23). En condiciones normales, un impulso originado en un solo punto propaga dos frentes de

1. Introducción

activación en direcciones opuestas que acaban cancelándose mutuamente al producirse su encuentro tras rodear el anillo [92]. Sin embargo, si se genera un área de bloqueo transitorio que interrumpe prematuramente uno de los frentes (y permite que el otro circule retrógradamente por el camino del anterior), entonces se establece un fenómeno de movimiento circular del impulso. El impulso se propaga alrededor del círculo hasta que regresa a la posición de origen. Si este punto se encuentra en periodo refractario, el impulso llegará y se extinguirá, evitando que vuelva a entrar en el circuito (figura 1.23.a).

Sin embargo, si la conducción se enlentece o la refractariedad se acorta, el impulso alcanzará el punto de origen cuando esta zona sea nuevamente excitable y podrá activar de nuevo la región que había sido previamente excitada, manteniéndose así el circuito reentrante (figura 1.23.b).

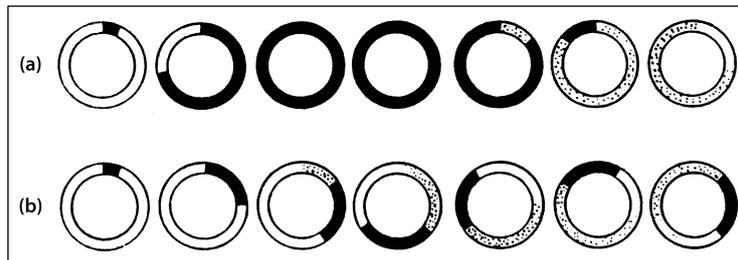


Figura 1.23. Modelo de reentrada. Tejido excitado, refractario, marcado en negro; excitable en blanco; refractario relativo a puntos. (a) Cuando el impulso llega al lugar de origen, éste se encuentra en periodo refractario y el impulso se extingue. (b) Tras el giro, el impulso encuentra siempre tejido excitable: se genera la reentrada (modificado de [91]).

La reentrada puede ocurrir en circuitos definidos anatómicamente tal como ocurre en los pacientes con vías de conducción AV accesorias, o bien en el miocardio auricular o ventricular sin obstáculos anatómicos. Para que ocurra esto, es necesaria la existencia de un grado de heterogeneidad en el tejido (Han y Moe 1964, citado por [84]).

Entre los factores electrofisiológicos que favorecen la reentrada se encuentran por tanto la disminución de la velocidad de conducción y el acortamiento del periodo refractario [Guyton-41], así como la dispersión de la duración del potencial de acción y de la refractariedad [Chattipakorn-69]. Estas circunstancias, unidas a la aparición de un estímulo prematuro, pueden crear un bloqueo unidireccional en el tejido (en zonas de mayor refractariedad), produciendo una reentrada y, finalmente FV [Chattipakorn-69].

1.3.4 Relación de los procesos fibrilatorios con las propiedades electrofisiológicas

Las características de la FV dependen de la duración de la refractariedad ventricular [93] y de la longitud de onda de activación ventricular [94], definida matemáticamente como la distancia recorrida por la onda de activación en el periodo que tarda el tejido en recuperar la excitabilidad, es decir el periodo refractario (longitud de onda = periodo refractario \times velocidad de conducción) (Wiener y Rosenblueth 1946, citado por [84]). Esto es debido, probablemente, a que el tamaño y el número de circuitos reentrantes funcionales está relacionado con la longitud de onda del proceso de activación así como con la duración de la ventana de excitabilidad [95]. El aumento del tamaño de estos circuitos y la consecuente reducción del número de frentes de onda reentrantes simultáneos aumentaría la probabilidad de cese de la FV.

La modificación de las propiedades electrofisiológicas del tejido miocárdico y el análisis de sus repercusiones sobre los patrones de activación miocárdica aportan información útil acerca de los mecanismos que perpetúan la arritmia y posibles mecanismos que favorecen su cese.

1. Introducción

No obstante, el estudio del proceso de activación eléctrica durante la FV reviste especial interés no solamente desde el punto de vista fisiopatológico, sino también por lo que supone de aproximación indirecta al conocimiento de ciertas propiedades electrofisiológicas del miocárdico. La utilización de modelos experimentales en los que se mantiene la perfusión miocárdica, permite abordar el análisis de las características de la arritmia y sus relaciones con las propiedades electrofisiológicas del miocardio ventricular. El estudio de las modificaciones electrofisiológicas durante el estiramiento miocárdico agudo es complejo si se utilizan técnicas electrofisiológicas convencionales como el test del extraestímulo dada la rapidez con la que ocurren estos cambios, mientras que el análisis de los cambios en los patrones de activación durante la FV nos permite observar estas modificaciones [7].

Por último, la utilización de modelos experimentales en los que se mantiene la perfusión coronaria durante la FV permite mantener un estado metabólico adecuado durante el desarrollo de la arritmia, y excluir esta variable a la hora de analizar tanto las características del patrón fibrilatorio como los efectos de diversos fármacos o maniobras sobre el mismo [7, 8, 35, 96].

1.4 Consideraciones metodológicas sobre el análisis de la FV

1.4.1 Estudios basados en trabajos experimentales

Los trabajos experimentales encaminados al estudio de la FV persiguen objetivos muy diversos que abarcan desde el análisis del papel de la isquemia y la necrosis miocárdica [97], hasta las técnicas y procedimientos para conseguir una desfibrilación efectiva [98]. Se han utilizado preparaciones experimentales *in situ* [99], modelos de corazón aislado [8, 33], láminas de tejido miocárdico o preparaciones con cultivos celulares de miocitos [100].

Los estudios planteados han sido numerosos, tales como el análisis de los mecanismos de inicio y cese de la FV [101], la demostración de ventanas excitables (“gaps”) durante la arritmia [102], el papel de la masa miocárdica en la perpetuación del proceso fibrilatorio [103], los efectos desfibrilatorios o protectores de los fármacos [96, 104], los efectos electrofisiológicos del estiramiento miocárdico [7] y la modificación de los mismos mediante fármacos [8] o la eficacia de las técnicas desfibrilatorias [98, 105], entre otros.

En dichos estudios experimentales se precisa registrar la actividad eléctrica del corazón durante el proceso de activación miocárdica. De los electrogramas obtenidos se pueden determinar variables relacionadas con las propiedades electrofisiológicas como la refractariedad, la conducción o el automatismo.

En función de las técnicas de registro y análisis utilizadas, los trabajos experimentales sobre la FV pueden basarse en el análisis de las características del ECG de superficie, de las señales obtenidas con electrodos extracelulares o intracelulares, o con técnicas basadas en procedimientos ópticos. Las técnicas

1. Introducción

cartográficas requieren el registro de la actividad en múltiples puntos simultáneamente.

Para esta investigación se ha encontrado oportuno realizar el estudio de parámetros electrofisiológicos obtenidos a partir de registros extracelulares.

1.4.2 Preparación de origen animal

En el campo de la electrofisiología cardíaca son ampliamente utilizadas las preparaciones experimentales de origen animal. Entre las especies más empleadas se encuentran: oveja, cerdo, conejo, cobaya y ratón (para revisión ver [106]). La extrapolación de dichos trabajos al ser humano debe efectuarse teniendo en cuenta las diferencias interespecies [107, 108].

Nuestro grupo de investigación cuenta con amplia experiencia en la experimentación con conejos. Los recursos materiales (laboratorio, instrumentación) con los que se cuenta están adaptados a dicha especie. Adicionalmente, frente a otras especies más pequeñas como roedores, el conejo presenta una mejor adecuación para realizar estudios de FV, pues permite un mantenimiento de la misma más eficaz [82, 109]. Asimismo, se ha sugerido que los patrones de activación durante la FV en el corazón humano son similares a los del corazón de conejo, mientras que en corazones de otras especies (como perro o cerdo) son más complejos [109].

Por las razones expuestas, la presente investigación se ha llevado a cabo empleando modelos animales obtenidos a partir de conejos de la raza White New Zealand.

1.4.3 Técnicas de cartografía eléctrica

Los procedimientos electro-cartográficos permiten obtener información espacial y temporal sobre la activación miocárdica de una determinada zona durante las arritmias, con la que estudiar su dinámica. Con dicha información se puede realizar el trazado de líneas isócronas que definen los frentes de activación en la zona abarcada por el electrodo (mapas de activación). También pueden ser de interés los mapas de isopotenciales que muestran las zonas con idéntica amplitud de los voltajes en un momento determinado y sus variaciones temporales, o los mapas de isofrecuencias que permiten visualizar la existencia de distintos focos de activación rápida o de dominios caracterizados por una frecuencia local predominante.

Los trabajos experimentales sobre estudios de la dinámica del frente de onda que se publican actualmente encuentran soporte en dos metodologías. La más reciente es la basada en el sistema óptico que emplea sustancias colorantes cuya fluorescencia depende del voltaje, mientras que la clásica o convencional se basa en dispositivos con electrodos multipolares en contacto con el tejido miocárdico. Este tipo de dispositivos resulta de agrupar un conjunto de electrodos individuales, generalmente unipolares, denominados canales, que están regularmente distribuidos conformando una matriz en la superficie de contacto, donde cada canal constituye un punto de registro o exploración.

Aunque la cartografía óptica pudiera parecer *a priori* metodológicamente superior dada la gran resolución obtenida, no está exenta de limitaciones. Dichas limitaciones serían la presencia de artefactos y ruido relacionados con el movimiento de la preparación, la potencial toxicidad de los colorantes, o las alteraciones en la activación y en la contractilidad por el uso de desacoplantes electro-mecánicos [35, 110]. En este sentido, la metodología clásica de electrodos multipolares sigue totalmente vigente, estando exenta de las anteriores limitaciones.

1. Introducción

Durante las últimas décadas, los dispositivos múltiples de registro han evolucionado hasta obtener sistemas de hasta 512 canales, basados en ordenador y con múltiples capacidades cartográficas [111]. Estos sistemas, mediante el registro simultáneo de los electrogramas unipolares o bipolares, han supuesto el soporte metodológico de diversos trabajos sobre la FV, con mayor resolución espacial y temporal, en los que se han objetivado los patrones de activación y la existencia de activación reentrante, tanto en el inicio de la arritmia como durante la evolución de la misma [101, 112-115].

No obstante, la FV ocurre en un medio tridimensional, y aunque existen trabajos en los que se ha abordado su análisis utilizando sistemas tridimensionales [116], la metodología aplicada es compleja y requiere la inserción de electrodos en las paredes ventriculares que pueden alterar el proceso que se analiza.

A pesar de las limitaciones, el análisis del proceso de activación en la superficie de las paredes ventriculares permite describir y conocer con precisión múltiples aspectos del proceso de activación global analizado y caracterizar el tejido miocárdico estudiado. La observación frecuente de patrones de activación con propagación centrífuga desde el interior del área epicárdica abarcada por el electrodo se interpreta como un indicador de las características tridimensionales del proceso fibrilatorio en el miocardio ventricular [112]. La propagación de frentes de activación desde el endocardio hacia el epicardio se traduce en afloramientos del proceso en el área epicárdica analizada, y este fenómeno ocurre con frecuencia al analizar la FV.

Mediante técnicas cartográficas, también se han descrito patrones evidentes de activación ventricular reentrante durante la FV, observando su progresión y cuantificando la incidencia de los mismos [112, 113].

Del mismo modo, se han utilizado estas técnicas para estudiar las propiedades electrofisiológicas del tejido miocárdico, tales como la refractariedad miocárdica y la conducción, y los mecanismos implicados en el desarrollo de alteraciones en el ritmo cardíaco [33, 34, 94].

Asimismo, se ha utilizado técnicas de “mapeo” para estudiar los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento miocárdico (“feedback” mecanoeléctrico) [7] así como la acción de algunos fármacos sobre éstos [8].

Para llevar a término la presente investigación, en la que se pretende estudiar las modificaciones farmacológicas de los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento local miocárdico, mediante el análisis de la activación miocárdica durante la FV, se consideró más indicado el empleo de dispositivos con electrodos múltiples para obtener los registros.

1.5 Análisis de las características de la activación miocárdica y parámetros electrofisiológicos

La activación miocárdica durante la FV se relaciona con los parámetros electrofisiológicos miocárdicos, y estos parámetros se ven modificados por el efecto del estiramiento, alterando a su vez las características de la activación miocárdica. A continuación, se presentan los análisis realizados para caracterizar la activación miocárdica y las propiedades electrofisiológicas miocárdicas.

1.5.1 Análisis espectral: frecuencia dominante y concentración espectral

Cualquier señal continua (como lo es la señal de electrograma fibrilatoria) puede descomponerse, mediante la transformada de Fourier, en una suma de funciones sinusoidales.

$$X(f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) e^{-2\pi f t} dt \quad (1.2)$$

Cada una de las ondas sinusoidales que compone la señal tiene una frecuencia, amplitud y fase específicas, y gracias a la transformada de Fourier, podemos representar la amplitud de la señal para una frecuencia particular (figura 1.24). La frecuencia de la senoide con mayor amplitud se denomina “frecuencia dominante” (FD). Esta onda sinusoidal es a su vez la que mejor aproxima la señal, y la frecuencia dominante permite estimar la frecuencia de activación cardíaca durante la FV (figura 1.24) [37, 117]. El análisis de la FD se ha utilizado en estudios experimentales para detectar cambios en la activación como resultado de diversas intervenciones (p.e., isquemia, estiramiento, fármacos) [7, 8, 115, 118].

Además, la FD de la FV es un parámetro que se correlaciona inversamente con la refractariedad miocárdica, propiedad relacionada con la aparición de arritmias por reentrada y con la perpetuación de las mismas [115].

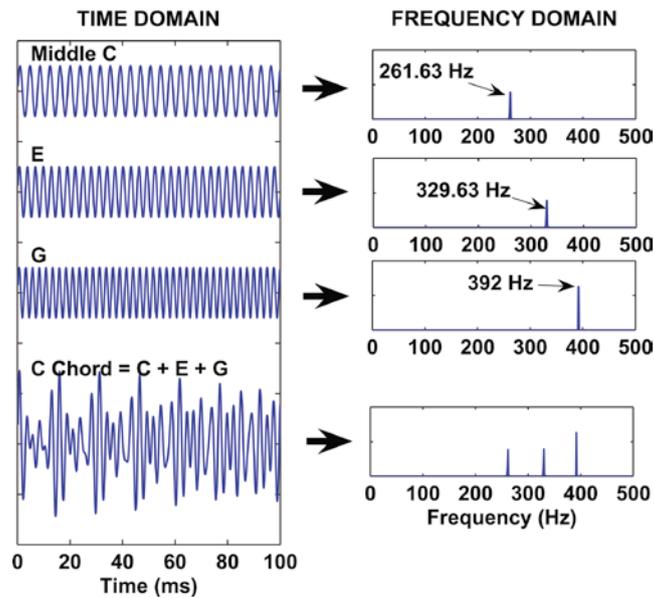


Figura 1.24. Representación en el dominio del tiempo y en dominio de la frecuencia de 3 señales y de la suma resultante. La frecuencia dominante corresponde a la frecuencia de la señal de mayor amplitud [38].

No obstante, en la práctica, debido a las limitaciones ofrecidas por los ordenadores y dispositivos de procesamiento de señal, se emplean algoritmos que utilizan la Transformada discreta de Fourier (DFT), siendo la Transformada rápida de Fourier (FFT) el algoritmo más común.

$$X[k] = \sum_{n=0}^{N-1} x[n] e^{-j\frac{2\pi}{N}kn}, k = 0, \dots, N-1 \quad (1.3)$$

1. Introducción

A partir de la DFT surge el concepto de periodograma, que se utiliza para estimar la densidad espectral de potencia de la señal. Para una señal $x[n]$ el periodograma de L puntos se define como:

$$S(f) = \frac{1}{L} \left| \sum_{n=0}^{L-1} x[n] e^{-j2\pi fn} \right|^2 \quad (1.4)$$

Dado que para calcular el periodograma, calculamos la DFT sobre un periodo de la señal (L muestras), matemáticamente debemos multiplicar la señal por una señal nula fuera del rango de interés y de valor 1 dentro de éste. Esto es lo que se conoce como “enventanar” la señal. Si esta ventana es rectangular, causa discontinuidades en los bordes del segmento y puede modificar el espectro resultante, introduciendo componentes frecuenciales que interfieren en la detección de las frecuencias de interés (fuga espectral). Para compensar este efecto, utilizamos otra ventana arbitraria $w[n]$ de duración L , que atenúa gradualmente los bordes de la señal, obteniendo lo que se denomina periodograma modificado, y se calcula como:

$$S(f) = \frac{1}{LU} \left| \sum_{n=0}^{L-1} x[n] w[n] e^{-j2\pi fn} \right|^2 \quad (1.5)$$

Siendo

$$U = \frac{1}{L} \sum_{n=0}^{L-1} |w[n]|^2 \quad (1.6)$$

El periodograma de Welch suele ser el método de análisis espectral utilizado frecuentemente en el ámbito médico/experimental [38, 39]. Este método permite reducir el ruido en el espectro manteniendo la resolución espectral. El método consiste en realizar el periodograma sobre varios tramos de una misma señal, con solapamiento, para posteriormente ponderarlos y obtener un periodograma final.

El funcionamiento del algoritmo es el siguiente:

- Se divide en K segmentos de longitud L , con un desplazamiento de D puntos. El solapamiento se obtiene como $L - D$.
- Se enventana cada uno de los segmentos con una ventana determinada.
- Se calcula la DFT de cada uno de los segmentos y se obtiene el periodograma de cada uno de ellos.
- Los periodogramas obtenidos se promedian temporalmente, reduciendo así la varianza de las medidas individuales.

Para entender mejor el porqué del algoritmo, imaginemos un caso sin solape ($L = D$). En este caso el número de segmentos K será igual a la longitud de la señal partido por la longitud de los segmentos, N/L . Sin embargo, si utilizamos un solape del 50% ($D = L/2$) entonces $K = 2N/L - 1$. Si bien la longitud de los segmentos sobre los que se calcula cada periodograma se mantiene constante (y por lo tanto la resolución del espectrograma total), al tener más periodogramas que promediar se reduce el ruido causado por la varianza.

Por tanto, la expresión del periodograma de Welch será:

$$S(f) = \frac{1}{K} \sum_{i=0}^{K-1} S_M^i(f) \quad (1.7)$$

siendo $S_M^i(f)$ el periodograma modificado de cada uno de los segmentos, y quedando por tanto la expresión final:

$$S(f) = \frac{1}{KLU} \sum_{i=0}^{K-1} \left| \sum_{n=0}^{L-1} x[n+iD] w[n] e^{-j2\pi f n} \right|^2 \quad (1.8)$$

1. Introducción

Por otro lado, el análisis espectral aporta información sobre la organización o regularidad de la activación miocárdica durante la arritmia. Una señal perfectamente periódica se descompone en una señal sinusoidal con frecuencia igual a la FD y sinusoides adicionales con frecuencias múltiplos (armónicos) de la FD. Por el contrario, una señal irregular y desorganizada tiene otros componentes adicionales, cuyas frecuencias no serán armónicos de la FD. Por tanto, una señal perfectamente periódica tendrá todo su espectro de potencia concentrado en la FD y en sus armónicos, mientras que una señal irregular tendrá un menor porcentaje del área del espectro bajo la FD (figura 1.25). El cálculo de este porcentaje (concentración espectral) aporta información sobre la organización y la regularidad de las señales de FV, característica asociada con la facilidad para finalizar el proceso fibrilatorio [118].

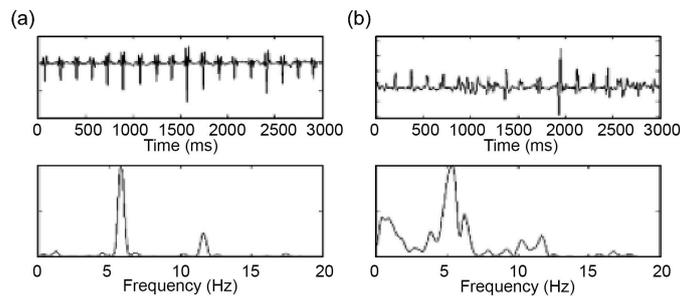


Figura 1.25. Dos ejemplos de electrogramas y sus espectros de potencia correspondientes: un electrograma con intervalos regulares (a) y otro con intervalos más irregulares (b). La señal de (a) tiene un mayor porcentaje del área del espectro de potencia bajo la frecuencia dominante y sus armónicos, mientras que la señal de (b) tiene un menor porcentaje del área bajo la frecuencia dominante y sus armónicos [118].

1.5.2 Análisis en el dominio del tiempo

Como se ha descrito en el apartado anterior, la frecuencia dominante constituye una buena estimación de la frecuencia de activación cardíaca durante la FV. Sin embargo, existen varios factores que interfieren en la

precisión de dicha estimación: la variabilidad de los intervalos de activación, el cambio en la morfología de la señal, la presencia de potenciales dobles, la actividad eléctrica fraccionada y los potenciales de campo lejano [37]. En estos casos, un pequeño cambio en la señal puede causar fácilmente un cambio significativo en la frecuencia dominante [118]. Estas limitaciones requieren por tanto el análisis manual en el dominio del tiempo. Por ello, se decidió realizar también el análisis de la FV en este dominio.

En lo que respecta al análisis de la FV en el dominio del tiempo, esto es, la determinación de los intervalos entre electrogramas que expresan la activación eléctrica durante la FV y que requieren de la detección de los instantes de activación –referida en el subapartado 1.1.9–, ésta adquiere relevancia cuando se aborda la necesidad de construir mapas de activación que reflejan de manera lo más fiel posible la realidad electrofisiológica del corazón (ver subapartado 1.5.3). Asimismo, es útil para la determinación de la frecuencia de activación miocárdica y del periodo refractario durante la FV (ver subapartado 1.5.4) así como de la velocidad de conducción (ver subapartado 1.5.5).

El desarrollo de algoritmos que permitan la identificación de activaciones miocárdicas locales es uno de los principales aspectos del procesado de señal en el ámbito de la electrofisiología cardíaca [36]. 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 se detectan como activaciones miocárdicas deberán tener activaciones vecinas de forma que el frente de onda de despolarización tenga continuidad espacio-temporal. Así pues, se identifican las activaciones miocárdicas locales con deflexiones negativas bruscas y de suficiente amplitud

1. Introducción

en el EGM que conservan continuidad espacio-temporal con sus vecinas [55, 119].

1.5.3 Complejidad de la activación

El trazado de las líneas isócronas (a partir de los instantes de activación detectados) para obtener los mapas de activación proporciona información sobre la dinámica de la activación miocárdica. Dichos trazados se asocian a patrones de activación característicos: frentes de onda simple, afloramientos y reentradas. Así, las líneas isócronas paralelas sobre el mapa indican una transmisión superficial propia de un frente de onda simple, la presencia de curvas cerradas correspondería a afloramientos que se transmiten en profundidad, mientras que las líneas isócronas convergentes en un punto indicarían una reentrada. Las áreas de bloqueo de la conducción se caracterizan por la presencia de saltos bruscos en los tiempos de activación de zonas adyacentes. La identificación de los patrones de activación presentes en un mapa de activación permite su clasificación atendiendo a criterios de complejidad [120].

La evaluación de la complejidad durante la arritmia implica la obtención y análisis de mapas de activación, y aporta información sobre la organización de la activación miocárdica. Un aumento del número de frentes, y por tanto de la complejidad, se ha relacionado con la perpetuación de los procesos fibrilatorios, mientras que la reducción de la misma facilitaría la interrupción de la FV [121]. El número de frentes depende del tamaño de los circuitos reentrantes, y el tamaño está relacionado con la longitud de onda del proceso de activación (periodo refractario \times velocidad de conducción) así como con la duración de la ventana de excitabilidad [95]. Las alteraciones en el patrón de activación miocárdica durante el proceso de FV por tanto están ligadas a modificaciones electrofisiológicas que afectan a la duración del PA, a la refractariedad y a la dispersión de la misma [89, 67].

1.5.4 Refractariedad

A diferencia del test del extraestímulo ventricular, que también nos permite la determinación de la refractariedad, la determinación de este parámetro durante la FV constituye una estimación más real de la refractariedad en una situación que excluye una estimulación externa al propio corazón, como es el caso del test del extraestímulo. En este sentido, se han postulado métodos alternativos para determinar la refractariedad local en fibrilación [122]. Entre ellos, se encuentra aquel que asocia el percentil 5 del histograma de intervalos entre activaciones sucesivas a un indicador de refractariedad, por estar relacionado con el periodo refractario funcional [122].

La determinación del periodo refractario durante la FV nos informa de la capacidad del tejido miocárdico ventricular para permitir el paso de frentes de activación sucesivos en tanto el tejido no se halla en periodo refractario. A su vez, la refractariedad ha sido relacionada tanto con la aparición como con la estabilización de las arritmias reentrantes [123]. Por ello, el estudio de la modificación de la refractariedad por el estiramiento se hace necesario para analizar el factor arritmogénico de este último.

1.5.5 Velocidad de conducción

Durante la FV se produce una actividad eléctrica desordenada en los ventrículos, consecuencia de múltiples frentes de onda simultáneos que despolarizan irregularmente el tejido cardíaco. Tanto la refractariedad como la velocidad de conducción locales son parámetros relacionados estrechamente con la aparición de arritmias (ver subapartado 1.3.3). De hecho, un enlentecimiento de la conducción o un acortamiento de la refractariedad son factores electrofisiológicos que favorecen la aparición de arritmias por reentrada y la perpetuación de las mismas [41, 93].

1.6 Resumen de la introducción y justificación de la investigación

Esta Tesis Doctoral se centra en estudiar los mecanismos implicados en las respuestas electrofisiológicas al estiramiento local agudo ventricular, mediante el análisis de las modificaciones farmacológicas de dichas respuestas, a partir de las señales de electrograma de superficie adquiridas mediante electrodos múltiples epicárdicos.

Por este motivo, se han presentado en los apartados anteriores diversos conceptos. En el subapartado 1.1 se han sentado las bases de la electrofisiología cardíaca, explicando los conceptos de potencial de acción y del acoplamiento excitación-contracción, en el que la intervención del Ca^{2+} tiene un papel esencial, y las características de los electrogramas, señales analizadas en la presente Tesis Doctoral. En el subapartado 1.2, se ha visto cómo el estiramiento miocárdico modifica las propiedades electrofisiológicas del miocardio, sus efectos mecánicos sobre el miocardio, la influencia del Ca^{2+} en los mismos y algunos de los mecanismos que pueden explicar dichos efectos. En el subapartado 1.3, se ha descrito la fibrilación ventricular, cuyo desencadenamiento es consecuencia de los efectos pro-arrítmicos del estiramiento. Además, el análisis del proceso fibrilatorio es el método utilizado en este trabajo para estudiar los efectos electrofisiológicos del estiramiento.

Sobre la metodología utilizada para llevar a término la investigación, en el subapartado 1.4.1 se habló del interés de estudiar diversos parámetros obtenidos a partir de registros extracelulares, en el 1.4.2 de la adecuación de la especie al presente estudio, y en el 1.4.3 de las técnicas de cartografía eléctrica utilizadas para el estudio de la electrofisiología cardíaca.

1. Introducción

Sobre los aspectos objeto de estudio, en el apartado 1.5 se mostró el interés concreto de cada uno de ellos para conocer su relación con las propiedades electrofisiológicas modificadas por el estiramiento.

Por todo ello, se ha encontrado procedente y justificado proponer la presente investigación con la finalidad de estudiar los efectos electrofisiológicos del estiramiento y los mecanismos implicados en él.

Capítulo 2

2. Material y Métodos

2.1 Material

2.1.1 Animales de experimentación

Para este estudio, se utilizaron 44 conejos machos, de raza White New Zealand, con una edad de 11 semanas y un peso medio de $3,2 \pm 0,2$ kg.

2.1.2 Reactivos

Los distintos reactivos que se utilizaron en el trabajo experimental fueron los siguientes:

- CaCl_2 , MgCl_2 , KCl , NaH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl y glucosa (*Panreac Química*, Barcelona, España) para la preparación de la solución de Tyrode
- Heparina sódica al 5% (*Mayne Pharma*, Melbourne, Australia) para la heparinización del animal
- Tiopental sódico (*B Braun Medical*, Barcelona, España) para el sacrificio del animal

2. Material y Métodos

- Losartán, para bloquear los receptores tipo 1 de angiotensina II (AT₁)
- BQ-123, para bloquear los receptores tipo A de endotelina (ET_A)
- EIPA , para inhibir el intercambiador Na⁺/H⁺
- Ranolazina, para inhibir la corriente tardía de Na⁺

2.1.3 Instrumentación

Los animales se pesaron con una balanza *Soehnle* (Nassau an der Lahn, Deutschland), y el peso de las distintas sustancias utilizadas se realizó con una balanza de precisión (*Precisa Gravimetrics*, Dietikon, Suiza).

El agua destilada utilizada para las distintas soluciones preparadas se obtuvo de un sistema de destilación de agua *Millipore* (Billerica, MA, E.E.U.U.).

Para llevar a cabo el protocolo experimental descrito en el apartado 2.2.2, se utilizó un sistema de estimulación compuesto por los elementos que se detallan a continuación.

- Electrodo de estimulación ventricular, bipolar, de acero inoxidable, con diámetro de 0,125 mm, y separación entre electrodos de 1 mm.
- Estimulador *Grass*[®], modelo *S88* (*Grass Instruments Inc.*, Quincy, MA, EE.UU.) –al que se conectó el electrodo bipolar de estimulación–, provisto de una unidad de aislamiento de estímulos (modelo *SIU5*, de la misma firma). El estimulador permite emitir pulsos de corriente y controlar parámetros tales como la frecuencia de estimulación, el número, la intensidad y la duración de los estímulos (figura 2.1).



Figura 2.1. Estimulador Grass, modelo S88, utilizado en los experimentos desarrollados durante esta Tesis Doctoral.

