

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

MODIFICACIONES DEL PATRÓN FIBRILATORIO
VENTRICULAR POR EL ESTIRAMIENTO REGIONAL DEL
VENTRÍCULO IZQUIERDO: ESTUDIO EN CORAZÓN
AISLADO DE CONEJO

ISABEL TRAPERO GIMENO

UNIVERSITAT DE VALENCIA
Servei de Publicacions
2006

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 6 de Octubre de 2006 davant un tribunal format per:

- D. Vicente López Merino
- D. Antonio Alberola Aguilar
- D. José María Ferrero Corral
- D. Ángel Llácer Escorihuela
- D. José Millet Roig

Va ser dirigida per:

D. Francisco Javier Chorro Gascó
D. Luis Such Belenguer

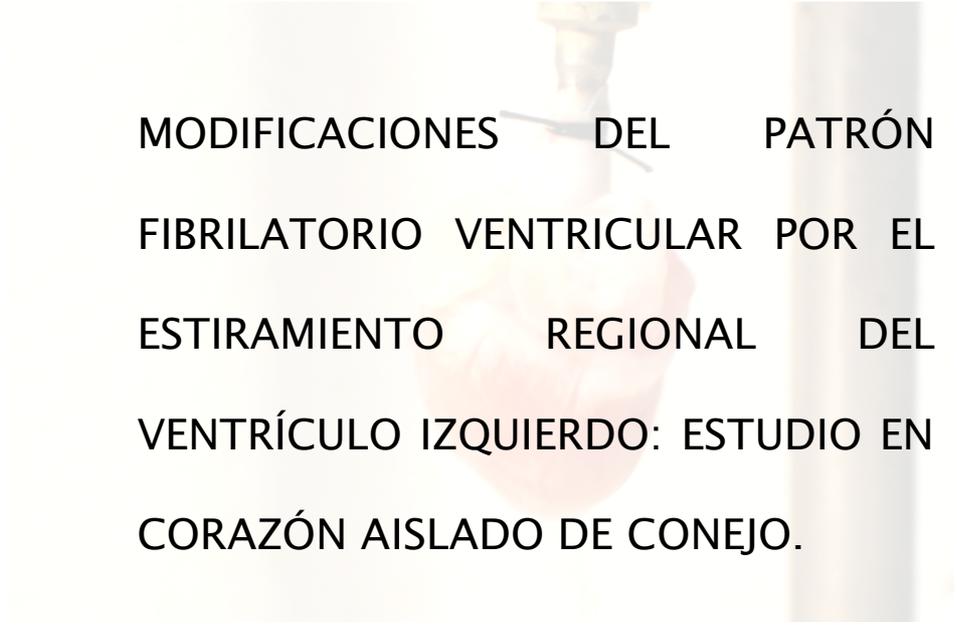
©Copyright: Servei de Publicacions
Isabel Trapero Gimeno

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-6642-4

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Artes Gráficas, 13 bajo
46010 València
Spain
Telèfon: 963864115

DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA



MODIFICACIONES DEL PATRÓN
FIBRILATORIO VENTRICULAR POR EL
ESTIRAMIENTO REGIONAL DEL
VENTRÍCULO IZQUIERDO: ESTUDIO EN
CORAZÓN AISLADO DE CONEJO.

Tesis doctoral presentada por: Isabel Trapero Gimeno.

Dirigida por: Prof. Dr. D. Francisco Javier Chorro Gascó.

Prof. Dr. D. Luis Such Belenguer.

Este trabajo de investigación ha sido subvencionado por la ayuda concedida por el Ministerio de Sanidad y Consumo, para la realización del proyecto de investigación “Mecanismos de perpetuación de la fibrilación ventricular. Expediente FIS PI020594”

A mis padres
y a mi hermano

SIGLAS Y ABREVIATURAS

FA	—	Fibrilación auricular
FME		“Feedback” mecanoeléctrico
FrD	—	Frecuencia dominante de la señal fibrilatoria
FV	—	Fibrilación ventricular
Hz	—	Hercios
InvVV	—	Inversa del intervalo de activación
LO	—	Longitud de onda
PRE	—	Período refractario efectivo
PRF	—	Período refractario funcional
PSD	—	Densidad espectral de potencia
CAE	—	Canales activados por el estiramiento
TEE	—	Test extraestímulo
VC	—	Velocidad de conducción
VV	—	Intervalo de activación
ZE	—	Zona modificada por el estiramiento
ZNE	—	Zona no modificada por el estiramiento

ÍNDICE

Capítulo 1 - INTRODUCCIÓN.	9
1.1. PERSPECTIVA HISTÓRICA.....	10
1.2. “FEEDBACK” MECANOELÉCTRICO.....	11
1.2.1. Definición.....	11
1.2.2. “Feedback” mecanoeléctrico como causa principal de arritmias auriculares.....	12
1.2.3. “Feedback” mecanoeléctrico como causa principal de arritmias ventriculares.....	14
1.3. EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS PRODUCIDOS POR EL ESTIRAMIENTO AURICULAR.....	15
1.4. EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS PRODUCIDOS POR EL ESTIRAMIENTO VENTRICULAR.....	19
1.5. MECANISMOS IÓNICOS DE LOS CAMBIOS PRODUCIDOS POR EL ESTIRAMIENTO.....	24
1.6. FIBRILACIÓN VENTRICULAR.....	29
1.6.1. Perspectiva histórica de la fibrilación ventricular.....	30
1.6.2. Mecanismos de las arritmias: La reentrada.....	33
1.6.3. Relación entre la longitud de onda y la inducibilidad de los procesos fibrilatorios.....	33
1.6.4. Patrones evolutivos de la fibrilación ventricular.....	35
1.7. ESTIRAMIENTO GLOBAL DEL MIOCARDIO Y FIBRILACIÓN VENTRICULAR.....	41

1.8.	IMPLICACIONES CLÍNICAS.....	42
Capítulo 2 - HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.		44
2.1.	HIPÓTESIS.....	45
2.2.	OBJETIVOS.....	46
2.3.	PLAN DE TRABAJO.....	47
Capítulo 3 - MATERIAL Y MÉTODOS.		50
3.1.	PREPARACIÓN EXPERIMENTAL.....	51
3.2.	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	58
3.3.	ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	62
	3.3.1. Conceptos.....	62
	3.3.2. Análisis espectral y análisis tiempo-frecuencia de la FV.....	65
	3.3.3. Análisis en el dominio del tiempo de la FV.....	68
	3.3.4. Análisis de los mapas de activación epicárdica durante la FV.....	69
	3.3.5. Parámetros electrofisiológicos.....	71
3.4.	CÁLCULOS ESTADÍSTICOS.....	75
3.5.	LEGISLACIÓN.....	76
Capítulo 4 - RESULTADOS.		77

4.1.	SERIE A. GRADOS DE ESTIRAMIENTO.....	78
4.2.	SERIE B. EFECTOS DEL ESTIRAMIENTO.....	83
	4.2.1. Variaciones temporales de los efectos del estiramiento local sobre la frecuencia dominante durante la FV.	83
	4.2.2. Efectos del estiramiento local sobre los intervalos VV durante la FV.....	88
	4.2.3. Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos.....	92
	4.2.4. Efectos del estiramiento local sobre las características de los mapas de activación durante la FV.....	95
	4.2.5. Valores máximos de frecuencia dominante y características de los mapas de activación.....	98
4.3.	SERIE C. MODIFICACIONES DE LOS EFECTOS DEL ESTIRAMIENTO PRODUCIDOS POR LA ESTREPTOMICINA.....	102
	4.3.1. Variaciones temporales de los efectos del estiramiento local sobre la frecuencia dominante durante la FV.....	102
	4.3.2. Efectos del estiramiento local los intervalos VV durante la FV.....	105
	4.3.3. Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos durante la FV.....	110
	4.3.4. Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos durante la estimulación a un ciclo base.....	113

Capítulo 5 - DISCUSIÓN.

122

5.1.	EFFECTOS DEL ESTIRAMIENTO EN LA ZONA MODIFICADA.....	124
5.2.	EFFECTOS DEL ESTIRAMIENTO EN LA ZONA NO MODIFICADA.....	128
5.3.	SIGNIFICADO DE LOS REGISTROS CON VALORES MÁXIMOS DE FRECUENCIA DOMINANTE.....	129
5.4.	RESULTADOS OBTENIDOS BAJO LOS EFECTOS DE LA ESTREPTOMICINA.....	131
5.5.	LIMITACIONES.....	135
 Capítulo 6 - CONCLUSIONES.		137
 Capítulo 7 - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.		140

Capítulo 1 - INTRODUCCIÓN

1.1. PERSPECTIVA HISTÓRICA.

Desde hace más de cien años, existen observaciones clínicas que evidencian modificaciones cardíacas inducidas por causas mecánicas. En 1915, Francis Bainbridge demostró que un aumento en el retorno venoso aceleraba la frecuencia cardíaca (Bainbridge 1915). Una explicación de esta respuesta cronotrópica positiva al estiramiento fue documentada en el nodo sinusal por Klaus Deck cinco décadas más tarde (Deck 1964). Usando registros intracelulares, mostró que el estiramiento causaba una reducción en los potenciales máximos, tanto diastólicos como sistólicos, y un aumento en la frecuencia de despolarización del nodo sinusal. En la misma época, también se demostró que el estiramiento inducía una actividad marcapasos regular de forma indirecta, en preparaciones de músculo papilar (Kauffmann *et al.* 1967). Las observaciones de Deck fueron reproducidas en células marcapasos del nodo sinusal aisladas (Cooper *et al.* 2000), que respondieron al estiramiento reduciendo la amplitud del potencial de acción y aumentando la frecuencia, hecho que reproducía la respuesta observada en corazón entero. Investigaciones más allá del nivel celular, permitieron la identificación de las corrientes de membrana que están implicadas en la activación de los canales iónicos activados por el estiramiento (CAE). Hoy en día, hay una gran evidencia de que diversos factores mecánicos pueden ser arritmogénicos. Así, la fibrilación auricular (FA) puede ser iniciada por un estiramiento agudo (Ravelli 2003), mantenida por estimulación

mecánica sostenida (Schotten *et al.* 2003), y terminada con la aplicación de bloqueantes de los canales activados por el estiramiento (Franz *et al.* 2003). Del mismo modo, la estimulación mecánica, aguda (Link 2003) y crónica del ventrículo debe ser arritmogénica, probablemente por los mismos mecanismos (Janse *et al.* 2003). En este contexto, se cree que el “feedback” mecanoeléctrico (FME) en el tejido cardíaco juega un papel importante en la arritmogénesis.

1.2. “FEEDBACK” MECANOELÉCTRICO.

1.2.1. Definición.

El “feedback” mecanoeléctrico es uno de los factores capaces de modificar las propiedades electrofisiológicas del miocardio. Se define como el proceso por el cual fuerzas mecánicas aplicadas sobre el miocardio inducen respuestas eléctricas, que a su vez pueden modificar o inducir las respuestas mecánicas mediante el proceso excitación-contracción cardíaca (Nazir *et al.* 1996). Y el mecanismo de transducción de este fenómeno es a través de canales iónicos activados por estiramiento en la membrana de los miocitos. La existencia de canales iónicos que son activados por el estiramiento de la membrana miocárdica, facilita cambios en las corrientes iónicas de membrana y en el potencial de acción celular en respuesta al estímulo mecánico (Tan *et al.* 2004). El estiramiento despolariza las células

musculares cardíacas, acorta su potencial de acción y la duración del potencial de acción monofásico, reduce la refractariedad miocárdica, y modifica la inducibilidad de arritmias. Semejantes cambios en las propiedades electrofisiológicas del miocardio conducen a alteraciones en el patrón de activación durante la fibrilación ventricular (FV).

1.2.2. “Feedback” mecanoeléctrico como causa principal de arritmias auriculares.

Como ya hemos comentado, el estiramiento y la dilatación auricular tienen un papel importante en el desarrollo de las arritmias auriculares en un amplio espectro de situaciones clínicas, desde los efectos agudos de la taquicardia supraventricular y del infarto de miocardio, a las condiciones crónicas de la insuficiencia cardíaca o de la regurgitación mitral. Diversos experimentos muestran que el estiramiento puede modular las propiedades electrofisiológicas y promover la arritmogénesis (Brugada *et al.* 1985, Nazir *et al.* 1996), o dicho de otra forma, es el FME la principal causa de las arritmias auriculares inducidas por el estiramiento. Básicamente se han propuesto dos mecanismos para las arritmias auriculares: la formación y/o la conducción de un impulso anómalo, dando lugar a alguna forma de reentrada (Brugada *et al.* 1985). El mecanismo central puede ser un aumento en el automatismo o actividad desencadenada por despolarizaciones de suficiente magnitud para originar extrasístoles.

En la inducción de esta actividad desencadenada, el FME actúa sobre los mecanismos primarios de las despolarizaciones, que incluyen una reducción en la corriente repolarizante y un aumento anormal de las corrientes de entrada por canales de sodio o calcio, así como una sobrecarga intracelular de calcio (Ravelli 2003). Se ha demostrado un aumento de la vulnerabilidad a las taquiarritmias auriculares y a la fibrilación, en modelos experimentales (Solti *et al.* 1989, Sideris *et al.* 1994, Satoh *et al.* 1996) y en el ser humano (Chen *et al.* 1998, Tse *et al.* 2001), al aumentar la presión auricular mediante diferentes protocolos. Se ha estudiado también el efecto de la dilatación auricular aguda sobre el sustrato de la fibrilación auricular, en corazón de conejo aislado y perfundido en un sistema de Langendorff (Ravelli *et al.* 1997, Bode *et al.* 2001). En condiciones normales, no se induce la arritmia debido a que el número máximo de frentes de onda, que puede contener una masa tan pequeña como la auricular, es mucho menor que el necesario para que se perpetúe la fibrilación; sin embargo, el estiramiento fue el factor arritmogénico clave, ya que estando presente se pudo inducir la fibrilación mediante estimulación eléctrica (Allessie *et al.* 1990).

1.2.3. “Feedback” mecanoeléctrico como causa principal de arritmias ventriculares.

Los datos clínicos sugieren que las arritmias ventriculares ocurren más frecuentemente en pacientes que sufren insuficiencia cardíaca, miocardiopatía dilatada, sobrecarga de volumen o presión ventricular, prolapso de la válvula mitral, o contracción y relajación ventricular disinérgica (Chakko *et al.* 1985, Bokeriia *et al.*1989, Luu *et al.* 1989, Green 1992, Levy 1992, Pye *et al.*1992, Vohra *et al.* 1993). Del mismo modo que en las arritmias auriculares, un mecanismo común a todas estas observaciones es que la dilatación o estiramiento del tejido miocárdico puede dar lugar a cambios electrofisiológicos que producen o facilitan las arritmias, es decir, también aquí, el “feedback” mecanoeléctrico, está implicado en la actividad desencadenada, ya que diversos estudios en corazones aislados muestran que la sobrecarga ventricular produce pospotenciales, a menudo acompañado de excitaciones ventriculares prematuras (Reiter *et al.* 1988, Calkins *et al.* 1989, Ruknudin *et al.*1993, Franz 1994, Hu *et al.* 1995).

1.3. EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS PRODUCIDOS POR EL ESTIRAMIENTO AURICULAR.

Para estudiar los efectos del estiramiento auricular sobre los períodos refractarios, tanto en humanos como en animales de experimentación, se ha utilizado una gran variedad de protocolos de dilatación, como resume Ravelli en la tabla 1 (traducido de Ravelli 2003):

Modelos de dilatación	Especies	ΔP (mmHg)	PRA	Dispersión PRA	Referencias
Estimulación simultánea AV	Perro	5	↑	—	Kaseda and Zipes (1988)
	Humano	3.5	↑	—	Klein <i>et al.</i> (1990)
	Humano	4	↑	↑	Chen <i>et al.</i> (1999)
	Humano	4	↔	—	Calkins <i>et al.</i> (1992b)
	Humano	8 (pico)	↓	—	Calkins <i>et al.</i> (1992a)
	Humano	7.4	↓	↑	Tse <i>et al.</i> (2001)
TSV	Humano	2.7	↑	—	Klein <i>et al.</i> (1990)
	Humano	4.5	↑	↑	Chen <i>et al.</i> (1998)
Sobrecarga de volumen	Perro	≥ 4	↑	—	Sideris <i>et al.</i> (1994)
	Perro	1.2	↑	↑	Satoh and Zipes (1996)
	Cabra	4.5	↔	—	Wijffels <i>et al.</i> (1997)
Dilatación mediante balón	Perro	8	↓	—	Solti <i>et al.</i> (1989)

Tabla 1: Resumen de los efectos del estiramiento agudo sobre la refractariedad auricular, en estudios in vivo. Abreviaturas: TSV = taquicardia supraventricular; ΔP = valor medio de la variación de la presión auricular; PRA = período refractario auricular; (↑) = incremento del parámetro estudiado, (↓) = disminución, o (↔) = sin cambio.

Uno de los métodos usados para estudiar *in vivo* los efectos del estiramiento auricular sobre la refractariedad, consiste en aumentar la presión auricular mediante una sobrecarga de volumen. Al aplicar este procedimiento en perros anestesiados (Sideris *et al.* 1994, Satoh *et al.* 1996), se ha observado un alargamiento de la refractariedad auricular derecha, mientras que en cabras (Wijffels *et al.*

1997) en las que se aumentó la presión con un expansor del plasma, no se observaron cambios significativos en la refractariedad auricular. Mediante otro procedimiento, basado en la utilización de un balón para producir la dilatación auricular en perros (Solti *et al.* 1989), se encontró un acortamiento estadísticamente significativo de la refractariedad. Además de las posibles diferencias debidas a las especies animales utilizadas, la variedad de resultados es debida a las condiciones experimentales, que pueden conducir a diferentes grados y duración del estiramiento. La dilatación influye sobre la repolarización de diferentes maneras, dependiendo del momento y la intensidad del estiramiento (Kohl *et al.* 1998). La influencia de la duración del estiramiento sobre los cambios en la refractariedad se evidenció en los experimentos de Calkins al mostrar que bastaba un aumento transitorio de la presión para acortar los períodos refractarios (Calkins *et al.* 1992). La importancia de la intensidad del estiramiento se evidenció al observar que cambios de alrededor de 4 mmHg en la presión auricular, o no producían modificaciones, o daban lugar a un aumento de la refractariedad auricular, mientras que mayores variaciones en la presión auricular daban lugar a una disminución de la misma. También se observó un aumento en la heterogeneidad de los períodos refractarios, evaluada mediante el análisis de las diferencias entre los puntos registrados. La distribución no uniforme del período refractario auricular, podría deberse a la estructura no homogénea de la aurícula, que crearía diferencias

regionales en la tensión de la pared al aplicar una presión elevada en el interior de la aurícula (Satoh *et al.* 1996).

Mientras los estudios *in vivo* muestran resultados heterogéneos, los resultados obtenidos en preparaciones aisladas bajo las condiciones de estiramiento son más constantes. En corazones de conejo aislados y perfundidos en un sistema de Langendorff, se han estudiado los efectos del estiramiento sobre los períodos refractarios auriculares y sobre las características del potencial de acción monofásico, y se ha observado que el incremento de la presión auricular dio lugar a acortamientos progresivos de ambos parámetros (Ravelli *et al.* 1997). Los cambios han sido completamente reversibles desapareciendo después de la supresión del estiramiento auricular. El acortamiento de la refractariedad por aumento de la presión auricular, se ha reproducido en corazones aislados de conejo con varios modelos de dilatación (Bode *et al.* 1990, Satoh *et al.* 1996, Chorro *et al.* 1998). Dicho acortamiento de la refractariedad favorece la inducibilidad y la perpetuación de la fibrilación auricular al disminuir la longitud de onda de los impulsos auriculares y al aumentar el número de frentes de onda simultáneos. Tanto en corazones aislados de conejo (Ravelli *et al.* 1997) como en humanos (Tse *et al.* 2001), se ha encontrado una estrecha relación entre la vulnerabilidad de la aurícula a la fibrilación y el acortamiento de la refractariedad inducido por el estiramiento. En humanos, este resultado ha sido independiente del sistema nervioso autónomo. El verapamilo, ha reducido considerablemente (Tse *et al.*

2001) o ha abolido, el acortamiento de los períodos refractarios inducido por el estiramiento y la propensión a la FA, sugiriendo de nuevo, una relación causal entre los dos fenómenos.

De forma diferente, en el modelo de corazón aislado, los bloqueantes de los canales activados por el estiramiento han reducido la vulnerabilidad y la duración de la FA, sin evitar el acortamiento de la refractariedad inducido por el estiramiento (Bode *et al.* 1990, Bode *et al.* 2001). Este resultado indica que además del acortamiento de la refractariedad también hay otros factores implicados en el desarrollo de la FA durante el estiramiento agudo.

Otros factores arritmogénicos.

La distribución no uniforme de los períodos refractarios auriculares locales, probablemente debidas a heterogeneidades en la tensión de la pared, podría establecer las bases de la inducción de la fibrilación auricular por el estiramiento. La influencia del tono autonómico podría afectar a la relación entre los dos fenómenos ya que se ha observado que el bloqueo autonómico facilita el mantenimiento de la FA durante el estiramiento, al promover la heterogeneidad en la refractariedad auricular (Tse *et al.* 2001).

Algunos autores (Solti *et al.* 1989, Sideris *et al.* 1994, Chorro *et al.* 1998) también han demostrado un enlentecimiento de la

conducción durante la dilatación auricular. Datos previos en corazones aislados de conejo (Eijsbouts *et al.* 2001), muestran que la dilatación auricular no solo deprime la conducción auricular sino que promueve la heterogeneidad en la conducción, causando bloqueos en la misma.

También juegan un papel importante los cambios en el sustrato y la inducción de actividad desencadenante. Recientemente, se ha propuesto que la fibrilación auricular clínica debe iniciarse con latidos prematuros originados en las venas pulmonares, inducidos por el estiramiento (Yamane *et al.* 2002).

Finalmente, la reducción de la vulnerabilidad a la FA por los bloqueantes de los canales activados por el estiramiento (Bode *et al.* 2001) y de los canales de calcio tipo L, (Tse *et al.* 2001) sugiere la implicación de los CAE y de la sobrecarga de calcio, como mecanismo primario de la FA inducida por el estiramiento.

1.4. EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS PRODUCIDOS POR EL ESTIRAMIENTO VENTRICULAR.

En el modelo de corazón aislado de conejo (Reiter *et al.* 1988, Jalal *et al.* 1992), se han examinado los efectos del volumen ventricular sobre el umbral fibrilatorio miocárdico, la velocidad de conducción y la refractariedad, observándose que la **dilatación**

ventricular aguda tiene un efecto arritmogénico. Reiter *et al.*, al aumentar el volumen ventricular izquierdo mediante un balón lleno de líquido situado en el interior de dicho ventrículo, observaron una disminución en el período refractario efectivo (PRE) del ventrículo izquierdo, pero no hubo cambios en el PRE del ventrículo derecho (Reiter *et al.* 1998). Las variaciones en el volumen ventricular izquierdo disminuyeron el PRE de una manera regional y heterogénea, produciendo una mayor disminución en la zona apical, y una disminución menor en las zonas laterales y basales. La inducción de arritmias ventriculares fue más frecuente con volúmenes ventriculares mayores. Por tanto, concluyeron que la dilatación ventricular está asociada a un aumento de la dispersión de la refractariedad en el modelo utilizado, que se relaciona con una mayor incidencia de arritmias por reentrada. Es decir, estos hechos sugieren que los cambios en la refractariedad ventricular asociados con la dilatación ventricular pueden producir importantes efectos arritmogénicos en la clínica.

Del mismo modo, Jalal *et al.*, vieron que la dilatación ventricular izquierda disminuía significativamente el período refractario efectivo del ventrículo izquierdo y la longitud de onda de la activación miocárdica (Jalal *et al.* 1992). El umbral fibrilatorio del ventrículo izquierdo disminuía con la dilatación de dicho ventrículo pero no lo hacía con la dilatación del ventrículo derecho. Así mismo, la dilatación ventricular derecha producía una disminución del período

refractorio efectivo, de la longitud de onda, y del umbral fibrilatorio de ese ventrículo. Los cambios en el umbral fibrilatorio ventricular se correlacionaron con la disminución local de la refractariedad y de la longitud de onda. Estos autores también asociaron la dilatación ventricular izquierda con un aumento en la dispersión de la refractariedad epicárdica ventricular. Los principales hallazgos de este estudio son, que la dilatación de cada ventrículo se asocia a una disminución significativa en el umbral fibrilatorio, y que existe una estrecha correlación entre la longitud de onda miocárdica y el umbral fibrilatorio ventricular. Es decir, el acortamiento de la refractariedad, de la duración del potencial de acción, y el enlentecimiento de la velocidad de conducción contribuyen a una disminución en la longitud de onda, factor que facilita las arritmias por reentrada y la fibrilación.

Eckardt *et al.*, con la misma metodología, introdujeron un balón lleno de líquido en el ventrículo izquierdo de una preparación de corazón aislado de conejo para producir una dilatación aguda (Eckardt *et al.* 2000). Demostraron la participación de los canales iónicos activados por el estiramiento y no la de los canales de calcio específicos, y describieron que estos canales participan en las alteraciones de la repolarización producidas por el estiramiento, ya que los efectos podían ser neutralizados por bloqueantes específicos de los mismos. En dicho estudio vieron que la dilatación producía un acortamiento en la repolarización, en el período refractorio efectivo y en la duración del potencial de acción monofásico. Es decir, el

estiramiento despolariza la membrana celular, altera el potencial de acción e induce extrasístoles, así como otro tipo de arritmias, y en ello participa la activación de canales específicos activados por el estiramiento.

En otros estudios, Reiter *et al.*, investigaron si la longitud del ciclo de estimulación influía sobre el PRE y la velocidad de conducción durante la dilatación aguda del ventrículo izquierdo, producida mediante la introducción de un balón lleno de líquido en el interior del mismo (Reiter *et al.* 1997). Vieron que la velocidad de conducción epicárdica no se modificaba ni longitudinal ni transversalmente, con la dilatación ventricular o con la longitud del ciclo, mientras que el PRE sí que estaba influenciado por ambas variables, de tal modo que se producía una disminución del mismo a longitudes del ciclo más cortas y este efecto se exageraba al aumentar el volumen ventricular. Penefsky y Hoffman (1963) citados por estos autores, midieron el tiempo de conducción en preparaciones de músculo papilar de gato, antes y después de producir el estiramiento, y vieron que la velocidad de conducción era constante con un estiramiento medio pero disminuía cuando el músculo se estiraba por encima de su longitud óptima. Sugirieron que el grado de estiramiento que se necesitaba para variar la velocidad de conducción excedía mucho a la longitud fisiológica del mismo.

Existen pocos datos acerca de los efectos de la **dilatación ventricular crónica** sobre las propiedades electrofisiológicas miocárdicas. La mayoría de los estudios conciernen a los efectos de la hipertrofia miocárdica. Se ha visto, que la hipertrofia prolonga la duración del potencial de acción transmembrana (Aronson *et al.* 1993) y aumenta su dispersión. Estudios recientes sugieren que los cambios en la duración del potencial de acción en la hipertrofia miocárdica son un proceso adaptativo que puede alterar la respuesta al estiramiento y la susceptibilidad de arritmias (Jauch *et al.* 1994). Se han estudiado los efectos de la dilatación ventricular crónica sin hipertrofia compensatoria, en un modelo de insuficiencia cardíaca inducida por doxorubicina (Doherty *et al.* 1990), en donde se vio que tanto la refractariedad como el tiempo de repolarización ventricular se acortaban con respecto al control. Estudios posteriores en células de corazones humanos, de pacientes que habían sufrido insuficiencia cardíaca, han mostrado una prolongación de la duración del potencial de acción y alteraciones en las corrientes de potasio y de calcio (Beuckelmann *et al.* 1992 y 1993).

Más recientemente, Moreno *et al.*, realizaron un estudio, con el objeto de dilucidar la contribución relativa del remodelado ventricular, el estiramiento agudo miocárdico y la isquemia aguda sobre la dinámica de la fibrilación ventricular, en un modelo de insuficiencia cardíaca inducido en ovejas (Moreno *et al.* 2005). Obtuvieron efectos opuestos entre el remodelado ventricular y el

estiramiento agudo miocárdico sobre las características de la FV. Es decir, estos autores observaron que mientras que el remodelado ventricular promovía una organización en la FV, en los animales con insuficiencia cardíaca, la elevación de la presión intraventricular inducía una reducción de la organización de la FV, tanto en control como en los animales en los que se había inducido la insuficiencia cardíaca. Concluyeron que el mecanismo por el cual el estiramiento miocárdico produce modificaciones sobre la FV (posiblemente sea mediado por la activación de los CAE), es diferente al que sigue el remodelado ventricular. En particular, citando a Chorro *et al.* 2000 y a Shah 1988, relatan que la dilatación ventricular y la disminución en el espesor de la pared ocurrida en la cardiomiopatía dilatada, debe modificar la vía por la que se activan los CAE.

Como se ha señalado anteriormente, el estiramiento tanto crónico como agudo, aunque no produzca directamente actividad desencadenada, puede producir cambios electrofisiológicos que facilitan el desarrollo y el mantenimiento de las arritmias.

1.5. MECANISMOS IÓNICOS DE LOS CAMBIOS PRODUCIDOS POR EL ESTIRAMIENTO.

Los mecanismos de los cambios en la refractariedad y la duración del potencial de acción durante el estiramiento auricular y

ventricular no están claramente establecidos. Los canales activados por el estiramiento existen en todas las células y están implicados en una gran variedad de funciones reguladoras (Sachs *et al.* 1990). Algunas de estas funciones incluyen la liberación de sustancias vasoactivas en las células endoteliales de los vasos sanguíneos (Naruse *et al.* 1993), la inducción del desarrollo de las células del músculo esquelético (Franco *et al.* 1990), la regulación del volumen celular (Sakardi *et al.* 1991), y funciones de receptores específicos como en las células pilosas (Ding *et al.* 1991). Dependiendo de la línea celular, los canales activados por el estiramiento son permeables a uno o más tipos de iones. A menudo, una célula tiene varios tipos de canales sensibles al estiramiento, que pueden ser distinguidos por su dependencia del voltaje o por su sensibilidad a bloqueantes iónicos o farmacológicos (Franco *et al.* 1990, Ding *et al.* 1991, Sakardi *et al.* 1991).

