

Figura 2.5: Fotografías del sistema de corazón *In Vitro*. (a) Vista panorámica del toráx artificial y de las serpentina de perfusión y baño sobre la mesada de trabajo. (b) Vista panorámica de la jaula de Faraday. En su interior, el toráx artificial, las serpintinas de perfusión y baño, el controlador de temperaturas (a la izquierda) y la bomba para perfundir en forma retrógrada la aorta (a la derecha y afuera de la jaula de Faraday). (c) Vista detallada del corazón de conejo adentro del toráx artificial lleno de solución Tyrode. Obsérvese los electrodos insertados en la pared del tórax artificial y las derivaciones asociadas a cada electrodo de registro.

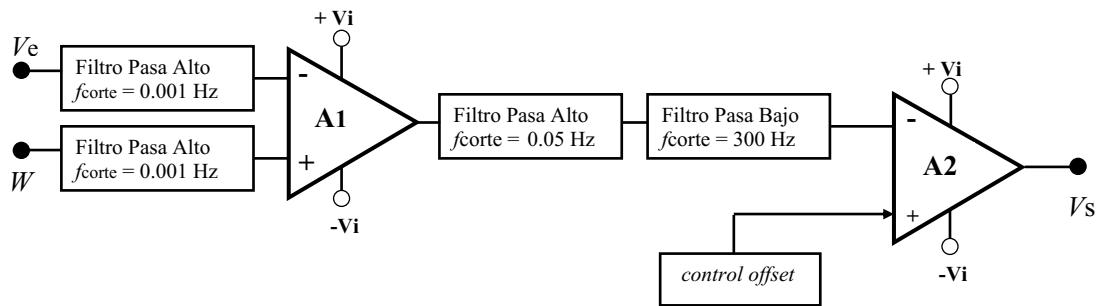


Figura 2.6: Esquema representativo de un canal de amplificación. Los filtros pasaaltos de la entrada son para eliminar los potenciales generados por contacto de los electrodos. El amplificador A1 (amplificador de instrumentación con resistencia de entrada muy alta y relación de rechazo de modo común alta) cumple la función de etapa de preamplificación. El filtro pasaaltos ($f_c = 0.05 \text{ Hz}$) y el filtro pasabajos ($f_c = 300 \text{ Hz}$) cubren el ancho de banda de la señal electrocardiográfica. El amplificador A2, es para la etapa de amplificación final de la señal donde se regula el offset (nivel de CC) y se controla la ganancia. V_e es la conexión al electrodo de registro. W es la conexión a la central terminal de Wilson y al electrodo de referencia. $\pm Vi$ es la fuente de alimentación de los amplificadores. V_s es la salida de la etapa amplificadora conectada a la placa conversora A/D.

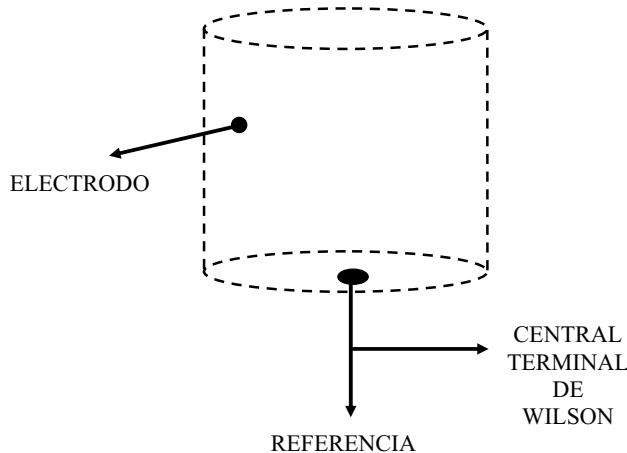


Figura 2.7: Esquema del tanque que simula el tórax del conejo. Se observa un electrodo de registro correspondiente a la matriz de electrodos. Cada electrodo de registro se conecta un canal de amplificación como el descripto en la Figura 2.6. Además, se ilustra la conexión del electrodo de referencia a la tierra común y éste a la central terminal de Wilson.

La Figura 2.8 ilustra el circuito de conexiones para adquirir las 12 derivaciones del ECG estándar en el modelo M_1 .

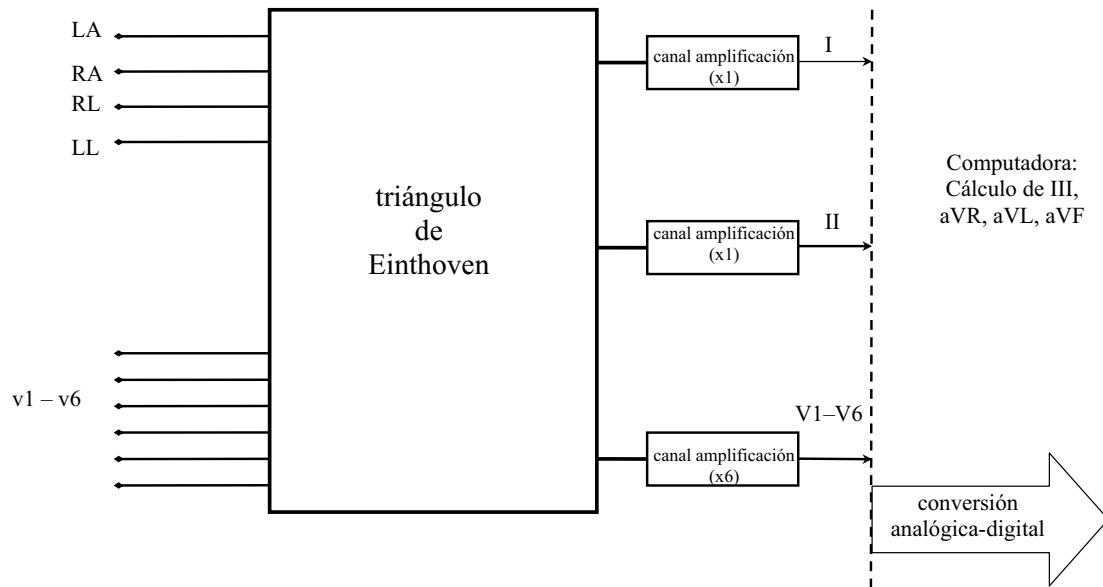


Figura 2.8: Diagrama en bloques de la adquisición de las 12 derivaciones del ECG estándar. LA: brazo izquierdo, RA: brazo derecho, LL: pierna izquierda, RL: pierna derecha y v₁ hasta v₆: las seis derivaciones precordiales. Todas las derivaciones citadas se extraen del tanque que simula el tórax del animal. Luego de pasar por el triángulo de Einthoven se obtienen las derivaciones I, II y las derivaciones precordiales V₁-V₆. Estas últimas ingresan a la placa de adquisición de la computadora y con ellas se calculan las derivaciones restantes DIII, AVR, aVL y aVF..

2.1.2 Protocolos experimentales

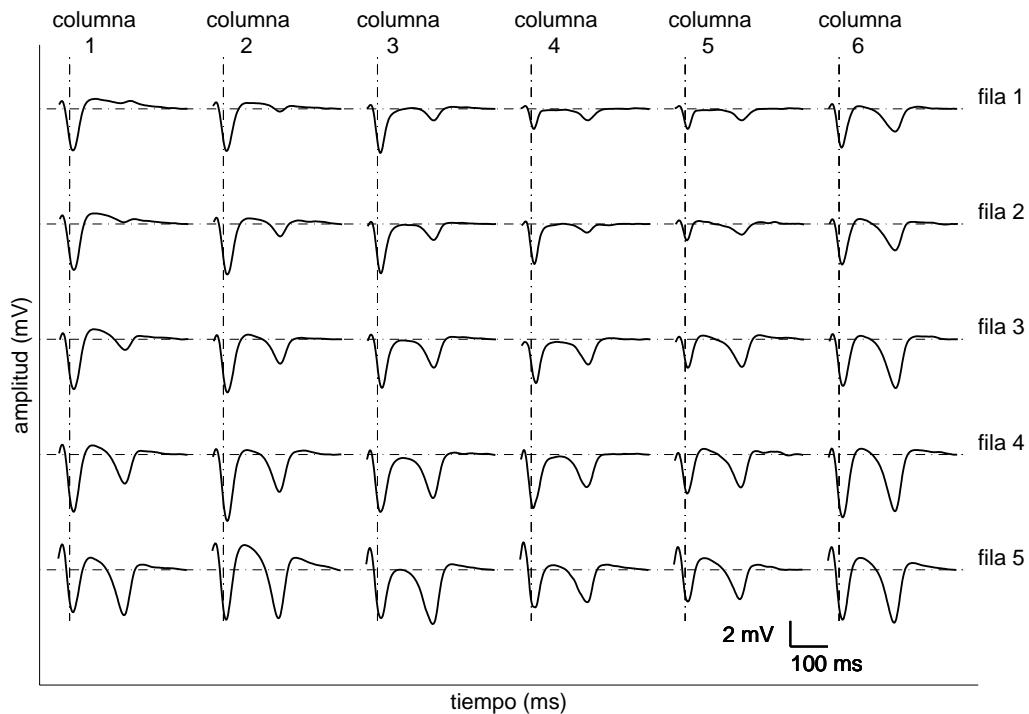
Se diseñaron e implementaron dos protocolos experimentales con el objetivo de generar incremento de la DRV en el miocardio. El primero suministrando DS [125, 126] y el segundo por PVS [57, 8]. Tanto la distribución heterogénea de los APs (prolongados estos por drogas que bloquean los canales de potasio, como el DS) [125][127] como el acortamiento heterogéneo de los APs (causado por la distribución heterogénea de la restitución cinética, con la PVS) [8] son factores que causan IDRv.

El protocolo con DS consiste de dos etapas y utiliza el modelo M_1 descripto en la Sección 2.1.1.3. Durante la primera etapa, denominada *control* (C_{DS}), se perfunde el miocardio con solución Tyrode durante 30 minutos. Posteriormente, en la segunda etapa, se genera IDRv suministrando d-sotalol (D_{DS}) 60 μ M a través de la solución Tyrode de perfusión. Tanto en C_{DS} como en D_{DS} se registran y miden las variables de los ECGs de superficie.

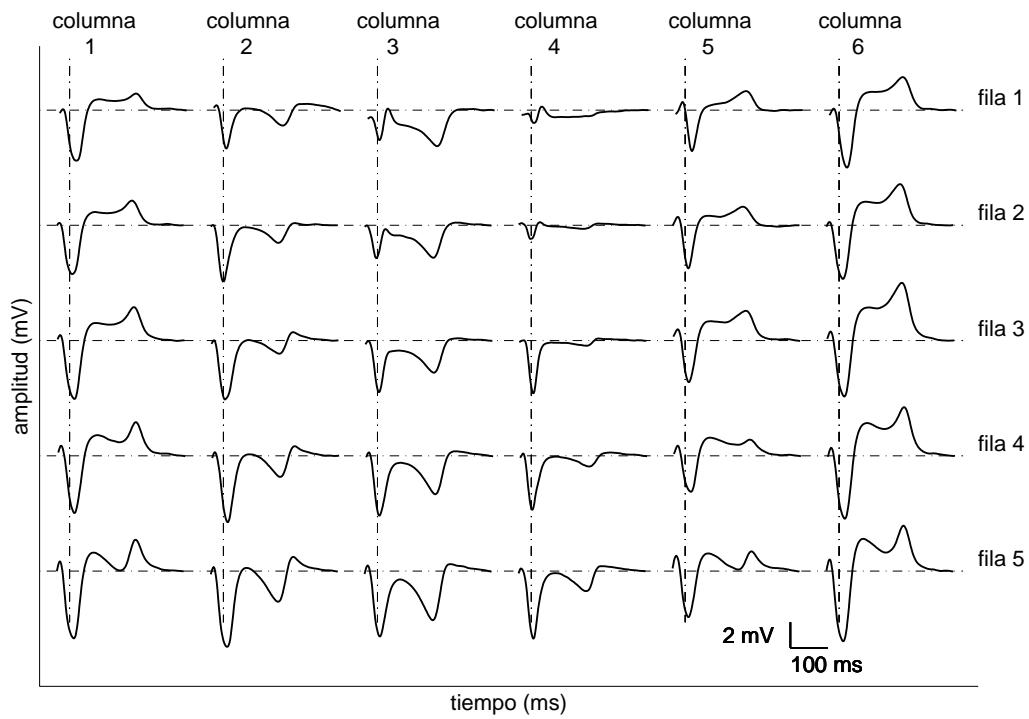
Durante 30 minutos del C_{DS} , previo registro de los ECGs, se verifica que la actividad eléctrica cardiaca sea normal, es decir sin arritmias y/o elevaciones del segmento ST. Si el corazón está en condiciones normales se inicia el experimento, caso contrario se lo descarta.