Para el registro de la actividad eléctrica, se utilizaron los electrodos de registro y el sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca descritos a continuación:

- Electrodo de registro del auriculograma, bipolar, de plata clorurada, con diámetro de 0,5 mm y separación entre electrodos de 1 mm.
- Dos electrodos múltiples con 121 y 119 electrodos unipolares, con una separación entre electrodos de 1 mm, para el registro de los electrogramas ventriculares (figura 2.2).

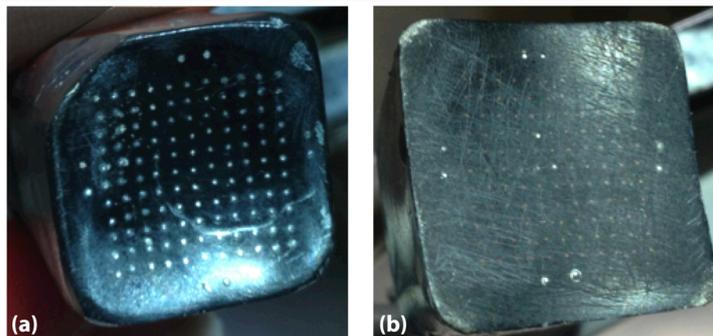


Figura 2.2. Electrodo múltiple de registro con 121 (a) y 119 (b) electrodos unipolares utilizados en los laboratorios del Grupo de Electrofisiología Cardíaca (GRELCA) de la Universitat de València durante los experimentos llevados a cabo en esta Tesis Doctoral.

2. Material y Métodos

- Sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca (*MapTech*, Waalre, Holanda), para la adquisición, la digitalización y el procesado de las señales electrográficas ventriculares: 256 canales, ganancia de 50-300, ancho de banda de 1-400 Hz, frecuencia de muestreo por canal de 1 kHz y resolución de 12 bits. En la figura 2.3 se muestra el sistema, constituido por una etapa de acondicionamiento de señales y digitalización, un PC con una tarjeta de adquisición de datos y el *software* necesario (descrito en el apartado 2.1.4) para la monitorización de las señales durante el experimento.

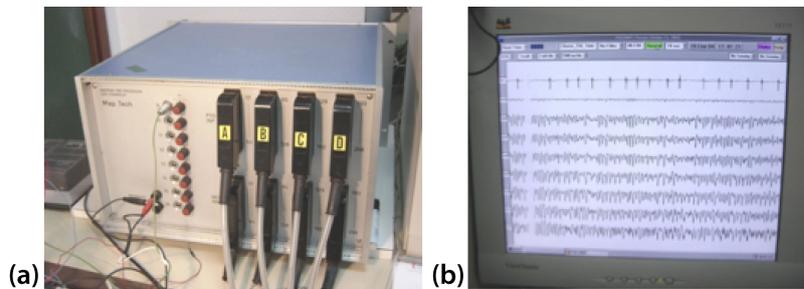


Figura 2.3. Sistema de cartografía MapTech (vista frontal donde se observan los conectores de los electrodos en (a)) y *software* PaceMap de representación y análisis (b) que se dispone en las instalaciones de GRELCA de la Universitat de València.

Por otra parte, para la preparación de corazón aislado de conejo se utilizó un sistema de perfusión del corazón compuesto por un sistema de soporte metabólico tipo Langendorff, una bomba peristáltica (*Cole-Parmer Instrument co.*, Vernon Hills, IL, E.E.U.U.) y una bomba circulante de calentamiento (*Neslab Instrument Inc.*, Portsmouth, NH, E.E.U.U.) (figura 2.4). En el montaje utilizado, y tal y como se muestra en la figura 2.4, El líquido nutricio se almacena en un recipiente conectado a una bala de carbógeno que permite su oxigenación y se bombea al sistema mediante una bomba peristáltica. Éste se calienta hasta llegar al corazón gracias a la acción de una bomba de calentamiento que mantiene agua destilada a 40 °C

circulando en el sistema. Mediante este procedimiento la temperatura del líquido nutricio perfundido a través de la aorta se mantiene a 37 °C.

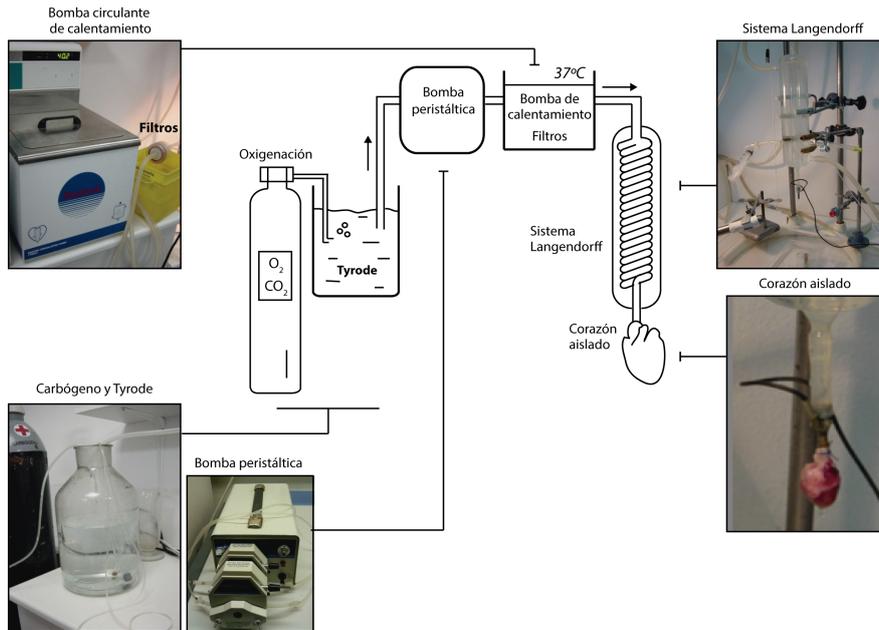


Figura 2.4. Sistema de perfusión del corazón: sistema Langendorff, bomba peristáltica y bomba circulante de calentamiento, utilizado en los laboratorios de GRELCA durante las pruebas experimentales realizadas en esta Tesis Doctoral.

Para administrar las dosis de los distintos fármacos, se utilizó una bomba de infusión IVAC P4000 (*CareFusion*, Rolle, Suiza) (figura 2.5).



Figura 2.5. Bomba de infusión IVAC-P4000, como la utilizada durante los experimentos llevados a cabo en esta Tesis Doctoral.

2. Material y Métodos

Por último, se utilizó un dispositivo en forma de L para producir el estiramiento local. El dispositivo está compuesto por un tubo hueco de 3,5 mm de diámetro, en cuyo interior se puede deslizar un vástago de 1,5 mm de diámetro para que su extremo distal, que consiste en una plataforma circular de 7,5 mm de diámetro, protruya y permita inducir un grado controlado de estiramiento en una zona limitada de la pared ventricular.

2.1.4 Software

En la fase de adquisición de las señales eléctricas durante los experimentos, y en el posterior procesado y análisis de los datos obtenidos, se utilizaron fundamentalmente dos entornos de trabajo. Por una parte, el *software PaceMap* (Waalre, Holanda) (figura 2.6) incorporado en el sistema de adquisición *MapTech*, y por otro lado, en *MatLab* (*Mathworks Inc.*, Natick, MA, E.E.U.U.) se desarrollaron los códigos necesarios para extraer la información de los registros.

PaceMap es el *software* del sistema de mapeo cardiaco utilizado en la captura y análisis de electrogramas en los experimentos, y funciona bajo el sistema operativo *Windows* (*Microsoft*, Redmond, WA, E.E.U.U.). Realiza las funciones de configuración de la adquisición, permitiendo el cambio de la ganancia, frecuencia de muestreo, control del registro, edición del registro, selección de tramos de las señales, etc. Este *software* permite, una vez que los registros han sido almacenados en el ordenador, su visualización canal a canal y la realización de diversas operaciones relacionadas con la cartografía de la actividad eléctrica cardiaca o el marcado de instantes de activación en los electrogramas. Previamente, es necesario definir y proporcionar al programa las matrices de correspondencia electrodo-canal que codificarán la distribución espacial de las señales.

2. Material y Métodos

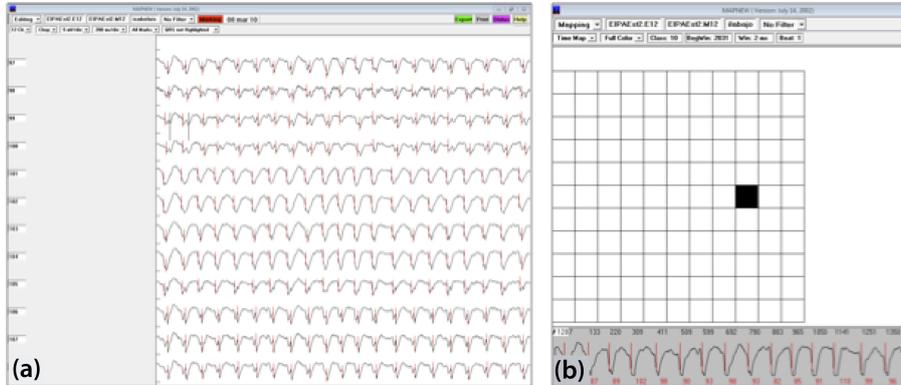


Figura 2.6. Detalle del programa Pacemap con un registro de FV. (a) Pantalla en la que se pueden observar los electrogramas correspondientes a 12 electrodos ventriculares. (b) Matriz de correspondencia electrodo-canal del electrodo múltiple situado en la ZE: cada una de las celdas corresponde a cada uno de los 121 electrodos de la matriz; en la parte baja de la pantalla podemos observar 2 segundos del electrograma correspondiente al electrodo seleccionado (celda negra). Abreviaturas: ZE = zona modificada por el estiramiento.

MatLab R2010 (*Mathworks Inc.*, Natick, MA, E.E.U.U.) es un *software* que ofrece un entorno de desarrollo integrado con un lenguaje de programación propio, sobre el que se desarrollaron los códigos necesarios para el tratamiento de los datos del estudio. Entre estos códigos cabe destacar la herramienta *MedMap*. Dicha herramienta posibilita la comprobación y validación de los espectros de frecuencia de las señales de FV registradas. Permite importar los archivos de señales generados por *PaceMap*, automatizando el análisis espectral de las mismas.

Por último, para el tratamiento estadístico de los datos, se utilizó el paquete estadístico *SPSS*[®] 17.0 (*IBM*, Armonk, NY, E.E.U.U.).

2. Material y Métodos

2.2 Métodos

2.2.1 Preparación experimental

La descripción de la preparación experimental puede observarse en la figura 2.7. Los animales se sacrificaron mediante una inyección intravenosa de tiopental sódico (60 mg/kg) con 800 u. i. de heparina sódica, a través de la vena marginal de la oreja. A continuación, y mediante una toracotomía mediosternal y una pericardiotomía, se extrajo el corazón rápidamente, seccionándolo por su pedículo vascular, sumergiéndose en una solución de Tyrode a baja temperatura (1-5 °C) para su posterior manipulación sin deterioro metabólico del tejido cardíaco. Tras seccionar la arteria pulmonar y a continuación disecar la arteria aorta ascendente, se conectó a través de la citada arteria al sistema Langendorff, donde se fijó mediante un hilo de seda de 1-2 mm de diámetro, perfundiendo el corazón con la solución de Tyrode a $37 \pm 0,5$ °C, cuya composición milimolar (mM) es la siguiente: NaCl 130; KCl 4,7; CaCl₂ 2,2; MgCl₂ 0,6; NaH₂PO₄ 1,2; NaHCO₃ 24,2; y 12 glucosa. El pH se mantuvo a 7,4. La oxigenación y soporte de pH de la solución de Tyrode se efectuó con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂). La presión de perfusión inicial se fijó en 60 mmHg.

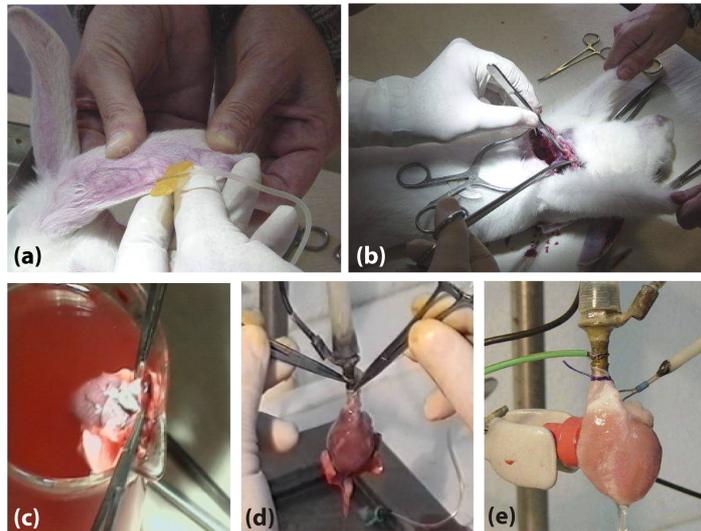


Figura 2.7. Preparación experimental: inyección de tiopental a través de la vena marginal izquierda para sacrificio del animal (a), extracción del corazón mediante toracotomía y pericardiotomía (b), corazón sumergido en la solución de Tyrode frío (c), inserción de la aorta en la cánula del sistema (d), y preparación fijada al sistema (e).

Una vez ubicado el corazón en el sistema, se eliminaron los restos de los demás tejidos (pulmón, restos de pericardio, etc.). Posteriormente, mediante una pequeña sección en la aurícula izquierda, se procedió al corte de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral, con el fin de hacerla insuficiente y permitir el escape, en su caso, de líquido por la aurícula izquierda. Mediante este procedimiento se evitan posibles acumulaciones de Tyrode en el ventrículo izquierdo, en el caso de que la válvula aórtica mostrara cierta insuficiencia, y con ello se impide la sobrecarga ventricular.

El sistema de perfusión tipo Langendorff, que hemos descrito y mostrado previamente en la figura 2.4, permite la llegada al corazón del Tyrode con oxígeno, dióxido de carbono y los nutrientes necesarios a través de la aorta ascendente. Se trata de una perfusión hacia el sistema de vasos coronarios (la perfusión cierra la válvula aórtica y fuerza la circulación del

2. Material y Métodos

fluido por las arterias coronarias durante el periodo diastólico, como ocurre en el ciclo cardiaco normal, las cámaras izquierdas del corazón permanecen sin líquido, y los ventrículos se contraen contra la presión atmosférica de su interior). El líquido de perfusión es impulsado desde un depósito exterior, donde se oxigena, hasta la parte más elevada del sistema por medio de una bomba peristáltica, tras un filtrado previo para evitar el paso de partículas de excesivo tamaño que pudiesen causar una posible obstrucción de los vasos coronarios. Una vez en el sistema tubular, el líquido se calienta mientras va descendiendo hacia el corazón hasta alcanzar una temperatura de 37 °C en la raíz de la aorta.

Tras la ubicación del corazón en el sistema de perfusión y su adecuación, se introdujo el dispositivo en forma de L, a través de la aurícula izquierda en el interior de la cavidad ventricular izquierda (figura 2.8 y figura 2.9), con el fin de producir el estiramiento local en la pared libre del ventrículo izquierdo, en el momento indicado del protocolo experimental. El extremo distal del vástago, al deslizar éste en el interior del dispositivo, protruye, dando lugar a un grado controlado de estiramiento en una zona limitada de la pared ventricular. Para evitar desplazamientos inapropiados, el dispositivo se fijó proximal y distalmente a soportes externos. La parte superior del dispositivo se fijó con pinzas situadas por encima de la aurícula izquierda, mientras que en la parte inferior se utilizó un hilo de sutura anudado al ángulo del tubo en forma de L y exteriorizado a través del ápex ventricular, para fijarlo a otro apoyo externo.

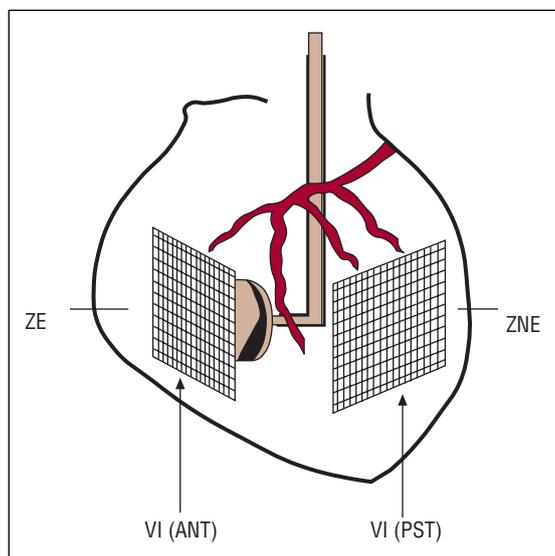


Figura 2.8. Esquema del corazón con el dispositivo utilizado para producir el estiramiento en el interior de la cavidad ventricular, y con los dos electrodos de registro situados en la parte anterior y posterior del ventrículo izquierdo, abarcando la ZE y la ZNE. Abreviaturas: VI(Ant) = parte anterior del ventrículo izquierdo; VI(Post) = parte posterior del ventrículo izquierdo; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento.

La ubicación de los electrodos de registro y estimulación se describe a continuación. La figura 2.8 muestra una representación esquemática de la distribución de los electrodos y la fotografía de la figura 2.9 muestra una vista real de la ubicación de los mismos (tomada desde la pared posterior del ventrículo izquierdo).

Se situó el electrodo bipolar para el registro del electrograma auricular en el haz interauricular de Bachman. Los electrodos múltiples de 121 y 119 electrodos unipolares se ubicaron en la superficie epicárdica de la pared libre del ventrículo izquierdo: uno de ellos en la zona donde se aplicaría el estiramiento local, que denominamos zona estirada (ZE), situada en la porción media de la pared anterior, y el otro electrodo en la zona no

2. Material y Métodos

modificada por el estiramiento, que denominamos zona no estirada (ZNE), situada en la porción media de la pared posterior (figura 2.8 y figura 2.10).

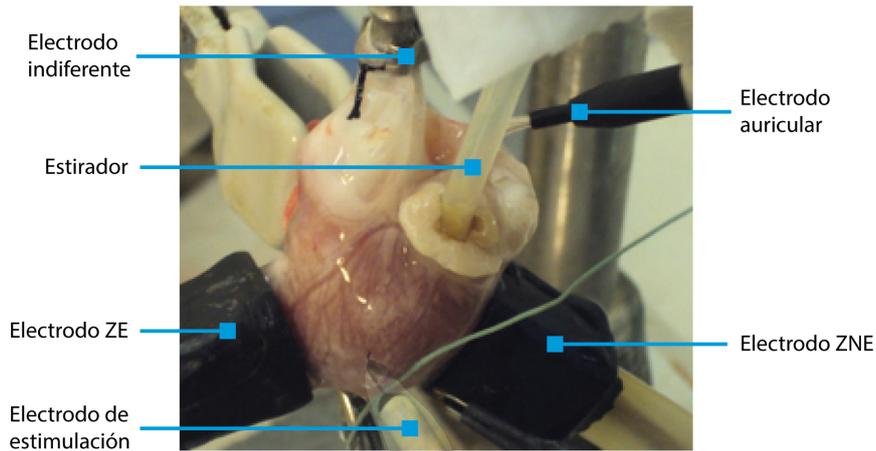


Figura 2.9. Detalle de la distribución de elementos durante la realización del protocolo experimental. Abreviaturas: ZE = zona estirada; ZNE = zona no estirada.

El electrodo bipolar de estimulación ventricular se ubicó en la zona central (o superior) que quedaba libre entre los electrodos múltiples de registro, siendo utilizado para la inducción de la FV mediante estimulación a frecuencias crecientes. El electrodo indiferente consistió en una placa de Ag/AgCl de 4×6 mm ubicada sobre la aorta canulada.

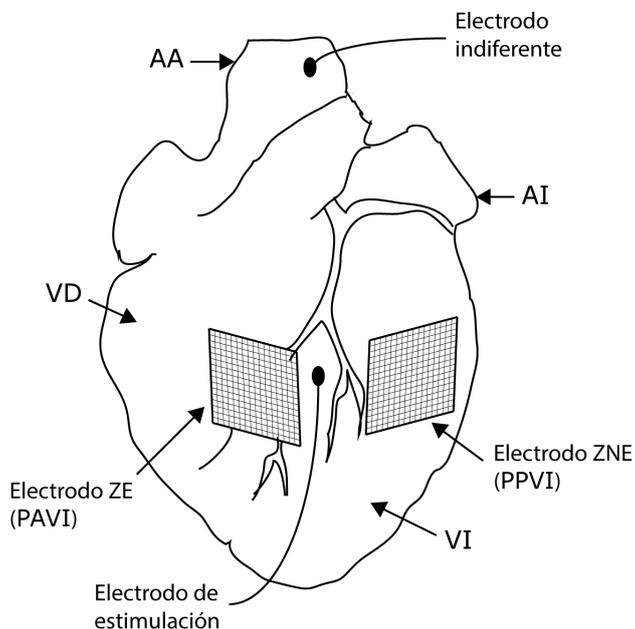


Figura 2.10. Representación esquemática de la distribución de los electrodos de registro y estimulación durante la realización del protocolo experimental. Abreviaturas: AA = arteria aorta; AI = aurícula izquierda; VD = ventrículo derecho; VI = ventrículo izquierdo; PAVI = pared anterior ventrículo izquierdo; PPVI = pared posterior ventrículo izquierdo; ZE = zona estirada; ZNE = zona no estirada.

Los registros electrográficos se obtuvieron con el sistema de cartografía epicárdica de la actividad eléctrica (*MapTech*). La discrepancia entre el número de electrodos unipolares y el de canales útiles resultantes se debe a condicionantes de conexión con el sistema de registro *MapTech* descrito en el subapartado 2.1.3. Los estímulos eléctricos se aplicaron con un estimulador *Grass S88* (ver apartado 2.1.3) y consistieron en impulsos rectangulares con una duración de 2 ms y una amplitud doble del umbral diastólico. En la figura 2.11, se resume de forma esquemática el sistema experimental con todos sus componentes.

2. Material y Métodos

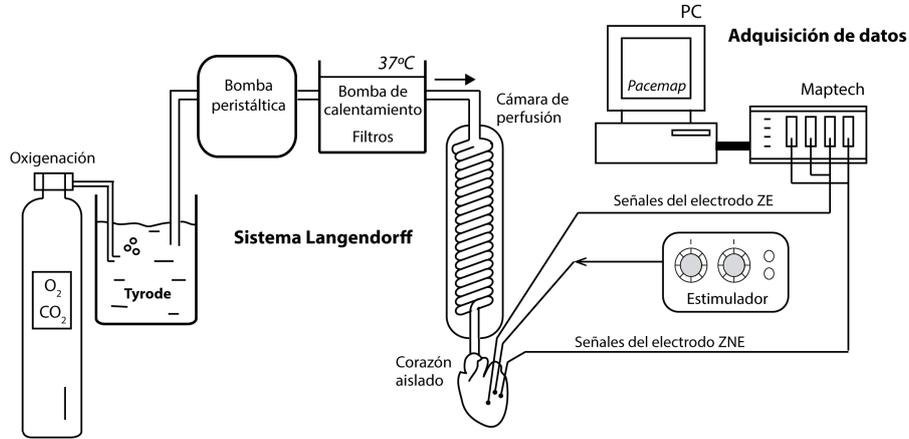


Figura 2.11. Representación esquemática del sistema experimental utilizado en una preparación de corazón aislado de conejo: sistema de perfusión, sistema de estimulación y sistema de registro.

2.2.2 Protocolo experimental

Se realizaron cinco series experimentales: 1) serie control ($n=9$), 2) serie durante la perfusión del antagonista de los receptores tipo 1 de angiotensina II losartán ($n=8$), 3) serie durante la perfusión del antagonista de los receptores tipo A de endotelina BQ-123 ($n=9$), 4) serie durante la perfusión del inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ 5-(N-ethyl-N-isopropyl)-amiloride (EIPA) ($n=9$), 5) serie durante la perfusión del inhibidor de la corriente tardía de Na^+ ranolazina ($n=9$).

El protocolo experimental realizado fue idéntico para todas las series. Quince minutos después de la colocación del corazón en el sistema, tiempo durante el cual se posicionaron los electrodos en la superficie epicárdica de la pared anterior y posterior del ventrículo izquierdo (abarcando la zona modificada y la no modificada por el estiramiento), se introdujo el dispositivo para producir el estiramiento, y una vez estabilizada la preparación, se procedió a la realización del siguiente protocolo (figura 2.12):

2. Material y Métodos

1. Determinación del flujo coronario, para fijar la velocidad de infusión de la bomba correspondiente a la centésima parte del flujo coronario/hora. Para ello, se recogió y midió el líquido de perfusión (Tyrode) que drena desde la preparación durante 1 minuto.
2. Determinación del umbral de estimulación ventricular.
3. Infusión del fármaco correspondiente a cada serie desde 15 minutos antes del protocolo electrofisiológico con una velocidad de infusión calculada a partir del flujo coronario: losartán a una concentración de 1 μM , BQ-123 a una concentración de 0,1 μM , EIPA a una concentración de 1 μM o ranolazina a una concentración de 5 μM . Las concentraciones de todas las sustancias estaban en el rango de las concentraciones referenciadas utilizadas en estudios experimentales [25, 30, 31, 124]. La infusión se mantuvo hasta la finalización del experimento.
4. Inducción de la FV mediante estimulación a frecuencias crecientes desde 4 hasta 20 Hz, manteniendo la perfusión coronaria durante la arritmia. La estimulación ventricular se efectuó incrementando lentamente la frecuencia, con una intensidad de estimulación del doble del umbral diastólico, hasta desencadenar la FV o perder la captura ventricular. Si no se desencadenaba la arritmia, el procedimiento se repetía las veces necesarias hasta conseguirlo.
5. Registros (10 segundos) de la actividad fibrilatoria, cada minuto durante 5 minutos.
6. Tras estos 5 minutos, se produjo el estiramiento miocárdico desplazando el vástago del dispositivo intraventricular 6 mm, dando así lugar en la zona estirada a incrementos longitudinales del 12% a lo largo de los ejes vertical y horizontal [7, 8, 35]; y se mantuvo

2. Material y Métodos

durante 10 minutos. Durante esta fase, se realizaron registros (10 segundos) de FV cada minuto.

7. Tras estos 10 minutos, se retiró el estiramiento. Tras la supresión del mismo, se efectuaron registros (10 segundos) de FV cada minuto durante 5 minutos.
8. Medida del peso de los corazones.

Para el estudio de cada una de las series, se consideraron 2 zonas: la zona estirada en la pared anterior del ventrículo izquierdo (ZE) y la zona no estirada en la pared posterior del ventrículo izquierdo (ZNE).

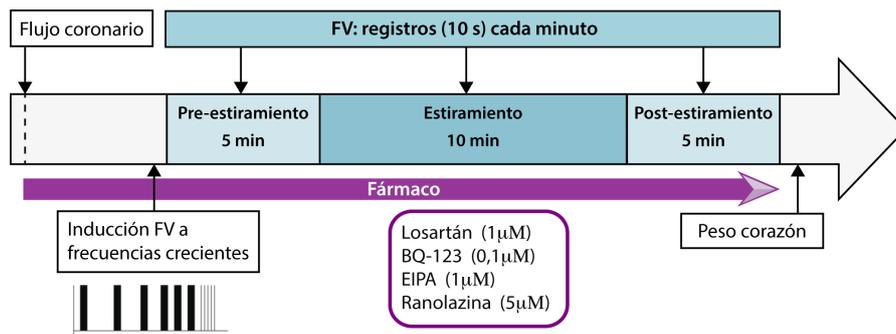


Figura 2.12. Esquema detallado del protocolo experimental.

2.2.3 Definición y determinación de los parámetros analizados

En el apartado 1.5 se presentó el interés de su planteamiento. Se han obtenido diferentes parámetros a partir de señales registradas en las dos zonas sometidas a estudio: la modificada por el estiramiento (ZE) y la no modificada (ZNE). La forma en la que se han determinado dichos parámetros se describe en los cuatro siguientes subapartados.

2.2.3.1 Análisis espectral

Se utilizó el periodograma modificado de Welch [125] para obtener el espectro de potencia de las señales registradas con cada uno de los electrodos unipolares situados en las dos zonas de estudio, ZE y ZNE. El periodograma se calculó para los primeros 4 segundos de cada señal (4096 puntos, frecuencia de muestreo 1 kHz), fragmentando este intervalo en 8 segmentos con un solapamiento del 50% y aplicando la ventana de Hamming. Se obtuvo para cada canal de las 2 zonas:

- la frecuencia dominante (FD) de la señal fibrilatoria, expresada en Hz y definida como la frecuencia que muestra el pico máximo de densidad espectral de potencia (PSD) [126], ésta calculada a partir del cuadrado de la amplitud de la señal (figura 2.13), y
- la concentración espectral (CE), calculada como el cociente del área del espectro de potencia contenida en el intervalo $FD \pm 0,5$ Hz, dividido por el área total del espectro de potencia de la señal (figura 2.14).

2. Material y Métodos

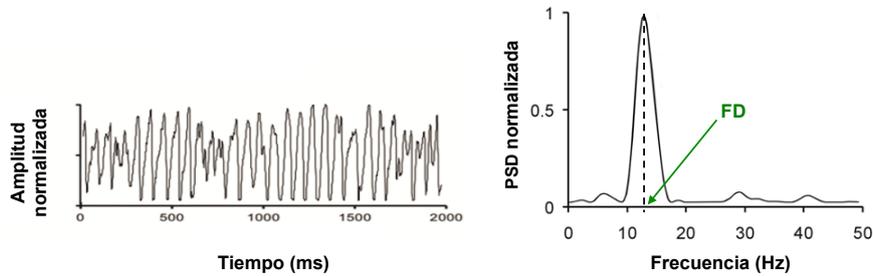


Figura 2.13. Señal temporal de FV y su espectro de potencia. La frecuencia dominante es la frecuencia con el pico máximo de densidad espectral de potencia. Para una mayor claridad, el registro mostrado corresponde a una ventana de 2 segundos, aunque los espectros se obtuvieron a partir de bloques de datos de 4096 puntos (*padding*) con una frecuencia de muestreo de 1kHz. Abreviaturas: PSD = densidad espectral de potencia; FD = frecuencia dominante; Hz = hercios.