Como se ha comentado previamente, el papel de los canales activados por el estiramiento no ha sido suficientemente estudiado. Una de sus funciones es la regulación del crecimiento celular y el remodelado ventricular, en respuesta a alteraciones hemodinámicas (Bustamante *et al.* 1991, Sadoshima *et al.* 1992 y 1993). Otra función podría ser la regulación intrínseca de la contractilidad. En células embrionarias de corazón, los canales activados por el estiramiento han mostrado que promueven el influjo de calcio (Sigurdson *et al.* 1992) que puede contribuir al mecanismo de Frank-Starling. También deben

estar implicados en el aumento del automatismo de las células de Purkinje y, posiblemente en el de las células del nodo sinusal (Kaufmann *et al.* 1967). Estudios de “patch-clamp” realizados en células miocárdicas de conejo, han identificado canales activados por el estiramiento que median corrientes de entrada de iones calcio y/o sodio (Hagiwara *et al.* 1992). Varios investigadores han identificado un grupo de canales activados por el estiramiento, en miocitos cardíacos, que demostraron una conductancia iónica no selectiva y una relación lineal voltaje dependiente (Ruknudin *et al.* 1993, Sachs 1994, Hu *et al.* 1995). Estos canales activados por el estiramiento mantienen su estado abierto durante largos períodos de estiramiento, sin signos de adaptación. El mecanismo descrito es aparentemente simple, cuando una célula es estimulada mecánicamente, los canales activados por el estiramiento se abren, transformando una señal mecánica en un flujo electroquímico (Lakatta 1987).

El estiramiento miocárdico también produce cambios en el potencial de acción por alteraciones en las concentraciones iónicas intracelulares. La concentración intracelular de calcio aumenta con el estiramiento mecánico. El mecanismo de Frank-Starling está asociado con un aumento en la concentración de calcio libre en el citosol, que puede ser liberado de reservas intracelulares (Lakatta 1987). La elevación de las concentraciones de calcio citosólico inhibe el flujo de calcio transmembrana (Lee *et al.* 1985) y activa la corriente de potasio de salida I_{K1} (Di Francesco *et al.* 1979), que acelera la repolarización y

acorta la duración del potencial de acción. Es decir, la regulación mecánica de la concentración de calcio intracelular está reconocida como responsable de los cambios de la forma del potencial de acción y de la refractariedad.

Los CAE se han encontrado tanto en células auriculares como ventriculares (Hu *et al.* 1997). Todos los encontrados en el corazón son selectivos a cationes, la mayoría de ellos a cationes monovalentes pero son permeables a cationes divalentes, y el resto son selectivos al potasio (Lakatta 1987). Algunos de ellos pueden ser activados por sobrecarga hipotónica (Kim *et al.* 1993). Es interesante el hecho de que puede existir más de un tipo de CAE en cada tipo de célula. Un ejemplo extremo son los cinco tipos de CAE que se han encontrado en las células ventriculares de tejido embrionario de pollo (Ruknudin *et al.* 1993). En células neonatales auriculares de rata, se han encontrado al menos dos tipos de CAE no selectivos a cationes, uno de ellos es sensible al estiramiento (Kim 1993) y el otro es más sensible a la distensión por aumento del volumen celular (Ruknudin *et al.* 1993). Recientemente se han identificado y clonado una serie de canales de potasio mecanosensitivos, denominados, TWIK, TREK-1, TRAAK, TASK Y TREK-2, expresados en diferentes tejidos, concretamente TREK-1 y 2 en el corazón y cerebro de rata, respectivamente (Hyoweon *et al.* 2000, Tan *et al.* 2004).

Dada la gran variedad de canales iónicos mecanosensitivos, es normal que no exista un “bloqueante” universal. Los lantánidos, como el gadolinio, pueden bloquear la mayoría de ellos, y aunque es usado frecuentemente, presenta el inconveniente de que tiene una elevada reactividad con otros canales, como los dependientes del voltaje de calcio. Además, el Gd^{+3} precipita con algunos aniones fisiológicos, incluido el PO_4^{3-} , HCO_3^- , y proteínas, con lo que no puede ser usado en condiciones fisiológicas. El amiloride y los antibióticos catiónicos como la estreptomina, también han sido usados para bloquear los CAE, pero de nuevo, tampoco son específicos. Los compuestos anfifílicos, como el ácido araquidónico, la clorpromacina, los anestésicos generales y los lisolípidos también pueden afectar a los canales iónicos mecanosensitivos pero distan mucho de poder considerarse específicos. La farmacología de los canales iónicos mecanosensitivos está mejorando con el descubrimiento de un inhibidor específico aislado del veneno de la tarántula, un péptido llamado GsMTx-4 que bloquea los CAE en un amplio número de células (Sachs 2005).

El antibiótico aminoglucósido estreptomina, se ha descrito como un bloqueante de los CAE que reduce la aparición de arritmias inducidas por causas mecánicas (Salmon *et al.* 1997). Eckardt *et al.*, con concentraciones de estreptomina entre 80 y 200 μM , fueron los primeros autores en describir este efecto, y demostrar que la estreptomina neutraliza parcialmente los efectos del acortamiento de la duración del potencial de acción y de la refractariedad debidos al

estiramiento, en corazón aislado de conejo (Eckardt *et al.* 2000). Relacionaron el efecto que producía la estreptomicina con la concentración usada. Así, en su estudio, vieron como la estreptomicina a una concentración de 80 μM , disminuía marcadamente los efectos del estiramiento sobre la duración del potencial de acción y a la concentración de 200 μM , neutralizaba este efecto y suprimía las arritmias debidas al estiramiento.

1.6. FIBRILACIÓN VENTRICULAR.

La fibrilación ventricular, es un grave problema de salud tanto en la sociedad como en la práctica clínica, siendo la causa inmediata más frecuente de muerte cardíaca súbita (Bayés de Luna *et al.* 1989).

Tradicionalmente, la FV ha sido definida como una actividad eléctrica cardíaca turbulenta, que implica una gran irregularidad de las ondas eléctricas que producen la excitación ventricular. Durante la FV, la activación ventricular es incoordinada, lo que conlleva una tensión sistólica no efectiva. Consecuentemente, el gasto cardíaco disminuye bruscamente y la muerte se produce habitualmente en unos minutos como consecuencia de la falta de aporte de oxígeno a los órganos vitales. En el electrocardiograma, la FV se diagnostica por la aparición de una actividad rápida e irregular, con cambios constantes en la morfología de los complejos ventriculares que son completamente

aperiódicos e irregulares.

1.6.1. Perspectiva histórica de la fibrilación ventricular.

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

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

primero en publicar, en 1912, el primer electrocardiograma de fibrilación ventricular en humanos (Hoffman 1912).

En 1914, Garrey publicó el primer estudio sistemático de la relación existente entre la FV y el tamaño del corazón, estableciendo que era necesaria una “masa crítica” de tejido, al menos una cuarta parte del músculo ventricular en perros, para sostener la fibrilación (Garrey 1914). También postuló que la fibrilación era producida por “series de circuitos anulares de localización cambiante y complejidad múltiple”.

De Boer, en 1923, demostró que una sola descarga eléctrica, aplicada en la fase final de la sístole en el corazón de la rana, desencadenaba una fibrilación de dicha cámara (De Boer 1923). Louis Katz fue el primero en indicar, en 1928, el peligro de las extrasístoles aparecidas en el período de la onda T, y posteriormente Wiggers y Wegria dieron a este intervalo el nombre de período vulnerable (Wiggers *et al.* 1940). Wiggers fue el primero en considerar que los frentes de ondas no se desplazaban solamente como circuitos reentrantes bidimensionales, sino en un medio tridimensional (Wiggers 1940). También habían sido Wiggers *et al.*, en 1930, quienes mediante técnicas cinematográficas describieron cuatro estadios en la FV (Wiggers *et al.* 1930).

En la década de los 50 se aceptaba que, tanto las taquicardias

auriculares como las ventriculares, se producían por descargas repetitivas de un foco ectópico (Scherf *et al.* 1953) o por el desplazamiento de un frente de ondas alrededor de un obstáculo (Weiner *et al.* 1946). En ambos casos, y bajo ciertas condiciones, se postulaba que el impulso originado en el circuito reentrante o en un foco ectópico, podía propagarse tan rápidamente que los tejidos vecinos no eran capaces de responder de un manera regular, dando lugar a la aparición del patrón caótico de la FV en el electrocardiograma. Sin embargo, en 1956, Moe propuso que el mecanismo de la fibrilación era diferente al de la taquicardia, afirmando que durante la fibrilación existía una total desorganización de la actividad (Moe 1956). Definió la arritmia como el resultado de frentes de ondas desplazándose aleatoriamente, cambiando de número y dirección. En 1962, Moe postuló la hipótesis de las múltiples ondas de la fibrilación auricular (Moe 1962), y en 1964, Han y Moe establecieron la importancia de la dispersión del período refractario en la inducción de la fibrilación cardíaca (Han *et al.* 1964). En ese mismo año se cristalizó la hipótesis de las múltiples ondas mediante el desarrollo del primer modelo computerizado de la fibrilación cardíaca. En 1985, Allesie *et al.*, en un modelo canino en el que se inducía fibrilación auricular, mediante técnicas de mapeo de alta resolución confirmaron la teoría de las múltiples ondas descrita inicialmente por Moe (Allesie *et al.* 1985).

1.6.2. Mecanismos de las arritmias: La reentrada .

En condiciones normales, un único impulso generado en el nodo sinusal activa las aurículas y los ventrículos. El impulso se propaga dando lugar a una onda de activación que despolariza los tejidos adyacentes excitables y va dejando atrás tejido inexcitable. Cuando esta onda de activación alcanza el final del músculo y queda rodeada de tejido inexcitable, se extingue. Hasta que no se genere un nuevo impulso sinusal, no se volverá a activar el corazón. Sin embargo, en ciertas circunstancias, la activación puede persistir sin extinguirse en una zona del corazón durante el tiempo suficiente para que el tejido vecino recupere su excitabilidad (supere el período refractario), con lo que el mismo impulso vuelve a reexcitar, parcial o totalmente, el corazón. Este estímulo se llama estímulo reentrante, y el mecanismo por el que se produce, reentrada (Mines 1914).

1.6.3. Relación entre la longitud de onda y la inducibilidad de los procesos fibrilatorios.

En 1988 se demostró, utilizando modelos caninos, que la inducción de la fibrilación auricular estaba estrechamente relacionada con la longitud de onda auricular (Rensma *et al.* 1988), una expresión de la longitud del tejido refractario, definido matemáticamente como la distancia recorrida por la onda de activación en el período de

tiempo que tarda el tejido en recuperar la excitabilidad [longitud de onda (λ) = período refractario efectivo (PRE) x velocidad de conducción (VC)] (Weiner *et al.* 1946). Presumiblemente esto es así, porque el tamaño y el número de las ondas reentrantes funcionales vienen determinados por la longitud de onda miocárdica (Pye *et al.* 1992). El acortamiento de la longitud de onda miocárdica, bien disminuyendo la refractariedad con acetilcolina (Rensma *et al.* 1988), o bien enlenteciendo la velocidad de conducción disminuyendo la concentración extracelular de potasio (Lammers *et al.* 1988), tienden a producir un incremento en la incidencia de FA inducida. Mientras que los fármacos que alargan la longitud de onda como la atropina, quinidina y el d-sotalol, poseen propiedades antifibrilatorias (Lammers *et al.* 1988, Rensma *et al.* 1988).

De igual manera, la FV parece ser dependiente de la duración de la refractariedad (Mac Coneil 1987) y de la longitud de onda de activación ventricular (Reiter *et al.* 1993). En un modelo canino (Karagueuzian *et al.* 1994), y en tejido ventricular aislado procedente de pacientes receptores de trasplante cardíaco (Hwang *et al.* 1999), se generaron ondas espirales reentrantes mediante estimulación. El cromakalim, fármaco que favorece la apertura de los canales de potasio sensibles al ATP, acortó el PRE en estas preparaciones, facilitando la inducción de reentrada funcional, e indujo la transición desde una espiral reentrante simple y estable, a una activación en forma de fibrilación con múltiples ondas espirales. Utilizando el mismo

fármaco, también se observó que incrementaba la vulnerabilidad ventricular a la reentrada, y que aceleraba su frecuencia de activación por disminución del tamaño de la zona central alrededor de la cual gira el frente de ondas (Uchida *et al.* 1999).

Reiter *et al.*, en 1993 comprobaron que la dilatación, al igual que la hipopotasemia, incrementaba la inducción de la FV, siendo los efectos de la dilatación sinérgicos con la hipopotasemia (Reiter *et al.* 1993). De forma similar, se vio que el estiramiento del ventrículo izquierdo conllevaba por una parte una disminución del umbral de la FV, y por otra, una dispersión del coeficiente de variación de la FV, todo lo cual implicaba un efecto favorecedor del desencadenamiento de arritmias por reentrada (Burton *et al.* 1998).

1.6.4. Patrones evolutivos de la fibrilación ventricular.

La modificación de las propiedades electrofisiológicas de los tejidos cardíacos y el análisis de sus repercusiones sobre los patrones de activación miocárdicos, han proporcionado información útil para comprender mejor los mecanismos de inicio, perpetuación y cese de los procesos fibrilatorios auriculares. 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, en condiciones similares a las que están presentes en los estudios sobre fibrilación auricular (Allessie et al. 1985 y 1990, Rensma *et al.* 1988).

Si la perfusión miocárdica se interrumpe, el deterioro metabólico da lugar a modificaciones progresivas de las características del proceso fibrilatorio. En relación con este hecho, uno de los aspectos de la FV que se ha analizado repetidamente es el de la evolución temporal de la arritmia una vez se desencadena la misma, ya que la sistematización de las fases evolutivas aporta información no sólo sobre los mecanismos de la arritmia, sino también sobre aspectos prácticos, como la capacidad de identificarla mediante algoritmos sensibles y específicos o la eficacia de los procedimientos utilizados para conseguir la desfibrilación. En 1940, Wiggers describió cuatro fases basándose en las características de la contracción objetivada mediante cinematografía: contracciones ondulatorias visibles durante los primeros segundos, que cambiaba hacia la fase de descoordinación convulsiva con una duración de la misma de alrededor de 15-40 segundos, que a su vez, se transformaba en la tercera fase de descoordinación trémula de unos 2-3 minutos de duración, y la fase final con ondas de contracción débiles o fibrilación atónica (Wiggers 1940).

El análisis del electrocardiograma de superficie y, especialmente los datos obtenidos con técnicas espectrales, han

aportado información más precisa sobre los cambios evolutivos de la FV. El espectro de frecuencias de la FV se modifica a medida que avanza el tiempo transcurrido desde el cese de la circulación coronaria (Martin *et al.* 1984), aunque también influyen las acciones y maniobras emprendidas para mantenerla y que retrasan o impiden el deterioro metabólico miocárdico (Strohmenger *et al.* 1994). La acción de fármacos que protegen contra el deterioro metabólico, o que alteran las propiedades electrofisiológicas del miocardio ventricular, también modifican las características del espectro de frecuencias de la FV (Chorro *et al.* 1996).

En el corazón *in situ*, tras el inicio de la FV, se han descrito incrementos de la frecuencia dominante (FrD) en los primeros segundos de la arritmia, seguidos de disminuciones progresivas que coinciden con la desorganización del espectro (Chorro *et al.* 1996). El incremento inicial de la frecuencia dominante se ha atribuido a factores tanto intrínsecos como extrínsecos, entre ellos la activación del sistema simpático tras la abolición del gasto cardíaco, aunque es posible que también estén implicados factores relacionados con la organización de la arritmia en sus momentos iniciales. Así, Clayton *et al.*, apreciaron en enfermos monitorizados, que la frecuencia dominante durante los estadios iniciales (1 - 30 seg.) era acelerada y coherente (Clayton *et al.* 1994).

Con respecto a los efectos del sistema simpático, en un

estudio realizado en cultivos de células miocárdicas (Tovar *et al.* 1997), se observó que la adrenalina acortaba la duración del potencial de acción y la refractariedad, determinadas a ciclos cortos de estimulación y, por ello, concluían que bajo la estimulación simpática sería menos probable que la activación reentrante encontrara tejido refractario, favoreciendo así el desencadenamiento y la estabilidad de los procesos fibrilatorios. Estos efectos eran revertidos tras la administración de propranolol, lo que sugería que la acción de la adrenalina era producida por estimulación de los receptores beta. Estos mismos autores, observaron que la adrenalina reducía significativamente el ciclo medio de la FV en un modelo de corazón aislado, resultados que sugerían que este fármaco favorecía la existencia de un número mayor de ondas fibrilatorias.

El descenso progresivo de la frecuencia dominante que se observa en la evolución posterior de la FV se relaciona con el deterioro metabólico del miocardio, y con la isquemia. Se ha cuantificado este proceso de enlentecimiento aplicando modelos matemáticos que permiten objetivar y comparar la velocidad de los cambios y estimar el tiempo transcurrido desde el inicio de la arritmia (Chorro *et al.* 1998). En este sentido, se planteó que los cambios en la frecuencia de las señales de la FV podían ser cuantificados utilizando un modelo autorregresivo, que permitía estimar el tiempo transcurrido desde el inicio de la arritmia (Baykal *et al.* 1997).

Se ha observado también, que si no se interrumpe la perfusión coronaria, se mantienen, tanto la frecuencia dominante del espectro, como la capacidad de obtener una desfibrilación efectiva sin disociación electromecánica. En modelos de corazón aislado en los que se mantiene la perfusión coronaria, se ha comprobado que el espectro de frecuencias de las señales fibrilatorias permanece estable durante períodos de 5 minutos (Chorro *et al.* 1998). Lo mismo sucede en modelos caninos *in situ* (Martin *et al.* 1986) en los que la perfusión coronaria se mantiene con circulación extracorpórea durante períodos tan largos como 25 minutos. Este efecto también se ha observado en pacientes durante la cirugía cardíaca con circulación extracorpórea, durante períodos de tiempo de 96 segundos (Strohmenger *et al.* 1994). Cambios producidos por la interrupción del flujo coronario podrían ser utilizados como indicadores de la efectividad de las maniobras de resucitación aplicadas. A este respecto, en modelos experimentales de corazón aislado y perfundido, se ha comprobado que la frecuencia dominante del espectro aumenta rápidamente tras reiniciar la perfusión coronaria, proceso que se puede ajustar a un modelo matemático de tipo exponencial, cuyas constantes de tiempo son significativamente menores que durante el proceso inverso al interrumpir la perfusión coronaria (Chorro *et al.* 1998).

Estos hechos estarían relacionados con los observados en distintos trabajos experimentales en los que, tras períodos cortos de isquemia, revierten las alteraciones en los potenciales de acción

miocárdicos, y se recupera el retraso observado en el proceso de activación y la excitabilidad de las células miocárdicas. Entre estos estudios podemos destacar los de Downar *et al.*, que observaron que la isquemia acortaba la duración del potencial de acción, y disminuía su amplitud, su velocidad de ascenso y su potencial de reposo (Downar *et al.* 1977). Las células no respondían tras 10-15 minutos de oclusión coronaria, aunque se podían restaurar los potenciales de acción normales perfundiendo la arteria ocluida hasta 40 minutos tras oclusión. Hanich *et al.*, constataron que a pesar de las marcadas anomalías electrofisiológicas observadas en la zona isquémica, la duración media del electrograma, la velocidad de conducción y el período refractario efectivo, retornaron a los valores basales después de 20 minutos de reperfusión (Hanich *et al.* 1993). Cinca *et al.*, vieron que tras la reperfusión se observaba una recuperación de los retrasos de la activación epicárdica, de la depresión del TQ y de la elevación del ST en el área isquémica (Cinca *et al.* 1992). Estas variaciones son rápidas y se ha visto que no van paralelas a los cambios en las propiedades mecánicas, que presentan una recuperación más lenta.

Por otra parte, 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 (Chorro *et al.* 1998).

1.7. ESTIRAMIENTO GLOBAL DEL MIOCARDIO Y FIBRILACIÓN VENTRICULAR.

En trabajos previos se ha descrito que el estiramiento miocárdico modifica el patrón fibrilatorio ventricular, dando lugar a una aceleración del proceso y también a un aumento de la complejidad de la activación, analizada mediante la construcción de los mapas de activación epicárdicos. Así, Burton y Cobbe observaron que el estiramiento miocárdico daba lugar a un acortamiento de los ciclos ventriculares durante la FV y a un incremento de la dispersión de dichos intervalos (Burton *et al.* 1988). Este último hecho fue atribuido a un aumento de la heterogeneidad de los períodos refractarios debido a que el efecto modificador del estiramiento no era uniforme. Se ha descrito que el estiramiento acorta la refractariedad y la longitud de onda del proceso de activación miocárdico (Ravelli *et al.* 1997), y también que aumenta la pendiente de la fase inicial de la curva de restitución eléctrica (Horner *et al.* 1996). Dicha curva se obtiene al relacionar la duración del potencial de acción (ordenada) con el intervalo diastólico precedente (abscisa) y, cuando su pendiente es mayor o igual a la unidad, aparece el fenómeno de la alternancia de la duración de los potenciales de acción y por lo tanto se ve favorecida la desestabilización de los frentes de activación reentrantes. La fase inicial de la curva corresponde a los intervalos diastólicos cortos, es decir, a las frecuencias de activación más rápidas. 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, de modo que el aumento de la pendiente, al incrementar la alternancia de la duración de los potenciales de acción, favorece la interrupción de los frentes de activación y aumenta la complejidad de los patrones fibrilatorios (Riccio *et al.* 1999). Tanto la desigual distribución de los efectos electrofisiológicos del estiramiento en el miocardio ventricular, como las consecuencias de un aumento de la pendiente de la curva de restitución eléctrica, podrían estar implicados en la mayor complejidad de la FV y en el incremento de la heterogeneidad de los mapas de frecuencias obtenidos durante la arritmia. Por otra parte, una vez se ha suprimido la dilatación ventricular, los parámetros utilizados para objetivar los efectos del estiramiento no han demostrado diferencias significativas con respecto a los obtenidos basalmente, hechos que indican la reversibilidad de los cambios inducidos por el estiramiento miocárdico en el modelo experimental utilizado, como se ha demostrado en trabajos previos (Chorro *et al.* 2000a y b).

1.8. IMPLICACIONES CLÍNICAS.

El estiramiento miocárdico puede ocurrir en un amplio espectro de situaciones clínicas que abarcan la dilatación ventricular, la sobrecarga de volumen o de presión, o anormalidades de la contractilidad regional (Dean *et al.* 1989). El acortamiento de la

refractoriedad y de la longitud de onda del proceso de activación conducen a un aumento de la vulnerabilidad al fenómeno de reentrada y facilitan el mantenimiento de la actividad reentrante presente en los procesos fibrilatorios (Ravelli *et al.* 1997). El efecto del estiramiento consiste en una aceleración y un aumento de la complejidad del proceso fibrilatorio. El análisis de estos efectos, permite plantear el estudio de fármacos o maniobras que limiten las consecuencias del estiramiento y sus efectos arritmogénicos. Esta información puede ser útil para el control de las situaciones clínicas en las que está presente el estiramiento miocárdico, y en las que se ha postulado su efecto arritmogénico. Los efectos de fármacos que actúan sobre los canales activados por el estiramiento, como el gadolinio, la estreptomycinina o los fármacos bloqueadores beta adrenérgicos, pueden ser objetivados mediante el análisis de los cambios observados sobre el patrón fibrilatorio ventricular durante la dilatación ventricular. Por otra parte, la reversibilidad de los efectos implica que, ante situaciones agudas de estiramiento, la supresión del mismo puede restablecer las condiciones electrofisiológicas menos favorables para el desencadenamiento de arritmias cardíacas.

Capítulo 2 - HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1. HIPÓTESIS.

Tal como se ha comentado previamente, el estiramiento produce modificaciones de las propiedades electrofisiológicas del corazón, tanto a nivel auricular como ventricular, debido a alteraciones de las corrientes iónicas celulares por activación y/o apertura de diversos canales sensibles al estiramiento. La activación miocárdica durante la fibrilación ventricular, depende de las propiedades electrofisiológicas y por este motivo el estiramiento modifica también las características de la activación durante la arritmia. Estos efectos del estiramiento sobre la fibrilación ventricular, han sido estudiados al aplicarlo globalmente en todo el ventrículo izquierdo, pero desconocemos los efectos del estiramiento localizado, aplicado a zonas seleccionadas del miocardio ventricular.

En el presente estudio, se parte de la hipótesis de que las modificaciones locales de las propiedades electrofisiológicas, si se circunscriben a zonas de extensión limitada, deben causar escasos cambios en el proceso global de activación durante la fibrilación ventricular. Para comprobarlo, se produce un estiramiento local del miocardio, en la pared libre del ventrículo izquierdo, y se analizan diversos parámetros electrofisiológicos, tanto en situación de ritmo sinusal como durante la arritmia. Los parámetros relacionados con la fibrilación ventricular son la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular, los intervalos VV durante la arritmia y el análisis de los

mapas de activación de la fibrilación ventricular. También se estudian las modificaciones de la refractariedad miocárdica, de la velocidad de conducción y de la longitud de onda, durante la fibrilación ventricular y durante en ritmo sinusal. Todo ello se analiza en la parte del ventrículo izquierdo donde se aplica el estiramiento localizado, y en una zona cercana, en el mismo ventrículo, no modificada por el estiramiento.

2.2. OBJETIVOS.

1. Cuantificar los efectos de diferentes grados de estiramiento agudo miocárdico sobre la frecuencia de activación durante la fibrilación ventricular cuando dicho estiramiento se aplica localmente en la pared ventricular izquierda.
2. Analizar la evolución temporal de las modificaciones de la frecuencia de activación durante la fibrilación ventricular cuando se aplica un estiramiento agudo localizado.
3. Analizar los efectos del estiramiento agudo miocárdico sobre los intervalos VV durante la fibrilación ventricular, sobre las características de los mapas de activación durante la arritmia y sobre los parámetros electrofisiológicos (refractariedad, velocidad de conducción y longitud de onda) tanto durante la fibrilación

ventricular como durante la estimulación a una frecuencia constante.

4. Analizar si los cambios producidos por el estiramiento en la zona modificada, dan lugar a modificaciones electrofisiológicas y de las características de la activación durante la fibrilación ventricular en otra zona distante no sometida al estiramiento miocárdico.
5. Estudiar la reversibilidad de los cambios producidos por el estiramiento localizado.
6. Analizar los efectos de un bloqueante de los receptores sensibles al estiramiento, sobre las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas y de las características de la fibrilación ventricular producidas por el estiramiento agudo miocárdico.

2.3. PLAN DE TRABAJO.

Para la consecución de los objetivos planteados se ha diseñado el siguiente plan de trabajo:

1. Diseñar y construir un dispositivo para provocar estiramiento en una zona seleccionada de la pared ventricular izquierda en el modelo experimental utilizado.

2. Aislar y perfundir retrógradamente corazones de conejo utilizando un sistema de Langendorff en tres series experimentales.
3. Provocar la fibrilación ventricular mediante estimulación a frecuencias crecientes.
4. Someter al corazón a tres grados de estiramiento distintos, ligero, medio y máximo, en una primera serie experimental, y al estiramiento adecuado en una segunda serie experimental.
5. Analizar los siguientes parámetros relacionados con la fibrilación ventricular: frecuencia dominante, media de los intervalos VV, características de los mapas de activación epicárdica, refractariedad miocárdica, velocidad de conducción y longitud de onda del proceso de activación, previamente al estiramiento regional, 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.
6. Analizar también las variaciones en la refractariedad, longitud de onda y velocidad de conducción en el miocardio ventricular, determinadas durante la estimulación basal en las mismas circunstancias que en el apartado anterior.

7. Repetir el estudio electrofisiológico expuesto en los apartados anteriores añadiendo a la preparación un fármaco bloqueante del efecto del estiramiento, la estreptomicina.

Capítulo 3 - MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. PREPARACIÓN EXPERIMENTAL.

Se han utilizado 31 preparaciones de corazón aislado y perfundido de conejo de raza Nueva Zelanda, cuyo peso medio fue 2.5 ± 0.4 kg. Tras la sedación con ketamina (25 mg/kg i.v.), heparinización y sacrificio de los animales se extrajo rápidamente el corazón sumergiéndolo en una solución de Tyrode frío (4 °C). Después de adecuar la aorta, se conectó a un sistema de Langendorff perfundiendo retrógradamente la solución de Tyrode a una presión de 60 mmHg y una temperatura de 37 ± 0.5 °C. La composición milimolar de esta solución fue: NaCl: 130; NaHCO₂: 24,2; KCl: 4,7; CaCl₂: 2,2; NaH₂PO₄: 1,2; MgCl₂: 0,6 y Glucosa: 12. La oxigenación del mismo se efectuó con una mezcla de 95 % de O₂ y 5 % de CO₂.

Tras la ubicación del corazón en el sistema de perfusión, se introdujo un dispositivo, en forma de L, a través de la aurícula izquierda en el interior de la cavidad ventricular izquierda, con el objeto de producir un estiramiento local en la pared libre del ventrículo izquierdo. 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, dando lugar a un grado controlado de estiramiento en una zona limitada de la pared ventricular (figura 1). Para evitar desplazamientos inapropiados,

el dispositivo se fijó proximal y distalmente a un soporte externo, mediante un hilo de sutura exteriorizado a través del ápex ventricular.

Los electrogramas unipolares del ventrículo izquierdo se registraron mediante dos electrodos múltiples, compuestos respectivamente por 121 y 119 electrodos unipolares de acero inoxidable (diámetro = 0,125 mm, distancia interelectrodo = 1 mm), situados en la superficie epicárdica de la pared libre del ventrículo izquierdo; uno de ellos en la zona donde se aplicaba el estiramiento local, la que denominamos zona modificada o estirada (ZE), situada en la porción media de la pared anterior y el otro electrodo en la zona no modificada por el estiramiento (ZNE), situada en la porción media de la pared posterior. El electrodo indiferente consistió en una placa de Ag/AgCl de 4 x 6 mm situada sobre la aorta canulada.