Una vez extraído el corazón del animal y colocado en el dispositivo de Langendorff, es marcapaseado con un estimulador externo a una frecuencia de 500 ms en aurícula derecha (ver Figura 2.3), previa eliminación del marcapaso natural según se describió en la Sección 2.1.1.2. Con este procedimiento, se evitan cambios en la RV inducidos por diferencias de frecuencia en el marcapaso natural y por la propia denervación del músculo cardíaco.

Durante el C_{DS} se adquieren 20 latidos consecutivos con las 12 derivaciones estándar y 20 latidos consecutivos con la matriz de 30 electrodos (5 filas x 6 columnas) distribuidos homogéneamente



(a)



(b)

Figura 2.9: Matriz del modelo M_1 desplegada en el plano. (a) Registro del ECG de superficie durante C_{DS} . (b) Registro del ECG de superficie durante D_{DS} .

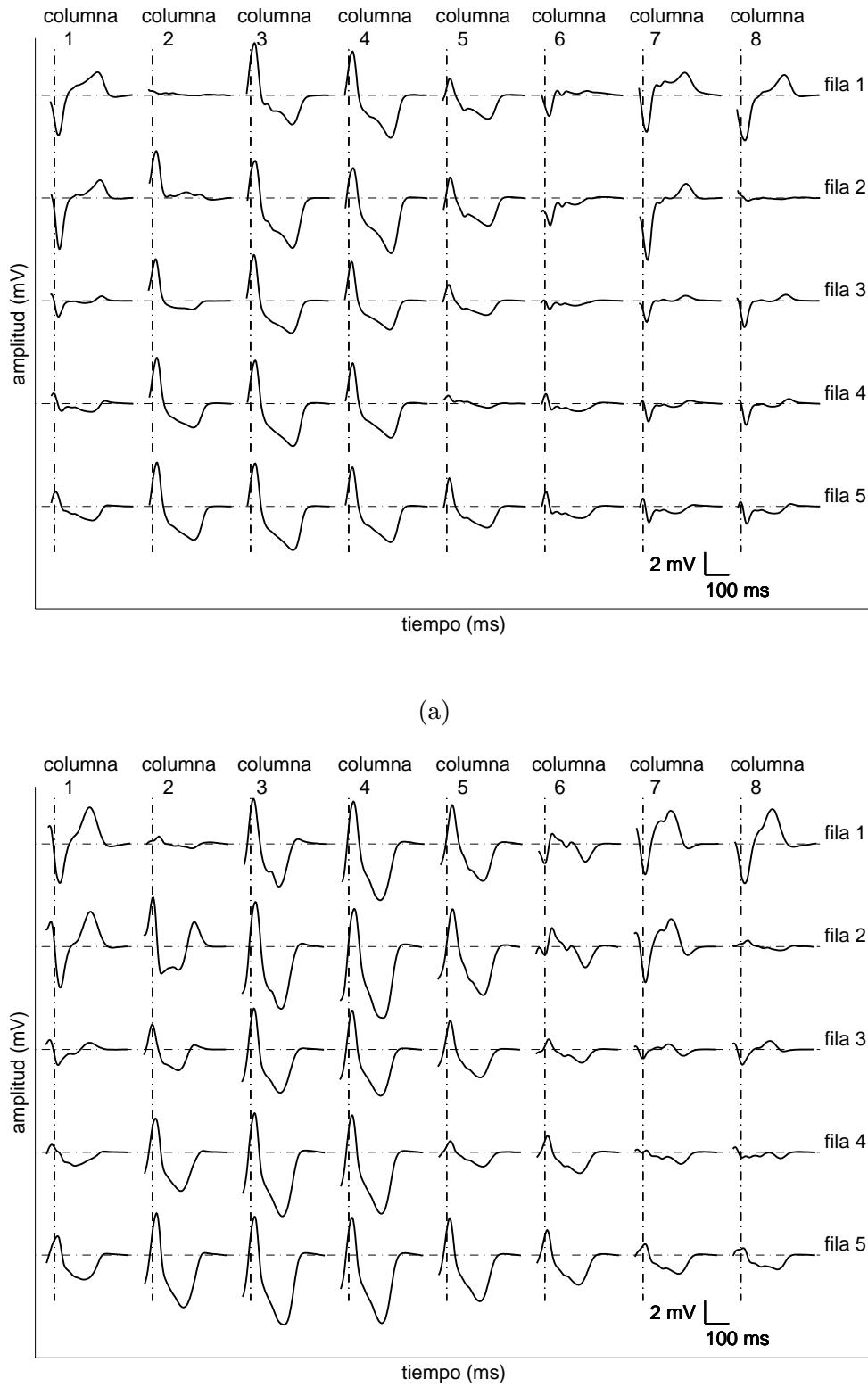


Figura 2.10: Matriz del modelo M_2 desplegada en el plano. (a) Registro del ECG durante C_{PVS} . (b) Registro del ECG durante PVS en ventrículo izquierdo, D_{PVS} .

en el toráx artificial. La secuencia de adquisición con la matriz de 30 electrodos es de 20 latidos en la primera fila, repitiéndose este proceso para las 4 filas restantes. El orden de adquisición entre las 12 derivaciones estándar y la matriz de 30 electrodos es aleatoria para cada experimento. Finalizada la adquisición durante el C_{DS} se agrega DS [125]. Luego de 30 minutos de perfundir Tyrode con DS a través de la aorta, comienza el registro de los ECGs bajo el efecto de dicha droga. La secuencia y la cantidad de latidos adquiridos es igual a la empleada en la situación C_{DS} previamente descripta. En la Figura 2.9 (a) y 2.9 (b) respectivamente, pueden observarse los ECGs durante C_{DS} y D_{DS} . La Figura 2.9 representa la matriz de electrodos contenida en el tanque, es decir, es equivalente a realizar un corte longitudinal del tanque (entre las columnas 6 y 1 de la Figura 2.3) y desplegar el cilindro en un plano.

El protocolo de PVS utiliza el modelo M_2 descripto en la Sección 2.1.1.3 y consiste de las siguientes etapas. El *control* (C_{PVS}) estimulando desde ventrículo a una frecuencia basal de 400 ms con un tren de pulsos ‘ S_1 ’, el cual consiste de 50 latidos.

Posteriormente, para generar IDR, al tren ‘ S_1 ’ se agrega un estímulo prematuro PVS a cuatro intervalos de acoplamientos distintos, 300 ms, 250 ms, 200 ms y ERP + 5 ms. Siendo la definición de intervalo de acoplamiento la distancia temporal entre dos estímulos. La combinación ‘ S_1 ’ seguida de PVS se denomina de la siguiente manera:

- D_{PVS}^{300} , tren ‘ S_1 ’ seguido del pulso de PVS a 300 ms de intervalo de acoplamiento.
- D_{PVS}^{250} , tren ‘ S_1 ’ seguido del pulso de PVS a 250 ms de intervalo de acoplamiento.
- D_{PVS}^{200} , tren ‘ S_1 ’ seguido del pulso de PVS a 200 ms de intervalo de acoplamiento.
- D_{PVS}^{ERP} tren ‘ S_1 ’ seguido del pulso de PVS a ERP + 5 ms de intervalo de acoplamiento.

El ERP de cada experimento se calcula decrementando el acoplamiento del pulso PVS al tren ‘ S_1 ’ en pasos de 5 ms hasta alcanzar el valor de refractariedad ventricular. El valor promedio del ERP es de 167 ± 7.2 ms para estimulación desde Rv y 168 ± 11.5 ms para estimulación desde Lv; $p = NS$ entre ventrículos. Para la mitad de los experimentos los acoplamientos ‘ S_1 ’ seguido de PVS son en Rv y para la otra mitad sobre en Lv.

Ambos ventrículos se estimulan con una corriente eléctrica al doble del umbral diastólico (0.4 a 0.7 mA) con pulsos rectangulares de 20 ms de duración. Los electrodos de estimulación están cuidadosamente colocados en el punto medio de la base del ventrículo correspondiente, es decir por abajo del colgajo auricular como puede observarse en la Figura 2.4.

Para los propósitos del análisis se utiliza el promedio de las variables obtenidas de los latidos 49 y 50 como C_{PVS} del tren S_1 . En la Figura 2.10 pueden observarse los ECGs durante C_{PVS} y D_{PVS} ; respectivamente. La Figura 2.10 es representativa de la matriz de electrodos contenida en el tanque que simula el tórax del animal, es decir, es equivalente a realizar un corte longitudinal del tanque (entre las columnas 8 y 1 de la Figura 2.4) y desplegar el cilindro en un plano. Para el protocolo descripto recientemente, al referirnos a PVS en términos generales (sin detallar la frecuencia del latido prematuro) la denominaremos S_1 -PVS.

2.2 Modelo de isquemia en humanos

2.2.1 Base de datos

Los datos de ECGs en humanos se obtienen de la base de datos STAFF-III. Esta base de datos contiene ECGs de 108 pacientes, los cuales por sufrir enfermedad coronaria, fueron sometidos a un procedimiento de *angioplastia coronaria transluminal percutanea* (PTCA, percutaneous transluminal coronary angioplasty) en alguna de las arterias coronarias principales [128]. Todos los registros se hicieron en el Charleston Area Medical Center (West Virginia, USA). Del total de pacientes de la base de datos, 20 fueron excluidos de nuestro análisis por algún motivo: 11 pérdida de señal durante la adquisición y 9 por posición incorrecta de los electrodos.

Los 88 pacientes (58 hombres y 30 mujeres) que forman parte de nuestro estudio, tiene desde 32 a 85 años de edad (60 ± 11). La localización de las oclusiones se distribuye de la siguiente manera: *arteria descendente anterior izquierda* (LAD, left artery descendant) en 29 pacientes, *arteria coronaria derecha* (RCA, right coronary artery) en 41 pacientes y *arteria cíngulada izquierda* (LCX, left circumflex) en 18 pacientes.

Para cada paciente, se analizan dos electrocardiogramas: el ECG de control, registrado previamente a la oclusión coronaria, y el ECG durante el procedimiento de PTCA, es decir durante la oclusión. La duración del registro de *control* (C_{PTCA}) es de 5 minutos, mientras los ECGs del procedimiento de PTCA (D_{DS}) tienen una duración media de 4 min 26 s. La duración de la oclusión es mayor que un procedimiento de PTCA común porque se realizó una única oclusión de mayor duración en lugar de una serie de oclusiones más cortas.

2.2.2 Adquisición de los ECGs

Se registraron las nueve derivaciones estándar (V_1-V_6 , I, II y III) utilizando un equipo de Siemens-Elema AB (Solna, Suecia). Estas derivaciones están digitalizadas con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz y una resolución en amplitud de $0.6 \mu\text{V}$. Además, se calcularon las derivaciones aumentadas aVR, aVL y aVF a partir de las bipolares (I, II y III), obteniéndose finalmente las 12 derivaciones del ECG estándar. Posteriormente, se sintetizaron las derivaciones ortogonales X, Y, Z a partir de las derivaciones estándar utilizando la transformada inversa Dower [17]. En la Figura 2.11 se muestran señales electrocardiográficas provenientes de la base de datos STAFF III.