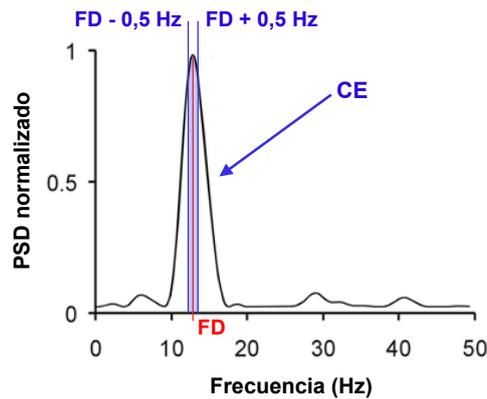


Figura 2.14. Espectro de potencia correspondiente a una señal de FV. La concentración espectral es el porcentaje del total del espectro de potencia contenido en el intervalo $FD \pm 0,5$ Hz. Abreviaturas: PSD = densidad espectral de potencia; FD = frecuencia dominante; Hz = hercios; CE = concentración espectral (en %).

Este análisis se realizó justo antes del estiramiento (es decir, cinco minutos tras el inicio de la FV), cada minuto durante el estiramiento y cada minuto tras la supresión del mismo, y se obtuvieron los promedios de la FD y de la CE para la ZE y la ZNE. El análisis de la evolución en el tiempo de la FD durante las tres fases experimentales permitió además identificar el

instante de máximo efecto del estiramiento y el tiempo necesario para la desaparición de los efectos del estiramiento tras la supresión de éste.

Antes de procesar la señal para obtener los parámetros estudiados, se realizó un pre-procesado de la misma para analizar la calidad de la señal de cada uno de los electrodos unipolares con el fin de rechazar aquellos canales que presentaban una señal con una baja amplitud o aquéllos en los que no se capturaba actividad eléctrica cardíaca.

2.2.3.2 *Análisis de la FV en el dominio del tiempo*

Para la obtención de los parámetros descritos en este subapartado, fue necesario determinar previamente los tiempos de activación local miocárdica. El algoritmo utilizado se describe a continuación [55]. En primer lugar, se calcula la derivada de cada uno de los electrogramas, utilizando un filtro derivador de 2 puntos:

$$y[n] = x[n+1] - x[n-1] \quad (2.1)$$

donde $x[n]$ es la señal de EGM e $y[n]$ es su derivada.

Tras eliminar los instantes en los que la derivada es positiva, se detectan los instantes en los que la derivada negativa supera un determinado umbral (-0,2 mV/ms en este estudio). Consideramos que los instantes detectados son los posibles instantes de activación miocárdica (IA). En el caso de que se detecten dos IAs consecutivos con una separación temporal menor a la mínima exigida (30 ms), se selecciona aquel IA en el que el EGM presente mayor pendiente (mayor derivada absoluta).

Además, para incrementar la robustez de la detección ante oscilaciones de la línea base, se establece que las deflexiones correspondientes a los IAs, para ser consideradas como deflexión local, deben cruzar un umbral de amplitud, fijado como el 20% del máximo valor del EGM. En caso de que

2. Material y Métodos

no superen dicho umbral, el algoritmo analiza todos los canales disponibles en un radio de 2 mm (2 electrodos), centrado en el canal con el IA no confirmado. Para que el IA sea considerado como instante de activación confirmado, al menos la mitad de los canales vecinos disponibles tienen que tener un IA detectado y confirmado (es decir, un IA en el que la deflexión supere el umbral de amplitud) en una ventana de 10 ms centrada en el IA no confirmado. Si no se cumple ese criterio, el IA no confirmado se elimina.

La elección de los umbrales de pendiente y de amplitud se realizó mediante una búsqueda, probando distintas combinaciones de valores, y evaluando la sensibilidad y el valor predictivo positivo (VPP) del detector. Para los valores especificados anteriormente, la sensibilidad del algoritmo de detección fue de 89,4% y el VPP alcanzó el 91,0% [55].

En la figura 2.15 se muestra el diagrama del funcionamiento del detector basado en la máxima derivada negativa, y la figura 2.16 muestra un ejemplo del comportamiento del algoritmo de detección.

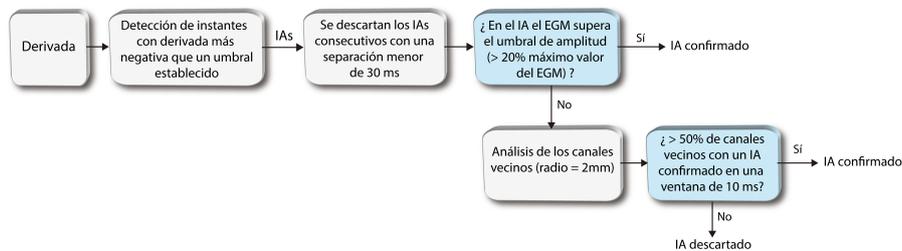


Figura 2.15. Diagrama del funcionamiento del detector de máxima derivada negativa.

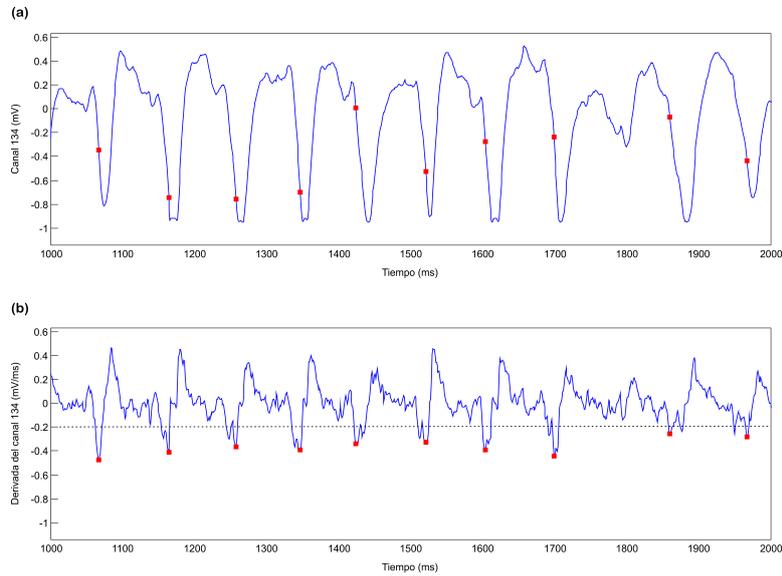


Figura 2.16. Ejemplo de detección de instantes de activación miocárdica local en la señal (a) y en su derivada (b). Los puntos rojos corresponden a los instantes de máxima derivada negativa detectados en (b), donde el algoritmo marca los instantes en los que la derivada negativa supera el umbral establecido (-0,2 mV/ms, línea discontinua).

En la figura 2.17 se muestran las marcas definitivas en los instantes en los que se produce la despolarización, así como el intervalo de tiempo entre ellos.

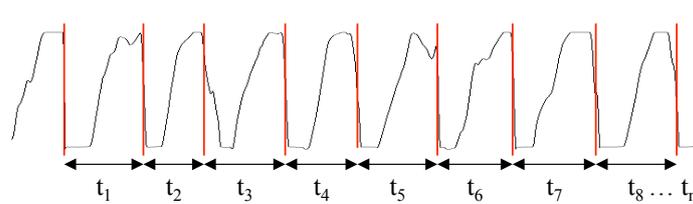


Figura 2.17. Segmento de electrograma en FV donde se muestran las marcas de los instantes de activación e intervalos VV (t_i).

2. Material y Métodos

Los parámetros obtenidos en el dominio del tiempo fueron los siguientes:

- **Intervalo VV de la FV:** se define como el tiempo transcurrido entre dos activaciones locales consecutivas en el ventrículo (figura 2.17). También se hace referencia a dicho parámetro con el nombre de intervalo de activación ventricular o intervalo fibrilatorio.

Se determinó para cada canal de los multielectrodos situados en la ZE y en la ZNE el promedio de los intervalos VV durante periodos de tiempo de dos segundos analizados en tres etapas: pre-estiramiento (inmediatamente antes del estiramiento), durante el estiramiento (3^{er} min del estiramiento), y post-estiramiento (3 min después de suprimir el estiramiento). Se obtuvo entonces el valor promedio de los VV de cada una de las dos zonas (ZE y ZNE), en cada una de las tres etapas (pre-estiramiento, estiramiento y post-estiramiento). Se eligieron estas tres ventanas de tiempo tras realizar el análisis espectral, que nos permitió localizar el instante de máximo efecto del estiramiento y el tiempo necesario para la desaparición de los efectos del estiramiento tras la supresión de éste, como se ha descrito en el apartado anterior.

Por otra parte, se construyeron los histogramas de los intervalos VV para las ZE y ZNE (figura 2.18), en los tres instantes mencionados anteriormente, y a partir de ellos se determinó:

- **Percentil 5 de los intervalos VV durante la FV (Pct5):** se considera este parámetro como una aproximación del periodo refractario funcional durante la FV (PRFFV) (ver apartado 1.5.4 [122]), es decir, es un parámetro representativo de la refractariedad del tejido miocárdico. El Pct5 representa, en una distribución normal (histograma) de los intervalos VV, el valor (en ms) por debajo del

cual quedan englobados el 5% de todos los intervalos VV (figura 2.18).

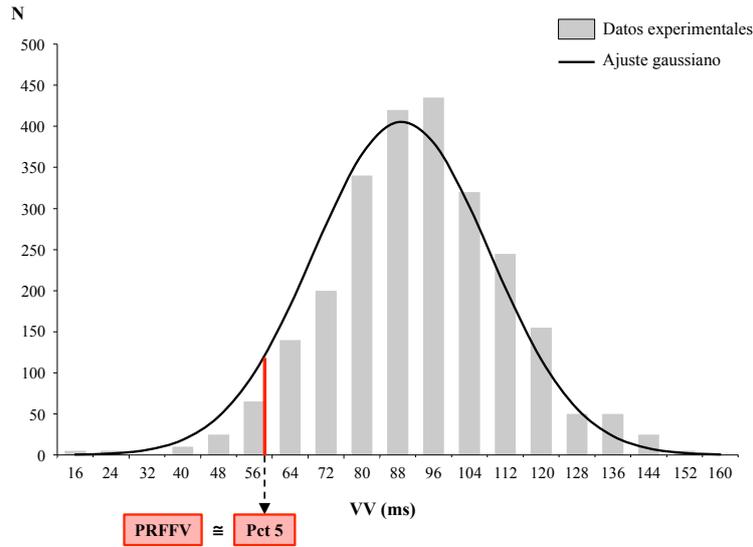


Figura 2.18. Estimación del PRFFV mediante la determinación del Pct5 de la distribución normal de los intervalos VV.

2.2.3.3 Análisis de los mapas de activación epicárdica durante la FV

Para realizar el análisis de los mapas de activación epicárdica durante la FV, se analizaron segmentos de un segundo (el primero de los dos segundos especificados en el apartado anterior) extraídos de los registros de FV obtenidos en los tres instantes descritos en el apartado 2.2.3.2 (pre-estiramiento, estiramiento y post-estiramiento), en ambas zonas (ZE y ZNE), teniendo presente que en el modelo utilizado, en el que se impide el deterioro metabólico al mantener la perfusión coronaria, la FV es estable durante el tiempo en el que se mantiene la arritmia [127]. El segmento analizado se dividió en ventanas de tiempo consecutivas –distanciadas entre sí de 100 ms–, y en cada ventana se construyó el mapa de activación miocárdica mediante el

2. Material y Métodos

trazado de las isócronas de activación (regiones activadas en un mismo instante), de forma semiautomática a partir de la codificación en colores de los tiempos de activación (determinados anteriormente) correspondientes a cada uno de los electrodos. En cada uno de estos mapas, se identificaron los distintos patrones de activación: frentes de onda simples, patrones de reentrada completa y patrones de afloramiento (figura 2.19); y se realizó el recuento de dichos patrones para cada mapa analizado.

Se consideró la presencia de una línea de bloqueo cuando las isócronas entre dos zonas adyacentes presentaban un salto temporal brusco (velocidad menor de 5 cm/s). Se consideró un patrón de activación como un patrón de afloramiento cuando la primera activación se encontraba en el área abarcada por el multielectrodo y se observaba un patrón de activación centrífuga hacia las zonas adyacentes. Para identificar la actividad reentrante, se utilizó como guía la visualización en la pantalla de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo codificados en color (isócronas), desplazando sucesivamente el intervalo de tiempo analizado en escalones de 10 ms. Cuando, mediante este procedimiento, se identificaba un frente de onda, que tras describir una trayectoria circular o elíptica volvía a activar la zona previamente activada por él mismo, entonces se consideraba dicho frente como una reentrada completa.

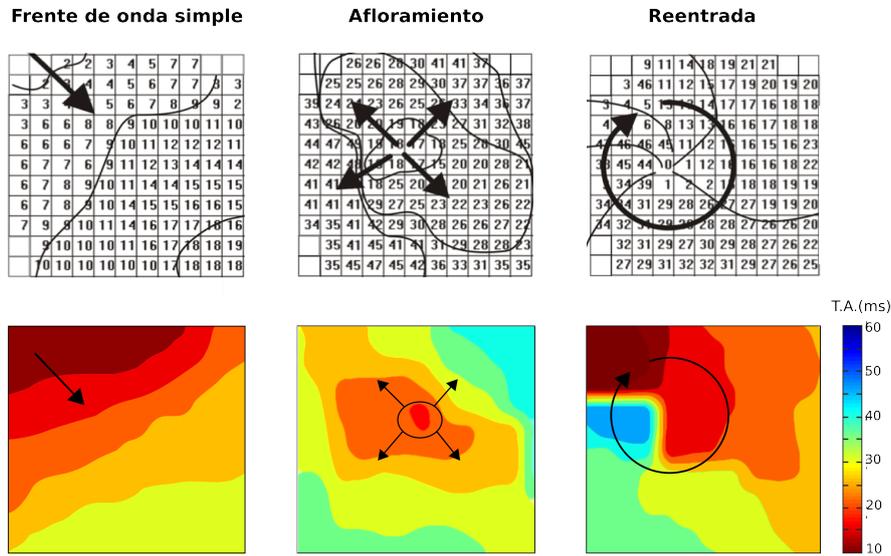


Figura 2.19. Ejemplos de mapas de activación ventricular obtenidos durante la FV, en los que se identifica cada uno de los distintos patrones de activación: frente de onda simple, afloramiento y reentrada. Se muestran los tiempos de activación junto con su codificación en colores, así como las isócronas trazadas a intervalos de 10 ms. Las flechas corresponden a la evolución de los frentes de onda. Frente de onda simple: se observa la entrada de un frente de onda por la parte superior izquierda. Afloramiento: se observa que la activación sale desde el centro, de manera centrífuga. Reentrada: se observa una reentrada completa alrededor de la zona central; la zona de excitación circula describiendo un giro horario. Abreviaturas: T.A. = tiempo de activación.

Cada uno de los mapas analizados fue clasificado en tres categorías basadas en la complejidad de los mismos y siguiendo un esquema similar al descrito por Konings et al. 1994 [120], en el análisis de los mapas de activación durante la fibrilación auricular (figura 2.20): tipo I (complejidad baja), tipo II (complejidad intermedia) y tipo III (complejidad alta). El tipo I corresponde a mapas de activación con una única activación, el tipo II corresponde a mapas de activación con dos activaciones, y el tipo III engloba los mapas de activación con tres o más activaciones. Se establecieron además las siguientes excepciones: un mapa con una reentrada como única activación se consideró de tipo II, y un mapa con una reentrada y una activación se

2. Material y Métodos

consideró de tipo III. Asimismo en cada mapa, se contabilizó el número de patrones de afloramiento y de patrones de activación reentrante (reentradas).

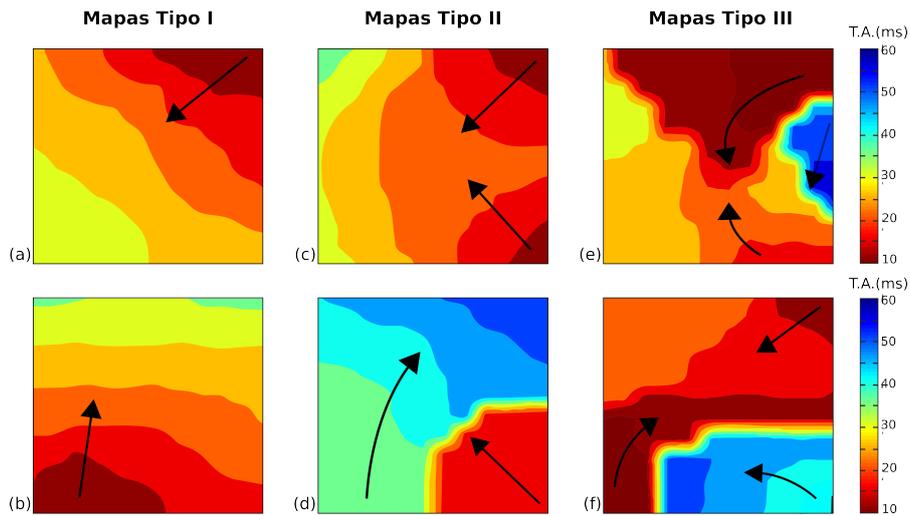


Figura 2.20. Ejemplos de mapas de activación ventricular obtenidos durante la FV, clasificados en las tres categorías basadas en la complejidad: tipo I, tipo II y tipo III. Se muestran la codificación en colores de los tiempos de activación, así como las isócronas trazadas a intervalos de 10 ms. Las flechas corresponden a la evolución de los frentes de onda. Mapa Tipo I: (a) se observa la entrada de un frente de onda por la parte superior derecha; (b) se observa la entrada de un frente de onda por la parte inferior. Mapa Tipo II: (c) se observa la entrada dos frentes de onda simultáneos, uno por la parte inferior derecha y otro por la parte superior derecha (d) en la zona inferior derecha se observa la entrada de un frente de activación que es bloqueado por la entrada del frente desde la zona inferior izquierda que se desplaza hacia la parte superior del mapa. Mapa Tipo III: (e) se observa una colisión entre 2 frentes que aparecen desde las esquinas superior e inferior derecha y un tercer frente que es bloqueado por el desplazamiento de los otros 2; (f) en la zona inferior izquierda y la zona superior derecha se observa la entrada de 2 frentes simultáneos y en la zona inferior derecha podemos ver el avance de un frente que es bloqueado por el que proviene de la esquina inferior izquierda.

2.2.3.4 Parámetros electrofisiológicos

Se determinó la refractariedad miocárdica, mediante el periodo refractario funcional durante la FV, y la velocidad de conducción, a partir de la información proporcionada por el análisis de los mapas de activación obtenidos durante la FV, en las ZE y ZNE, en las tres fases experimentales.

- **Periodo refractario funcional durante la FV (PRFFV):** se define como el intervalo de tiempo más corto que separa dos respuestas ventriculares normalmente propagadas durante la FV. Se obtuvo a partir del percentil 5 de la distribución de los intervalos VV durante la FV ya que se considera este parámetro como una aproximación del PRFFV (ver apartado 1.5.4 y subapartado 2.2.3.2).
- **Velocidad de conducción (VC):** expresa la rapidez con la que se propaga la onda de despolarización a través del tejido miocárdico y se define como la distancia recorrida por la onda de despolarización a lo largo del miocardio ventricular (expresada en cm) durante un segundo.

La VC se calculó sobre los mapas de activación, identificando dos electrodos situados en una línea de dirección perpendicular a las isócronas: la VC resulta del cociente entre la distancia que separa los electrodos, expresada en centímetros, y la diferencia entre los instantes de activación asociados a los mismos, en segundos (figura 2.21). Para reducir la magnitud del posible error, la distancia entre electrodos fue mayor que 5 mm.

2. Material y Métodos

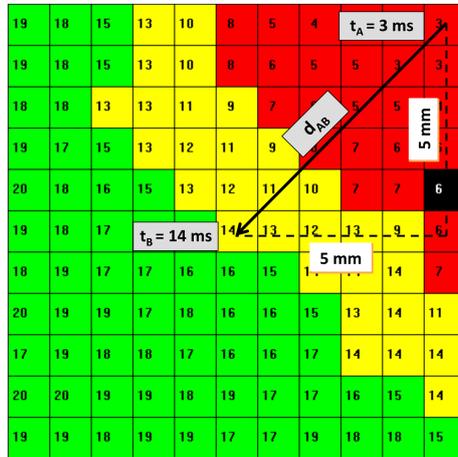


Figura 2.21. Cálculo de la VC en un mapa de activación, en el cual se identifican 2 electrodos situados en una línea de dirección perpendicular a las isócronas (dirección del frente de activación). La VC se calcula como: $d_{AB}/(t_B - t_A)$, donde d_{AB} es la distancia que separa los electrodos, expresada en cm, y t_A y t_B corresponden a los instantes de activación asociados a los mismos, en segundos.

La VC se calculó en aquellos mapas en los que los frentes de activación atravesaban el área abarcada por el electrodo sin evidencias de fraccionamiento o afloramiento, y el criterio de selección fue la identificación de un frente simple de activación epicárdica alejado de una activación más compleja. Por otro lado, como los frentes de onda se pueden propagar de manera no paralela a la superficie epicárdica, la velocidad de conducción real pudiera ser más lenta que el valor medido. Para evitar dicha situación, y el consiguiente error, se utilizaron únicamente aquellos mapas en los que la entrada y la salida del frente de onda se identificaron en los bordes de los mapas de activación. Se realizó un promedio de 5 determinaciones (5 instantes seleccionados en el registro de 1 s).

2.3 Análisis estadístico

Los datos se han presentado como media \pm desviación estándar (DE). La normalidad de las distribuciones de los datos se verificó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov, y la homogeneidad de varianzas se contrastó mediante la prueba de Levene.

Para analizar las diferencias en cada zona de estudio (diferencias intra-sujeto) y para comparar las series (diferencias entre sujetos), se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas con corrección post-hoc de Bonferroni para comparaciones múltiples. El análisis de las diferencias entre variables cualitativas (complejidad) se realizó mediante el test chi-cuadrado para tablas de contingencia. Las diferencias se consideraron significativas para $p < 0,05$.

2.4 Legislación

Las condiciones de estabulación y los procedimientos experimentales utilizados en el presente estudio fueron realizados de acuerdo con lo establecido en el Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (B.O.E 21 de octubre de 2005). El comité ético del Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental de la Universitat de València aprobó todos los procedimientos utilizados en el presente estudio

Capítulo 3

3. Resultados

3.1 Efectos del estiramiento local miocárdico

En esta serie de experimentos se estudió los efectos electrofisiológicos del estiramiento local miocárdico.

3.1.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV

Frecuencia dominante (FD)

La figura 3.1 muestra la evolución en el tiempo de la FD (en Hz) en las dos zonas de estudio. En la ZE, se observó un aumento de la FD tras el estiramiento. Las diferencias con respecto a los valores basales –pre-estiramiento– ($13,6 \pm 2,3$ Hz) fueron significativas ($p < 0,05$) desde el primer minuto de la aplicación del mismo, así como las diferencias con respecto a la ZNE. El efecto máximo se alcanzó en el minuto 3 ($19,1 \pm 3,1$ Hz, incremento del 41% respecto al valor basal), seguido de una disminución gradual en el tiempo, aunque las diferencias persistieron a los diez minutos del estiramiento. Después de suprimir el estiramiento, la FD volvió a sus valores basales. La

3. Resultados

ZNE no mostró variaciones significativas de la FD durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, con respecto a los valores pre-estiramiento.

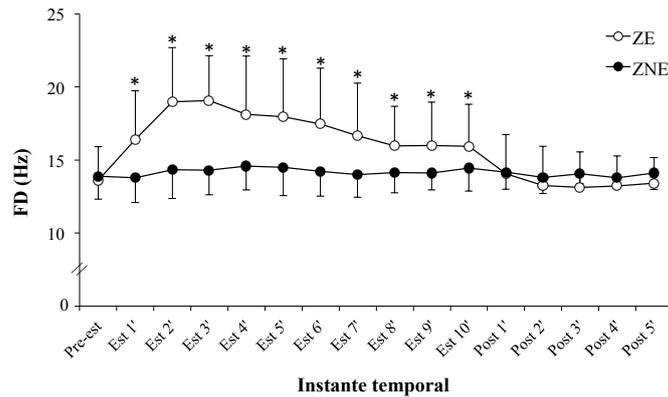


Figura 3.1. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la zona estirada (ZE) y la zona no estirada (ZNE), obtenida inmediatamente antes del estiramiento, durante cada minuto del periodo de estiramiento (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (5 minutos). Se representan valores medios \pm DE (n=9). Abreviaturas: Pre-est = antes del estiramiento; Est = periodo de estiramiento en los minutos 1-10; Post = periodo de post-estiramiento en los minutos 1-5. * $p < 0,05$, tanto Est vs. Pre-est como ZE vs. ZNE.

La figura 3.2 muestra el análisis espectral de los registros obtenidos en un experimento de la serie control con uno de los electrodos ubicado en la ZE y otro en la ZNE. En los espectrogramas correspondientes, se observa el incremento de la FD en la ZE tras el estiramiento y el retorno a sus valores basales (post-estiramiento). En la ZNE no se observan variaciones de la FD. Los valores de la FD durante las tres fases experimentales se observan en la figura 3.3.

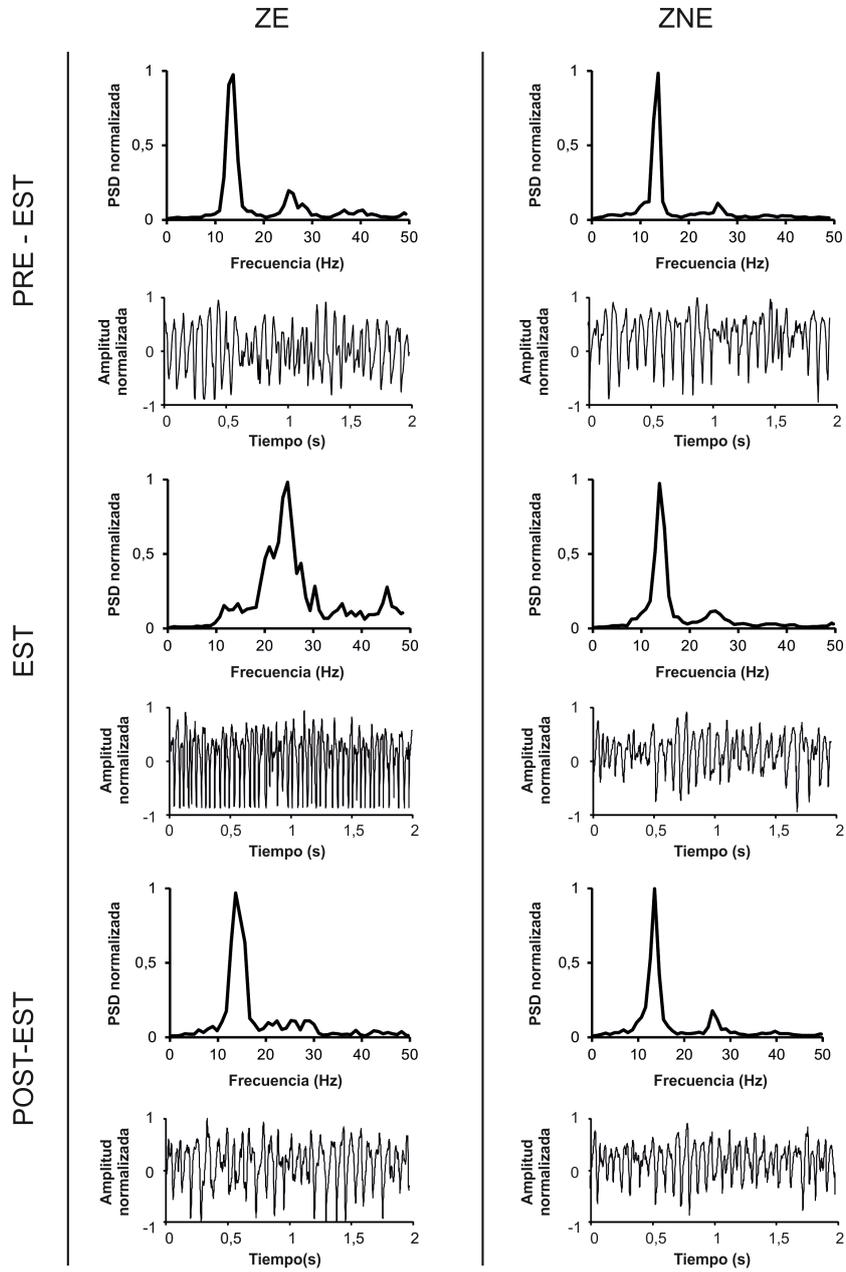


Figura 3.2. Espectrogramas correspondientes a los registros obtenidos en uno de los experimentos con uno de los electrodos localizado en la zona estirada (ZE) y otro en la zona no estirada (ZNE).

3. Resultados

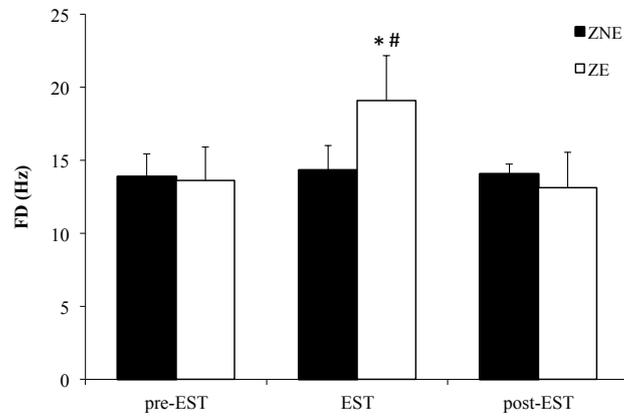


Figura 3.3. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la zona estirada (ZE) y la zona no estirada (ZNE), obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST; # $p < 0,05$ vs. ZNE.