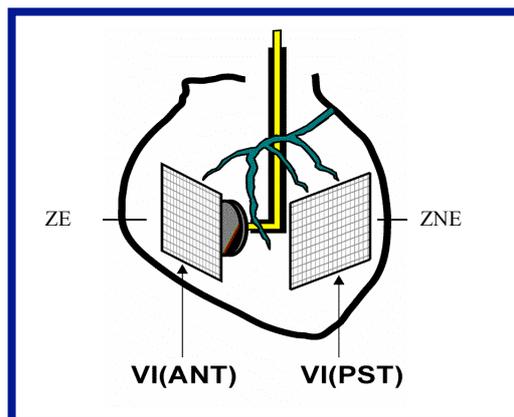


Figura 1: **Esquema del corazón** con el dispositivo para producir el estiramiento en el interior de la cavidad ventricular, y con los dos multielectrodos situados en la parte anterior y posterior del ventrículo izquierdo, abarcando la ZE y la ZNE. Abreviaturas: VI(ANT) = parte anterior del ventrículo izquierdo; VI(POST) = parte posterior del ventrículo izquierdo; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento.

La estimulación ventricular se efectuó utilizando un estimulador Grass S88, que permite emitir pulsos de corriente, y que está provisto de una unidad de aislamiento de estímulos (SIU5). Los estímulos fueron impulsos rectangulares con una duración de 2 ms y una intensidad doble del umbral diastólico.

Los registros se obtuvieron mediante un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca de 256 canales (MAPTECH, Waalre, Holanda). Los electrogramas se amplificaron con una ganancia de 100 a 300, se filtraron eliminando las frecuencias situadas fuera de la banda comprendida entre 1-400 Hz y se multiplexaron. La frecuencia de muestreo en cada canal fue de 1 kHz, con una resolución de 12 bits. Los registros obtenidos a lo largo del experimento fueron almacenados en soporte digital para su análisis posterior.

Reactivos y aparatos.

Los reactivos utilizados en cada uno de los experimentos fueron los siguientes:

- CaCl_2 (Panreac Química S.A.),
- MgCl_2 (Panreac Química S.A.),
- ClK (Panreac Química S.A.),
- NaH_2PO_4 (Panreac Química S.A.),
- Glucosa (Panreac Química S.A.),

- NaHCO_3 (Panreac Química S.A.),
- NaCl (Panreac Química S.A.),
- Ketamina (ketolar[®] Parke-Davis),
- Heparina Sódica al 5% (Rovi[®]).

Los aparatos utilizados fueron:

A. Sistema de estimulación:

- Electrodo**s** bipolares de estimulación, de diámetro 0,125 mm y una separación interelectrodos de 2 mm.
- Estimulador Grass S88 (Grass Instruments, Inc., Quincy, MA, U.S.A.) (figura 2), provisto de una unidad de aislamiento de estímulos (SIU 5).
- Sistema computarizado conectado al estimulador para estimulación programada.



Figura 2: Estimulador Grass.

B. Sistema de registro:

- Dos electrodos múltiples con 121 y 119 electrodos unipolares, con una distancia entre ellos de 1 mm.
- Sistema de cartografía de actividad eléctrica cardíaca (MAPTECH, Waalre, Holanda), (figura 3).

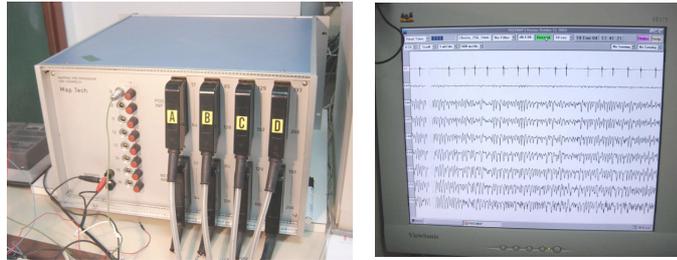


Figura 3: Sistema de adquisición **MapTech**. Caja de amplificadores y digitalización con los conectores de los electrodos (izquierda) y “software” **PaceMap** de representación y análisis (derecha).

C. “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 utilizó el entorno de trabajo y programación Matlab® y el “software” que se describe a continuación.

Una vez almacenados en el PC los registros temporales seleccionados, es posible su visualización por grupos de canales y la realización de diversas operaciones relacionadas con la cartografía de la actividad eléctrica cardíaca o “mapeo” cardíaco.

PaceMap[®]: “Software” del sistema de “mapeo” cardiaco MapTech (año 2002). Fue utilizado para la adquisición y registro de las señales y, debido a una limitación en los cálculos estadísticos, se programó una aplicación en MatLab[®] para poder visualizar los histogramas de los intervalos VV de la FV y calcular los parámetros estadísticos, a partir de un fichero ASCII de marcas exportadas. También se utilizó para medir la refractariedad miocárdica y la velocidad de conducción a partir de los mapas de activación temporal epicárdica.

MedMap: Se trata de una aplicación desarrollada en MatLab en 2001, con una funcionalidad ampliada en algunos aspectos con respecto al “software” anterior. Captura los archivos de señales y es capaz de analizar las señales en el dominio del tiempo y de la frecuencia. En MedMap se pueden crear mapas de isócronas y también de isofrecuencias (activación frecuencial).

D. Sistema de perfusión del corazón:

- Sistema de soporte metabólico tipo Langendorff.
- Bomba peristáltica (Cole-Parmer Instrument co.).
- Bomba circulante de termostatación (Neslab Instruments, inc).

El objetivo básico del método Langendorff es proveer al corazón aislado del oxígeno y los metabolitos necesarios por medio de una cánula insertada en la aorta ascendente. El líquido nutricio es impulsado a través de la aorta en el sentido contrario al de la

circulación sanguínea. Esta perfusión retrógrada de la aorta cierra las válvulas aórticas y fuerza la circulación del fluido por las arterias coronarias durante el período diastólico, como ocurre en el ciclo cardíaco normal. El líquido continúa entonces a través del sistema coronario y tras irrigar a los tejidos cardíacos, sale por ostium del seno coronario en la aurícula derecha. El flujo coronario necesario depende del tamaño del corazón y se encuentra entorno a 30 ml por minuto en corazones aislados de conejo adulto. Con esta técnica, las cámaras izquierdas del corazón permanecen esencialmente sin líquido, y los ventrículos se contraen contra la presión atmosférica de su interior.

El sistema está formado por diversos tubos y cámaras de vidrio, por los que circula el líquido de perfusión antes de llegar a la cánula de inyección (figura 4). Este líquido ha sido impulsado desde un depósito exterior (en el cual se realiza la oxigenación) hasta la parte más elevada por medio de una bomba peristáltica, habiendo pasado previamente por un filtro y un depósito de calentamiento. La presión de perfusión ha sido controlada manualmente mediante un manómetro integrado en el sistema.



Figura 4: Sistema de perfusión **Langendorff**.

E. Balanza precisa (Precisa Balances) y balanza Soehnle.

3.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.

Se han realizado tres series de experimentos con los 31 conejos sometidos a estudio, una primera (serie A) con siete conejos, una segunda (serie B) con dieciséis conejos y una tercera (serie C), con ocho conejos.

Una vez situados los electrodos en la pared anterior y posterior del ventrículo izquierdo (abarcando la zona modificada y la zona no modificada por el estiramiento), introducido el dispositivo utilizado para producir el estiramiento y estabilizada la preparación, se

indujo la FV mediante estimulación a frecuencias crecientes desde 4 hasta 20 Hz, manteniendo la perfusión coronaria durante la arritmia. La estimulación se efectuó incrementando lentamente la frecuencia hasta inducir FV o perder la captura ventricular. Si no se desencadenaba la arritmia, el procedimiento se repetía las veces necesarias hasta conseguirlo. La FV se definió como la arritmia caracterizada por la activación rápida e irregular del miocardio ventricular, con intervalos medios entre las activaciones sucesivas en un mismo electrodo inferiores a 100 ms, y en la que el análisis de los mapas de activación epicárdicos demostraba patrones de activación persistentemente variables durante el desarrollo de la arritmia.

Cinco minutos tras el inicio de la FV se efectuó el estiramiento miocárdico, según dos protocolos distintos (figura 5a y 5b). En la serie A, se aplicaron sucesivamente tres grados diferentes de estiramiento: ligero, desplazando el vástago del dispositivo intraventricular 3 mm; medio, con un desplazamiento de 6 mm; y máximo, utilizando 9 mm de desplazamiento. Se efectuaron registros de la FV durante 5 minutos mientras se mantenía el estiramiento, y durante periodos de 5 minutos sin estiramiento entre ellos. Con el objetivo de cuantificar el grado de estiramiento, se determinó la distancia entre dos puntos fijos, marcados a una distancia de 8 mm, en los ejes vertical y horizontal de la pared ventricular izquierda, en las dos zonas de estudio.

En la serie B, se aplicó el grado medio de estiramiento (desplazamiento del vástago = 6 mm), de acuerdo con los resultados obtenidos en la serie A, y se incrementó el tiempo de aplicación y registro del estiramiento a diez minutos. Del mismo modo que en la serie A, cinco minutos tras el inicio de la FV se efectuó el estiramiento miocárdico (grado medio) y, tras registrar diez minutos de fibrilación en esta situación, se suprimió el estiramiento al deslizar de nuevo el vástago en dirección contraria y se registraron otros diez minutos de fibrilación. A continuación, desfibrilamos mediante la aplicación de una descarga DC de 5 J con un desfibrilador especialmente construido para este fin, constituido por dos electrodos cóncavos (diámetro = 2 cm) situados sobre la pared lateral del ventrículo izquierdo y la pared libre del ventrículo derecho.

Teniendo de nuevo estabilizada la preparación, en esta serie, tras el estudio del patrón fibrilatorio, se determinó la refractariedad ventricular aplicando el test del extraestímulo con un extraestímulo acoplado al ciclo básico (S_1S_1). El test se efectuó con dos ciclos básicos (250 y 150 ms) en cada una de las dos zonas estudiadas, ZE y ZNE (la zona sometida directamente a estiramiento y la no sometida a estiramiento). En ambos tests, la amplitud fijada era el doble del umbral diastólico. El extraestímulo se emitía a un intervalo de acoplamiento con respecto al último estímulo del tren básico (compuesto por 12 estímulos), que disminuía en intervalos de 5 ms hasta el valor mínimo que capturaban los ventrículos. La refractariedad

ventricular se estudió en ausencia de estiramiento, a los cinco minutos de la provocación del mismo y una vez transcurridos diez minutos desde su supresión.

Finalmente, en la serie C se realizó un protocolo idéntico al seguido en la serie B, con la diferencia que, en la perfusión del Tyrode se disolvió estreptomycin, antibiótico aminoglicósido con efecto inhibidor de los receptores de estiramiento, a una concentración 200 μ M.

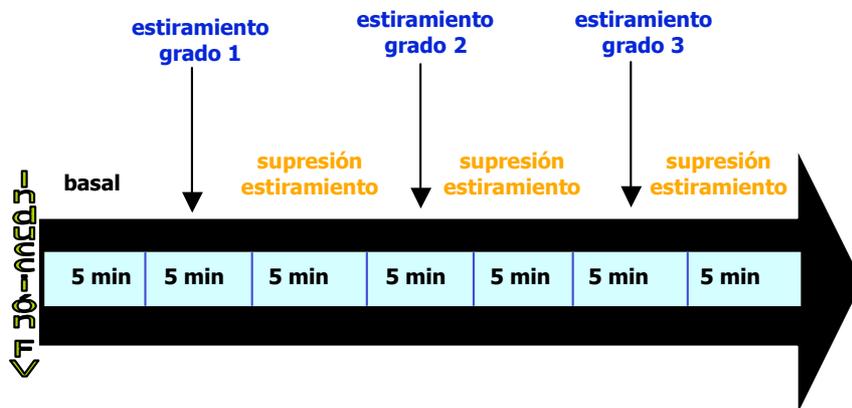


Figura 5a : Esquema de protocolo seguido en la realización de la serie A.



Figura 5b: Esquema de protocolo seguido en la realización de la series B y C.

En las tres series, se determinó el flujo coronario, recogiendo y midiendo el líquido de perfusión efluente de la preparación, durante períodos de 1 minuto en cada una de las etapas del experimento.

3.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS.

La fibrilación ventricular fue analizada durante las condiciones de control (basal), estiramiento y supresión del mismo en las dos zonas estudiadas, durante los tres grados de estiramiento (en la serie A) y al aplicar el grado de estiramiento medio (en las series B y C). Se utilizaron procedimientos de análisis espectral, con los que se obtuvieron los valores de la frecuencia dominante del espectro de la señal fibrilatoria, y de análisis en el dominio del tiempo, con los que se obtuvieron los valores medios de los intervalos VV durante la FV. También se realizó el análisis de los mapas de activación epicárdica durante la FV, con el objeto de clasificarlos y determinar los parámetros electrofisiológicos durante la arritmia.

3.3.1. Conceptos.

Frecuencia dominante de la señal fibrilatoria: Se trata de la frecuencia a la que la distribución espectral de potencia de la señal presenta el máximo de amplitud (*Dominant Frequency* o *Peak Frequency* [Ropella 2001]). Su concepto se ilustra en la figura 6.

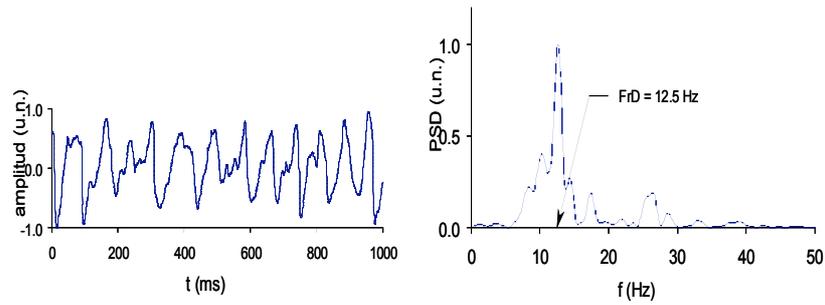


Figura 6: **Serie temporal y espectro de potencia** de una señal de fibrilación ventricular. PSD = densidad espectral de potencia; FrD = frecuencia dominante; Hz = hercios; u.n.= unidades normalizadas; t = tiempo; ms = milisegundos.

Intervalo VV de la fibrilación ventricular: Tiempo transcurrido entre dos activaciones (despolarizaciones) locales consecutivas en el ventrículo. También se hace referencia a dicho parámetro con el nombre de intervalo de activación ventricular .

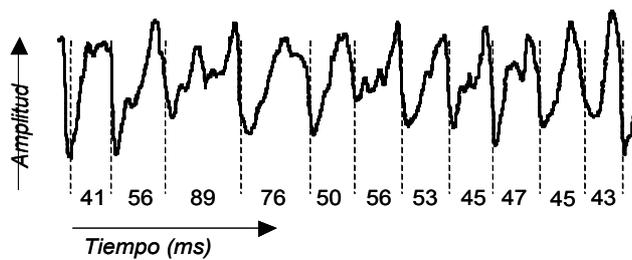


Figura 7: **Intervalos de activación** (en milisegundos) en una fracción de un electrograma durante la fibrilación ventricular.

Clasificación de los mapas de activación: Cada uno de los mapas analizados han sido clasificados en tres categorías basadas en la complejidad de los mismos y siguiendo un esquema similar al descrito por Konings *et al.* 1994, en el análisis de los mapas de activación durante la fibrilación auricular (Figura 8): Tipo I = Mapas de activación

con un frente de ondas simple propagándose uniformemente sin retraso significativo de la conducción, Tipo II = Mapas de activación con dos frentes de ondas, o un frente de ondas con áreas de retraso o bloqueo de la conducción, y Tipo III = Mapas de activación con tres o más frentes de ondas asociados con áreas de conducción lenta y de bloqueo de la conducción. Asimismo en cada mapa se analizó si se detectaban patrones de activación correspondientes a afloramientos y a reentrada completa.

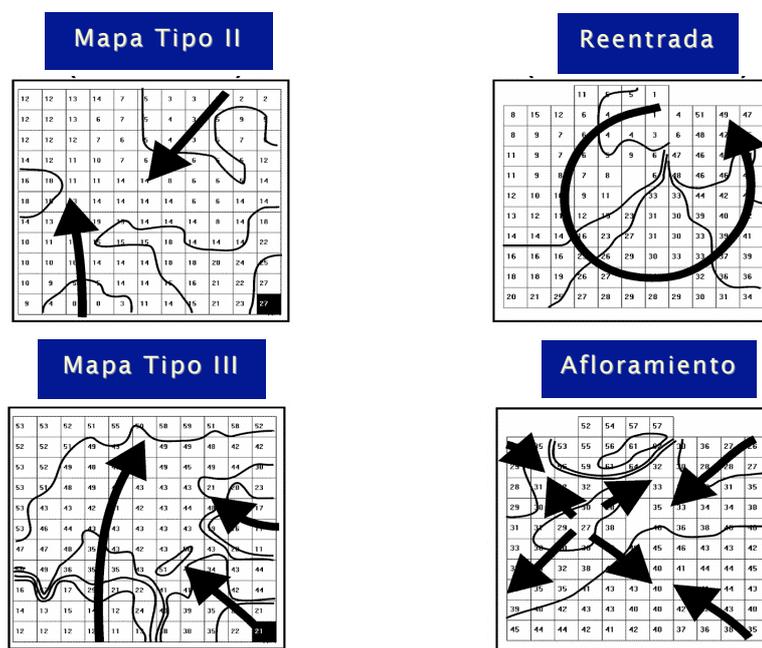


Figura 8: Ejemplos de **mapas de activación** tipo II, III, reentrada y afloramiento, obtenidos durante la fibrilación ventricular. Se muestran los tiempos de activación ventricular y las isócronas trazadas a intervalos de 10 ms. **Superior izquierda:** Mapa de activación ventricular tipo II obtenido durante la fibrilación ventricular. Se observa la entrada de un frente de onda por la parte inferior y otro por la parte superior derecha. **Inferior izquierda:** Mapa de activación ventricular tipo III obtenido durante la fibrilación ventricular. En la zona inferior derecha se observa la entrada de dos frentes de activación simultáneos, que son bloqueados por la entrada del frente desde la zona inferior izquierda que se desplaza hacia la parte superior del mapa. **Superior derecha:** Mapa de activación ventricular obtenido durante la FV, en el que se aprecia un patrón de activación de

reentrada completa alrededor de la zona central representada por la mayor densidad de isócronas. Se observa que la zona de excitación circula describiendo un giro antihorario. **Inferior derecha:** Mapa de activación ventricular obtenido durante la FV, en el que se aprecia un patrón de activación de afloramiento. Se observa que la activación sale desde el centro, de manera centrífuga.

3.3.2. Análisis espectral y análisis tiempo-frecuencia de la FV.

Se utilizó el método de Welch para obtener el espectro de frecuencias de las señales registradas, con todos los electrodos unipolares situados en las dos zonas, ZE y ZNE.

El análisis espectral de la FV se realizó durante cinco minutos tras el desencadenamiento de la FV y durante los períodos de estiramiento y post-estiramiento en las tres series experimentales. Este análisis se efectuó utilizando bloques de datos de 4096 puntos, aplicando la ventana de Hamming. Se obtuvo para cada bloque la frecuencia dominante (FrD), es decir, la frecuencia correspondiente con el espectro máximo, y la energía contenida en el segmento del periodograma correspondiente a $FrD \pm 1$ Hz (figura 9). La densidad espectral de potencia (PSD) se calcula con el cuadrado de la amplitud de la señal, expresado en unidades arbitrarias.

El procesamiento de datos fue efectuado mediante "software" Matlab en una plataforma Hewlett-Packard 712/80 (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA). Cada minuto a lo largo de los registros de FV

efectuados, se obtuvo la frecuencia dominante con el fin de estudiar su evolución en el tiempo.

Para el análisis tiempo-frecuencia de la FV, los cálculos se realizaron a partir del espectrograma de cada una de las señales registradas con cada electrodo, en la ZE y la ZNE, aplicando la transformada rápida de Fourier con una ventana de Hamming de 512 puntos (figura 9), y repitiendo las determinaciones de manera iterativa, desplazando cada vez la ventana 4 ms (frecuencia de muestreo 500 Hz; ver figura 10).

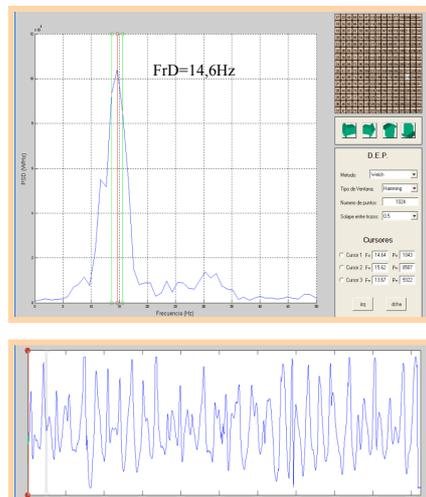


Figura 9: Ejemplo de un **registro de la señal fibrilatoria** en uno de los electrodos y su análisis, aplicando la transformada de Fourier.

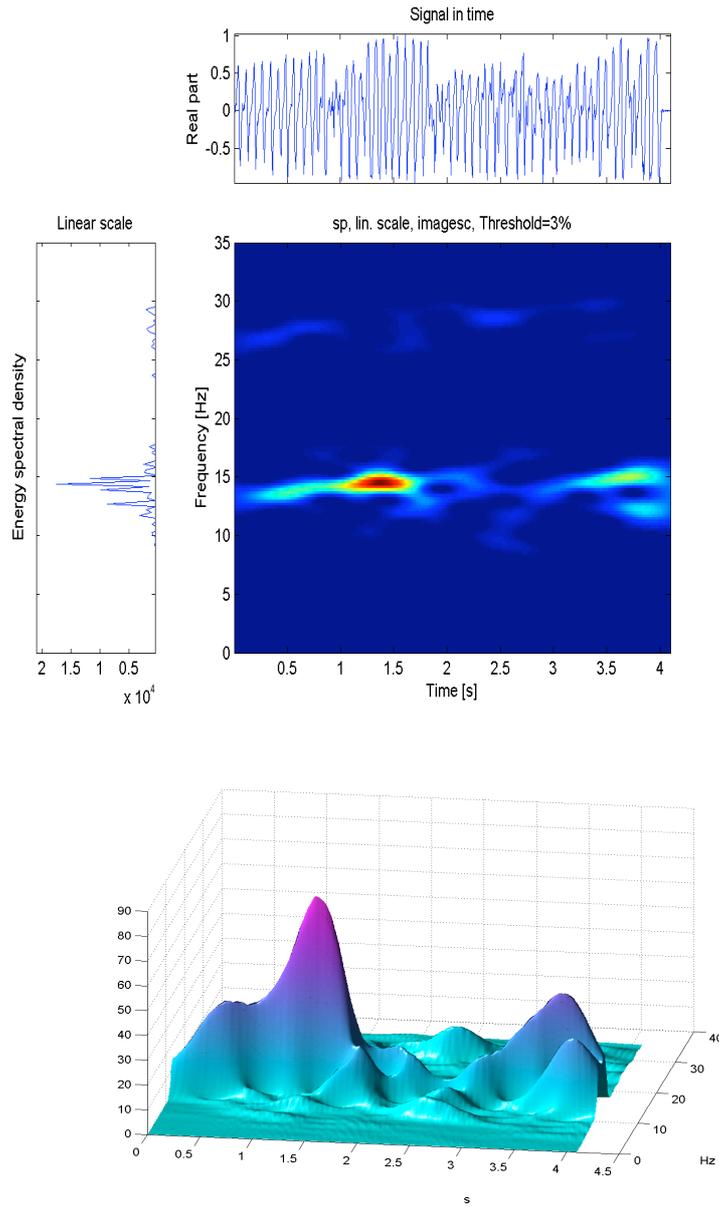


Figura 10: Representación bidimensional (parte superior) y tridimensional (parte inferior), del **análisis tiempo-frecuencia** de la señal registrada con uno de los electrodos. Verticalmente, se representa el espectro de un período global de 2 segundos. a.u.= unidades arbitrarias; Hz = hercios; PSD = densidad espectral de potencia (en unidades arbitrarias= u.a.); s= segundos.

3.3.3. Análisis en el dominio del tiempo de la FV.

Se han determinado también los intervalos entre los electrogramas ventriculares consecutivos, en los segmentos de la FV analizados mediante la técnica espectral, correspondientes a la fase basal (minuto 5), la fase de estiramiento (minuto 5) y tras la supresión del mismo (minuto 10), de las series B y C. Los tiempos de activación en cada electrodo fueron determinados identificando el momento de la pendiente máxima negativa (dv/dt) de los electrogramas ventriculares (figura 7). El umbral mínimo de este parámetro para ser considerado como una deflexión local ha sido un porcentaje (20 %) del máximo valor obtenido con cada electrodo. Cuando los electrogramas registrados mostraban potenciales dobles o múltiples, se asignó un único tiempo de activación, que ha correspondido a la deflexión con la máxima pendiente negativa. A partir de los intervalos VV, es decir, los intervalos de tiempo entre dos activaciones (despolarizaciones) locales consecutivas (figura 11), se construyeron los histogramas correspondientes, que fueron determinados a partir de los registros obtenidos con los 121 electrodos unipolares del electrodo múltiple situado en la ZE y los 115 electrodos unipolares del electrodo múltiple situado en la ZNE, durante períodos de tiempo de dos segundos analizados, inmediatamente antes de la aplicación del estiramiento, en la mitad del período de la aplicación del estiramiento y diez minutos después de suprimir el estiramiento, en las series B y C. Se obtuvo la

media, mediana y la diferencia entre los percentiles 5 y 95 de los intervalos VV.



Figura 11: Marcado semiautomático de los instantes de activación en el programa PaceMap®. Se muestran 8 de los electrogramas de la zona modificada (1 segundo en pantalla). Detalle: La marca se sitúa en la máxima pendiente dentro de la ventana w1-w2. Se indican los intervalos VV.

3.3.4. Análisis de los mapas de activación epicárdica durante la FV.

Se han analizado los mismos registros de FV correspondientes a los segmentos de dos segundos obtenidos a los cinco minutos del inicio de la arritmia, a los cinco minutos tras el estiramiento y a los diez minutos tras la supresión del mismo, en ambas zonas, teniendo presente que la FV en el modelo utilizado, en el que se impide el deterioro metabólico al mantener la perfusión coronaria, es estable durante el tiempo en el que se ha mantenido la arritmia (Chorro *et al.* 1996). El segmento analizado se ha dividido en ventanas de tiempo consecutivas con una duración de 100 ms, y en cada ventana se han

identificado los patrones de activación construyendo las isócronas, que se han trazado semiautomáticamente y utilizando la codificación en color de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo. En los mapas de activación se ha estudiado la existencia de líneas de bloqueo de conducción, colisiones, reentradas completas y patrones de afloramiento.

Se han definido como zonas de bloqueo a aquellas en las que la velocidad de conducción estimada ha sido inferior a 5 cm/seg, delimitando áreas con distinta dirección del proceso de activación. Para identificar la activación reentrante se ha utilizado como guía la visualización en la pantalla de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo codificados en color, desplazando sucesivamente el intervalo de tiempo analizado en escalones de 10 ms.

Cuando mediante este procedimiento se identificaba un frente de ondas, que tras describir una trayectoria circular o elíptica volvía a activar la zona previamente activada por él mismo, entonces se delimitaba la zona central de la reentrada utilizando como referencia la parte interna del frente de onda, es decir, la zona central de la reentrada correspondía al espacio comprendido entre los electrodos más cercanos activados en direcciones opuestas durante la trayectoria circular del frente de ondas. Se ha cuantificado el número de giros consecutivos del proceso de activación, y solamente se ha considerado

como activación reentrante a aquélla en la que se producía al menos un giro completo, es decir, aquellos casos en los que el proceso de activación volvía a activar la zona previamente activada por el mismo frente (reentrada completa).

Cada uno de los 20 mapas correspondientes a cada ventana analizada, ha sido clasificado en tres categorías basadas en la complejidad de los mismos y siguiendo un esquema similar al descrito por Konings *et al.* 1994, en el análisis de los mapas de activación durante la fibrilación auricular, como se ha comentado anteriormente. Asimismo, en cada mapa se analizó si se detectaban patrones de activación correspondientes a afloramientos y a reentrada completa. En estos últimos, se cuantificó el número de giros consecutivos, dividiendo cada giro completo en cuatro cuadrantes.

3.3.5. Parámetros electrofisiológicos.

- Durante la FV:

Con el objeto de calcular también la longitud de onda del proceso de activación durante la arritmia, se ha determinado la velocidad de conducción y el período refractario funcional utilizando la información proporcionada por el análisis de los mapas de activación obtenidos durante la FV:

Velocidad de conducción durante la FV (VCFV): Se ha calculado en aquellos mapas en los que los frentes de activación atravesaban el área abarcada por el electrodo sin evidencias de fraccionamiento (promedio de cinco determinaciones). En dichos mapas, se ha calculado la velocidad dividiendo una distancia por la diferencia entre los tiempos de activación de dos electrodos, separados por esta distancia, y situados en una dirección perpendicular a las isócronas. Como los frentes de onda pueden viajar de manera no paralela a la superficie epicárdica, la velocidad de conducción real pudiera ser más lenta que el valor medido. Este posible error lo redujimos utilizando solamente aquellos mapas en los que la entrada y salida del frente de onda se identificaron en los bordes de los mapas de activación.

Período refractario funcional durante la FV (FRPFV): se ha obtenido determinando el tiempo entre dos activaciones sucesivas en los electrodos situados en zonas en las que tras el paso de un frente de ondas son activadas inmediatamente por otro frente de ondas distinto. Se ha considerado como FRPFV al promedio de las cinco determinaciones con valores más cortos obtenidas en cualquiera de los mapas analizados.