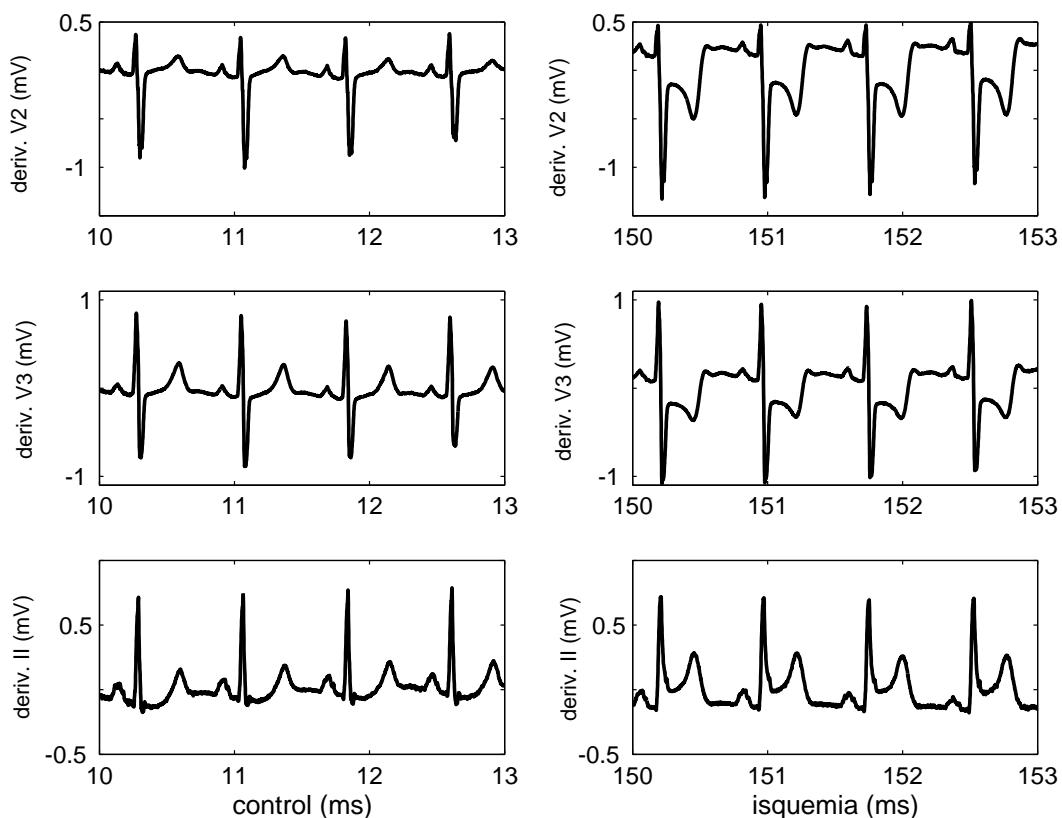


Figura 2.11: Señales del ECG en control y durante oclusión de la arteria coronaria LCX en las derivaciones V_2 , V_3 y II correspondiente a las 12 derivaciones del ECG estándar. Obsérvese los cambios que se producen del nivel ST a los 150 segundos de oclusión.

Capítulo 3

Índices clásicos de la repolarización y su dispersión para corazón *In Vitro*

En el presente capítulo se realizan dos estudios. El primer estudio, correspondiente a la Sección 3.1, compara las 12 derivaciones del ECG estándar y un sistema de registro multiderivacional cuando se mide a la RV y su dispersión. El segundo estudio, correspondiente a la Sección 3.2, analiza la modulación de la DRV durante la PVS y la dependencia de dicha modulación con el sitio de estimulación. En ambos estudios se utiliza un modelo de corazón *In Vitro* de conejo.

3.1 Sistema multiderivacional vs. el ECG estándar

3.1.1 Introducción

El principal objetivo es analizar y comparar a la RV y su dispersión medidas a través de dos técnicas de registro. Se utilizarán las 12 derivaciones del ECG estándar y un sistema multiderivacional compuesto de 30 electrodos unipolares distribuidos homogéneamente en un tórax artificial. Los ECGs estándar y del sistema multiderivacional se miden en corazón *In Vitro* de conejo, para condición normal y para IDR. El IDR se realiza suministrando DS al miocardio, como se describió detalladamente en la Sección 2.1.2.

Las características farmacológicas del DS, permiten en una dosis adecuada, incrementar a la DRV con respecto a los valores normales. Así mismo, los fármacos antiarrítmicos del grupo II, son aquellos que bloquean los receptores β -adrenérgicos. Mientras que los fármacos antiarrítmicos del grupo III, son fármacos cuyos mecanismo de acción es producir una prolongación de la APD y consecuentemente del período refractario.

En nuestro caso utilizamos DS por ser un bloqueante β -adrenérgico no selectivo que bloquea la corriente de K^+ , prolongando la APD y el período refractario en todo el miocardio. Por lo anteriormente descripto se considerara al DS como un fármaco con propiedades del grupo II y III [129].

Zabel *et al.* [125] mostraron que el DS en corazón *In Vitro* de conejo prolonga la APD sin modificar los *tiempos de activación* (ATs). Esta relación, entre la APD y el AT, se detalló previamente en la Sección 1.7.1. Estos investigadores mostraron además, como el DS prolonga el APD, generando IDR en concentraciones $\geq 10 \mu\text{M}$ de DS y en un rango de frecuencias de estimulación de 300 hasta 1200 ms.

Por otra parte, se ha descripto la presencia de tres tipos de células ventriculares: las epicárdicas, las endocárdicas y las M [39, 40]. Respecto a estas últimas, la literatura muestra la presencia de células M en diferentes especies tales como: cerdos, cobayos, conejos y humanos

[130, 131, 132, 133, 134, 135]. Las células M, ubicadas entre endocardio y epicardio, tienen la propiedad de prolongar desproporcionadamente la APD en respuesta a una baja frecuencia de estimulación y/o al efecto de agentes farmacológicos de clase III. Las propiedades de las células M se manifiestan en el ECG a través de modificaciones en la morfología de la onda T. Puede observarse en el ECG que la repolarización total del epicardio define al pico de la onda T, mientras que la repolarización total de las células M define el fin de la onda T. Por esto, el intervalo de tiempo entre el pico y el fin de la onda T puede considerarse como un valioso índice de la DRV a nivel transmural ó pared ventricular.

La respuesta de estos tres tipos de células a diferentes agentes farmacológicos y/o estados fisiopatológicos generan frecuentemente incremento de la DRV. Este incremento suministra un sustrato para el desarrollo de arritmias de reentrada, incluyendo *Torsada de Punta* (TdP, Torsade de pointes) asociada al LQTS, y a la *taquicardia ventricular polimórfica-fibrilación ventricular* (VT-VF, ventricular tachycardia-ventricular fibrillation) encontrada en el síndrome de Brugada.

Consideramos, entonces, al modelo con suministro de DS una buena aproximación a una condición patológica, donde el IDRv podría deberse a diversos factores como: LQTS (congénito o adquirido) [45], efecto proarrítmico de agente de clase III [136] u otro factor fisiopatológico cardiaco. En este estudio utilizamos al DS para generar IDRv y posteriormente comparar la RV y su dispersión medida con las 12 derivaciones de ECG estándar y con el sistema de registro multiderivacional.

3.1.2 Materiales y métodos

3.1.2.1 Protocolo experimental

El protocolo que se utiliza en este estudio fue descripto detalladamente en la Sección 2.1.2. Primero se miden los ECGs durante el control, C_{DS} , y posteriormente cuando se genera dispersión suministrando DS, D_{DS} , en una proporción de $60 \mu\text{M}$ diluido en la solución Tyrode que perfunde al miocardio.

Durante el C_{DS} se adquieren 20 latidos consecutivos con las 12 derivaciones del ECG estándar y 20 latidos consecutivos con la matriz de 30 electrodos distribuidos en el tórax. Posteriormente, durante D_{DS} se adquieren los ECGs en idéntica secuencia y cantidad de latidos que en control. El orden de adquisición, con las 12 derivaciones del ECG estándar y con la matriz de 30 electrodos, es aleatorio para cada experimento. Respecto al suministro de DS al miocardio, se superó el límite inferior de dosificación como lo hicieron Zabel *et al.* en [125].

3.1.2.2 Variables e índices de repolarización ventricular

Con las 12 derivaciones estándar y con el sistema multiderivacional de 30 electrodos, se miden las siguientes variables del ECG de superficie que cuantifican a la RV en cada derivación como:

- QT_e : intervalo de tiempo medido en milisegundos, desde el inicio del complejo QRS hasta el fin de la onda T ($QTend$).
- QT_p : intervalo de tiempo medido en milisegundos, desde el inicio del complejo QRS hasta el pico máximo de la onda T ($QTpeak$).
- T_{pe} : intervalo de tiempo medido en milisegundos, desde el pico máximo de la onda T hasta el fin de la onda T ($Tpeak-end$).
- QT_p/QT_e : relación proporcional y adimensional entre los intervalos QT_p y QT_e .

Además se calculan, para las 12 derivaciones del ECG estándar y para el sistema multiderivacional, los índices del ECG de superficie que cuantifican a la DRV entre derivaciones como:

- Δ_{QT_e} : dispersión del intervalo QT_e , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo QT_e de las derivaciones bajo análisis.
- Δ_{QT_p} : dispersión del intervalo QT_p , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo QT_p de las derivaciones bajo análisis.
- $\Delta_{T_{pe}}$: dispersión del intervalo T_{pe} , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo T_{pe} de las derivaciones bajo análisis.
- σ_{QT_e} : desvío estándar del intervalo QT_e expresado en milisegundos y calculado con las derivaciones bajo análisis.
- σ_{QT_p} : desvío estándar del intervalo QT_p expresado en milisegundos y calculado con las derivaciones bajo análisis.
- $\sigma_{T_{pe}}$: desvío estándar del intervalo T_{pe} expresado en milisegundos y calculado con las derivaciones bajo análisis.

3.1.2.3 Medición del ECG

El software de monitoreo, adquisición y procesamiento de los ECGs esta desarrollado en lenguaje C++ y diseñado especialmente para el protocolo con DS (modelo M_1 de la Sección 2.1.1.3). Las variables de duración se miden manualmente con un cursor comandado a través del ‘mouse’ de la computadora. Este cursor esta calibrado en la pantalla de la computadora con resoluciones de 1 ms y 2.5 μ V en tiempo y amplitud; respectivamente.

La medición manual del ECG, visualizado en la pantalla de la computadora, se hace marcando con el cursor calibrado los puntos fiduciales de interés, obteniéndose automáticamente el valor numérico del intervalo expresado en milisegundos. Además pueden visualizarse las señales electrocardiográficas magnificadas (por ejemplo, un latido abarcando la totalidad de la pantalla) acentuándose de esta manera la exactitud en la detección de los puntos fiduciales de interés.

Las variables del ECG de superficie fueron medidas por un observador experimentado. Para cada bloque de 20 latidos (Sección 3.1.2.1) se seleccionan de una derivación 3 latidos consecutivos, produciéndose de manera automática la selección de los mismos latidos en las derivaciones restantes. La derivación, desde la cual se seleccionan los 3 latidos, es la II ó la V₂, para las 12 derivaciones del ECG estándar. Mientras que para los 30 electrodos, las derivaciones desde donde se seleccionan los latidos se ubican en la intersección de la fila 3 con la columna 2 ó 6 de la matriz. Estas derivaciones son las más adecuadas para seleccionar los latidos.

Los intervalos QT_e y QT_p se obtienen de calcular la media (de estos intervalos) para los 3 latidos consecutivos. Este procedimiento se aplica para cada electrodo de registro; tanto en las 12 derivaciones del ECG estándar como en la matriz de 30 electrodos.

El intervalo QT_e se mide desde la primer deflexión del complejo QRS hasta el fin de la onda T, definido por el retorno del fin de la onda T a la linea isoeléctrica TP (definida entre el fin de la onda T y el inicio de la onda P). En determinados casos donde se detecta presencia de onda U se analiza la medición más detalladamente. Si la onda U esta separada de la onda T, se pueden distinguir claramente los dos intervalos isoeléctricos y ambas ondas son fácilmente detectables. En los casos donde la onda U se encuentra interrumpiendo a la onda T, la porción visible de onda T se extraña con la linea de base TP utilizando los criterios descriptos en [102]. Si el fin de la onda T no puede determinarse de manera confiable, esa derivación se descarta. Se consideran las ondas T monofásicas (positivas o negativas) y las ondas T bifásicas.

Por otra parte, el intervalo QT_p se mide desde el inicio del complejo QRS hasta la posición temporal del pico máximo de la onda T. El intervalo desde el pico hasta el fin de la onda T (T_{pe}), se calcula como la diferencia entre QT_e y QT_p . Cuando las ondas T son bifásicas se descarta la medida del pico máximo de la onda T.

Para las 12 derivaciones del ECG estándar, se incluyen en el análisis aquellos experimentos donde se pueden medir ≥ 11 derivaciones distintas. Mientras que, para la matriz de 30 electrodos se incluyen en el análisis aquellos experimentos donde se pueden medir ≥ 27 derivaciones distintas. Los experimentos que no cumplen con estos requisitos se descartan del análisis.

En 4 experimentos seleccionados aleatoriamente se verificó una variabilidad intraobservador $< 5\%$. Por último, para verificar la reproducibilidad, de las mediciones, se seleccionaron aleatoriamente 360 registros que midió otro observador experimentado. Con las mediciones del segundo observador se obtuvo una variabilidad interobservador $< 5\%$. Estos resultados fueron concordantes con otros de la literatura mostrados en [137, 138].

