



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Doctorado en Ciencias Biomédicas
Instituto de Investigaciones Biomédicas

"Generación de Arritmias Ventriculares en el Síndrome de Andersen-Tawil"

Tesis

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

Doctora en Ciencias

PRESENTA:

Elisa Núñez Acosta

Tutor

Dr. Marco Antonio José Valenzuela
Instituto de Investigaciones Biomédicas

Comité Tutor

Dra. Verónica Guarner Lans
Facultad de Medicina

Dra. Ana Cecilia Zazueta Mendizabal
Facultad de Medicina

MÉXICO, D.F., Marzo de 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Resumen

El síndrome de Andersen-Tawil (SAT) está relacionado con la inhibición de la corriente de potasio I_{K1} y los pacientes pueden presentar hipocalemia, alteraciones dismórficas, así como arritmias ventriculares como el bigeminismo que pueden dar lugar a muerte cardíaca súbita. Sin embargo, la dinámica de los latidos ectópicos que conduce a arritmias letales y el mecanismo generador de éstas arritmias no han sido elucidados.

La presente tesis tuvo como propósito introducir la función de información mutua (MIF) como herramienta matemática en el reconocimiento y caracterización del bigeminismo en el SAT. Asimismo, se acopló un modelo de potencial de acción de ventrículo humano con uno de la liberación de calcio inducida por calcio, con el propósito de investigar la relación entre los parámetros electrofisiológicos adyacente al SAT y las alteraciones en el potencial de acción (PA) celular. Estos resultados fueron comparados con aquellos obtenidos a partir de un modelo experimental del SAT realizado en un ventrículo de puerco. Utilizando la MIF, patrones característicos relacionados con la ocurrencia de bigeminismo fueron observados. A partir de los modelos experimentales y teóricos se obtuvieron alternancias en la duración del PA en condiciones del SAT y en condiciones de una célula sana bajo estimulación rápida. Estos resultados pusieron en evidencia el uso de la MIF como una herramienta matemática eficaz en el reconocimiento del bigeminismo en el SAT que genera patrones característicos relacionados a la ocurrencia de bigeminismo predominante. Estos patrones están relacionados con el número de latidos ectópicos presentes, así como con su distribución en las series simbólicas utilizadas. Adicionalmente, la MIF permite la visualización gráfica y rápida de la ocurrencia de bigeminismo persistente registrado en Holters de 24 horas. El desarrollo de ésta técnica podría ayudar en la caracterización del fenotipo de las arritmias presentes en el SAT y en otras cardiopatías.

A partir de los modelos estudiados se estableció que para el adecuado modelado del PA en el SAT, es fundamental considerar cierto nivel de detalles electrofisiológicos de la dinámica de calcio. Finalmente, sugerimos que las alternancias en la duración del PA podrían estar relacionadas con el mecanismo generador de arritmias a nivel del miocardio completo, a través de heterogeneidades eléctricas en el SAT.

Abstract

The Andersen-Tawil syndrome (ATS) is related to the inhibition of the potassium current I_{KI} , and patients can present hypokalemia and dysmorphic alterations, as well as ventricular arrhythmias such as bigeminy, which can lead to sudden cardiac death. The dynamics of the ectopic beats conducting to lethal arrhythmias and the molecular mechanisms involved are still unknown.

The purpose of the research project was to introduce the mutual information function (MIF) as a mathematical tool in the recognition and characterization of bigeminy in the ATS. A model of action potential (AP) was associated with one of the calcium release calcium induced (CICR) in order to investigate the relationship between the electrophysiological parameters adjacent to the ATS and the alterations of the cellular AP. The results were compared with those from an experimental model of the ATS developed in a pig ventricle. Using the MIF, characteristic patterns related with the occurrence of persistent bigeminy were observed. Alternans in the duration of the AP in ATS conditions and in conditions of a healthy cell under rapid stimulation were obtained from the experimental and theoretical models. We showed the MIF can be used as an efficient mathematical tool for the recognition of bigeminy in the ATS, generating characteristic patterns related with the occurrence of persistent bigeminy. Those patterns are correlated with the number of ectopic beats and with its distribution in the symbolic series used. Besides, the MIF allows a graphical and fast visualization of the occurrence of persistent bigeminy from Holters records of 24 hours.