Longitud de onda durante la FV (LOFV): Se ha determinado calculando el producto de FRPFV y VCFV.

- **Durante la estimulación basal:**

En las series B y C, también se determinó la refractariedad miocárdica y velocidad de conducción, en las tres fases del experimento (basal, estiramiento, post-estiramiento), en las dos zonas estudiadas, tras recuperar el ritmo sinusal mediante cardioversión eléctrica.

Para la determinación de los parámetros electrofisiológicos del tejido cardíaco durante la estimulación constante se empleó el test del extraestímulo. Se trata de un protocolo para determinar la refractariedad del tejido que consiste en la aplicación de un tren de impulsos bipolares de excitación (tren base) con separación temporal fija (ciclo básico), seguido de un estímulo adicional tras un retardo variable. La operación se repite cíclicamente después de un tiempo muerto. Tras cada repetición, el estímulo extra se acerca más al tren base. En nuestro estudio concreto, en las series B y C, se usaron dos electrodos bipolares situados en la ZE y ZNE. Se aplicó el test del extraestímulo con un ciclo básico de 250 ms, y posteriormente se repitió con un ciclo básico de 150 ms, disminuyendo el intervalo de acoplamiento en cinco milisegundos cada doce estímulos. Este estudio se realizó diez minutos tras la cardioversión, a la mitad de un período de diez minutos de estiramiento y diez minutos tras la supresión del estiramiento.

La figura 12 muestra un ejemplo de este tipo de estimulación; el registro corresponde a uno de los electrodos ventriculares durante uno de los experimentos realizados.

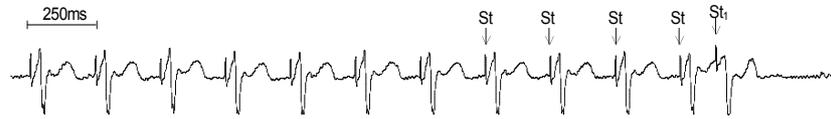
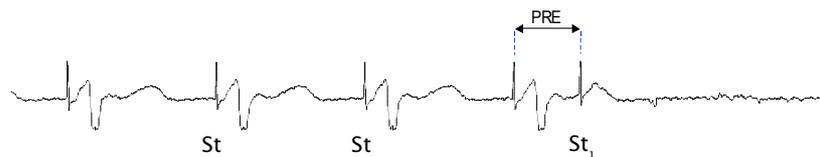


Figura 12: **Test del extraestímulo.** Abreviaturas: St.= estímulos consecutivos del tren base; St₁ = extraestímulo.

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

Período Refractario Efectivo (PRE): El PRE ventricular se define como el intervalo St-St₁ más largo en que St₁ no va seguido de despolarización ventricular.

Período Refractario Funcional (PRF): El PRF ventricular se define como el mínimo intervalo entre activaciones ventriculares consecutivas inducidas por los estímulos St y St₁.



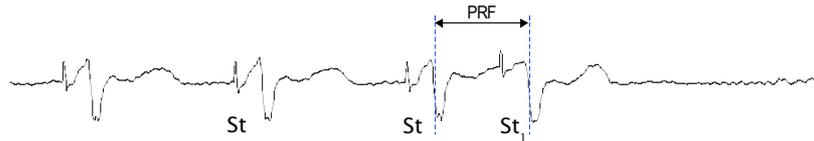


Figura 13: Período Refractario Efectivo (PRE) y Funcional (PRF).

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

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

Longitud de Onda (LO): Se define como la distancia recorrida por la onda de despolarización durante un tiempo igual a la duración del período refractario. Se calcula como el producto del período refractario funcional por la velocidad de conducción, determinados ambos para el mismo ciclo básico.

$$LO = PRF \cdot VC$$

3.4. CÁLCULOS ESTADÍSTICOS.

Todos los datos han sido presentados como media \pm desviación estándar. Se aplicó el test de la t-Student para muestras apareadas o desapareadas y la corrección de Bonferroni para

comparaciones múltiples. Las diferencias se consideraron significativas para una $p < 0,05$. Las regresiones lineales entre pares de variables se realizaron con el ajuste de mínimos cuadrados.

3.5. LEGISLACIÓN.

Todos los estudios fueron realizados de acuerdo con lo establecido en la Convención Europea de Estrasburgo, el 18 de marzo de 1986 (B.O.E. 10 de febrero de 1990).

Capítulo 4 - RESULTADOS

4.1. SERIE A. GRADOS DE ESTIRAMIENTO.

El objetivo del presente trabajo fue conocer si un estiramiento localizado, de sólo una zona seleccionada del miocardio ventricular, afectaría o no al proceso global de activación durante la fibrilación ventricular. Dada la escasez de estudios previos con estiramiento localizado del miocardio ventricular, en primer lugar se debía establecer el grado de estiramiento que se iba a aplicar, y decidir el protocolo más adecuado. Con este objetivo se realizó la serie A de experimentos, para estudiar varios grados de estiramiento miocárdico, y ver cuál de ellos era el más apropiado. Para ello, se analizó la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular del miocardio sometido a diferentes grados de estiramiento, se cuantificó la magnitud del estiramiento en cada uno de ellos y se determinó el flujo coronario para analizar si se estaban produciendo alteraciones en la perfusión miocárdica durante el estiramiento.

Efectos de los diferentes grados de estiramiento local sobre la frecuencia dominante durante la fibrilación ventricular.

Como se ha comentado previamente, en la serie A se aplicaron tres grados de estiramiento, aumentando el desplazamiento del vástago del dispositivo intraventricular en 3 mm sucesivamente en cada grado aplicado. La figura 14 y la tabla 2, muestran los valores

medios de FrD a lo largo del tiempo, en la ZE y la ZNE, en situación basal y durante los tres grados de estiramiento local.

Al aplicar el grado de estiramiento ligero (grado 1), obtenido desplazando el vástago del dispositivo intraventricular 3 mm, se produjo un aumento de la frecuencia dominante en la ZE, alcanzando el límite de la significación y volviendo a los valores basales al suprimir el estiramiento. En la ZNE, no se produjeron modificaciones de este parámetro. Al aplicar el grado de estiramiento medio (grado 2), con un desplazamiento de 6 mm, la FrD aumentó alcanzando valores mayores que durante la aplicación del estiramiento ligero. Este efecto revirtió al suprimir el estiramiento y en la ZNE no se modificó la FrD. Finalmente, al aplicar el grado máximo de estiramiento (grado 3) en la ZE (desplazamiento = 9 mm), la FrD aumentó pero no se produjo un mayor aumento de su valor que durante la aplicación del estiramiento en grado medio y, sin embargo, la FrD en la ZNE presentó mayor variabilidad que durante los grados de estiramiento ligero o medio.

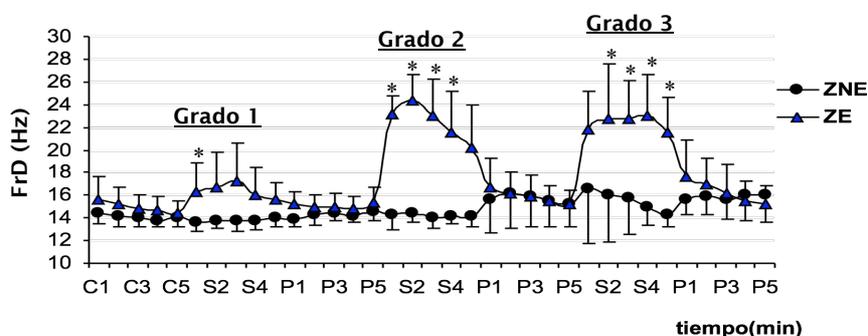


Figura 14: Valores medios de la **frecuencia dominante** durante la FV (FrD) \pm DE en ZE y ZNE obtenidos cada minuto en situación basal y durante los tres grados de estiramiento. El estiramiento local se mantuvo durante 5 min cada vez, seguido de 5min de supresión del mismo. Abreviaturas: C = basal; S = durante estiramiento; P = tras suprimir estiramiento; Hz = Hercios; min = minutos; * $p < 0.05$. ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento

Los valores correspondientes a la frecuencia dominante calculada en cada minuto (expresada en hercios), con los que se ha construido la figura 14, quedan reflejados en las tablas siguientes:

	BASAL	C1	C2	C3	C4	C5
ZNE		14,4 \pm 0,9	14,1 \pm 0,9	14 \pm 0,8	13,7 \pm 0,6	14 \pm 0,7
ZE		15,7 \pm 2	15,2 \pm 1,5	14,8 \pm 1,2	14,7 \pm 1,2	14,5 \pm 1

GRADO											
1		S1	S2	S3	S4	S5	P1	P2	P3	P4	P5
ZNE		13,6 \pm 0,7	13,8 \pm 0,7	13,8 \pm 1	13,7 \pm 0,7	14,1 \pm 0,8	14 \pm 0,7	14,3 \pm 0,9	14,5 \pm 0,7	14,2 \pm 0,6	14,5 \pm 0,7
ZE		16,3 \pm 2,6#	16,7 \pm 3,1	17,2 \pm 3,4	16,1 \pm 2,4	15,6 \pm 1,5	15,3 \pm 1,1	15 \pm 1,1	15 \pm 1,1	14,9 \pm 1,1	15,3 \pm 1,4

GRADO											
2		S1	S2	S3	S4	S5	P1	P2	P3	P4	P5
ZNE		14,3 \pm 1,3	14,5 \pm 0,8	14 \pm 1	14,2 \pm 0,7	14,2 \pm 0,9	15,6 \pm 2,8	16,2 \pm 3,1	15,9 \pm 2,6	15,5 \pm 2,3	15,3 \pm 2
ZE		23,2 \pm 1,5#	24,4 \pm 2,2#	23 \pm 3,1#	21,5 \pm 3,7#	20,2 \pm 3,7#	16,7 \pm 2,5	16,2 \pm 1,8	15,9 \pm 1,8	15,5 \pm 1,4	15,2 \pm 1,2

GRADO											
3		S1	S2	S3	S4	S5	P1	P2	P3	P4	P5
ZNE		16,6 \pm 4,5	16,1 \pm 4,1	15,8 \pm 3,3	14,9 \pm 1,6	14,3 \pm 1,1	15,7 \pm 1,3	15,9 \pm 1,7	15,6 \pm 1,7	16 \pm 2,2	16 \pm 2
ZE		21,8 \pm 3,4	22,8 \pm 4,9#	22,7 \pm 3,3#	22,9 \pm 3,7#	21,5 \pm 3#	17,6 \pm 3,2	16,9 \pm 2,3	16,2 \pm 2,6	15,5 \pm 1,8	15,2 \pm 1,6

Tablas 2a, 2b, 2c, 2d: Valores medios de la **frecuencia dominante** durante la FV (FrD) \pm DE (en hercios) en ZE y ZNE obtenidos cada minuto en situación basal (superior) y durante los tres grados de estiramiento (grado 1, grado 2, grado 3, respectivamente). Abreviaturas: C = basal; S = durante estiramiento; P = tras suprimir estiramiento; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; # $p < 0,05$.

Para cuantificar el grado de estiramiento aplicado, se determinaron los incrementos longitudinales de la pared ventricular, en el eje vertical y horizontal, en las dos zonas de estudio. Los promedios de los incrementos longitudinales en la zona modificada, durante el estiramiento ligero, medio y máximo fueron los mostrados en la figura 15.

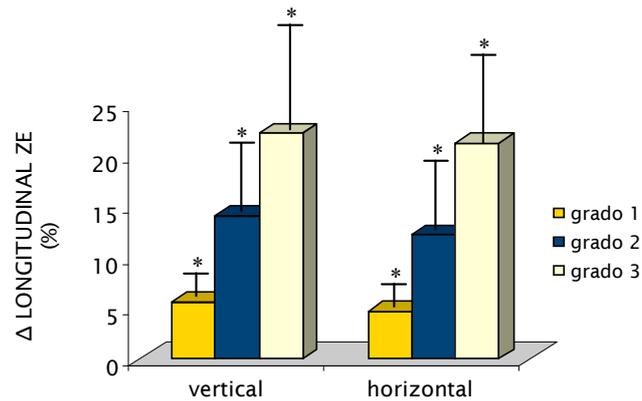


Figura 15: Valores de los **incrementos longitudinales** en la zona modificada (ZE): En el eje vertical, durante el estiramiento ligero: 5,6 % ± 3,8 %; durante el estiramiento medio: 14,1 % ± 6,5 % y, durante el estiramiento máximo: 22,2 % ± 10,2 %. En el eje horizontal: 4,7 % ± 3,5 %, 12,2 % ± 7,1 % y 21,2 % ± 7,7 %, respectivamente. $p < 0,05$.

En la zona no modificada por el estiramiento, no se registraron modificaciones significativas ni durante el estiramiento ligero, ni durante el estiramiento medio pero se observaron pequeños incrementos durante el estiramiento local máximo (figura 16). Este hecho puede estar relacionado con la mayor variabilidad de la FrD observada en esta zona, durante el grado máximo de estiramiento.

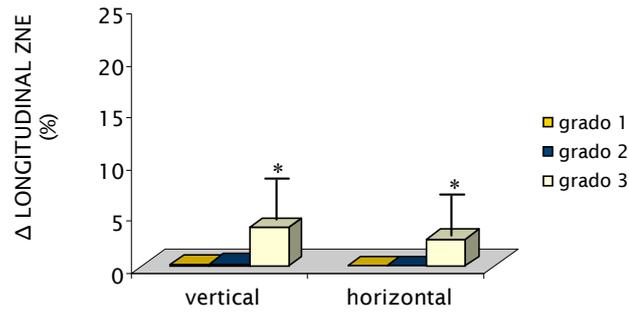


Figura 16: Valores de los **incrementos longitudinales** en la zona no modificada (ZNE): En el eje vertical, $0,15 \pm 0,2\%$, al aplicar el estiramiento ligero; $0,2\% \pm 0,3\%$, con estiramiento medio, y $3,7 \pm 3,5\%$, con el estiramiento máximo. En el eje horizontal: $0,0\% \pm 0,0\%$, $0,0\% \pm 0,0\%$, y $2,6\% \pm 2,5\%$, respectivamente. $p < 0,05$.

Con respecto al flujo coronario, no se observaron diferencias significativas respecto al basal, al aplicar el estiramiento (variación media = $34,1 \pm 8,5$ ml/min), como muestra la figura 17.

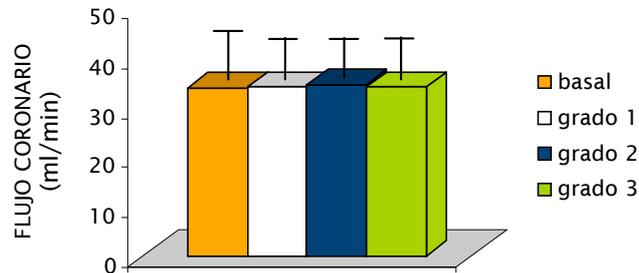


Figura 17: Valores del **flujo coronario**, expresados en mililitros por minuto: basal: $33,8 \pm 10,7$ ml/min; estiramiento ligero (grado 1): $34,1 \pm 8,3$ ml/min; estiramiento medio (grado 2): $34,5 \pm 8,9$ ml/min; estiramiento máximo (grado 3): $34,1 \pm 8,3$ ml/min.

4.2. SERIE B. EFECTOS DEL ESTIRAMIENTO.

En esta serie de experimentos se aplicó el grado intermedio de estiramiento que es el que, en la serie A, da lugar a variaciones significativas de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular en la zona estirada sin provocar modificaciones en la pared ventricular de la zona no sometida al estiramiento.

4.2.1. Variaciones temporales de los efectos del estiramiento local sobre la frecuencia dominante durante la FV.

En la serie B, se duplicó la duración del período de estiramiento (registros de 10 min) y se aplicó el grado de estiramiento medio (desplazamiento del vástago = 6 mm), de acuerdo con los resultados obtenidos en la serie A.

De manera similar a la observada en la serie A, la media de los incrementos longitudinales de la pared del ventrículo izquierdo, en la ZE fueron: $12,1\% \pm 4,5\%$ en el eje vertical y $11,8\% \pm 6,2\%$ en el eje horizontal. No se registraron modificaciones significativas en la ZNE y el flujo coronario se mantuvo constante.

La figura 18 y la tabla 3, muestran la evolución en el tiempo de la media de los valores de FrD (expresada en hercios) en las dos

zonas de estudio. En la ZE se observa un aumento de la FrD, con diferencias significativas respecto a la ZNE desde el primer minuto después de la aplicación del estiramiento local. El efecto máximo se alcanzó tras 2-4 minutos, seguido de una disminución gradual en el tiempo, aunque las diferencias persistieron a los diez minutos de estiramiento. Después de suprimir el estiramiento, las diferencias entre las dos zonas ya no fueron significativas en los registros obtenidos después del minuto 1, y los valores de FrD en ambas zonas fueron similares. Los valores obtenidos antes y después del estiramiento no mostraron diferencias estadísticamente significativas en la ZNE.

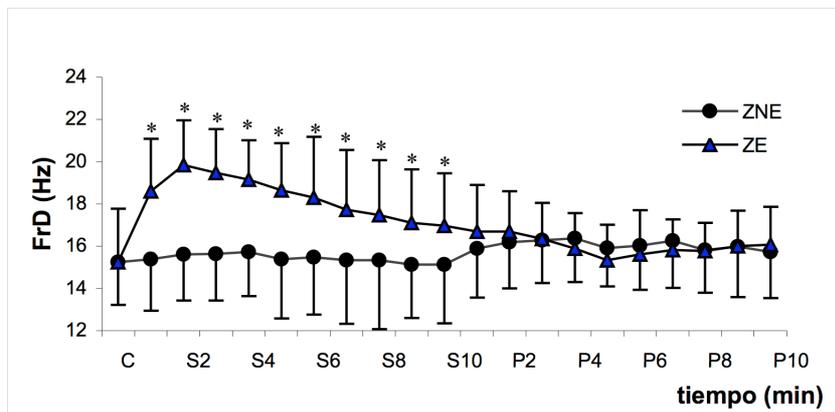


Figura 18: Valores medios de la **frecuencia dominante** durante la FV(FrD) \pm DE en ZE y ZNE, expresados en hercios y obtenidos basalmente, durante el período de estiramiento localizado en grado medio (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (10 minutos) en la serie B. Abreviaturas: C = basal; P = tras suprimir el estiramiento; S = durante el estiramiento; Hz = hercios; min = minutos; * $p < 0,05$.

	BASAL	C1	C2	C3	C4	C5
ZNE		15,2±1	15,3±2,4	15,3±2,2	15,3±2,2	15,2±2,1
ZE		17,2±2,4	16,81±2,5	16,2±2,1	15,7±2,1	15,2±1,9

EST.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
ZNE	15,4± 2,8	15,6± 2,7	15,6± 2,9	15,72± 3,2	15,4± 2,5	15,4± 2,8	15,3± 2,3	15,3± 2,2	15,1± 2	15,1± 2
ZE	18,6± 2,2#	19,8± 2,9#	19,3± 2,8#	19,1± 2,6#	18,6± 2,5#	18,3± 2,5#	17,7± 2,2#	17,5± 1,9#	17,1± 1,7#	17± 1,7#

POST-EST.	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
ZNE	15,9± 1,8	16,2± 2,1	16,3± 2,2	16,4± 2	15,9± 2,4	16± 2,2	16,3± 1,8	15,8± 2,1	16± 2,1	15,7± 2,3
ZE	16,7± 1,7	16,7± 2,1	16,3± 1,4	15,9± 1,3	15,3± 1,7	15,6± 1,8	15,8± 1,3	15,8± 1,5	16± 1,6	16,1± 1,8

Tabla 3a, 3b, 3c: Valores medios de la frecuencia dominante durante la FV (FrD) ± DE expresada en hercios en ZE y ZNE obtenidos basalmente, durante el período de estiramiento localizado (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (10 minutos) respectivamente, en la serie B. Abreviaturas: EST. = durante el estiramiento; POST-EST = tras suprimir el estiramiento; C = basal; P = tras suprimir el estiramiento; S = durante el estiramiento; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; # p<0,05.

La figura 19 muestra los registros de FV obtenidos en situación basal, al aplicar el estiramiento local y después de retirar el estiramiento, en la ZNE y en la ZE en uno de los experimentos. Se observa la aceleración de la FV en la ZE al aplicar el estiramiento, revirtiendo el proceso y obteniendo registros de FV similares a los basales, tras su supresión. En la ZNE no se producen modificaciones en las tres fases del experimento.

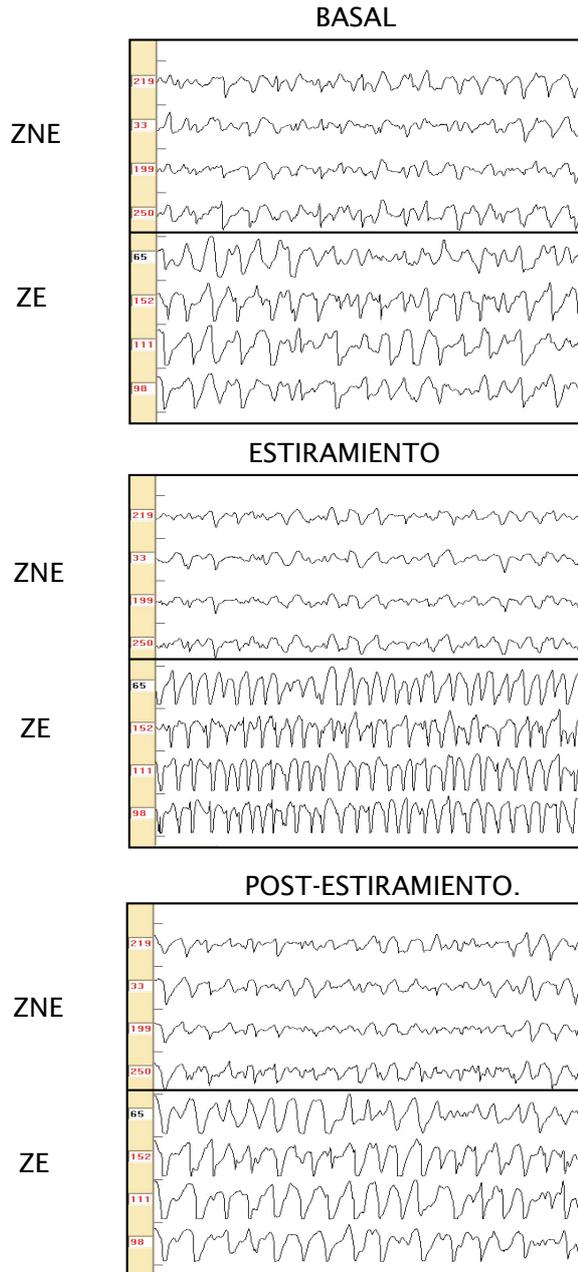


Figura 19: Registros de FV obtenidos en situación basal, al aplicar el estiramiento y tras su supresión, en la zona modificada (ZE) y la zona no modificada por el estiramiento (ZNE).

La figura 20 muestra el análisis espectral efectuado con los registros de uno de los electrodos. En los espectrogramas correspondientes se observa el incremento de FrD en la ZE y la reversibilidad del proceso. Simultáneamente, en la ZNE no se observan variaciones de FrD.

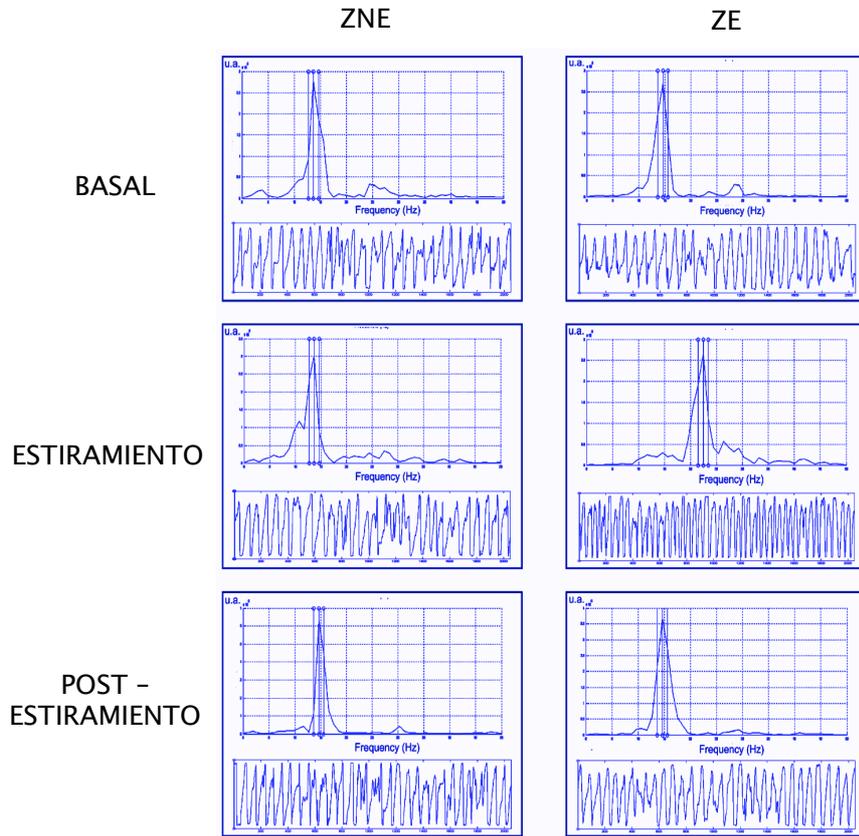


Figura 20: **Espectrogramas** correspondientes a los registros obtenidos con uno de los electrodos epicárdicos en la zona modificada (ZE) y no modificada por el estiramiento (ZNE), en cada fase del experimento nº 11 de la serie B. La ZE muestra la aceleración de la FV durante el estiramiento localizado. Esta aceleración desaparece al suprimir el estiramiento localizado. La ZNE muestra la ausencia de cambios en FrD durante las tres fases experimentales. Abreviaturas: Hz = hercios; u.a. = unidades arbitrarias.

También se realizó un análisis del PSD contenido en el segmento del periodograma correspondiente a la $FrD \pm 1Hz$, calculando el cociente entre el sumatorio de PSD desde $FrD - 1 Hz$ a $FrD + 1 Hz$, y el sumatorio de PSD correspondiente a la totalidad del espectro. En la ZE hubo una disminución durante el estiramiento (basal = $29,1 \% \pm 8,4 \%$, estiramiento = $21,1 \% \pm 3,1 \%$, $P < 0,001$; y post-estiramiento = $28,5 \% \pm 7,6 \%$, n.s.), y no se observaron modificaciones significativas en la ZNE (basal = $28,8 \% \pm 9,5 \%$, estiramiento = $27,5 \% \pm 10,8 \%$, n.s.; y post-estiramiento = $29,1 \% \pm 5,9 \%$, n.s.).

4.2.2. Efectos del estiramiento local sobre los intervalos VV durante la FV.

Durante el estiramiento local, en la ZE, el incremento significativo de la FrD se acompañó de una disminución significativa en la media de los intervalos VV. La figura 21, muestra los valores de FrD y VV obtenidos en las dos zonas estudiadas en situación basal, a los cinco minutos de aplicar el estiramiento local y tras la supresión del mismo, en la serie B. En ZE se observa que, durante el estiramiento local, existe una aceleración de la FV con incrementos significativos de FrD , tal como se ha indicado anteriormente, y reducción significativa del intervalo VV medio, como también muestra la tabla 4 ($63 \pm 8 ms$ en situación basal, y $53 \pm 6 ms$, durante el estiramiento, $p < 0,001$). Esta aceleración desaparece tras suprimir el estiramiento de tal modo que

FrD e intervalos VV vuelven a valores similares a los obtenidos basalmente (VV = 61 ± 6 ms). En la zona ZNE no se observan cambios significativos de FrD y del intervalo VV medio que permanecen en valores similares basalmente, durante el estiramiento local y tras la supresión del mismo.

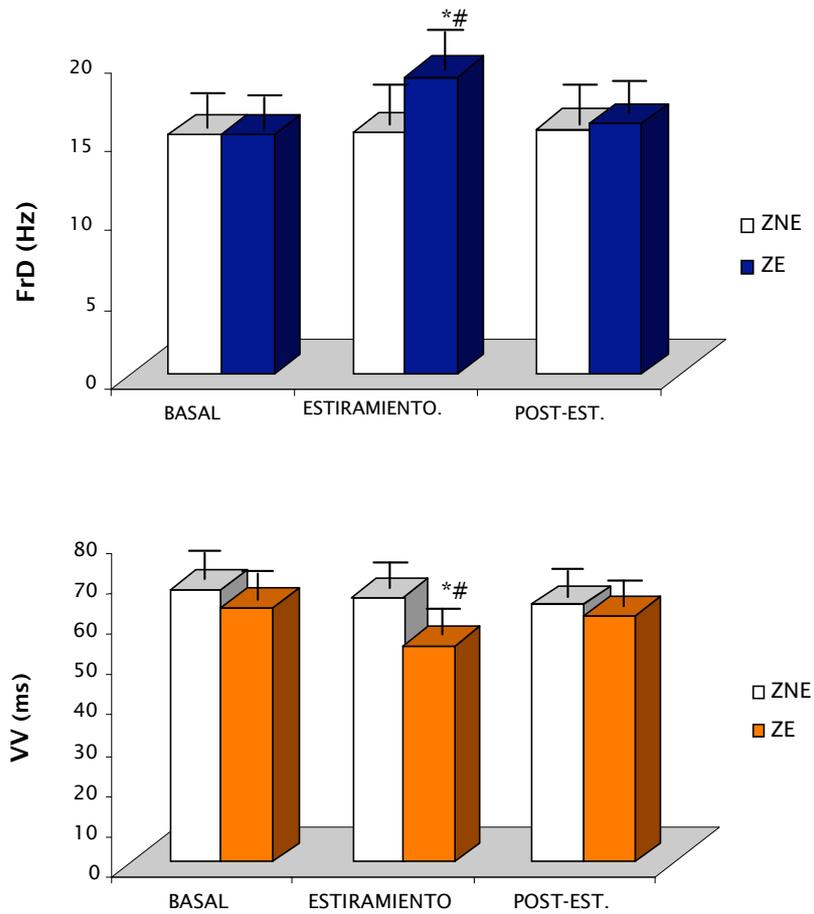


Figura 21: El diagrama de la parte superior muestra los valores de la **frecuencia dominante media** (FrD) ± DE obtenidos mediante el análisis espectral de todos los electrodos unipolares localizados en la ZE y la ZNE, en cada una de las tres fases del experimento (basal, estiramiento y tras la supresión del mismo). El diagrama de la parte inferior muestra los **valores medios de los intervalos VV** (VV) ± DE, determinados con todos los electrodos unipolares localizados en la ZE y la ZNE, en cada una de las tres fases del experimento. Abreviaturas: POST-EST. = tras suprimir el

estiramiento, Hz = hercios; ms = milisegundos; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; *p<0,05, tanto ZE vs ZNE, como ZE frente a basal; #p<0,001 tanto ZE vs ZNE, como ZE frente a basal.