3.1.2.4 Análisis estadístico

Los datos de los experimentos ($n = 8$) se expresan como media \pm SEM. La comparación entre variables se realiza por medio del test *t*-Student apareado. Se consideran diferencias estadísticamente significativas a aquellas con valores de $p < 0.05$. Por otra parte, para calcular la variabilidad intraobservador e interobservador, se comparan las medidas hechas sobre los ECGs por medio del análisis de correlación de Pearson.

3.1.3 Resultados

Para un total de 8 experimentos se miden las variables QT_e , QT_p y T_{pe} en las condiciones de C_{DS} y D_{DS} , utilizando las 12 derivaciones del ECG estándar y la matriz de 30 electrodos unipolares. Cada sistema de registro se agrupará de acuerdo a diferentes planos de derivación electrocardiográfica.

Las 12 derivaciones del ECG estándar se subdividen en:

- E_{12} : 12 derivaciones del ECG estándar.
- E_{6p} : 6 derivaciones precordiales (correspondientes a las E_{12}).
- E_{6f} : 6 derivaciones frontales (correspondientes a las E_{12}).

La matriz de 30 electrodos distribuidos en el tórax como un sistema de BSPM se subdivide en:

- M_{30} : matriz de 30 electrodos unipolares distribuidos homogéneamente en el toráx artificial (ver Sección 2.1.1.3, modelo de tanque M_1).
- M_{15i} : matriz de 15 electrodos unipolares que mapea la cara izquierda del toráx artificial (ver Figura 2.3, se corresponden a las columnas 2, 3 y 4).
- M_{15d} : matriz de 15 electrodos unipolares que mapea la cara derecha del toráx artificial (ver Figura 2.3, se corresponden a las columnas 5, 6 y 1).

A cada variable de duración (QT_e , QT_p y T_{pe}) le corresponderán medidas en cada uno de los sistemas de registro enunciados, es decir en: M_{30} , M_{15i} , M_{15d} , E_{12} , E_{6p} y E_{6f} .

Posteriormente para cada sistema de registro se calculan los correspondientes índices de dispersión: Δ_{QT_e} , Δ_{QT_p} , $\Delta_{T_{pe}}$, σ_{QT_e} , σ_{QT_p} y $\sigma_{T_{pe}}$.

3.1.3.1 Variables de duración de la repolarización ventricular

La Tabla 3.1 muestra las variables de duración de la repolarización ventricular expresadas como media \pm SEM ($n = 8$). Luego de exponer al corazón *In Vitro* al DS, se observó que todas las variables asociadas a la RV incrementaron su valor de duración (Tabla 3.1). Por otra parte la variable QT_e exhibe la mayor diferencia estadística entre C_{DS} y D_{DS} , indistintamente del sistema de registro empleado. Además, todas las variables de duración medidas con la matriz de 30 electrodos o con la matriz de 15 electrodos que ‘mapea’ la cara izquierda del tórax artificial, presentaron mejor poder de discriminación que los restantes sistemas de registro.

Tabla 3.1: Media \pm SEM de las variables de duración medidas con: la matriz de 30 electrodos (M_{30}), la matriz de 15 electrodos que mapea la cara izquierda del tórax (M_{15i}), la matriz de 15 electrodos que mapea la cara derecha del tórax (M_{15d}), las 12 derivaciones del ECG estándar (E_{12}), las 6 derivaciones precordiales (E_{6p}) y las 6 derivaciones frontales (E_{6f}). Significancia estadística: * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, † $p < 0.001$.

variable de RV	tipo de registro	C_{DS}	D_{DS}	valor p
QT_e (ms)	M_{30}	208.6 ± 4.7	249.2 ± 7.2	†
	M_{15i}	210.3 ± 4.8	253.5 ± 6.9	†
	M_{15d}	206.7 ± 4.5	244.9 ± 7.5	†
	E_{12}	199.5 ± 7.1	250.7 ± 10.8	**
	E_{6p}	200.1 ± 7.0	250.7 ± 11.1	**
	E_{6f}	198.7 ± 7.4	250.6 ± 11.0	**
QT_p (ms)	M_{30}	170.7 ± 4.1	183.5 ± 6.6	*
	M_{15i}	171.1 ± 3.9	184.8 ± 6.9	*
	M_{15d}	169.7 ± 4.6	182.6 ± 6.0	*
	E_{12}	162.9 ± 6.1	182.8 ± 7.9	*
	E_{6p}	164.9 ± 7.0	186.2 ± 7.4	*
	E_{6f}	163.1 ± 5.9	180.0 ± 8.7	*
T_{pe} (ms)	M_{30}	38.4 ± 1.1	65.4 ± 5.7	†
	M_{15i}	39.2 ± 1.6	68.6 ± 5.4	†
	M_{15d}	37.0 ± 1.2	62.4 ± 5.4	**
	E_{12}	36.9 ± 2.2	67.0 ± 9.8	*
	E_{6p}	37.4 ± 2.5	70.3 ± 9.8	*
	E_{6f}	34.4 ± 2.4	63.5 ± 9.9	*
QT_p/QT_e (adimensional)	M_{30}	0.81 ± 0.004	0.73 ± 0.02	**
	M_{15i}	0.82 ± 0.007	0.02 ± 0.02	**
	M_{15d}	0.81 ± 0.007	0.73 ± 0.02	*
	E_{12}	0.81 ± 0.007	0.73 ± 0.03	*
	E_{6p}	0.81 ± 0.010	0.72 ± 0.03	*
	E_{6f}	0.82 ± 0.007	0.75 ± 0.03	*

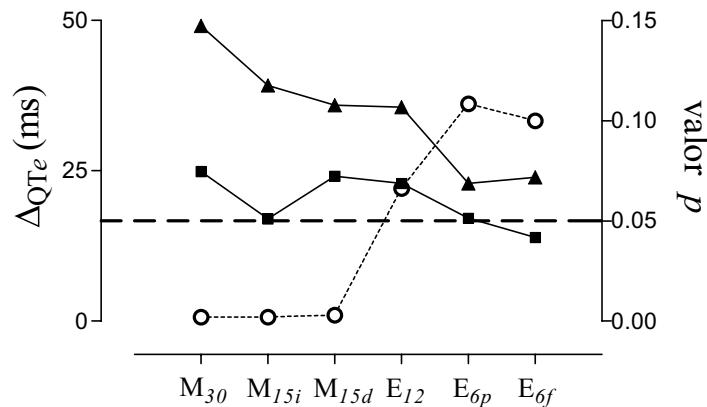
Tabla 3.2: Media \pm SEM de los índices de dispersión calculadas con: la matriz de 30 electrodos (M_{30}), la matriz de 15 electrodos que mapea la cara izquierda del tórax (M_{15i}), la matriz de 15 electrodos que mapea la cara derecha del tórax (M_{15d}), las 12 derivaciones del ECG estándar (E_{12}), las 6 derivaciones precordiales (E_{6p}) y las 6 derivaciones frontales (E_{6f}). Significancia estadística: * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, † $p < 0.001$, NS (sin significancia estadística).

índice de DRV (ms)	tipo de registro	C_{DS}	D_{DS}	valor p
σ_{QT_e}	M_{30}	6.2 \pm 0.5	11.6 \pm 0.6	†
	M_{15i}	4.9 \pm 0.6	10.9 \pm 0.9	†
	M_{15d}	7.3 \pm 0.7	10.1 \pm 0.6	**
	E_{12}	7.1 \pm 0.9	10.8 \pm 1.6	*
	E_{6p}	6.8 \pm 1.1	8.8 \pm 0.8	NS
	E_{6f}	5.5 \pm 1.4	9.2 \pm 2.3	NS
Δ_{QT_e}	M_{30}	24.9 \pm 2.0	49.1 \pm 1.3	†
	M_{15i}	17.0 \pm 2.2	39.2 \pm 1.8	†
	M_{15d}	24.1 \pm 3.1	35.9 \pm 2.3	**
	E_{12}	22.9 \pm 3.3	35.6 \pm 6.3	NS
	E_{6p}	17.1 \pm 2.9	22.9 \pm 1.8	NS
	E_{6f}	13.9 \pm 3.5	23.9 \pm 6.8	NS
σ_{QT_p}	M_{30}	6.6 \pm 0.9	11.9 \pm 0.7	†
	M_{15i}	5.1 \pm 1.0	13.4 \pm 1.1	†
	M_{15d}	6.7 \pm 0.7	8.9 \pm 0.8	*
	E_{12}	4.0 \pm 0.6	10.5 \pm 1.7	*
	E_{6p}	4.8 \pm 0.9	10.0 \pm 2.0	*
	E_{6f}	2.1 \pm 0.4	8.5 \pm 1.9	*
Δ_{QT_p}	M_{30}	29.5 \pm 3.8	45.5 \pm 3.1	†
	M_{15i}	19.1 \pm 4.3	42.1 \pm 3.4	†
	M_{15d}	23.6 \pm 2.3	32.4 \pm 3.1	*
	E_{12}	12.8 \pm 2.5	35.8 \pm 6.5	*
	E_{6p}	11.8 \pm 2.0	24.6 \pm 5.5	*
	E_{6f}	5.4 \pm 2.9	1.0 \pm 5.2	*
$\sigma_{T_{pe}}$	M_{30}	7.3 \pm 0.7	13.9 \pm 2.0	*
	M_{15i}	7.5 \pm 1.5	17.2 \pm 1.8	**
	M_{15d}	9.8 \pm 1.1	12.0 \pm 1.2	NS
	E_{12}	5.2 \pm 0.9	10.8 \pm 1.8	**
	E_{6p}	5.1 \pm 0.9	11.3 \pm 2.3	*
	E_{6f}	3.6 \pm 0.9	7.9 \pm 1.3	NS
$\Delta_{T_{pe}}$	M_{30}	28.9 \pm 4.1	55.3 \pm 8.2	**
	M_{15i}	28.2 \pm 6.4	58.6 \pm 7.2	**
	M_{15d}	33.9 \pm 4.1	41.7 \pm 4.4	NS
	E_{12}	13.8 \pm 2.4	36.9 \pm 6.2	**
	E_{6p}	12.1 \pm 1.8	28.9 \pm 5.9	*
	E_{6f}	9.4 \pm 2.5	19.6 \pm 3.3	NS

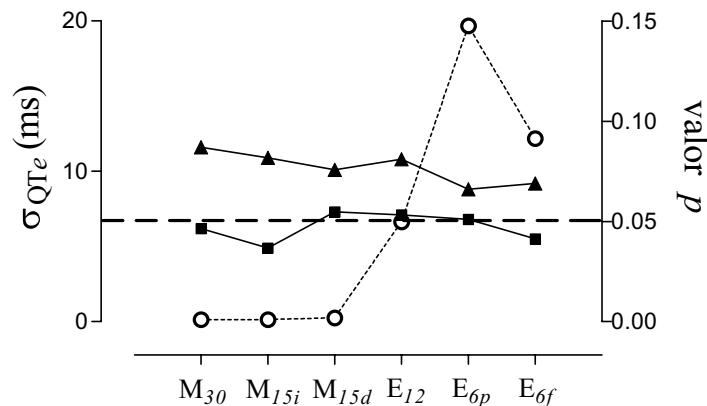
3.1.3.2 Índices de la dispersión de la repolarización ventricular

La Tabla 3.2 muestra los índices de dispersión expresados en media \pm SEM ($n = 8$), obsérvese que la totalidad de los valores se incrementan en la etapa de D_{DS} respecto al C_{DS} . Además, la mayoría de los índices presentan diferencias estadísticamente significativas entre C_{DS} y D_{DS} .

La Figura 3.1, la Figura 3.2 y la Figura 3.3, muestran que en C_{DS} y D_{DS} , la tendencia de los índices de dispersión es de decrecer a medida que se utiliza mayor cantidad de electrodos de registro. La matriz de 30 electrodos y la matriz de 15 electrodos que mapea el lado izquierdo del tórax artificial exhiben un alto poder de discriminación (valores de significancia estadística muy pequeños); para todas las variables de dispersión. La variable más utilizada en estudios clínicos, Δ_{QT_e} , no alcanza un valor de significancia estadística cuando se estima a través de los sistemas de registro E_{12} , E_{6p} y E_{6f} . Así mismo, la variable de dispersión σ_{QT_e} apenas alcanza el valor de significancia estadística ($p = 0.0499$) cuando se estima a través de las 12 derivaciones estándar, mientras que con E_{6p} y E_{6f} no se detecta significancia estadística.

