



Trabajo Fin de Máster

Estudio de los efectos del envejecimiento sobre la actividad eléctrica cardíaca y su relación con el riesgo de arritmias

Research into the effects of aging on cardiac electrical activity and the relationship with arrhythmic risk

Autor/es

Sonia Mouhsine Arjoune

Director/es

Esther Pueyo Paules
Konstantinos Mountris

Escuela de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de Zaragoza
2020

Resumen

En este proyecto se presenta un estudio acerca de los efectos del envejecimiento cardíaco, analizando en particular la influencia en la actividad eléctrica de los ventrículos (cavidades inferiores del corazón) y su relación con el riesgo de sufrir irregularidades en el ritmo normal del corazón denominadas arritmias. Los factores de envejecimiento que se han investigado han sido la fibrosis, esto es, la acumulación de colágeno en el tejido cardíaco, y el desacoplamiento intercelular definido como la pérdida de interacciones eléctricas de unas células con otras. Estos factores se han estudiado tanto por separado como en conjunto.

En primer lugar, se presentan los modelos matemáticos empleados para caracterizar el comportamiento de los ventrículos humanos a nivel celular y de tejido. Para modelar el tejido ventricular se considera una malla bidimensional (4 cm x 4 cm) compuesta por células del epicardio ventricular. El aumento de fibrosis con la edad se modela sustituyendo una cantidad de células del epicardio por fibroblastos en función del porcentaje de fibrosis considerado. El desacoplamiento intercelular con el envejecimiento se modela reduciendo el valor del coeficiente de difusión asociado a la propagación del impulso eléctrico en el tejido cardíaco.

Una vez establecidos los modelos para los diferentes escenarios de interés, se llevan a cabo simulaciones computacionales, a partir de las cuales se caracteriza el comportamiento eléctrico del tejido en cada caso. Además, a partir de la respuesta eléctrica evaluada en el tejido simulado, se calculan electrogramas, que representan señales eléctricas registradas sobre la superficie del tejido. Se analizan características de amplitud y duración de las ondas de los electrogramas y se determina el impacto que los factores de envejecimiento tienen sobre ellos. Finalmente, se simula un protocolo de estimulación que induce la aparición de reentradas en el tejido y se analiza la vulnerabilidad arrítmica en función del grado de envejecimiento.

Los resultados obtenidos muestran un impacto variado en la actividad eléctrica del corazón en función del factor de envejecimiento modelado. La acumulación de fibrosis supone un mayor riesgo en la aparición de arritmias que el desacoplamiento intercelular. No obstante, los resultados de la combinación de ambos factores denotan escenarios de riesgo arrítmico mucho más acentuado que cuando se consideran los efectos de forma separada. Es posible caracterizar el impacto de los distintos factores de envejecimiento del corazón a partir de la evaluación de marcadores extraídos de los electrogramas.

En conclusión, este proyecto propone nuevos métodos de modelado matemático y simulación computacional que permiten establecer la contribución de distintos factores de envejecimiento a las alteraciones en la actividad eléctrica del corazón. Estos resultados pueden servir como base para el desarrollo de futuros métodos con capacidad para identificar individuos con un envejecimiento acelerado que les predisponga a sufrir arritmias cardíacas.

Abstract

This project presents a study about the effects of aging on the heart, specifically analyzing the influence on the electrical activity of the ventricles (inferior cavities of the heart) and its relation to the risk of suffering from irregularities in the cardiac rhythm known as arrhythmias. The aging factors that have been investigated are fibrosis, which is the accumulation of collagen in heart tissue, and intercellular uncoupling, defined as the loss of electrical interactions between neighboring cells. These factors have been studied both separately and in combination.

First, the mathematical models used to characterize the behavior of human ventricles at cellular and tissue level are presented. A two-dimensional mesh (4 cm x 4 cm) composed of cells of the ventricular epicardium is considered to model the ventricular tissue. The increase in fibrosis with age is modeled by substituting a number of epicardial cells by fibroblasts depending on the percentage of fibrosis considered. Intercellular uncoupling with aging is modeled by reducing the value of the diffusion coefficient associated with the propagation of the electrical impulse in cardiac tissue.

Once the models for the different scenarios of interest have been established, computational simulations are carried out, from which the electrical behavior of the tissue is characterized in each case. Furthermore, electrograms, which represent electrical signals recorded on the tissue surface, are calculated from the electrical response evaluated in the simulated tissue. Amplitude and duration characteristics of the electrogram waves are analyzed and the impact that aging factors have on them is determined. Finally, a stimulation protocol that induces the appearance of reentries in the tissue is simulated and arrhythmic vulnerability is analyzed according to the degree of aging.

The obtained results show a varied impact on the electrical activity of the heart depending on the modeled aging factor. The accumulation of fibrosis poses a greater risk in the development of arrhythmias than intercellular uncoupling. However, the results of the combination of both factors denote much more pronounced arrhythmic risk scenarios than when the effects are considered separately. It is possible to characterize the impact of the different cardiac aging factors from the evaluation of markers extracted from the electrograms.

In conclusion, this project proposes new methods of mathematical modeling and computational simulation that allow establishing the contribution of different aging factors to alterations in the electrical activity of the heart. These results can serve as the basis for the development of future methods with the capacity to identify individuals with accelerated aging that predisposes them to suffer cardiac arrhythmias.

Índice general

1.	Introducción	1
1.1.	Antecedentes	1
1.2.	Fisiología del corazón	1
1.2.1.	Actividad mecánica del corazón.....	1
1.2.2.	Actividad eléctrica del corazón.....	2
1.3.	Envejecimiento del tejido cardíaco	5
1.4.	Objetivos y tareas	6
1.5.	Contenido de la memoria	6
2.	Materiales y Métodos	7
2.1.	Modelo de células ventriculares	7
2.2.	Modelo de tejido ventricular	8
2.3.	Métodos de resolución numérica.....	9
2.4.	Modelado del envejecimiento cardíaco	10
2.4.1.	Acumulación de fibrosis.....	10
2.4.2.	Desacoplamiento intercelular	11
2.4.3.	Combinación de fibrosis y desacoplamiento intercelular.....	11
2.5.	Protocolos de estimulación cardíaca	11
2.5.1.	Protocolo periódico	12
2.5.2.	Protocolo de estimulación cruzada (S1-S2)	12
2.5.3.	Protocolo de restitución dinámico.....	13
2.6.	Cálculo de electrogramas	13
2.7.	Marcadores preclínicos de riesgo arrítmico	14
3.	Resultados	16
3.1.	Efectos del envejecimiento en los electrogramas.....	16
3.1.1.	Efectos de la fibrosis	17
3.1.2.	Efectos del desacoplamiento intercelular	27
3.1.3.	Efectos combinados de fibrosis y desacoplamiento intercelular.....	29
3.2.	Efectos del envejecimiento en la generación de reentradas	33
3.2.1.	Efectos de la fibrosis	33
3.2.2.	Efectos del desacoplamiento intercelular	35
3.2.3.	Efectos combinados de fibrosis y desacoplamiento intercelular.....	36
3.3.	Fenómeno de alternancias	37
4.	Discusión.....	39

4.1. Limitaciones del estudio.....	40
5. Conclusiones	42
Referencias.....	43
Anexos.....	I
Anexo A. Fichero de entrada JSON utilizado por ELECTRA.....	I
Anexo B. Obtención experimental de las áreas fibróticas mediante <i>Second Harmonic Generation</i>	III
Anexo C. Vídeos de la generación de reentradas en distintos escenarios	III
Anexo D. Valores de la VW para todos los casos simulados.....	V

Capítulo 1

Introducción

1.1. Antecedentes

Las enfermedades cardiovasculares (EVC) engloban un amplio abanico de trastornos que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos. Hoy en día, suponen una de las principales causas de defunción en todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el número de personas fallecidas anualmente debido a algún tipo de enfermedad cardiovascular es superior al número de defunciones anuales registradas por cualquier otra patología [1]. Las afecciones cardíacas y cardiovasculares tienen un mayor impacto en los países de bajos ingresos y en vías de desarrollo, que suman más de un 75% del total de muertes mundiales asociadas a ECV [2]. No obstante, en países punteros económicamente como Estados Unidos se registra una muerte por ECV cada 3.59 minutos, según la última actualización de datos ofrecida por *American Heart Association* [3]. Asimismo, la Fundación Española del Corazón establece que más del 32% de los decesos en Aragón se deben a ECV [4]. Un abundante número de enfermedades cardiovasculares están relacionadas con la aparición de arritmias, definidas como irregularidades en el ritmo natural del corazón. Asimismo, el remodelado funcional y estructural inducido por el envejecimiento sobre el corazón también incrementa el riesgo de sufrir arritmias, algunas de las cuales podrían llevar a la muerte súbita cardíaca [5]. A pesar de estas evidencias, siguen sin estar bien establecidos cuáles son los mecanismos que subyacen al mayor riesgo arrítmico en el corazón envejecido, particularmente en la especie humana, y cómo dicho riesgo podría detectarse a partir de electrogramas (señales eléctricas recogidas sobre la superficie del corazón) o electrocardiogramas (señales eléctricas recogidas sobre la superficie del cuerpo). Es por ello que el desarrollo de metodologías que permitan dilucidar los mecanismos que subyacen al envejecimiento del corazón y su relación con el riesgo de arritmias se considera de gran interés, tanto desde el punto de vista científico como, sobre todo, desde el punto de vista socio-económico.

1.2. Fisiología del corazón

1.2.1. Actividad mecánica del corazón

El corazón es el órgano principal del sistema circulatorio. Es un músculo situado en el interior del tórax, entre ambos pulmones, que se encarga de bombear la sangre al resto del organismo a través de los vasos sanguíneos. Está formado por dos partes separadas, la izquierda y la derecha. Ambas partes, con una anatomía similar, presentan una cavidad superior llamada aurícula y una inferior

conocida como ventrículo. Desde el punto de vista mecánico, el corazón tiene dos movimientos: sístole y diástole. Antes del inicio de un latido cardíaco, tanto las aurículas como los ventrículos se encuentran relajados (Figura 1a). Durante la sístole auricular, se contraen las aurículas y la sangre pasa a los ventrículos, que se encuentran inicialmente vacíos (Figura 1b).

Del mismo modo, durante la sístole ventricular, los ventrículos se contraen y expulsan la sangre hacia el organismo a través de las arterias pulmonar y aorta como puede observarse en la Figura 1c. Las válvulas tricúspide y mitral se encargan de evitar el reflujo de la sangre una vez esta ha pasado de las aurículas a los ventrículos. Por otro lado, la válvula pulmonar y la válvula aórtica evitan el reflujo una vez que la sangre ha sido eyectada hacia las arterias.

Durante la fase de diástole, las aurículas y los ventrículos se dilatan. La musculatura se relaja permitiendo el paso de la sangre de nuevo a las aurículas y dando comienzo a un nuevo ciclo cardíaco (Figura 1c).

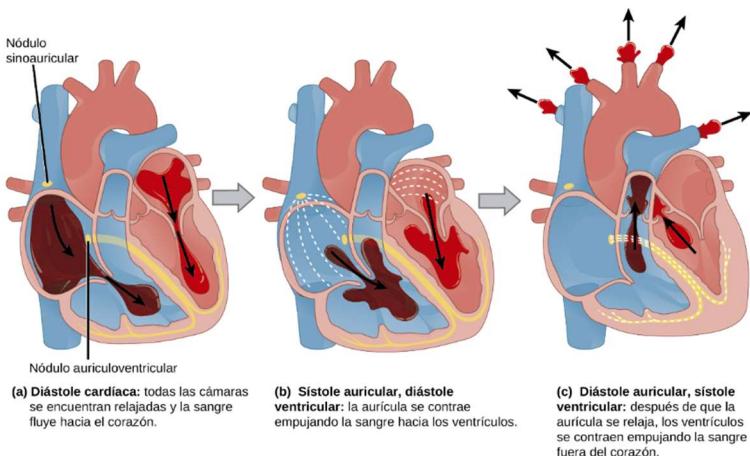


Figura 1. Fases del ciclo cardíaco. Descripción del recorrido de la sangre a lo largo del corazón durante un latido en función de los movimientos de aurículas y ventrículos provocados por la estimulación eléctrica.

1.2.2. Actividad eléctrica del corazón

Potencial de Acción

Si se analiza el ciclo cardíaco desde un punto de vista eléctrico, se distinguen dos fases principales: despolarización y repolarización celular. La despolarización eléctrica desencadena la contracción mecánica.

La respuesta eléctrica de las células del corazón se denomina potencial de acción (AP) y se caracteriza por las variaciones del potencial transmembrana durante el ciclo cardíaco. El potencial transmembrana V se define como la diferencia de potencial entre el medio intracelular y el medio extracelular. La morfología del AP varía según la localización de la célula en el corazón, aunque pueden identificarse dos variedades diferenciadas: los APs de las células del nodo sinusal, nodo

auriculo-ventricular y sistema de conducción, y los APs de las células auriculares y ventriculares. En particular, en los APs de las células ventriculares se distinguen cuatro fases. Durante la fase 0, se produce una rápida despolarización, que otorga a estos potenciales el nombre recién mencionado, de duración 1 o 2 ms de duración, en la cual el potencial transmembrana varía aproximadamente de -80 mV hasta un máximo de 40 mV. Durante la fase 1 se produce una repolarización rápida transitoria, la cual va seguida de una fase de meseta en la que el potencial se mantiene aproximadamente constante (fase 2). Finalmente, la fase 3 describe una etapa de repolarización durante la cual el potencial transmembrana retorna al valor de potencial de reposo (Figura 2).

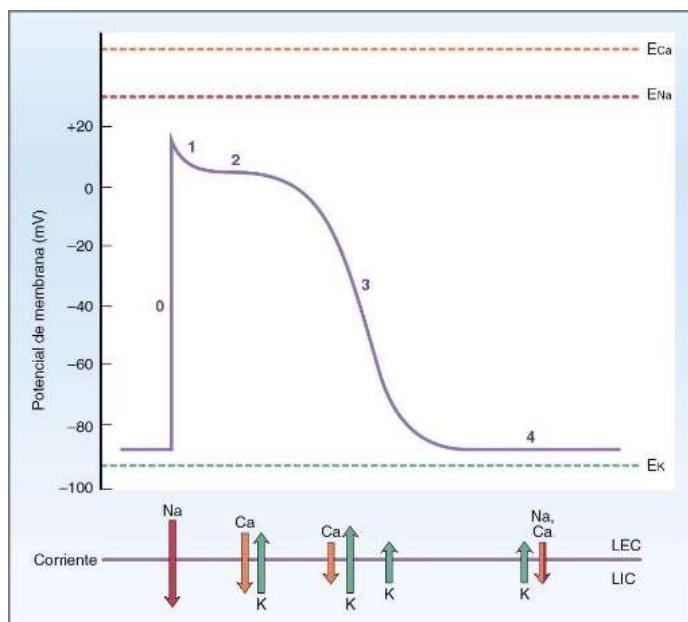


Figura 2. Potencial de acción de una célula ventricular. Se marcan las fases del potencial de acción y las principales corrientes iónicas que intervienen en el proceso y su dirección de entrada o salida de la célula. Imagen obtenida de [6].

A nivel celular, el AP se debe a la activación secuencial de corrientes iónicas generadas por el intercambio de iones a través de la membrana a favor de su gradiente electroquímico (Figura 2). En la fase 0, se produce una entrada masiva de iones de sodio (Na^+), a través de canales voltaje-dependientes de Na^+ , que generan una corriente rápida (I_{Na^+}). Durante la fase 1 o de repolarización temprana, las corrientes transitorias de iones potasio (K^+) producen la salida de iones de potasio haciendo que el potencial disminuya. En la fase 2 o de meseta, se produce un equilibrio eléctrico debido a la entrada de iones de calcio Ca^{2+} , produciendo corrientes lentas de calcio ($I_{Ca^{2+}}$), que compensan la salida de potasio de la célula. Finalmente, en la fase 3, la repolarización se acelera debido a la inactivación de corrientes de entrada de Na^+ y Ca^{2+} y, por ende, el predominio de las corrientes repolarizantes de potasio.

Electrograma

El electrograma (EGM) tiene una apariencia similar al comúnmente conocido electrocardiograma. Sin embargo, se trata de un registro de la actividad cardíaca que se realiza de manera más local midiendo directamente sobre la superficie del tejido y no sobre la superficie corporal. El registro de EGMs puede realizarse de manera bipolar o unipolar. Las características de los EGMs difieren según se utilicen electrodos bipolares o unipolares [7]. El análisis de las características de los electrogramas resulta de interés a la hora de identificar diferentes patologías o condiciones [8]. Debido a su carácter invasivo y por las limitaciones éticas y prácticas relacionadas con su obtención, los EGMs suelen adquirirse en pacientes, si ya se están sometiendo a una operación como la implantación de un marcapasos; en animales, respetando los debidos protocolos éticos; o a partir de modelos computacionales.

Electrocardiograma

La electrocardiografía permite el estudio de la actividad eléctrica del corazón desde la superficie corporal de manera no invasiva a través del registro del potencial en una serie de electrodos. El electrocardiograma (ECG) es el resultado global de la actividad eléctrica del corazón en cada ciclo cardíaco a lo largo del tiempo. Se registra la actividad iniciada en el nodo sinusal y su propagación a lo largo del corazón de manera coordinada. La onda P del ECG corresponde con la despolarización de las aurículas. El intervalo QRS recoge principalmente la despolarización de los ventrículos. Finalmente, la onda T describe la repolarización de los ventrículos. En un ECG existen diferentes derivaciones o canales de registro en función de la localización de los electrodos en el cuerpo. Mediante el análisis del ECG puede llevarse a cabo el diagnóstico y monitorización de diferentes patologías cardíacas sin necesidad de acudir a métodos invasivos para el paciente [9].

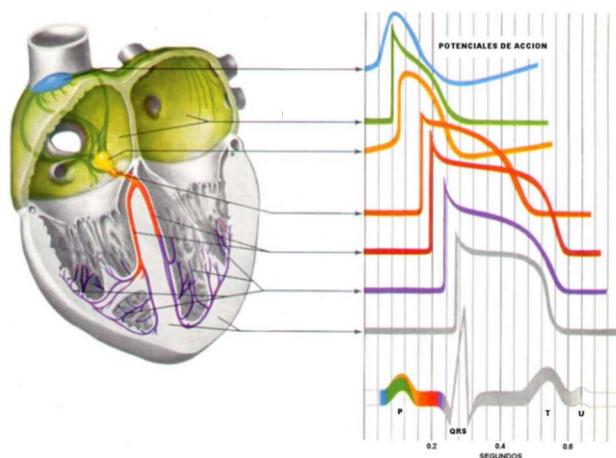


Figura 3. Aportación de los distintos AP al ECG. Se muestran ejemplos de los tipos de APs presentes en el corazón y su aportación al ECG en cada intervalo.