VV (ms)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-EST.
ZNE	65,7±7,5	65,2±8,3	63,6±5,9
ZE	62,9±8,5	53,5±6,3#	60,9±6,0

Tabla 4: Valores medios de los intervalos VV (VV) ± DE , determinados con todos los electrodos unipolares localizados en la ZE y la ZNE, en cada una de las tres fases del experimento (basal, estiramiento y post estiramiento). Abreviaturas: POST-EST. = tras suprimir el estiramiento; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; ms = milisegundos. #p<0,001 tanto ZE vs ZNE, como ZE frente a basal.

Tanto en la zona ZE como en la ZNE la recta de regresión obtenida al relacionar FrD con la inversa de los intervalos VV (inv VV) en las tres fases analizadas ha sido significativa y con pendiente cercana a la unidad (figura 22). Las rectas de regresión obtenidas han sido las siguientes (expresando FrD en hercios e intervalos VV en segundos):

ZE: $FrD = 0,94 \times \text{inversa de los intervalos VV} + 0,38$; $R = 0,90$;
 $P < 0,0001$; error estándar estimado = 1.1 Hz.

ZNE: $FrD = 1,07 \times \text{inversa de los intervalos VV} - 1,39$; $R = 0,92$;
 $P < 0,0001$; error estándar estimado = 0,9 Hz.

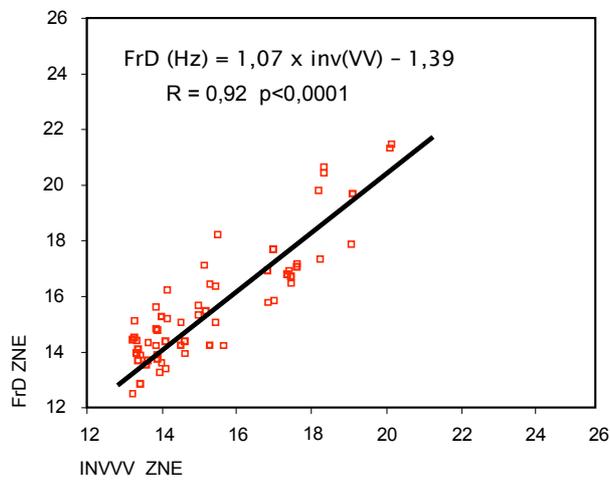
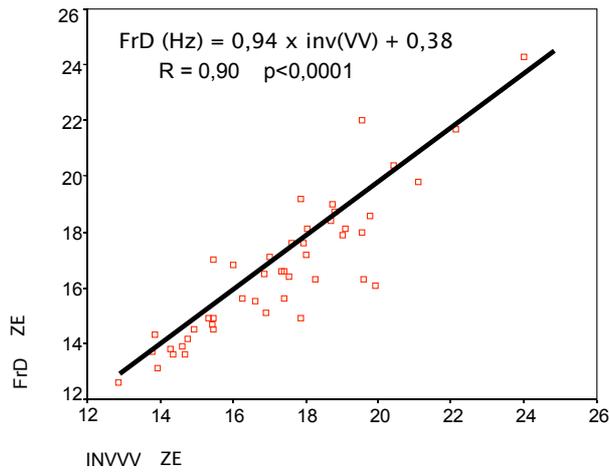


Figura 22: **Rectas de regresión** obtenidas en la ZE (superior) y en la ZNE (inferior).
Abreviaturas: FrD ZE = Frecuencia Dominante en la ZE; INVVZE= Inversa de los intervalos VV en la ZE; FrD ZNE = Frecuencia Dominante en la ZNE; INVVZNE = Inversa de los intervalos VV en la ZNE; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento;

No se observó una correlación significativa entre la FrD en las dos zonas (R=0,24; P=0,40). También se hizo un análisis de la presencia y ausencia de picos secundarios y terciarios en el espectrograma, con el

objeto de determinar si aparecían frecuencias en el espectrograma con picos de amplitud más pequeños que el pico dominante. En la ZE se identificó un pico secundario en un 92,5% de los registros, y un pico terciario de menor amplitud que el pico secundario, en un 67,5%. La frecuencia media del pico secundario fue $19,7 \pm 5,7$ Hz, frente $22,6 \pm 7,7$ Hz del pico terciario. En la ZNE, los porcentajes del pico secundario y terciario fueron 77,5 % y 47,5 % respectivamente, y la frecuencia media de esos picos fue $17,7 \pm 6,1$ Hz y $16,6 \pm 6,9$ Hz, respectivamente.

Las correlaciones entre la FrD obtenida en cada zona y las frecuencias del pico secundario y terciario en la otra zona estudiada no fueron significativas, así como las correlaciones entre los picos de menor amplitud que la FrD en la ZE y la ZNE.

4.2.3. Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos.

Las figuras 23a, 23b y la tabla 5, muestran la media de los valores de período refractario funcional, velocidad de conducción y longitud de onda, obtenidos durante la FV y, una vez suprimida la FV, durante la aplicación del test del extraestímulo en las dos zonas de estudio, en situación basal, durante el estiramiento local y tras su supresión. En la ZE, el período refractario funcional durante la FV y los períodos refractarios obtenidos con la aplicación del test del extraestímulo, disminuyeron durante el estiramiento, siendo las diferencias estadísticamente significativas respecto a la misma zona

en situación basal, y respecto a la ZNE, durante el estiramiento local. La velocidad de conducción no varió significativamente en las dos zonas durante las tres fases del experimento. Y, por tanto, la longitud de onda definida como el producto entre ambos parámetros (PRF y VC), durante el estiramiento local, mostró valores significativamente menores en la ZE frente a la ZNE y frente al basal.

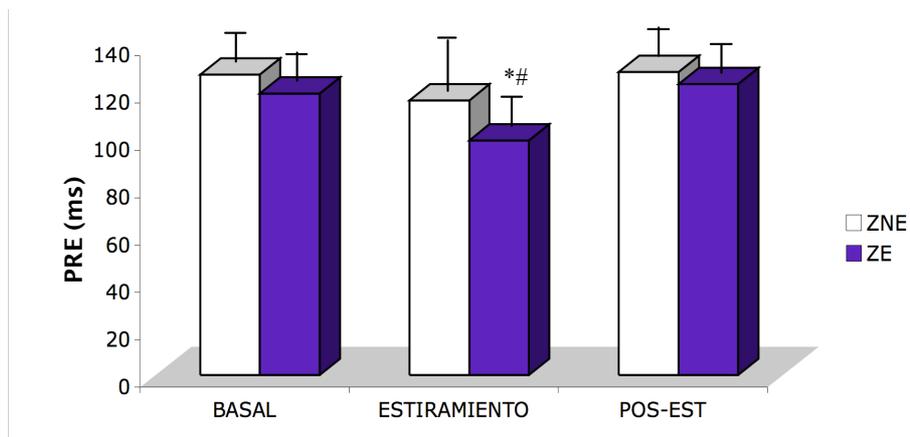


Figura 23a: Parámetros electrofisiológicos. Media de los valores de **período refractario efectivo** (PRE) una vez suprimida la FV, durante la aplicación del test del extraestímulo, en las dos zona de estudio (ZE, ZNE), en situación basal, durante el estiramiento local y tras su supresión, en la serie B. Abreviaturas: ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; POST-EST = tras suprimir el estiramiento; ms = milisegundos; * $p < 0.05$ estiramiento vs basal; # $p < 0.05$ ZE vs ZNE.

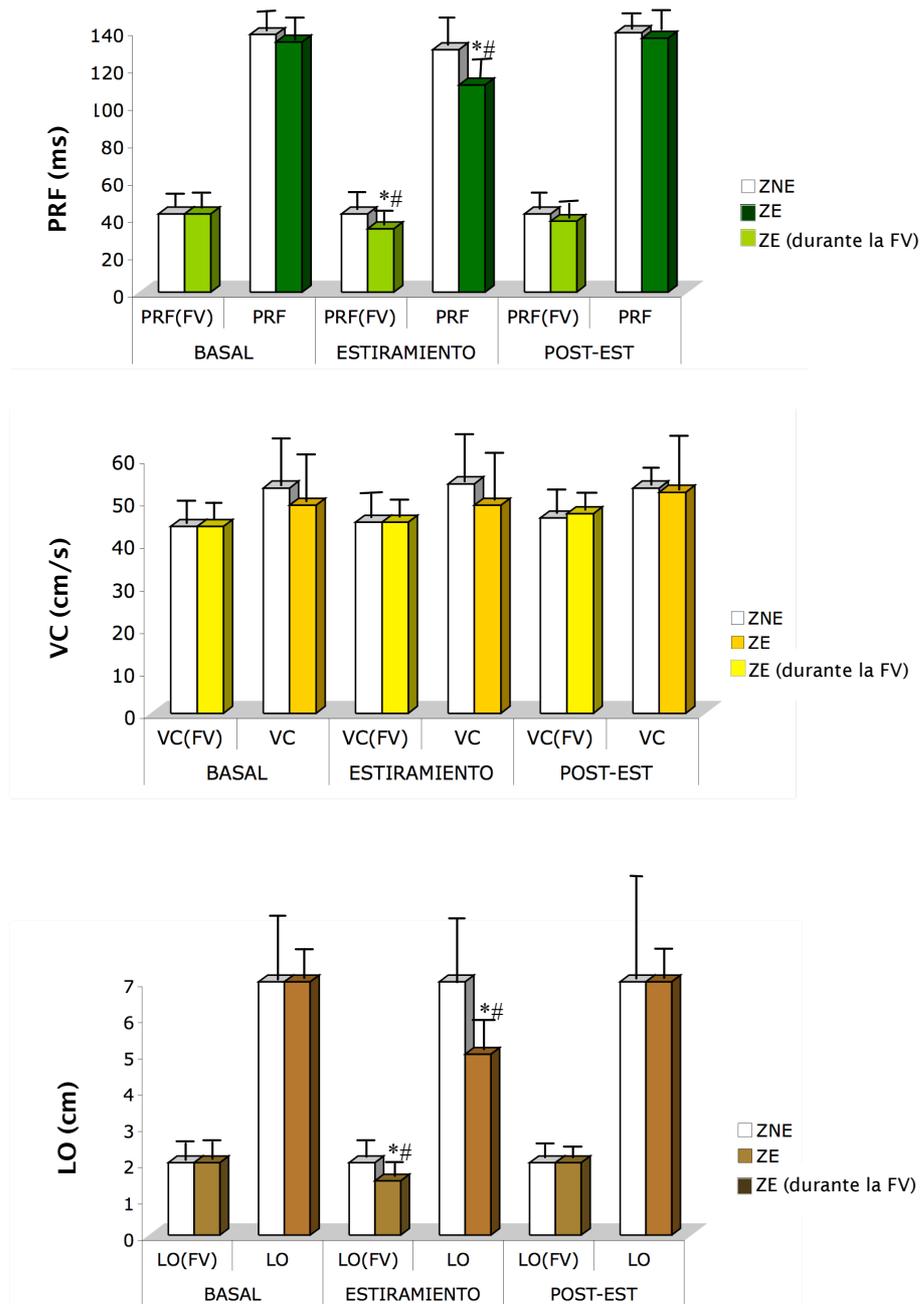


Figura 23b: Parámetros electrofisiológicos. Media de los valores de **período refractario funcional (PRF)**, **velocidad de conducción (VC)** y **longitud de onda (LO)**, obtenidos durante la FV y, de los mismos parámetros una vez suprimida la FV, durante la aplicación del test del extraestímulo, en las dos zona de estudio (ZE, ZNE), en situación basal, durante

el estiramiento local y tras su supresión, en la serie B. Abreviaturas: ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; POST-EST = tras suprimir el estiramiento; ms = milisegundos; *p<0.05 estiramiento vs basal; # p<0.05 ZE vs ZNE.

	BASAL		ESTIRAMIENTO		POST-ESTIRAMIENTO	
	ZNE	ZE	ZNE	ZE	ZNE	ZE
PRF(FV)(ms)	42 ± 7	42 ± 8	42 ± 6	34 ± 4*#	42 ± 4	38 ± 5
VC(FV)(cm/s)	44 ± 6	44 ± 5	45 ± 8	45 ± 5	46 ± 7	47 ± 5
LO(FV)(cm)	2 ± 0.5	2 ± 0,4	2 ± 0,3	1,5 ± 0,3*#	2 ± 0,3	2 ± 0,2
PRE(ms)	127 ± 14	119 ± 12	116 ± 18	99 ± 14*#	128 ± 11	123 ± 12
PRF(ms)	138 ± 11	134 ± 12	130 ± 16	111 ± 13*#	139 ± 8	136 ± 13
VC(cm/s)	53 ± 15	49 ± 12	54 ± 15	49 ± 12	53 ± 12	52 ± 17
LO(cm)	7 ± 2	7 ± 1	7 ± 2	5 ± 1*#	7 ± 1	7 ± 3

Tabla 5: Valores de los **parámetros electrofisiológicos** (media ± DE) obtenidos en cada fase del experimento, en las dos zonas de estudio, en la serie B. Abreviaturas: VC = velocidad de conducción; PRE = período refractario efectivo; PRF = período refractario funcional; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; LO = longitud de onda; (FV) = durante la fibrilación ventricular. * p<0.05 estiramiento vs basal; # p<0.05 ZE vs ZNE.

4.2.4. Efectos del estiramiento local sobre las características de los mapas de activación durante la FV.

La figura 24 muestra los tres tipos de mapas de activación, de acuerdo a su complejidad, observados en la serie B en las tres ventanas de tiempo seleccionadas. En situación basal, en ambas zonas, el mapa de acción predominante fue el tipo II, y no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes en los tres tipos de mapas, ni en los porcentajes de mapas

con patrones de afloramiento epicárdico (ZE = 23 %, ZNE = 25 %, ns) y reentrada circular completa (ZE = 9 %, ZNE = 12 %, ns).

La media de rotaciones consecutivas observadas en los mapas de reentrada fue $1,1 \pm 0,4$ en la ZE y $1,1 \pm 0,3$ en la ZNE (ns), con un máximo de 2,5 rotaciones en ZE y 2 rotaciones en ZNE. Durante el estiramiento local en la ZE, la complejidad de los mapas de activación aumentó, con un aumento en los mapas de tipo III y una reducción de los mapas de tipo I y mapas de tipo II ($p < 0,0001$). En la ZE, también hubo un aumento en los patrones de afloramiento (37 %; $p < 0,01$), sin cambios significativos en el número de mapas con patrones de reentrada (9 %, ns). Durante el estiramiento se observó una tendencia no significativa al aumento en el número medio de rotaciones consecutivas ($1,5 \pm 0,6$), con un número máximo de tres giros.

Simultáneamente, en la ZNE, no se registraron cambios en los porcentajes de los tres tipos de activación, o en el número de mapas con patrones de afloramiento epicárdico (20 %, ns) y patrones de reentrada (8 %, ns), siendo el número de rotaciones consecutivas ($1,0 \pm 0,2$; ns) y el número máximo de giros (1,2) similar a los registrados en situación basal. En la ZE, los mapas de activación tras suprimir el estiramiento, volvieron a las características registradas durante la situación basal, sin diferencias significativas respecto a la ZNE.

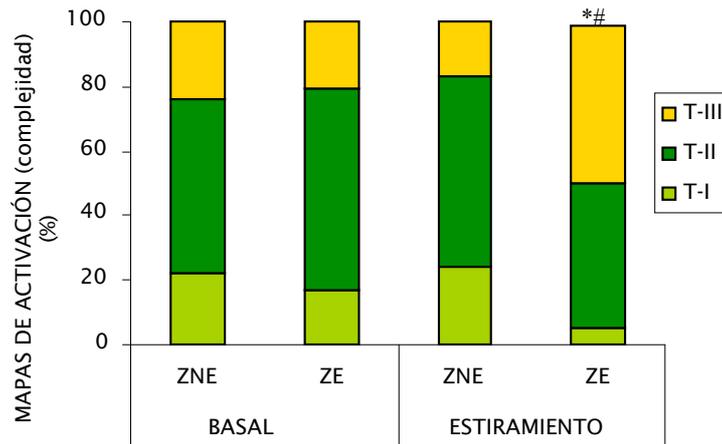


Figura 24: Porcentajes de los **tipos de mapas de activación** de acuerdo a su complejidad, observados en la ZE y la ZNE, en las situaciones basal y durante la aplicación del estiramiento local, en la serie B. Abreviaturas: ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; * $p < 0.005$ ZE durante el estiramiento vs basal; # $p < 0.005$ ZE vs ZNE durante la aplicación del estiramiento;

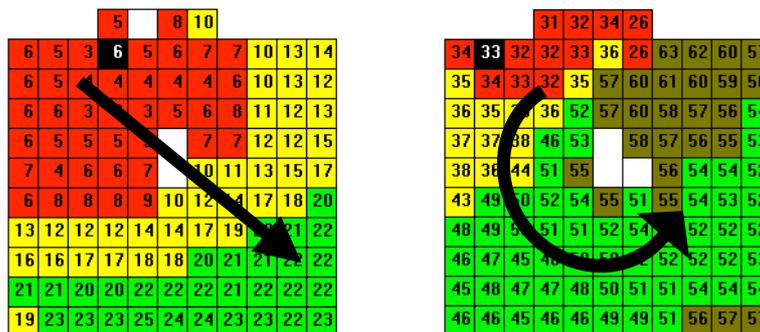


Figura 25: **Ejemplo de dos mapas de activación**, obtenidos durante la realización de los experimentos número 23 y 26. Izquierda: mapa tipo I, con un solo frente de onda entrando desde la parte superior izquierda. Derecha: mapa con patrón de reentrada circular, girando en sentido antihorario.

4.2.5. Valores máximos de frecuencia dominante y características de los mapas de activación.

En la serie B, antes del estiramiento y en la mitad del período de estiramiento, se utilizó el análisis tiempo-frecuencia para identificar los 5 valores máximos de FrD y los electrodos con los que se obtenían estos registros en las dos zonas de estudio. La tabla 6 y su representación gráfica (figura 26), muestra los tipos de patrones de activación observados en los puntos seleccionados, es decir, en el área en la que estaban incluidos los electrodos en el momento en el que se obtenían los valores máximos de FrD. En las dos zonas, en situación basal y durante el estiramiento local, los patrones predominantes correspondieron a áreas de bloqueo de conducción, mientras el porcentaje de activaciones reentrantes circulares, colisiones de frentes de onda, o activaciones con frentes de onda únicos, fueron bajos.

No hubo significación estadística al comparar los patrones encontrados en la zona estirada, al aplicar el estiramiento, ni frente a situación basal ni frente a la zona no estirada.

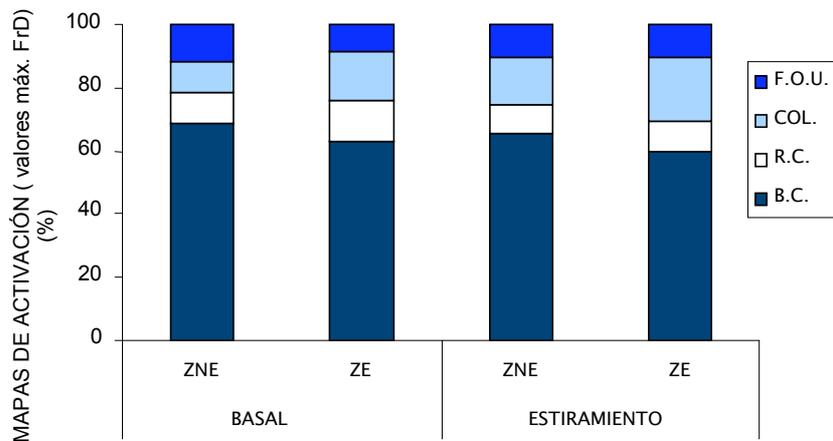


Figura 26: Porcentajes de los **patrones de los mapas de activación** construidos en las zonas de registro de los valores máximos de frecuencia dominante. Abreviaturas: F.O.U.= frente de onda único; COL.= colisiones; R.C.= reentrada completa; B.C.= bloqueo de la conducción; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; max. = máximos.

	BASAL		ESTIRAMIENTO	
	ZNE	ZE	ZNE	ZE
BLOQUEO CONDUCCIÓN	68,6 %	62,9 %	65,3 %	60 %
REENTRADA COMPLETA	10 %	12,8 %	9,3 %	9,3 %
COLISIONES	10 %	15,7 %	14,7 %	20 %
FRENTE DE ONDA ÚNICO	11,4 %	8,6 %	10,7 %	10,7 %
	----- ns -----		----- ns -----	

Tabla 6: Tipos de **patrones de activación** observados durante los registros de los valores máximos de FrD en la ZE y la ZNE, en situación basal y durante el estiramiento. Abreviaturas: ZNE = zona no estirada; ZE = zona estirada; ns = sin significación estadística.

La figura 27, muestra un ejemplo con tres mapas de activación consecutivos, obtenidos en uno de los experimentos en la ZE durante la situación basal. El primer mapa de activación (A) muestra la colisión de dos frentes de onda entrando desde el vértice inferior izquierdo, y desde la porción superior del lateral derecho. El siguiente mapa de activación (B) muestra la entrada de otro frente de activación desde el borde lateral izquierdo, que queda bloqueado en su propagación hacia la zona central del electrodo. El tercer mapa de activación (C) muestra la entrada de otros dos frentes: El primero desde el borde inferior, y el segundo desde la esquina superior derecha, seguido de bloqueo en la porción central. Los electrogramas en la figura corresponden al electrodo identificado con un círculo (electrodo central) y a los dos electrodos localizados 3 y 4 mm a la izquierda del anterior. En el registro del electrodo identificado, se ha señalado el momento en el que fue obtenido uno de los valores máximos de FrD con ese electrodo. Este registro corresponde al área de bloqueo y muestra la aparición de dobles potenciales que contribuyen a alcanzar una FrD de 28 Hz en el análisis tiempo-frecuencia que se muestra en la parte inferior de la figura.

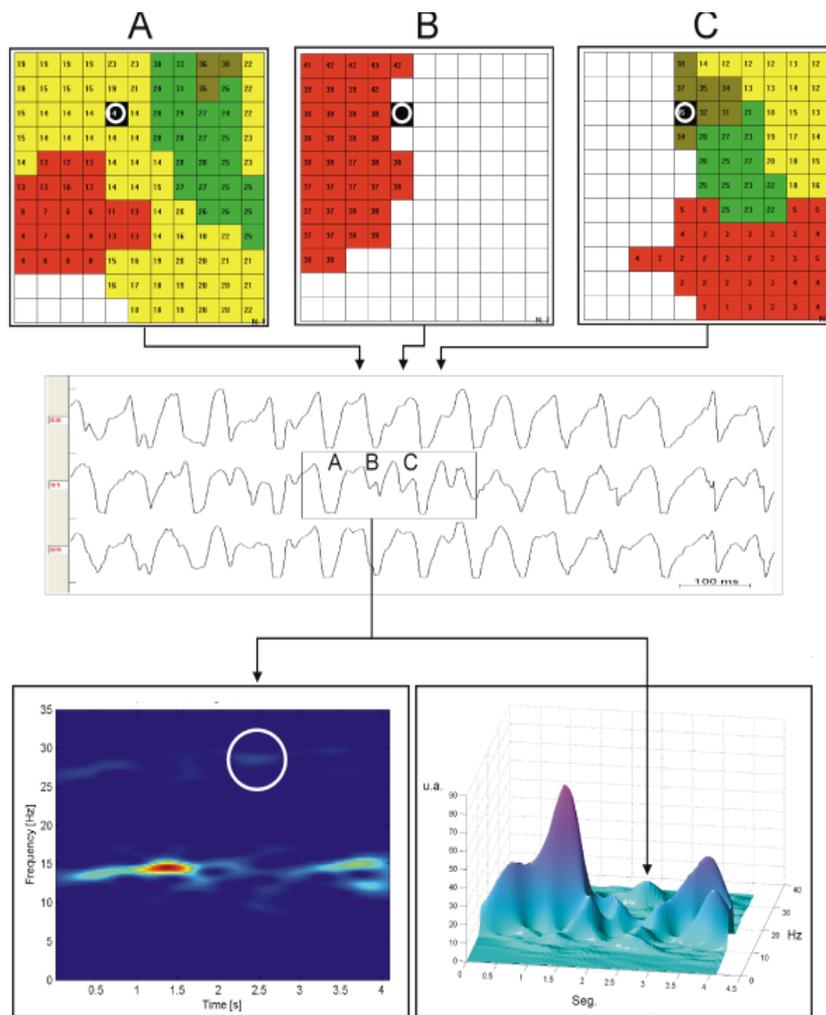


Figura 27: Mapas de activación consecutivos (A, B, C) obtenidos con los electrogramas seleccionados y análisis tiempo-frecuencia de los registros obtenidos con los electrodos identificados con un círculo, con los que se alcanzó uno de los valores máximos de FrD en la ZE, en el experimento número 11. Abreviaturas: u.a. = energía de espectro medida en unidades arbitrarias; Hz = hercios; s = segundos.

4.3. SERIE C. MODIFICACIONES DE LOS EFECTOS DEL ESTIRAMIENTO PRODUCIDOS POR LA ESTREPTOMICINA.

Con los resultados obtenidos en la serie B de experimentos, se decidió realizar esta última serie, utilizando un bloqueante de los canales activados por el estiramiento, con el objetivo de analizar sus efectos sobre las modificaciones producidas por el estiramiento. Los resultados obtenidos en la serie B, mostraron una modificación en la refractariedad miocárdica, así como una aceleración de la fibrilación ventricular en la ZE, que se reflejaba en las variaciones observadas en la frecuencia dominante y la media de los intervalos de activación de la fibrilación ventricular. Por tanto, el estudio se centró en el análisis de estos parámetros.

4.3.1. Variaciones temporales de los efectos del estiramiento local sobre la frecuencia dominante durante la FV.

En la serie C, se estudiaron las modificaciones del estiramiento local de la pared ventricular izquierda, ante la presencia de un bloqueante de los canales activados por el estiramiento, como es la estreptomicina. Para ello, se aplicó un protocolo similar al utilizado en la serie B, y se compararon los resultados de ambas series. La estreptomicina se disolvió a una concentración 200 μM en la perfusión

de Tyrode, se indujo la FV, y se aplicó un grado de estiramiento medio.

Como muestra la figura 28 y las tablas 7a, 7b, 7c, tras registrar cinco minutos de fibrilación basal, al aplicar el estiramiento se produjo un aumento de la frecuencia dominante en la ZE con diferencias significativas frente a la ZNE entre los minutos 2 y 5 de estiramiento, en donde no se produjeron modificaciones de la frecuencia dominante a lo largo del experimento. En la ZE, a partir del minuto cinco de estiramiento, los valores de FrD pierden las diferencias estadísticamente significativas con respecto a la ZNE y recuperan valores de FrD similares a los basales, a pesar de que persiste el estiramiento hasta el minuto diez, a diferencia de lo que ocurre en la serie B, donde las diferencias de FrD entre ambas zonas se mantenían durante todo el período de estiramiento.

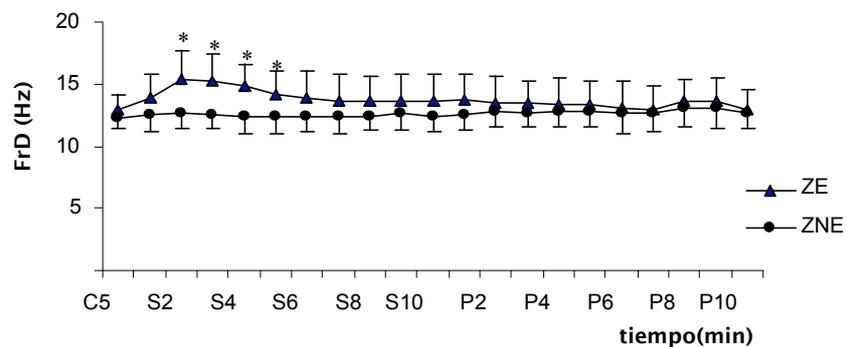


Figura 28: Valores medios de la **frecuencia dominante** (FrD) \pm DE durante la FV, la zona modificada por el estiramiento (ZE) y la zona no modificada por el mismo (ZNE) obtenidos en cada minuto a lo largo del experimento, en la serie C. Abreviaturas: C = basal; Hz = hercios; min = minutos; P = tras suprimir el estiramiento; S = durante el estiramiento; * $p < 0.05$.