Intervalos VV

Durante el estiramiento local, en la ZE, el incremento significativo de la FD se acompañó de una disminución significativa del intervalo VV medio. La figura 3.4 muestra los valores del intervalo VV medio en las dos zonas estudiadas en situación basal (pre-estiramiento), durante el estiramiento (en el momento del máximo efecto, min 3) y a los tres minutos de la supresión del mismo (post-estiramiento). En la ZE se observó una reducción significativa del intervalo VV durante el estiramiento (78 ± 12 vs. 62 ± 9 ms, $p < 0,05$). Tras suprimir el estiramiento, el intervalo VV adquirió valores similares a los obtenidos antes de estirar (81 ± 9 ms). La ZNE no mostró variaciones significativas del intervalo VV durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, con respecto a los valores pre-estiramiento.

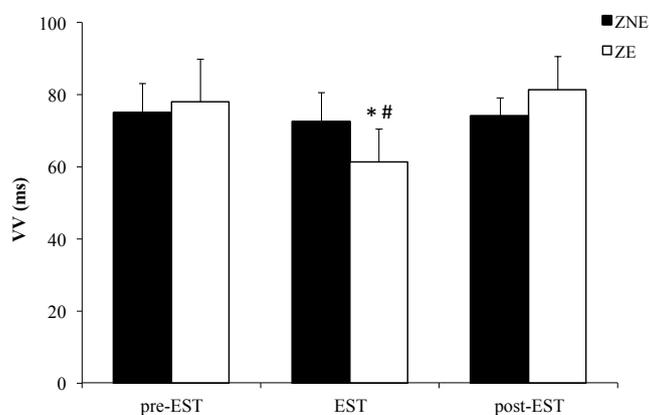


Figura 3.4. Intervalo VV durante la FV en la zona estirada (ZE) y la zona no estirada (ZNE), obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST; # $p < 0,05$ vs. ZNE.

3.1.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV

Complejidad de la activación

La figura 3.5 muestra la complejidad de la activación miocárdica durante la FV (en la ZE), evaluada mediante los porcentajes de los tres tipos de mapas de activación, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento local, la complejidad de la activación aumentó significativamente ($p < 0,05$), con un incremento de los mapas más complejos (tipo III) (33% vs. 62%) y una reducción de los mapas con complejidad intermedia (tipo II) (60% vs. 36%) y complejidad baja (tipo I) (7% vs. 2%). Sin embargo, no se observaron diferencias en los porcentajes de patrones de afloramiento (pre-estiramiento: 10%, estiramiento: 12%, post-estiramiento: 12%, ns) ni en los porcentajes de patrones de reentrada completa (pre-estiramiento: 1%, estiramiento: 2%, post-estiramiento: 1%, ns) (figura 3.6). En la ZNE, no se

3. Resultados

registraron cambios en los porcentajes de los tres tipos de mapas, ni en los porcentajes de patrones de afloramiento y patrones de reentrada.

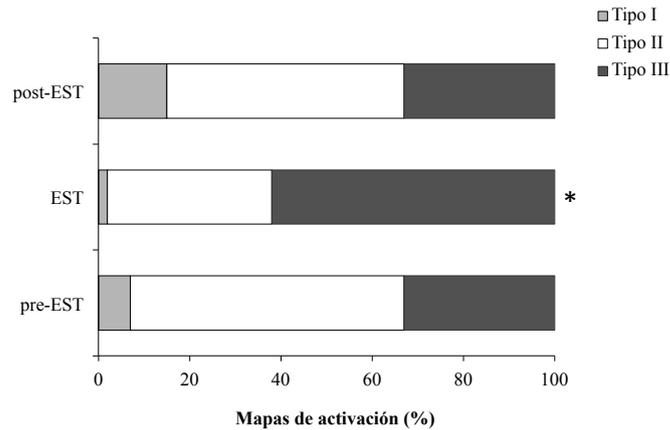


Figura 3.5. Porcentajes de los tipos de mapas de activación de acuerdo a su complejidad (tipo I, II o III), observados en la zona estirada en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo. Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST.

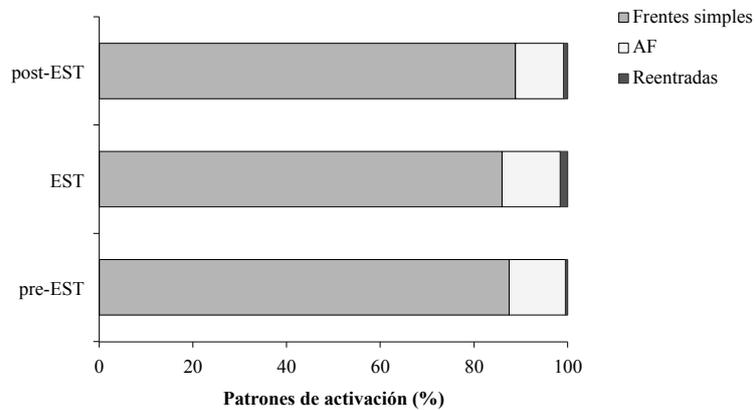


Figura 3.6. Porcentajes de los patrones de activación (frentes de onda simples, afloramientos y reentradas), observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo. Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento; AF = afloramientos.

Concentración espectral (CE)

En la ZE, la CE disminuyó durante el estiramiento (28 ± 9 % vs. 18 ± 3 %, $p < 0,05$) y volvió a sus valores basales tras retirarlo (29 ± 8 %) (tabla 3.1). Durante y tras el estiramiento, no se observaron variaciones significativas en la ZNE.

Tabla 3.1. Concentración espectral y parámetros electrofisiológicos durante la FV, en las tres fases estudiadas, en la ZE y la ZNE (n=9).

	ZE			ZNE		
	pre-EST	EST	post-EST	pre-EST	EST	post-EST
CE (%)	28 ± 9	18 ± 3 *	29 ± 8	33 ± 9	29 ± 9	29 ± 5
PRFFV (ms)	54 ± 12	38 ± 5 *	56 ± 7	53 ± 9	48 ± 6	53 ± 4
VC (cm/s)	47 ± 4	49 ± 3	47 ± 4	45 ± 3	45 ± 2	44 ± 3

CE: concentración espectral; PRFFV: periodo refractario funcional durante la FV; VC: velocidad de conducción; ZE: zona modificada por el estiramiento; pre-EST: antes del estiramiento; EST: durante el estiramiento; post-EST: tras suprimir el estiramiento. Las variables se expresan como media \pm desviación estándar. * $p < 0,05$ vs. pre-EST.

3.1.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos

La tabla 3.1 muestra el periodo refractario funcional determinado durante la FV (PRFFV), estimado a partir del percentil 5 de los intervalos VV, y la velocidad de conducción (VC) en las dos zonas de estudio y en cada una de las tres fases experimentales. En la ZE, el PRFFV disminuyó durante el estiramiento (54 ± 12 vs. 38 ± 5 ms, $p < 0,05$, disminución del 27%) y tras suprimirlo adquirió valores similares a los obtenidos antes de estirar (56 ± 7 ms), mientras que la ZNE no mostró diferencias significativas. La velocidad de conducción durante la FV no varió significativamente en ninguna de las dos zonas durante las tres fases experimentales.

3. Resultados

3.2 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por el losartán

En esta serie de experimentos se estudiaron las modificaciones producidas por el bloqueo de los receptores tipo 1 de angiotensina II mediante losartán sobre los efectos electrofisiológicos del estiramiento local miocárdico.

3.2.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV

Frecuencia dominante (FD)

La figura 3.7 muestra la evolución en el tiempo de la FD (en Hz) en la ZE para la serie control y la serie bajo la acción del losartán. En la serie losartán, se observó un aumento de la FD tras el estiramiento, al igual que en la serie control (apartado 3.1.1). Las diferencias con respecto a los valores basales –pre-estiramiento– ($14,7 \pm 1,5$ Hz) fueron significativas ($p < 0,05$) desde el minuto 2 de la aplicación del mismo y el efecto máximo se alcanzó en el minuto 3 ($20,0 \pm 3,9$ Hz, incremento del 36%). Después de suprimir el estiramiento, la FD volvió a sus valores basales.

3. Resultados

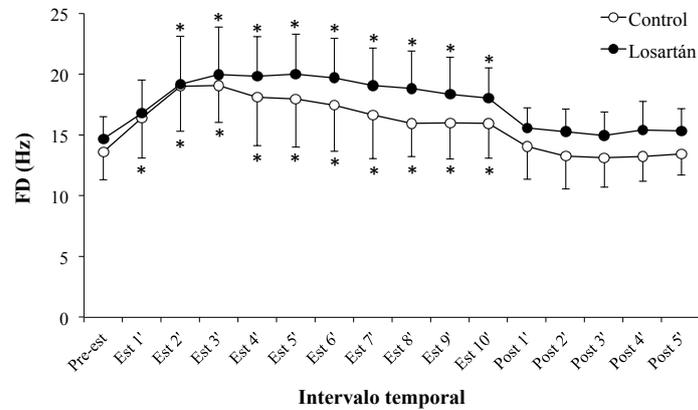


Figura 3.7. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida inmediatamente antes del estiramiento, durante cada minuto del periodo de estiramiento (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (5 minutos). Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; losartán: n=8). Abreviaturas: Pre-est = antes del estiramiento; Est = periodo de estiramiento en los minutos 1-10; Post = periodo de post-estiramiento en los minutos 1-5. * $p < 0,05$ vs. Pre-est.

La figura 3.8 muestra los valores de la FD en la ZE, para las series control y losartán, en las tres fases experimentales (pre-estiramiento, estiramiento y post-estiramiento). La FD en situación pre-estiramiento fue similar en las series control y losartán ($13,6 \pm 2,3$ vs. $14,7 \pm 1,5$ Hz, ns) y aumentó durante el estiramiento en ambas series. En cuanto al máximo alcanzado durante el mismo, no se observaron diferencias significativas entre ambas series ($19,1 \pm 3,1$ vs. $20,0 \pm 3,9$ Hz, ns). El porcentaje de incremento de la FD respecto al valor pre-estiramiento fue de un 36% en la serie losartán (ns vs. control). Del mismo modo, las diferencias post-estiramiento entre ambas series tampoco fueron significativas ($13,1 \pm 2,4$ vs. $14,9 \pm 2,0$ Hz, ns).

3. Resultados

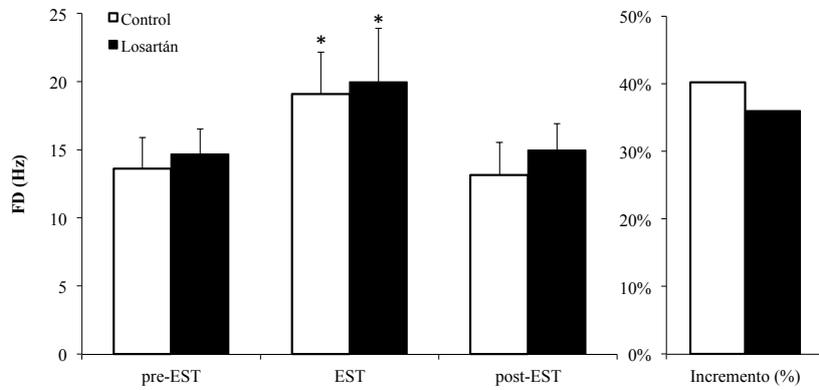


Figura 3.8. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; losartán: n=8) y el incremento (%) de la FD respecto al valor pre-estiramiento. Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST.

La figura 3.9 muestra los valores de la FD en la ZNE, para las series control y losartán, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en la FD con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción del losartán.

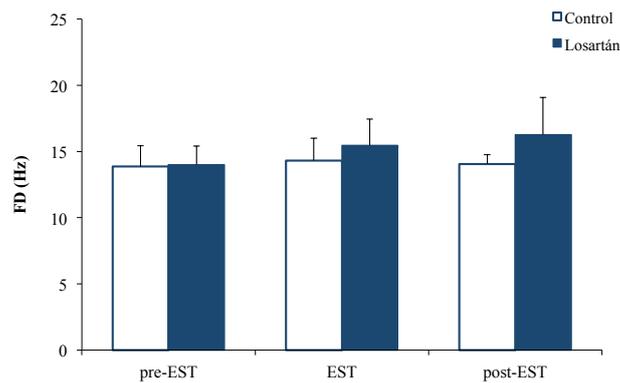


Figura 3.9. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZNE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; losartán: n=8). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento.

Intervalos VV

La figura 3.10 muestra los valores del intervalo VV medio en la ZE para las series control y losartán, en las tres fases experimentales. En la serie losartán, se observó una disminución significativa del intervalo VV durante el estiramiento (77 ± 7 vs. 63 ± 11 ms, $p < 0,05$). Antes de estirar, el VV fue similar en las series control y losartán (78 ± 12 vs. 77 ± 7 ms, ns) y, durante el estiramiento, alcanzó valores similares en ambas series (62 ± 9 vs. 63 ± 11 ms, ns). Del mismo modo, el valor VV post-estiramiento fue semejante en ambas series (81 ± 9 vs. 77 ± 6 ms, ns).

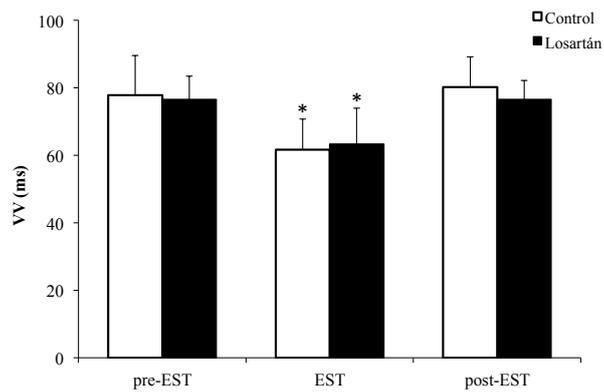


Figura 3.10. Intervalo VV durante la FV en la ZE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: $n=9$; losartán: $n=8$). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST.

La figura 3.11 muestra los valores del intervalo VV en la ZNE, para las series control y losartán, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en el VV con respecto a los valores pre-estiramiento, en ninguna de las 2 series.

3. Resultados

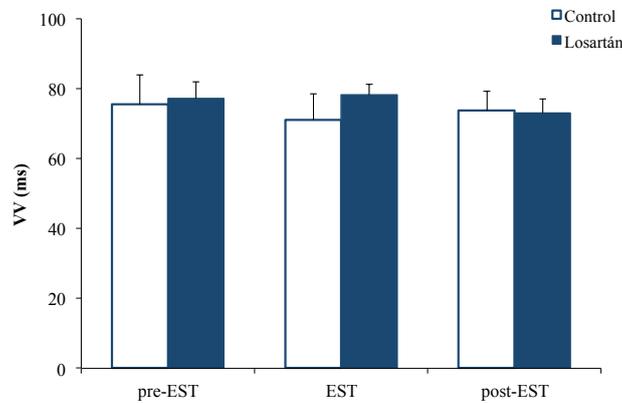


Figura 3.11. Intervalo VV durante la FV en la ZNE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: $n=9$; losartán: $n=8$). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento.

3.2.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV

Complejidad de la activación

La figura 3.12 muestra la complejidad de la activación miocárdica durante la FV (en la ZE) para las series control y losartán, evaluada mediante los porcentajes de los tres tipos de mapas de activación, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento local, las variaciones de la complejidad fueron similares en la serie control y losartán. De hecho, en la serie losartán, se produjo un aumento significativo de la complejidad ($p < 0,05$), con un incremento de los mapas tipo III (25% vs. 69%) y una reducción de los mapas con complejidad intermedia (58% vs. 27%) y complejidad baja (17% vs. 4%). Antes y después del estiramiento, no se observaron diferencias en la complejidad entre ambas series.

3. Resultados

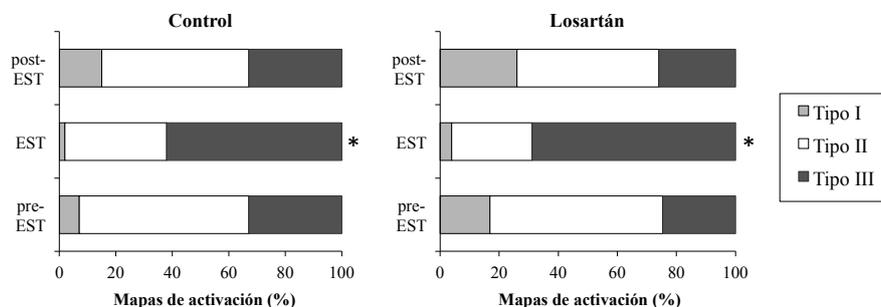


Figura 3.12. Porcentajes de los tipos de mapas de activación de acuerdo a su complejidad (tipo I, II o III), observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control (n=9) y losartán (n=8). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. *p<0,05 vs. pre-EST.

Por otro lado, en la serie losartán, no se observaron diferencias en los porcentajes de patrones de afloramiento (pre-estiramiento: 16%, estiramiento: 10%, post-estiramiento: 20%, ns) ni en los porcentajes de patrones de reentrada (pre-estiramiento: 4%, estiramiento: 1%, post-estiramiento: 2%, ns). Además, estos porcentajes fueron similares a los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento (figura 3.13). En la ZNE, no se registraron cambios en los porcentajes de los tres tipos de mapas, ni en los porcentajes patrones de afloramiento y patrones de reentrada.

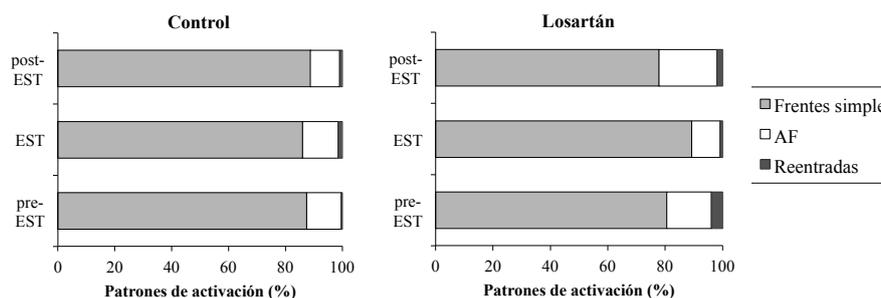


Figura 3.13. Porcentajes de los patrones de activación, observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control (n=9) y losartán (n=8). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento; AF = afloramientos.

3. Resultados

Concentración espectral (CE)

En la ZE, la CE disminuyó durante el estiramiento en la serie losartán ($25 \pm 7 \%$ vs. $18 \pm 5 \%$, $p < 0,05$) y volvió a sus valores basales tras retirarlo ($30 \pm 7 \%$) (tabla 3.2). Antes de estirar, las diferencias entre las series control y losartán no fueron significativas ($28 \pm 9 \%$ vs. $25 \pm 7 \%$, ns) y, durante el estiramiento, la disminución registrada fue similar en ambas series ($18 \pm 3 \%$ vs. $18 \pm 5 \%$, ns). Del mismo modo, la CE post-estiramiento fue semejante en ambas series ($29 \pm 8 \%$ vs. $30 \pm 7 \%$, ns). Durante y tras el estiramiento, no se observaron variaciones significativas en la ZNE.

Tabla 3.2. Concentración espectral y parámetros electrofisiológicos durante la FV, en las tres fases estudiadas, en la ZE y la ZNE, en las series control y losartán.

	ZE			ZNE		
	pre-EST	EST	post-EST	pre-EST	EST	post-EST
Control (n=9)						
CE (%)	28 ± 9	$18 \pm 3^*$	29 ± 8	33 ± 9	29 ± 9	29 ± 5
PRFFV (ms)	54 ± 12	$38 \pm 5^*$	56 ± 7	53 ± 9	48 ± 6	53 ± 4
VC (cm/s)	47 ± 4	49 ± 3	47 ± 4	45 ± 3	45 ± 2	44 ± 3
Losartán (n=8)						
CE (%)	25 ± 7	$18 \pm 5^*$	30 ± 7	25 ± 9	24 ± 8	25 ± 7
PRFFV (ms)	47 ± 9	$39 \pm 6^*$	51 ± 8	53 ± 5	47 ± 6	51 ± 5
VC (cm/s)	48 ± 5	50 ± 4	46 ± 4	46 ± 4	47 ± 5	45 ± 2

CE: concentración espectral; PRFFV: periodo refractario funcional durante la FV; VC: velocidad de conducción; ZE: zona modificada por el estiramiento; pre-EST: antes del estiramiento; EST: durante el estiramiento; post-EST: tras suprimir el estiramiento. Las variables se expresan como media \pm desviación estándar. * $p < 0,05$ vs. pre-EST.

3.2.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos

La tabla 3.2 muestra el periodo refractario funcional durante la FV (PRFFV), estimado a partir del percentil 5 de los intervalos VV, y la velocidad de conducción (VC) en la ZE para las series control y losartán, en cada una de las tres fases experimentales. En la serie losartán, el PRFFV disminuyó durante el estiramiento (47 ± 9 vs. 39 ± 6 ms, $p < 0,05$) y tras suprimirlo adquirió valores similares a los obtenidos antes de estirar (51 ± 8 ms). Antes de estirar, el PRFFV fue similar en las series control y losartán (54 ± 12 vs. 47 ± 9 ms, ns) y, durante el estiramiento, alcanzó valores similares en ambas series (38 ± 5 vs. 39 ± 6 ms, ns). Del mismo modo, el valor del PRFFV post-estiramiento fue semejante en ambas series (56 ± 7 vs. 51 ± 8 ms, ns). En la ZNE, no se registraron cambios en el PRFFV ni durante ni tras el estiramiento.

La velocidad de conducción durante la FV en la ZE no varió significativamente durante el estiramiento bajo la acción del losartán (al igual que en la serie control). Además, los valores de VC fueron similares a los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE tampoco mostró variaciones significativas en la VC con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción del losartán.

3. Resultados

3.3 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por el BQ-123

En esta serie de experimentos se estudiaron las modificaciones producidas por el bloqueo de los receptores tipo A de endotelina mediante BQ-123 sobre los efectos electrofisiológicos del estiramiento local miocárdico.

3.3.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV

Frecuencia dominante (FD)

La figura 3.14 muestra la evolución en el tiempo de la FD (en Hz) en la ZE para la serie control y la serie bajo la acción del BQ-123. En la serie BQ-123, se observó un aumento de la FD tras el estiramiento, al igual que en la serie control (apartado 3.1.1). Las diferencias con respecto a los valores basales –pre-estiramiento– ($14,8 \pm 2,2$ Hz) fueron significativas ($p < 0,05$) desde el minuto 2 de la aplicación del mismo y el efecto máximo se alcanzó en el minuto 3 ($21,7 \pm 2,7$ Hz, incremento del 46%). Después de suprimir el estiramiento, la FD volvió a sus valores basales.

3. Resultados

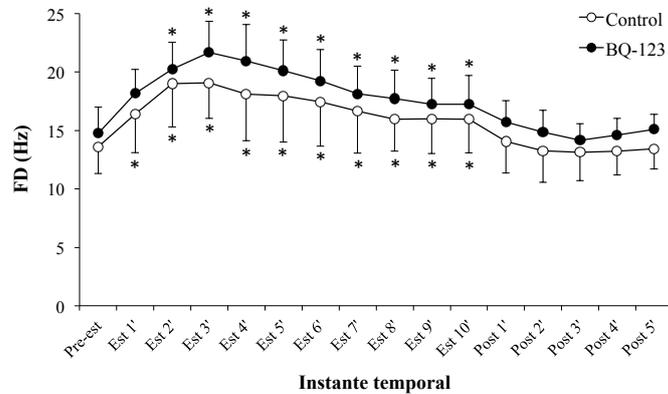


Figura 3.14. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida inmediatamente antes del estiramiento, durante cada minuto del periodo de estiramiento (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (5 minutos). Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; BQ-123: n=9). Abreviaturas: Pre-est = antes del estiramiento; Est = periodo de estiramiento en los minutos 1-10; Post = periodo de post-estiramiento en los minutos 1-5. * $p < 0,05$ vs. Pre-est.

La figura 3.15 muestra los valores de la FD en la ZE, para las series control y BQ-123, en las tres fases experimentales (pre-estiramiento, estiramiento y post-estiramiento). La FD en situación pre-estiramiento fue similar en las series control y BQ-123 ($13,6 \pm 2,3$ vs. $14,8 \pm 2,2$ Hz, ns) y aumentó durante el estiramiento en ambas series. En cuanto al máximo alcanzado durante el mismo, no se observaron diferencias significativas entre ambas series ($19,1 \pm 3,1$ Hz vs. $21,7 \pm 2,7$ Hz, ns). El porcentaje de incremento de la FD respecto al valor pre-estiramiento fue de un 46% en la serie BQ-123 (ns vs. control). Del mismo modo, las diferencias post-estiramiento entre ambas series tampoco fueron significativas ($13,1 \pm 2,4$ Hz vs. $14,4 \pm 2,1$ Hz, ns).

3. Resultados

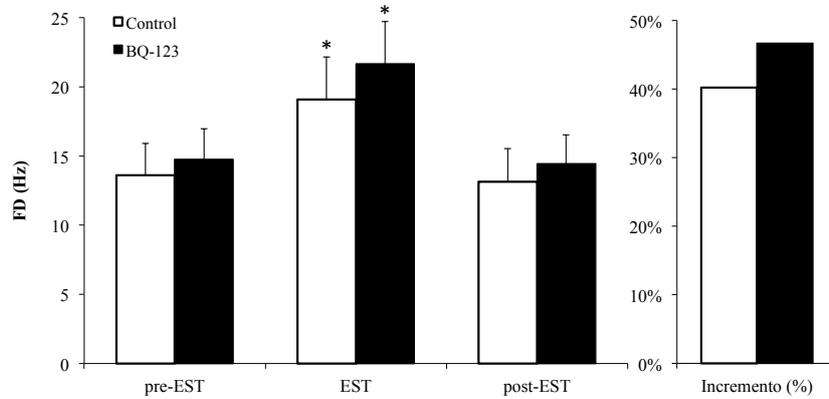


Figura 3.15. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; BQ-123: n=9) y el incremento (%) de la FD respecto al valor pre-estiramiento. Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST.

La figura 3.16 muestra los valores de la FD en la ZNE, para las series control y BQ-123, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en la FD con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción del BQ-123.

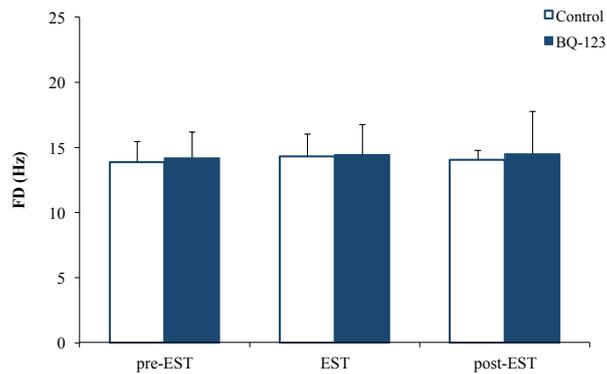


Figura 3.16. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZNE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; BQ-123: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento.

Intervalos VV

La figura 3.17 muestra los valores del intervalo VV medio en la ZE para las series control y BQ-123, en las tres fases experimentales. En la serie BQ-123, se observó una disminución significativa del intervalo VV durante el estiramiento (72 ± 8 vs. 56 ± 6 ms, $p < 0,05$). Antes de estirar, el VV fue similar en las series control y BQ-123 (78 ± 12 vs. 72 ± 8 ms, ns) y, durante el estiramiento, alcanzó valores similares en ambas series (62 ± 9 vs. 56 ± 6 ms, ns). Del mismo modo, el valor VV post-estiramiento fue semejante en ambas series (81 ± 9 vs. 74 ± 8 ms, ns).

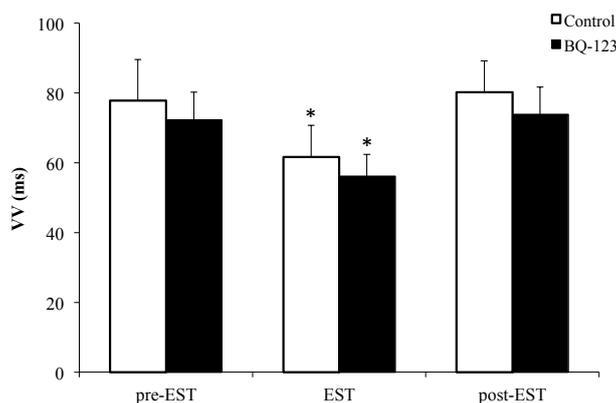


Figura 3.17. Intervalo VV durante la FV en la ZE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: $n=9$; BQ-123: $n=9$). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST.

La figura 3.18 muestra los valores del intervalo VV en la ZNE, para las series control y BQ-123, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en el VV con respecto a los valores pre-estiramiento, en ninguna de las 2 series.

3. Resultados

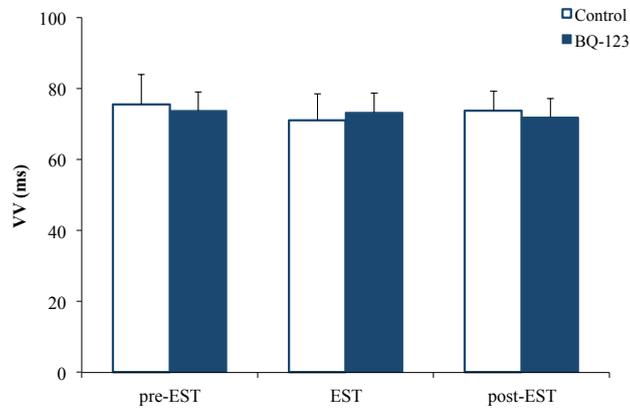


Figura 3.18. Intervalo VV durante la FV en la ZNE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; BQ-123: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento.