1.3. Envejecimiento del tejido cardíaco

A nivel celular, uno de los principales factores de envejecimiento es la hipertrofia de los miocitos. A medida que estas células van muriendo, las de alrededor tienden a hipertrofiarse teniendo que realizar, a su vez, el trabajo de los miocitos perecidos. Asimismo, este exceso de actividad disminuye el tiempo de vida de las células restantes de manera considerable, aumentando con ello el riesgo de sufrir eventos cardíacos adversos.

Otro factor de gran importancia en relación al envejecimiento es el aumento de fibrosis, que consiste en el endurecimiento del tejido cardíaco debido a la producción excesiva de colágeno por parte de los fibroblastos. El envejecimiento del corazón se asocia con alteraciones en la producción del colágeno [10]. Además, los fibroblastos que se encuentran entre los miocitos tienden a convertirse en miofibroblastos y a obstaculizar la conducción del AP, ya que las células contráctiles se encuentran a una distancia mayor las unas de las otras. Numerosos estudios muestran evidencias clínicas y experimentales de cómo el envejecimiento está relacionado con la acumulación de fibrosis y con una pérdida de la función diastólica [11, 12].

El acoplamiento intercelular es otro de los factores asociados al envejecimiento [13]. La perdida de uniones *gap* entre las células conlleva un aumento en el desacoplamiento intercelular, alterando consigo la propagación del AP y modificando el frente de propagación y la velocidad de conducción [14, 15]. En [16] se muestra un estudio de los principales aspectos de la comunicación intercelular en corazones envejecidos.

El desgaste que sufre el corazón a lo largo del tiempo conlleva un aumento en el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (ECV) como insuficiencia cardíaca, arritmias o bloqueos de conducción. Sin embargo, aunque el envejecimiento del corazón está asociado con los factores mencionados, no se ha establecido una clara contribución de cada uno de ellos a las alteraciones en la actividad eléctrica ventricular con la edad ni su relación con el riesgo de arritmias. Asimismo, tampoco se ha establecido cómo estos factores pueden verse reflejados en señales EGM o ECG de forma que pudieran tenerse marcadores indicativos del grado de envejecimiento de corazón. En este proyecto se han analizado EGMs como punto de partida para el estudio del efecto del envejecimiento sobre la actividad eléctrica cardíaca. Aunque este tipo de registros pueden realizarse sobre muestras humanas recogidas de forma rutinaria en intervenciones quirúrgicas [17], el objetivo de futuros estudios sería la identificación del riesgo arrítmico asociado al envejecimiento a partir de ECGs no invasivos.

1.4. Objetivos y tareas

El objetivo principal de este proyecto es la evaluación de los efectos del envejecimiento sobre la actividad eléctrica cardíaca y su relación con el riesgo de arritmias. En concreto, se estudian los cambios inducidos por la fibrosis y el desacoplamiento intercelular sobre las propiedades funcionales eléctricas del tejido ventricular. Ambos factores se analizan tanto individualmente como de manera conjunta para determinar su contribución al deterioro de la actividad eléctrica del corazón con la edad y proponer marcadores derivados de señales EGM indicativos de dicha acción.

Las diferentes fases del trabajo realizado se recogen a continuación.

- Revisión bibliográfica con el fin de estudiar de manera precisa el comportamiento electrofisiológico del corazón. Asimismo, se ha realizado un amplio estudio y proceso de selección de las referencias bibliográficas relevantes para el proyecto.
- Modelización matemática de los cambios en las propiedades del tejido cardíaco causados por la acumulación de fibrosis y la reducción del acoplamiento intercelular, así como realización de simulaciones numéricas con el fin de evaluar el impacto de dichos efectos sobre la actividad eléctrica cardíaca.
- Obtención de EGMs unipolares sobre nueve puntos de interés en el tejido ventricular y análisis de sus características. Simulación de escenarios en los que se inducen reentrantas arrítmicas y estudio de la probabilidad de su generación en función del grado de envejecimiento.
- Finalmente, se ha llevado a cabo la interpretación de los resultados obtenidos, se han extraído las conclusiones oportunas en base a los efectos observados a causa del envejecimiento del tejido y su relación con el riesgo de arritmias. Se han analizado las limitaciones del estudio y se han propuesto líneas futuras de investigación.

1.5. Contenido de la memoria

Esta memoria contiene 5 capítulos, siendo el presente el introductorio. En el capítulo 2, se describen los materiales y métodos empleados. Se incluyen los modelos cardíacos celulares, de tejido ventricular y el modelado utilizado para caracterizar los factores de envejecimiento. Además, se resumen los protocolos de estimulación empleados para la cuantificación de los marcadores preclínicos de riesgo arrítmico descritos en la sección 2.5. Se establecen las ecuaciones empleadas para el cálculo de los EGMs. El capítulo 3 contiene los resultados de las simulaciones consideradas. En el capítulo 4, se establece la discusión y las limitaciones del estudio. Finalmente, el capítulo 5 expone unas breves conclusiones.

Capítulo 2

Materiales y Métodos

Esta sección describe los materiales y la metodología empleada a lo largo de este estudio. Se incluyen una breve introducción a los modelos cardíacos celulares empleados, la descripción del modelo computacional utilizado para la simulación del tejido ventricular, el modelado del envejecimiento cardíaco, los protocolos electrofisiológicos de estimulación, el cálculo de las señales EGM y los marcadores derivados de ellas.

2.1. Modelo de células ventriculares

El modelado cardíaco computacional ha supuesto un gran avance en el ámbito de la electrofisiología cardíaca, ampliando el conocimiento acerca de la composición y el comportamiento fisiológico y patofisiológico del corazón así como de los distintos mecanismos vinculados a alteraciones en la actividad eléctrica. Una de las ventajas del modelado computacional es que permite llevar a cabo experimentos que no incurren en ningún riesgo para el paciente, además de contribuir al desarrollo y comprensión de pruebas clínicamente útiles, aumentando así la capacidad de diagnóstico y terapia de enfermedades del corazón.

Como se ha mencionado previamente, en este proyecto el estudio se realiza sobre tejido ventricular. El modelo de AP empleado para representar la electrofisiología de los miocitos ventriculares es el modelo de O'Hara et al. [18] para células de epicardio. Este modelo describe las diferentes corrientes iónicas que intervienen en la generación del AP de este tipo de células.

En la simulación de fibrosis, la actividad eléctrica de los fibroblastos se simula mediante el modelo de MacCannell et al. [19]. Este modelo formula el comportamiento de los fibroblastos utilizando ecuaciones similares a las empleadas para modelar el comportamiento de los miocitos, si bien las corrientes iónicas implicadas y, por tanto, la forma del AP son distintos. La relación entre el potencial de membrana y las corrientes de membrana viene dada por la siguiente ecuación:

$$C_m \frac{dV}{dt} + \sum_s g_s(V - E_s) + \sum_{b,i} I_{b,i} + I_{stim} = 0, \quad (1)$$

donde C_m es la capacidad de membrana, V el potencial de membrana, que puede representar el de los cardiomiositos V_c o el de los fibroblastos V_f en función de la célula modelada, g_s la conductancia específica de cada una de las familias de canales, E_s el potencial de equilibrio del ion S, $I_{b,i}$ la corriente de bombas e intercambiadores e I_{stim} la corriente de estimulación.

Desde el punto de vista eléctrico y de acuerdo con la ecuación (1), la célula se modela como un circuito eléctrico (Figura 4) en el cual C_m representa un condensador; la corriente de los canales iónicos equivale a una impedancia, que representa la resistencia de la membrana, en serie con una fuente de voltaje; mientras que las corrientes de bombas e intercambiadores se representan con sendas fuentes de intensidad.

La caracterización de la unión resistiva fibroblasto-miocito se consigue mediante la inclusión de una conductancia G_{gap} .

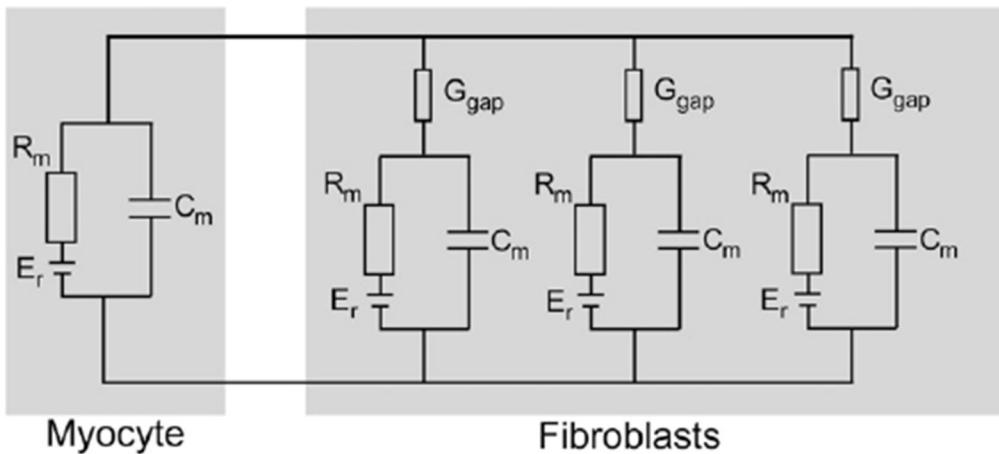


Figura 4 . Circuito eléctrico equivalente de la membrana celular. A la izquierda, el circuito eléctrico equivalente en miocitos. A la derecha el circuito equivalente de los fibroblastos y su acoplamiento a los miocitos mediante G_{gap}

2.2. Modelo de tejido ventricular

Una vez establecidos los modelos celulares empleados para caracterizar los miocitos del epicardio ventricular y los fibroblastos, se modela el tejido ventricular. En este proyecto se simula la actividad eléctrica utilizando una malla bidimensional, de 4 x 4 cm, empleando el modelo de monodominio [20] descrito por una única ecuación en derivadas parciales (EDP) de reacción-difusión para la descripción del potencial transmembrana (3) y su respectiva condición de contorno (4):

$$\frac{\partial V}{\partial t} = \frac{-I_{ion}(V)}{C} + \nabla \cdot (\mathbf{F} \nabla V), \quad \text{in } H \quad (2)$$

$$n \cdot (\mathbf{F} \nabla V) = 0, \quad \text{in } \partial H \quad (3)$$

donde $\frac{\partial V}{\partial t}$ equivale a la derivada parcial del potencial transmembrana respecto del tiempo, I_{ion} es la corriente iónica total, C es la capacidad celular por unidad de superficie y \mathbf{F} el tensor de difusión. H y ∂H se corresponden con el dominio del tejido y el borde de este, respectivamente, mientras que n es el vector unitario normal a ∂H .

La malla utilizada está compuesta por 9900 elementos, con un espaciado de $\Delta_x = 0.04$ cm, formando un total de 10100 nodos. La dirección principal de las fibras es horizontal (a lo largo del eje x). Con el fin de modelar la anisotropía presente en el tejido, la difusión transversal se considera menor que la longitudinal, con un ratio de 0.25 ($D_y/D_x = 0.25$). El coeficiente de difusión D , obtenido a partir del tensor de difusión, considerado a lo largo de la memoria, es el correspondiente al coeficiente longitudinal y su valor inicial es de $0.0013 \text{ cm}^2/\text{ms}$ para los miocitos, mientras que el de los fibroblastos parte de $0.000433 \text{ cm}^2/\text{ms}$.

2.3. Métodos de resolución numérica

A continuación, se describen los métodos numéricos empleados para la resolución de las ecuaciones diferenciales. La generación del AP de las células se relaciona con el término de reacción, mientras que la difusión describe la propagación de dicho AP a lo largo del tejido. Ambos términos se desacoplan el uno del otro mediante el método de *operator splitting* [21], consiguiendo así una reducción en la complejidad temporal del problema. Al independizar un término del otro, la parte correspondiente a la difusión se resuelve empleando un paso de tiempo mayor. Por otro lado, para el término de reacción suelen emplearse métodos con un paso de tiempo adaptativo [22]. En este proyecto se ha utilizado el método explícito de Euler para la resolución de las ecuaciones diferenciales ordinarias que describen los modelos celulares y para el término de difusión, con un esquema adaptativo diferente para cada uno de ellos. Para la resolución espacial, en este proyecto se ha utilizado el método de los elementos finitos (MEF) [20].

Todos estos métodos para la resolución de la actividad eléctrica del tejido se encuentran integrados dentro del software de simulación ELECTRA¹. A este software se le proporciona como fichero de entrada un archivo .inp (formato Abaqus²) que recoge el número de elementos y su conectividad, la coordenada y número de cada nodo dentro de la malla así como el tipo de célula que se asocia a cada uno de estos. Los parámetros de simulación relacionados con la geometría (como las dimensiones, el número de vértices de cada célula o el fichero .inp correspondiente), con el material (como el coeficiente de difusión según los tipos celulares) y con las características del estímulo (como la amplitud, la frecuencia de estimulación o el instante de tiempo en el que se aplica el primer estímulo), se recogen en un fichero de formato JSON que se ejecuta desde el software ELECTRA (Anexo A).

¹ Software propio del grupo de investigación BSiCOS

² <https://www.3ds.com/products-services/simulia/products/abaqus/abaquscae/>

2.4. Modelado del envejecimiento cardíaco

En este apartado se presentan los diferentes escenarios de envejecimiento cardíaco analizados a lo largo del proyecto. Todos los casos bajo estudio parten del modelo ventricular descrito en la sección 2.2. del presente capítulo, establecido como condición de control. Como se ha mencionado anteriormente, uno de los factores de envejecimiento cardíacos analizados es la fibrosis. La adición de la fibrosis en el tejido se consigue a través de la inclusión de fibroblastos en función del porcentaje de fibrosis establecido. Por otro lado, la simulación de los efectos sobre la actividad eléctrica celular causados por la disminución del acoplamiento intercelular se consigue reduciendo el coeficiente de difusión D .

2.4.1. Acumulación de fibrosis

En primer lugar, se analizan los efectos causados por el envejecimiento del tejido debido a la proliferación de fibrosis. Se consideran diferentes niveles de fibrosis distribuidos de dos maneras diferentes: fibrosis *patchy*, en la que los fibroblastos están congregados en agrupaciones de distinto tamaño en función del porcentaje de fibrosis considerado, y fibrosis difusa, en la que la distribución de estos fibroblastos está dispersa a lo largo del tejido de un modo más homogéneo. La manera de definir las áreas fibróticas en el caso de fibrosis *patchy* parte de datos experimentales donde se evaluó el colágeno mediante la técnica de *Second Harmonic Generation* [23], que consiste en un proceso óptico no lineal de segundo orden producido en tejidos biológicos con una estructura no centrosimétrica. Para más información puede consultarse el Anexo B.

Los porcentajes de fibrosis (P_f) simulados son los siguientes:

- *Minimal fibrosis* ($P_f = 4.54\%$). De los 10100 nodos que componen la malla descrita en el apartado 2.2., 459 corresponden a fibroblastos.
- *Mild1 fibrosis* ($P_f = 14\%$). En este caso, 1414 nodos de los 10100 totales están caracterizados por el modelo iónico de fibroblastos de MacCannell et al [19].
- *Mild2 fibrosis* ($P_f = 28\%$). El número de fibroblastos asciende a 2828 en este caso.
- *High fibrosis* ($P_f = 40\%$). Esta configuración supone una subida del porcentaje de fibrosis de 35.46 puntos respecto al primer estado y es el caso de mayor incidencia estudiado en este proyecto, con un total de 4040 fibroblastos.

El resto de los nodos incluidos en la malla hasta completar los 10100 totales se asocia con células de epicardio. Todos los fibroblastos tienen las mismas características eléctricas entre sí, del mismo modo que todas las células de epicardio son similares.

2.4.2. Desacoplamiento intercelular

El segundo factor de envejecimiento estudiado es la disminución del grado de acoplamiento intercelular. El aumento del desacoplamiento entre unas células y otras se modela reduciendo el valor del coeficiente de difusión D , que inicialmente es de $0.0013 \text{ cm}^2/\text{ms}$ para todas las células epicárdicas. En este proyecto, se consideran los siguientes escenarios:

- Coeficiente de difusión al 75%. En este caso, $D = 0.000975 \text{ cm}^2/\text{ms}$.
- Coeficiente de difusión al 50%. En este caso, $D = 0.00065 \text{ cm}^2/\text{ms}$.
- Coeficiente de difusión al 25%. En este caso, $D = 0.000325 \text{ cm}^2/\text{ms}$.

2.4.3. Combinación de fibrosis y desacoplamiento intercelular

Una vez estudiados los efectos de dichos factores de envejecimiento por separado, se incluyen el análisis y los resultados derivados de la combinación de ambos. Cabe destacar que, en el caso de los fibroblastos, el valor inicial del coeficiente de difusión es de $0.000433 \text{ cm}^2/\text{ms}$. Por lo tanto, el grado de acoplamiento que presentan ya parte de una condición menor que en el caso de los miocitos.

Las diferentes casuísticas modeladas sobre el tejido ventricular son las siguientes:

- *MildI fibrosis* ($P_f = 14\%$), junto con un coeficiente de difusión al 75%. Es decir, 1414 nodos modelados como fibroblastos y 8686 como células de epicardio, con un coeficiente de difusión de $0.000975 \text{ cm}^2/\text{ms}$ para los últimos y de $0.000325 \text{ cm}^2/\text{ms}$ para los primeros.
- *High fibrosis* ($P_f = 40\%$), junto con un coeficiente de difusión al 75%. Esta situación describe un porcentaje de fibrosis mayor (4040 nodos modelados como fibroblastos y 6060 como células de epicardio), mientras que los coeficientes de difusión son los mismos que en el escenario anterior.
- *MildI fibrosis* ($P_f = 14\%$), junto con un coeficiente de difusión al 50%. Los nuevos coeficientes de difusión, reducidos a la mitad, son de $0.0002165 \text{ cm}^2/\text{ms}$ para los fibroblastos, y $0.00065 \text{ cm}^2/\text{ms}$ en las células de epicardio.
- *High fibrosis* ($P_f = 40\%$), junto con un coeficiente de difusión al 50%. Este es el caso más extremo considerado, con el porcentaje de fibrosis de mayor incidencia y el coeficiente de difusión más reducido.

2.5. Protocolos de estimulación cardíaca

Los protocolos de estimulación descritos en este apartado se utilizan para estudiar cada una de las diferentes condiciones de remodelado del tejido cardíaco consideradas (apartado 2.4). En algunos

casos y en función de la distribución de los fibroblastos a lo largo del tejido, se observa la aparición de una estimulación espontánea durante los primeros instantes, que es conducida a lo largo de todo el tejido. Dicho estímulo se debe a la diferencia de potencial que se establece entre el potencial de reposo de los fibroblastos ($V_m = -53$ mV) y el de las células del epicardio ($V_m = -84$ mV). Normalmente, se da en zonas lo suficientemente grandes como para generar un estímulo eléctrico significativo. Los estímulos espontáneos suelen aparecer en aquellas áreas en las que una cantidad considerable de fibroblastos rodean parcialmente un número menor de miocitos (Figura 5). A continuación, se exponen los protocolos de estimulación celular empleados en este proyecto. Todos los estímulos aplicados comienzan 700 ms después del inicio de la simulación con el objetivo de asegurar que todas las células del tejido se encuentren ya en situación de reposo tras la posible aparición de algún estímulo espontáneo.