	BASAL	C1	C2	C3	C4	C5
ZNE		12,3±1	12,2±1,2	12±1	12,1±1	12±1,2
ZE		12,6±1,3	12,7±1,7	12,6±2	12,2±1,9	12,4±1,5

EST.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
ZNE	12,3± 1,3	12,4± 1,2	12,4± 1,3	12,2± 1,1	12,2± 1,2	12,1± 1,1	12,1± 1,1	12,2± 1,1	12,4± 1	12,2± 1
ZE	13,5± 1,7	14,8± 2*	14,6± 2*	14,3± 2*	13,6± 1,9*	13,4± 2	13± 1,9	13,1± 1,9	13,2± 1,6	13,2± 1,8

POST-EST.	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
ZNE	12,3± 1,2	15,5± 1,4	12,4± 1,3	12,4± 1,3	12,5± 1,5	12,4± 1,1	12,3± 1,3	12,8± 0,9	12,8± 1,1	12,5± 0,7
ZE	13,2± 1,7	13± 2	12,9± 1,7	12,9± 1,6	12,7± 1,8	12,7± 1,5	12,5± 1,6	13,1± 1,9	13,1± 1,8	12,6± 1,2

Tabla 7a,7b,7c: Valores medios de **frecuencia dominante** (FrD) ± DE (expresada en hercios) en la zona modificada por el estiramiento (ZE) y la zona no modificada por el mismo (ZNE) obtenidos basalmente, durante el periodo de estiramiento localizado (10 minutos) y tras suprimir el estiramiento (10 minutos) en la serie C (tablas 1, 2 y 3 respectivamente). Abreviaturas: EST. = durante la aplicación del estiramiento; POS-EST = tras la supresión del estiramiento; C = basal; P = tras suprimir el estiramiento; S = durante el estiramiento; *p<0.05.

Con el objeto de analizar los efectos de la estreptomina, se compararon los resultados obtenidos en las series B y C. Para ello en ambas series se cuantificaron las variaciones de FrD con respecto a los valores obtenidos antes de aplicar el estiramiento (valores de FrD en el minuto 5 basal). Los resultados se muestran en la figura 29. En la serie C se observa una disminución del incremento de FrD durante el estiramiento con respecto a la serie B. Es decir, la estreptomina produjo una disminución en las modificaciones de la FrD producidas por el estiramiento local en la ZE.

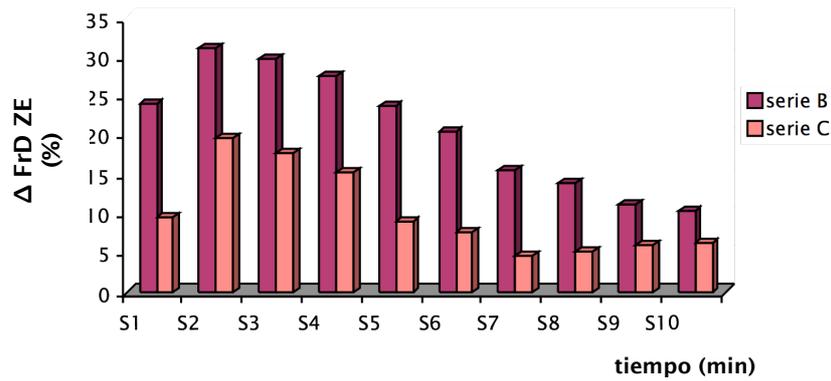


Figura 29: Porcentaje de **variación de la frecuencia dominante (FrD)**, respecto al minuto 5 basal, ocurrido en cada minuto del experimento durante la aplicación del estiramiento, en la zona estirada (ZE). Abreviaturas: S = durante estiramiento; serie C = serie de experimentos con estreptomocina; serie B = serie de experimentos sin estreptomocina.

ΔFrD ZE (%)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
Serie B	24,1	31,1	29,7	27,7	23,7	20,6	15,5	14	11,1	10,3
Serie C	9,5	19,6	17,7	15,3	9,1	7,5	4,6	5,3	6,1	6,2

Tabla 8: Porcentaje de **variación de la frecuencia dominante (FrD)**, respecto al minuto 5 basal, ocurrido en cada minuto del experimento durante la aplicación del estiramiento, en la zona modificada por el mismo (ZE). Abreviaturas: S = durante estiramiento; serie C = serie de experimentos con estreptomocina; serie B = serie de experimentos sin estreptomocina.

4.3.2. Efectos del estiramiento local sobre los intervalos VV durante la FV.

Durante el estiramiento local, en la ZE, el incremento significativo de la FrD (pasó de 12,5 a 13,6 Hz) se acompañó de una disminución significativa en la media de los intervalos VV (de 76,1 a

65,2 ms). La figura 30 y las tablas de valores correspondientes (9a y 9b), muestran los valores de FrD y VV obtenidos en las dos zonas estudiadas en situación basal, a los cinco minutos de aplicar el estiramiento local y a los diez minutos tras la supresión del mismo, en la serie C.

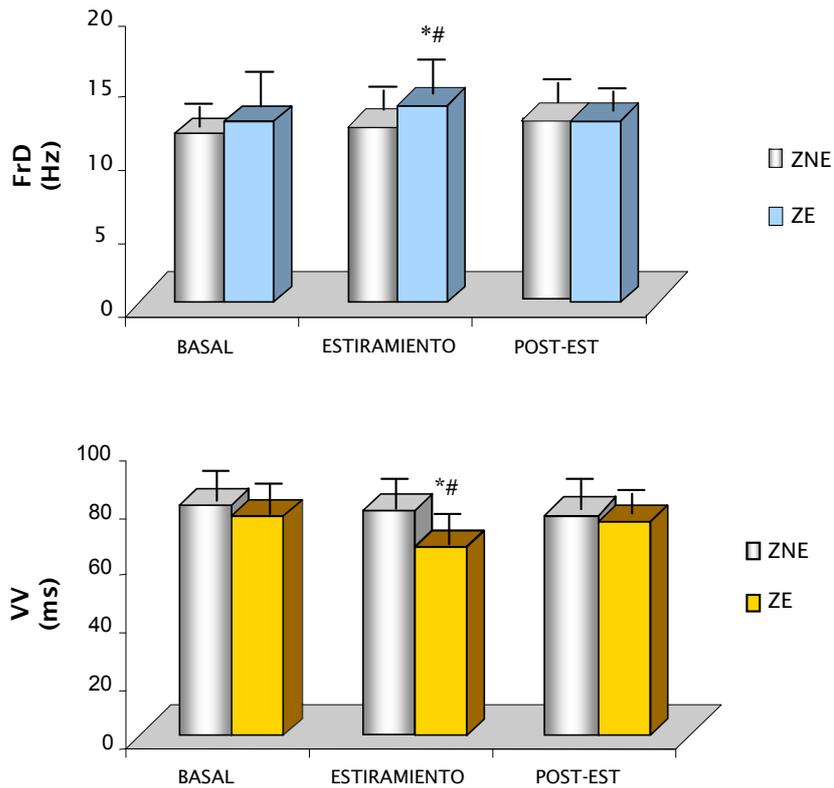


Figura 30: Valores de la **frecuencia dominante media** (FrD), gráfica superior, y valores medios de **los intervalos VV de la FV** (VV), gráfica inferior, obtenidos mediante el análisis espectral de todos los electrodos unipolares localizados en la zona modificada por el estiramiento (ZE) y la zona no modificada por el mismo (ZNE), en el minuto 5 basal, en el minuto 5 de estiramiento, y en el minuto 10 tras suprimir el estiramiento. Abreviaturas: POST-EST = tras suprimir el estiramiento, Hz = hercios; ms = milisegundos; *p<0.005 ZE estiramiento vs basal; #p<0.05 ZE vs ZNE durante el estiramiento.

FrD (Hz)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
ZNE	11,6±0,8	12,2±1,3	12,5±0,8
ZE	12,5±1,7	13,6±2*#	12,6±1,4

VV (ms)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
ZNE	80±7,2	78,1±8	76,4±7,4
ZE	76,1±9	65,2±8,5*#	74,1±4,9

Tabla 10a y 10b: Valores de la **frecuencia dominante media** (FrD) de la FV ± DE (superior) y valores medios de los **intervalos VV de la FV** (VV) ± DE (inferior), determinados con todos los electrodos unipolares localizados en la zona modificada (ZE) y la zona no modificada por el estiramiento (ZNE), en cada una de las tres fases del experimento. Abreviaturas: ms = milisegundos; Hz = hercios; *p<0.001 ZE estiramiento vs basal; #p<0.001 ZE vs ZNE durante la aplicación del estiramiento.

Al comparar los datos obtenidos en las series B y C, se observa que la estreptomina tuvo efecto sobre los parámetros de FrD (ver la figura 31 y la tabla 10a) y los intervalos VV (ver la figura 32 y la tabla 10b), durante el estiramiento, ya que provocó una menor aceleración de la frecuencia dominante y una menor disminución de la media de los intervalos VV de la fibrilación ventricular en la ZE. Por otra parte, en la serie C, también se observó que tanto los valores basales y tras el estiramiento en la ZE, como los valores obtenidos en la ZNE a lo largo de todo el protocolo experimental, eran menores (en el caso de la FrD) y mayores (en el caso de los intervalos VV). Es decir, se observó que la estreptomina no sólo modifica los efectos del estiramiento sino que tiene un efecto enlentecedor de la FV en ausencia de otros factores externos.

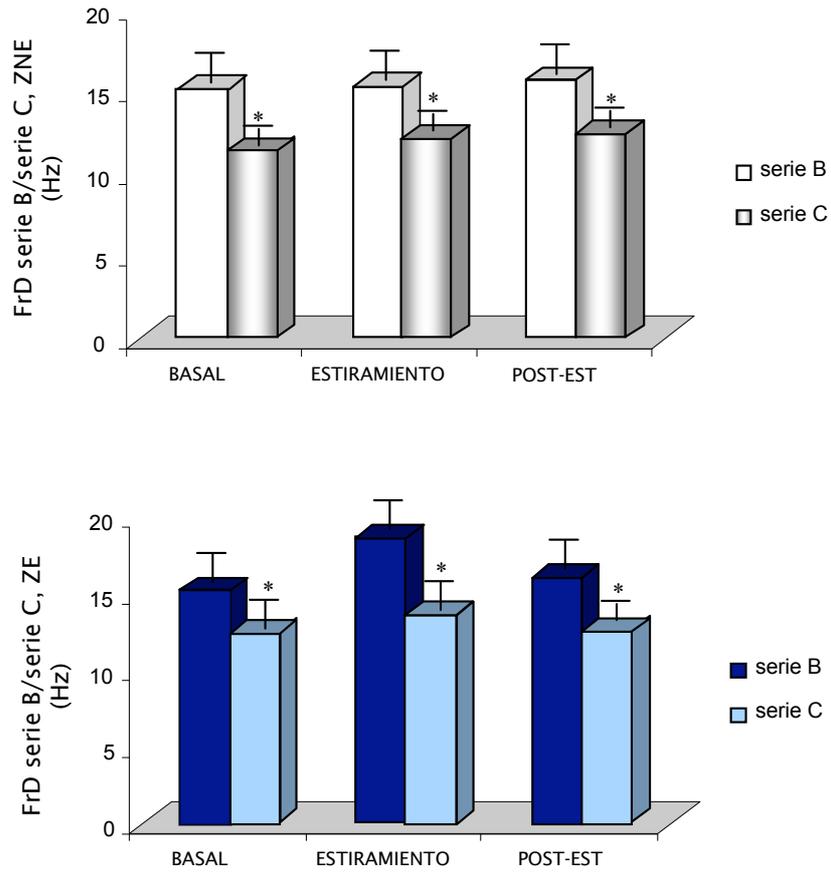


Figura 31: Comparación de los valores de **frecuencia dominante** (FrD) obtenidos durante las tres fases del experimento, en la serie C, con estreptomina, con los obtenidos durante la serie B, sin estreptomina, en la zona no modificada (gráfica superior), y en la zona modificada por el estiramiento (gráfica inferior). Abreviaturas: serie C= serie de experimentos con estreptomina; serie B = serie de experimentos sin estreptomina; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; POST-EST = tras suprimir el estiramiento; Hz= hercios; * $p < 0.001$.

FrD, ZNE (Hz)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
Serie B	15,2±2,1	15,4±2,5	15,7±2,3
Serie C	11,6±0,8*	12,2±1,3*	12,5±0,8*

FrD, ZE (Hz)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
Serie B	15,3±1,9	18,6±2,5	16,1±1,8
Serie C	12,5±1,7*	13,6±2*	12,6±1,4*

Tabla 10a, 10b: Valores de **frecuencia dominante** expresados en hercios (FrD) ± DE obtenidos durante las fases de basal, estiramiento y tras suprimir el estiramiento, en la serie B y C, en la zona no modificada por el estiramiento (superior) y en la zona modificada por el mismo (inferior). Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomicina; serie B = serie de experimentos sin estreptomicina; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento Hz = hercios. *p<0.001.

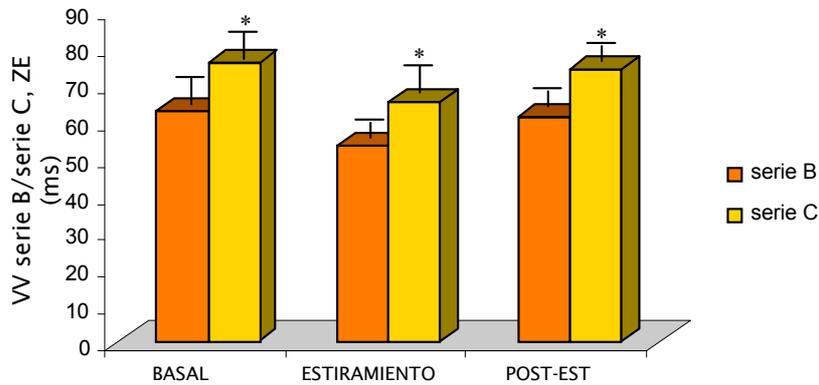
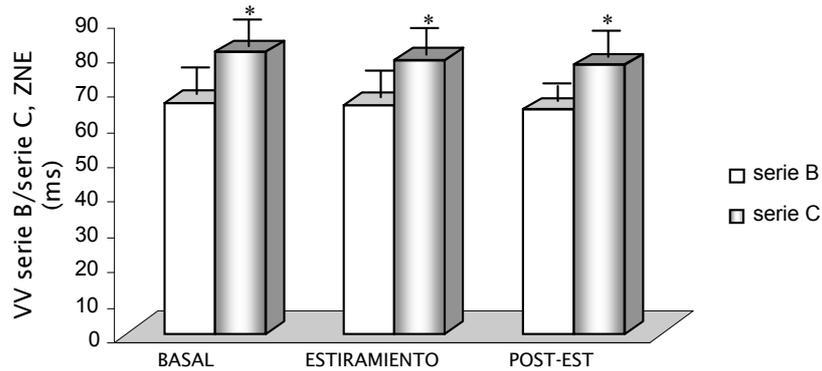


Figura 32: Comparación de los valores de la media de los **intervalos VV** de la FV (VV), obtenidos durante las tres fases del experimento, en la serie C (con estreptomicina), con los obtenidos durante la serie B (sin estreptomicina) en la zona no modificada por el estiramiento (gráfica superior), y en la zona modificada por el mismo (gráfica inferior). Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomicina; serie B = serie de experimentos sin estreptomicina; POST-EST = tras suprimir el estiramiento; ms= milisegundos; *p<0.005.

VV, ZNE (ms)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
Serie B	65,7±7,5	65,2±8,3	63,6±5,9
Serie C	80±7,2*	78,1±8*	76,4±7,4*

VV, ZE (ms)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
Serie B	62,9±8,5	53,5±6,3	60,9±6
Serie C	76,1±9*	65,2±8,5*	74,1±4,9*

Tabla 11a, 11b: Valores de la media de los **intervalos VV de la FV (VV) ± DE** obtenidos durante las fases de basal, estiramiento y tras suprimir el estiramiento, en la series B y C, en la zona no modificada (superior) y en la zona modificada por el estiramiento (inferior). Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomocina; serie B = serie de experimentos sin estreptomocina; ms = milisegundos; *p<0.005.

4.3.3. Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos durante la FV.

Al aplicar el estiramiento, en la ZE se observó una disminución estadísticamente significativa de la refractariedad durante la fibrilación ventricular. Los valores obtenidos se representan en la figura 33 y la tabla 12.

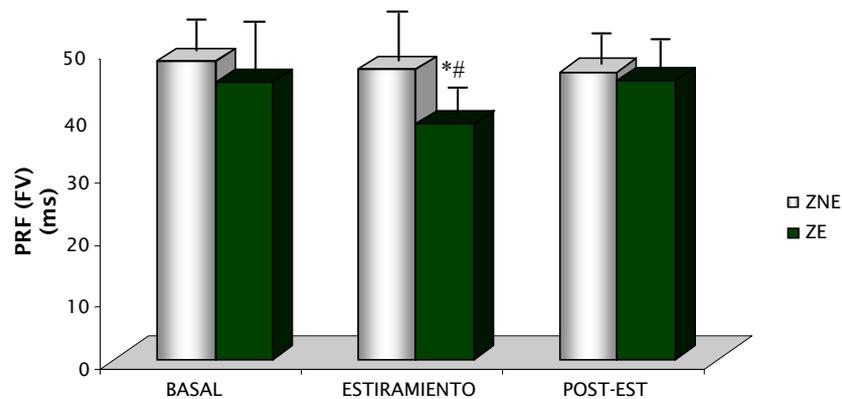


Figura 33: Media de los valores de **período refractario funcional de la FV (PRF) ± DE**, obtenidos mediante el análisis espectral de todos los electrodos unipolares localizados en

la zona modificada (ZE) y la zona no modificada por el estiramiento (ZNE), en cada una de las tres fases del experimento (basal, estiramiento y tras la supresión del mismo). Abreviaturas: ms = milisegundos; *P<0.05 ZE vs ZNE, durante el estiramiento; #p<0.005 ZE durante el estiramiento vs basal.

PRF(FV) (ms)	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
ZNE	48,1±6,1	46,8±7,9	46,4±5,4
ZE	44,6±7,8	38±4,4*#	44,9±4,7

Tabla 12: Media de los valores de **período refractario funcional** expresado en milisegundos (PRF) ± DE, obtenidos durante la FV basalmente, durante el periodo de estiramiento localizado y tras suprimir el estiramiento, en la serie C, en la zona estirada (ZE) y la no estirada (ZNE). *p<0.05 ZE vs ZNE, durante el estiramiento; #p<0.005 ZE durante el estiramiento vs basal.

Siguiendo el objetivo de conocer el efecto de la estreptomycinina, se comparó la refractariedad ventricular durante la FV en las series B y C, y se obtuvieron los resultados que se muestran en la figura 34 y en la tabla 13 (valores expresados en milisegundos). Durante la perfusión de estreptomycinina se observó una tendencia al alargamiento de los períodos refractarios funcionales en situación basal, al aplicar el estiramiento y tras su supresión, en las dos zonas estudiadas, alcanzando la significación estadística durante el estiramiento y tras su supresión .

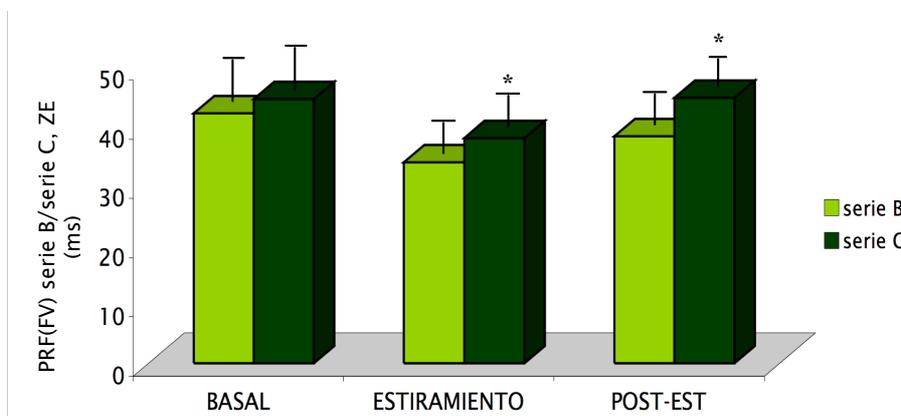
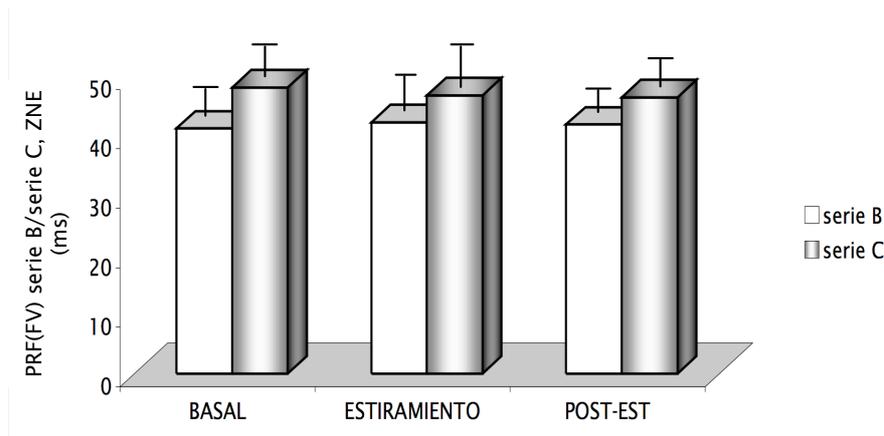


Figura 34: Comparación entre la serie B y C, de la media de los valores del **período refractario funcional de la FV (PRFFV) ± DE**, obtenidos durante la FV basalmente, durante el periodo de estiramiento localizado y tras suprimir el estiramiento, en la zona no modificada (gráfica superior) y la zona modificada por el estiramiento (gráfica inferior). Abreviaturas: POST-EST = tras suprimir el estiramiento; ms = milisegundos; serie C = serie de experimentos con estreptomina; serie B = serie de experimentos sin estreptomina. ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; *p<0.05.

PRF(FV) ZNE	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
Serie B	41,2±5,4	42,3±6,7	41,9±4,4
Serie C	48,1±6,1	46,8±7,9	46,4±5,4

PRF(FV) ZE	BASAL	ESTIRAMIENTO	POST-ESTIRAMIENTO
Serie B	42,2±8,5	33,9±3,5	38,3±3,6
Serie C	44,6±7,8	38±4,4*	44,9±4,7*

Tabla 13: Comparación entre la serie B y C, de la media de los valores del **período refractario funcional de la FV** expresado en milisegundos (PRFFV) ± DE, obtenidos durante la FV basalmente, durante el periodo de estiramiento localizado y tras suprimir el estiramiento, en la zona no estirada (superior) y la zona modificada por el estiramiento (inferior). Abreviaturas: POST-EST=tras suprimir el estiramiento; serie C = serie de experimentos con estreptomicina; serie B = serie de experimentos sin estreptomicina. *p<0.05.

4.3.4. Efectos del estiramiento local sobre los parámetros electrofisiológicos durante la estimulación a un ciclo base.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la serie B, y como muestran las figuras 35a y b y la tabla 14, los períodos refractarios, tanto efectivos como funcionales ventriculares, en los dos ciclos de estimulación utilizados en la realización del test del extraestímulo ventricular, fueron significativamente más cortos en la zona estirada al aplicar el estiramiento, tanto respecto a la zona no estirada, como a la zona estirada en situación basal. Por tanto, la presencia de estreptomicina no evitó el acortamiento de la refractariedad ventricular durante la aplicación del estiramiento. La refractariedad en la zona no estirada no sufrió modificación estadística.

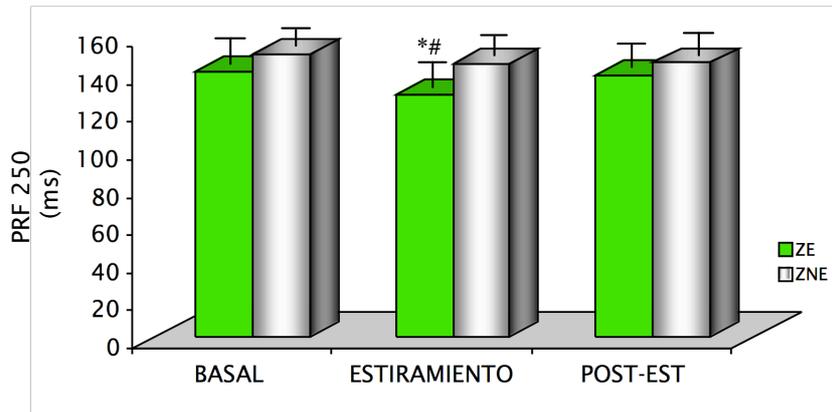
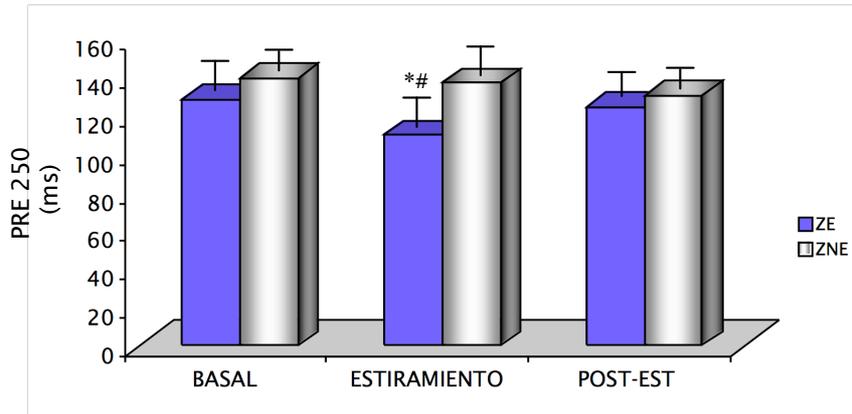


Figura 35a: Media de los valores de **periodo refractario efectivo** (gráfica superior) y **funcional** (gráfica inferior) ventriculares \pm DE, obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo con un ciclo base de **250 milisegundos**, durante el periodo de estiramiento localizado y tras suprimir el estiramiento. Abreviaturas: POST-EST = tras suprimir el estiramiento; ms = milisegundos; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; * $p < 0.05$ ZE durante estiramiento vs basal; # $p < 0.005$ ZE vs ZNE durante la aplicación del estiramiento.

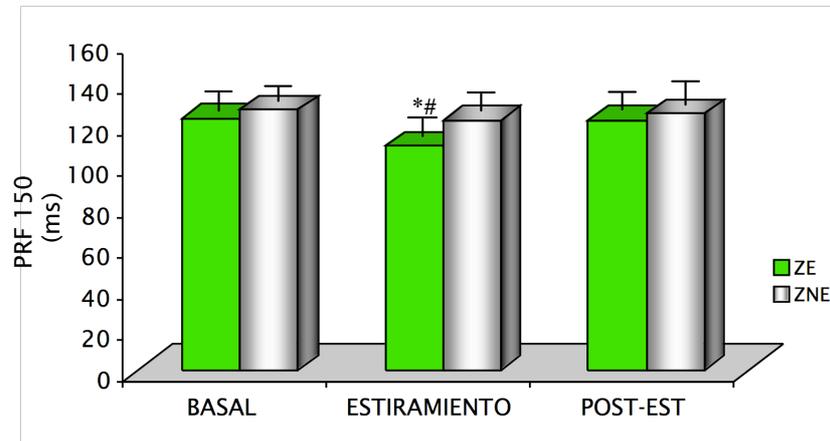
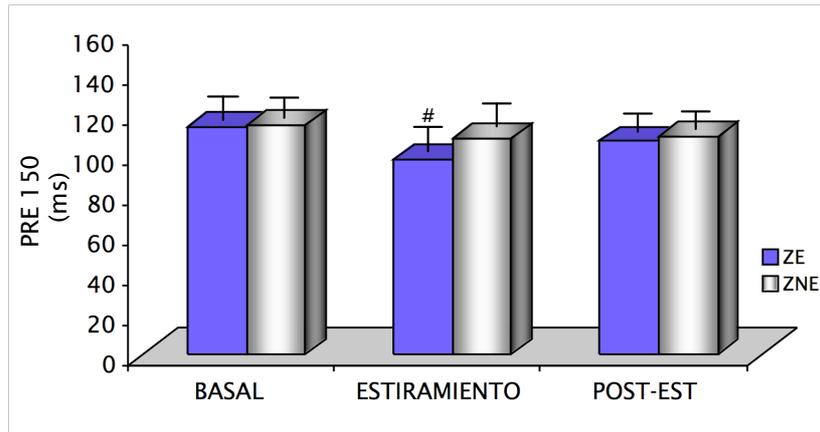


Figura 35b: Media de los valores de **período refractario efectivo** (gráfica superior) y **funcional** (gráfica inferior) ventriculares \pm DE, obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo con un ciclo base de **150 milisegundos**, basalmente, durante el periodo de estiramiento localizado y tras suprimir el estiramiento, en la zona modificada (ZE) y la zona no modificada por el estiramiento (ZNE). Abreviaturas: ms = milisegundos; POST-EST = tras suprimir el estiramiento; * $p < 0.05$ ZE durante estiramiento vs basal; # $p < 0.005$ ZE vs ZNE durante la aplicación del estiramiento. PRE = período refractario efectivo; PRF = período refractario funcional.

	BASAL		ESTIRAMIENTO		POST-ESTIRAMIENTO	
	ZNE	ZE	ZNE	ZE	ZNE	ZE
PRE 250(ms)	140 ± 13	129 ± 18	137 ± 19	110 ± 17*#	131 ± 16	125 ± 13
PRF 250(ms)	151 ± 10	141 ± 15	146 ± 13	129 ± 15*#	146 ± 15	141 ± 15
PRE 150(ms)	115 ± 12	114 ± 15	108 ± 15	98 ± 17#	109 ± 13	106 ± 13
PRF 150(ms)	127 ± 8	123 ± 12	122 ± 11	109 ± 14*#	125 ± 16	122 ± 13

Tabla 14: Media de los valores de **período refractario efectivo** (PRE) y **funcional** (PRF) ventriculares ± DE , obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo con un ciclo base de 250 y 150 milisegundos, basalmente, durante el periodo de estiramiento localizado y tras suprimir el estiramiento (POST-EST), en la zona estirada (ZE) y la zona no estirada (ZNE). *p<0.05 ZE durante estiramiento vs basal; #p<0.005 ZE vs ZNE durante la aplicación del estiramiento.