3.3.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV

Complejidad de la activación

La figura 3.19 muestra la complejidad de la activación miocárdica durante la FV (en la ZE) para las series control y BQ-123, evaluada mediante los porcentajes de los tres tipos de mapas de activación, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento local, las variaciones de la complejidad fueron similares en la serie control y BQ-123. De hecho, en la serie BQ-123, se produjo un aumento significativo de la complejidad ($p < 0,05$), con un incremento de los mapas tipo III (28% vs. 70%) y una reducción de los mapas con complejidad intermedia (59% vs. 28%) y complejidad baja (13% vs. 2%). Antes y después del estiramiento, las diferencias en los porcentajes de los tipos de mapas entre ambas series no fueron significativas.

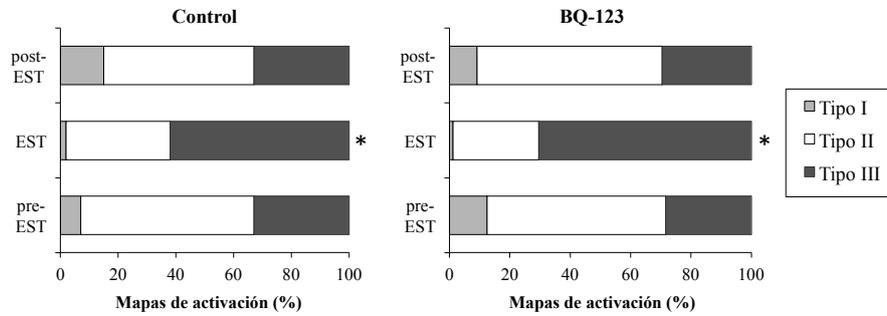


Figura 3.19. Porcentajes de los tipos de mapas de activación de acuerdo a su complejidad (tipo I, II o III), observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control (n=9) y BQ-123 (n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST=post-estiramiento. *p<0,05 vs. pre-EST.

Por otro lado, en la serie BQ-123, no se observaron diferencias en los porcentajes de patrones de afloramiento (pre-estiramiento: 14%, estiramiento: 9%, post-estiramiento: 9%, ns) ni en los porcentajes de patrones de reentrada completa (pre-estiramiento: 1%, estiramiento: 2%, post-estiramiento: 1%, ns). Además, estos porcentajes fueron similares a los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento (figura 3.20). En la ZNE, no se registraron cambios en los porcentajes de los tres tipos de mapas, ni en los porcentajes de patrones de afloramiento y patrones de reentrada.

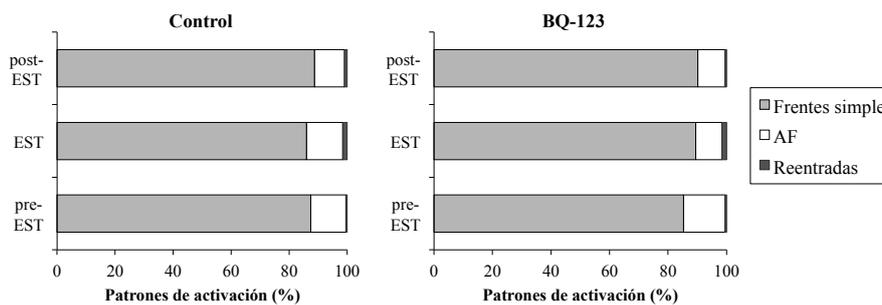


Figura 3.20. Porcentajes de los patrones de activación, observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control (n=9) y BQ-123 (n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento; AF = afloramientos.

3. Resultados

Concentración espectral (CE)

En la ZE, la CE disminuyó durante el estiramiento en la serie BQ-123 (27 ± 10 % vs. 18 ± 4 %, $p < 0,05$) y volvió a sus valores basales tras retirarlo (30 ± 9 %) (tabla 3.3). Antes de estirar, las diferencias entre las series control y BQ-123 no fueron significativas (28 ± 9 % vs. 27 ± 10 %, ns) y, durante el estiramiento, la disminución registrada fue similar en ambas series (18 ± 3 % vs. 18 ± 4 %, ns). Del mismo modo, la CE post-estiramiento fue semejante en ambas series (29 ± 8 % vs. 30 ± 9 %, ns). Durante y tras el estiramiento, no se observaron variaciones significativas en la ZNE.

Tabla 3.3. Concentración espectral y parámetros electrofisiológicos durante la FV, en las tres fases estudiadas, en la ZE y la ZNE, en las series control y BQ-123.

	ZE			ZNE		
	Pre-EST	EST	Post-EST	Pre-EST	EST	Post-EST
Control (n=9)						
CE (%)	28 ± 9	18 ± 3 *	29 ± 8	33 ± 9	29 ± 9	29 ± 5
PRFFV (ms)	54 ± 12	38 ± 5 *	56 ± 7	53 ± 9	48 ± 6	53 ± 4
VC (cm/s)	47 ± 4	49 ± 3	47 ± 4	45 ± 3	45 ± 2	44 ± 3
BQ-123 (n=9)						
CE (%)	27 ± 10	18 ± 4 *	30 ± 9	28 ± 7	27 ± 9	28 ± 8
PRFFV (ms)	46 ± 7	35 ± 3 *	50 ± 7	52 ± 3	51 ± 2	52 ± 4
VC (cm/s)	53 ± 7	56 ± 10	51 ± 8	50 ± 7	51 ± 6	48 ± 7

CE: concentración espectral; PRFFV: periodo refractario funcional durante la FV; VC: velocidad de conducción; ZE: zona modificada por el estiramiento. Pre-EST: antes del estiramiento; EST: durante el estiramiento; Post-EST: tras suprimir el estiramiento. Las variables se expresan como media \pm desviación estándar. * $p < 0,05$ vs. pre-EST

3.3.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos

La tabla 3.3 muestra el periodo refractario funcional determinado durante la FV (PRFFV), estimado a partir del percentil 5 de los intervalos VV, y la velocidad de conducción (VC) en la ZE para las series control y BQ-123, en cada una de las tres fases experimentales. En la serie BQ-123, el PRFFV disminuyó durante el estiramiento (46 ± 7 vs. 35 ± 3 ms, $p < 0,05$) y tras suprimirlo adquirió valores similares a los obtenidos antes de estirar (50 ± 7 ms). Antes de estirar, el PRFFV fue similar en las series control y BQ-123 (54 ± 12 vs. 46 ± 7 ms, ns) y, durante el estiramiento, alcanzó valores similares en ambas series (38 ± 5 vs. 35 ± 3 ms, ns). Del mismo modo, el valor del PRFFV post-estiramiento fue semejante en ambas series (56 ± 7 vs. 50 ± 7 ms, ns). En la ZNE, no se registraron cambios en el PRFFV ni durante ni tras el estiramiento.

La velocidad de conducción durante la FV en la ZE no varió significativamente durante el estiramiento bajo la acción del BQ-123 (al igual que en la serie control). Además, los valores de VC fueron similares a los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE tampoco mostró variaciones significativas en la VC con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción del BQ-123.

3. Resultados

3.4 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por el EIPA

En esta serie de experimentos se estudiaron las modificaciones producidas por la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ mediante EIPA sobre los efectos electrofisiológicos del estiramiento local miocárdico.

3.4.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV

Frecuencia dominante (FD)

La figura 3.21 muestra la evolución en el tiempo de la FD (en Hz) en la ZE para la serie control y la serie bajo la acción del EIPA. En la serie EIPA, se observó un aumento de la FD tras el estiramiento, pero este incremento fue menor que el producido en la serie control (41% vs. 22%, $p < 0,05$). Las diferencias con respecto a los valores basales –pre-estiramiento– ($10,3 \pm 1,4$ Hz) fueron significativas únicamente en el minuto 3 del estiramiento donde se alcanzó el efecto máximo ($12,6 \pm 3,0$ Hz, incremento del 22%). Después de suprimir el estiramiento, la FD fue menor que en la situación pre-estiramiento.

3. Resultados

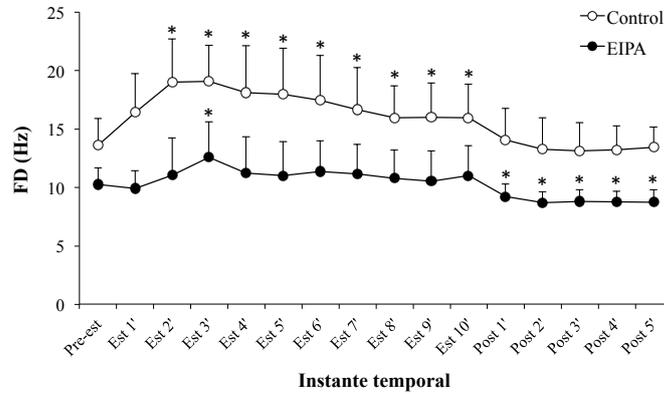


Figura 3.21. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida inmediatamente antes del estiramiento, durante cada minuto del periodo de estiramiento (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (5 minutos). Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; EIPA: n=9). Abreviaturas: Pre-est = antes del estiramiento; Est = periodo de estiramiento en los minutos 1-10; Post = periodo de post-estiramiento en los minutos 1-5. * $p < 0,05$ vs. Pre-est.

La figura 3.22 muestra los valores de la FD en la ZE, para las series control y EIPA, en las tres fases experimentales (pre-estiramiento, estiramiento y post-estiramiento). En situación pre-estiramiento, la FD en la serie EIPA fue menor que en la serie control ($13,6 \pm 2,3$ vs. $10,3 \pm 1,4$ Hz, $p < 0,05$). La FD aumentó durante el estiramiento en ambas series y, en cuanto al máximo alcanzado durante el mismo, la FD fue menor en la serie EIPA que en la serie control ($19,1 \pm 3,1$ vs. $12,6 \pm 3,0$ Hz, $p < 0,05$). El porcentaje de incremento de la FD respecto al valor pre-estiramiento fue de un 22% en la serie EIPA ($p < 0,05$ vs. control). Del mismo modo, las diferencias post-estiramiento con respecto a la serie control también fueron significativas ($13,1 \pm 2,4$ vs. $8,7 \pm 1,1$ Hz, $p < 0,05$).

3. Resultados

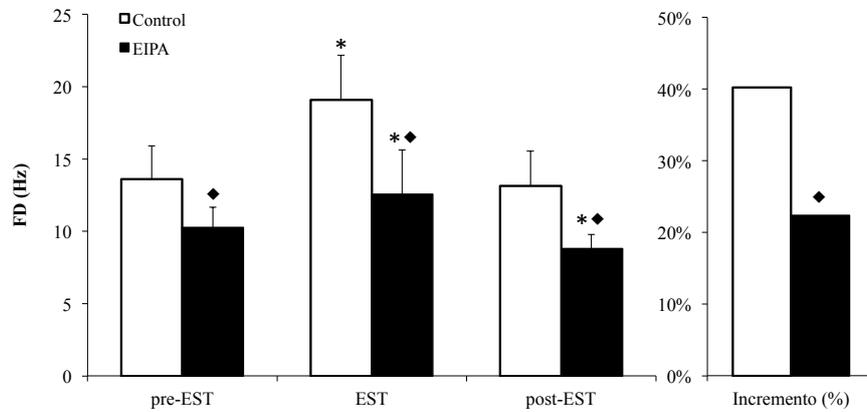


Figura 3.22. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; EIPA: n=9) y el incremento (%) de la FD respecto al valor pre-estiramiento. Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST; ◆ $p < 0,05$ vs. control.

La figura 3.23 muestra los valores de la FD en la ZNE, para las series control y EIPA, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento, la ZNE no mostró variaciones significativas en la FD con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción del EIPA. Sin embargo, tras la supresión del estiramiento, la FD fue menor que en la situación pre-estiramiento, en el mismo sentido que en la ZE. Además y del mismo modo que en la ZE, la FD en la serie EIPA fue menor que en la serie control, en las tres fases experimentales.

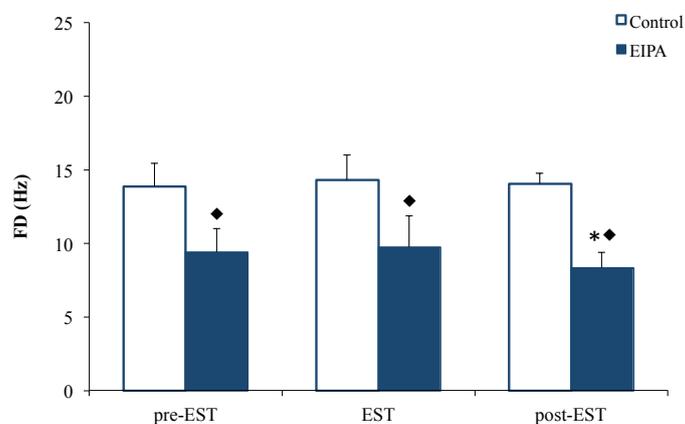


Figura 3.23. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZNE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; EIPA: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST; ◆ $p < 0,05$ vs. control.

Intervalos VV

La figura 3.24 muestra los valores del intervalo VV medio en la ZE para las series control y EIPA, en las tres fases experimentales. En la serie EIPA, la disminución del intervalo VV observada durante el estiramiento no alcanzó significación estadística (103 ± 17 vs. 95 ± 21 ms, ns), siendo esta disminución menor que en la serie control (22% vs. 9%, $p < 0,05$). Antes de estirar, el VV fue mayor en la serie EIPA que en la serie control (78 ± 12 vs. 103 ± 17 ms, $p < 0,05$), y durante el estiramiento, el valor de VV fue menor en la serie EIPA que en la serie control (62 ± 9 vs. 95 ± 21 ms, $p < 0,05$). Del mismo modo, comparándolo con la serie control, el valor VV post-estiramiento fue mayor en la serie EIPA (81 ± 9 vs. 119 ± 16 ms, $p < 0,05$).

La figura 3.25 muestra los valores del intervalo VV en la ZNE, para las series control y EIPA, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones

3. Resultados

significativas en el VV con respecto a los valores pre-estiramiento, en ninguna de las 2 series. Sin embargo, y al igual que en la ZE, los valores del intervalo VV en la serie EIPA fueron mayores que en la serie control, en las tres fases experimentales.

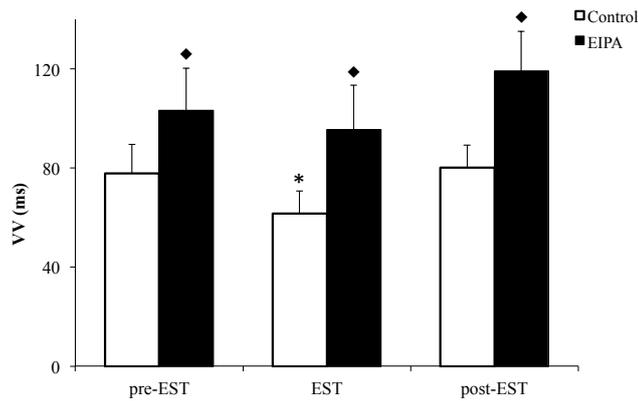


Figura 3.24. Intervalo VV durante la FV en la ZE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; EIPA: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. *p<0,05 vs. pre-EST ♦p<0,05 vs. control.

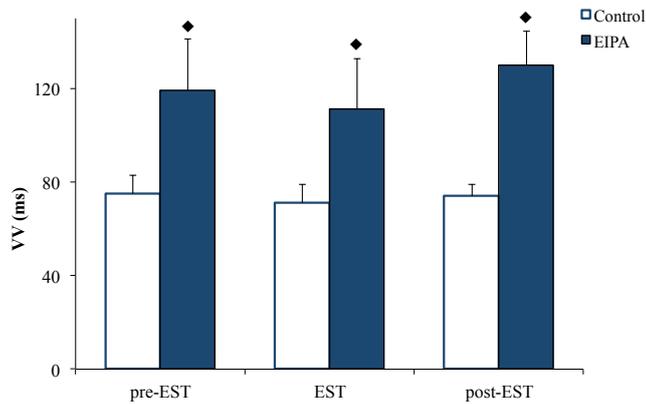


Figura 3.25. Intervalo VV durante la FV en la ZNE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; EIPA: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. ♦p<0,05 vs. control.

3.4.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV

Complejidad de la activación

La figura 3.26 muestra la complejidad de la activación miocárdica durante la FV (en la ZE) para las series control y EIPA, evaluada mediante los porcentajes de los tres tipos de mapas de activación, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento local, la complejidad de la activación no aumentó en la serie EIPA (con respecto a la complejidad basal), manteniéndose los porcentajes de los tipos de mapas. Antes del estiramiento, la complejidad en la serie EIPA fue significativamente menor que en la serie control ($p < 0,05$), con un mayor porcentaje de los mapas más simples (tipo I) (7% vs. 20%). Durante el estiramiento, la complejidad también fue menor en la serie EIPA ($p < 0,05$) (figura 3.27), con un mayor porcentaje de los mapas de complejidad baja (tipo I) (2% vs. 28%) y de complejidad intermedia (tipo II) (36% vs. 57%), y un menor porcentaje de los mapas más complejos (tipo III) (62% vs. 15%, $p < 0,05$). Tras suprimir el estiramiento, la serie EIPA también mostró menor complejidad que la serie control, con un mayor porcentaje de los mapas menos complejos (tipo I) (15% vs. 33%).

3. Resultados

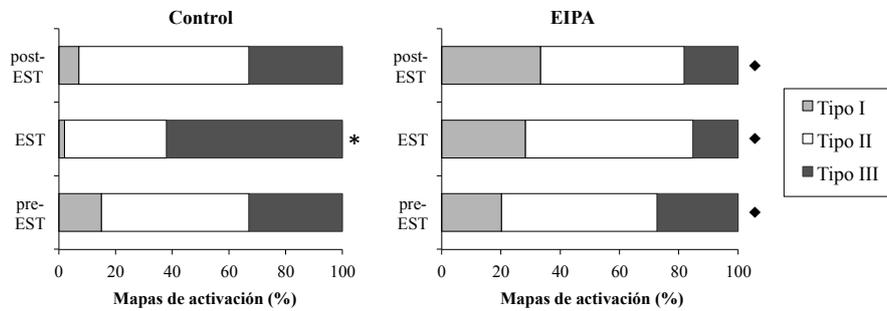


Figura 3.26. Porcentajes de los tipos de mapas de activación de acuerdo a su complejidad (tipo I, II o III), observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control (n=9) y EIPA (n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST=post-estiramiento. *p<0,05 vs. pre-EST; ♦p<0,05 vs. control.

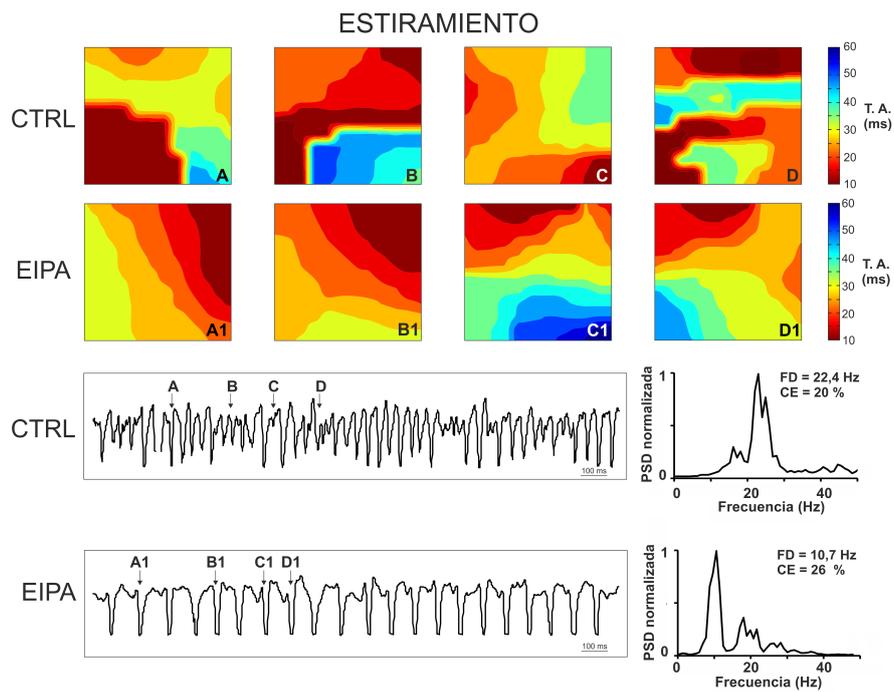


Figura 3.27. Mapas de activación, electrograma y espectro de potencia obtenidos durante la fase de estiramiento en un experimento de la serie control y en un experimento de la serie EIPA. Abreviaturas: T.A. = tiempo de activación; CTRL = control; FD = frecuencia dominante; CE = concentración espectral.

3. Resultados

Por otro lado, en la serie EIPA, no se observaron diferencias en los porcentajes de patrones de afloramiento (pre-estiramiento: 15%, estiramiento: 11%, post-estiramiento: 11%, ns) ni en los porcentajes de patrones de reentrada completa (pre-estiramiento: 1%, estiramiento: 3%, post-estiramiento: 3%, ns). Además, estos porcentajes fueron similares a los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento (figura 3.28). En la ZNE, no se registraron cambios en los porcentajes de los tres tipos de mapas, ni en los porcentajes de patrones de afloramiento y patrones de reentrada.

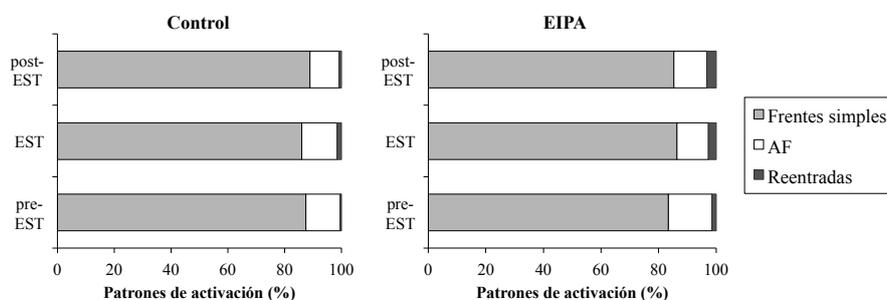


Figura 3.28. Porcentajes de los patrones de activación, observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control ($n=9$) y EIPA ($n=9$). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento; AF = afloramientos.

Concentración espectral (CE)

En la ZE, la CE disminuyó durante el estiramiento en la serie EIPA ($35 \pm 14\%$ vs. $26 \pm 9\%$, $p < 0,05$). Tras suprimirlo, los valores de CE fueron superiores a los de la situación pre-estiramiento ($35 \pm 14\%$ vs. $45 \pm 17\%$) (tabla 3.4). Antes de estirar, las diferencias entre las series control y EIPA no fueron significativas ($28 \pm 9\%$ vs. $35 \pm 14\%$, ns). Durante el estiramiento, los valores de CE en la serie EIPA fueron mayores que en la serie control ($18 \pm 3\%$ vs. $26 \pm 9\%$, $p < 0,05$) (ver espectros en la figura 3.27). Del mismo modo, la CE post-estiramiento en la serie EIPA fue mayor que en la serie control ($29 \pm$

3. Resultados

8 % vs. 45 ± 17 %, ns). Durante el estiramiento, no se observaron variaciones significativas en la ZNE en ninguna de las dos series. Sin embargo, tras la supresión del mismo, se observó un aumento de la CE en la serie EIPA (con respecto al valor basal). Además, este valor fue mayor en la serie EIPA que en la serie control.

Tabla 3.4. Concentración espectral y parámetros electrofisiológicos durante la FV, en las tres fases estudiadas, en la ZE y la ZNE, en las series control y EIPA.

	ZE			ZNE		
	Pre-EST	EST	Post-EST	Pre-EST	EST	Post-EST
Control (n=9)						
CE (%)	28 ± 9	$18 \pm 3^*$	29 ± 8	33 ± 9	29 ± 9	29 ± 6
PRFFV (ms)	54 ± 12	$38 \pm 5^*$	56 ± 7	53 ± 9	48 ± 6	53 ± 4
VC (cm/s)	47 ± 4	49 ± 3	47 ± 4	45 ± 3	45 ± 2	44 ± 3
EIPA (n=9)						
CE (%)	35 ± 14	$26 \pm 9^{*\diamond}$	$45 \pm 17^{*\diamond}$	34 ± 13	32 ± 11	$41 \pm 12^{*\diamond}$
PRFFV (ms)	68 ± 21	$63 \pm 17^\diamond$	$80 \pm 24^\diamond$	67 ± 16	$71 \pm 19^\diamond$	$76 \pm 17^\diamond$
VC (cm/s)	$39 \pm 4^\diamond$	$42 \pm 2^\diamond$	$39 \pm 6^\diamond$	$37 \pm 3^\diamond$	$39 \pm 3^\diamond$	$38 \pm 4^\diamond$

CE: concentración espectral; PRFFV: periodo refractario funcional durante la FV; VC: velocidad de conducción; ZE: zona modificada por el estiramiento. Pre-EST: antes del estiramiento; EST: durante el estiramiento; Post-EST: tras suprimir el estiramiento. Las variables se expresan como media \pm desviación estándar. $^*p < 0,05$ vs. pre-EST; $^\diamond p < 0,05$ vs. control.

3.4.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos

La tabla 3.4 muestra el periodo refractario funcional determinado durante la FV (PRFFV), estimado a partir del percentil 5 de los intervalos VV, y la velocidad de conducción (VC) en la ZE para las series control y EIPA, en cada una de las tres fases experimentales. En la serie EIPA, el PRFFV no varió durante el estiramiento (68 ± 21 vs. 63 ± 17 ms, ns). Antes de estirar, el PRFFV fue ligeramente pero no significativamente mayor ($p=0,062$) en la serie EIPA, y durante el estiramiento, fue mayor en la serie EIPA que en la serie control (38 ± 5 vs. 63 ± 17 ms, $p<0,05$). Del mismo modo, el valor del PRFFV post-estiramiento fue mayor en la serie EIPA que en la serie control (56 ± 7 vs. 80 ± 24 ms, $p<0,05$). Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en el PRFFV con respecto a los valores pre-estiramiento, en ninguna de las 2 series. Sin embargo, y al igual que en la ZE, los valores del PRFFV en la serie EIPA fueron mayores que en la serie control, en las fases de estiramiento y post-estiramiento.

La velocidad de conducción durante la FV ZE no varió significativamente durante el estiramiento bajo la acción del EIPA (39 ± 4 vs. 42 ± 2 cm/s, ns). Además, los valores de VC fueron menores que los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en la VC con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción del EIPA. Sin embargo, y al igual que en la ZE, los valores de VC en la serie EIPA fueron menores que en la serie control, antes, durante y tras el estiramiento.

3. Resultados

3.5 Modificaciones de los efectos del estiramiento local miocárdico producidas por la ranolazina

En esta serie de experimentos se estudiaron las modificaciones producidas por la ranolazina (inhibidor de la corriente tardía de Na⁺) sobre los efectos electrofisiológicos del estiramiento local miocárdico.

3.5.1 Efectos del estiramiento local sobre la frecuencia de activación durante la FV

Frecuencia dominante (FD)

La figura 3.29 muestra la evolución en el tiempo de la FD (en Hz) en la ZE para la serie control y la serie bajo la acción de la ranolazina. En la serie ranolazina, se observó un aumento de la FD tras el estiramiento, pero este incremento fue significativamente menor que el producido en la serie control (41% vs. 23%, $p < 0,05$). Las diferencias con respecto a los valores basales –pre-estiramiento– ($11,4 \pm 1,8$ Hz) fueron significativas ($p < 0,05$) desde el minuto 1 de la aplicación del mismo y hasta el minuto 3, donde se alcanzó el efecto máximo ($14,0 \pm 2,4$ Hz, incremento del 23%). Después de suprimir el estiramiento, la FD volvió a sus valores basales.

3. Resultados

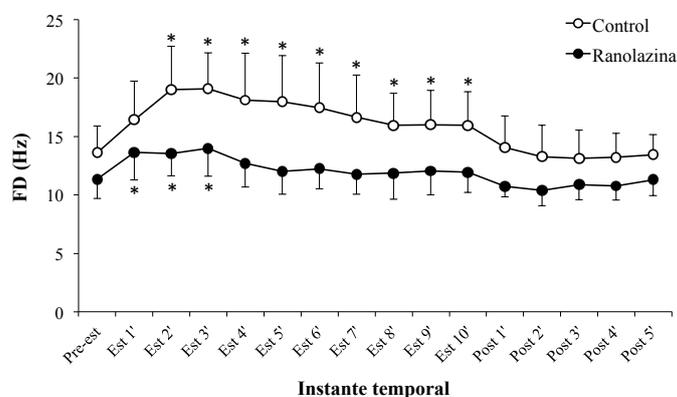


Figura 3.29. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida inmediatamente antes del estiramiento, durante cada minuto del periodo de estiramiento (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (5 minutos). Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; ranolazina: n=9). Abreviaturas: Pre-est = antes del estiramiento; Est = periodo de estiramiento en los minutos 1-10; Post = periodo de post-estiramiento en los minutos 1-5. * $p < 0,05$ vs. Pre-est.

La figura 3.30 muestra los valores de la FD en la ZE, para las series control y ranolazina, en las tres fases experimentales (pre-estiramiento, estiramiento y post-estiramiento). En situación pre-estiramiento, la FD en la serie ranolazina tendió a ser menor que en la serie control ($13,6 \pm 2,3$ vs. $11,4 \pm 1,8$ Hz, $p=0,053$). La FD aumentó durante el estiramiento en ambas series y, en cuanto al máximo alcanzado durante el mismo, la FD fue menor en la serie ranolazina que en la serie control ($19,1 \pm 3,1$ vs. $14,0 \pm 2,4$ Hz, $p < 0,05$). El porcentaje de incremento de la FD respecto al valor pre-estiramiento fue de un 23% en la serie ranolazina ($p < 0,05$ vs. control). Del mismo modo, las diferencias post-estiramiento con respecto al control también fueron significativas ($13,1 \pm 2,4$ vs. $10,8 \pm 1,3$ Hz, $p < 0,05$).