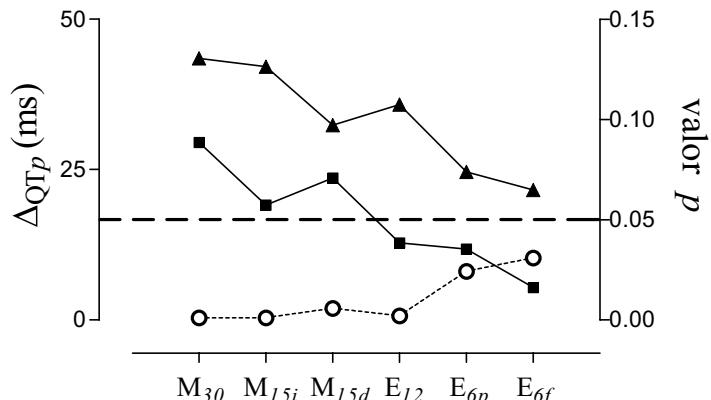


(a)

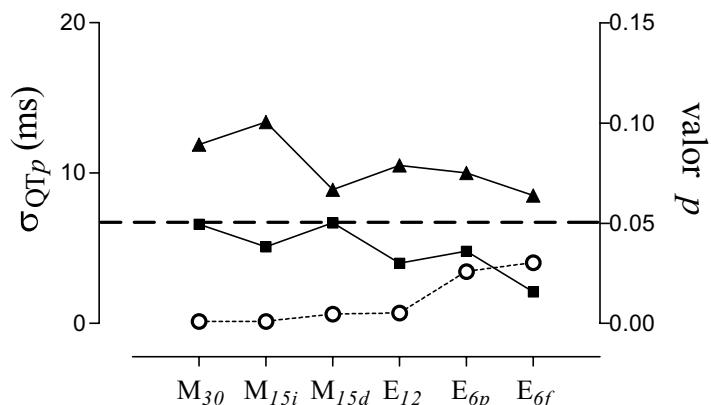


(b)

Figura 3.1: (a) Valores medios de Δ_{QT_e} en C_{DS} (■) y en D_{DS} (▲) asociados al valor de p entre ellos (○), para los 6 sistemas de registro electrocardiográfico utilizados (abscisas). (b) *ídем* que en (a) para el índice de dispersión σ_{QT_e} . Para (a) y (b) $n = 8$.



(a)



(b)

Figura 3.2: (a) Valores medios de Δ_{QT_p} durante C_{DS} (■) y D_{DS} (▲) asociados al valor de p entre ellos (○), para los 6 sistemas de registro electrocardiográfico utilizados (abscisas). (b) *ídem* que en (a) para el índice de dispersión σ_{QT_p} . Para (a) y (b) $n = 8$.

Los cambios inducidos con DS en las variables de dispersión, se reflejan con altos niveles de significancia estadística para cualquiera de los sistemas de registro utilizados, observándose buena discriminación tanto para el IDRV temprano (σ_{QT_p} y Δ_{QT_p}) como para el tardío ($\sigma_{T_{pe}}$ y $\Delta_{T_{pe}}$). La excepción son las variables $\sigma_{T_{pe}}$ y $\Delta_{T_{pe}}$, cuando se miden con la M_{15d} y la E_{6f} respectivamente; debido a que no presentan diferencias estadísticamente significativas.

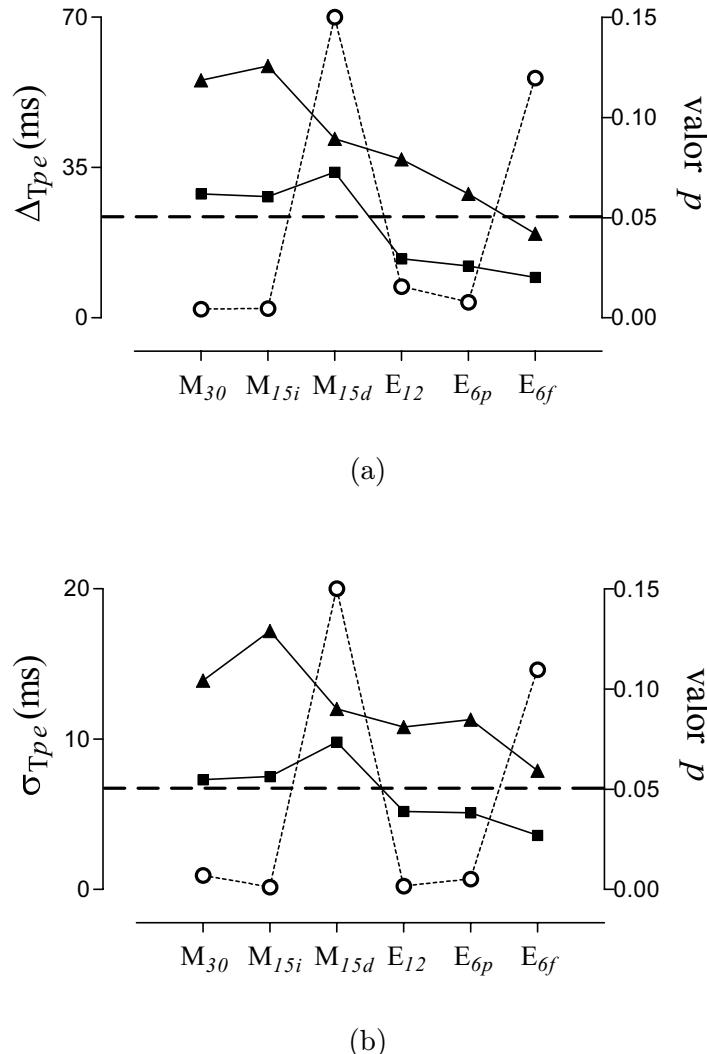


Figura 3.3: (a) Valores medios de Δ_{Tpe} durante C_{DS} (■) y D_{DS} (▲) asociados al valor de p entre ellos (○), para los 6 sistemas de registro electrocardiográfico utilizados (abscisas). (b) *ídem* que en (a) para el índice de dispersión σ_{Tpe} . Para (a) y (b) $n = 8$.

3.1.4 Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos muestran como, a través de los ECGs de superficie, se puede discriminar entre valores normales de dispersión e incrementados. El IDRV generado artificialmente tiene características globales porque el DS es una droga antiarrítmica que produce incrementos en la APD para toda la masa del músculo cardiaco.

El ECG estándar resultó ser menos sensible que el sistema multiderivacional (M_{15d} , M_{15i} y M_{30}) para detectar incrementos de la dispersión en aquellas variables que engloban la totalidad de la RV (Δ_{QT_e} y σ_{QT_e}).

Por otra parte, indistintamente de la técnica de registro empleada, los índices Δ_{QT_p} y σ_{QT_p} resultaron tener mejor valor predictivo que los índices Δ_{QT_e} y σ_{QT_e} . Estos resultados son concordantes con la baja reproducibilidad, intraobservador e interobservador, reportada al medir QT_e respecto a QT_p en corazones normales e infartados en [137]. Es claro que resulta más fácil detectar el pico de la onda T que el fin de dicha onda.

Zabel *et al.* [90] mostraron que la última porción de la onda T correlaciona muy bien con la

duración de los APs. En nuestro estudio las variables que reflejan a la dispersión de la última porción de la onda T, es decir $\Delta_{T_{pe}}$ y $\sigma_{T_{pe}}$, fueron sensibles para detectar incrementos de la dispersión utilizando medidas electrocardiográficas registradas con M_{30} , M_{15i} , E_{12} y E_{6p} (ver Figura 3.3). Estos resultados sugieren que la porción que se inicia en el pico y termina en el fin de la onda T, provee información importante respecto al proceso de heterogeneidad de la RV. Simultáneamente los índices $\Delta_{T_{pe}}$ y $\sigma_{T_{pe}}$ no fueron estadísticamente significativos, respecto del control, cuando los ECGs se registraron con la M_{15d} y E_{6f} . Posiblemente, estos resultados sean consecuencia directa de la delgadez de la pared del ventrículo derecho y su pequeña masa muscular involucrada en el proceso de repolarización a nivel transmural.

En nuestro estudio, las derivaciones frontales presentaron un bajo poder discriminativo respecto a cualquier otro sistema de registro utilizado. Una posible explicación sería que estas derivaciones reflejan voltajes registrados en puntos que son relativamente remotos a la fuente eléctrica cardiaca, mientras que otro tipo de registros reflejarían eventos regionales con mayor exactitud.

La literatura muestra que, tanto para la duración como para la dispersión de la RV, el número y selección de las derivaciones utilizadas juegan un papel importante en la exactitud y reproducibilidad las mediciones [85, 139]. En nuestro trabajo denotamos que, una apropiada selección del número de derivaciones combinada con la ubicación de las mismas fue crucial para identificar cambios en la DRV.

Este estudio mostró que la matriz de 30 electrodos y la matriz de 15 electrodos que ‘mapea’ la cara izquierda del tórax, tienen mayor poder de discriminación que otros sistemas de registro. Específicamente las técnicas de registro M_{30} y M_{15i} , discriminaron mejor las variables de duración de la repolarización y los índices de DRV que M_{15d} , E_{12} , E_{6p} y E_{6f} . Cuando se utilizaron las 12 derivaciones del ECG estándar, las frontales y las precordiales, los índices de dispersión que mejor discriminan pacientes de riesgo parecen ser aquellos asociados al pico y a la última porción de la onda T.

Estas conclusiones son parciales ya que están asociadas al modelo experimental de corazón *In Vitro* de conejo , pero si podrían ser útiles para entender la gran cantidad de discrepancias encontradas al determinar la DRV a través del ECG de superficie.

3.2 Modulación de la DRV y dependencia con el sitio de estimulación

3.2.1 Introducción

En este trabajo se analiza la relación entre la DRV y el sitio de estimulación en el miocardio. El análisis de esta relación tiene dos objetivos principales. El primer objetivo consiste en demostrar que la modulación de la DRV a nivel AP, descripta en otros trabajos de investigación [57,8], puede reproducirse a través del ECG de superficie. El segundo objetivo es estudiar si la modulación de las variables del ECG tienen dependencia con el sitio de estimulación del miocardio.

La diferencia que existe entre el AT y la APD se consideran determinantes en el proceso de la DRV [140,48]. Franz *et al.* [13] describieron la relación inversa entre el AT y la APD. Mostrando que a ATs menores le corresponden APs más largos y viceversa.

Por otro lado, otras investigaciones [141,84,142] validaron que el incremento de la DRV juegan un importante papel en la génesis de las arritmias ventriculares .

La literatura describe, que tanto a nivel experimental como clínico, la estimulación ventricular prematura incrementa significativamente a la DRV induciendo a la generación de arritmias cardíacas [143, 144, 145, 146, 147, 148]. Por otra parte, se ha mostrado la correlación entre la dispersión de los intervalos JT y QT con la dispersión de la APD [89].

Laurita *et al.* [8], describen en su trabajo como la dispersión de la APD disminuye constantemente cuando se aplica PVS con intervalos de acoplamiento (duración en tiempo entre dos estímulos) que se acortan progresivamente. Una vez alcanzado el mínimo valor de dispersión, esta comienza a crecer simultáneamente al decremento del intervalo de acoplamiento. En la Figura 3.4 (A) puede observarse la dependencia de la repolarización y su dispersión, a medida que se acorta el intervalo de acoplamiento, mientras que en la Figura 3.4 (B) se muestra la dependencia de la vulnerabilidad a la arritmia respecto al intervalo de acoplamiento. Se ilustra claramente como la dispersión y la vulnerabilidad a la arritmia se modulan en forma bifásica, para valores mínimos de dispersión y vulnerabilidad (umbral fibrilatorio); correspondientes al mismo intervalo de acoplamiento.

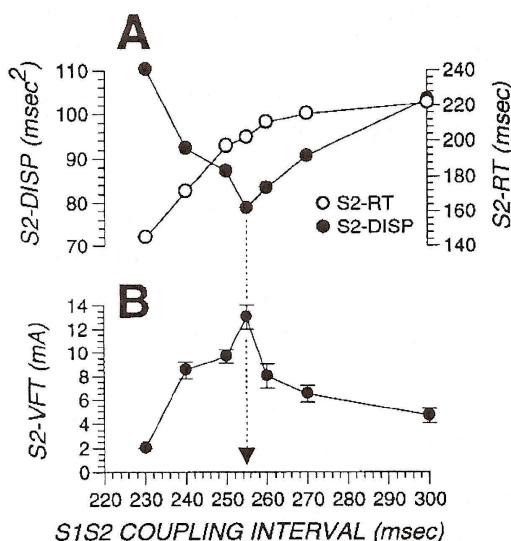


Figura 3.4: (A) La repolarización (S2-RT, ○) y la DRV (S2-DISP, ●) en función del intervalo de acoplamiento. (B) La vulnerabilidad a la arritmia (S2-VFT) en función del intervalo de acoplamiento. La DRV (A, ●) y la vulnerabilidad a la fibrilación (B, ●) moduladas de manera bifásica, en 255 ms (mínima dispersión y máximo umbral fibrilatorio) (*reproducida de [8]*).