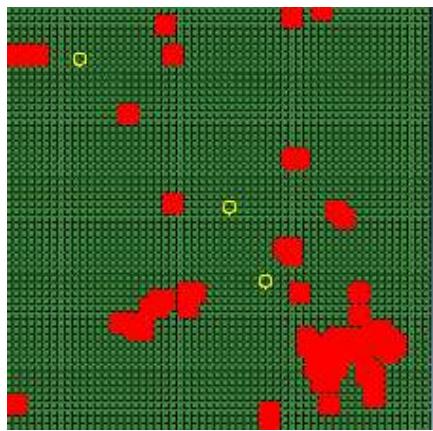


Figura 5. Modelo de tejido ventricular con fibrosis tipo patchy. Se resalta la zona de fibroblastos de la que parte un estímulo espontáneo debido a las diferencias de potencial entre las células de epicardio y los fibroblastos. En verde, las células de epicardio; en rojo, los fibroblastos.

2.5.1. Protocolo periódico

Este protocolo se emplea para analizar el comportamiento estacionario de la célula. En este caso, se aplica un estímulo con una frecuencia prefijada antes de comenzar la simulación. Este intervalo de tiempo es conocido como *Cycle Length* (CL) y se establece inicialmente a 1000 ms. El modelo se simula hasta alcanzar un estado estacionario, del cual se toman los valores de las variables de estado en el último instante de la simulación. Estos valores se establecen como condiciones iniciales de simulación. Posteriormente, se aplican tres latidos y se analizan los resultados para el último de ellos.

2.5.2. Protocolo de estimulación cruzada (S1-S2)

Este protocolo se lleva a cabo para estudiar cómo actúan las células ante estímulos prematuros. En primer lugar, se aplica un estímulo S1 similar al descrito para el protocolo periódico, con un CL = 1000 ms. Posteriormente, se aplica un segundo estímulo de carácter prematuro, S2,

transcurrido un intervalo de tiempo conocido como intervalo diastólico (DI). El instante de aparición de S2 va variándose hasta conseguir que se produzca una reentrada anómala del estímulo hacia las células que ya habían sido estimuladas previamente.

2.5.3. Protocolo de restitución dinámico

Este protocolo se emplea para estudiar el comportamiento eléctrico celular frente a ritmos cardíacos elevados. Para ello, se aplica un estímulo S1 similar al de los dos protocolos descritos anteriormente, pero en esta ocasión a un CL menor. La frecuencia de estimulación de S1 se aumenta progresivamente para cada simulación y se analiza la dependencia de la duración del AP en función de la frecuencia cardíaca establecida.

2.6. Cálculo de electrogramas

El cálculo de los EGMs unipolares se lleva a cabo a partir de los valores de potencial transmembrana V obtenidos de las simulaciones. Se sigue un procedimiento similar al empleado en otros estudios, como en [24] donde se calculan EGMs unipolares en fibras unidimensionales o en [25] donde se calculan EGMs a partir de modelos tridimensionales. En este caso, se realiza un cómputo a partir de los potenciales simulados en tejido bidimensional mediante la siguiente ecuación:

$$\phi_e(x', y', z') = -K \iint \nabla V \cdot \nabla \left[\frac{1}{r} \right] dS, \quad (2)$$

$$r = [(x - x')^2 + (y - y')^2 + (z - z')^2]^{1/2},$$

donde ∇V es el gradiente espacial del potencial transmembrana V , K es una constante que incluye el ratio entre las conductividades intracelular y extracelular, r es la distancia entre el punto de medida en el tejido (x, y, z) y la posición del electrodo (x', y', z') y dS es la superficie diferencial.

Se calculan EGMs en 144 posiciones tomadas a una distancia de la superficie de 0.2 cm en el eje z , considerando una malla de electrodos de 2.44 x 2.44 cm con un espaciado de 0.2 cm entre electrodos. Todas las operaciones relativas a la obtención de los EGMs se realizan en MATLAB. Previo a este cómputo, se omiten los valores del potencial transmembrana de los bordes de la malla bidimensional (0.5 cm por lado) con el objetivo de evitar la alteración de los resultados a causa de las aproximaciones de contorno.

2.7. Marcadores preclínicos de riesgo arrítmico

En este apartado, se exponen los diferentes marcadores preclínicos, asociados con el riesgo de arritmias, que se derivan tanto del AP como de las señales EGM. Asimismo, se asocian los protocolos previamente mencionados con el marcador que se obtiene a partir de los mismos.

- APD90. Este marcador se define como la duración del AP al 90% de su repolarización total (Figura 6). La prolongación del APD se considera normalmente como un mecanismo encargado de evitar el riesgo proarrítmico. Sin embargo, un APD prolongado combinado con una mayor triangulación puede relacionarse también con la aparición de arritmias debido a la posible aparición de despolarizaciones tempranas (EAD – *Early Afterdepolarizations*) [26]. En todo caso, la prolongación del AP por sí misma no constituye un mayor riesgo proarrítmico. El cálculo del APD90 o APD se realiza a partir de los resultados obtenidos del protocolo periódico, asegurando así que el tejido se encuentra en estado estacionario.
- Triangulación del AP. El cálculo de este marcador se obtiene como la diferencia entre APD90 y APD50 ($Tr = APD90 - APD50$). Análogamente a la definición de APD90, APD50 se define como la duración del AP al 50% de su repolarización (Figura 6). Cuanto mayor es esta diferencia, más triangular es el AP, mientras que, a menor diferencia, más larga es la duración de la fase de meseta del AP, resultando en una morfología más cuadrada. La triangulación del AP es propuesta por Hondeghem et al. como uno de los marcadores principales a la hora de evaluar el riesgo de arritmias [27].

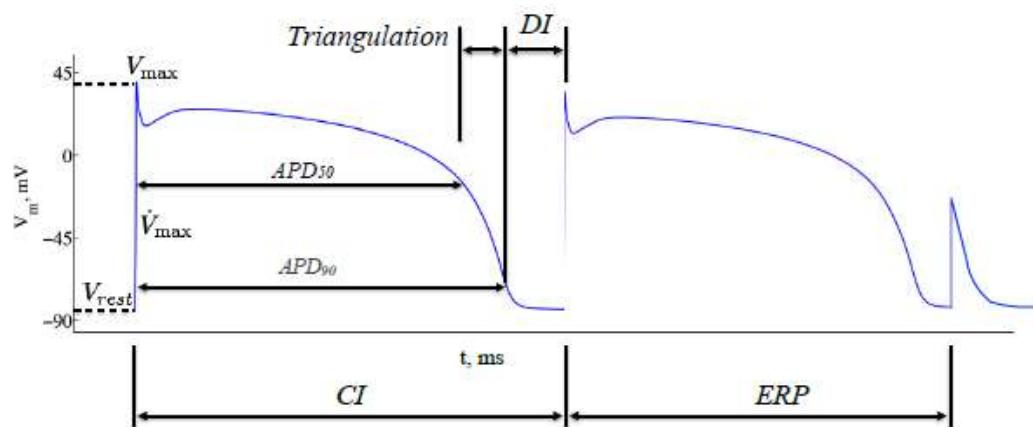


Figura 6. Potencial de acción de células ventriculares.

- Ventana vulnerable (VW – Vulnerability Window). La ventana vulnerable se cuantifica mediante el protocolo S1-S2 y se corresponde con los intervalos de acoplamiento (CIs – *Coupling Intervals*) en los que un estímulo prematuro S2 induce la aparición de

reentradas. El primer instante de tiempo de la VW se establece en el momento en que el frente de estimulación rota al menos dos veces. Asimismo, el final de la ventana vulnerable se corresponde con el instante último en el que se producen reentradas. La VW es, por tanto, un claro indicador proarrítmico.

- *Activation Recovery Interval (ARI)*. El valor de este intervalo se obtiene a partir de la representación de los EGMs unipolares. El ARI está comprendido entre el instante de tiempo de gradiente mínimo de la onda de despolarización (gradiente máximo en la curva de bajada) y el instante de gradiente máximo de la onda de repolarización (Figura 7) [28]. Este marcador cuantifica la duración de la repolarización local. Asimismo, tanto su morfología como su duración pueden verse alteradas en función de las características espaciales presentes alrededor de la célula estudiada, lo que permite realizar un análisis más completo de las diferentes casuísticas consideradas.

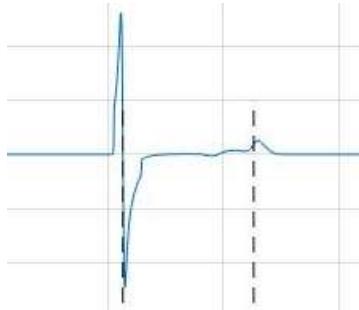


Figura 7. Electrograma calculado a partir de un tejido ventricular simulado. Se marca el inicio y el final del Activation Recovery Interval.

- Alternancias. El fenómeno de alternancias es un claro marcador de riesgo arrítmico que puede derivar en la generación de reentradas, causando irregularidades en la actividad eléctrica del corazón [29]. Las alternancias en el APD se manifiestan con mayor probabilidad cuando el ritmo cardíaco es elevado, por lo que se estudia su aparición aplicando el protocolo de restitución dinámico descrito en el apartado 2.5.3. El criterio establecido para identificar la ocurrencia de este fenómeno es que la diferencia entre APDs consecutivos, a un CL establecido, sea mayor o igual que 10 ms y se mantenga en el tiempo.

Capítulo 3

Resultados

Este capítulo muestra los resultados obtenidos del estudio de los efectos del envejecimiento cardíaco sobre la actividad eléctrica del corazón. Se realizan simulaciones de diferentes escenarios a partir de los modelos descritos en la sección anterior y se analizan los efectos a nivel de los APs del tejido y a nivel de los EGMs calculados a partir de ellos.

3.1. Efectos del envejecimiento en los electrogramas

El análisis de los EGMs se muestra a continuación para nueve posiciones de electrodos, que son las mismas en todos los casos. Estos nueve electrodos, cuya localización se muestra en la Figura 8A, se corresponden con nueve de los 144 que se han calculado en total. El nodo sobre el que se encuentra un electrodo marca las características principales de los EGMs calculados, aunque los elementos que se encuentran alrededor también tienen una aportación. Cuanto más alejados estén los electrodos del tejido, menos local es su visión de la actividad eléctrica en ese punto. Los EGMs que se muestran a continuación están normalizados por la amplitud máxima de los EGMs del caso de control. Los EGMs se representan junto con el AP de la célula sobre la que se encuentra el electrodo para corroborar que el punto de inicio y final de los ARIs coincide aproximadamente con el gradiente máximo del potencial (subida del AP) y con el instante en el que el AP de dicha célula se ha repolarizado al 90%, respectivamente en varios casos de interés.

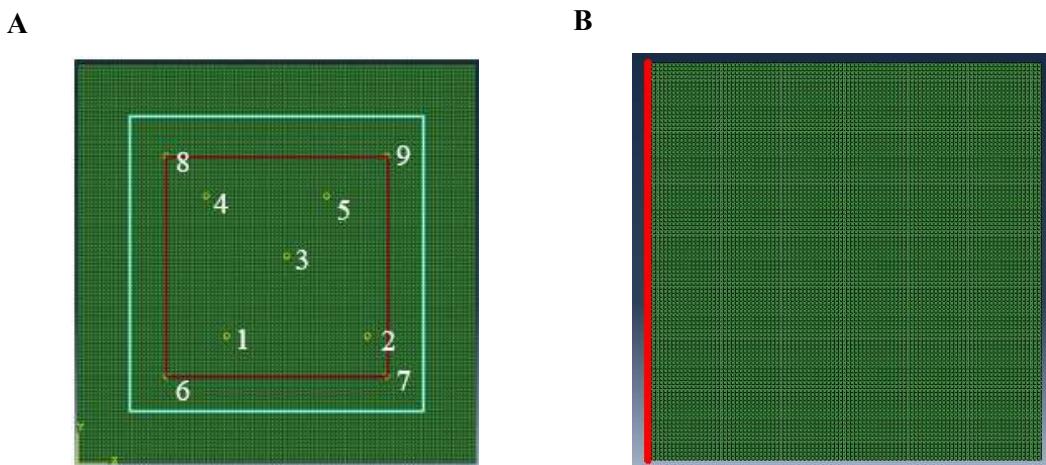


Figura 8. Tejido bidimensional empleado en las simulaciones. A. En azul se muestra la zona de tejido a partir de la que se calculan los EGMs tras eliminar los bordes; en rojo, los límites de la malla de electrodos; en amarillo, los nueve electrodos escogidos para la representación de resultados; en blanco, la numeración de los nodos considerada. B. Estímulo plano SI aplicado en el lateral izquierdo del tejido. Imágenes obtenidas con Abaqus.

El cálculo de los EGMs se realiza a partir de los APs calculados aplicando el protocolo periódico. En este caso, se dan tres estímulos a un CL = 1000 ms y se recogen los resultados del tercer latido. El estímulo, de tipo plano, parte del lateral izquierdo del tejido (Figura 8B). A partir de los EGMs, se obtiene el valor del ARI y de las amplitudes de pico normalizadas y se analizan los datos resultantes para cada escenario.

3.1.1. Efectos de la fibrosis

Electrogramas en tejido de control

En primer lugar, se calculan los EGMs en los nueve puntos escogidos en el tejido sin fibrosis.

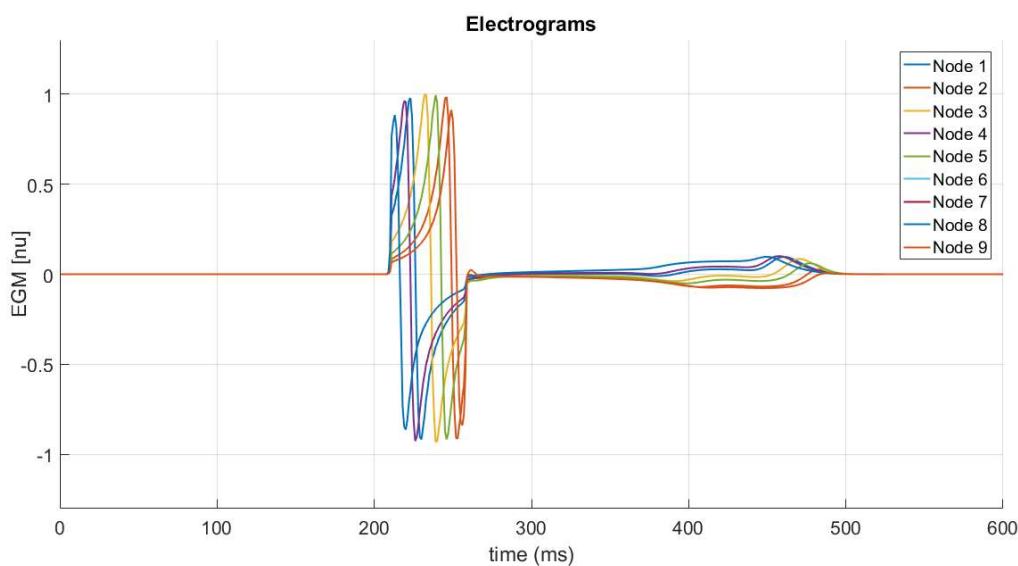


Figura 9. Electrogramas en nueve electrodos para el caso de control. Representación de los EGMs calculados a partir de los APs simulados.

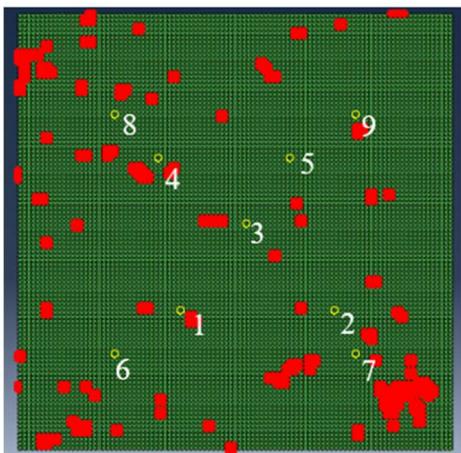
En la Figura 9, se observan los nueve EGMs. Debido a que el frente parte del lateral izquierdo del tejido, se observa cómo los primeros nodos en despolarizar son el nodo 6 y 8. Asimismo, estos dos nodos tienen la misma coordenada x , por lo que el frente de estimulación llega al mismo tiempo a ambos puntos. Es por ello, que ambos EGMs coinciden en todos los puntos. Del mismo modo, los nodos 7 y 9 se corresponden con el mismo EGM, pero en este caso el estímulo les llega en último lugar. Los nodos del 1 al 5, que tienen diferente coordenada para ambos ejes, se despolarizan en instantes diferentes, según les va llegando el frente de estimulación. Los EGMs obtenidos se encuentran centrados en el punto 0 del eje y y en todos los casos y tienen una duración semejante. Por otro lado, la amplitud máxima de pico a pico de los nodos 1 al 5 es similar, mientras que la de los nodos 6 al 9 es algo menor. Esto se debe a que cada uno de los electrodos calcula su EGM correspondiente teniendo en cuenta tanto la información del nodo sobre el que se encuentra, cuyo efecto es el principal, como de las características de las células que rodean al mismo. Por lo tanto, dicha disminución es debida a que los nodos 6, 7, 8, y 9 se encuentran en cada una de las

esquinas de la malla de electrodos, mientras que los nodos 1 al 5 están en posiciones más céntricas de la malla.

Electrogramas en tejido con fibrosis tipo *patchy*

A continuación muestran los resultados de los EGMs obtenidos para la fibrosis de tipo *patchy*. Puede observarse que los nodos 1 al 5 se sitúan sobre células de epicardio.