3. Resultados

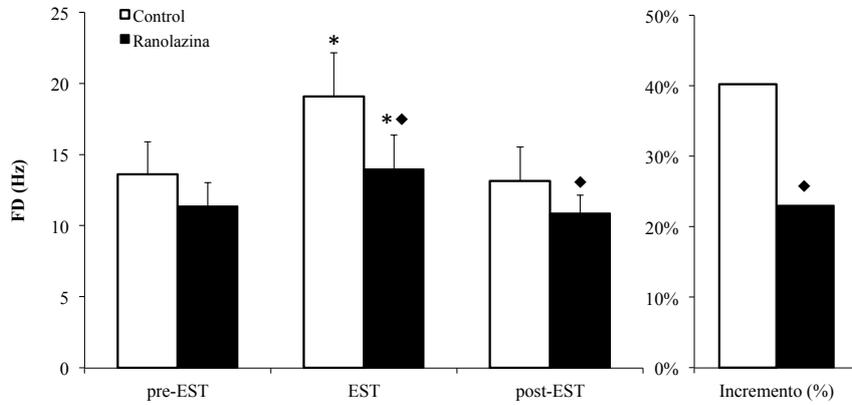


Figura 3.30. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; ranolazina: n=9) y el incremento (%) de la FD respecto al valor pre-estiramiento. Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST; ◆ $p < 0,05$ vs. control.

La figura 3.31 muestra los valores de la FD en la ZNE, para las series control y ranolazina, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en la FD con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción de la ranolazina. Por otro lado, y del mismo modo que en la ZE, la FD en la serie ranolazina fue menor que en la serie control durante y tras el estiramiento.

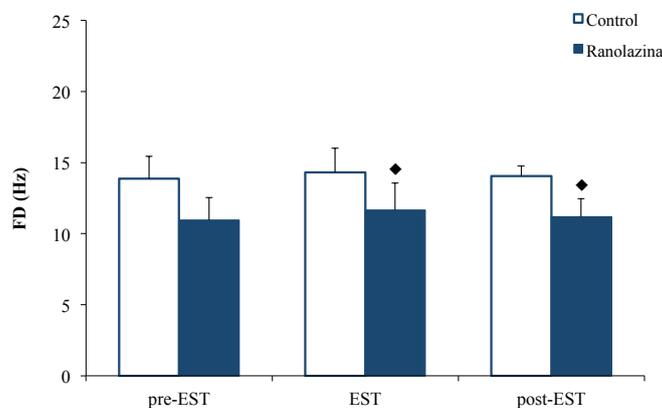


Figura 3.31. Frecuencia dominante (FD) durante la FV en la ZNE, obtenida durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; ranolazina: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. \blacklozenge p<0,05 vs. control.

Intervalos VV

La figura 3.32 muestra los valores del intervalo VV medio en la ZE para las series control y ranolazina, en las tres fases experimentales. En la serie ranolazina, se observó una disminución significativa del intervalo VV durante el estiramiento (91 ± 8 vs. 80 ± 7 ms, $p<0,05$), siendo esta disminución menor que en la serie control (22% vs. 13%, $p<0,05$). Antes de estirar, el VV fue mayor en la serie ranolazina que en la serie control (78 ± 12 vs. 91 ± 8 ms, $p<0,05$), y durante el estiramiento, presentó valores superiores en la serie ranolazina (62 ± 9 vs. 80 ± 7 ms, $p<0,05$). Del mismo modo, comparándolo con la serie control, el valor VV post-estiramiento fue mayor en la serie ranolazina (81 ± 9 vs. 95 ± 9 ms, $p<0,05$).

La figura 3.33 muestra los valores del intervalo VV en la ZNE, para las series control y ranolazina, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en el VV con respecto a los valores pre-estiramiento,

3. Resultados

en ninguna de las 2 series. Sin embargo, y al igual que en la ZE, los valores del intervalo VV en la serie ranolazina fueron mayores que en la serie control, en las tres fases experimentales.

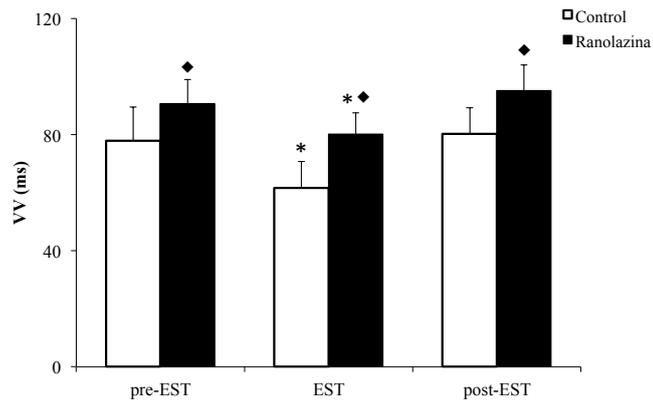


Figura 3.32. Intervalo VV durante la FV en la ZE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; ranolazina: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST ◆ $p < 0,05$ vs. control.

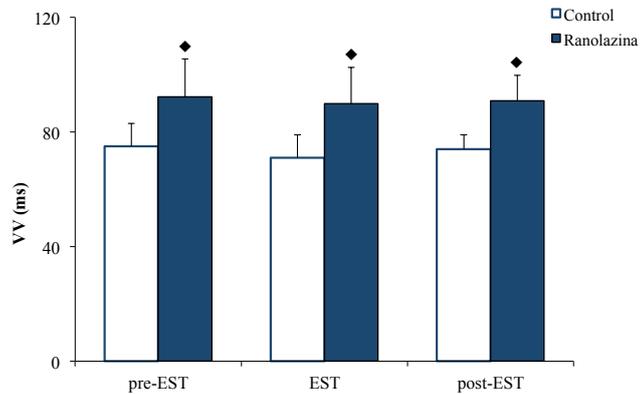


Figura 3.33. Intervalo VV durante la FV en la ZNE, obtenido durante las tres fases experimentales. Se representan valores medios \pm DE (control: n=9; ranolazina: n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento. ◆ $p < 0,05$ vs. control.

3.5.2 Efectos del estiramiento local sobre la organización de la activación durante la FV

Complejidad de la activación

La figura 3.34 muestra la complejidad de la activación miocárdica durante la FV (en la ZE) para las series control y ranolazina, evaluada mediante los porcentajes de los tres tipos de mapas de activación, en cada una de las fases experimentales. Durante el estiramiento local, en la serie ranolazina, se produjo un aumento significativo de la complejidad ($p < 0,05$), con un incremento de los mapas más complejos (tipo III) (23% vs. 50%) y una reducción de los mapas con complejidad intermedia (tipo II) (65% vs. 36%), sin variación de los mapas de menor complejidad (tipo I) (12% vs. 14%). Antes del estiramiento, las diferencias en los porcentajes de los tipos de mapas entre ambas series no fueron significativas. Durante el estiramiento, la activación fue menos compleja en la serie ranolazina ($p < 0,05$) (figura 3.35), con un mayor porcentaje de los mapas de complejidad baja (2% vs. 14%). Tras suprimir el estiramiento, no se observaron diferencias en la complejidad entre ambas series.

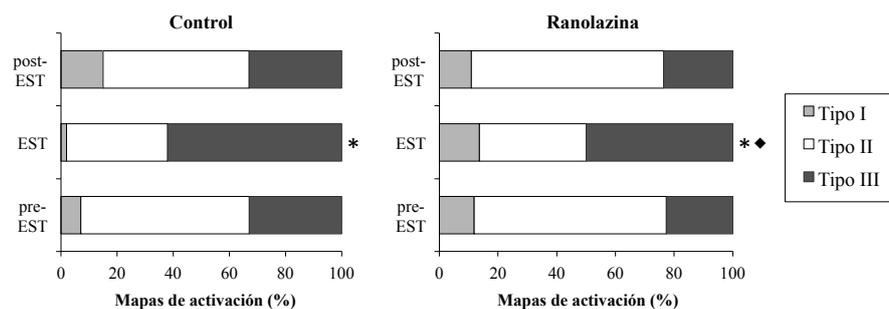


Figura 3.34. Porcentajes de los tipos de mapas de activación de acuerdo a su complejidad (tipo I, II o III), observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control ($n=9$) y ranolazina ($n=9$). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST=post-estiramiento. * $p < 0,05$ vs. pre-EST; ♦ $p < 0,05$ vs. control.

3. Resultados

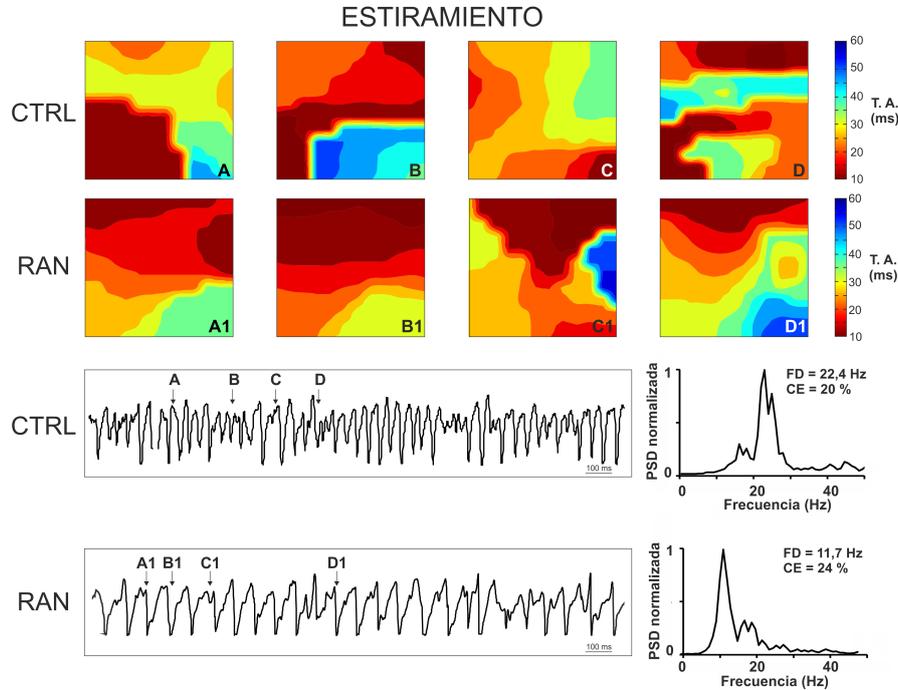


Figura 3.35. Mapas de activación, electrograma y espectro de potencia obtenidos durante la fase de estiramiento en un experimento de la serie control y en un experimento de la serie ranolazina. Abreviaturas: T.A. = tiempo de activación; CTRL = control; RAN = ranolazina; FD = frecuencia dominante; CE = concentración espectral.

Por otro lado, en la serie ranolazina, no se observaron diferencias en los porcentajes de mapas con patrones de afloramiento (pre-estiramiento: 42%, estiramiento: 46%, post-estiramiento: 42%, ns). Estos porcentajes fueron mayores que los de la serie control antes (42% vs. 23%, $p < 0,05$), durante (46% vs. 32%, $p < 0,05$) y tras el estiramiento (42% vs. 26%, $p < 0,05$). En cuanto a los mapas con patrones de reentrada completa, tampoco se observaron diferencias en el estiramiento con respecto a la situación basal (pre-estiramiento: 3%, estiramiento: 6%, post-estiramiento: 3%, ns). Además, estos porcentajes fueron similares a los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento (figura 3.36). En la ZNE, no se registraron cambios en los porcentajes de los tres

tipos de mapas, ni en los porcentajes de mapas con patrones de afloramiento y patrones de reentradas.

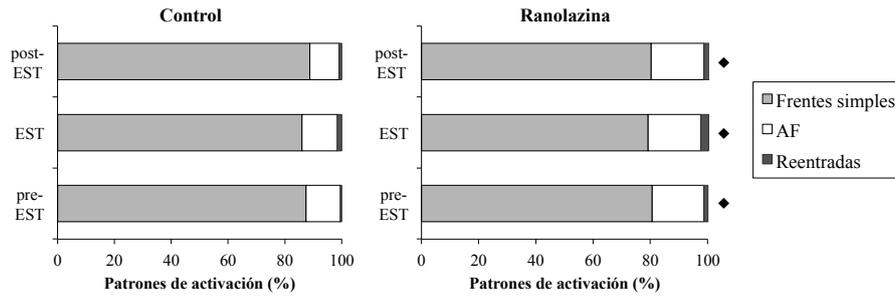


Figura 3.36. Porcentajes de los patrones de activación, observados en la ZE en las situaciones basal, durante el estiramiento y tras la supresión del mismo en las series control (n=9) y ranolazina (n=9). Abreviaturas: pre-EST = antes del estiramiento; EST = durante el estiramiento; post-EST = post-estiramiento; AF = afloramientos. ♦p<0,05 vs. control.

Concentración espectral (CE)

En la ZE, la CE no mostró variaciones durante el estiramiento en la serie ranolazina ($25 \pm 4 \%$ vs. $23 \pm 4 \%$, ns) (tabla 3.5). Antes de estirar, las diferencias entre las series control y ranolazina no fueron significativas ($28 \pm 9 \%$ vs. $25 \pm 4 \%$, ns). Durante el estiramiento, los valores de CE en la serie ranolazina fueron mayores que en la serie control ($18 \pm 3 \%$ vs. $23 \pm 4 \%$, $p < 0,05$) (ver espectros en la figura 3.35). Por el contrario, la CE post-estiramiento fue semejante en ambas series ($29 \pm 8 \%$ vs. $28 \pm 4 \%$, ns). Durante y tras el estiramiento, no se observaron variaciones significativas en la ZNE.

3. Resultados

Tabla 3.5. Concentración espectral y parámetros electrofisiológicos durante la FV, en las tres fases estudiadas, en la ZE y la ZNE, en las series control y ranolazina.

	ZE			ZNE		
	Pre-EST	EST	Post-EST	Pre-EST	EST	Post-EST
Control (n=9)						
CE (%)	28 ± 9	18 ± 3 *	29 ± 8	33 ± 9	29 ± 9	29 ± 5
PRFFV (ms)	54 ± 12	38 ± 5 *	56 ± 7	53 ± 9	48 ± 6	53 ± 4
VC (cm/s)	47 ± 4	49 ± 3	47 ± 4	45 ± 3	45 ± 2	44 ± 3
Ranolazina (n=9)						
CE (%)	25 ± 4	23 ± 4 ♦	28 ± 4	29 ± 8	27 ± 6	31 ± 5
PRFFV (ms)	62 ± 12	50 ± 8 *♦	65 ± 10 ♦	60 ± 7	58 ± 7 ♦	61 ± 6 ♦
VC (cm/s)	44 ± 8	50 ± 8	44 ± 8	42 ± 6	46 ± 5	43 ± 6

CE: concentración espectral; PRFFV: periodo refractario funcional durante la FV; VC: velocidad de conducción; ZE: zona modificada por el estiramiento. Pre-EST: antes del estiramiento; EST: durante el estiramiento; Post-EST: tras suprimir el estiramiento. Las variables se expresan como media ± desviación estándar. *p<0,05 vs. pre-EST; ♦p<0,05 vs. control.

3.5.3 Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos

La tabla 3.5 muestra el periodo refractario funcional determinado durante la FV (PRFFV), estimado a partir del percentil 5 de los intervalos VV, y la velocidad de conducción (VC) en la ZE para las series control y ranolazina, en cada una de las tres fases experimentales. En la serie ranolazina, el PRFFV disminuyó durante el estiramiento (62 ± 12 vs. 50 ± 8 ms, p<0,05) y tras suprimirlo adquirió valores similares a los obtenidos antes de estirar (65 ± 10 ms). Esta disminución fue del 19%, significativamente menor que en la serie control (27%) (p<0,05). Antes de estirar, el PRFFV fue ligeramente pero no significativamente mayor (p=0,095) en la serie

3. Resultados

ranolazina, y, durante el estiramiento, fue mayor en la serie ranolazina que en la serie control (38 ± 5 vs. 50 ± 8 ms, $p < 0,05$). Del mismo modo, el valor del PRFFV post-estiramiento fue mayor en la serie ranolazina que en la serie control (56 ± 7 vs. 65 ± 10 ms, $p < 0,05$). Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE no mostró variaciones significativas en el PRFFV con respecto a los valores pre-estiramiento, en ninguna de las 2 series. Sin embargo, y al igual que en la ZE, los valores del PRFFV en la serie ranolazina fueron mayores que en la serie control, en las fases de estiramiento y post-estiramiento.

La velocidad de conducción durante la FV en la ZE no varió significativamente durante el estiramiento bajo la acción de la ranolazina (al igual que en la serie control). Además, los valores de VC fueron similares a los de la serie control antes, durante y tras el estiramiento. Durante el estiramiento y tras la supresión del mismo, la ZNE tampoco mostró variaciones significativas en la VC con respecto a los valores pre-estiramiento, ni en la serie control ni bajo la acción de la ranolazina.

Capítulo 4

4. Discusión

En el presente trabajo, hemos investigado los mecanismos implicados en las modificaciones que produce el estiramiento sobre las propiedades electrofisiológicas miocárdicas. A continuación, se realizan las consideraciones oportunas sobre los métodos empleados y sobre los resultados obtenidos.

4.1 Consideraciones sobre los métodos empleados

4.1.1 Respecto al modelo animal utilizado

La elección del modelo animal adecuado es particularmente importante para el estudio de la respuesta del corazón al estiramiento miocárdico. La especie animal utilizada ha sido el conejo, por diversos motivos expuestos a continuación.

Uno de los motivos de escoger el conejo como animal para el modelo de corazón aislado, es porque es posible perfundir su corazón con líquidos de fácil disponibilidad y preparación como la solución de Tyrode, lo que representa una ventaja si lo comparamos con el corazón de animales como el perro, que requiere sangre completa para su perfusión.

4. Discusión

Sobre estas preparaciones, se han reproducido estados como la fibrilación ventricular. Respecto a ésta, es importante disponer de un corazón al que se pueda inducir fácilmente la arritmia y que ésta se mantenga una vez instaurada. En el caso del conejo, su mayor masa y menor frecuencia, mejoran las características respecto a ratas o pequeños roedores de cara a la investigación de los mecanismos que intervienen en la FV [109]. Además, en los pequeños roedores, la inducción y el mantenimiento de la FV son complejos de obtener ya que no es frecuente la formación de circuitos reentrantes, necesarios para la perpetuación de la arritmia [82].

Los modelos de corazón aislado de conejo han sido empleados ampliamente en el estudio de la electrofisiología cardíaca y concretamente en el de las arritmias ventriculares, como el caso que nos ocupa [7, 8, 94, 104]. Además, las características electrofisiológicas del corazón de conejo son muy similares a las del corazón humano [109]. No obstante, la extrapolación de los hallazgos al ser humano siempre debe tener en cuenta las diferencias interespecie [107, 108].

4.1.2 Respecto a la preparación experimental de corazón aislado

Se ha utilizado una preparación de corazón aislado tipo Langendorff. Es una técnica muy clásica, descrita por Oscar Langendorff en 1895 (para más detalles ver [128]). Esta preparación es empleada comúnmente para el estudio de los efectos electrofisiológicos directos o intrínsecos de fármacos o de diversas manipulaciones como pueden ser el estiramiento miocárdico [7, 8, 35, 129], las lesiones por radiofrecuencia [130], las variaciones térmicas [131], la hipoxia/isquemia global o regional y el ejercicio físico [33, 34, 132].

Entre sus ventajas más destacables, están su reproducibilidad, la posibilidad de medir variables en ausencia de factores reguladores extrínsecos y su bajo costo [128]. Además, el hecho de que en este tipo de preparación no

haya precarga ni postcarga nos permite asegurar que las diferencias observadas entre los grupos no pueden atribuirse a diferencias en el trabajo cardíaco, sino al efecto de la intervención, en nuestro caso, de los distintos fármacos.

No obstante, esta técnica requiere de un estricto control de la temperatura y la presión de perfusión para ser viable, y queda alejada de la fisiología normal al no poseer inervación neurovegetativa ni tampoco función de bomba (no hay precarga ni postcarga reales).

Por otra parte, el desencadenamiento de la FV *in vivo* implica la abolición de la perfusión coronaria, la aparición de isquemia y el deterioro metabólico del miocardio, que por sí mismos modifican las características del proceso fibrilatorio [67]. La utilización de modelos experimentales en los que se mantiene la perfusión coronaria durante la fibrilación ventricular permite mantener un estado metabólico adecuado durante el proceso fibrilatorio, excluyendo esta variable a la hora de analizar sus características, así como los efectos de diversos fármacos o maniobras sobre el mismo [2, 96].

4.1.3 Respecto a la metodología utilizada para la determinación de los parámetros

En relación con los métodos utilizados para el análisis de los parámetros, consideramos pertinente realizar diversos comentarios sobre estos.

En primer lugar, haremos algunas consideraciones respecto al método de determinación de la refractariedad ventricular como es el de determinarla durante el proceso fibrilatorio; es lo que llamamos periodo refractario funcional ventricular durante la FV (PRFFV). A diferencia del test del extraestímulo ventricular (TEEV), nos permite una estimación bastante real de la refractariedad en una situación que excluye una estimulación externa al

4. Discusión

propio corazón, como ocurre en el TEEV. Este parámetro, tal y como hemos indicado en el capítulo de material y métodos, fue determinado mediante el percentil 5 del histograma de los intervalos VV [122].

Por otro lado, las técnicas espectrales y en el dominio del tiempo proporcionan información análoga en el análisis de la frecuencia de activación de la FV, tal y como se ha visto en estudios previos [7, 115, 118], aunque la presencia de potenciales dobles y múltiples puede condicionar los valores de la frecuencia dominante [7, 118]. En esta Tesis Doctoral, ambas técnicas proporcionaron resultados similares en todas las series, excepto en la serie EIPA, en la cual las variaciones en la media de los intervalos VV (durante el estiramiento) no alcanzaron significación estadística, mientras que las variaciones en la FD sí que lo hicieron. Por tanto, se consideró esencial realizar el análisis de la señal fibrilatoria en ambos dominios (temporal y espectral), ya que el análisis en el dominio de la frecuencia no siempre proporciona una estimación mejor o más fiable de la frecuencia de activación ventricular que el análisis en el dominio del tiempo [118], concretamente cuando el electrograma presenta fraccionamiento o potenciales dobles, ruido, o potenciales de campo lejano.

Por último, en el análisis de las señales de FV en el dominio del tiempo, la detección de las activaciones ventriculares en los registros de FV requiere una amplia carga de trabajo. Por tanto, la automatización de algunas rutinas, como el marcado semi-automático de las activaciones miocárdicas mediante un algoritmo desarrollado al efecto, ha aliviado en parte el trabajo a realizar.

4.2 Consideraciones relativas a los resultados obtenidos

4.2.1 Efectos del estiramiento

Los resultados de este estudio muestran que el estiramiento provoca una aceleración de la FV, observando un aumento de la frecuencia dominante y una disminución del intervalo VV, tal y como se ha observado en estudios previos [7, 8, 35]. El efecto máximo se produce tres minutos después del comienzo del estiramiento, y dicho efecto disminuye pero se mantiene significativo tras 10 minutos. Por otro lado, y coincidiendo con dichos estudios, se ha observado un aumento de la complejidad de los mapas de activación durante la FV. Hemos observado igualmente que el estiramiento disminuye la concentración espectral de los registros de FV, lo que indica una actividad más desorganizada e irregular durante la arritmia. Por último, se ha observado un acortamiento de la refractariedad en la zona modificada por el estiramiento, obtenida a partir del Pct5 de la distribución de los intervalos VV. En efecto, este acortamiento de la refractariedad miocárdica es consistente con el aumento de la frecuencia dominante de la FV, ya que se ha descrito que esta última está relacionada con la excitabilidad miocárdica, concretamente con los periodos refractarios [115].

La aceleración de la FV está relacionada con las modificaciones de las corrientes iónicas transmembrana y con el acortamiento de la refractariedad miocárdica bajo los efectos del estiramiento [133, 134]. En este estudio, el efecto acelerador de la FV se ha limitado a la zona sometida al estiramiento local en la que los cambios en las propiedades electrofisiológicas del miocardio, especialmente el acortamiento de la refractariedad, hacen posible una activación más rápida. Del mismo modo, la aceleración de la FV ocurre en una región en la que hemos observado un incremento de la complejidad de los mapas de activación. El incremento de la complejidad de la activación está relacionada con un aumento del número de frentes, y éste a su vez con un

4. Discusión

acortamiento de la refractariedad [115]. A su vez, el incremento de la frecuencia de activación se asocia con una mayor dispersión de los parámetros electrofisiológicos, es decir con un aumento de la heterogeneidad del tejido [135].

En cuanto a la velocidad de conducción, no se han observado variaciones durante el estiramiento. En estudios previos [2, 136], se describió cómo el estiramiento aplicado en la pared auricular de corazones de conejo reducía la velocidad de conducción, mientras que en otros estudios en los que el estiramiento se aplicó globalmente al ventrículo [64] o en los que se utilizó la misma metodología que en la presente Tesis Doctoral [7, 8], no se observaron cambios significativos de dicho parámetro. Además, en uno de los trabajos citados [2] en los que se observó una reducción de la velocidad de conducción, el grado de estiramiento aplicado fue mayor que el de este estudio. Las diferencias podrían deberse por tanto a la diferencia del grado de estiramiento o a las diferencias en el comportamiento del miocardio auricular o ventricular.

En la zona del miocardio no sometida a estiramiento, no se han observado las modificaciones anteriormente mencionadas. Este hecho se corresponde con los hallazgos experimentales que indican que las propiedades electrofisiológicas del tejido miocárdico constituyen uno de los principales factores determinantes de las características locales de la activación miocárdica durante la FV [90, 135].

En resumen, en el modelo experimental utilizado, el estiramiento local da lugar a modificaciones de las propiedades electrofisiológicas, como el acortamiento de la refractariedad, que causan una activación más rápida y un incremento de la complejidad y de la irregularidad de los patrones de activación durante la FV.

4.2.2 Efectos del estiramiento bajo la acción de la ranolazina

El estiramiento mecánico provoca un aumento de la entrada de Na^+ en las células cardíacas que puede ocurrir de diferentes modos [18, 24-26, 29, 58, 60] –incluyendo la activación de los canales activados por estiramiento [18, 24, 29, 61], la activación de mecanismos autocrino y paracrino que conllevan la estimulación de los receptores de angiotensina II y endotelina y la activación del intercambiador Na^+/H^+ [11, 25, 26], o el aumento mediado mecánicamente de la actividad del intercambiador Na^+/H^+ [58].

En el presente estudio, todos los cambios descritos durante el estiramiento se atenuaron bajo la acción de la ranolazina. De hecho, durante el estiramiento, el PRFFV disminuyó un 27% en la serie control, mientras que en la serie ranolazina la reducción fue de un 19%. Además, comparando ambas series durante el estiramiento, el PRFFV fue mayor en la serie ranolazina. La menor reducción de la refractariedad está relacionada con la menor complejidad de la arritmia observada durante el estiramiento en la serie ranolazina.

Uno de los posibles factores relacionados con los efectos de la ranolazina durante el estiramiento es la acción del fármaco sobre la modulación inducida por el estiramiento de los canales de sodio dependientes de voltaje $\text{Na}_v 1.5$. (canales mecanosensibles). La respuesta al estímulo mecánico (mecanosensibilidad) de estos canales consiste en la aceleración de la cinética del canal, un incremento del pico de corriente y la estabilización de la inactivación del canal [137]. Sin embargo, la modulación de la mecanosensibilidad de los canales $\text{Na}_v 1.5$ por la ranolazina sólo se ha demostrado para altas concentraciones (50 $\mu\text{M}/1$), mientras que se ha observado que los efectos del fármaco dependen de la magnitud del estiramiento y de la concentración de ranolazina en la membrana [137].

4. Discusión

Por otro lado, los efectos de la ranolazina sobre la corriente de Na^+ podrían contrarrestar el aumento intracelular de Na^+ originado por el estiramiento y revertir la activación del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que conduce a la sobrecarga de Ca^{2+} . Por lo tanto, es más probable que la reducción de los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento del miocardio en nuestro estudio esté relacionada con su efecto inhibitorio directo de la corriente tardía de Na^+ . La disminución de la concentración intracelular de Na^+ conlleva una reducción de la entrada de calcio a través del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, como se ha descrito previamente [72]. La inhibición de este intercambiador reduce los efectos electrofisiológicos del estiramiento mecánico, como hemos observado en un estudio previo [8]. La reducción de la actividad del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ reduciría la entrada de Ca^{2+} durante el estiramiento y, por tanto, las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas de los miocitos [16, 18, 22, 53].

Por último, otro posible mecanismo implicado en los efectos de la ranolazina podría estar relacionado con su afinidad por los receptores beta-adrenérgicos y su actividad antagonista beta-adrenérgica [31]. Estudios previos han demostrado que el bloqueo beta-adrenérgico reduce o suprime los cambios producidos por el estiramiento en las propiedades electrofisiológicas [8, 138]. De hecho, en un estudio previo realizado con un modelo experimental similar al de este trabajo, el bloqueo beta-adrenérgico con propanolol provocó una disminución del efecto acelerador de la FV del estiramiento, efecto relacionado con un incremento de la refractariedad que redujo el número de frentes de activación durante la arritmia y por tanto el incremento de la complejidad de la activación producido por el estiramiento agudo [8].