Para entender el fenómeno de modulación, debe analizarse la relación existente entre la *cinética de restitución* (Rk, restitution kinetics) y la APD; siendo la Rk de la APD el proceso por el cual el AP celular responde a una PVS. La heterogeneidad de la Rk celular y su papel en la arritmogénesis fue descripta para epicardio utilizando un sistema de registro óptico de alta resolución (128 registros en 1 cm^2) [57]. En la Figura 3.5 superior, se muestra un APD_b (APD basal) seguido de una PVS (APD_p) y su precedente *intervalo diastólico* (DI, diastolic interval). El gráfico inferior de la Figura 3.5 muestra las curvas de Rk medidas en dos sitios ventriculares, donde la APD varía lentamente (○) y donde varía rápidamente (●), respecto al DI. La secuencia de la RV está influenciada luego de una PVS, debiéndose este fenómeno, a la heterogeneidad de la Rk en las células del epicardio.

Por otra parte, la Figura 3.6, ilustra los patrones de despolarización y repolarización durante la frecuencia basal (A), durante PVS a un intervalo de acoplamiento intermedio (B) y durante un intervalo de acoplamiento previo al ERP (C).

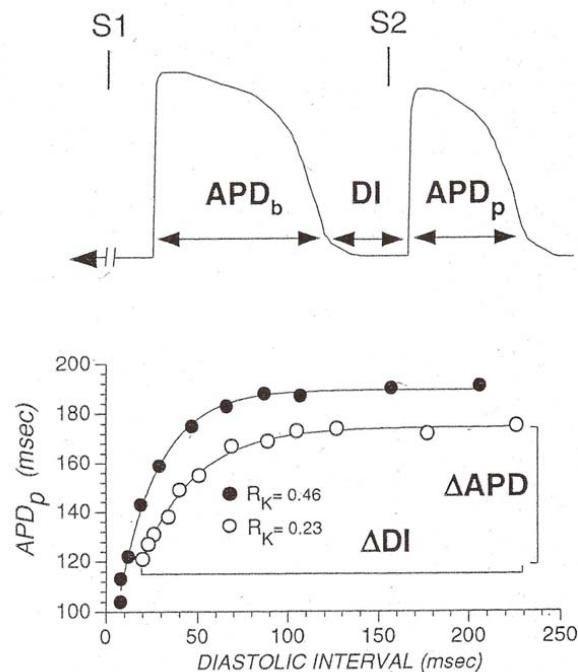


Figura 3.5: El esquema superior representa el último AP durante un tren S1 de 50 latidos seguido de un latido prematuro S2. El esquema inferior ilustra dos curvas de la cinética de restitución (R_k), calculadas de los APs registrados en ventrículo de cobayo. Los registros se corresponden con APD basal largo (○) y APD basal corto (●) (reproducida de [9]).

Durante frecuencia basal, Figura 3.6 (A), el impulso se propaga uniformemente desde el sitio de estimulación y se presenta un gradiente de repolarización; tardío en la base y temprano en el apex. El gradiente de repolarización durante la frecuencia basal se orientó de apex a base, es decir paralelo a las dirección de las fibras musculares cardíacas.

Por otro lado, cuando se introduce un estímulo con un intervalo de acoplamiento intermedio, Figura 3.6 (B), no se produce un cambio en el patrón de despolarización; sin embargo el gradiente de la RV prácticamente desaparece.

Posteriormente cuando se introduce un estímulo muy cercano al ERP, Figura 3.6 (C), la despolarización presenta un leve enlentecimiento en la velocidad de conducción, aunque en su morfología permanece inalterada. En cambio, el patrón de repolarización modifica su gradiente invirtiendo completamente la orientación respecto a la estimulación basal.

La Figura 3.6 muestra, durante el acortamiento del intervalo de acoplamiento, la desaparición (B) y la posterior reversión (C) del gradiente de repolarización en correspondencia con el aplanamiento y la posterior inversión de la onda T en el ECG de superficie. Este comportamiento sugiere, a través del ECG de superficie, que los gradientes de dispersión se modulan a lo largo de todo el miocardio y no solamente en una región como la estudiada en la Figura 3.6; es decir en 1 cm^2 de epicardio.

Por lo recientemente descripto, la modulación de la DRV podría explicarse por la heterogeneidad de la R_k a través del epicardio. Se describió, en general, que donde la APD_b es más

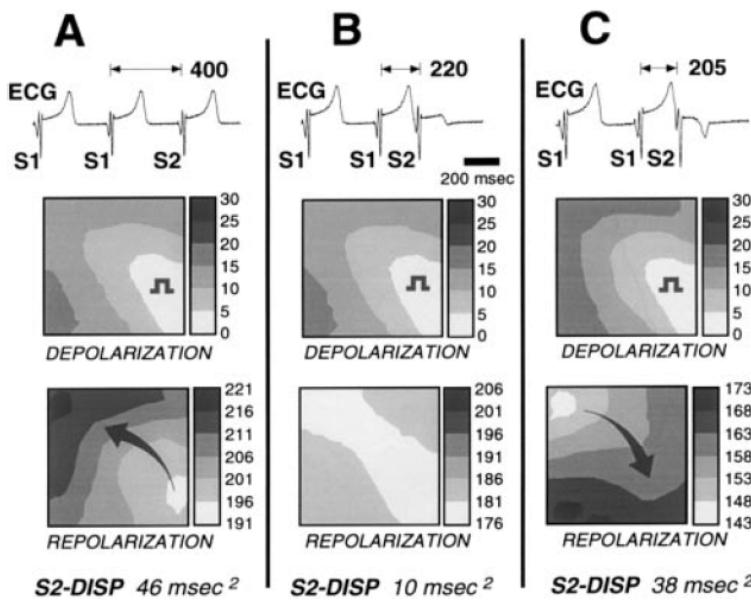


Figura 3.6: Mapas de contorno de la despolarización y repolarización en una grilla de 1 cm^2 de epicardio de cobayo. Para estimulación basal (A), estimulación intermedia (B) y estimulación cercana al período refractario (C). La estimulación se realiza desde el apex (región inferior de la grilla), mientras que la región superior se corresponde a la base. S2-DISP expresa la cuantificación de la DRV espacial causada por los gradientes de repolarización. (*reproducida de [8]*).

larga, la R_k es más rápida y viceversa. Por lo tanto, si la R_k es más rápida en sitios donde la APD_b son más largos, la APD_p se acortará más rápidamente en estos sitios comparado con sitios donde la APD_b son más cortos (menor R_k); eliminándose prácticamente la heterogeneidad de la repolarización en la superficie del epicardio para prematuros intermedios.

Pero con un acortamiento mayor del intervalo de acoplamiento, las células que inicialmente tenían APD más largo presentarán ahora un APD más corto, debido a su R_k relativa más rápida, produciéndose directamente una inversión en la dirección del gradiente ventricular (Figura 3.5).

Por otra parte, se sabe que los ventrículos tienen diferente vulnerabilidad a la fibrilación. Horowitz. *et al.* [149] mostraron que en ventrículo izquierdo el epicardio tiene un mayor umbral fibrilatorio que el endocardio. Además, mostraron que el epicardio de ventrículo izquierdo tiene también mayor umbral fibrilatorio que epicardio y endocardio de ventrículo derecho. Teniendo en cuenta la diferencia de umbral fibrilatorio entre ventrículos, podemos hipotetizar que existirá un comportamiento diferente de la modulación de la DRV dependiente del sitio donde se aplicó la PVS. Además, variables cuantificadoras de la RV y su dispersión obtenidos del ECG de superficie como los intervalos QT o JT, deberían estar de algún modo modulados por el origen desde donde se estimula al miocardio.

3.2.2 Materiales y métodos

3.2.2.1 Protocolo experimental

El protocolo que se utiliza en este estudio se describió detalladamente en la Sección 2.1.2. Recordemos que en él, se realizan las mediciones de las variables ECG una vez que el corazón esta

libre de arritmias o cualquier tipo de anomalía en su funcionalidad eléctrica.

El protocolo de PVS consiste de las siguientes etapas. El control (C_{PVS}) estimulando desde ventrículo a una frecuencia basal de 400 ms durante un tren de pulsos S_1 de 50 latidos. Posteriormente, para generar IDR, al tren S_1 se agrega un estímulo prematuro PVS a cuatro intervalos de acoplamientos distintos, 300 ms (D_{PVS}^{300}), 250 ms (D_{PVS}^{250}), 200 ms (D_{PVS}^{200}) y ERP + 5 ms (D_{PVS}^{ERP}). Recordemos que el intervalo de acoplamiento es la distancia temporal entre dos pulsos de estímulo. Para el protocolo se adquirieren las 40 señales del ECG en grupos de ocho canales cada vez, hasta completar los 40 canales.

3.2.2.2 Variables e índices de la repolarización ventricular

Se miden las siguientes variables del ECG de superficie que cuantifican a la duración de la depolarización y repolarización para cada derivación.

- QRS: intervalo de tiempo, medido en milisegundos, desde el inicio de la onda Q hasta el fin de la onda S (*QRS duration*).
- JT_e : intervalo de tiempo, medido en milisegundos, desde el punto J hasta el fin de la onda T (*JTend*).
- JT_p : intervalo de tiempo, medido en milisegundos, desde el punto J hasta el pico máximo de la onda T (*JTpeak*).
- QT_e : intervalo de tiempo, medido en milisegundos, desde el inicio del complejo QRS hasta el fin de la onda T (*QTend*).
- QT_p : intervalo de tiempo, medido en milisegundos, desde el inicio del complejo QRS hasta el pico máximo de la onda T (*QTpeak*).
- T_{pe} : intervalo de tiempo, medido en milisegundos, desde el pico máximo de la onda T hasta el fin de la onda T (*T peak - T end*).

Se calculan los siguientes índices del ECG de superficie que cuantifican a la DRV entre derivaciones.

- Δ_{JT_e} : dispersión del intervalo JT_e , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo JT_e en las derivaciones bajo análisis.
- Δ_{JT_p} : dispersión del intervalo JT_p , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo JT_p en las derivaciones bajo análisis.
- Δ_{QT_e} : dispersión del intervalo QT_e , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo QT_e en las derivaciones bajo análisis.
- Δ_{QT_p} : dispersión del intervalo QT_p , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo QT_p en las derivaciones bajo análisis.
- $\Delta_{T_{pe}}$: dispersión del intervalo T_{pe} , expresada en milisegundos y calculada como la diferencia entre el máximo y mínimo intervalo T_{pe} en las derivaciones bajo análisis.
- σ_{JT_e} : desvío estándar del intervalo JT_e expresado en milisegundos y calculado en las derivaciones bajo análisis.
- σ_{JT_p} : desvío estándar del intervalo JT_p expresado en milisegundos y calculado en las derivaciones bajo análisis.

- σ_{QT_e} : desvío estándar del intervalo QT_e expresado en milisegundos y calculado en las derivaciones bajo análisis.
- σ_{QT_p} : desvío estándar del intervalo QT_p expresado en milisegundos y calculado en las derivaciones bajo análisis.
- $\sigma_{T_{pe}}$: desvío estándar del intervalo T_{pe} expresado en milisegundos y calculado en las derivaciones bajo análisis.

3.2.2.3 Medición del ECG

El software de monitoreo, adquisición y procesamiento de los ECGs se basa en modificaciones del utilizado para el modelo M_1 , habiéndose adaptado éste, al modelo experimental M_2 . Las variables de duración se miden manualmente con un cursor comandado a través del ‘mouse’ de la computadora. Este cursor esta calibrado en la pantalla de la computadora con resoluciones de 1 ms y 2.5 μ V en tiempo y amplitud; respectivamente.

Las medición manual del ECG, visualizado en la pantalla de la computadora, se hace marcando con el cursor calibrado los puntos fiduciales de interés, obteniéndose automáticamente el valor numérico del intervalo en milisegundos. Además, se puede visualizar el ECG magnificado, teniendo mayor exactitud para marcar los puntos fiduciales de interés.