A



B

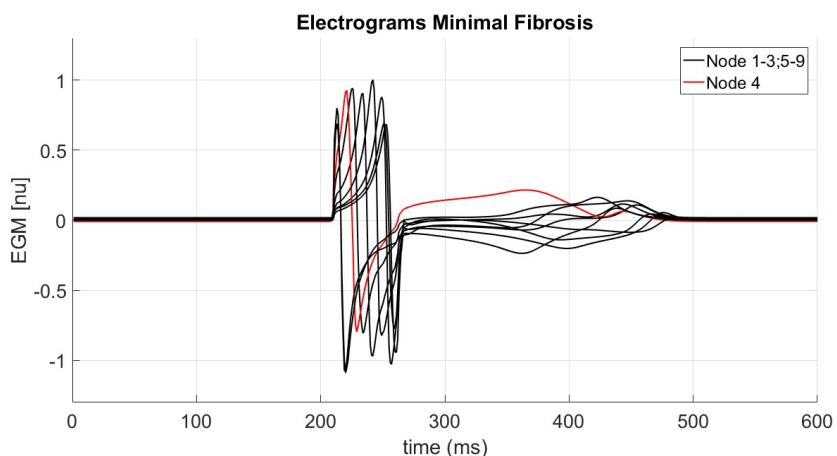
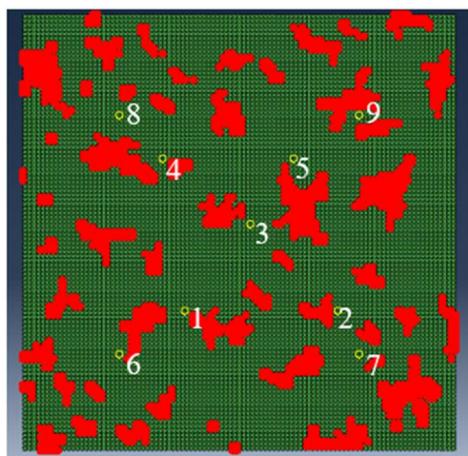


Figura 10. EGMs para Minimal fibrosis. A. Tejido ventricular con fibrosis tipo *patchy* para un Pf del 4.59%, caso de Minimal fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nueve nodos. B. EGMs obtenidos para Minimal fibrosis. En rojo, EGM para el nodo 4.

La figura 10, recoge los resultados para el escenario de *Minimal fibrosis*. En la Figura 10A aparecen el tejido ventricular, con los puntos sobre los que se encuentran los electrodos bajo estudio resaltados en amarillo y las células consideradas como fibroblastos en rojo. En la Figura 10B, se muestran los EGMs. En este caso, se resalta en rojo el EGM correspondiente al nodo 4, por su notable diferencia en la morfología del intervalo ST localizado entre las ondas de depolarización y repolarización. Si se observa la imagen del tejido, se aprecia cómo este nodo está más rodeado de fibrosis que los demás, por lo que el EGM correspondiente se ve más distorsionado debido al efecto de estos fibroblastos, que tienen características de potencial

diferentes a las de los miocitos. Asimismo, la diferencia de potencial existente entre las células de epicardio y los fibroblastos durante la fase de reposo del AP es la causante de que la línea de base de los EGMs no se encuentre centrada en 0 en todos los casos. Por otro lado, la anchura de la onda de despolarización es mayor que en el caso de no fibrosis (Figura 9), con una subida de la curva de despolarización menos acusada. No obstante, al margen de las diferencias destacadas, todos los EGMs mantienen bien definidas tanto la onda de despolarización de los ventrículos como la onda que describe la repolarización de estos.

A



B

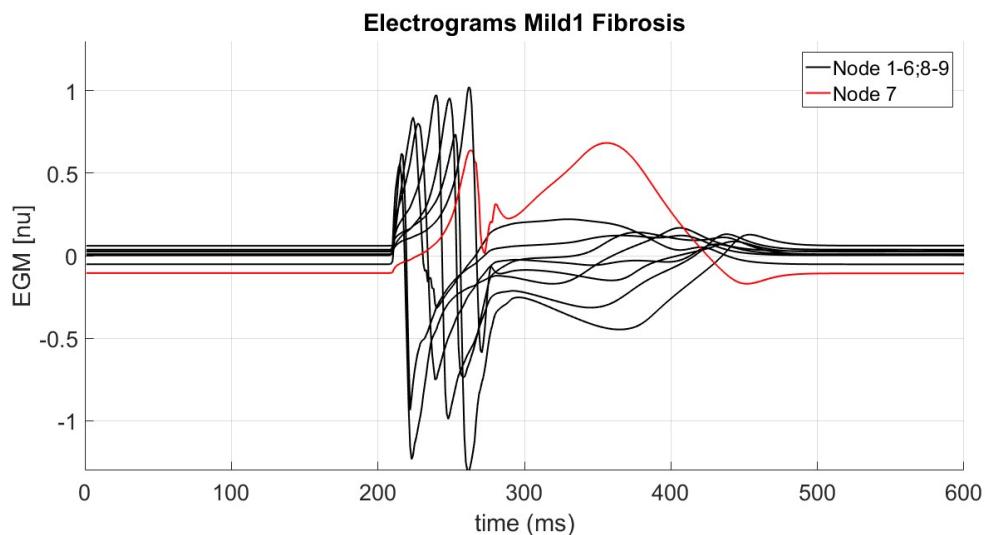


Figura 11. EGMs para Mild1 fibrosis. A. Tejido ventricular con fibrosis tipo patchy para un Pf del 14%, caso de Mild1 fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nueve nodos. B. EGMs obtenidos para Mild1 fibrosis. En rojo, EGM para el nodo 7.

En el caso de *Mild1 fibrosis*, la morfología del EGM del nodo 7 varía notablemente, donde puede observarse que la amplitud de la onda de despolarización disminuye considerablemente. Además, el intervalo ST está totalmente alejado de su morfología fisiológica. El nodo 7 está en el lateral más alejado de las células de las que parte el estímulo, por lo que tanto la despolarización y repolarización del mismo, como de las células que lo rodean se ven afectados por las agrupaciones

de fibroblastos con los que se encuentra el frente de estimulación a lo largo del tejido. En este caso, la despolarización de las células va a destiempo, lo que causa que la fase de meseta de sus APs se dé a instantes diferentes. Esta diferencia de potenciales es la causante de que aparezca una curva positiva en la zona del intervalo ST. Estas mismas diferencias aparecen en todos los nodos, en mayor o menor medida, a lo largo de todo el ciclo de activación así como en el estado de reposo (desplazamiento de la línea de base).

En las Figuras 12A y 12C, se representa el escenario en el que la fibrosis aumenta hasta un 28%. En este caso, se observa un efecto más acusado sobre los EGMs, que presentan un proceso de activación más dispar, con una onda de despolarización más ancha que en los casos anteriores. El análisis de la variación en la amplitud pico a pico de los EGMs se realiza más adelante, pero cabe destacar aquí cómo los nodos 3 y 7 alcanzan un pico positivo superior a la unidad. En las Figuras 12B y 12D, se muestra el tejido ventricular con un 40% de fibrosis. Es el caso más acusado de estudio. La evidencia más notable de las alteraciones en la actividad eléctrica cardíaca se refleja en el nodo 7, que ya en el escenario de fibrosis *Mild1* describe una morfología atípica, con una onda de despolarización atípica y el EGM correspondiente centrado en -0.4 n.u..

Los fibroblastos, que presentan características de conducción distintas, modifican el ritmo al que avanza el frente de estimulación. En la Figura 12D, se destacan los nodos 7, en rojo, y 9, en azul, que, aunque comparten la misma coordenada y, la despolarización se da en instantes diferentes. En lo que respecta al noveno nodo, cabría esperar una morfología del EGM más diferenciada de la de las células de epicardio ya que se encuentra sobre un fibroblasto. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la información que recoge el electrodo se ve influenciada también por la actividad de células vecinas a aquella sobre la que se sitúa el electrodo. En cualquier caso, puede comprobarse que siguen existiendo claras diferencias entre la condición fisiológica, tanto en amplitud o línea de base, como en las características de los diferentes intervalos.

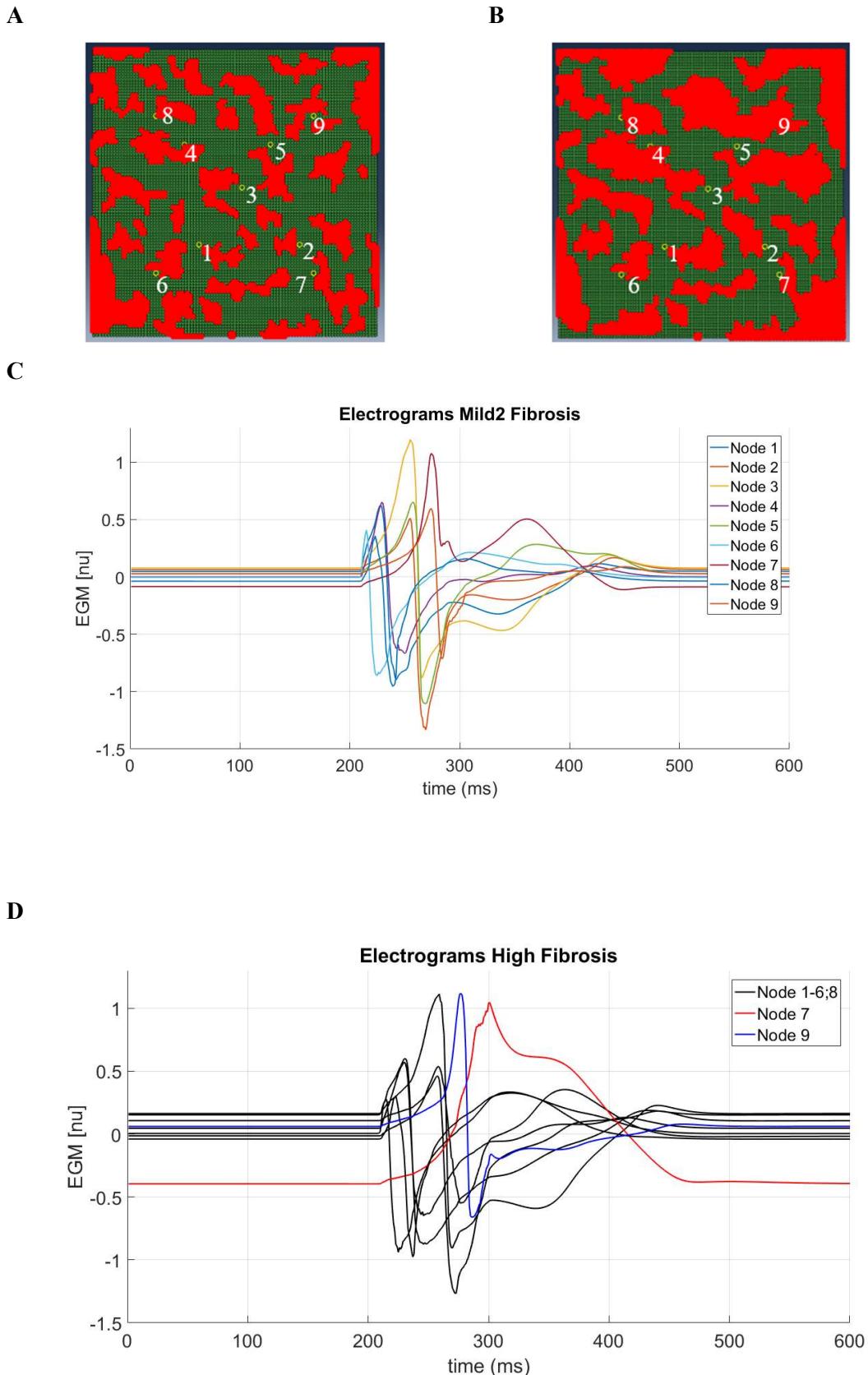


Figura 12. EGMs para Mild2 y High fibrosis. A. Tejido ventricular con fibrosis tipo patchy para un Pf del 28%, caso de Mild2 fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nueve modos. B. Tejido ventricular con fibrosis tipo patchy para un Pf del 40%, caso de High fibrosis C. EGMs obtenidos para Mild2 fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nodos 1 al 8. El nodo 9 no se resalta en amarillo marcando así que se encuentra sobre un área de fibrosis. D. EGMs obtenidos para High fibrosis.

Electrogramas en tejido con fibrosis difusa

En este proyecto se analiza también, un escenario en el que la fibrosis está repartida en el tejido de manera homogénea, denominada fibrosis difusa. Los porcentajes de fibrosis simulados son los mismos que en el caso de fibrosis *patchy*.

Los resultados se muestran en el Figura 13. A medida que el porcentaje de fibrosis aumenta, se observa cómo los EGMs se van distorsionando. Análogamente a lo sucedido con la fibrosis tipo *patchy*, el intervalo de la onda de despolarización se ensancha, y el intervalo ST pierde progresivamente su carácter plano. La activación eléctrica celular varía por la heterogeneidad de las células consideradas, provocando cambios similares a los del caso anterior. Sin embargo, al contrario de lo que le ocurre con el nodo 7 en la fibrosis tipo *patchy*, cuyo EGM sufre una distorsión total, aquí ninguno de los nodos destaca por una pérdida tan acusada de las características fisiológicas de su actividad eléctrica. Esto se debe a la distribución difusa de los fibroblastos, que en este caso no forman grandes conglomerados de fibrosis, por lo que el frente de propagación no sufre alteraciones tan marcadas. Además, la información que recogen los electrodos, a un mismo porcentaje de fibrosis, proviene de una relación del número de fibroblastos por célula de epicardio parecida. Este hecho se refleja en que la morfología de unos EGMs y otros, a un mismo porcentaje de fibrosis, no es tan dispar como en el caso de fibrosis tipo *patchy*, disparidad que comienza a ser importante ya a partir del caso de *Mild1 fibrosis*.

Activation Recovery Interval

El valor de los ARIs se calcula para todos los EGMs que se muestran en la sección anterior. En la Figura 14A, se muestra la evolución de los ARIs a medida que la fibrosis, de tipo *patchy*, aumenta. Como puede observarse, se trata de una tendencia descendente generalizada en los escenarios de *Minimal fibrosis*, *fibrosis Mild1* y *fibrosis Mild2*. Cuando la concentración de fibroblastos aumenta hasta un 40%, los resultados son variados. En los nodos 1, 7 y 8 el valor del ARI aumenta. En los nodos 2, 4, 5, 6 y 9 se mantiene el carácter descendente de los primeros casos, mientras que el valor del ARI para el nodo 3 es idéntico al calculado para un porcentaje de fibrosis del 28%. No obstante, al margen de las diferencias destacadas, los ARIs describen una línea descendente a medida que el porcentaje de fibrosis aumenta, hecho que concuerda con las imágenes de los EGMs mostradas previamente, donde el intervalo de despolarización de los ventrículos aumenta pero la duración total del proceso de activación y posterior repolarización disminuye.

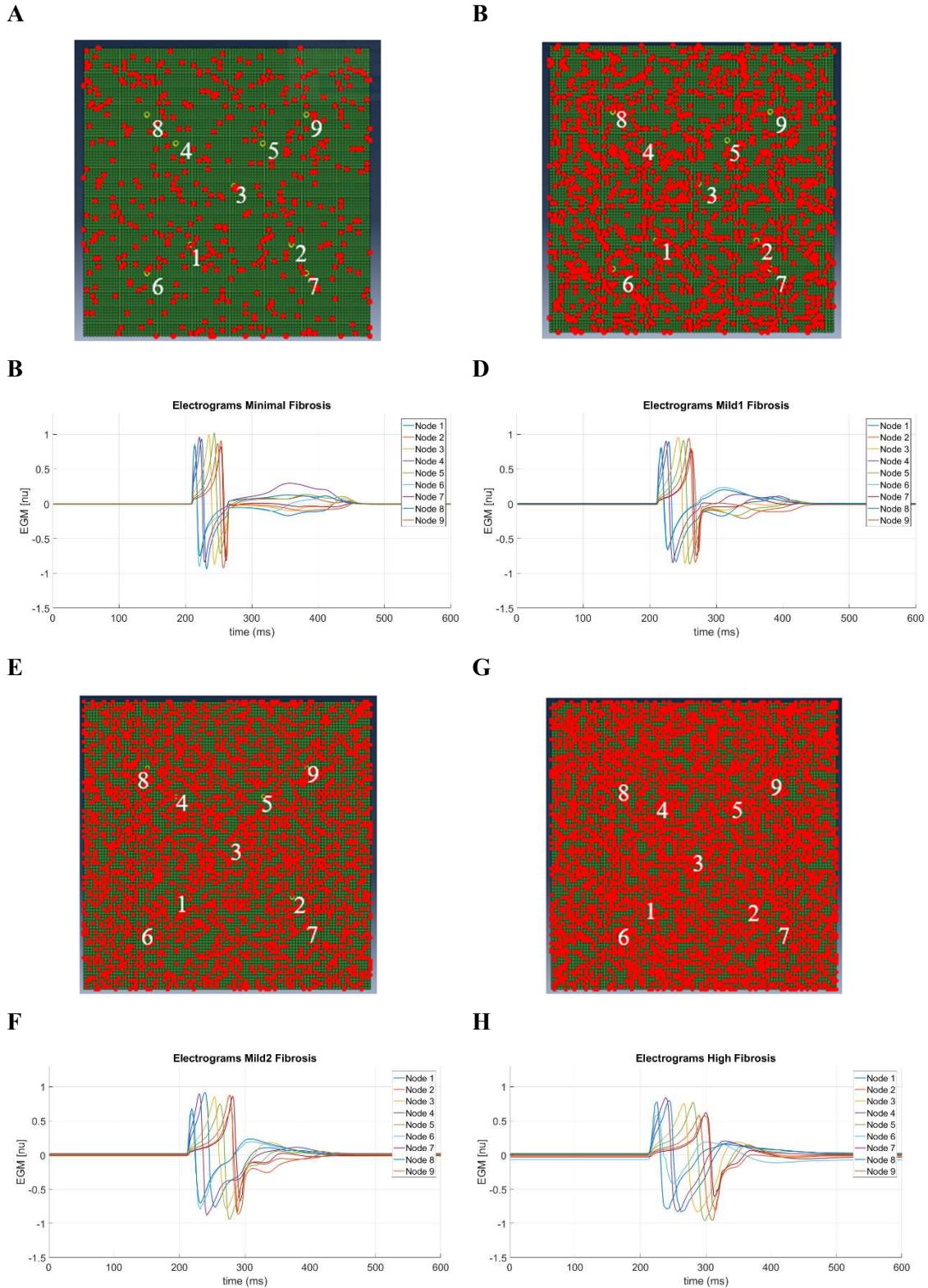


Figura 13. EGMs para todos los casos de fibrosis difusa. A. Tejido ventricular con fibrosis para un Pf del 4.59%, caso de Minimal fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nueve nodos. B. EGMs obtenidos para Minimal fibrosis. C. Tejido ventricular con fibrosis para un Pf del 14%, caso de Mild1 fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nueve nodos. D. EGMs obtenidos para Mild1 fibrosis. E. Tejido ventricular con fibrosis para un Pf del 28%, caso de Mild2 fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nodos que se encuentran sobre células de epicardio. F. EGMs obtenidos para Mild2 fibrosis. G. Tejido ventricular con fibrosis para un Pf del 40%, caso de High fibrosis. En rojo; los fibroblastos; en amarillo, la localización de los nodos que se encuentran sobre células de epicardio. H. EGMs obtenidos para High fibrosis.