The development of this technique could be of importance for the characterization of the phenotype of arrhythmias in the ATS and other cardiomyopathies. Our models demonstrated that it is fundamental to consider some specific details of the CICR for the accurate modelling of AP in the ATS. Finally, we suggested that the alternans in the duration of the AP could be related with the mechanism driving to the occurrence of arrhythmias due to electrical heterogeneities.

Índice

Introducción	1
1 Antecedentes	
1.1 La Actividad eléctrica del corazón	2
1.1.1 El ciclo cardiaco	2
1.1.2 Generación del potencial de acción	4
1.1.3 El ciclo cardiaco registrado en el electrocardiograma	6
1.2 La Función de la dinámica de calcio en la actividad eléctrica del corazón	8
1.2.1 Liberación de calcio inducida por calcio en el músculo cardiaco	8
1.2.2 Teoría del control local	8
1.2.3 La dinámica de calcio y la prolongación del potencial de acción en la generación de arritmias cardiacas	9
1.2.4 La estimulación beta-adrenérgica	11
1.2.5 Alternancias de calcio y en la duración del potencial de acción como sustratos de arritmogénesis	13
1.2.6 Alternancias en la duración del potencial de acción y en la onda T como indicadores de riesgo de arritmias letales	16
1.3 Modelos matemáticos del potencial de acción	19
1.3.1 Modelo de potencial de acción de una neurona	19
1.3.2 Modelo de potencial de acción de un miocito cardiaco	21
1.3.3 Modelo de potencial de acción de un miocito ventricular humano	23
1.4 Análisis del ECG	29
1.4.1 Parámetros derivados del ECG	29
1.4.2 Análisis cuantitativo del ECG	30
1.4.3 Introducción a la función de información mutua	33

1.5 El síndrome de Andersen-Tawil	36
1.5.1 Características clínicas de pacientes con síndrome de Andersen-Tawil	36
1.5.2 Modelos experimentales del síndrome de Andersen-Tawil	40
1.5.2.1 La dinámica de calcio en el síndrome de Andersen-Tawil	41
1.5.3 Modelos teóricos del síndrome de Andersen-Tawil	44
2 Hipótesis	47
3 Objetivos	47
4 La función de información mutua	48
4.1 La función de información mutua evaluada en series simbólicas	48
4.1.1 Introducción	48
4.1.2 La función de información mutua en el análisis de series simbólicas cardiacas	48
4.1.3 La función de información mutua revela patrones de bigeminismo	55
4.2 La función de información mutua utilizada en la caracterización del fenotipo arrítmico en el síndrome de Andersen-Tawil	58
4.2.1 Introducción	58
4.2.2 Métodos	58
4.2.3 Resultados	61
4.2.4 Discusión	61
4.2.5 Conclusiones	64
4.3 Análisis cuantitativo de la función de información mutua de series simbólicas cardiacas	65
4.3.1 Introducción	65
4.3.2 Métodos	65
4.3.3 Resultados	70
4.3.4 Discusión	78
4.3.5 Conclusiones y perspectivas	80

5 Modelo de potencial de acción en el síndrome de Andersen-Tawil	81
5.1 Modelo de potencial de acción de ventrículo humano con síndrome de Andersen-Tawil	81
5.1.1 Introducción	81
5.1.2 Materiales y metodología	82
5.1.3 Resultados	83
5.1.4 Discusión	87
5.1.5 Conclusiones y perspectivas	90
5.2 Modelo de potencial de acción de ventrículo humano en el síndrome de Andersen-Tawil: una aproximación Monte-Carlo	91
5.2.1 Introducción	91
5.2.2 Materiales y metodología	92
5.2.3 Resultados	102
5.2.4 Discusión	106
5.2.5 Conclusiones y perspectivas	113
6 Modelo experimental del síndrome de Andersen-Tawil	115
6.1 Introducción	115
6.2 Metodología	116
6.3 Resultados	119
6.4 Discusión	124
6.5 Conclusiones y perspectivas	130
7 Conclusiones	132
8 Referencias	134
Apéndice I	146
Anexo	