Finalmente, al comparar los resultados obtenidos con la serie B de experimentos, encontramos los resultados reflejados en las figuras 36a, 36b, 36c, 36d y los valores de la tabla 15. Vimos que los períodos refractarios, tanto efectivos como funcionales, en los dos trenes de estimulación utilizados y en las dos zonas estudiadas, sufrían un alargamiento en la serie C, alcanzando algunos de ellos niveles de significación estadística, al igual que ocurrió en el estudio de refractariedad miocárdica durante la fibrilación ventricular. Es decir, que aunque la estreptomycinina no previno el acortamiento de la refractariedad debido al estiramiento, sí que redujo este efecto.

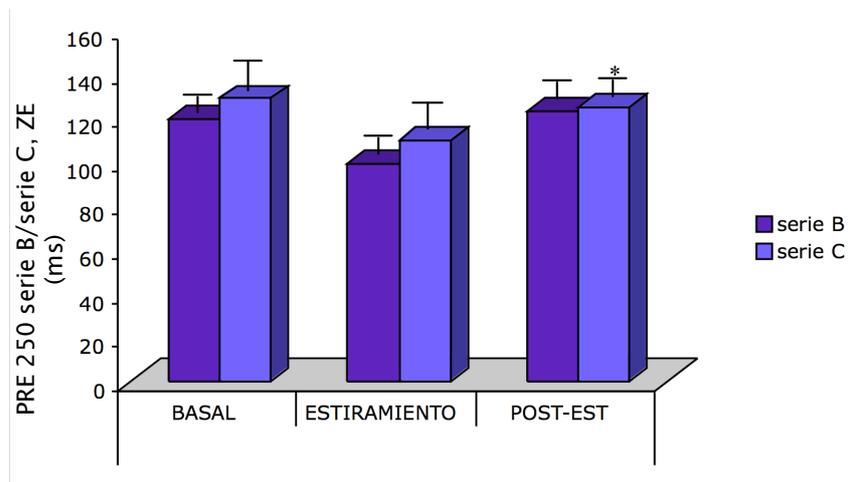
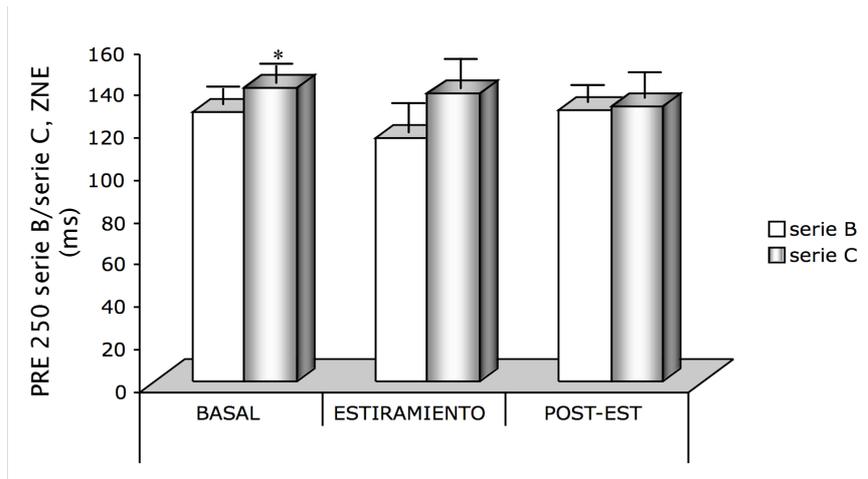


Figura36a: Comparación de los valores medios del **período refractario efectivo ventricular** (PRE) \pm DE , entre las series B y C, obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo, con un ciclo base de **250 milisegundos**, en la zona no modificada (gráfica superior) y la zona modificada por el estiramiento (gráfica inferior), durante el basal, la aplicación del estiramiento y tras su supresión. Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomina; serie B = serie de experimentos sin estreptomina; ms = milisegundos; POST-EST = tras la supresión del estiramiento; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; * $p < 0.05$.

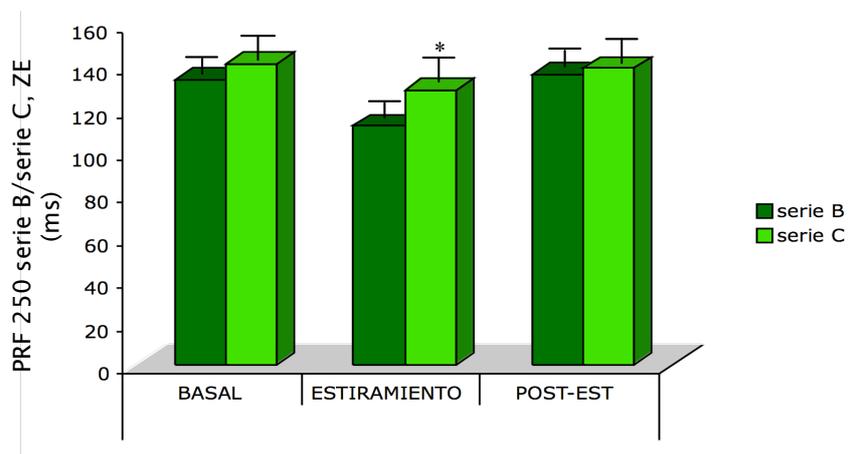
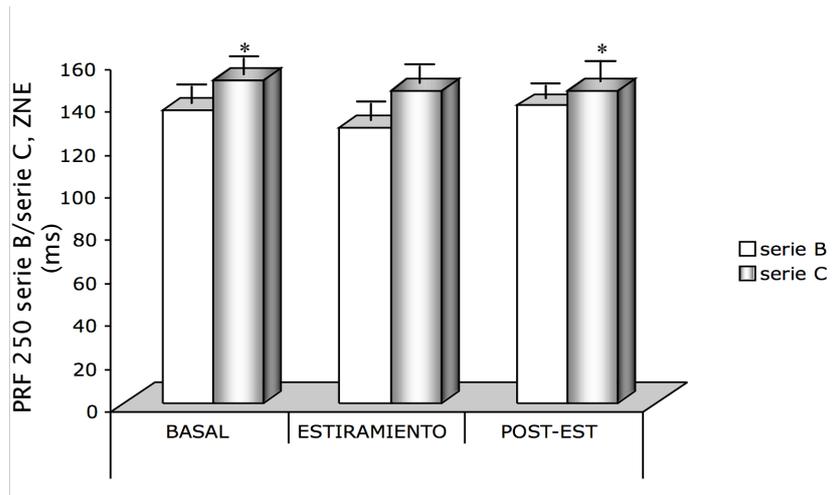


Figura36b: Comparación de los valores medios del **período refractario funcional ventricular (PRF) ± DE**, entre las series B y C, obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo, con un ciclo base de **250 milisegundos**, en la zona no modificada (gráfica superior) y la zona modificada por el estiramiento (gráfica inferior), durante la situación basal, con la aplicación del estiramiento y tras su supresión. Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomina; serie B = serie de experimentos sin estreptomina; ms = milisegundos; POST-EST = tras la supresión del estiramiento; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; *p<0.05.

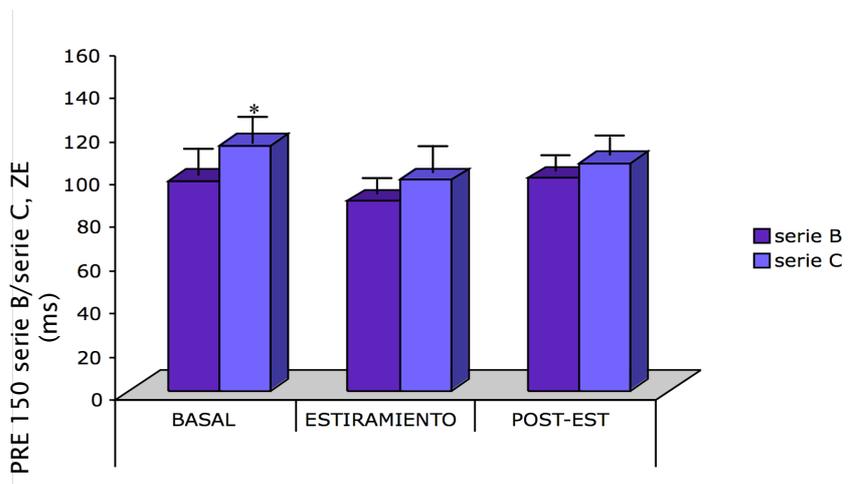
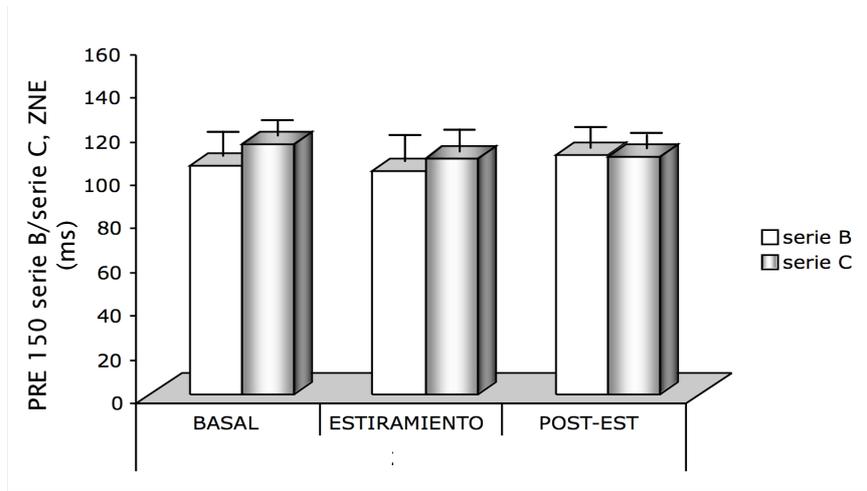


Figura36c: Comparación de los valores medios del **período refractario efectivo ventricular** (PRE) \pm DE, entre las series B y C, obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo, con un ciclo base de **150 milisegundos**, en la zona no modificada (gráfica superior) y la zona modificada por el estiramiento (gráfica inferior), durante el basal, la aplicación del estiramiento y tras su supresión. Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomocina; serie B = serie de experimentos sin estreptomocina; ms = milisegundos; POST-EST = tras la supresión del estiramiento; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; * $p < 0.05$.

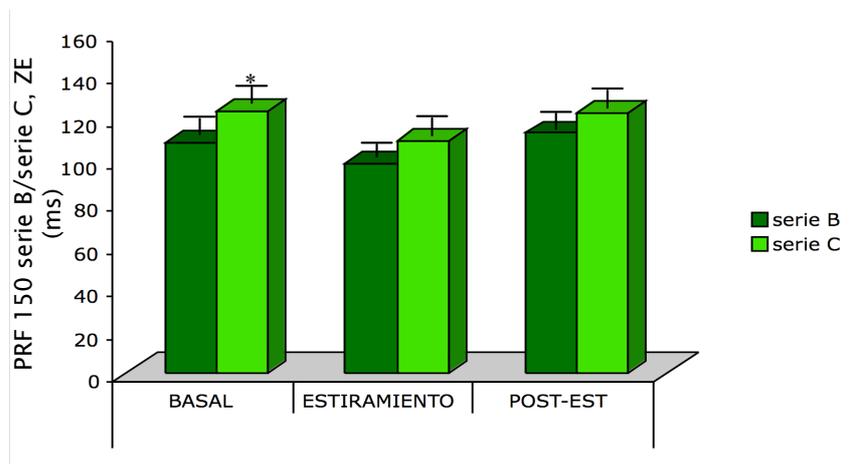
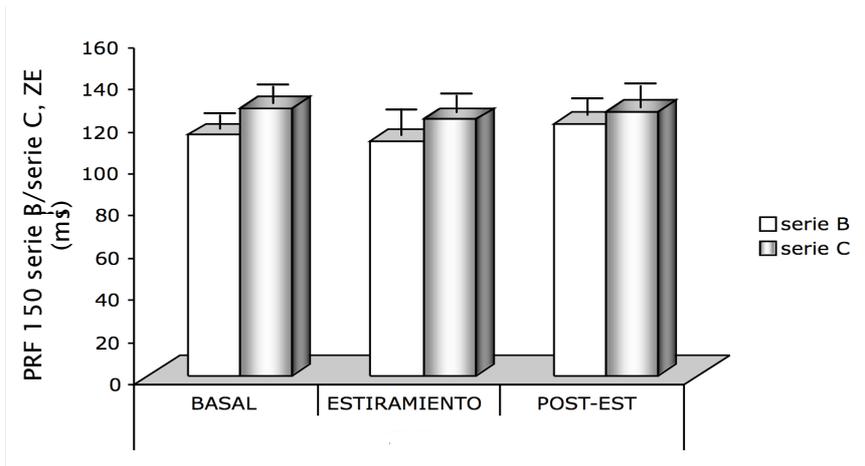


Figura36d: Comparación de los valores medios del **período refractario funcional ventricular** (PRF) \pm DE, entre las series B y C, obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo, con un ciclo base de **150 milisegundos**, en la zona no modificada (gráfica superior) y la zona modificada por el estiramiento (gráfica inferior), durante el basal, la aplicación del estiramiento y tras su supresión. Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomocina; serie B = serie de experimentos sin estreptomocina; ms = milisegundos; POST-EST = tras la supresión del estiramiento; ZE = zona modificada por el estiramiento; ZNE = zona no modificada por el estiramiento; * $p < 0.05$.

	BASAL		ESTIRAMIENTO		POST-ESTIRAMIENTO	
	ZNE	ZE	ZNE	ZE	ZNE	ZE
<u>SERIE C</u>						
PRE 250(ms)	140±13*	129 ± 18	137±19*	110±17	131±16	125±13
PRF 250(ms)	151±10*	141 ± 15	146±13*	129±15*	146±15	141±15
<u>SERIE B</u>						
PRE 250(ms)	128±13	119±12	116±18	99±10	129±8	123±10
PRF 250(ms)	137±11	134±12	129±14	112±11	139±7	136±13
<u>SERIE C</u>						
PRE 150(ms)	115±12	114±15*	108±15	98±17	109±13	106±13
PRF 150(ms)	127±8*	123±12*	122±11	109±14	125±16	122±13
<u>SERIE B</u>						
PRE 150(ms)	105±17	98±14	102±17	88±13	110±18	99±13
PRF 150(ms)	115±13	108±13	111±15	98±11	120±11	113±9

Tabla 15: Comparación de los valores medios del **período refractario efectivo** (PRE) y **período refractario funcional** (PRF) ventriculares ± DE , entre las series B y C, obtenidos durante la aplicación del test del extraestímulo, con un ciclo base de 250 y 150 milisegundos, en la zona modificada por el estiramiento (ZE) y la zona no modificada por el mismo (ZNE), durante el basal, la aplicación del estiramiento y tras su supresión. Abreviaturas: serie C = serie de experimentos con estreptomycin; serie B = serie de experimentos sin estreptomycin; ms = milisegundos; *p<0.05.

Capítulo 5 - DISCUSIÓN

Los principales hallazgos de este estudio, podemos resumirlos en:

a. El estiramiento local agudo aumenta la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio y acelera la FV en la ZE, de manera reversible y en grado variable, dependiendo de la magnitud del estiramiento y del tiempo transcurrido desde su aplicación.

b. El estiramiento local aumenta la complejidad de los mapas de activación en la ZE, presentando más áreas de bloqueo de conducción y patrones de afloramiento epicárdico, sin cambios significativos en el número de mapas con patrones de reentrada circular completa.

c. El estiramiento local no modifica el tipo de patrón de activación de la FV en una zona alejada de la ZE. En esta zona (ZNE), no se registran variaciones significativas en la FrD, la media de los intervalos VV, los tipos de mapas de activación, ni en los patrones de afloramiento epicárdico y reentrada circular.

d. Las técnicas en el dominio del tiempo y frecuencia, proporcionan información análoga en el análisis de la frecuencia de activación durante la FV, aunque las áreas de bloqueo de conducción condicionaron la aparición de los valores máximos de FrD, debido a la presencia de dobles potenciales.

e. La estreptomina atenúa las modificaciones de las propiedades electrofisiológicas miocárdicas, debidas al estiramiento.

f. La estreptomina tiene un efecto directo sobre las propiedades electrofisiológicas miocárdicas y sobre la frecuencia de activación durante la fibrilación ventricular.

5.1. EFECTOS DEL ESTIRAMIENTO EN LA ZONA MODIFICADA.

En anteriores estudios experimentales, se ha observado que el estiramiento miocárdico acelera la FV y aumenta la complejidad de los patrones de activación durante esta arritmia. En estos estudios, el estiramiento se aplicó globalmente mediante un balón intraventricular izquierdo. Las constantes de tiempo de las variaciones de FrD producidas por el estiramiento fueron inferiores a dos minutos (Chorro *et al.* 2000a) y los efectos sobre los patrones de activación de la FV fueron descritos como heterogéneos (Burton *et al.* 1998), dando lugar a patrones de activación menos homogéneos y a un aumento de la dispersión de los intervalos VV durante la arritmia. En el presente estudio, los efectos del estiramiento local en la ZE han sido similares a los relatados en estos estudios de estiramiento global, es decir, se ha observado una aceleración y un aumento de la complejidad de los patrones de activación de la FV. También se ha observado una disminución en la concentración espectral desde FrD-1Hz a FrD+1Hz,

que indica que las frecuencias dominantes se agrupan menos alrededor del pico dominante, una observación que es compatible con la existencia de patrones de activación más irregulares durante el estiramiento. Los cambios que se han encontrado han sido reversibles y locales y sin modificaciones significativas en el flujo coronario durante el estiramiento. Estos cambios han ocurrido en la zona donde también se han observado modificaciones en las propiedades electrofisiológicas, con un acortamiento de la refractariedad y de la longitud de onda.

Los resultados acerca de la velocidad de conducción han de interpretarse teniendo en cuenta que se producen cambios en las dimensiones de la zona de estudio, ya que el estiramiento elonga esta zona. Así, la velocidad medida como el número de células recorridas por unidad de tiempo, disminuiría aproximadamente el 20 %, hecho que disminuiría además la longitud de onda del proceso de activación. El estiramiento puede influir sobre la velocidad de conducción por varios motivos. Los cambios en la geometría de la célula alteran el área de la superficie de la membrana y la resistencia intracelular. Las corrientes iónicas activadas por el estiramiento podrían afectar a la velocidad de conducción por alterar el potencial de membrana y también la excitabilidad. También, se desconoce aún si un estímulo mecánico agudo podría alterar la permeabilidad de las “gap junctions” (Mills *et al.* 2005).

La aceleración de la FV ha sido mayor durante la aplicación del estiramiento medio que durante el estiramiento ligero, mientras que la aplicación del estiramiento máximo no ha aumentado más este efecto. Los valores máximos se han alcanzado entre el minuto 2 y 4 después de la aplicación del estiramiento medio, y después se ha observado un descenso lento y gradual, persistiendo el efecto después de diez minutos. Este descenso podría ser debido a una adaptación de los canales mecanosensitivos al estiramiento mantenido, aunque algunos autores, relatan que estos canales mantienen su estado abierto durante largos períodos de estiramiento, sin signos de adaptación (Franz 1996).

En estudios previos, el tiempo analizado durante el estiramiento global del ventrículo izquierdo fue 5 (Chorro *et al.* 2000a) y 6 minutos (Burton *et al.* 1998), así que no tenemos información de los efectos sobre las frecuencias de activación de la fibrilación ventricular durante períodos de tiempo más largos.

Por otra parte, en el modelo experimental utilizado, el estiramiento máximo no ha asegurado la ausencia de estiramiento en la ZNE, ni ha demostrado mayores modificaciones sobre la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular que los obtenidos con grados de estiramiento menores. Los incrementos longitudinales en la pared ventricular izquierda, obtenidos mediante la aplicación del grado de estiramiento medio, son similares a los publicados en anteriores

estudios en los que se dilataba la cavidad ventricular con un balón intraventricular (Burton *et al.* 1998, Chorro *et al.* 2000a).

La aceleración de la FV está relacionada con las modificaciones de las corrientes iónicas transmembrana y con el acortamiento de la refractariedad ventricular bajo los efectos del estiramiento (Zabel *et al.* 1996, Reiter *et al.* 2000). El estiramiento activa canales iónicos específicos que permiten el paso de corrientes iónicas, entre ellas las de sodio o calcio (Hagiwara *et al.* 1992, Ruknudin *et al.* 1993, Franz 1996), y potasio (Hu *et al.* 1997, Tan *et al.* 2004). Los efectos del estiramiento, que producen modificaciones en las concentraciones iónicas intracelulares, en las corrientes de potasio y en la fase inicial de la curva de restitución, han sido relacionados con el acortamiento del potencial de acción y la disminución de la regularidad y estabilidad de los patrones de activación de la FV. No obstante, los efectos electrofisiológicos varían de acuerdo con el tipo de estiramiento y el modo y condiciones de su aplicación (Vohra *et al.* 1993, Tan *et al.* 2004). En el modelo experimental utilizado, el estiramiento local da lugar a un acortamiento de la refractariedad y una disminución en la longitud de onda que hace posible mantener procesos de activación rápida durante la FV.

5.2. EFECTOS DEL ESTIRAMIENTO EN LA ZONA NO MODIFICADA.

Los efectos del estiramiento sobre las frecuencias de activación han sido evaluados mediante dos procedimientos, la determinación de los valores de FrD mediante técnicas espectrales y la medida de los intervalos VV. Ambas técnicas han proporcionado información superponible al igual que en estudios previos (Chorro *et al.* 2000b) y han mostrado una aceleración reversible del proceso de activación durante la FV en la ZE y la ausencia de modificaciones significativas en la ZNE. El efecto acelerador de la FV se ha limitado a la zona sometida al estiramiento en la que los cambios electrofisiológicos, especialmente el acortamiento de la refractariedad, hacen posible una activación más rápida, y sus repercusiones en la ZNE han sido prácticamente inexistentes. 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 durante la FV y que determinan la llegada de frentes de onda procedentes de zonas con activación más rápida (Zaitsev *et al.* 2000, Choi *et al.* 2001). Sería necesaria la combinación de la aceleración del proceso fibrilatorio en una zona y la modificación concomitante de las propiedades electrofisiológicas en las zonas limítrofes, para que se originara una aceleración más extensa o global de la FV ya que, en el caso contrario, las variaciones se circunscriben a las zonas del miocardio en las que la modificación de las propiedades

electrofisiológicas hace posible alcanzar las frecuencias rápidas de activación. En estudios en los que se han analizado los efectos de la estimulación rápida sobre fibrilación auricular o ventricular (Allessie *et al.* 1991, Kirchhof *et al.* 1993, Johnson *et al.* 2003) se ha observado que es posible obtener un control regional del proceso fibrilatorio por estimulación local, pero la capacidad de modificar los patrones de activación se circunscribe a áreas de extensión limitada cercanas al punto de estimulación. En la fibrilación auricular, la extensión del área de captura se limitó por bloqueo de conducción intra-auricular y, cuando la frecuencia de estimulación era demasiado alta, por inducción de microreentradas locales (Kirchhof *et al.* 1993). En la FV, el área de captura disminuyó cuando aumentaba la frecuencia de estimulación. En el presente estudio, el análisis de los mapas de activación ha mostrado que el estiramiento local no modifica el tipo de mapas de activación en la ZNE, donde presentan características similares a las obtenidas en el control en cuanto a complejidad, y se mantienen los porcentajes de mapas con patrones de afloramiento epicárdico y reentrada circular.

5.3. SIGNIFICADO DE LOS REGISTROS CON VALORES MÁXIMOS DE FRECUENCIA DOMINANTE.

La FrD y los intervalos VV proporcionan información análoga sobre la frecuencia de activación durante la FV. Mediante la utilización

del análisis tiempo-frecuencia para identificar los momentos en que se obtienen los valores máximos de FrD en cada electrodo, y el análisis de los correspondientes mapas de activación, se ha observado que la presencia de líneas de bloqueo de conducción, condiciona la aparición de valores máximos de FrD. Esto es debido a la presencia de dobles potenciales. La aceleración de la FV ocurre en el área donde la refractariedad y la longitud de onda del proceso de activación están disminuidas y la complejidad de los mapas de activación está aumentada, con un incremento en el número de frentes de onda y líneas de bloqueo de conducción. Son frecuentes las interacciones de los extremos proximal y distal de los frentes de onda y la llegada precoz de frentes de onda desde zonas distales a las líneas de bloqueo de conducción. La activación temprana de esas zonas y los registros de dobles potenciales en las líneas de bloqueo de conducción, son factores que contribuyen al registro de los valores máximos de FrD en la ZE. Valderrábano *et al.*, mostraron la contribución de los registros transitorios de dobles potenciales en el corazón de reentradas inestables, que originaban componentes de alta frecuencia en el espectro de la transformada rápida de Fourier de la FV (Valderrábano *et al.* 2002). Los dobles potenciales se registran frecuentemente en áreas con bloqueo funcional de la conducción (Konings *et al.* 1997) y, en el presente estudio, también contribuyen a aumentar la FrD en el miocardio de la ZE. Por otra parte, la aceleración de la FV no se ha acompañado por un aumento en el número de mapas de activación epicárdicos con patrones de reentrada completa.

A pesar de que cuando aparecen patrones de reentrada se observa una ligera tendencia a aumentar el número de rotaciones consecutivas, este hecho no parece explicar el aumento en la frecuencia de activación durante el estiramiento local. El aumento en el porcentaje de los mapas de activación con patrones de afloramiento epicárdico, indica la llegada de un número elevado de frentes de onda desde zonas medias o subendocárdicas de la pared del ventrículo, y una posible explicación a esto sería la existencia de patrones rápidos de activación reentrante intramural.

5.4. RESULTADOS OBTENIDOS BAJO LOS EFECTOS DE LA ESTREPTOMICINA.

Son varios autores los que discrepan acerca de la concentración más efectiva de la estreptomicina para suprimir los efectos del estiramiento. Así, Eckardt *et al.*, relatan que la estreptomicina tiene un efecto inhibitorio dosis dependiente, ya que a una concentración 80 μM , disminuye notablemente los efectos y a 200 μM , neutraliza por completo el efecto del acortamiento de la duración del potencial de acción y suprime las arritmias debidas al estiramiento (Eckardt *et al.* 2000). En cambio, Nazir *et al.*, relatan que a 80 μM , la estreptomicina tiene sólo un efecto parcial sobre las arritmias inducidas por el estiramiento del ventrículo izquierdo de corazón de cobaya. En corazón de rata, la estreptomicina 50 μM no tiene efecto detectable

sobre las arritmias inducidas por el estiramiento mientras que 200 μM tiene efecto inhibitorio de forma parcial (Nazir *et al.* 1996). Las diferencias entre estos estudios deben estar relacionadas con las diferentes especies utilizadas. Los canales catiónicos mecanosensitivos en la rata deben ser menos sensibles a la estreptomycin, comparándolos con los canales iónicos en el conejo. También es posible que los miocitos aislados tengan distinta sensibilidad a la estreptomycin, como demuestra la elevada sensibilidad de los miocitos de corazón de cobaya comparado con el corazón de cobaya intacto y perfundido (Garnier *et al.* 1994). Ohmori, encontró que la estreptomycin inhibía los CAE a una concentración entre 100 y 500 μM (Ohmori 1985), y Kroese encontró efectos entre 20 y 200 μM (Kroese *et al.* 1980). En el presente estudio se ha elegido una concentración 200 μM , que es la relatada como efectiva en corazón aislado de conejo.

Las células cardíacas, como también otras, aumentan su permeabilidad al calcio con la estimulación mecánica. Las fuerzas mecánicas pueden producir un flujo directo de calcio a través de los CAE_{CAT} y un aumento intracelular de calcio usando la corriente de sodio y el intercambiador $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$. Este acoplamiento puede proporcionar alguna explicación al hecho de que el estiramiento de la membrana modifica el proceso de excitación-contracción (Kohl *et al.* 2005). Los antibióticos aminoglicósidos como la estreptomycin, son compuestos polibásicos altamente hidrofílicos, que no penetran en las membranas

pero interfieren con la unión del calcio a sus sitios aniónicos (Lullman *et al.* 1982) Garnier *et al.*, encontraron que, en miocitos ventriculares aislados, la estreptomycin inhibía el aumento de la concentración intracelular de calcio inducido por el estiramiento, por lo que el resultado de una disminución en estas concentraciones, sería una de las causas de la disminución de las arritmias inducidas por el estiramiento en presencia de la estreptomycin (Garnier *et al.* 1994). Aunque se ha observado que la estreptomycin también bloquea otro tipo de canales en determinadas células, como los canales de calcio tipo L, estos resultados no se han descrito en miocardio. De hecho, Garnier *et al.*, describieron que la estreptomycin no tenía efecto sobre los canales de calcio tipo L en el miocardio. Esto fue estudiado con detalle por Eckard *et al.*, quienes al utilizar el verapamilo como un bloqueante de calcio específico, no obtuvieron los mismos resultados que con la estreptomycin (Eckard *et al.* 2000). De manera similar, Hansen *et al.*, demostraron que el bloqueo de los canales de calcio no tenía efecto sobre las arritmias debidas al estiramiento (Hansen *et al.* 1991). Todos ellos demostraron que las modificaciones inducidas por el estiramiento son debidas a la activación de canales iónicos mecanosensitivos, y que el efecto de la estreptomycin es debido a su acción bloqueante de estos canales.

En el posible efecto antiarrítmico de la estreptomycin también está implicada su inhibición de la producción de inositol trifosfato, como antibiótico aminoglucósido que es, y al menos en el corazón

isquémico o reperfundido, hay evidencias de que esta sustancia está implicada en la producción de arritmias. Así, Du *et al.*, vieron como diferentes sustancias, entre ellas la estreptomina y la gentamicina, inhibían la liberación de inositol trifosfato durante la reperfusión, e incluso que la gentamicina administrada por vía intravenosa suprimía el inicio de las arritmias, bajo condiciones de isquemia y reperfusión (Du *et al.* 1995). Anteriormente, Schacht intentando explicar los mecanismos que subyacen a la ototoxicidad provocada por diversos fármacos, describió un posible mecanismo de acción de la estreptomina, relacionado con los polifosfoinositoles, ya que vio que los aminoglucósidos inhibían su hidrólisis y, por tanto, prevenían sus funciones fisiológicas (Schacht 1986). Este mismo autor también destacó la interacción electrostática de los aminoglicósidos con la membrana plasmática, con un consecuente desplazamiento del calcio, en una etapa inicial de un complejo modelo de toxicidad de los aminoglicósidos. Este es un mecanismo paralelo, donde probablemente no estén implicados los CAE sino la liberación de adenosina trifosfato con la estimulación mecánica. Estos efectos electrofisiológicos propios de la estreptomina, podrían explicar las modificaciones de la fibrilación ventricular y de las propiedades electrofisiológicas observadas en el presente trabajo, en la situación control y en la zona no modificada por el estiramiento.