La medición de las variables del ECG de superficie fueron realizadas por dos observadores experimentados. Para C_{PVS} , se seleccionan los latidos número 49 y 50 de cada tren de pulsos S_1 , produciéndose de manera automática la selección de dichos latidos en las derivaciones restantes. La duración de los intervalos QT_e , QT_p , JT_e y JT_p , para C_{PVS} , se obtienen de calcular la media de los latidos número 49 y 50. Este procedimiento se aplica para cada electrodo de registro de la matriz de 40 electrodos. Se realiza también, la medición en los latidos prematuros para las diferentes condiciones D_{PVS}^{300} , D_{PVS}^{250} , D_{PVS}^{200} y D_{PVS}^{ERP} ; descriptas en la Sección 2.1.2.

El intervalo QT_e se mide desde la primer deflexión del complejo QRS hasta el fin de la onda T, definido por la intersección de la recta tangente a la rama descendente de la onda T con la linea de base. En los casos donde se detecta presencia de onda U se analiza la medición más detalladamente. Si la onda U está separada de la onda T, se pueden distinguir claramente los dos intervalos isoeléctricos y ambas ondas son fácilmente detectables. En los casos donde la onda U se encuentra interrumpiendo a la onda T, la porción visible de onda T se extrapola con la línea de base TP utilizando criterios descriptos en [102]. Si el fin de la onda T no puede determinarse de manera confiable, esa derivación se descarta. Se consideran las ondas T monofásicas (positivas o negativas) y las ondas T bifásicas.

Por otro lado, los intervalo QT_p y JT_p se mide desde el inicio del complejo QRS y desde el punto J hasta el pico máximo de la onda T; respectivamente.

El T_{pe} , se mide como la diferencia entre QT_e y QT_p . Cuando las ondas T son bifásicas se descarta la medida al pico máximo de la onda T. Se incluyen al análisis aquellos experimentos donde se pueden medir ≥ 36 derivaciones distintas.

La variabilidad intraobservador fue $< 5\%$ para 2 mediciones consecutivas realizada en 4 experimentos seleccionados aleatoriamente. Por otra parte, para verificar la reproducibilidad de la metodología experimental, se seleccionaron aleatoriamente 500 registros que midió otro observador. Con las mediciones del tercer observador, se calculó una variabilidad interobservador $< 5\%$, del orden de magnitud como la descripta en [137, 138].

3.2.2.4 Análisis estadístico

Los datos de los experimentos ($n=12$) se expresan como media \pm SEM. La comparación entre variables se realizó por medio del test de *t*-Student. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas a aquellas con valores $p < 0.05$. Por otra parte, para calcular la variabilidad intra-observador e interobservador, se compararon las medidas de los ECG por medio del análisis de correlación de Pearson.

3.2.3 Resultados

Para determinar la influencia que ejerce el sitio de estimulación en la DRV, se estimula al miocardio artificialmente desde Rv o Lv en orden aleatorio. A su vez, la PVS se introduce a diferentes intervalos de acoplamiento. A frecuencia basal la estimulación es de mayor duración (400 ms) y se la denomina C_{PVS} ; mientras que a periodo refractario más 5 ms, D_{PVS}^{ERP} , es la más corta. A período refractario más 5 ms se obtuvo: 167 ± 7.2 ms para estimulación desde Rv, 168 ± 11.5 ms para estimulación desde Lv estimulación y $p = NS$ entre ventrículos.

En la Figura 3.7 (a) y (b) se muestra un experimento donde los índices de la DRV, σ_{JT_e} y σ_{JT_p} , se grafican en función al intervalo de acoplamiento. Para este experimento se aplica la combinación S₁-PVS (ver Sección 2.1.2) desde D_{PVS}^{300} hasta D_{PVS}^{200} ; con un intervalo de acoplamiento que se va acortando en pasos de 10 ms.

Cuando se aplica PVS en el ventrículo izquierdo (Figura 3.7 (a) y (b), ●) se produce un comportamiento bifásico de los índices de la DRV. Ambos índices, σ_{JT_e} y σ_{JT_p} , se decrementan progresivamente para el intervalo de acoplamiento que va desde los 300 hasta los 250 milisegundos. Sin embargo, cuando la PVS se decrementa desde 250 hasta ERP + 5 ms se observa un incremento de σ_{JT_e} y σ_{JT_p} , alcanzando valores que superan el control, C_{PVS} .

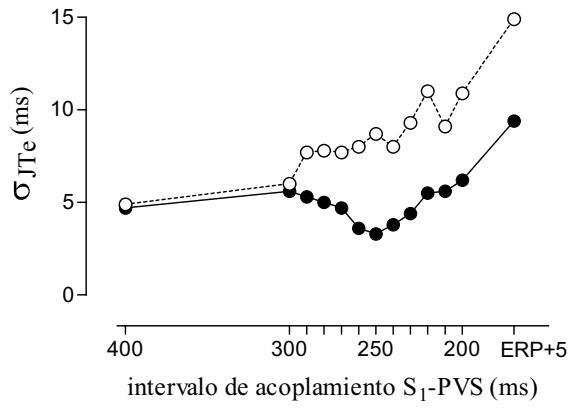
En contraste a estos resultados, cuando el estímulo se aplica al ventrículo derecho (Figura 3.7 (a) y (b), ○) los índices σ_{JT_e} y σ_{JT_p} crecen monotónicamente.

En las Figura 3.8 (a) y en la Figura 3.8 (b), se muestran las variables de duración JT_e y JT_p para diferentes intervalos de acoplamiento. Dichas variables decrecen monótonicamente a medida que se acorta el intervalo de acoplamiento; para ventrículo derecho e izquierdo respectivamente.

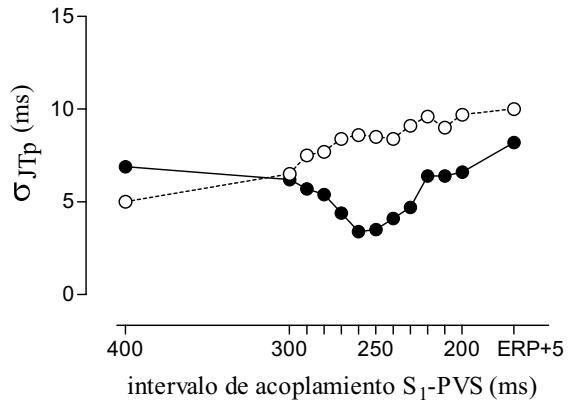
Además, en la Figura 3.8 (a) y en la Figura 3.8 (b), se representan los índices de dispersión, σ_{JT_e} y σ_{JT_p} . Podemos observar que la DRV se decrementa significativamente solo para el intervalo de acoplamiento de 250 ms estimulando desde ventrículo izquierdo. En decrementos posteriores a los 250 ms., los valores de DRV se incrementan hasta alcanzar un nivel superior al control. En contraste, cuando el corazón está estimulado desde ventrículo derecho, para intervalos de acoplamiento S₁-PVS cada vez más cortos, la DRV crece constantemente exhibiendo una tendencia de mayor dispersión para intervalos de acoplamiento cada vez más cortos.

En la Figura 3.8 (c) se muestra la duración y dispersión del complejo QRS. Durante la despolarización ventricular no se observan diferencias cuando se estimula desde ventrículo derecho o izquierdo. Además, en ambos ventrículos, la duración y dispersión de las variables de la despolarización tienen la misma tendencia de crecimiento para intervalos de acoplamiento, S₁-PVS; cada vez menores.

La Figura 3.9 ilustra la distribución espacial de la variable JT_e en un experimento. Se aplican tres intervalos de acoplamiento diferentes, S₁-PVS iguales a 400, 250 y 170 milisegundos, desde ventrículo izquierdo (Figura 3.9 (b)) y derecho (Figura 3.9 (c)) respectivamente. Puede observarse una distribución espacial más homogénea en el intervalo de acoplamiento D_{PVS}^{250} , cuando la PVS se aplica en ventrículo izquierdo. Este resultado sugiere una disminución de la DRV para el intervalo de acoplamiento de 250 ms. desde ventrículo izquierdo, registrado a nivel ECG de superficie; resultado similar al mostrado en la Figura 3.6 (B).



(a)



(b)

Figura 3.7: Detalle de los valores medios de la modulación de la dispersión para un experimento. En (a) σ_{JTe} y en (b) σ_{JTp} , cuando se estimula desde ventrículo derecho (○) y desde ventrículo izquierdo (●). El intervalo de acoplamiento se reduce en pasos de 10 ms para el rango de valores desde 300 hasta 200 ms de intervalo de acoplamiento.

Además, los índices de la DRV calculados están resumidos en la Tabla 3.3 para estimulación desde ventrículo derecho y en la Tabla 3.4 para estimulación desde ventrículo izquierdo.

3.2.4 Discusión y conclusiones

El hallazgo más importante de este estudio es el comportamiento diferencial de la DRV, observándose un efecto de modulación de la DRV que depende exclusivamente del ventrículo estimulado. Cuando se estimuló desde ventrículo derecho, la DRV se incrementó montónicamente a medida que los intervalos de acoplamiento S₁-PVS se acortaban. En contraste a estos resultados, cuando se estimuló desde ventrículo izquierdo se observó un comportamiento bifásico de la DRV. Esta modulación se puso de manifiesto con una deflexión abrupta que sucedió a un intervalo de acoplamiento crítico S₁-PVS igual a 250 milisegundos. Los resultados son concordantes en gran parte con los obtenidos por Laurita *et al.*, quienes mostraron que la estimulación prematura causa una modulación bifásica de los APDs registrados en forma óptica en ventrículo de cobayo

Tabla 3.3: Media \pm SEM de los índices de dispersión para distintos intervalos de acoplamiento estimulando al miocardio desde ventrículo derecho. Significancia estadística: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, † $p < 0.005$, ‡ $p < 0.001$, § $p < 0.0001$). La significancia estadística esta estimada como S₁-PVS vs. 400 ms (control).

índice de DRV (ms)	S ₁ -PVS (ms)				
	400	300	250	200	ERP+5
σ_{JT_p}	9.6 \pm 0.88	11.4 \pm 1.88	10.2 \pm 0.84	13.0 \pm 1.96	14.9 \pm 0.73 ‡
σ_{JT_e}	7.6 \pm 0.55	8.2 \pm 0.86	8.1 \pm 0.70	9.0 \pm 0.63	11.0 \pm 0.83 †
σ_{QT_p}	9.6 \pm 1.01	11.9 \pm 1.80	10.1 \pm 0.90	13.6 \pm 1.93 *	16.9 \pm 1.13 §
σ_{QT_e}	8.0 \pm 0.66	8.8 \pm 1.0	8.4 \pm 0.70	10.5 \pm 0.93 *	13.4 \pm 1.43 ‡
$\sigma_{T_{pe}}$	9.0 \pm 0.95	10.8 \pm 1.56	10.6 \pm 0.75	12.9 \pm 1.53 *	14.8 \pm 0.80 §
Δ_{JT_p}	39.9 \pm 3.81	44.1 \pm 7.20	43.6 \pm 3.47	54.1 \pm 8.77	56.4 \pm 4.10 †
Δ_{JT_e}	35.8 \pm 2.48	38.3 \pm 5.13	36.9 \pm 3.44	38.2 \pm 2.77	52.2 \pm 4.50 †
Δ_{QT_p}	40.3 \pm 4.10	50.2 \pm 7.63	44.3 \pm 3.58	60.6 \pm 10.90 *	68.2 \pm 4.50 ‡
Δ_{QT_e}	36.3 \pm 2.82	41.2 \pm 5.10	39.4 \pm 3.66	48.2 \pm 5.96 *	63.7 \pm 7.93 ‡
$\Delta_{T_{pe}}$	38.6 \pm 4.24	43.9 \pm 6.90	41.8 \pm 3.38	53.2 \pm 7.40 *	58.1 \pm 3.90 †

Tabla 3.4: Media \pm SEM de los índices de dispersión para distintos intervalos de acoplamiento estimulando al miocardio desde ventrículo izquierdo. Significancia estadística: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, † $p < 0.005$, ‡ $p < 0.001$, § $p < 0.0001$. La significancia estadística esta estimada como S₁-PVS vs. 400 ms (control).