LISTA DE ABREVIACIONES

AE = Actividad Espontánea

BCL = Basic Cycle Length (longitud del ciclo básica)

CI = Coupling Interval (intervalo de acoplamiento)

CICR = Calcium Induce Calcium Release (liberación de calcio inducida por calcio)

CRU = Calcium Release Unit (unidad de liberación de calcio)

DAD = Delay After Depolarization (post-despolarización tardía)

DHPR = Canal de Calcio Dependiente de Voltaje Sensible a Dihidropiridina

DPA = Duración del Potencial de Acción

DPA_{90%} = 90% de la Duración del Potencial de Acción

DPA_{75%} = 75% de la Duración del Potencial de Acción

EAD = Early After Depolarization (post-despolarización temprana)

ECG = Electrocardiograma

ES = Envolverte Superior

FV = Fibrilación Ventricular

HF = Heart Failure (insuficiencia cardiaca)

HH = Hodgkin-Huxley

Holter = Registro electrocardiográfico realizado por un tiempo prolongado

HRV = Heart Rate Variability (variabilidad de la frecuencia cardiaca)

JRS = Junctional Sarcoplasmic Reticulum (unión del retículo sarcoplásmico)

MC = Monte Carlo

MIF = Mutual Information Function (función de información mutua)

nodo SA = nodo sinoatrial

nodo AV = nodo atrioventricular

PA = Potencial de Acción

PA-E = Potencial de Acción Estimulado Eléctricamente

PA-NE = Potencial de Acción no Estimulado Eléctricamente

PD = Post-Despolarización

PE = Periodo de Estimulación

PVC = Premature Ventricular Contraction (contracción ventricular prematura)

RyR = canal de calcio de rianodina

RS = Retículo Sarcoplásmico

SAT = Síndrome de Andersen-Tawil

SCD = Sudden Cardiac Death (muerte cardiaca súbita)

SHD = Structural Heart Disease (enfermedad estructural del corazón)

TV = Taquicardia Ventricular

VPB = Ventricular Premature Beat (latido prematuro ventricular)

β -A = Estimulación Beta Adrenérgica

Introducción

El síndrome de Andersen-Tawil (SAT) está relacionado con la ocurrencia de arritmias ventriculares como bigeminismo, que en algunos casos conduce a muerte cardíaca súbita. La dinámica de los latidos ectópicos que ocurren con un patrón de bigeminismo, para dar lugar a arritmias letales, aún no ha sido investigada. Además, el entendimiento a nivel celular del mecanismo arritmogénico en el SAT contribuiría a determinar el tratamiento óptimo para los pacientes, así como a establecer las bases de la conducción eléctrica anómala, que lleva a arritmias como taquicardia o fibrilación ventricular.

En el presente trabajo, se utilizó la función de información mutua (MIF) en el reconocimiento del bigeminismo en el SAT. A partir de electrocardiogramas de pacientes con SAT, se identificaron los latidos normales (sinusales) con la letra N y los latidos ectópicos con la letra V, generando series simbólicas sobre las que se evaluó la MIF. Notablemente, los latidos V formaron patrones predominantes correspondientes a la ocurrencia de bigeminismo ventricular (por ejemplo: ...NVNVNVN...). La MIF es una medida del promedio de la correlación entre las variables N y V que conforman la serie simbólica, de manera que; ésta función es una medida del grado de dependencia entre dichas variables. Adicionalmente, la MIF está relacionada con la información sobre la probabilidad de ocurrencia de la variable V dado que se ha presentado la variable N y *vice versa*. Entonces, es de esperarse que la MIF dé como resultado una curva solución característica de la arritmia predominante en la serie evaluada, que esté relacionada con la distribución de los latidos V. No había sido reportado en la literatura el uso de la MIF sobre series simbólicas cardíacas.