En estudios previos, se ha observado que la ranolazina, a la concentración utilizada en este estudio, tiene efectos mínimos sobre el pico de

la corriente de entrada de Na^+ . En el ventrículo, los valores de IC_{50} (concentración del inhibidor que produce la inhibición de la actividad del 50%) para el pico de I_{Na} se encuentran entre 135-428 $\mu\text{M}/\text{l}$. A la concentración utilizada en el estudio, la ranolazina también tiene efectos mínimos en el pico de las corrientes de entrada de Ca^{2+} , y no tiene efectos directos sobre la concentración intracelular de Ca^{2+} [31]. Sin embargo, aunque los principales efectos de la ranolazina a las concentraciones utilizadas en nuestro estudio se circunscriben a la corriente tardía de Na^+ , este fármaco también inhibe la I_{Kr} [30, 32, 72, 79] y, a altas concentraciones, inhibe la corriente de calcio tipo L [30, 79]. La inhibición de la I_{Kr} alarga la refractariedad; diversos estudios han observado que la ranolazina incrementa el periodo refractario ventricular en animales de la misma especie que la utilizada en nuestro modelo (conejo). En el presente estudio, en la fase basal (sin estiramiento) hemos observado que el periodo refractario funcional tiende a valores mayores ($p=0,1$) en la serie ranolazina (con respecto a la serie control). La velocidad de conducción, sin embargo, es similar en ambas series. Este resultado concuerda con el valor IC_{50} del efecto de la ranolazina sobre el pico de I_{Na} (valor mayor a la concentración utilizada en el estudio), lo que explicaría la ausencia de efectos significativos sobre este parámetro.

En la fase basal (antes del estiramiento) y en la fase posterior al estiramiento, hemos observado que la ranolazina enlentece la activación miocárdica durante la FV. La media de los intervalos VV durante la FV fue mayor en la serie ranolazina, y este resultado coincidió con las observaciones realizadas mediante el uso de técnicas espectrales, que mostraron también una frecuencia (frecuencia dominante) más lenta en la serie ranolazina. El enlentecimiento de la arritmia bajo el efecto de la ranolazina se explicaría por la tendencia del fármaco a aumentar la refractariedad. Sin embargo, no se observó una reducción de la complejidad de los patrones de activación durante la FV. Los porcentajes basales de los tipos de mapas de activación no fueron

4. Discusión

diferentes entre ambas series, y la concentración espectral (indicador de regularidad de la activación durante la FV) fue similar.

Por último, en las tres fases analizadas (antes, durante y tras el estiramiento), se observó un incremento del porcentaje de mapas de activación con patrones de afloramiento. Este incremento indica la llegada de un mayor número de frentes de onda desde las zonas medias o subendocárdicas de la pared del ventrículo; y una posible explicación para este hecho podría ser la existencia de patrones de activación reentrantes intramurales rápidos o una mayor predominancia del subendocardio en la activación durante la arritmia.

4.2.3 Efectos del estiramiento bajo la acción del EIPA

Como se ha mencionado anteriormente, el estiramiento mecánico origina un incremento en la entrada de Na^+ en los miocitos, y son varios los mecanismos que pueden intervenir en este efecto y en la activación de los intercambiadores Na^+/H^+ y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ [11, 18, 24-26, 28, 29, 57, 60].

En el presente estudio, todos los cambios descritos durante el estiramiento se atenuaron bajo la acción del inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ EIPA. De hecho, durante el estiramiento, el PRFFV disminuyó un 27% en la serie control, mientras que en la serie EIPA dicha variación no fue significativa. Además, comparando ambas series durante el estiramiento, el PRFFV fue mayor en la serie EIPA. El hecho de que la refractariedad no disminuya está relacionado con la menor complejidad (evaluada por los porcentajes de los tipos de mapas de activación) y la mayor regularidad (evaluada por la concentración espectral) de la arritmia observada durante el estiramiento en la serie EIPA.

La intervención a nivel del intercambiador Na^+/H^+ redujo significativamente los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento miocárdico agudo, del mismo modo que la inhibición del

intercambiador atenúa la respuesta inotrópica lenta al estiramiento (SFR) [11, 24, 58, 59]. La acción del EIPA sobre el intercambiador Na^+/H^+ y sobre el aumento de la concentración de Na^+ intracelular reduciría la activación del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ y sus efectos sobre el “feedback” mecanoeléctrico. Estudios previos han publicado la atenuación de dichos efectos bajo la acción del inhibidor del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ KB-R7943 [8]. La disminución de la actividad del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ reduciría la entrada de Ca^{2+} durante el estiramiento y, con ello, las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas de los miocitos [16, 18, 22] y de las características de la curva de restitución eléctrica [53, 139]. La curva de restitución eléctrica relaciona la duración del potencial de acción (ordenada) con el intervalo diastólico precedente (abscisa) y, cuando su pendiente es acentuada (mayor o igual a la unidad), aparece el fenómeno de alternancia en la duración de los potenciales de acción y por lo tanto se facilita la desestabilización de los frentes de activación reentrantes y la aparición de la FV. Se ha descrito que el estiramiento aumenta la pendiente de la fase inicial de la curva de restitución eléctrica [140], que corresponde a los intervalos diastólicos cortos, es decir, a las frecuencias de activación más rápidas; y este aumento está influenciado por la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular [139]. Las modificaciones de la curva de restitución eléctrica se han relacionado con variaciones en la regularidad y estabilidad de los patrones de activación durante la FV [139], de modo que el aumento de la pendiente conlleva a patrones de activación más complejos y desorganizados [67]. Por tanto, podemos decir que el EIPA reduciría la entrada de Ca^{2+} y atenuaría las modificaciones de la curva de restitución y de las propiedades electrofisiológicas miocárdicas producidas por el estiramiento, evitando el aumento de la complejidad de la activación producido en el estiramiento.

Sin embargo, el EIPA no es un inhibidor puro del intercambiador Na^+/H^+ [141], y sus acciones sobre otras corrientes iónicas también podrían estar implicadas en los efectos observados. En estudios anteriores, se ha

4. Discusión

descrito un bloqueo frecuencia-dependiente de la corriente rápida de sodio bajo la acción de EIPA; es decir, que cuanto mayor sea la frecuencia cardíaca, mayor será el bloqueo de los canales implicados, mientras que a frecuencias más lentas, el bloqueo será menor [141]. Dichos autores observaron que este efecto aumentaba en el intervalo de concentraciones de 1 a 30 μM , y aunque la reducción del pico de corriente de sodio observada con 1 μM EIPA (concentración utilizada en este trabajo) era ligera, la alta frecuencia de la activación miocárdica durante la FV podría aumentar este efecto. Por tanto, el EIPA podría producir modificaciones de los patrones de activación miocárdica durante la FV en las fases sin estiramiento.

Por otra parte, el EIPA, de la misma manera que el amiloride, podría reducir la corriente persistente de sodio actuando de este modo sobre el aumento de la entrada de Na^+ inducida por el estiramiento. En este estudio, la serie EIPA mostró un enlentecimiento de la arritmia (disminución de la FD e incremento del intervalo VV) y una menor VC, en la fase basal (antes estiramiento) y en la fase post-estiramiento. También observamos una disminución de la complejidad de la activación durante la FV antes de aplicar el estiramiento miocárdico. Los porcentajes basales de los tipos de mapas de activación más simples fueron mayores en la serie EIPA. Este efecto fue más pronunciado en la fase posterior al estiramiento, probablemente debido al incremento de la refractariedad (el PRFFV fue mayor en la serie EIPA) y de la concentración espectral (relacionada con la regularidad de la activación durante la arritmia), a medida que la infusión del fármaco progresa en el tiempo.

4.2.4 Efectos del estiramiento bajo la acción del losartán y del BQ-123

En estudios previos, se ha relacionado la respuesta inotrópica lenta (SFR) al estiramiento con el inicio de los fenómenos autocrinos y paracrinos tras observar que dicha respuesta es abolida por el bloqueo de los receptores

tipo 1 de angiotensina II y de los receptores tipo A de endotelina [11, 25, 27]. Se ha sugerido que la liberación de angiotensina II inducida por el estiramiento miocárdico estimula la liberación de endotelina que, a través de mecanismos interpuestos, conduce a la activación del intercambiador Na^+/H^+ , dando lugar a un aumento de la entrada de Na^+ y, posteriormente, a la activación del modo inverso del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ [11, 25, 26]. El incremento de los transitorios de Ca^{2+} sería responsable de la respuesta inotrópica al estiramiento mecánico.

Sin embargo, algunos autores han observado que el bloqueo de los receptores de angiotensina II no anula la SFR [10, 58, 142], y que el bloqueo de los receptores de endotelina tampoco la modifica [58]. Una posible explicación de estas discrepancias es la existencia de diferencias entre especies o entre diseños experimentales [11, 58], aunque también es posible que mecanismos adicionales, como la acción paracrina de endotelina liberada de células endoteliales, resulten en efectos similares [11, 27].

En este estudio, en el que hemos investigado si existe un paralelismo entre los mecanismos implicados en las respuestas mecánicas y electrofisiológicas al estiramiento mecánico agudo, hemos observado que el bloqueo de los receptores tipo 1 de angiotensina II o de los receptores tipo A de endotelina con losartán o BQ-123 (respectivamente) no modificó la aceleración de la FV ni el aumento de la complejidad de la arritmia ni el acortamiento de la refractariedad producidos por el estiramiento miocárdico. Por lo tanto, los efectos de la angiotensina II y de la endotelina no parecen estar implicados en la cadena de eventos que conducen a las manifestaciones electrofisiológicas del “feedback” mecanoeléctrico observadas en el modelo experimental utilizado.

4.3 Consideraciones finales respecto a los resultados

En resumen, los principales hallazgos de este trabajo son:

El estiramiento local agudo incrementa la frecuencia de activación, disminuye la regularidad y aumenta la complejidad de la activación miocárdica durante la FV. Estos efectos se asocian con modificaciones en las propiedades electrofisiológicas, tales como el acortamiento de la refractariedad miocárdica, observada en la región estudiada.

La inhibición de la corriente tardía de Na^+ mediante ranolazina atenúa el incremento de la frecuencia de activación y de la complejidad durante la FV inducidos por el estiramiento miocárdico agudo. Este efecto se asocia con la atenuación del acortamiento de la refractariedad durante el estiramiento.

La inhibición del intercambiador Na^+/H^+ mediante EIPA atenúa el incremento de la frecuencia de activación y de la complejidad durante la FV inducidos por el estiramiento miocárdico agudo. Este efecto se asocia con la atenuación del acortamiento de la refractariedad durante el estiramiento.

El bloqueo de los receptores de angiotensina II mediante losartán y el bloqueo de los receptores de endotelina mediante BQ-123 no atenúan el incremento de la frecuencia de activación y de la complejidad durante la FV inducidos por el estiramiento miocárdico agudo. Dicho bloqueo tampoco tiene efecto sobre el acortamiento de la refractariedad durante el estiramiento.

4.4 Implicaciones clínicas

El estiramiento miocárdico se produce en diferentes situaciones clínicas que implican sobrecarga de volumen o de presión y anormalidades en la contracción regional [3]. Los cambios electrofisiológicos producidos por el estiramiento miocárdico (“feedback” mecanoeléctrico), como el acortamiento de la refractariedad, están implicados en una mayor vulnerabilidad a diferentes tipos de arritmias, incluyendo la FA y la FV [1-3, 5, 15, 21, 63, 66]. En este sentido, las maniobras terapéuticas que tienden a reducir los efectos del estiramiento local característicos de ciertas situaciones clínicas (por ejemplo, durante la isquemia miocárdica aguda) pueden mejorar las características del sustrato miocárdico y reducir la aparición de arritmias.

En el presente estudio, hemos observado que tanto el inhibidor del intercambiador Na^+/H^+ EIPA como el inhibidor de la corriente tardía de Na^+ ranolazina modifican los efectos electrofisiológicos del estiramiento.

Aunque los ensayos clínicos sobre los efectos antiarrítmicos de la ranolazina son limitados, estudios previos han demostrado que el fármaco reduce las taquicardias ventriculares no sostenidas en el contexto del síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST [77], reduce la carga de la taquicardia ventricular y los choques eléctricos en los portadores de DAI (desfibrilador automático implantable) [143], y parece ser efectivo en la reducción de arritmias ventriculares sintomáticas. Este estudio aporta información sobre el posible papel de la ranolazina en la reducción de los efectos arritmogénicos del estiramiento miocárdico. Su efecto inhibitor sobre el “feedback” mecanoeléctrico, activado en condiciones de sobrecarga o de contracción ventricular asíncrona, podrían estar relacionados con el efecto protector del fármaco.

En cuanto a la acción del EIPA, estudios experimentales previos han demostrado que la inhibición del intercambiador Na^+/H^+ mediante EIPA

4. Discusión

ejerce un efecto protector sobre el miocardio isquémico, manifestado por la menor facilidad para el desencadenamiento de la FV, y relacionado con el mantenimiento de la refractariedad ventricular en el miocardio isquémico [144]. No obstante, no existe suficiente información sobre la posible utilidad clínica de inhibidores del intercambiador Na^+/H^+ para contrarrestar los efectos electrofisiológicos del estiramiento, aunque los resultados observados apoyan el desarrollo de futuros estudios para analizar los posibles efectos protectores de estos fármacos.

4.5 Limitaciones del estudio

No debemos finalizar esta discusión sin plantear algunas de las limitaciones metodológicas que nos hemos encontrado durante la realización del presente estudio.

La FV tiene lugar en un volumen y es, por tanto, un proceso tridimensional. La metodología propuesta para cuantificar la complejidad de la activación miocárdica durante la FV se basa en registros de la actividad eléctrica del miocardio subepicárdico, es decir de una superficie bidimensional. La utilización de registros epicárdicos limita la interpretación de los patrones de activación, particularmente en los patrones de activación centrífuga (afloramientos) que aparecen desde regiones intramiocárdicas o subendocárdicas. 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 [145], pero este procedimiento tiene el riesgo de dañar en exceso el tejido miocárdico, modificando las propiedades electrofisiológicas del miocardio. No obstante, la determinación de la frecuencia de activación del miocárdico ventricular durante la FV así como la refractariedad del mismo, no requiere de dicha tridimensionalidad en el registro de la actividad eléctrica [146].

Por otro lado, respecto al sistema de perfusión utilizado, aunque es un buen modelo para reproducir con suficientes garantías las condiciones del corazón *in vivo* (como así lo evidencia la bibliografía existente que hace uso de este modelo experimental), se podrían conseguir unas condiciones más parecidas a las fisiológicas que reconstruyesen con mayor exactitud las condiciones reales de trabajo miocárdico. Esto se podría conseguir con un sistema de perfusión tipo Langendorff forzando al miocardio a realizar trabajo (*working heart*).

4. Discusión

Otra limitación es la existencia de diferencias entre especies, que debe tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos en el modelo experimental utilizado [105].

Por otra parte, los resultados obtenidos dependen de las características y condiciones de la preparación experimental empleada para la aplicación del estiramiento local agudo. El estiramiento miocárdico puede dar lugar a diferentes manifestaciones en preparaciones de modelo crónico y de corazón *in situ* debido, entre otros factores, a la existencia de reflejos neurohumorales asociados. Además, el estiramiento local agudo aplicado en la pared ventricular izquierda podría haber interferido en la perfusión, produciendo isquemia. No obstante, las determinaciones del flujo coronario realizadas en estudios previos no mostraron modificaciones significativas del flujo coronario global durante la aplicación del grado de estiramiento empleado en el presente trabajo [7, 8]. El grado de estiramiento empleado fue un grado medio, considerado óptimo para los objetivos del estudio, ya que grados mayores de estiramiento no producen mayores efectos en la zona sometida al mismo y sin embargo provocan incrementos longitudinales no deseados en la región no sometida al estiramiento [7].

Finalmente, las concentraciones de losartán, BQ-123, EIPA y ranolazina utilizadas en el presente trabajo se encuentran en el rango de las referenciadas en trabajos experimentales previos, por lo que se consideran válidas para la consecución de los objetivos planteados. No obstante, sería interesante plantear en futuros estudios el uso de diferentes concentraciones de los fármacos que han mostrado un mayor efecto en la modificación de la respuesta electrofisiológica al estiramiento.

Capítulo 5

5. Conclusiones

En el modelo experimental utilizado:

1. El estiramiento local agudo incrementa la frecuencia de activación, disminuye la regularidad y aumenta la complejidad de la activación miocárdica durante la FV, efectos asociados con el acortamiento de la refractariedad miocárdica en la región sometida al estiramiento.
2. La inhibición de la corriente tardía de Na^+ mediante ranolazina reduce los efectos electrofisiológicos responsables de la aceleración de la activación y del incremento de la complejidad de la activación miocárdica durante la FV producidos por el estiramiento local agudo.
3. La inhibición del intercambiador Na^+/H^+ mediante EIPA reduce los efectos electrofisiológicos responsables de la aceleración de la activación y del incremento de la complejidad de la activación miocárdica durante la FV producidos por el estiramiento miocárdico local agudo.
4. El bloqueo de los receptores de angiotensina II mediante losartán y el bloqueo de los receptores de endotelina mediante BQ-123 no modifican

5. Conclusiones

los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento miocárdico local agudo.

5. Los mecanismos implicados en las respuestas electrofisiológicas al estiramiento local agudo ventricular son contrarrestados por la inactivación de la corriente tardía de Na^+ y del intercambiador Na^+/H^+ , mientras que la liberación de angiotensina II y de endotelina parece no estar implicada en la cadena de eventos relacionada con los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento.

Capítulo 6

6. Bibliografía

1. Franz MR, Burkhoff D, Yue DT, Sagawa K. Mechanically induced action potential changes and arrhythmia in isolated and in situ canine hearts. *Cardiovasc Res* 1989;23:213-223.
2. Chorro FJ, Egea S, Mainar L, Cánoves J, Sanchis J, Llavador E, López-Merino V, Such L. Modificaciones agudas de la longitud de onda del proceso de activación auricular inducidas por la dilatación. Estudio experimental. *Rev Esp Cardiol* 1998;51:874-883.
3. Janse MJ, Coronel R, Wilms-Schopman FJG, de Groot JR. Mechanical effects on arrhythmogenesis: From pipette to patient. *Prog Biophys Mol Biol* 2003;82:187-195.
4. Kohl P, Bollensdorff C, Garny A. Effects of mechanosensitive ion channels on ventricular electrophysiology experimental and theoretical models. *Exp Physiol* 2006;91:307-321.
5. Ravelli F, Masè M, del Greco M, Marini M, Disertori M. Acute atrial dilatation slows conduction and increases AF vulnerability in the human atrium. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2011;22:394-401.
6. Kiseleva I, Kamkin A, Wagner KD, Theres H, Ladhoff A, Scholz H, Günther J, Lab MJ. Mechano-electric feedback after left ventricular infarction in rats. *Cardiovasc Res* 2000;45:370-378.
7. Chorro FJ, Trapero I, Guerrero J, Such LM, Cánoves J, Mainar L,

6. Bibliografía

- Ferrero A, Blasco E, Sanchis J, Millet J, Tormos A, Bodi V, Alberola A. Modification of ventricular fibrillation activation patterns induced by local stretching. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005;16:1087-1096.
8. Chorro FJ, Trapero I, Such-Miquel L, Pelechano F, Mainar L, Canoves J, Tormos A, Alberola A, Hove-Madsen L, Cinca J, Such L. Pharmacological modifications of the stretch-induced effects of ventricular fibrillation in perfused rabbit-hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H1860-H1869.
 9. Kentish JC, Wrzosek A. Changes in force and cytosolic Ca²⁺ concentration after length changes in isolated rat ventricular trabeculae. *J Physiol* 1998;506, 431-444.
 10. Kockskämper J, von Lewinski D, Khafaga M, Elgner A, Grimm M, Eschenhagen T, Gottlieb PA, Sachs F, Pieske B. The slow force response to stretch in atrial and ventricular myocardium from human heart: Functional relevance and subcellular mechanisms. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2008;97:250-267.
 11. Cingolani HE, Perez NG, Cingolani OH, Ennis IL. The Anrep effect: 100 years later. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013;304:H175-H182.
 12. Franz MR. Mechano-electrical feedback in ventricular myocardium. *Cardiovasc Res* 1996;32:15-24.
 13. Lab MJ. Mechanoelectric feedback (transduction) in heart: Concepts and implications. *Cardiovasc Res* 1996;32:3-14.
 14. Taggart P. Mechano-electric feedback in the human heart. *Cardiovasc Res* 1996;32:38-43.
 15. Calkins H, Maughan WL, Weisman HF, Sugiura S, Sagawa K, Levine JH. Effect of acute volume load on refractoriness and arrhythmia development in isolated, chronically infarcted canine hearts. *Circulation* 1989;79:687-697.
 16. Calaghan SC, Belus A, White E. Do stretch-induced changes in intracellular calcium modify the electrical activity of cardiac muscle?

- Progr Biophys Mol Biol 2003;82:91-95.
17. Kamkin A, Kiseleva I, Isenberg G. Ion selectivity of stretch-activated cation currents in mouse ventricular myocytes. *Pflugers Arch – Eur J Physiol* 2003;446:220-231.
 18. Youm JB, Han J, Kim N, Zhang YH, Kim E, Joo H, Hun Leem C, Joon Kim S, Cha KA, Earm YE. Role of stretch-activated channels on the stretch-induced changes of rat atrial myocytes. *Progr Biophys Mol Biol* 2006;90:186-206.
 19. ter Keurs, HE. Electromechanical coupling in the cardiac myocyte; stretch-arrhythmia feedback. *Pflugers Arch – Eur J Physiol* 2011;462:165-175.
 20. ter Keurs HE. The interaction of Ca²⁺ with sarcomeric proteins: role in function and dysfunction of the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012;302:H38-H50.
 21. Ravelli F, Allessie MA. Effects of atrial dilatation on refractory period and vulnerability to atrial fibrillation in the isolated Langendorff-perfused rabbit heart. *Circulation* 1997;96:1686-1695.
 22. Youm JB, Leem CH, Zhang YH, Kim N, Han J, Earm YE. Modeling of arrhythmogenic automaticity induced by stretch in rat atrial myocytes. *Korean J Physiol Pharmacol* 2008;12:267-274.
 23. Kalifa J, Bernard M, Gout B, Bril A, Cozma D, Laurent P, Chalvidan T, Deharo JC, Djiane P, Cozzone P, Maixent JM. Anti-arrhythmic effects of I (Na), I (Kr), and combined I (Kr)-I (CaL) blockade in an experimental model of acute stretch-related atrial fibrillation. *Cardiovasc Drugs Ther* 2007;21:47-53.
 24. Calaghan S, White E. Activation of Na⁺-H⁺ exchange and stretch-activated channels underlies the slow inotropic response to stretch in myocytes and muscle from the rat heart. *J Physiol* 2004;559:205-214.
 25. Alvarez BV, Perez NG, Ennis IL, Camilion de Hurtado MC, Cingolani HE. Mechanisms underlying the increase in force and Ca²⁺ transient that

6. Bibliografía

- follow stretch of cardiac muscle: a possible explanation of the Anrep effect. *Circ Res* 1999;85:716-722.
26. Perez NG, De Hurtado MCC, Cingolani HE. Reverse mode of the Na⁺-Ca²⁺ exchange after myocardial stretch: underlying mechanism of the slow force response. *Circ Res* 2001;88:376-382.
 27. Cingolani HE, Perez N, Aiello EA, Camilión de Hurtado MC. Intracellular signaling following myocardial stretch: an autocrine / paracrine loop. *Regulatory Peptides* 2005;128:211-220.
 28. Cingolani HE, Ennis IL, Aiello EA, Perez NG. Role of autocrine / paracrine mechanisms in response to myocardial strain. *Pflugers Arch* 2011;462:29-38.
 29. Kondratev D, Christ A, Gallitelli MF. Inhibition of the Na⁺-H⁺ exchanger with cariporide abolishes stretch-induced calcium but not sodium accumulation in mouse ventricular myocytes. *Cell Calcium* 2005;37:69-80.
 30. Antzelevitch C, Belardinelli L, Wu L, Fraser H, Zygmunt AC, Burashnikov A. Electrophysiologic properties and antiarrhythmic actions of a novel antianginal agent. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2004;9:S65-S83.
 31. Hale SL, Shryock JC, Belardinelli L, Sweeney M, Kloner RA. Late sodium current inhibition as a new cardioprotective approach. *J Mol Cell Cardiol* 2008;44:954-967.
 32. Tamargo J, Caballero R, Delpon E. Ranolazine: an antianginal drug with antiarrhythmic properties. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2011;9:813-827.
 33. Such L, Alberola AM, Such-Miquel L, López L, Trapero I, Pelechano F, Gómez-Cabrera MC, Tormos A, Millet J, Chorro FJ. Effects of chronic exercise on myocardial refractoriness: a study on isolated rabbit heart. *Acta Physiol (Oxf)*. 2008;193:331-339.
 34. Zarzoso M, Such-Miquel L, Parra G, Brines-Ferrando L, Such L, Chorro FJ, Guerrero J, Guill A, O'Connor JE, Alberola A. The training-induced

- changes on automatism, conduction and myocardial refractoriness are not mediated by parasympathetic postganglionic neurons activity. *Eur J Appl Physiol* 2012;112:2185-2193.
35. Brines L, Such-Miquel L, Gallego D, Trapero I, del Canto I, Zarzoso M, Soler C, Pelechano F, Cánoves J, Alberola A, Such L, Chorro FJ. Modifications of mechanoelectric feedback induced by 2,3-butanedione monoxime and blebbistatin in Langendorff-perfused rabbit hearts. *Acta Physiol (Oxf.)* 2012;206:29-41.
 36. Ng J, Goldberger JJ. Techniques for event and feature detection. En: Goldberger JJ, Ng J (eds.): *Practical signal and image processing in clinical cardiology* (pp. 43-56). Londres: Springer, 2010.
 37. Chicos AB, Kadish AH. Intracardiac electrograms. En: Goldberger JJ, Ng J (eds.): *Practical signal and image processing in clinical cardiology* (pp. 319-346). Londres: Springer, 2010.
 38. Ng J, Goldberger JJ. Signals in the frequency domain. En: Goldberger JJ, Ng J (eds.): *Practical signal and image processing in clinical cardiology* (pp. 17-26). Londres: Springer, 2010.
 39. Ng J, Goldberger JJ. Alternative techniques for rate estimation. En: Goldberger JJ, Ng J (eds.): *Practical signal and image processing in clinical cardiology* (pp. 57-68). Londres: Springer, 2010.
 40. Marieb EN, Mallat JB, Wilhelm PB. *Human anatomy* (5th ed). San Francisco: Benjamin Cummings, 2007.
 41. Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiología médica* (11^a ed). Madrid: Elsevier Saunders, 2011.
 42. Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. *Heart disease: A textbook of cardiovascular medicine* (8th ed). St. Louis, Missouri: WB Saunders, 2007.
 43. Cingolani HE, Houssay AB. *Fisiología humana* (7^a ed). Buenos Aires: El Ateneo, 2006.

6. Bibliografía

44. Opie LH. The heart: Physiology, from cell to circulation. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 2004.
45. Li GR, Dong MQ. Pharmacology of cardiac potassium channels. *Adv Pharmacol* 2010;59:93-134.
46. Zipes DP, Jalife J. Arritmias: Electrofisiología cardíaca. Madrid: Marban, 2006.
47. Roden DM, Balsler JR, George AL Jr, Anderson ME. Cardiac ion channels. *Annu Rev Physiol* 2002;64:431-475.
48. Buja M, Krueger RF, Netter G. Anatomía patológica. Philadelphia: Elsevier-Saunders, 2006.
49. West JB. Bases fisiológicas de la práctica médica (12^a ed). Madrid: Panamericana, 1998.
50. Jalife J, Delmar M, Anumonwo J, Berenfeld O, Kalifa J. Basic cardiac electrophysiology for the clinician (2nd ed). Oxford: Wiley-Blackwell, 2009.
51. Levick JR. An introduction to cardiovascular physiology (5th ed). Boca Raton, Florida: CRC Press, 2010.
52. Wier WG. $[Ca^{2+}]_i$ transients during excitation-contraction coupling of mammalian heart. En: Fozzard H, Haber E, Katz A, Jennings R, Morgan HD. (eds.): The heart and cardiovascular system. Scientific Foundations (2nd ed) (pp. 601-623). New York: Raven Press, 1992.
53. Janvier NC, Boyett MR. The role of Na-Ca exchange current in the cardiac action potential. *Cardiovasc Res* 1996;32:69-84.
54. Shenasa M, Hindricks G, Borggrefe M, Breithardt G. Cardiac mapping. Chichester, England: Wiley-Blackwell, 2009.
55. Caravaca J Serrano-López AJ, Soria-Olivas E, Bataller M, Rosado-Muñoz A, Such-Belenguer L, Guerrero J. Effects of physical exercise and glibenclamide on local activation waves during ventricular fibrillation. *Proceedings of the IEEE Computing in Cardiology* 2013;40:1083-1086.

56. Warren JA, Dreher RD, Jaworski RV, Putzke JJ, Russie RJ. Implantable cardioverter defibrillators. *Proc IEEE* 1996;84:468-479.
57. Parmley WW, Chuck L. Length dependent changes in myocardial contractile state. *Am J Physiol* 1973;224:1195-1199.
58. von Lewinski D, Stumme B, Maier LS, Luers C, Bers DM, Pieske B. Stretch-dependent slow force response in isolated rabbit myocardium is Na^+ dependent. *Cardiovasc Res* 2003;57:1052-1061.
59. Perez NG, Nolly MB, Rolden MC, Villa-Abrile MC, Cingolani E, Portiansky EL, Alvarez BV, Ennis IL, Cingolani HE. Silencing of NHE-1 blunts the slow force response to myocardial stretch. *J Appl Physiol* 2011;111:874-880.
60. Hongo K, White E, Le Guennec JY, Orchard CH. Changes in $[\text{Ca}^{2+}]_i$, $[\text{Na}^+]_i$ and Ca^{2+} current in isolated rat ventricular myocytes following an increase in cell length. *J Physiol (Lond)* 1996;491:609-619.
61. Kim D. Novel cation-selective mechanosensitive ion channel in the atrial cell membrane. *Circ Res* 1993;72:225-231.
62. Zhang YH, Youm JB, Sung HK, Lee SH, Ryu SY, Ho WK, Earm YE. Stretch-activated and background non-selective cation channels in rat atrial myocytes. *J Physiol* 2000;523:607-619.
63. Nazir SA, Lab MJ. Mechanoelectric feedback and atrial arrhythmias. *Cardiovasc Res* 1996;32:52-61.
64. Reiter MJ, Synhorst DP, Mann DE. Electrophysiological effects of acute ventricular dilatation in the isolated rabbit heart. *Circ Res* 1988;62:554-562.
65. Kamkin A, Kiseleva I, Isenberg G. Ion selectivity of stretch-activated cation currents in mouse ventricular myocytes. *Pflugers Arch – Eur J Physiol* 2003;446:220-231.
66. Franz MR, Bode F. Mechano-electrical feedback underlying arrhythmias: the atrial fibrillation case. *Prog Biophys Mol Biol* 2003;82:163-174.