La Figura 14B muestra el gráfico de caja de los nodos en función del porcentaje de fibrosis. En color rojo se marca la línea de conexión de la media entre los escenarios a distinta Pf. La media de los ARIs disminuye a mayor número de fibroblastos en el tejido ventricular. Cabe destacar cómo la variabilidad entre los ARIs calculados en distintos electrodos aumenta cuando la fibrosis está presente en comparación con el caso de control (no fibrosis), siendo el escenario de *high fibrosis* el que mayor variabilidad presenta. Aunque la mediana vaya en concordancia con este descenso en la longitud del intervalo, para Pf = 40% se observa cómo el segundo cuartil recoge valores comprendidos entre los 165 y los 185 ms, aproximadamente, mientras que cuando no existe fibrosis, el rango en el que se encuentran los ARIs es considerablemente menor (226 – 227 ms).

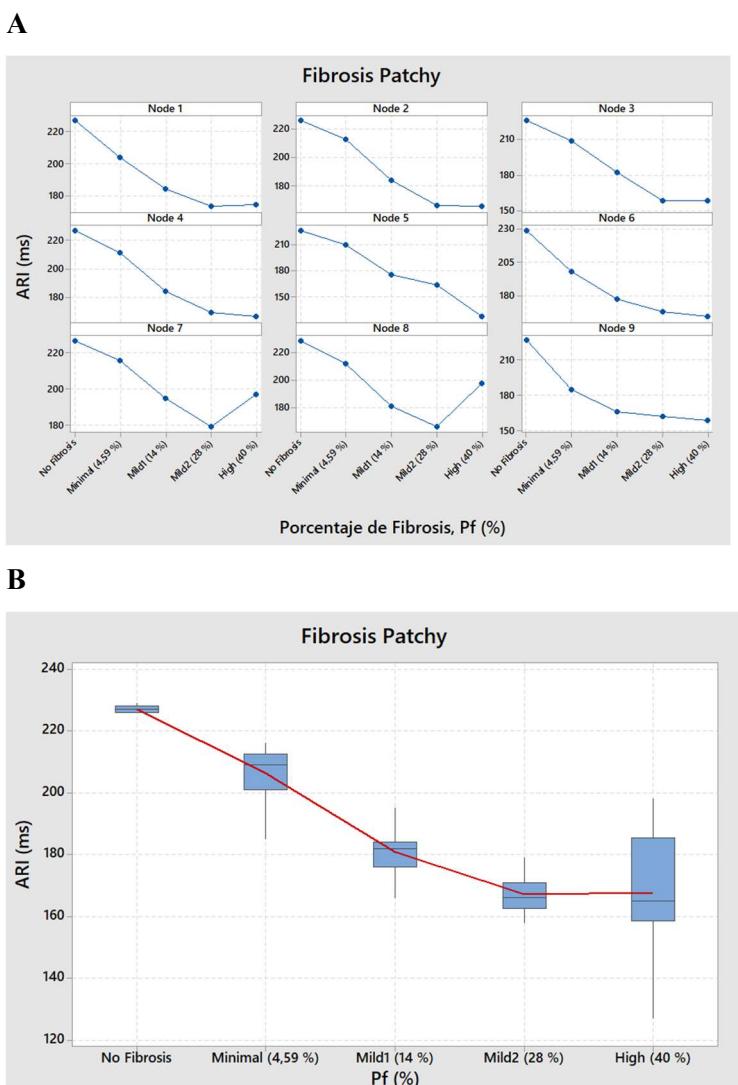


Figura 14. Evolución de los ARIs. A. Se muestra la tendencia del ARI para todos los casos de fibrosis presentes en el estudio para cada uno de los nodos. B. Gráfico de caja que muestra la tendencia global de los ARIs a medida que aumenta la fibrosis presente en el tejido. Resultados para fibrosis de tipo patchy.

De manera análoga al cómputo de los EGMs, se obtienen también los distintos valores del ARI considerando fibrosis difusa. En la Figura 15A, se muestra la tendencia del valor de los ARIs a

medida que la fibrosis aumenta para cada uno de los nueve electrodos destacados para una distribución difusa de fibroblastos. Como puede observarse, se trata de una tendencia descendente generalizada en los escenarios de *Minimal fibrosis* y *Mild1 fibrosis*. La variación que se experimenta en el caso de *Mild2 fibrosis* respecto al de *Mild1*, a excepción del nodo 8, es prácticamente nula. Cuando la concentración de fibroblastos aumenta hasta un 40%, los resultados son variados. En los nodos 1, 2, 3, 7 y 9 el valor del ARI aumenta de nuevo. En los nodos 4, 6 y 9 se mantiene el carácter descendente de los primeros casos, mientras que el valor del ARI para el nodo 5 sufre una variación mínima respecto a los dos marcos previos. No obstante, al margen de las excepciones mencionadas, el comportamiento de los resultados es similar al descrito para fibrosis tipo *patchy*.

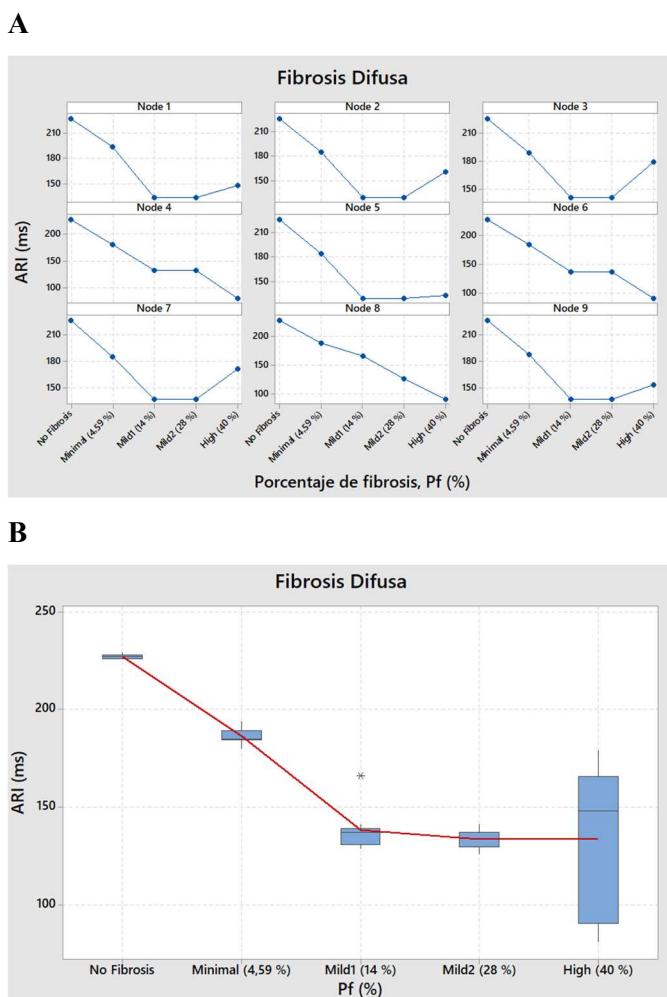


Figura 15. Evolución de los ARIs. A. Se muestra la tendencia del ARI para todos los casos de fibrosis presentes en el estudio para cada uno de los nodos. B. Gráfico de caja que muestra la tendencia global de los ARIs a medida que aumenta la fibrosis presente en el tejido. Resultados para fibrosis difusa.

Cuando los fibroblastos aparecen de manera más homogénea a lo largo del tejido, el valor medio de los ARIs decrece con una pendiente absoluta mayor para los casos de *Minimal* y *Mild1 fibrosis*, alcanzando en este último valores inferiores a los 150 ms, mientras que cuando la fibrosis es de tipo *patchy* los ARIs no disminuyen por debajo de los 150 ms hasta Pf = 40%. El valor medio de

los ARIs tiene a mantenerse para porcentajes de fibrosis superiores al 14% aunque la variabilidad entre los ARIs de distintos electrodos se dispara para el caso de 40% de fibrosis. Asimismo, se alcanzan ARIs inferiores a los 100 ms en alguno de los nodos cuando el tejido presenta *High fibrosis*.

Amplitud de los EGMs

Otro aspecto importante que se ha planteado para terminar de analizar la morfología de los EGMs es la amplitud pico a pico máxima de la onda de despolarización, en busca de si existe una notable diferencia en presencia de un cúmulo de fibrosis anómalo en el tejido. De nuevo, se calculan las amplitudes para los dos tipos de distribución de los fibroblastos incluidos en el estudio.

El grafico de caja de la Figura 16 muestra la tendencia de las amplitudes a medida que la fibrosis aumenta. Como puede observarse, la media de las amplitudes, representada por la línea en rojo que se destaca, disminuye cuanto más alto es el porcentaje de fibroblastos. Sin embargo, la variabilidad de los resultados crece notablemente a partir del caso de *Mild1*, con valores de amplitud similares al de caso de control en algunos nodos, o realmente inferiores a estos en otros.

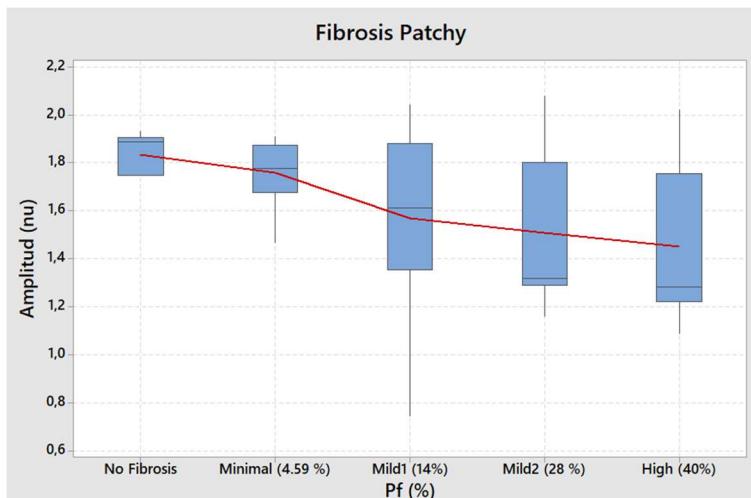


Figura 16. Gráfico de caja que muestra la tendencia global de las amplitudes de los EGMs a medida que aumenta la fibrosis presente en el tejido.

Cuando la disposición de la fibrosis es difusa, la tendencia de las amplitudes también es descendente. En este caso, aunque la variabilidad de los resultados aumenta cuanto más alta es la concentración de fibrosis, dicha dispersión es inferior a la observada cuando los fibroblastos se concentran en grandes conglomerados (Figura 17).

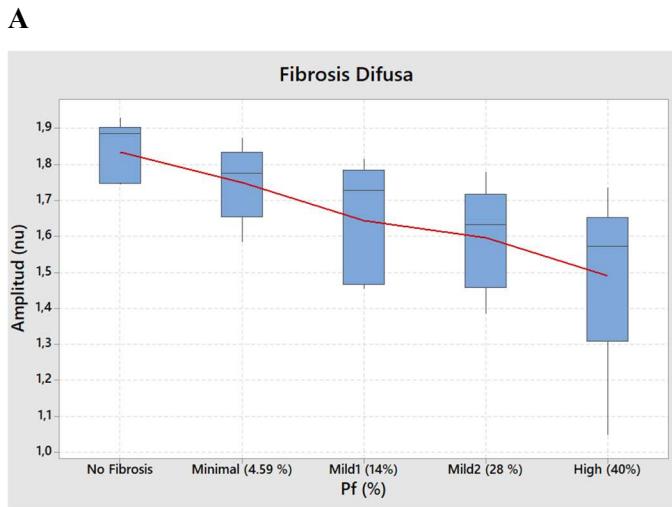


Figura 17. Gráfico de caja que muestra la tendencia global de las amplitudes de los EGMs a medida que aumenta la fibrosis presente en el tejido.

3.1.2. Efectos del desacoplamiento intercelular

Al igual que se analizan los efectos de la fibrosis, también se estudia qué consecuencia tiene la pérdida de conductividad entre las células del tejido sobre los EGMs. Se mantienen los mismos nueve electrodos para la representación.

La disminución del grado de acoplamiento intercelular se modela modificando los valores del coeficiente de difusión, D , que inicialmente es de $0.0013 \text{ cm}^2/\text{ms}$ para todas las células de epicardio de la malla. Como se ha apuntado en la sección 2.4.2 del capítulo 2, el factor de difusión se ha reducido en un 25, 50 y 75%.

Los resultados obtenidos de los EGMs reflejan el comportamiento esperado (Figura 18). Debido a que se está simulando una pérdida de conectividad entre unas células y otras, pero mantienen sus propiedades celulares, los EGMs conservan su morfología, pudiendo diferenciar los distintos intervalos y con la línea de base centrada en cero durante el estado de reposo. Sin embargo, la pérdida de conductividad entre las células de epicardio refleja una ralentización progresiva en la trasmisión del frente de activación a medida que el coeficiente de difusión disminuye. En el caso de control (Figura 9), todas las células han repolarizado ya a los 500 ms, mientras que para un coeficiente de difusión multiplicado por un factor de 0.25, a los 500 ms algunos EGMs se encuentran en la subida de la onda de repolarización, mientras otras células todavía están a punto de comenzar esta repolarización de los ventrículos. Lo mismo sucede con la onda de despolarización de todos los nodos, que experimentan un ensanchamiento notable si se compara el caso de menor conductividad con el caso de control. Cabe destacar la pérdida de linealidad en los EGMs cuando el coeficiente de difusión se reduce en un 75%, donde aparecen pequeños escalones en las zonas de gradientes absolutos mayores.

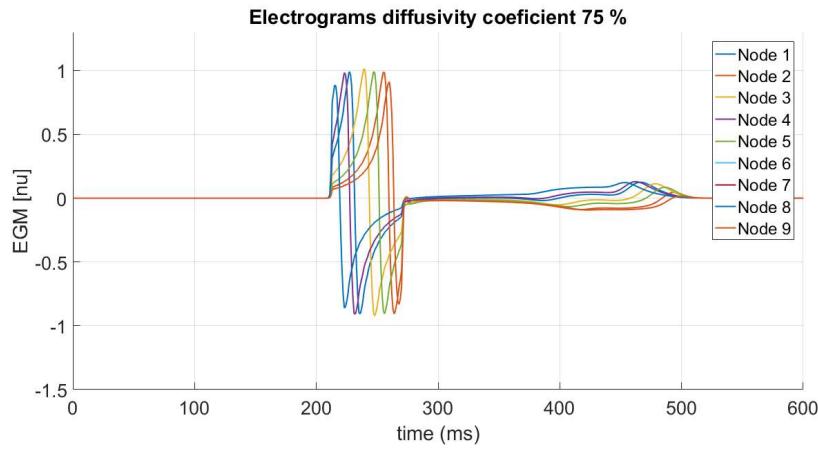
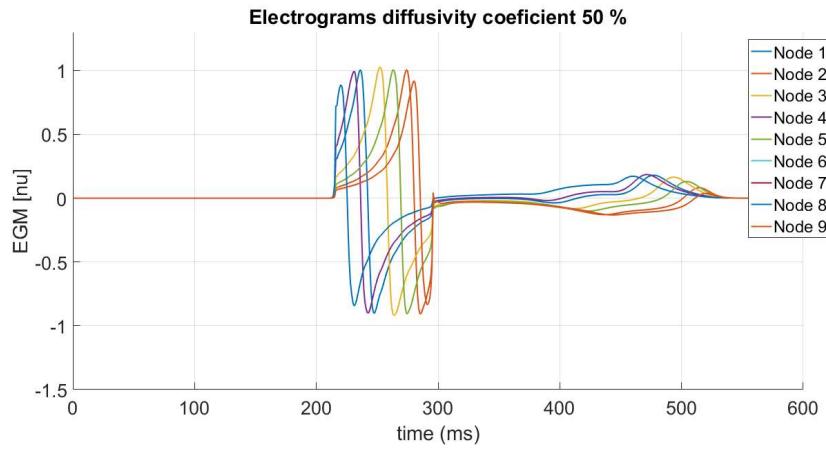
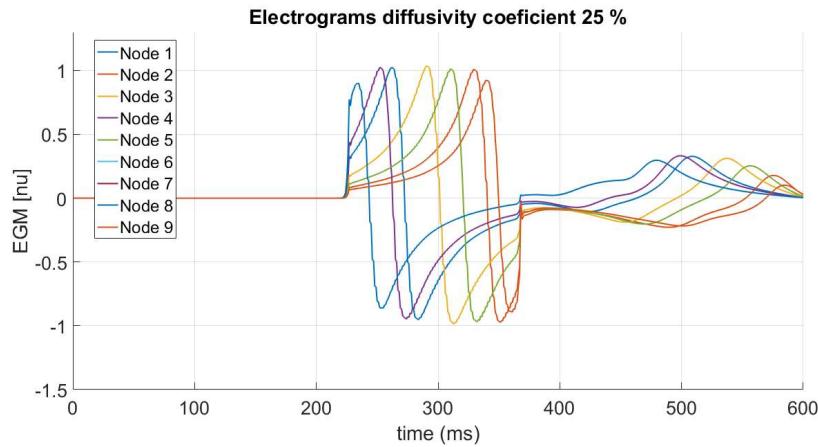
A**B****D**

Figura 18. Electrogramas obtenidos para el estudio del desacoplamiento intercelular. A. Coeficiente de difusión D al 75%. B. Coeficiente de difusión D al 50%. C. Coeficiente de difusión D al 25%.

Activation Recovery Interval

La imágenes que muestran los EGMs de los nueve electrodos en conjunto, reflejan una prolongación global en el tiempo de propagación del estímulo a lo largo del tejido. No obstante, conviene analizar los efectos que aparecen de manera local.

El gráfico de caja de la Figura 19A muestra cómo el valor de los ARIs se mantiene cuando el coeficiente D se reduce al 75%. Cuando D disminuye a la mitad, la media de los ARIs decrece, reduciéndose de nuevo cuando el coeficiente se multiplica por un factor de 0.25. Por tanto, podría afirmarse que este intervalo se ve reducido a medida que aumenta el desacoplamiento intercelular. Sin embargo, esta disminución es de 7 ms en el mayor de los casos, si se compara el valor del ARI más alto de control (229 ms) con el intervalo más corto obtenido para un coeficiente al 25% de su valor fisiológico (222 ms). Es decir, la reducción en los ARIs en este escenario es mínima comparada con la reducción que sufre cuando el factor de envejecimiento analizado es la fibrosis. Por lo tanto, el efecto que el desacoplamiento intercelular tiene en los ARIs puede considerarse en cierta medida despreciable.

Amplitudes de EGMs

Una vez descartado un impacto importante de la pérdida de conductividad entre células en los ARIs, se analizan las amplitudes de los EGMs. Las amplitudes se mantienen prácticamente iguales independientemente del valor del coeficiente de difusión, a excepción del caso de mayor reducción en el coeficiente de difusión, donde sufren un ligero aumento (Figura 19B).