Para investigar el mecanismo generador de arritmogénesis en el SAT, acoplamos un modelo de potencial de acción con uno de la liberación de calcio inducida por calcio (CICR). A partir de éste modelo investigamos la relación entre los parámetros electrofisiológicos adyacentes al SAT y las alteraciones en el potencial de acción (PA). El modelo desarrollado toma en cuenta las características estocásticas de la CICR, así como la relación de éste proceso con concentraciones locales de calcio intracelular, lo cual no había sido considerado en modelos previos del SAT. Los resultados de éste modelo se compararon con aquellos obtenidos a partir de un modelo experimental del SAT realizado en un ventrículo de cerdo.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 La Actividad Eléctrica del Corazón

1.1.1 El Ciclo Cardíaco

El corazón es un músculo que bombea sangre a través de todo el cuerpo por un mecanismo de contracción. Esta contracción es originada por un impulso eléctrico, el cual se propaga a todo el corazón a través de vías especializadas de conducción. En el presente capítulo se describen los principales componentes del corazón y la manera en que se relacionan para realizar la contracción cardíaca.

El corazón tiene cuatro cavidades, las aurículas derecha e izquierda situadas en la parte superior del corazón y los ventrículos derecho e izquierdo que se encuentran en la parte inferior del mismo (ver Figura 1.1). La parte derecha del corazón está separada de la parte izquierda por una pared muscular llamada tabique. Las 4 cavidades están conectadas a través de 4 válvulas, las cuales controlan el flujo sanguíneo entre ellas. La válvula tricúspide permite el flujo entre la aurícula derecha y el ventrículo derecho en tanto que, la válvula pulmonar conecta el ventrículo derecho y las arterias pulmonares, las cuales transportan la sangre a los pulmones para oxigenarla. Además, la válvula mitral permite que la sangre oxigenada proveniente de los pulmones pase de la aurícula izquierda al ventrículo izquierdo. Al mismo tiempo la sangre oxigenada pasa del ventrículo izquierdo a la arteria aorta a través de la válvula aórtica.

La sangre pobre en oxígeno llega a la aurícula derecha a través de las venas cava superior e inferior. Esta pasa al ventrículo derecho y después pasa a la circulación pulmonar por la arteria pulmonar. La aurícula izquierda recibe sangre oxigenada de la circulación pulmonar a través de las venas pulmonares. Después, ésta sangre pasa al ventrículo izquierdo desde donde se envía al corazón y a otras partes de cuerpo.

El ciclo cardíaco comienza con la acumulación de sangre en las aurículas, posteriormente el nodo sinoatrial (SA) envía una señal eléctrica a través de la ruta intermodal (ver Figura 1.2), que estimula la contracción de las aurículas. Esta contracción impulsa la sangre a través de las válvulas tricúspide y mitral hacia los ventrículos. Mientras tanto, el impulso eléctrico llega al

nodo atrioventricular (AV) donde permanece por más de 0.1 s, tiempo en el que los ventrículos se llenan de sangre. Posteriormente, el impulso eléctrico se propaga a los ventrículos por medio de las fibras de Purkinje, estimulando así su contracción. Las válvulas tricúspide y mitral se cierran para impedir el retorno de la sangre y las válvulas pulmonar y aórtica se abren. Posteriormente los ventrículos se relajan y las válvulas pulmonar y aórtica se cierran. Una vez que se reduce la presión en los ventrículos, se abren las válvulas tricúspide y mitral y el ciclo comienza otra vez. [1]