6. Bibliografía

67. Chorro FJ, Millet J, Ferrero A, Cebrián A, Cánoves J, Martínez A, Mainar L, Porres JC, Sanchis J, López Merino V, Such L. Effects of myocardial stretching on excitation frequencies determined by spectral analysis during ventricular fibrillation. *Rev Esp Cardiol* 2002;55:1143-50.
68. Levy M. Role of calcium in arrhythmogenesis. *Circulation* 1989;80:23-30.
69. Chattipakorn N, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn S. Electrophysiological mechanisms of ventricular fibrillation induction. *Indian Pacing Electrophysiol J* 2005;5:43-50.
70. duBell WH, Boyett MR, Spurgeon HA, Talo A, Stern MD, Lakatta EG. The cytosolic calcium transient modulates the action potential of rat ventricular myocytes. *J Physiol* 1991;436:347-369.
71. Dobrev D, Voigt N, Wehrens XH. The ryanodine receptor channel as a molecular motif in atrial fibrillation: pathophysiological and therapeutic implications. *Cardiovasc Res* 2011;89:734-743.
72. Belardinelli L, Shryock JC, Fraser H. Inhibition of the late sodium current as a potential cardioprotective principle: effects of the late sodium current inhibitor ranolazine. *Heart* 2006;92:iv6-iv14.
73. Ma J, Luo A, Wu L, Wan W, Zhang P, Ren Z, Zhang S, Qian C, Shryock JC, Belardinelli L. Calmodulin kinase II and protein kinase C mediate the effect of increased intracellular calcium to augment late sodium current in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012;302:1141-51.
74. Imahashi K, Kusuoka H, Hashimoto K, Yoshioka J, Yamaguchi H, Nishimura T. Intracellular sodium accumulation during ischemia as the substrate for reperfusion injury. *Circ Res* 1999;84:1401-1406.
75. Saint DA. The role of the persistent Na⁺ current during cardiac ischemia and hypoxia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006;17:S96-S103.
76. Song Y, Shryock JC, Wagner S, Maier LS, Belardinelli L. Blocking late sodium current reduces hydrogen peroxide-induced arrhythmogenic activity and contractile dysfunction. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;318:214-222.

77. Scirica BM, Morrow DA, Hod H, Murphy SA, Belardinelli L, Hedgepeth CM, et al. Effect of ranolazine, an antianginal agent with novel electrophysiological properties, on the incidence of arrhythmias in patients with non ST-segment elevation acute coronary syndrome: results from the Metabolic Efficiency With Ranolazine for Less Ischemia in Non ST-Elevation Acute Coronary Syndrome Thrombolysis in Myocardial Infarction 36 (MERLIN-TIMI 36) randomized controlled trial. *Circulation* 2007;116:1647-1652.
78. Savarese G, Rosano G, D'Amore C, Musella F, Della Ratta GL, Pellegrino AM, Formisano T, Vitagliano A, Cirillo A, Cice G, Fimiani L, del Guercio L, Trimarco B, Perrone-Filardi P. Effects of ranolazine in symptomatic patients with stable coronary artery disease. A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol* 2013;169:262-270.
79. Antzelevitch C, Burashnikov A, Sicouri S, Belardinelli L. Electrophysiological basis for the antiarrhythmic actions of ranolazine. *Heart Rhythm* 2011;8:1281-1290.
80. Burashnikov A, Di Diego JM, Zygmunt AC, Belardinelli L, Antzelevitch C. Atrium-selective sodium channel block as a strategy for suppression of atrial fibrillation. Differences in sodium channel inactivation between atrial and ventricles and the role of ranolazine. *Circulation* 2007;116:1449-1457.
81. Bayés de Luna A, Coumel P, Leclercq JF. Ambulatory sudden cardiac death: mechanisms of production of fatal arrhythmia on the basis of data from 150 cases. *Am Heart J* 1989;117:151-159.
82. Billman GE. Aerobic exercise conditioning: a non-pharmacological antiarrhythmic intervention. *Appl Physiol* 2002;92:446-454.
83. Aronow WS. Implantable cardioverter-defibrillators. *Am J Ther* 2010;17:e208-e220 (Review).
84. Jalife J. Ventricular fibrillation: mechanisms of initiation and maintenance. *Annu Rev Physiol* 2000;62:25-50.

6. Bibliografía

85. Jalife J. Tiempo, espacio y frecuencia en la fibrilación ventricular. *Rev Esp Cardiol* 2006;59:859-861.
86. Goldberger AL, Amaral LA, Glass L, Hausdorff JM, Ivanov PC, Mark RG, Mietus JE, Moody GB, Peng CK, Stanley HE. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: components of a new research resource for complex physiologic signals. *Circulation* 2000;101:e215-e220.
87. Kléber AG, Rudy Y. Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiol Rev* 2004;84:431-488.
88. Allesie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, Hollen J. Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. En: Zipes DP, Jalife J (eds.): *Cardiac arrhythmias* (pp. 265-276). New York: Grune and Stratton, 1985.
89. Choi BR, Liu T, Salama G. The distribution of refractory periods influences the dynamics of ventricular fibrillation. *Circ Res* 2001;88:e49-58.
90. Choi BR, Nho W, Liu T, Salama G. Life span of ventricular fibrillation frequencies. *Circ Res* 2002;91:339-345.
91. Mines GR. On circulating excitation in heart muscles and their possible relation to tachycardia and fibrillation. *Trans R Soc Can* 1914;4:43-52.
92. Chorro FJ, García-Civera R, López-Merino V. *Cardiología clínica*. Valencia: Publicacions de la Universitat de València (PUV), 2007.
93. Mac Conail M. Ventricular fibrillation thresholds in Langendorff perfused rabbit hearts: all or none effect of low potassium concentration. *Cardiovasc Res* 1987;21:463-468.
94. Reiter MJ, Mann DE, Williams GR. Interaction of hypokalemia and ventricular dilatation in isolated rabbit hearts. *Am J Physiol* 1993;265:H1544-H1550.
95. Allesie MA, Konings KTS, Kirchof CJHJ, Wijffels M. Electrophysiologic mechanisms of perpetuation of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 1996;77:10A-23A.

96. Dorian P, Newman D. Tedisamil increases coherence during ventricular fibrillation, and decreases defibrillation energy requirements. *Cardiovasc Res* 1997;33:485-494.
97. Wit AL, Janse MJ. Experimental models of ventricular tachycardia and fibrillation caused by ischemia and infarction. *Circulation* 1992;85:I32-I42 (Review).
98. Weinberg SH, Chang KC, Zhu R, Tandri H, Berger RD, Trayanova NA, Tung L. Defibrillation success with high frequency electric fields is related to degree and location of conduction block. *Heart Rhythm* 2013;10:740-748.
99. Kwan YY, Fan W, Hough D, Lee JJ, Fishbein MC, Karagueuzian HS, Chen PS. Effects of procainamide on wave-front dynamics during ventricular fibrillation in open-chest dogs. *Circulation* 1998 12;97:1828-1836.
100. Muñoz V, Grzeda KR, Desplantez T, Pandit SV, Mironov S, Taffet SM, Rohr S, Kléber AG, Jalife J. Adenoviral expression of IKs contributes to wavebreak and fibrillatory conduction in neonatal rat ventricular cardiomyocyte monolayers. *Circ Res* 2007;101:475-483.
101. Cha YM, Birgersdotter-Green U, Wolf PL, Peters BB, Chen PS. The mechanism of termination of reentrant activity in ventricular fibrillation. *Circ Res* 1994;74:495-506
102. Kenknight BH, Bayly PV, Gerstle RJ, Rollins DL, Wolf PD, Smith WM, Ideker RE. Regional capture of fibrillating ventricular myocardium. *Circ Res* 1995;77:849-55
103. Chorro FJ, Blasco E, Trapero I, Cánoves J, Ferrero A, Mainar L, Such-Miquel L, Sanchis J, Bodí V, Cerdá JM, Alberola A, Such L. Selective myocardial isolation and ventricular fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol* 2007;30:359-70.

6. Bibliografía

104. Wolk P, Kane KA, Cobbe SM, Hicks MN. Facilitation of spontaneous defibrillation by moxonidine during regional ischaemia in an isolated working rabbit heart model. *Eur J Pharmacol* 1999;367:25-32.
105. Chen PS, Wu TJ, Ting CT, Karagueuzian HS, Garfinkel A, Lin SF, Weiss JN. A tale of two fibrillations. *Circulation* 2003;108:2298-2303.
106. Chorro FJ, Such-Belenguer L, López-Merino V. Modelos animales de enfermedad cardiovascular. *Rev Esp Cardiol* 2009;62:69-84.
107. Janse MJ, Opthof T, Kléber AG. Animal models of cardiac arrhythmias. *Cardiovasc Res* 1998;39:165-177 (Review).
108. Romero L, Carbonell B, Trenor B, Rodriguez B, Saiz J, Ferrero JM. Human and rabbit inter-species comparison of ionic mechanisms of arrhythmic risk: A simulation study. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2010;2010:3253-3256.
109. Panfilov AV. Is heart size a factor in ventricular fibrillation? Or how close are rabbit and human hearts? *Heart Rhythm* 2006;3:862-864.
110. Efimov IR, Nikolski VP, Salama G. Optical imaging of the heart. *CircRes* 2004;95:21-33 (Review).
111. Packer DL. Evolution of mapping and anatomic imaging of cardiac arrhythmias. *Pacing Clin Electrophysiol* 2004;27:1026-1049 (Review).
112. Lee JJ, Kamjoo K, Hough D, Hwang C, Fan W, Fishbein MC, Bonometti C, Ikeda T, Karagueuzian HS, Chen PS. Reentrant wave fronts in Wiggers' stage II ventricular fibrillation: Characteristics, and mechanisms of termination and spontaneous regeneration. *Circ Res* 1996;78:660-675.
113. Rogers JM, Huang J, Melnick SB, Ideker RE. Sustained reentry in the left ventricle of fibrillating pig hearts. *Circ Res* 2003;92:539-545.
114. Chorro FJ, Cánoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchís J, Llavador E, Such LM, López Merino V, Such L. Epicardial mapping of reentrant activation during ventricular fibrillation. An experimental study. *Rev Esp Cardiol* 2000;53:1356-1364.

115. Chorro FJ, Canoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Such L, Lopez-Merino V. Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol: An experimental study. *Circulation* 2000;101:1606-1615.
116. Chen PS, Wolf PD, Melnick SD, Danieley ND, Smith WM, Ideker RE. Comparison of activation during ventricular fibrillation and following unsuccessful defibrillation shocks in open-chest dogs. *Circ Res* 1990;66:1544-1560.
117. Zaitsev AV, Guha PK, Sarmast F, Kolli A, Berenfeld O, Pertsov, AM, de Groot JR, Coronel R, Jalife J. Wavebreak formation during ventricular fibrillation in the isolated, regionally ischemic pig heart. *Circ Res* 2003;92:546-553.
118. Ng J, Goldberger JJ. Understanding and interpreting Dominant frequency analysis AF electrograms. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2007;18:680-685.
119. Ibáñez-Català X, Guillem M, Climent A, Chorro FJ, Pelechano F, Trapero E, Roses A, Guill A, Tormos A, Millet J. 2D Isochronal correlation method to detect pacing capture during ventricular fibrillation. 4th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering, 22 ed. IFMBE Proceedings 2009;22:14-17.
120. Konings KT, Kirchhof CJ, Smeets JR, Wellens HJ, Penn OC, Allessie MA. Highdensity mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. *Circulation* 1994;84:1665-1680.
121. Chorro FJ, Guerrero J, Ferrero A, Tormos A, Mainar L, Millet J, Canoves J, Porres JC, Sanchis J, Lopez-Merino V, Such L. Effects of acute reduction of temperature on ventricular fibrillation activation patterns. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H2331-H2340.
122. Duytschaever M, Mast F, Killian M, Blaauw Y, Wijffels M, Allessie M. Methods for determining the refractory period and excitable gap

6. Bibliografía

- during persistent atrial fibrillation in the goat. *Circulation* 2001;104:957-962.
123. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;92:1954-1968.
124. Castro-Chaves P, Roncon-Albuquerque R Jr, Leite-Moreira AF. Endothelin ETA receptors and endothelium partially mediate the positive inotropic and lusitropic effects of angiotensin II. *Eur J Pharmacol* 2006;544:91-96.
125. Oppenheim A, Schaffer R. Digital signal processing. Engelwood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1975.
126. Ropella KM. Frequency domain analysis of endocardial signals. *Ann Ist Super Sanita* 2001;37:351-359.
127. Chorro FJ, Sanchez-Munoz JJ, Sanchis J, Cortina J, Bataller M, Guerrero J, Espi J, Ruiperez JA, Lopez-Merino V. Modifications in the evolution of the dominant frequency in ventricular fibrillation induced by amiodarone, diltiazem, and flecainide. An experimental study. *J Electrocardiol* 1996;29:319-326.
128. Riascos D, Baltaxe E, Pascual G. La preparación de Langendorff: corazón de mamífero aislado perfundido. *Universitas Médica* 2004;45:111-117.
129. Chorro FJ, Ibañez-Catalá X, Trapero I, Such-Miquel L, Pelechano F, Cánoves J, Mainar L, Tormos A, Cerdá JM, Alberola A, Such L. Ventricular fibrillation conduction through an isthmus of preserved myocardium between radiofrequency lesions. *Pacing Clin Electrophysiol* 2013;36:286-298.
130. Chorro FJ, Pelechano F, Trapero I, Ibañez-Catalá X, Such-Miquel L, Tormos A, Guerrero J, Cánoves J, Mainar L, Millet J, Alberola A, Such L. Modifications in ventricular fibrillation and capture capacity induced by a linear radiofrequency lesion. *Rev Esp Cardiol* 2012;65:143-151.

131. Tormos A, Chorro FJ, Millet J, Such L, Canoves J, Mainar L, Trapero I, Such-Miquel L, Guill A, Alberola A. Analyzing the electrophysiological effects of local epicardial temperature in experimental studies with isolated hearts. *Physiol Meas* 2008;29:711–728.
132. Such L, Rodriguez A, Alberola A, Lopez L, Ruiz R, Artal L, Pons I, Pons ML, García C, Chorro FJ. Intrinsic changes on automatism, conduction, and refractoriness by exercise in isolated rabbit heart. *J Appl Physiol* 2002;92:225-229.
133. Zabel M, Portnoy S, Franz MR. Effect of sustained load on dispersion of ventricular repolarization and conduction time in the isolated intact rabbit heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1996;7:9-16.
134. Reiter MJ. Contraction-excitation feedback. En: Zipes DP, Jalife J (eds.): *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside* (pp. 249-253). Philadelphia: WB Saunders, 2000.
135. Zaitsev AV, Berenfeld O, Mironov SF, Jalife J, Pertsov AM. Distribution of excitation frequencies on the epicardial and endocardial surfaces of fibrillating ventricular wall of the sheep heart. *Circ Res* 2000;86:408- 417.
136. Eijsbouts SC, Houben RP, Blaauw Y, Schotten U, Allessie MA. Sinergistic action of atrial dilation and sodium channel blockade on conduction in rabbit atria. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004;15:1453–1461.
137. Beyder A, Stregé PR, Reyes S, Bernard CE, Terzic A, Makielski J, Ackerman MJ, Farrugia G. Ranolazine decreases mechanosensitivity of the voltage-gated sodium ion channel Nav1.5. A novel mechanism of drug action. *Circulation* 2012;125:2698-2706.
138. Lerman BB, Engelstein ED, Burkhoff D. Mechanoelectrical feedback: role of beta-adrenergic receptor activation in mediating load-dependent shortening of ventricular action potential and refractoriness. *Circulation* 2001;104:486-490.

6. Bibliografía

139. Riccio ML, Koller ML, Gilmour RF. Electrical restitution and spatiotemporal organization during ventricular fibrillation. *Circ Res* 1999;84:955-963.
140. Horner SM, Dick DJ, Murphy CF, Lab MJ. Cycle length dependence of the electrophysiological effects of increased load on the myocardium. *Circulation* 1996;94:1131-1136.
141. Gold MR, Strichart GR. Use-dependent block of atrial sodium current by 490 EIPA. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17:792-799.
142. Calaghan SC, White E. Contribution of angiotensin II, endothelin 1 and the endothelium to the slow inotropic response to stretch in ferret papillary muscle. *Pflugers Arch – Eur J Physiol* 2001;441:514-520.
143. Bunch J, Mahapatra S, Murdock D, Molden J, Weiss P, May HT, Bair TL, Mader KM, Crandall BG, Day JD, Osborn JS, Muhlestein JB, Lappe DL, Anderson JL. Ranolazine reduces ventricular tachycardia burden and ICD shocks in patients with drug-refractory ICD shocks. *Pacing Clin Electrophysiol* 2011;34:1600-1606.
144. Such-Miquel L. Director: Such L. Efectos electrofisiológicos miocárdicos intrínsecos producidos por la inhibición del sistema de intercambio sodio-protón, en condiciones de normoxia, y tras la isquemia miocárdica regional. Estudio experimental. Universitat de València, 2005.
145. Chattipakorn N, Fotuhi PC, Chattipakorn SC, Ideker RE. Three-dimensional mapping of earliest activation after near-threshold ventricular defibrillation shocks. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2003;14:65-69.
146. Parra G. Directores: Such L, Such-Miquel L. Estudio de los efectos del entrenamiento físico sobre algunas propiedades electrofisiológicas miocárdicas ventriculares mediante el análisis de la fibrilación ventricular inducida. Una investigación en corazón aislado de conejo. Tesis doctoral, Universitat de València, 2012.

Capítulo 7

7. Publicaciones

7.1 Derivadas de Tesis Doctoral

Artículos científicos

1. Chorro FJ, Del Canto I, Brines L, Such-Miquel L, Calvo C, Soler C, Parra G, Zarzoso M, Trapero I, Tormos A, Alberola A, Such L. Ranolazine attenuates the electrophysiological effects of myocardial stretch in Langendorff-perfused rabbit hearts. Enviado a *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* el 11 de Agosto de 2014.
2. Chorro FJ, Del Canto I, Brines L, Such-Miquel L, Calvo C, Soler C, Zarzoso M, Trapero I, Tormos A, Such L. Estudio experimental de los efectos del EIPA, losartán y BQ-123 sobre las modificaciones electrofisiológicas inducidas por el estiramiento miocárdico. Enviado a la *Revista Española de Cardiología* el 15 de Agosto de 2014.
3. Brines L, Such-Miquel L, Gallego D, Trapero I, Del Canto I, Zarzoso M, Soler C, Pelechano F, Cánoves J, Alberola A, Such L, Chorro FJ. Modifications of mechanoelectric feedback induce by 2,3-butanedione monoxime and Blebbistatin in Langendorff-perfused rabbit hearts. *Acta Physiol (Oxf)*. 2012 Sep;206(1):29-41. doi: 10.1111/j.1748-1716.2012.02441.x. Epub 2012 May 16.

7. Publicaciones

Congresos Científicos

1. AUTORES Brines L, Del Canto I, Such-Miquel L, Parra G, Soler C, Barber J, Trapero I, Alberola A, Such L, Chorro FJ.
TÍTULO: Ranolazine induced modifications of ventricular fibrillation activation complexity under mechanical stretch.
TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Congress of European Society of Cardiology 2013
PUBLICACIÓN: European Heart Journal 2013;34(Suppl 1):252
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Ámsterdam, Países Bajos
AÑO: 2013 (31 agosto-4 de Septiembre)
2. AUTORES: Brines L, Del Canto I, Such-Miquel L, Parra G, Soler C, Barber J, Such L, Chorro FJ.
TÍTULO: Modificaciones producidas por la ranolazina en la complejidad de la activación de la fibrilación ventricular bajo los efectos del estiramiento agudo miocárdico.
TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2013
PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2013;66(Suppl 1):455
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Valencia, España
AÑO: 2013 (24-26 de Octubre)
3. AUTORES: Brines L, Such-Miquel L, Del Canto I, Soler C, parra G, Gallego N, Barber J, Alberola A, Such L, Chorro FJ.
TÍTULO: Ranolazine modifies the electrophysiological effects of acute myocardial stretching.
TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Congress of European Society of Cardiology 2012
PUBLICACIÓN: European Heart Journal 2012;33(Suppl 1):814
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Munich, Alemania
AÑO: 2012 (25-29 de Agosto)

4. AUTORES: Brines L, Such-Miquel, Del Canto I, Soler C, Parra G, Gallego N, Barber J, Such L.
TÍTULO: La ranolazina modifica los efectos electrofisiológicos producidos por el estiramiento agudo miocárdico.
TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2012
PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2012;65(Suppl 3):373
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Sevilla, España
AÑO: 2012 (18-20 de Octubre)

7.2 No directamente relacionadas

Artículos científicos

1. Del Canto I, Lopez-Lereu MP, Monmeneu JV, Croisille P, Clarysse P, Chorro FJ, Bodi V, Moratal D. Characterization of normal regional myocardial function by magnetic resonance imaging cardiac tagging. J Magn Reson Imaging. 2013 Dec 12. doi: 10.1002/jmri.24539. [Epub ahead of print].
2. Such-Miquel L, Chorro FJ, Guerrero J, Trapero I, Brines L, Zarzoso M, Parra G, Soler C, Del Canto I, Alberola A, Such L. Evaluation of the complexity of myocardial activation during ventricular fibrillation. An experimental study. Rev Esp Cardiol. 2013 Mar;66(3):177-184. doi: 10.1016/j.recesp.2012.08.014. Epub 2012 Dec 8.
3. Del Canto I, López-Grueso R, Gambini J, Monleón D, Borrás C, Viña J, Moratal D. PETra: herramienta de análisis semi-automática de imágenes de tomografía de emisión de positrones. Estudio del consumo cerebral de glucosa en ratas. IEEE Latin Am Trans (aceptado el 30 de Octubre de 2014).

7. Publicaciones

Congresos Científicos

1. AUTORES: Such-Miquel L, Brines L, Del Canto I, Parra G, Soler C, Tormos A, Guill A, Alberola A, Such L, Chorro FJ.

TÍTULO: Dominant frequency and complexity of electrical reentrant activation during ventricular fibrillation with releasing of NO after acute local stretching. A study in isolated rabbit heart.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Presentación oral

CONGRESO: Congress of European Society of Cardiology 2013

PUBLICACIÓN: European Heart Journal 2013;34(Suppl 1):1102

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Ámsterdam, Países Bajos

AÑO: 2013 (31 agosto-4 de Septiembre)

2. AUTORES Brines L, Zarzoso M, Alberola A, Parra G, Such-Miquel K, Del Canto I, Soler C, Guerrero J, Chorro FJ, Such L.

TÍTULO: Effects of chronic physical exercise on the electrical activation of myocardium during ventricular fibrillation. Study of the involvement of intrinsic cholinergic neurons. An experimental research.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster

CONGRESO: Congress of European Society of Cardiology 2013

PUBLICACIÓN: European Heart Journal 2013;34(Suppl 1):1080

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Ámsterdam, Países Bajos

AÑO: 2013 (31 agosto-4 de Septiembre)

3. AUTORES Such L, Parra G, Gallego N, Soler C, Such-Miquel L, Guerrero J, Alberola A, Brines L, Del Canto I, Chorro FJ.

TÍTULO: Effect of chronic exercise and ATP-sensitive potassium channel blockade on the spectral characteristics evolution of ventricular fibrillation in acute regional ischemia.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster

CONGRESO: Congress of European Society of Cardiology 2013

PUBLICACIÓN: European Heart Journal 2013;34(Suppl 1):1080

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Ámsterdam, Países Bajos

AÑO: 2013 (31 agosto-4 de Septiembre)

4. AUTORES: Del Canto I, Lopez-Lereu MP, Monmeneu JV, Croisille P, Clarysse P, Chorro FJ, Bodi V, Moratal D.

TÍTULO: Caracterización de la función miocárdica regional normal mediante el uso de imágenes de resonancia magnética cardiaca marcada.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster

CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2013

PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2013;66(Suppl 1):724

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Valencia, España

AÑO: 2013 (24-26 de Octubre)

5. AUTORES: Del Canto I, Lopez-Lereu MP, Monmeneu JV, Croisille P, Clarysse P, Chorro FJ, Bodi V, Moratal D.

TÍTULO: Cuantificación de la torsión ventricular normal mediante imagen de resonancia magnética cardiaca marcada.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster

CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2013

PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2013;66(Suppl 1):725

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Valencia, España

AÑO: 2013 (24-26 de Octubre)

6. AUTORES: Koninckx M, Such L, Del Canto I, Brines L, Parra G, Such-Miquel L, Soler C, Chorro FJ.

TÍTULO: Efecto del bloqueo del canal katp sobre la complejidad intrínseca de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular en normoxia e isquemia regional aguda. estudio experimental.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster

CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2013

7. Publicaciones

PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2013;66(Suppl 1):1014

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Valencia, España

AÑO: 2013 (24-26 de Octubre)

7. AUTORES: Such-Miquel L, Brines L, Del Canto I, Parra G, Soler C, Alberola A, Such L, Chorro FJ.

TÍTULO: Efecto del óxido nítrico tras estiramiento local en la frecuencia dominante y la complejidad de la activación reentrante durante la fibrilación ventricular. estudio en corazón aislado de conejo.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Presentación oral

CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2013

PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2013;66(Suppl 1):382

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Valencia, España

AÑO: 2013 (24-26 de Octubre)

8. AUTORES: Del Canto I, Brines L, Such-Miquel L, Parra G, Gallego N, Soler C, Alberola A, Chorro FJ, Guerrero J, Such L.

TÍTULO: Effect of physical training and IKATP blockade on the energy to reverse ventricular fibrillation in the regional myocardial ischemia. An experimental study.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster

CONGRESO: Congress of European Society of Cardiology 2012

PUBLICACIÓN: European Heart Journal 2012;33(Suppl 1):1055

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Munich, Alemania

AÑO: 2012 (25-29 de Agosto)

9. AUTORES: Del Canto I, Gallego N, Soler C, Brines L, Koninckx M, Such-Miquel L, Parra G, Guerrero J, Barber J, Chorro FJ, Alberola A, Such L.

TÍTULO: Study of the effect of IKATP blockade with glibenclamide on physiological heterogeneity of the ventricular myocardium. An experimental research.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Presentación oral
CONGRESO: Joint FEPS and Spanish Society of Physiological Sciences 2011
(FEPS 2011)
PUBLICACIÓN: Acta Physiol 2012;206(Suppl 693):O206
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Santiago de Compostela, España
AÑO: 2012 (8-11 de Septiembre)

10. AUTORES: Del Canto I, Lopez-Grueso R, Gambini J, Vina J, Monleon D, Borrás C, Brines L, Soler C, Such-Miquel L, Moratal D.

TÍTULO: Evaluation of rat brain glucose consumption by means of semi-automatic positron emission tomography image analysis.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Joint FEPS and Spanish Society of Physiological Sciences 2011
(FEPS 2011)
PUBLICACIÓN: Acta Physiol 2012;206(Suppl 693):P138
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Santiago de Compostela, España
AÑO: 2012 (8-11 de Septiembre)

11. AUTORES: Brines L, Del Canto I, Such-Miquel L, Zarzoso M, Soler C, Parra G, Gallego N, Guerrero J, Chorro F, Alberola A, Such L.

TÍTULO: Study of the involvement of intrinsic cholinergic neurons on myocardial heterogeneity and its modification by chronic exercise. An experimental research.

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Joint FEPS and Spanish Society of Physiological Sciences 2011
(FEPS 2011)
PUBLICACIÓN: Acta Physiol 2012;206(Suppl 693):P203
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Santiago de Compostela, España
AÑO: 2012 (8-11 de Septiembre)

7. Publicaciones

12. AUTORES: Soler C, Gallego N, Del Canto I, Brines L, Koninckx M, Parra G, Such-Miquel L, Guerrero J, Barber J, Chorro F, Alberola A, Such L.
TÍTULO: Can glibenclamide and chronic exercise similarly alter some electrophysiological properties of myocardium under normoxic conditions?
TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Joint FEPS and Spanish Society of Physiological Sciences 2011 (FEPS 2011)
PUBLICACIÓN: Acta Physiol 2012;206(Suppl 693):P204
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Santiago de Compostela, España
AÑO: 2012 (8-11 de Septiembre)
13. AUTORES: Del Canto I, Gil MP, López-Grueso R, Gambini J, Vina J, Monleón D, Borrás C, Moratal D.
TÍTULO: Estudio del consumo cardiaco de glucosa en murino mediante el análisis semiautomático de imágenes PET/CT.
TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2012
PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2012;65(Suppl 3):418
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Sevilla, España
AÑO: 2012 (18-20 de Octubre)
14. AUTORES: Such-Miquel L, Brines L, Trapero I, Del Canto I, Zarzoso M, Soler C, Alberola A, Chorro FJ.
TÍTULO: Modificaciones del feedback mecanoeléctrico inducidas por la 2,3-butanediona monoxima y blebistatina en corazón aislado de conejo.
TIPO DE PARTICIPACIÓN: Póster
CONGRESO: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2012
PUBLICACIÓN: Rev Esp Cardiol 2012;65(Suppl 3):372-373
LUGAR DE CELEBRACIÓN: Sevilla, España
AÑO: 2012 (18-20 de Octubre)