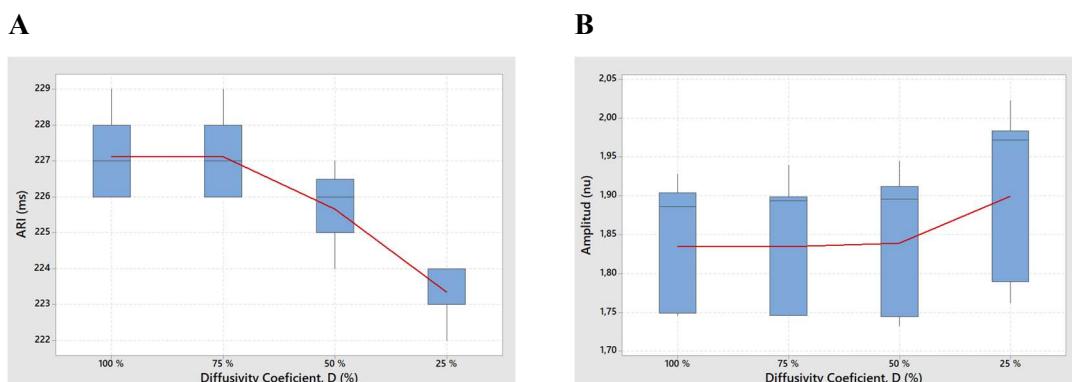


Figura 19. Evolución de los ARIs y de las amplitudes de los EGMs considerando la perdida de conectividad celular. A. Gráfico de caja con la evolución de los ARIs a medida que disminuye D. B. Gráfico de caja de las amplitudes de los EGMs a medida que disminuye D.

3.1.3. Efectos combinados de fibrosis y desacoplamiento intercelular

Una vez analizados los efectos en los EGMs que tienen por separado cada uno de los factores de envejecimiento considerados en este proyecto, se procede al estudio del impacto que supone sobre la actividad eléctrica la combinación de ambos factores de remodelado inducido por el envejecimiento. Del lado de la fibrosis, se escoge el tejido con la disposición *patchy* cuando el porcentaje de fibroblastos *Pf* es del 14% (*MildI*) y el 40% (*High*). A estos dos niveles de fibrosis se les suma una reducción en el coeficiente de difusión del 25 y 50%. Por lo tanto, se tienen cuatro nuevos escenarios. Las células de epicardio mantienen un coeficiente de difusión inicial de $0.0013 \text{ cm}^2/\text{ms}$, mientras que el de los fibroblastos es de $0.000433 \text{ cm}^2/\text{ms}$.

Los EGMs resultantes en estas nuevas condiciones combinan el comportamiento que se obtenía en el tejido con fibrosis, esto es, la distorsión de la forma de los EGMs y la variación del potencial de reposo y de las amplitudes pico a pico de la onda de despolarización con el obtenido cuando existe un desacoplamiento intercelular, donde las ondas de despolarización y repolarización se ensanchan (Figuras 20 y 21).

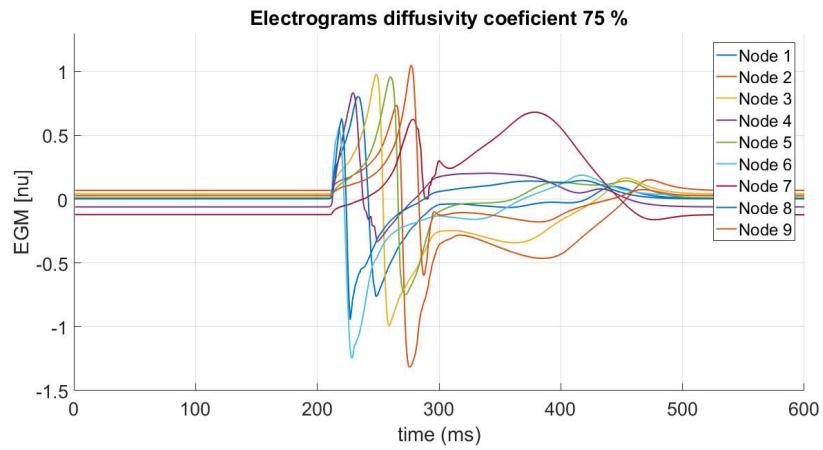
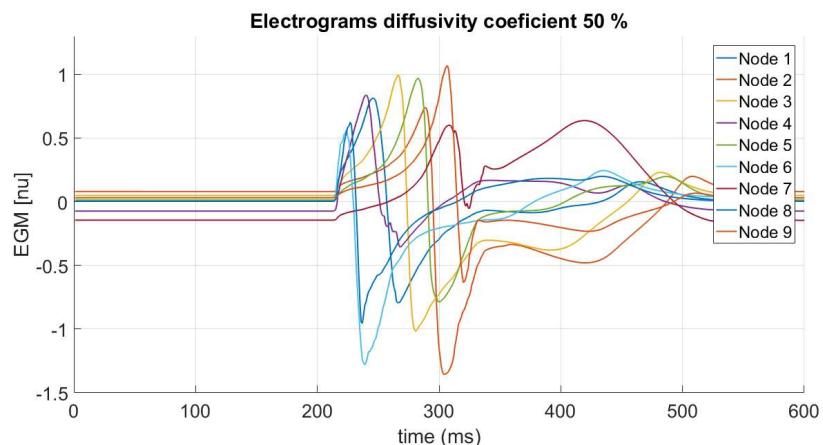
A**B**

Figura 20. Electrograma con fibrosis y desacoplamiento intercelular presentes en el tejido. A. Mild1 fibrosis junto con un coeficiente de difusión al 75%. B. Mild1 fibrosis con un coeficiente de difusión al 50%.

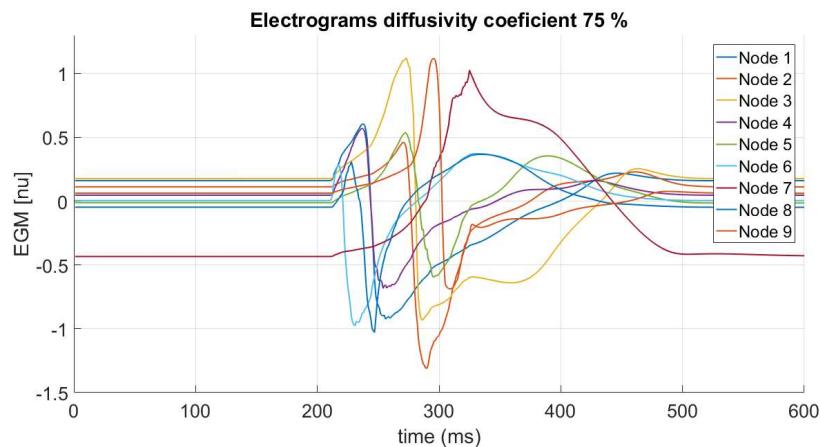
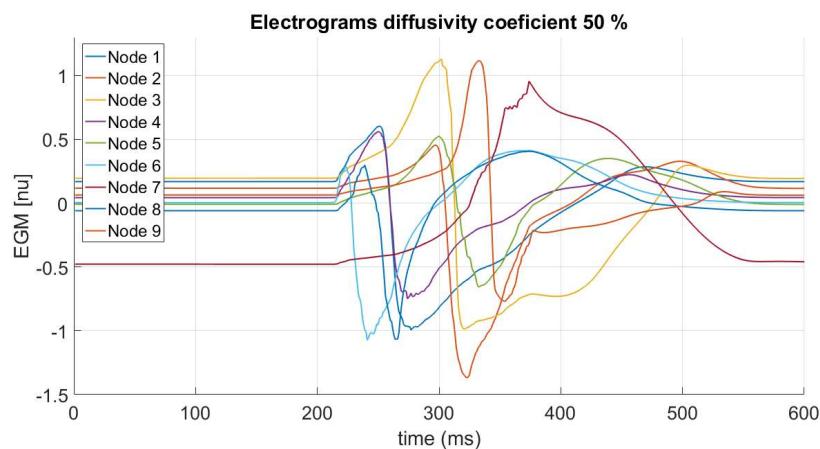
A**B**

Figura 21. Electrograma con fibrosis y desacoplamiento intercelular presentes en el tejido. A. High fibrosis junto con un coeficiente de difusión al 75%. B. High fibrosis con un coeficiente de difusión al 50%.

Activation Recovery Interval

Los resultados de la combinación de factores sobre los ARIs se muestran en la Figura 22A y 22B. En ambos escenarios de fibrosis, se observa que el acortamiento de los ARIs es más acusado cuando el coeficiente de difusión se corresponde con su valor inicial. A medida que la conductividad intercelular disminuye, la longitud de los ARIs aumenta de nuevo. Esto se debe a que la influencia de las células que rodean al nodo sobre el que está centrado el electrodo tiene un impacto menor cuando la conductividad disminuye. Por lo tanto, cuanto menor es el coeficiente de difusión, menos acusada es la distorsión que ejercen los fibroblastos sobre las células de epicardio.

El ARI está comprendido entre el instante de tiempo de gradiente mínimo de la onda de despolarización (gradiente máximo en la curva de bajada) y el instante de gradiente máximo de la onda de repolarización, y en situaciones fisiológicas coincide con el APD90 de la célula sobre la que se encuentra el electrodo. En la Figura 22C se presenta esta correspondencia. En situaciones de remodelado del tejido ventricular, el instante inicial del ARI deja de coincidir con el instante

de gradiente máximo del AP si la fibrosis está presente en el tejido. Asimismo, la triangulación del AP es mayor en presencia de fibrosis. Cuando el coeficiente de difusión es del 25% de su valor inicial, la triangulación del AP en presencia de fibrosis es algo mayor que cuando tan sólo se considera la fibrosis, aunque no llegan a re establecerse valores fisiológicos.

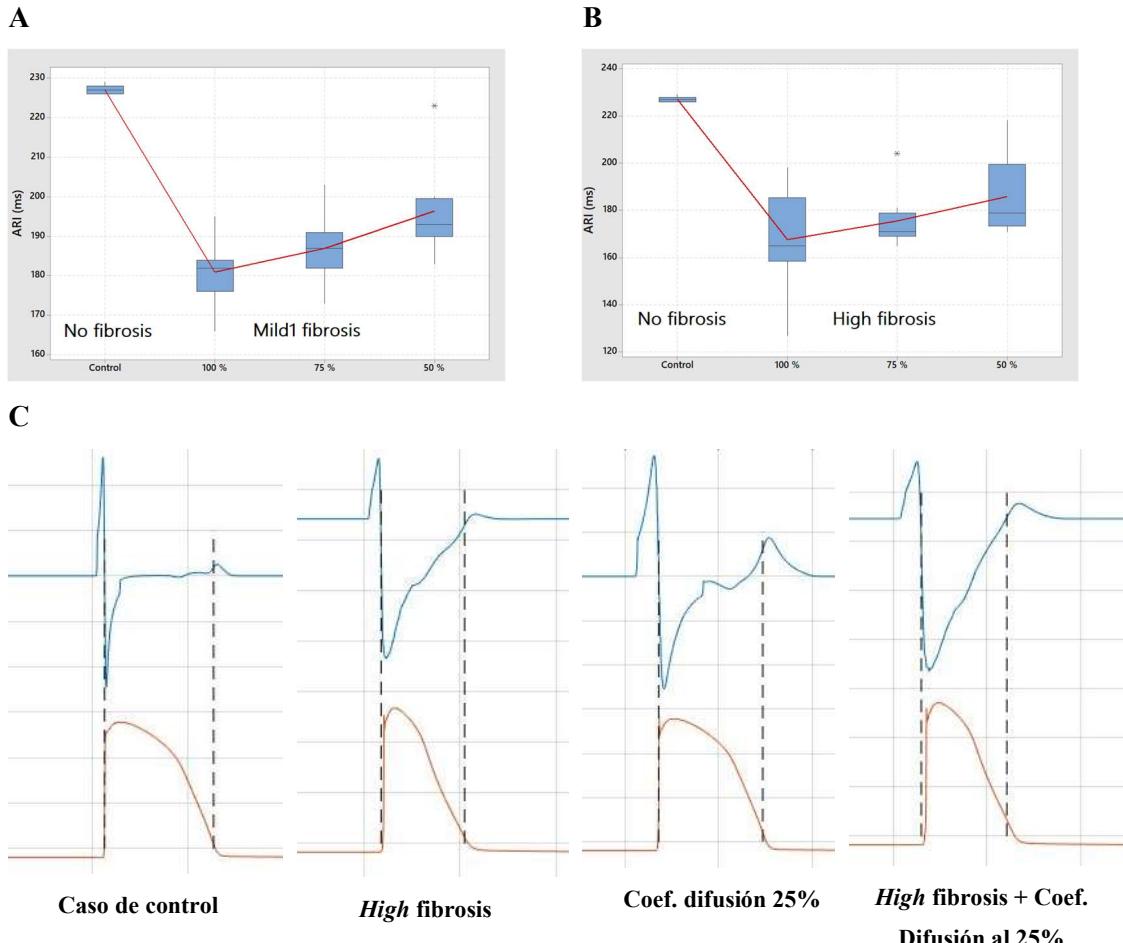


Figura 22. Estudio de la combinación de factores en EGMs. A. Gráfico de caja con la evolución de los ARIs para $P_f = 14\%$, Mild1 fibrosis, a medida que disminuye el coeficiente de difusión. B. Gráfico de caja con la evolución de los ARIs para $P_f = 40\%$, High fibrosis, a medida que disminuye el coeficiente de difusión. C. EGMs junto con el AP correspondientes al nodo 1 para la situación de control, de fibrosis High, de coeficiente de difusión al 25% y con la combinación de estos dos últimos.

Amplitudes de los EGMs

El impacto sobre las amplitudes máximas de los EGMs es similar al descrito para los ARIs. Cuando el desacoplamiento intercelular crece, los electrodos recogen una información más localizada, por lo que el comportamiento en cada punto se ve menos influenciado por su entorno.

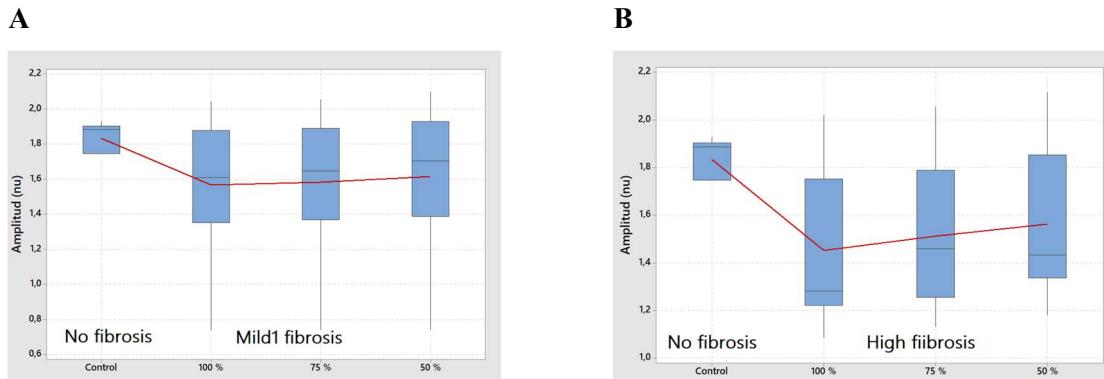


Figura 23. Evolución de las amplitudes de los EGMs ante la combinación de factores. A. Gráfico de caja con la tendencia de las amplitudes en un tejido de Mild1 fibrosis. B. Gráfico de caja con la tendencia de las amplitudes en un tejido de High fibrosis.

3.2. Efectos del envejecimiento en la generación de reentrantas

La simulación de reentrantas se realiza aplicando el protocolo de estimulación cruzada (S1 – S2). Los frentes de estimulación se modelan para dos situaciones diferentes. En una de ellas, los dos estímulos S1 y S2 parten del lateral izquierdo del tejido, mientras que para el segundo parten de lado derecho. Se obtienen los resultados de la ventana vulnerable (*Vulnerability Window - VW*) para cada caso y se realiza la media aritmética entre ambas situaciones con el fin de obtener una perspectiva del comportamiento más generalizada, ya que se ha advertido que la aparición de las reentrantas se ve influenciada por los bloqueos resultantes de las agrupaciones de fibrosis. En el Anexo C pueden encontrarse los vínculos a varios vídeos del progreso de los estímulos a lo largo del tiempo cuando se generan reentrantas junto con una breve explicación.

3.2.1. Efectos de la fibrosis

El estudio de la generación de reentrantas sobre el tejido ventricular en presencia de fibrosis se lleva a cabo tanto para la distribución de fibroblastos tipo *patchy* como difusa. En cuanto a la fibrosis tipo *patchy*, los resultados reflejan cómo los límites de la ventana vulnerable se amplían generalmente a medida que el porcentaje de fibrosis aumenta. Sin embargo, el caso de *Minimal* fibrosis presenta una longitud de ventana vulnerable que rompe con esta tendencia. Esto puede deberse a la localización de los grupos de fibroblastos en el tejido y los bloqueos cuando se propaga el frente de estimulación. En cuanto a los límites de la VW, se observa cómo a mayor porcentaje de fibrosis, más temprana es la aparición de las reentrantas. Esto se debe a la deformación de los APs de las células ante la presencia de fibroblastos, que ven su periodo refractario efectivo disminuido, por lo que parte del tejido ventricular ya se encuentra repolarizado y capaz de despolarizarse de nuevo ante un estímulo prematuro.