índice de DRV (ms)	S ₁ -PVS (ms)				
	400 (control)	300	250	200	ERP + 5
σ_{JT_p}	7.7 \pm 0.55	8.7 \pm 1.13	6.2 \pm 0.55 †	10.1 \pm 1.20 *	11.0 \pm 1.16 **
σ_{JT_e}	7.1 \pm 0.52	7.0 \pm 0.73	4.6 \pm 0.72 ‡	8.0 \pm 0.90	11.0 \pm 0.86 ‡
σ_{QT_p}	7.8 \pm 0.60	8.8 \pm 1.03	7.2 \pm 0.63	10.4 \pm 1.00 *	12.8 \pm 1.23 †
σ_{QT_e}	7.9 \pm 0.50	7.7 \pm 0.73	5.4 \pm 0.66 †	9.8 \pm 1.10	12.8 \pm 1.33 ‡
$\sigma_{T_{pe}}$	8.3 \pm 0.78	8.7 \pm 1.2	6.3 \pm 0.69 ‡	10.1 \pm 1.03	13.6 \pm 1.10 ‡
Δ_{JT_p}	32.4 \pm 2.48	43.3 \pm 7.3	28.3 \pm 3.00	42.0 \pm 4.50 *	44.0 \pm 5.20 *
Δ_{JT_e}	31.8 \pm 2.25	29.8 \pm 3.66	20.5 \pm 3.11 ‡	35.6 \pm 3.43	43.6 \pm 3.26**
Δ_{QT_p}	33.9 \pm 2.82	46.1 \pm 7.56	33.6 \pm 3.78	43.4 \pm 3.60 *	47.9 \pm 5.43 *
Δ_{QT_e}	34.5 \pm 2.14	35.6 \pm 3.73	24.9 \pm 3.35 *	41.3 \pm 4.13	56.5 \pm 6.30 †
$\Delta_{T_{pe}}$	35.6 \pm 3.26	41.3 \pm 6.33	27.2 \pm 2.94 †	47.0 \pm 5.96	48.3 \pm 3.73 *

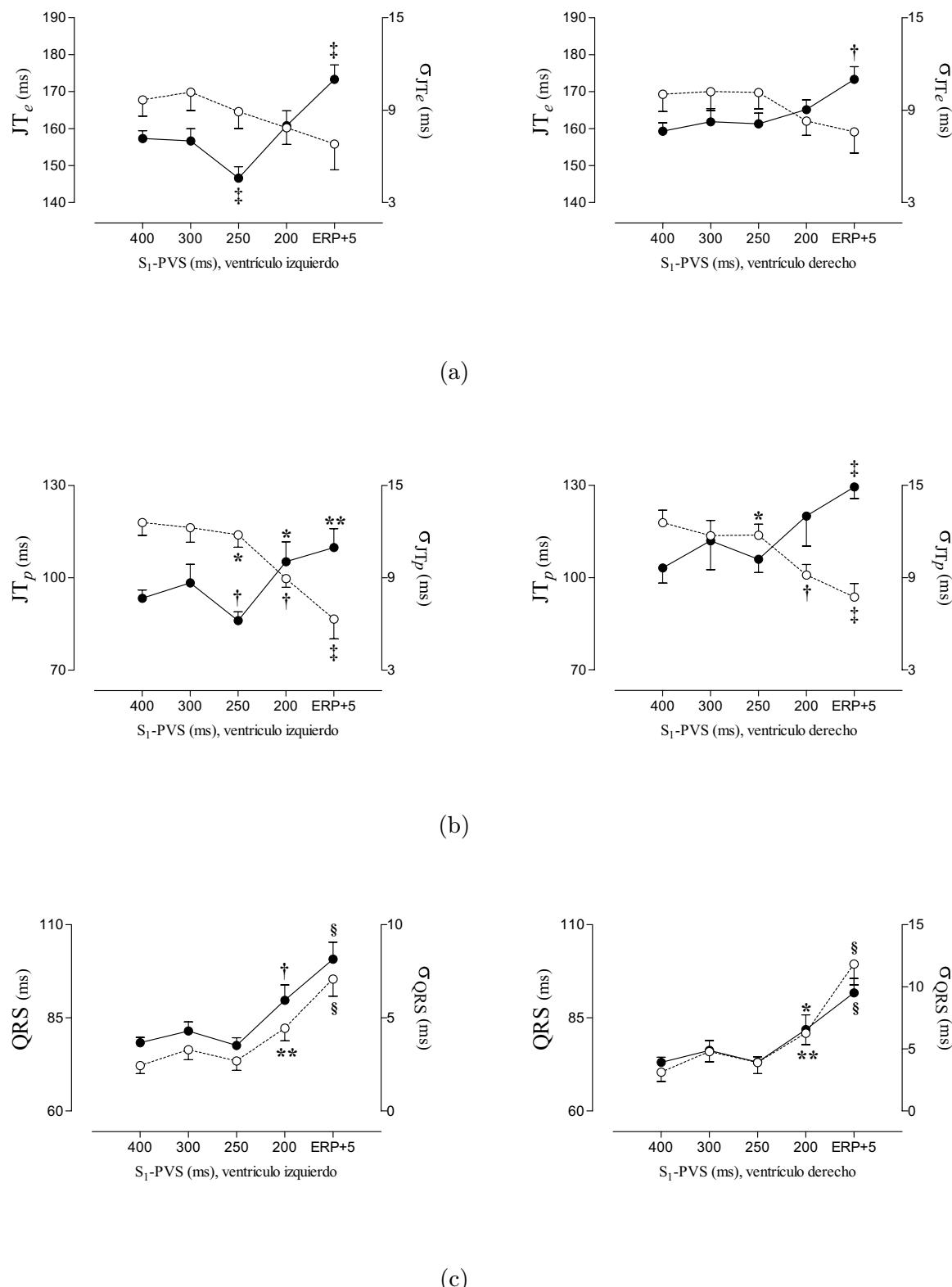


Figura 3.8: Media \pm SEM de la duración (○) y desvío estándar (●) en las variables JT_e (a), JT_p (b) y QRS (c); en 12 experimentos. Resultados para diferentes intervalos de acoplamiento, estimulando desde Rv y Lv. Diferencias estadísticamente significativas: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, # $p < 0.005$, ## $p < 0.001$, \$ $p < 0.0001$; para control (400 ms.) vs. S₁-PVS.

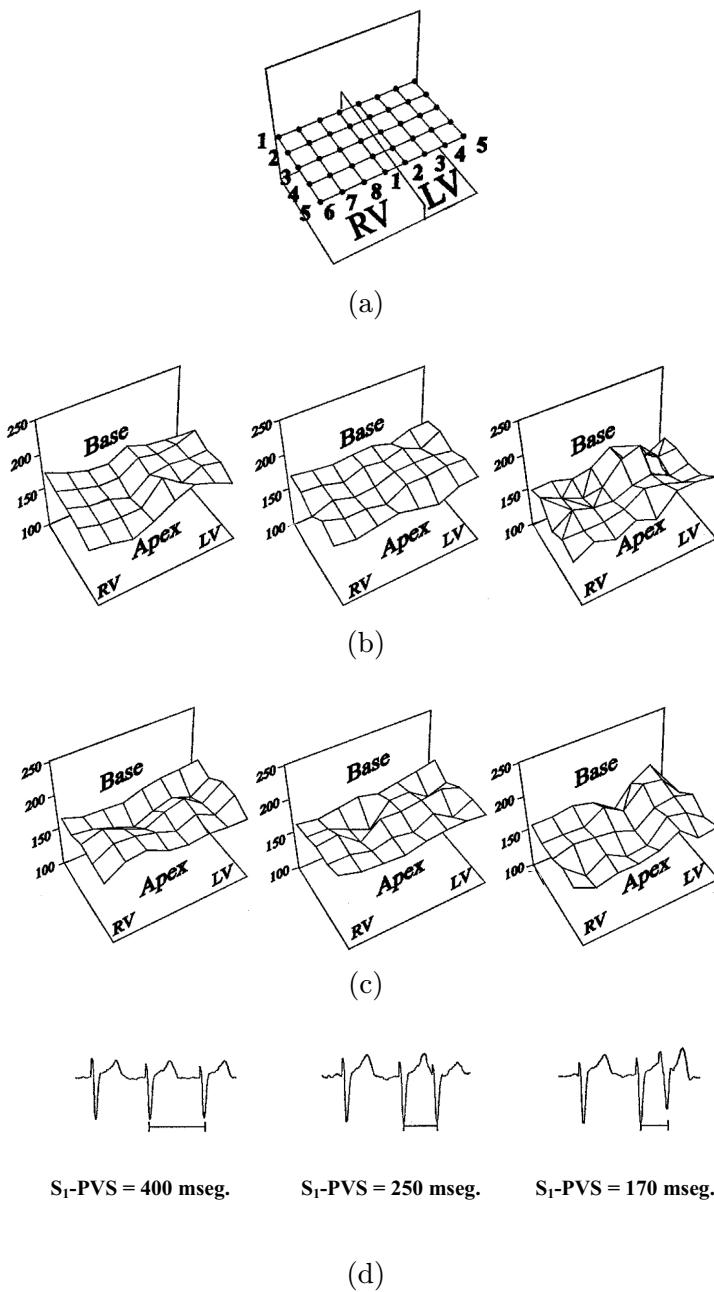


Figura 3.9: Matriz del modelo M_2 desplegada en el plano. (a) Sistema de registro utilizado para obtener mapas en 3D de la duración de la repolarización. Las columnas 1, 6, 7 y 8 y las columnas 2, 3, 4 y 5 conjuntamente con las cinco filas, ‘mapean’ los ventrículos derecho e izquierdo; como se ilustró en la Figura 2.4. (b) JT_p cuando se estimula desde ventrículo izquierdo. (c) JT_p cuando se estimula desde ventrículo derecho. (d) ECGs para cada S_1 -PVS, cuando se estimula desde el ventrículo izquierdo (obtenidos de la derivación unipolar ubicada en la intersección de la columna 2 con la fila 2 de la matriz).

[8] a una estimulación de 225 ms. Por otro lado, los resultados de duración y dispersión del complejo QRS mostraron que aunque el miocardio haya estado estimulado de ventrículo derecho o izquierdo el patrón de comportamiento fue similar. Es decir, que no hubo evidencias de cambio en los tiempos de activación o durante la conducción de la despolarización en el corazón.

En la Tabla 3.4 se observa una disminución de los índices de la DRV; exhibiendo todos ellos un valor mínimo para D_{PVS}^{250} . En relación a esta disminución, se observaron diferencias estadis-

ticamente significativas únicamente para estimulación desde ventrículo izquierdo. Los índices σ_{QT_p} , Δ_{JT_p} y Δ_{QT_p} no fueron estadísticamente significativos respecto del control para D_{PVS}^{250} . Con estos resultados podemos especular que la DRV más temprana (desde el inicio hasta el pico de la onda T) estuvo menos afectada por la PVS. Por otro lado, los resultados obtenidos muestran la existencia de una clara diferencia para la dispersión de T_{pe} dependiente del sitio de estimulación, considerando que la porción final de la onda T medida como el intervalo T_{pe} ha sido propuesto como un reflejo de la DRV a nivel transmural [150].

El mecanismo responsable de la modulación diferencial de la DRV, dependiente del sitio de estimulación durante la PVS, no puede explicarse totalmente con nuestros resultados. La restitución cinética del APD en la superficie epicárdica y su nexo con la modulación bifásica fue explicado por Laurita *et al.* como describimos detalladamente en la Sección 3.2.1. Los resultados de estos autores podrían justificar la presencia de la deflexión en la DRV cuando aplicamos PVS en el ventrículo izquierdo.

Sin embargo, parecería difícil explicar porque no se produjo una modulación bifásica cuando el estímulo se aplicó desde el ventrículo derecho. Para ello, hipotetizamos que las diferencias anatómicas existentes entre ventrículos (específicamente en la estructura de 3D) podrían explicar esta diferencia. Los ventrículos poseen diferentes propiedades anisotrópicas asociadas a los diferentes grosores de las paredes ventriculares y a la orientación de las fibras. La secuencia de propagación podría estar alterada por diferencias en las propiedades anisotrópicas, y por ello, cambiar la influencia electrotónica. Mendez [151] demostró una importante influencia del electrotono en la APD, mientras que Lesh *et al.* [152] mostraron que la APD puede estar afectado la secuencia de activación modificada por cambios en el electrotono. Estos autores mostraron un mayor grado de heterogeneidad en la APD, esto es, un IDRv cuando la propagación atraviesa las fibras en vez de ir en el sentido de las mismas.

Por último, debemos considerar las restricciones del ECG de superficie para inferir medidas de la DRV y considerar este análisis limitado al modelo experimental.