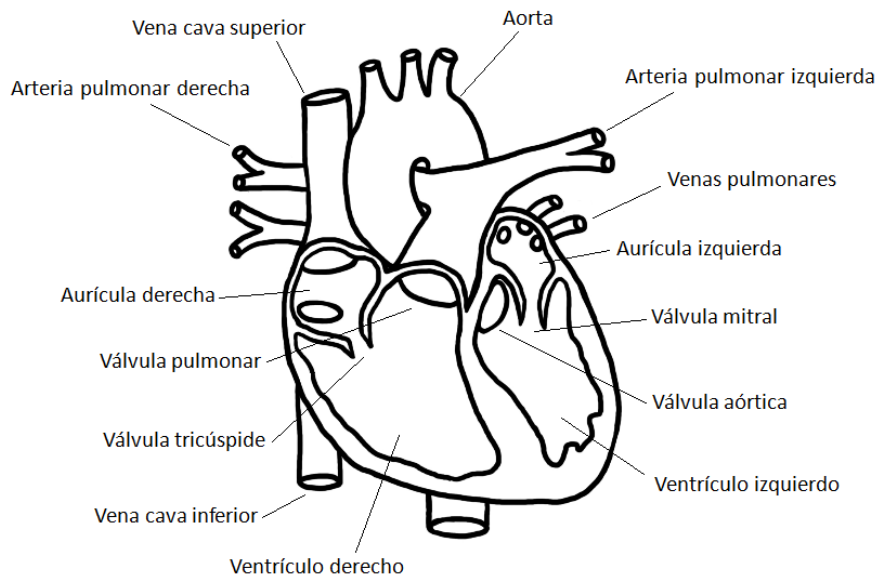


Figura 1.1. Esquema de un corazón humano. Modificado de [2]

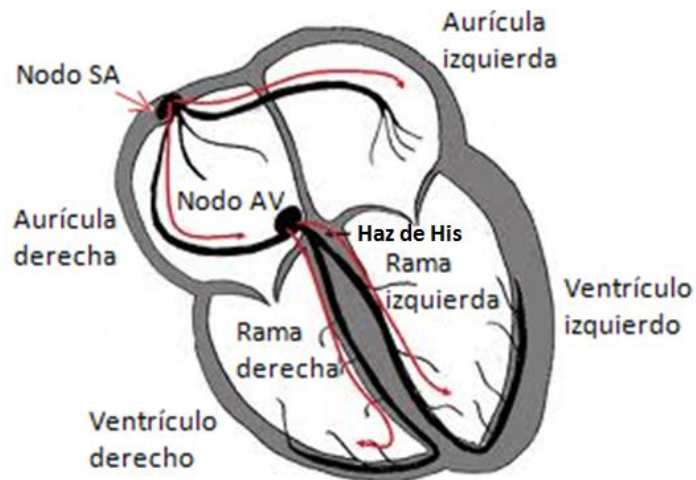


Figura 1.2. Esquema del sistema eléctrico de conducción

1.1.2 Generación del Potencial de Acción

El impulso eléctrico que estimula la contracción se inicia en el nodo SA ubicado en la parte superior de la aurícula derecha y se propaga a través de un sistema especializado de conducción eléctrica. El impulso se conduce desde el nodo SA hasta el nodo AV donde permanece por un breve instante antes de pasar al haz de His, el cual conduce los impulsos de las atrias a los ventrículos. Finalmente, los impulsos se propagan a todas las células de los ventrículos por medio de las ramas derecha e izquierda del haz de His y la red de fibras de Purkinje (ver Figura 1.2). [1,4,5] Dicho impulso eléctrico se propaga a través de todo el corazón cambiando el potencial de membrana de cada una de las células que lo componen. En reposo, las células del miocardio presentan gradientes eléctricos asociados a una asimetría en el flujo de iones que atraviesan la membrana celular de manera específica por medio de canales. Inicialmente, los miocitos cardiacos presentan una concentración mayor de iones de potasio, K^+ , en su interior que en el espacio extracelular, mientras que para los iones de sodio se cumple lo contrario. El potencial de reposo de éstos cardiomiocitos es negativo [6] y tiene un valor alrededor de -90 mV.