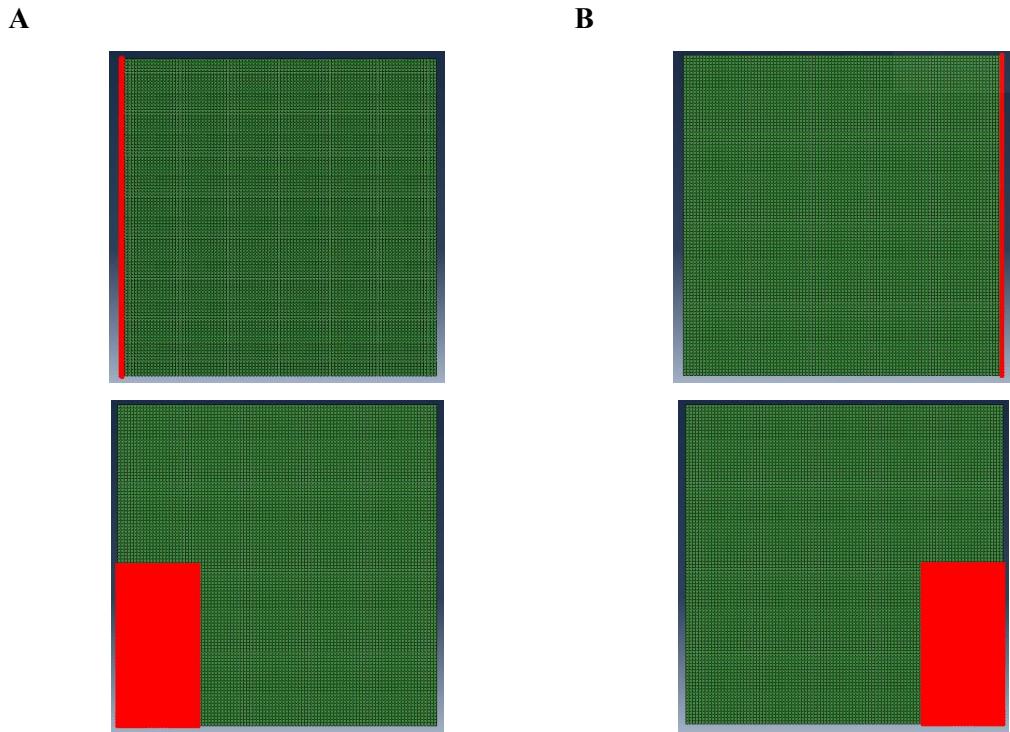


Figura 24. Estímulos S1 – S2 aplicados en el protocolo de estimulación cruzada. A. Estímulos simulados para la situación 1, ambos estímulos parten del lateral izquierdo. Arriba S1 de tipo plano, abajo, S2 de tipo rectangular. B. Estímulos simulados para la situación 2, ambos estímulos parten del lateral derecho. Arriba S1 de tipo plano, abajo, S2 de tipo rectangular.

Cuando la fibrosis es de tipo difusa, los resultados varían respecto al caso anterior. La tendencia creciente de la longitud de la VW se mantiene, aunque se alcanzan niveles máximos menores en comparación con la fibrosis tipo *patchy*. Además, aparecen situaciones en las que no llegan a darse las reentradas en ningún momento, como es el caso de *Minimal* fibrosis.

A continuación, se muestra la tabla que recoge el promedio de la longitud de VW cuando los estímulos se dan desde el lado derecho y el izquierdo. En el Anexo D, pueden encontrarse las tablas que recogen el valor de VW para todos los casos simulados.

Fibrosis <i>Patchy</i>	
Fibrosis (Pf%)	VW length (ms)
No Fibrosis	4.5
Minimal (4.59)	13
Mild1 (14)	8
Mild2 (28)	44
High (40)	68

Tabla 1. Media aritmética entre los valores de VW cuando los estímulos se dan desde el lado izquierdo y derecho en fibrosis *patchy*.

Diffuse Fibrosis	
Fibrosis (Pf%)	\bar{VW} length (ms)
No Fibrosis	4.5
Minimal (4.59)	-
Mild1 (14)	9
Mild2 (28)	10
High (40)	36.5

Tabla 2. Media aritmética entre los valores de VW de la situación 1 y la situación 2 en fibrosis difusa.

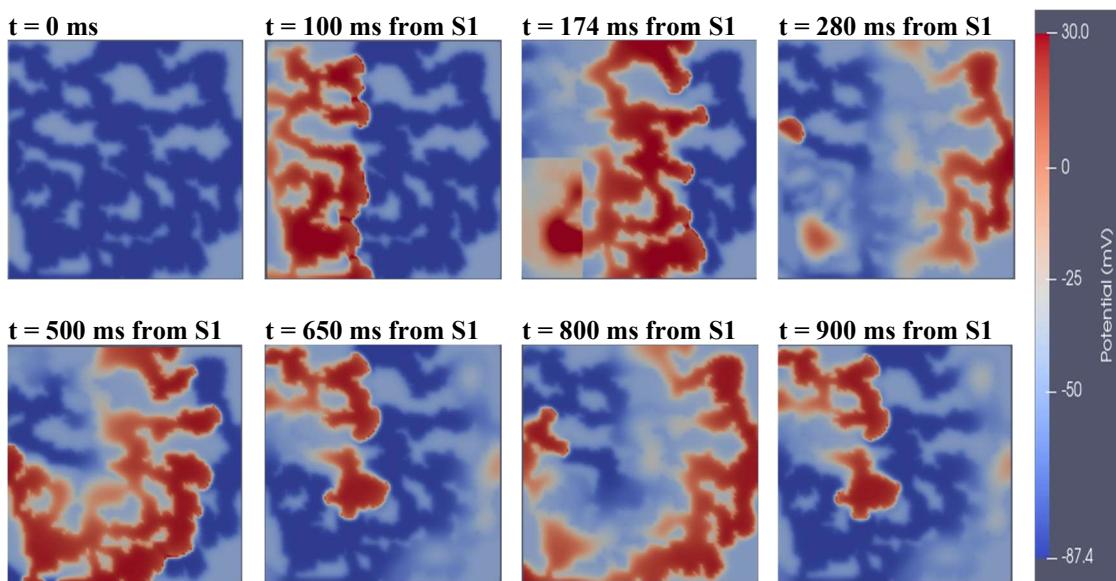


Figura 25. Generación de reentradas en tejido con High fibrosis patchy. Diferentes instantes de tiempo en la aplicación del protocolo S1-S2. Las capturas se obtienen desde Paraview. El video completo de la generación de reentradas, se presenta en el anexo C1.

3.2.2. Efectos del desacoplamiento intercelular

Cuando el factor de envejecimiento modelado es el de desacoplamiento intercelular, la respuesta del tejido ante estímulos prematuros es similar a la que se obtiene para la fibrosis. La longitud de la ventana vulnerable aumenta progresivamente cuanto menor es el coeficiente de difusión, a un ritmo similar para el caso en el que el estímulo proceda del lateral izquierdo y del lateral derecho. En este caso, el comienzo de la ventana vulnerable varía en un máximo de tan sólo 3 ms respecto del control. Cuando el acoplamiento intercelular disminuye, los efectos locales respecto a la actividad eléctrica de cada célula de epicardio no son significativos, manteniendo unas características del AP parecidas a las del caso de control. Por lo tanto, esta alteración mínima del período refractario efectivo es la causante de que se bloqueen los estímulos prematuros más tempranos casi al mismo nivel que en el caso de control. Sin embargo, la consecuencia principal del desacoplamiento intercelular es la disminución de la velocidad de conducción del frente de estimulación. Por consiguiente, las células que habían sido despolarizadas por S2 en un principio

ya se encuentran fuera de su periodo refractario efectivo cuando este las alcanza de nuevo, haciendo que se vuelvan a despolarizar y facilitando la aparición de reentradas. Esto se refleja en un aumento del límite superior de la VW en el tejido ventricular cuanto menor es el coeficiente de difusión.

Percentage of conductivity factor (%)	\overline{VW} length (ms)
100	3
75	15
50	19.5
25	41

Tabla 3. Media aritmética entre los valores de VW de la situación 1 y la situación 2 en condiciones de desacoplamiento intercelular.

3.2.3. Efectos combinados de fibrosis y desacoplamiento intercelular

En tejido ventricular con un remodelado que combina fibrosis y desacoplamiento intercelular, los datos recogidos muestran un mayor impacto en la longitud de la VW. Mientras que la media de la longitud de la VW es de 8 ms para *Mild1* fibrosis y para el tejido sin fibrosis aumenta a 19.5 ms con un coeficiente de difusión reducido a la mitad. Cuando los dos factores se encuentran presentes en el tejido, la longitud media de la ventana vulnerable aumenta hasta los 36 ms. Cuando el porcentaje de fibrosis crece hasta un 40% (*High fibrosis*) y la difusión disminuye a la mitad, la VW tiene una longitud media de 90 ms, 22 ms superior a la que se obtiene considerando el mismo nivel de fibrosis con un acoplamiento intercelular normal.

<i>Mild1 Fibrosis Patchy</i>	
Percentage of conductivity factor (%)	\overline{VW} length (ms)
100	10
75	14
50	36

Tabla 4. Media aritmética entre los valores de VW de la situación 1 y la situación 2 en condiciones de desacoplamiento intercelular y *Mild1* fibrosis patchy.

<i>High Fibrosis Patchy</i>	
Percentage of conductivity factor (%)	\overline{VW} length (ms)
100	68
75	71.5
50	90

Tabla 5. Media aritmética entre los valores de VW de la situación 1 y la situación 2 en condiciones de desacoplamiento intercelular y *High fibrosis patchy*.

3.3. Fenómeno de alternancias

En la Figura 26 aparecen los valores del APD90 obtenidos en función del CL para el escenario de control (Figura 26A), el de *High fibrosis* (Figura 26C), el de un coeficiente de difusión reducido al 25% de su valor inicial (Figura 26B) y el que conjuga los dos últimos (Figura 26D) tras la aplicación del protocolo de restitución dinámica. En el caso de control, las alternancias no aparecen. Partiendo de esta premisa, es posible que la disminución de la difusión en un 75% no sea suficiente para que se den las alternancias. Este fenómeno tan sólo aparece en el tejido que contiene un alto porcentaje de fibrosis pero con sus características de conducción inalteradas. Aunque los APDs muestran valores diferenciados para latidos consecutivos a partir de un CL = 700 ms, la diferencia entre ambos no es igual o superior a los 10 ms hasta que no se estimula a un CL = 400 ms o menor. Sin embargo, cabe destacar que, en múltiples casos, se da una variación entre APDs pares e impares en los primeros latidos. Aunque estas alternancias transitorias no se mantengan en el tiempo pueden tener efectos puntuales de interés en el estudio.

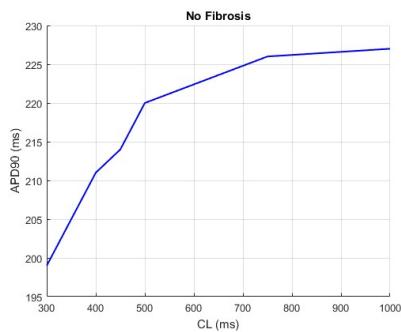
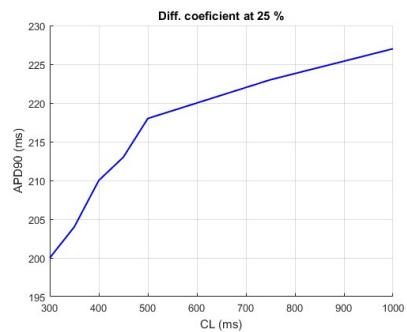
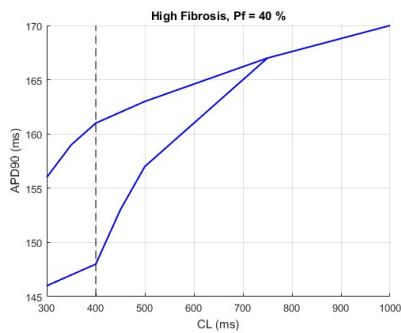
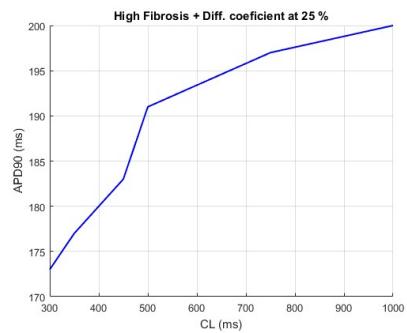
A**B****C****D**

Figura 26. Valores del APD90 a distintos CL. A. Evolución del APD90 para el caso de control. B. Evolución del APD90 para el tejido con un coeficiente de difusión reducido al 25%. C. Evolución del APD90 para el caso de *High fibrosis*. Aparición del fenómeno de alternancias a partir de los 400 ms. D. Evolución del APD90 para el caso que combina *High fibrosis* y coeficiente de difusión reducido al 25%.

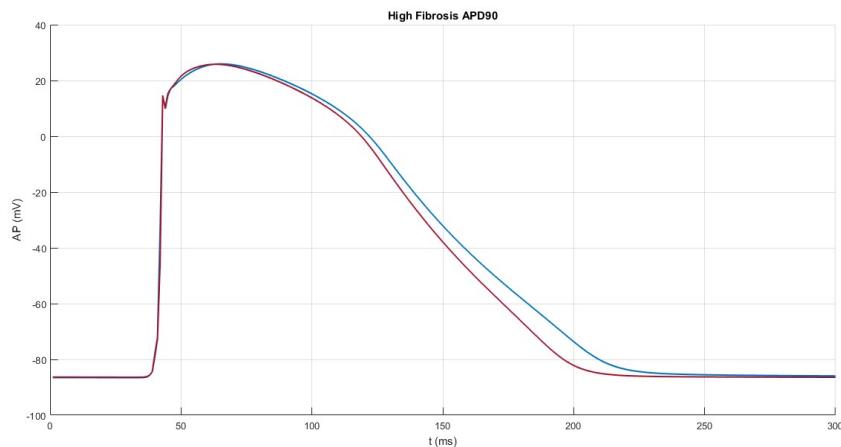


Figura 27. Potencial de acción de dos latidos consecutivos en High Fibrosis a $CL = 400$ ms. En azul, un latido impar, en rojo, el latido par que le sigue.

Capítulo 4

Discusión

Efectos del envejecimiento en los electrogramas

En este proyecto se ha estudiado el efecto de la acumulación fibrosis y del desacoplamiento intercelular en los EGMs obtenidos de tejido ventricular epicárdico. Se ha considerado la inclusión de ambos factores, tanto por separado, como en conjunto. Cuando se acumula fibrosis en el tejido, los EGMs sufren una progresiva distorsión de su morfología a medida que el porcentaje de fibroblastos aumenta, lo cual se ha relacionado con un mayor riesgo de arritmias. Asimismo, el valor de los ARIs y las amplitudes de pico de las ondas de depolarización disminuyen progresivamente, en concordancia con estudios experimentales previos donde se han descrito los efectos de la acumulación de fibrosis sobre los EGMs en patologías como la displasia arritmogénica y la cardiomielitis arritmogénica del ventrículo derecho [30]. El acortamiento de los ARIs, que cuantifican la duración local de la repolarización, viene acompañado de una mayor triangulación del AP. Los efectos en los EGMs en presencia de fibrosis son más notables para fibrosis de tipo patchy que para fibrosis de tipo difusa, ya que en el primer caso el frente de estimulación experimenta bloqueos mayores causados por conglomerados de fibroblastos más extensos.

Cuando el remodelado inducido por el envejecimiento sobre el tejido ventricular implica un desacoplamiento intercelular, la variación principal de los EGMs se da en la duración de las ondas de despolarización y repolarización. El valor de los ARIs no sufre alteraciones importantes. Tampoco lo hacen las amplitudes.

La combinación de factores resulta en alteraciones mayores en los EGMs. En particular, se produce un aumento muy marcado en la dispersión de la repolarización, la cual, unida a la reducción en la velocidad de conducción que sufre el frente de estimulación a causa del desacoplamiento intercelular, pueden derivar en irregularidades, en consonancia con los hallazgos descritos en estudios previos [31]. Incrementos notables tanto en la variabilidad temporal como espacial de la repolarización se asocian con un mayor riesgo arrítmico [32 - 34]

Efectos del envejecimiento en la generación de reentradas

Los resultados obtenidos a partir del análisis de los EGMs se complementan con el estudio de la generación de reentradas ante estímulos prematuros. La dispersión de la repolarización para distintas zonas del tejido causada por la fibrosis favorece la generación de reentradas [35]. De

hecho, los resultados obtenidos en este estudio muestran un incremento en el valor medio de la ventana vulnerable, que asciende a los 68 ms en el caso de mayor acumulación de fibrosis (*High fibrosis tipo patchy*).

Ante escenarios con una conductividad intercelular reducida, la velocidad a la que avanza en el frente de estimulación es menor pero las características de estimulación de las células no varían. Es decir, una vez han sido repolarizadas, sus APs muestran características similares a las del caso control. Sin embargo, el tiempo transcurrido entre que llega el estímulo prematuro S2 por primera y segunda vez es mayor. Por tanto, un mayor número de células se encuentran despolarizadas, siendo estimuladas de nuevo por S2 y favoreciendo las reentrantas. En [36] consideran un modelo experimental de conejo y establecen el desacoplamiento intercelular como causa de arritmias. En la misma línea, en [37, 38] analizan la relación entre el desacoplamiento intercelular y el desarrollo de eventos arrítmicos o fibrilación ventricular.

En este estudio, se muestra cómo la combinación de fibrosis y desacoplamiento celular aumenta la anchura de la ventana vulnerable, llegando a valores de 90 ms en el peor de los casos, que son superiores a las observadas para cada uno de los dos factores por separado.

Efectos del envejecimiento en la aparición de alternancias

El fenómeno de alternancias se ha observado para el escenario de *High Fibrosis*, en concordancia con otros trabajos donde analizan la aparición de alternancias en tejidos con regiones sanas y dañadas [29]. Una diferencia entre APDs consecutivos, siendo el segundo más corto, es decir, con un periodo refractario menor, puede conllevar la aparición de reentrantas arrítmicas, particularmente si distintas regiones del tejido alternan de forma no sincronizada.

4.1. Limitaciones del estudio

En primer lugar, el modelo considerado es de tejido ventricular de células de epicardio. Futuros estudios podrían incluir heterogeneidades transmurales en el tejido ventricular, formado por células del endocardio y miocardio medio además de células del epicardio, además de otro tipo de heterogeneidades (ápex-base, inter-ventriculares). Asimismo, el modelo empleado es bidimensional, por lo que carece de características del comportamiento más realistas como las que se encuentran en modelos tridimensionales [34]. Por otro lado, los escenarios de fibrosis se estudian por separado: fibrosis *patchy* y fibrosis difusa, mientras que estudios histológicos muestran que pueden darse ambas configuraciones en un mismo tejido. Asimismo, debido a limitaciones de coste computacional se ha escogido un número limitado de escenarios simulados y de electrodos para el cálculo de los EGMs estudiados. Finalmente, el fenómeno de alternancias no ha podido reproducirse en tejido ventricular epicárdico, pero podría darse en tejidos de otras

regiones ventriculares. Estudios futuros deberían profundizar en este fenómeno teniendo en cuenta distintos tipos celulares, pues estudios previos han demostrado que las alternancias ocurren con mayor probabilidad en tejido del endocardio o el miocardio medio ventricular que en tejido epicárdico.

Capítulo 5

Conclusiones

Este proyecto propone una nueva metodología de modelado matemático y simulación computacional con el fin de establecer la contribución de dos factores asociados al envejecimiento cardíaco, la fibrosis y el desacoplamiento celular, a las alteraciones en la actividad eléctrica del corazón. El aumento de fibrosis, debido a la acumulación excesiva de colágeno entre las fibras del miocardio, supone un mayor riesgo en la aparición de arritmias que el desacoplamiento intercelular asociado a la pérdida de conexiones eléctricas entre las células que componen el tejido. La combinación de ambos factores de remodelado cardíaco asociado a la edad supone escenarios de riesgo arrítmico más acentuados. El análisis de EGMs recogidos sobre la superficie del tejido cardíaco, o muy próximos a ella, demuestra que es posible obtener marcadores indicativos de las alteraciones eléctricas generadas tanto por la fibrosis como por el desacoplamiento intercelular. Estos resultados pueden servir como base para el futuro desarrollo de metodologías que permitan identificar de manera no invasiva individuos con un envejecimiento cardíaco acelerado que les haga vulnerables a sufrir arritmias cardíacas que podrían conducir a la muerte súbita cardíaca si no se actúa preventivamente.