En el presente estudio, hemos visto que la estreptomina disminuye los efectos del estiramiento mecánico, aunque también

modifica la FV en ausencia de estiramiento. Sung *et al.* y Bauty *et al.*, sugieren que durante el estiramiento actúan otros mecanismos además de la activación de los CAE, y este hecho podría estar relacionado con la persistencia de modificaciones de la FV en la ZE, a pesar de la utilización de estreptomina a concentraciones altas (Bauty *et al.* 2001, Sung *et al.* 2003).

5.5. LIMITACIONES.

Los efectos del estiramiento han sido analizados en dos zonas determinadas del miocardio ventricular. Las heterogeneidades basales en las propiedades electrofisiológicas miocárdicas y otros factores como la orientación de las fibras podrían determinar el grado de influencia de los cambios producidos en la ZE sobre la ZNE. En el presente estudio, antes y después del estiramiento no se han observado diferencias significativas entre ambas zonas en los parámetros electrofisiológicos determinados; por otra parte, la situación de los electrodos en el epicardio de la pared libre del ventrículo izquierdo con una separación entre ellos comprendida entre 5 y 10 mm, facilita la detección de los cambios simultáneos producidos en ambas zonas bajo el efecto del estiramiento local aplicado desde el interior de la cavidad ventricular izquierda.

También hay que considerar que los efectos del estiramiento varían según las características de los modelos experimentales usados. 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. La metodología aplicada en el presente estudio, con aplicación de un estiramiento agudo, ha hecho posible analizar la influencia de la aceleración local de la FV sobre los patrones de activación durante la arritmia, en el área no sujeta al estiramiento local.

En relación con los efectos de la estreptomina, los resultados observados se han obtenido utilizando concentraciones altas, que se encuentran por encima de las concentraciones terapéuticas utilizadas en el ser humano, ya que han sido las relatadas por evitar las modificaciones producidas por el estiramiento.

Capítulo 6 - CONCLUSIONES

1. El estiramiento local agudo aumenta la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio y acelera la FV en la ZE, de manera reversible y en grado variable, dependiendo de la magnitud del estiramiento y del tiempo transcurrido desde su aplicación.
2. El grado de estiramiento influye en los efectos conseguidos y grados máximos de estiramiento no producen mayores efectos que los intermedios.
3. Los efectos del estiramiento decrecen con el tiempo, aunque todavía persisten a los diez minutos tras su aplicación.
4. El estiramiento local aumenta la complejidad de los mapas de activación en la ZE con más áreas de bloqueo de la conducción y patrones de afloramiento epicárdico.
5. El estiramiento local no modifica los patrones de activación de la FV a distancia de la zona estirada, donde no se han observado variaciones en la FrD, en la media de los intervalos VV, los tipos de mapas de activación ni en los patrones de afloramiento epicárdico y reentrada circular.

6. Los análisis en el dominio de la frecuencia y en el dominio del tiempo proporcionan información análoga sobre la frecuencia de activación durante la FV. Las áreas de bloqueo de la conducción condicionan la aparición de los valores máximos de FrD debido a la presencia de dobles potenciales.

7. La estreptomina no evita las modificaciones producidas por el estiramiento, pero reduce su efecto.

8. La estreptomina, a la concentración utilizada, enlentece la fibrilación ventricular.

Capítulo 7- REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

Acierno 1994

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

Allessie *et al.* 1985

Allessie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, Hollen J. Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife JW.eds. Cardiac Electrophysiology and Arrhythmias. Zipes, J Jalife 1985; 265-275.

Allessie *et al.* 1990

Allessie MA, Lammers WJEP, Brugada J, Smeets JLRM, Penn O, Kirchoff CJHJ. Pathophysiology of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife JW.eds. Cardiac Electrophysiology: From cell to bedside. WB Saunders Co, Philadelphia PA 1990; 548-559.

Allessie *et al.* 1991

Allessie M, Kirchhof C, Scheffer GJ, Chorro F, Brugada J. Regional control of atrial fibrillation by rapid pacing in conscious dogs. Circulation 1991; 84:1689-1697.

Aronson *et al.* 1993

Aronson RS, Ming Z. Cellular mechanisms of arrhythmias in hypertrophied and failing myocardium. Circulation 1993; 7:76-83.

Bainbridge 1915

Bainbridge FA. The influence of venous filling upon the rate of heart. J Physiol 1915; 50: 65-84.

Bauty *et al.* 2001

Bauty D, Lab M. Heterogeneous changes of monophasic action potential induced by sustained stretch in atrium. J Cardiovasc Electrophysiol 2001; 12:323-329.

Bayés de Luna *et al.* 1989

Bayés de Luna A, Coumel P, Leclercq JF. Ambulatory sudden cardiac death: mechanisms of production of fatal arrhythmia on the basis of data from 150 cases. Am Heart J 1989; 117: 151-159.

Baykal *et al.* 1997

Baykal A, Ranjan R, Thakor NV. Estimation of the ventricular fibrillation duration by autoregressive modeling. IEEE Trans Biomed Eng 1997; 44:349-356.

Beuckelmann *et al.* 1992

Beuckelmann DJ, Erdmann E. Ca²⁺ currents and intracellular [Ca²⁺] i-transients in single ventricular myocytes isolated from terminally failing human myocardium. Basic Res Cardiol 1992; 87:235-43.

Beuckelmann *et al.* 1993

Beuckelmann DJ, Nabauer M, Erdmann E. Alterations of K⁺ currents in isolated human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circ Res* 1993; 73:379-85.

Bode *et al.* 1990

Bode F, Katchman A, Woosley RL, Franz MR. Gadolinium decreases stretch-induced vulnerability to atrial fibrillation. *Circulation* 1990; 101: 2200-2205.

Bode *et al.* 2001

Bode F, Sachs F, Franz MR. Tarantula peptide inhibits atrial fibrillation. *Nature* 2001; 409: 35-36.

Bokeriia *et al.* 1989

Bokeriia LA, Belokon' NA, Buziashvili I, Krugliakov IV, Baturkin L. Prevalence of QTc prolongation in women with mitral valve prolapse. *Am J Cardiol* 1989; 63:133-134.

Brugada *et al.* 1985

Brugada P, Wellens HJ. Early afterdepolarizations: role in conduction block, prolonged repolarization dependent reexcitation, and tachyarrhythmias in the human heart. *PACE* 1985; 8: 889-896.

Burton *et al.* 1998

Burton FL, Cobbe SM. Effect of sustained stretch on dispersion of ventricular fibrillation intervals in normal rabbit hearts. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 351-359.

Bustamante *et al.* 1991

Bustamante JO, Ruknudin A, Sachs F. Stretch-activated channels in heart cells: relevance to cardiac hypertrophy. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17: 5110-3.

Calkins *et al.* 1989

Calkins H, Maushan WL, Kass DA, Sagawa K, Levine JH. Electrophysiological effect of volume load in isolated canine hearts. *Am J Physiol* 1989; 256: 1697-1706.

Calkins *et al.* 1992

Calkins H, el-Atassi R, Kalbfleisch S, Langberg J, Morady F. Effects of an acute increase in atrial pressure on atrial refractoriness in humans. *PACE* 1992; 15: 1674-1680.

Chakko *et al.* 1985

Chakko CS, Gheorghiade M. Ventricular arrhythmias in severe heart failure: incidence, significance, and effectiveness of antiarrhythmic therapy. *Am Heart J* 1985; 109:497-504.

Chen *et al.* 1998

Chen YJ, Chen SA, Tai CT, Wen ZC, Feng AN, Ding YA, Chang MS. Role of atrial electrophysiology and autonomic nervous system in patients with supraventricular tachycardia and paroxysmal atrial fibrillation. *J Amer Coll Cardiol* 1998; 32: 732-738.

Choi *et al.* 2001

Choi BR, Liu T, Salama G. The distribution of refractory periods influences the dynamics of ventricular fibrillation. *Circ Res* 2001; 88: 49-58.

Chorro *et al.* 1996

Chorro FJ, Sanchez-Munoz JJ, Sanchis J, Cortina J, Bataller M, Guerrero J, Espi J, Ruiperez JA, Lopez-Merino V. Modifications in the evolution of the dominant frequency in ventricular fibrillation induced by amiodarone, diltiazem, and flecainide. *J Electrocardiol* 1996; 29: 319-326.

Chorro *et al.* 1998

Chorro FJ, Egea S, Mainar L, Canoves J, Sanchis J, Llavador E, Lopez-Merino V, Such L. Modificaciones agudas de la longitud de onda del proceso de activacion auricular inducidas por la dilatacion. Estudio experimental. *Rev Esp Cardiol* 1998; 51: 874-883.

Chorro *et al.* 2000a

Chorro FJ, Cánoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Soria E, Such LM, Rosado A, Such L, Lopez-Merino V. Opposite effects of myocardial stretch and verapamil on the complexity of the ventricular fibrillatory pattern: An experimental study. *Pacing Clin Electrophysiol* 2000; 23:1594-1603.

Chorro *et al.* 2000b

Chorro FJ, Cánoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Such L, López Merino V. Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol. An experimental study. *Circulation* 2000; 101: 1606-1615.

Cinca *et al.* 1992

Cinca J, Worner F, Carreno A, Coronel R, Soldevilla A, Perez-Villa F, Janse MJ, Soler-Soler J. T-Q, S-T segment mapping and hyperemia in reperfused pig heart with ischemic preconditioning. *Am J Physiol* 1992; 261: 1732-1738.

Clayton *et al.* 1994

Clayton RH, Murray A, Campbell RWF. Changes in the surface electrocardiogram during the onset of spontaneous ventricular fibrillation in man. *Eur Heart J* 1994; 5: 184-188.

Cooper *et al.* 2000

Cooper PJ, Lei M, Cheng LX, Kohl P. Axial stretch increases spontaneous pacemaker activity in rabbit isolated sinoatrial node cells. J Appl Physiol 2000; 89 : 2099-2104.

De Boer 1923

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

Dean *et al.* 1989

Dean JW, Lab MJ. Arrhythmia in heart failure: role of mechanically induced changes in electrophysiology. Lancet 1989; 10: 1309-11.

Deck 1964

Deck KA. Effects of stretch on the spontaneously beating, isolated sinus node. Pflugers Arch 1964; 280: 120-130.

Di Francesco *et al.* 1979

Di Francesco D, McNaughton DA. The effects of calcium on outward membrane currents in the cardiac Purkinje fibre. J Physiol (Lond) 1979; 289:347-373.

Ding *et al.* 1991

Ding JP, Salvi RJ, Sachs F. Stretch-activated ion channels in guinea pig outer hair cells. Hear Res 1991; 56:19-28.

Doherty *et al.* 1990

Doherty JD, Cobbe SM. Electrophysiological changes in animal model of chronic cardiac failure. *Cardiovasc Res* 1990; 24:309-16.

Downar *et al.* 1977

Downar E, Janse MJ, Durrer D. The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation* 1977; 56: 217-224.

Du *et al.* 1995

Du XJ, Anderson KE, Jacobsen A, Woodcok EA, Dart AM. Supression of ventricular arrhythmias during ischemia-reperfusion by agents inhibiting Ins(1,4,5)P3 release. *Circulation* 1995; 91:2712-2716.

Eckardt *et al.* 2000

Eckardt L, Kirchhof P, Mönning G, Breithardt G, Borggreffe M, Haverkamp W. Modification of stretch-induced Shortening of Repolarization by Streptomycin in the Isolated Rabbit Heart. *Journal of cardiovascular Pharmacology* 2000; 36: 711-721.

Eijsbouts *et al.* 2001

Eijsbouts S, van Zandvoort M, Schotten U, Allessie M. Acute atrial dilatation increases heterogeneity in conduction in the isolated rabbit heart. *J Physiol* 2001; 533P

Erichsen 1842

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

Franco *et al.* 1990

Franco A, Lansman JB. Stretch-sensitive channels in developing muscle cells from a mouse cell line. J Physiol 1990; 427: 361-380.

Franz 1994

Franz MR. Stretch-activated arrhythmias. In: Zipes DP, Jalife J, eds. Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside. WB Saunders Co, New York 1994:597-606.

Franz 1996

Franz MR. Mechano-electrical feedback in ventricular myocardium. Cardiovasc Res 1996; 32: 15-24.

Franz *et al.* 2003

Franz MR, Bode F. Mechano-electrical feedback underlying arrhythmias: the atrial fibrillation case. Prog Biophys Mol Biol 2003; 82: 163-174.

Garnier *et al.* 1994

Garnier F, White E, Lacapagne A, Garnier D, Le Guennec JY. Streptomycin reverse a large stretch induced increases in $[Ca^{2+}]_i$ in

isolated guinea pig ventricular myocytes. Cardiovascular Res 1994; 28: 1193-1198.

Garrey 1914

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

Greene 1992

Greene HL. Clinical significance and management of arrhythmias in the heart failure patient. Clin Cardiol 1992; 15: 113-121.

Hagiwara *et al.* 1992

Hagiwara N, Masuda H, Shoda M, Irisawa H. Stretch-activated anion currents of rabbit cardiac myocytes. J Physiol 1992; 456: 285-302.

Han *et al.* 1964

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

Hanich *et al.* 1993

Hanich RF, Levine JH, Prood C, Weiss JL, Callans DJ, Spear JF, Moore EN. Electrophysiologic recovery in postischemic, stunned myocardium despite persistent systolic dysfunction. Am Heart J 1993; 25: 23-32.

Hansen *et al.* 1991

Hansen DE, Borganelli M, Stacy GP Jr, Taylor LK. Dose-dependent inhibition of stretch-induced arrhythmias by gadolinium in isolated canine ventricles. Evidence for a unique mode of antiarrhythmic action. *Circ Res* 1991; 69:820-831

Hoffman 1912

Hoffman A. Fibrillation of ventricles and the end of an attack of paroxysmal tachycardia in man. *Heart* 1912; 3: 213-218.

Horner *et al.* 1996

Horner SM, Dick DJ, Murphy CF, Lab MJ. Cycle length dependence of the electrophysiological effects of increased load on the myocardium. *Circulation* 1996; 94: 1131-6.

Hu *et al.* 1995

Hu H, Sachs F. Whole-cell mechano-sensitive currents in acutely isolated chick heart cells: correlation with mechano-sensitive channels. *Biophys J* 1995; 68: A393.

Hu *et al.* 1997

Hu H, Sachs F. Stretch-Activated ion Channels in the Heart. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 1511-1523.

Hwang *et al.* 1994

Hwang C, Karagueuzian HS, Fishbein MC, *et al.* Demonstration of spiral waves of excitation in human ventricular tissue. *Circulation* 1994; 90: 466-477.

Hyoweon *et al.* 2000

Hyoweon Bang, Yangmi Kim, and Donghee Kim. TREK-2, a New member of the Mechanosensitive Tandem-pore K⁺ Channel family. *Journal of Biological Chemistry* 2000 ; 275:17412-17419.

Jalal *et al.* 1992

Jajal S, Williams GR, Mann DE, Reiter MJ. Effect of acute ventricular dilatation on fibrillation thresholds in the isolated rabbit heart. *Am J Physiol* 1992; 32: 1306-1310.

Janse *et al.* 2003

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.

Jauch *et al.* 1994

Jauch W, Hicks MN, Cobbe SM. Effects of contraction-excitation feedback on electrophysiology and arrhythmogenesis in rabbits with experimental left ventricular hypertrophy. *Cardiovasc Res* 1994; 28:1390-6.

Johnson *et al.* 2003

Johnson PhL, Newton JC, Rollins DL, Smith WM, Ideker RE. Adaptive pacing during ventricular fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol* 2003; 26:1824-1836.

Kaufmann *et al.* 1967

Kaufmann R, Theophile U. Autonomously promoted extension effect in Purkinje fibers, papillary muscles and trabeculae carneaе of rhesus monkeys. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere*. 1967; 297:174-89.

Karagueuzian *et al.* 1994

Karagueuzian HS, Gotoh M, Uchida T, *et al.* Transition from single to multiple functional wavefronts in vitro induced by cromakalim, a K⁺ ATP channel activator. *Circulation* 1994; 90: 1-42.

Kim *et al.* 1993

Kim D, Fu C. Activation of a nonselective cation channel by swelling in atrial cells. *J Membr Biol* 1993; 135: 27-37.

Kim 1993

Kim D. Novel cation-selective mechanosensitive ion channel in the atrial cell membrane. *Circ Res* 1993; 72: 225-231.

Kirchhof *et al.* 1993

Kirchhof C, Chorro F, Scheffer GJ, Brugada J, Konings K, Zetelaki Z, Allesie M. Regional entrainment of atrial fibrillation studied by high-resolution mapping in open-chest dogs. *Circulation* 1993; 88:736-749.

Kiseleva *et al.* 2000

Kiseleva I, Kamkin A, Wagner K-D, Theres H, Ladhoff A, Scholz H, Günther J and Lab MJ. Mechanoelectric feedback after left ventricular infarction in rats. *Cardiovascular Research* 2000; 45: 370-378 .

Kohl *et al.* 1998

Kohl P, Day K, Noble D. Cellular mechanisms of cardiac mechano-electric feedback in a mathematical model. *Can J Cardiol* 1998; 14:111-119.

Konings *et al.* 1994

Konings KT, Kirchhof CJ, Smeets JR, Wellens HJ, Penns OC, Allesie MA. High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. *Circulation* 1994; 89: 1665-1680.

Konings *et al.* 1997

Konings KT, Smeets JL, Penn OC, Wellens HJ, Allesie MA. Configuration of unipolar atrial electrograms during electrically induced atrial fibrillation in humans. *Circulation* 1997; 95:1231-1241.

Kroese *et al.* 1980

Kroese ABA, Van den Berken J. Dual action of ototoxic antibiotics on sensory hair cells. *Nature* 1980; 283:395-397.

Lakatta 1987

Lakatta EG. Starling's law of the heart is explained by an intimate interaction of muscle length and myofilaments calcium activation. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10:1157-1164.

Lammers *et al.* 1988

Lammers WJE, Allesie MA, Bonke FIM. Reentrant and focal arrhythmias in low potassium in isolated rabbit atrium. *Am J Physiol* 1988; 255:1359-1369.

Lee *et al.* 1985

Lee KS, Marban E, Tsien RW. Inactivation of calcium channels in mammalian heart cells: joint dependence on membrane potential and intracellular calcium. *J Physiol (Lond)* 1985; 364:395-411.

Levy *et al.* 1911

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

Levy 1992

Levy S. Arrhythmias in the mitral valve prolapse syndrome: clinical significance and management. *Pace Pacing Clin Electrophysiol* 1992; 15:1080-1088.

Link 2003

Link MS. Mechanically induced sudden death in chest wall impact (commotio cordis). *Prog Biophys Mol Biol* 2003; 82:175-186.

Luu *et al.* 1989

Luu M, Stevenson WG, Stevenson LW, Baron K, Walden J. Diverse mechanisms of unexpected cardiac arrest in advanced heart failure. *Circulation* 1989; 80:1675-1680.

Llullman *et al.* 1982

Llullman H, Vollmer B. An interaction of aminoglycoside antibiotics with Ca binding to lipid monolayers and to biomembranes. *Biochem Pharmacol* 1982; 31:3769-3773.

Mac Conail 1987

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.

Mac William 1887

Mac William JA. Fibrillar contraction of the heart. J Physiol 1887; 8:296.

Martin *et al.* 1984

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

Martin *et al.* 1986

Martin G, Cosin J, Such M, Hernandez A, Llamas P. Relation between power spectrum time course during ventricular fibrillation and electromechanical dissociation. Effects of coronary perfusion and nifedipine. Eur Heart J 1986; 7:560-569.

Mills *et al.* 2005

Mills R, Narayan S, McCulloch A. The Effects of Wall Stretch on Ventricular Conduction and Refractoriness in the Whole Heart. In: Cardiac Mechano-Electric Feedback an Arrhythmias: From Pipette to Patient. Kohl P, Sachs P, Franz MR. Elsevier Saunders. Philadelphia. 2005; 127-136.

Mines 1914

Mines GR. On circulating excitation in heart muscles and their possible relation to tachycardia and fibrillation. Trans R Soc Can 1914; 4:43-52.

Moe 1956

Moe GK. Introductory remarks to part III of experimental methods for the evaluation of drugs in various disease states. *Ann NY Acad Sci* 1956; 64:540-542.

Moe 1962

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

Moreno *et al.* 2005

Moreno J, Zaitsev A, Warren M, Berenfeld Omer, Kalifa J, Lucca E, Mironov S, Guha P, Jalife J. Effect of remodelling, stretch and ischaemia on ventricular fibrillation frequency and dynamics in a heart failure model. *Cardiovascular research* 2005; 65:158-166.

Naruse *et al.* 1993

Naruse K, Sokabe M. Involvement of stretch-activated ion channels in Ca^{2+} mobilization to mechanical stretch in endothelial cells. *Am J Physiol* 1993; 264:1037-1044.

Nazir *et al.* 1996

Nazir SA, Lab MJ. Mechanoelectric feedback and atrial arrhythmias. *Cardiovasc. Res.* 1996; 32:52-61.

Ohmori 1985

Ohmori H. Mechano-electrical transduction currents in isolated vestibular hair cells of the chick. *J Physiol* 1985; 359:189-217.

Pye *et al.* 1992

Pye MP, Cobbe SM. Mechanisms of ventricular arrhythmias in cardiac failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res* 1992; 26:740-750.

Ravelli *et al.* 1997

Ravelli F, Allessie M. Effects of atrial dilatation on refractory period and vulnerability to atrial fibrillation in the isolated Langendorff-perfused rabbit heart. *Circulation* 1997; 96:1686-1695.

Ravelli 2003

Ravelli F. Mechanoelectric feedback and atrial fibrillation. *Prog. Biophys Mol Biol* 2003; 82:197-206.

Reiter *et al.* 1988

Reiter MJ, Synhorst DP, Mann DE. Electrophysiological effects of acute ventricular dilatation in the isolated rabbit heart. *Circ Res* 1988; 62:554-62.

Reiter *et al.* 1993

Reiter MJ, Mann DE, Williams GR. Interaction of hypokalemia and ventricular fibrillation in isolated rabbit hearts. *Am J Physiol* 1993; 265:1544-1550.

Reiter *et al.* 1997

Reiter MJ, Landers M, Zetelaki Z, Kirchhof CJ, Allessie MA: Electrophysiological effects of acute dilatation in the isolated rabbit heart. Cycle length-dependent effects on ventricular refractoriness and conduction velocity. *Circulation* 1997; 96:4050-4056.

Reiter 2000

Reiter MJ: Contraction-excitation feedback In Zipes DP, Jalife J, eds: *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside*. WB Saunders Co, Philadelphia 2000: 249-253.

Rensma *et al.* 1988

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

Riccio *et al.* 1999

Riccio ML, Koller ML, Gilmour RF. Electrical restitution and spatiotemporal organization during ventricular fibrillation. *Circ Res* 1999; 84:955-963.

Ruknudin *et al.* 1993

Ruknudin A, Sachs F, Bustamante JO. Stretch-activated ion channels in tissue-cultured chick heart. *Am J Physiol* 1993; 264:960-972.

Sachs *et al.* 1990

Sachs F, Sokabe M. Stretch-activated ion channels and membrane mechanics. *Neurosci Res Suppl* 1990; 12: S1-4.

Sachs 1994

Sachs F. Modeling mechanical-electrical transduction in the heart. In: Mow VC. ed. *Cell Mechanics and Cellular Engineering*. New York: Springer Verlag 1994: 308-328.

Sachs 2005

Sachs F. Stretch-Activated channels in the heart. In: Kohl P, Sachs F, Franz MR. *Cardiac Mechano-Electric Feedback and Arrhythmias: From Pipette to Patient*. WB Saunders Co, Philadelphia. 2005; 2-10.

Sadoshima *et al.* 1992

Sadoshima J, Takahashi T, Jahn L, Izumo S. Roles of mechano-sensitive ion channels, cytoskeleton and contractile activity in stretch-induced immediate-early gene expression and hypertrophy of cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:9905-9909.

Sadoshima *et al.* 1993

Sadoshima J, Izumo S. Mechanotransduction in stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes. *J Recept Res* 1993; 13:777-794.

Salmon *et al.* 1997

Salmon AH, Mays JL, Dalton GR, Jones JV, Levi AJ. Effect of Streptomycin on wall-stress-induced arrhythmias in the working rat heart. *Cardiovascular Res* 1997; 34:493-503.

Sarkadi *et al.* 1991

Sarkadi B, Parker JC. Activation of ion transport pathways by changes in cell volume. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1071:407-427.

Satoh *et al.* 1996

Satoh T, Zipes DP. Unequal atrial stretch in dogs increases dispersion of refractoriness conducive to developing atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1996; 7:833-842.

Schacht 1986

Schacht J. Molecular mechanisms of drug-induced hearing loss. *Hear Res* 1986; 22:297-304.

Scherf *et al.* 1953

Scherf D, Schott A. *Extrasystoles and Allied Arrhythmias*. New York; Grune and Stratton 1953: 342-355.

Schotten *et al.* 2003

Schotten U, Neuberger HR, Allessie MA. The role of atrial dilatation in the domestication of atrial fibrillation. *Progr Biophys Mol Biol* 2003; 82:151-162.

Shah 1988

Shah PM. Echocardiography in congestive or dilated cardiomyopathy. *J Am Soc Echocardiogr* 1988;1: 20-30.

Sideris *et al.* 1994

Sideris DA, Toumanidis ST, Thodorakis M, Kostopoulos K, Tselepatiotis E, Langoura C, Stringli T, Mouloupoulos SD. Some observations on the mechanism of pressure related atrial fibrillation. *Eur Heart J* 1994; 15:1585-1589.

Sigurdson *et al.* 1992

Sigurdson W, Ruknudin A, Sachs F. Calcium imaging of mechanically induced fluxes in tissue-cultured chick heart: role of stretch activated ion channels. *Am J Physiol* 1992; 262:1110-1115.

Solti *et al.* 1989

Solti F, Vecsey T, Kekesi V, Juhasz-Nagy A. The effect of atrial dilatation on the genesis of atrial arrhythmias. *Cardiovasc Res* 1989; 23:882-886.

Strohmenger *et al.* 1994

Strohmenger HU, Lindner KH, Lurie KG, Welz A, Georgieff M. Frequency of ventricular fibrillation as a predictor of defibrillation success during cardiac surgery. *Anesth Analg* 1994; 79:434-438.

Sung *et al.* 2003

Sung D, Mills RW, Schettler J, Narayan SM, Omens JH, McCulloch AD. Ventricular filling slows epicardial conduction and increases action potential duration in an optical mapping study of the isolated rabbit heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2003; 14:739-749.

Tan *et al.* 2004

Tan JH, Liu W, Saint DA. Differential expression of the mechanosensitive potassium channel TREK-1 in epicardial and endocardial myocytes in rat ventricle. *Exp Physiol* 2004; 89:237-242.

Tovar *et al.* 1997

Tovar OH, Jones JL. Epinephrine facilitates cardiac fibrillation by shortening action potential refractoriness. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29:1447-1455.

Tse *et al.* 2001

Tse HF, Pelosi F, Oral H, Knight BP, Strickberger SA, Morady F. Effects of simultaneous atrioventricular pacing on atrial refractoriness and atrial fibrillation inducibility: role of atrial mechano-electrical feedback.

J Cardiovasc Electrophysiol 2001; 12:43-50.

Uchida *et al.* 1999

Uchida T, Yashima M, Gotoh M, Qu Z, Garfinkel A, Weiss JN, Fishbein MC, Mandel WJ, Chen PS, Karagueuzian HS. Mechanism of acceleration of functional reentry in the ventricle. Effects of ATP-sensitive potassium channel opener. *Circulation* 1999; 99:704-712.

Valderrábano *et al.* 2002

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

Vohra *et al.* 1993

Vohra J, Sathe S, Wanrren R, Tatoulis J, Hunt D. Malignant ventricular arrhythmias in patients with mitral valve prolapse and mild mitral regurgitation. *Pace Pacing Clin Electrophysiol* 1993 ; 16:387-93.

Vulpian 1874

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

Weiner *et al.* 1946

Weiner N, Rosenblueth A. The mathematical formulation of the problem of conduction of impulses in a network of connected excitable elements, specifically in cardiac muscle. Arch Inst Cardiol Mex 1946; 16:205-265.

Wiggers *et al.* 1930

Wiggers CJ, Bell JR, Paine M. Studies of ventricular fibrillation produced by electric shock: II. Cinematographic and electrocardiographic observations on the natural process in the dog's heart: its inhibition by potassium and the revival of coordinated beats by calcium. Am Heart J 1930; 5: 351-365.

Wiggers *et al.* 1940

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

Wiggers 1940

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

Wijffels *et al.* 1997

Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Power J, Allessie MA. Electrical remodeling due to atrial fibrillation in chronically instrumented

conscious goats: roles of neurohumoral changes, ischemia, atrial stretch, and high rate of electrical activation. *Circulation* 1997; 96:3710-3720.

Yamane *et al.* 2002

Yamane T, Shah DC, Jais P, Hocini M, Peng JT, Deisenhofer I, Clementy J, Haissaguerre M. Dilatation as a marker of pulmonary veins initiating atrial fibrillation. *J Interv Card Electrophysiol* 2002; 6:245-249.

Zabel *et al.* 1996

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.

Zaitsev *et al.* 2000

Zaitsev AV, Berenfeld O, Mironov SF, Jalife J, Pertsov AM. Distribution of excitation frequencies on the epicardial and endocardial surfaces of fibrillating ventricular wall of the sheep heart. *Circ Res* 2000; 86:408-417.