Referencias

- [1] World Health Organization. (2015, 13 octubre). ¿Qué son las enfermedades cardiovasculares? Organización Mundial de la Salud. https://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/es/
- [2] World Health Organization. (2016, 29 marzo). Enfermedades cardiovasculares. Organización Mundial de la Salud. https://www.who.int/cardiovascular_diseases/es/
- [3] Heart Disease and Stroke Statistics - 2020 Update. (2020). professional.heart.org. <https://professional.heart.org/en/science-news/heart-disease-and-stroke-statistics-2020-update#:~:text=On%20average%2C%20someone%20in%20the,day%2C%20based%20on%202017%20data.>
- [4] Más del 32% de las muertes en Aragón se producen por enfermedad cardiovascular. Fundación Española del Corazón. <https://fundaciondelcorazon.com/prensa/notas-de-prensa/1378-muertes-aragon-por-enfermedad-cardiovascular.html>
- [5] Mirza, M., Strunets, A., Shen, W. K., & Jahangir, A. (2012). Mechanisms of arrhythmias and conduction disorders in older adults. *Clinics in geriatric medicine*, 28(4), 555-573.
- [6] Costanzo, Linda, S. Fisiología (5a. ed.), Elsevier Health Sciences Spain - T, 2014. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/sibucsclsp/detail.action?docID=3429828>. Created from sibucsclsp on 2018-04-07 10:28:24.
- [7] Chorro, F. J., Guerrero, J., Pelechano, F., Trapero, I., Mainar, L., Cánores, J., ... & Bodí, V. (2007). Influencia del tipo de registro (unipolar o bipolar) en las características espectrales de los registros epicárdicos de la fibrilación ventricular. Estudio experimental. *Revista española de cardiología*, 60(10), 1059-1069
- [8] Langberg, J. J., Gibb, W. J., Auslander, D. M., & Griffin, J. C. (1988). Identification of ventricular tachycardia with use of the morphology of the endocardial electrogram. *Circulation*, 77(6), 1363-1369. <https://doi.org/10.1161/01.cir.77.6.1363>
- [9] Kusumoto, F. (2020). ECG interpretation: from pathophysiology to clinical application. Springer Nature.
- [10] Debessa, CR, Mesiano Maifrino, LB, Rodrigues de Souza, R. Age related changes of the collagen network of the human heart. *Mech Ageing Dev*. 2001;122:1049–58.
- [11] Biernacka, A., & Frangogiannis, N. G. (2011). Aging and cardiac fibrosis. *Aging and disease*, 2(2), 158.
- [12] Escuela Tomás Alva Edison. (2015, febrero). Estudio de los Efectos del Envejecimiento en el Corazón. <http://vinculacion.dgire.unam.mx/vinculacion-1/Memoria-Congreso-2013/trabajos-ciencias-biologicas/ciencias-de-la-salud/16.pdf>.
- [13] Cooper et al. Electromechanical and structural alterations in the aging rabbit heart and aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol. 302: H1625-35, 2012.
- [14] Gomez, J. F., Cardona, K., Romero, L., Saiz, J., Belardinelli, L., Rajamani, S., & Trenor, B. (2012, September). Increase in late sodium current and cellular uncoupling exacerbates transmural dispersion of repolarization in heart failure. In 2012 Computing in Cardiology (pp. 233-236). IEEE.
- [15] Potse, M., Krause, D., Bacharova, L., Krause, R., Prinzen, F. W., & Auricchio, A. (2012). Similarities and differences between electrocardiogram signs of left bundle-branch block and left-ventricular uncoupling. *Europace*, 14(suppl_5), v33-v39.

- [16] Dhein, S., & Hammerath, S. B. (2001). Aspects of the intercellular communication in aged hearts: effects of the gap junction uncoupler palmitoleic acid. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 364(5), 397-408.
- [17] Olivan-Viguera, A.; Pérez-Zabalza, M.; García-Mendívil, L.; Mountris, K.A.; Orós-Rodrigo, S.; Ramos-Marquès, E.; Vallejo-Gil, J.M.; Fresneda-Roldán, P.; Fañanás-Mastral, J.; Vázquez-Sancho, M.; Matamala-Adell, M.; Sorribas-Berjón, F.; Bellido-Morales, J.A.; Mancebón-Sierra, F.J.; Vaca-Núñez, A.S.; Marigil, M.A.; Pastor, C.; Ballester-Cuenca, C.; Ordovás, L.; Köhler, R.; Diez, E.R.; Pueyo, E.. 'Minimally invasive system to reliably characterize ventricular electrophysiology from living donors'. *Scientific Reports*. Accepted, 2020.
- [18] O'Hara, T., Virág, L., Varró, A., & Rudy, Y. (2011). Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Comput Biol*, 7(5), e1002061.
- [19] MacCannell, K. A., Bazzazi, H., Chilton, L., Shibukawa, Y., Clark, R. B., & Giles, W. R. (2007). A mathematical model of electrotonic interactions between ventricular myocytes and fibroblasts. *Biophysical journal*, 92(11), 4121-4132.
- [20] Mountris, K.A. and Pueyo, E., 2020. A dual adaptive explicit time integration algorithm for efficiently solving the cardiac monodomain equation. *arXiv preprint arXiv:2011.04747*
- [21] Zhilin Qu; Garfinkel A., "An advanced algorithm for solving partial differential equation in cardiac conduction," in *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 46, no. 9, pp. 1166-1168, Sept. 1999, doi: 10.1109/10.784149.
- [22] Gomes, J. M., Oliveira, R. S., Lobosco, M., & dos Santos, R. W. (2020). Adaptive-step methods for Markov-based membrane models. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 105249.
- [23] Bueno, J. M., Ávila, F. J., & Artal, P. (2016). Second harmonic generation microscopy: a tool for quantitative analysis of tissues. *Microscopy and Analysis*, 99-119.
- [24] Gima, K., & Rudy, Y. (2002). Ionic current basis of electrocardiographic waveforms: a model study. *Circulation research*, 90(8), 889-896.
- [25] Tobón, C., Ruiz-Villa, C. A., Heidenreich, E., Romero, L., Hornero, F., & Saiz, J. (2013). A three-dimensional human atrial model with fiber orientation. *Electrograms and arrhythmic activation patterns relationship*. *PloS one*, 8(2), e50883.
- [26] Weiss J. N., Garfinkel A., Karagueuzian H. S., Chen P. S., & Qu, Z. (2010). Early afterdepolarizations and cardiac arrhythmias. *Heart rhythm*, 7(12), 1891-1899.
- [27] Hondeghem, L. M., Carlsson, L., & Duker, G. (2001). Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic. *Circulation*, 103(15), 2004-2013.
- [28] Haws, C. W., & Lux, R. L. (1990). Correlation between in vivo transmembrane action potential durations and activation-recovery intervals from electrograms. Effects of interventions that alter repolarization time. *Circulation*, 81(1), 281-288.
- [29] Koller, M. L., Maier, S. K., Gelzer, A. R., Bauer, W. R., Meesmann, M., & Gilmour Jr, R. F. (2005). Altered dynamics of action potential restitution and alternans in humans with structural heart disease. *Circulation*, 112(11), 1542-1548.
- [30] Watanabe, H., Chinushi, M., Izumi, D., Sato, A., Okada, S., Okamura, K., ... & Aizawa, Y. (2006). Decrease in amplitude of intracardiac ventricular electrogram and inappropriate therapy in patients with an implantable cardioverter defibrillator. *International Heart Journal*, 47(3), 363-370.
- [31] Santangeli, P., Russo, A. D., Pieroni, M., Casella, M., Di Biase, L., Burkhardt, J. D., ... & Pelargonio, G. (2012). Fragmented and delayed electrograms within fibrofatty scar predict arrhythmic events in

arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: results from a prospective risk stratification study. *Heart Rhythm*, 9(8), 1200-1206.

[32] Sampedro, David A.; Fernández-Bes, J.; Porter, B.; van Duijvenboden, S.; Taggart, P.; Pueyo, E.. 'Mechanisms underlying interactions between low-frequency oscillations and beat-to-beat variability of cellular ventricular repolarization in response to sympathetic stimulation: Implications for arrhythmogenesis'. *Frontiers in Physiology*. 10, pp. 916. 2019.

[33] Sampedro-Puente, D. A.; Fernandez-Bes, J.; Szentándrássy, N.; Nánási, P.; Taggart, P.; Pueyo, E.. 'Time course of low-frequency oscillatory behavior in human ventricular repolarization following enhanced sympathetic activity and relation to arrhythmogenesis'. *Frontiers in Physiology*. 10, pp. 1547. 2020.

[34] Ramírez, J.; Orini, M.; Mincholé, A.; Monasterio, V.; Cygankiewicz, I.; Bayés de Luna, A.; Martínez, J.P.; Pueyo, E.; Laguna, P. 'T-wave Morphology Restitution Predicts Sudden Cardiac Death in Patients with Chronic Heart Failure'. *J Am Heart Assoc.* 6, pp. e005310. 2017.

[35] Gomez, JF; Cardona, K; Romero, L; Rajamani, S; Belardinelli, L; et al. (2013) Electrophysiological and structural remodeling in heart failure modulate arrhythmogenesis. 1D simulaton study.

[36] Wiegerinck RF, van Veen TA, Belterman CN, Schumacher CA, Noorman M, et al. (2008) Transmural dispersion of refractoriness and conduction velocity is associated with heterogeneously reduced connexin43 in a rabbit model of heart failure. *Heart Rhythm* 5: 1178–1185.

[37] Tribulova, N., Manoach, M., Varon, D., Okruhlicova, L., Zinman, T., & Shainberg, A. (2001). Dispersion of cell-to-cell uncoupling precedes low K⁺-induced ventricular fibrillation. *Physiological Research*, 50(3), 247-260.

[38] Pueyo, E.; Corrias, A.; Virág, L.; Jost, N.; Szel, T.; Varró, A.; Szentandrásy, N.; Nánási, P.; Burrage, K.; Rodríguez, B. 'A multi-scale investigation of repolarization variability and its role in cardiac arrhythmogenesis'. *Biophys J.* 101, pp. 2892 - 2902. 2011.

Anexos

Anexo A. Fichero de entrada JSON utilizado por ELECTRA

El software ELECTRA estará disponible a partir del 2021 en la siguiente dirección:

<https://www.mountris.org/cxx>

Ejemplo del fichero .json empleado por ELECTRA para la simulación de *High fibrosis de tipo patchy*

```
{
    "software" : "ELECTRA console v0.3.1",
    "author" : "Konstantinos A. Mountris",
    "email" : "konstantinos.mountris@gmail.com",
    "license" : "GPL v3",
    "info" : "This is a configuration file to setup your ELECTRA console simulation. Please do not modify the information before this point.",
    "simulation" : {
        "name" : "fibrosis sammple",
        "scale" : "tissue",
        "method" : "FEM",
        "units" : {
            "time" : "ms",
            "conductance" : "mS",
            "capacitance" : "pF",
            "current" : "mA"
        }
    },
    "geometry" : {
        "units": "cm",
        "dimensions" : 2,
        "cell vertices" : 4,
        "file" : "high.inp"
    },
    "material" : {
        "conductivity units" : "mS/cm",
        "conductivity" : [{"0.0013", "tissue_nodes"}, {"0.000433", "fibro_nodes"}],
        "transversal ratio" : [0.25],
        "capacitance units" : "pF",
    }
}
```

```

    "capacitance" : [1.0],
    "fibers" : [1, 0]
  },
  "stimuli" : {
    "number" : "1",
    "stimulus-1" : {
      "id" : 0,
      "nodeset" : "stim1_nodes",
      "start" : 700,
      "duration" : 2,
      "cycle length" : 250,
      "amplitude" : 300,
      "time unit" : "ms",
      "current unit" : "pA"
    }
  },
  "ap models" : {
    "number": 2,
    "model-1" : {
      "nodeset" : "tissue_nodes",
      "ap type" : "OHara",
      "cell type" : "epi"
    },
    "model-2" : {
      "nodeset" : "fibro_nodes",
      "ap type" : "MacCannell",
      "cell type" : "fibro"
    }
  },
  "physics" : {
    "process" : "reaction-diffusion",
    "model" : {
      "name" : "monodomain",
      "dt unit" : "ms",
      "dt max" : 0.1,
      "dt min" : 0.01,
      "adaptive reaction" : "yes",
      "adaptive diffusion" : "yes",
      "simulation time" : 5000,
      "simulation time unit" : "ms",
    }
  }
}

```

```

    "output interval" : 10
}
},
"post process" : {},
"output" : {
    "paraview" : {
        "states" : "/electra_sims/sonia/paraview/solution.vtu",
        "animation" : "/electra_sims/sonia/paraview/animation.pvd"
    },
    "ascii" : {}
}
}

```

Anexo B. Obtención experimental de las áreas fibróticas mediante *Second Harmonic Generation*

El SHG fue realizado utilizando un Microscopio Confocal Zeiss LSM 880 (Carl Zeiss, AG, Jena, Germany) montado en una plataforma microscópica inversa Axio Observer. Las imágenes SHG se procesaron en MATLAB aplicando un filtro de binarización para generar una imagen binaria a través del asilamiento de los canales rojos (tejido sano) y verdes (colágeno) a partir de los canales RGB de las imágenes del SHG. Cada pixel de la imagen binaria fue convertido en un elemento cuadrático para obtener el mallado final del modelo de fibrosis *patchy*. Previo a la obtención de la malla, se realizó un cambio de tamaño de las imágenes para reducir así el número de píxeles y por lo tanto el coste computacional de la simulación.

Anexo C. Vídeos de la generación de reentradas en distintos escenarios

La simulaciones que aparecen se realizan con Paraview³ a partir de los resultados obtenidos del software de simulación ELECTRA⁴.

C1. Vídeo 1 - Generación de reentradas tipo rotor en un tejido bidimensional compuesto por células de epicardio y fibroblastos. El porcentaje de fibrosis establecido es del 40% en fibrosis tipo *patchy*.

El vídeo puede encontrarse en la siguiente dirección: <https://youtu.be/Qg4k7WaCGLE>

³ <https://www.paraview.org/>

⁴ Para más información: <https://www.mountris.org/cxx>

C2. Vídeo 2 - Generación de reentradas tipo rotor en un tejido bidimensional compuesto por células de epicardio y fibroblastos. El porcentaje de fibrosis establecido es del 40% en fibrosis difusa.

El vídeo puede encontrarse en la siguiente dirección: <https://youtu.be/qqdk3oUVaT0>

Anexo D. Valores de la VW para todos los casos simulados

Valores de VW en tejido con fibrosis

Fibrosis Patchy, Left-sided S1 – S2		
Fibrosis (Pf%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
No Fibrosis	3	245-248
Minimal (4.59)	22	195 - 217
Mild1 (14)	10	196 - 206
Mild2 (28)	48	161 - 209
High (40)	68	150 – 218

Tabla 6. Valor de la ventana vulnerable para fibrosis tipo patchy cuando los estímulos parten del lateral izquierdo.

Fibrosis Patchy, Right-sided S1 – S2		
Fibrosis (Pf%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
No Fibrosis	6	242 - 248
Minimal (4.59)	4	220 - 224
Mild1 (14)	6	195 - 201
Mild2 (28)	40	169 - 209
High (40)	68	150 – 218

Tabla 7. Valor de la ventana vulnerable para fibrosis tipo patchy cuando los estímulos parten del lateral izquierdo.

Diffuse Fibrosis, Left-sided S1 – S2		
Fibrosis (Pf%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
No Fibrosis	3	248-248
Minimal (4.59)	-	-
Mild1 (14)	13	166 - 179
Mild2 (28)	-	-
High (40)	51	150 – 201

Tabla 8. Valor de la ventana vulnerable para fibrosis difusa cuando los estímulos parten del lateral izquierdo.

Diffuse Fibrosis, Right-sided S1 – S2		
Fibrosis (Pf%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
No Fibrosis	6	242 - 248
Minimal (4.59)	-	-
Mild1 (14)	5	175 - 180
Mild2 (28)	10	162 - 172
High (40)	22	175 – 197

Tabla 9. Valor de la ventana vulnerable para fibrosis difusa cuando los estímulos parten del lateral derecho.

Valores de VW en tejido con desacoplamiento celular

Left-sided S1 – S2		
Percentage of diffusivity factor (%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
100	3	245 - 248
75	15	238 - 253
50	19	241 - 260
25	41	243 - 284

Tabla 10. Valor de la ventana vulnerable con un aumento progresivo en el desacoplamiento intercelular cuando los estímulos parten del lateral izquierdo.

Right-sided S1 – S2		
Percentage of conductivity factor (%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
100	3	245 - 248
75	15	237 - 252
50	20	240 - 260
25	41	243 - 284

Tabla 11. Valor de la ventana vulnerable con un aumento progresivo en el desacoplamiento intercelular cuando los estímulos parten del lateral derecho.

Valores de la VW en tejido con fibrosis y desacoplamiento celular

MildI Fibrosis Patchy, Left-sided S1 – S2		
Percentage of diffusivity factor (%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
100	10	196 - 206
75	3	211 - 214
50	38	212 - 250

Tabla 12. Valor de la ventana vulnerable con un aumento progresivo en el desacoplamiento cuando los estímulos parten del lateral izquierdo en MildI fibrosis de tipo patchy.

MildI Fibrosis Patchy, Right-sided S1 – S2		
Percentage of conductivity factor (%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
100	10	196 - 206
75	25	195 - 220
50	34	216 - 250

Tabla 13. Valor de la ventana vulnerable con un aumento progresivo en el desacoplamiento cuando los estímulos parten del lateral derecho en MildI fibrosis de tipo patchy.

<i>High Fibrosis Patchy, Left-sided S1 – S2</i>		
Percentage of diffusivity factor (%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
100	68	150 – 218
75	62	158 - 220
50	79	165 - 244

Tabla 14. Valor de la ventana vulnerable con un aumento progresivo en el desacoplamiento cuando los estímulos parten del lateral izquierdo en High fibrosis de tipo patchy.

<i>High Fibrosis Patchy, Right-sided S1 – S2</i>		
Percentage of diffusivity factor (%)	VW length (ms)	Limits of vulnerable time (ms)
100	68	150 – 218
75	81	155 – 236
50	101	166 - 267

Tabla 15. Valor de la ventana vulnerable con un aumento progresivo en el desacoplamiento cuando los estímulos parten del lateral derecho en High fibrosis de tipo patchy.