Cuando el impulso eléctrico llega a los cardiomiocitos estos se despolarizan y disminuye la electronegatividad en el interior de la célula debido al flujo de corrientes iónicas que atraviesan la membrana celular. Así, el voltaje medido entre el interior y el exterior de la membrana celular se vuelve menos negativo hasta alcanzar un valor umbral entre -70 y -60 mV, lo que provoca que se abran los canales rápidos de Na^+ dependientes de voltaje, permitiendo la entrada de estos iones a la célula (ver Figura 1.3 fase 0 del PA). Mientras tanto, los canales rápidos de K^+ dependientes de voltaje dejan fluir este ion al exterior celular. El número de iones de Na^+ que entra a la célula es mayor al número de iones de potasio que salen de ésta, por lo que el potencial de membrana sigue aumentando hasta alcanzar un valor máximo. Esto constituye la despolarización de la célula, conocida como la fase cero del PA, la cual se ilustra en la Figura 1.3 para un miocito cardiaco ventricular. Esta despolarización se asocia a la despolarización auricular y su consecuente contracción.

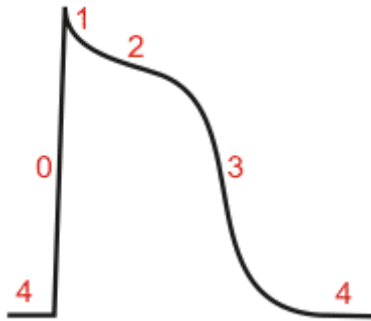


Figura 1.3. Esquema de las fases que constituyen un potencial de acción característico de un miocito ventricular. Modificado de [7].

Posteriormente, comienza la repolarización de la célula en la fase 1 del PA, en la que los canales de sodio se cierran y durante la cual se activa un canal de potasio transitorio, generando una corriente de salida, mientras tanto se incrementa una corriente entrante de Ca^{2+} que da lugar a la fase 2 del PA (ver Figura 1.3). Durante la fase 2 se genera el *plateau* del PA y dura entre 0.2 y 0.3 segundos. Cuando se inactivan los canales de calcio tipo-L, se vuelven más predominantes las corrientes salientes de potasio, resultando en la fase 3 de la repolarización celular, con lo cual la célula alcanza nuevamente su potencial de reposo. Durante esta fase, tres tipos diferentes de corrientes de potasio, dependientes y no dependientes de voltaje contribuyen a la repolarización del PA en el miocardio. [4]

Finalmente, en la fase 4 cuando termina la repolarización, la membrana alcanza su potencial de reposo aproximadamente a -90 mV. [6,4,8] Después de que termina un PA y la célula se relaja, sigue un periodo de refractoriedad hasta que el siguiente impulso es generado y propagado. [4] El nodo sinusal genera entre 60 y 100 pulsos eléctricos por minuto.

En el corazón existen distintos tipos de células, las cuales expresan distintos canales iónicos con diferentes propiedades, de manera que la forma del PA varía de acuerdo al tipo de célula. [4,9] Estas diferencias contribuyen a la propagación unidireccional del PA a través del miocardio y a la generación de un ritmo cardíaco normal. [4]

1.1.3 El Ciclo Cardíaco Registrado en el Electrocardiograma

A medida de que avanza el impulso eléctrico proveniente del nodo sinusal, todas las células del corazón se van despolarizando y posteriormente repolarizando, lo que provoca una contracción progresiva del miocardio completo. La señal eléctrica que se genera y propaga al miocardio completo puede registrarse a través de un electrocardiograma (ECG). Esta señal se registra a través de electrodos colocados sobre la piel del tórax. [1]

Puede considerarse que conforme se van despolarizando las células, se va propagando una onda positiva a través del corazón. Cuando esta onda positiva se acerca a un electrodo positivo, éste registra una deflexión positiva. Cuando las aurículas se despolarizan, inmediatamente se contraen, lo cual se registra como una deflexión positiva, conocida como onda P (ver Figura 1.4). Posteriormente, el impulso llega al nodo AV y sigue propagándose por el haz de His y sus ramas derecha e izquierda. Entonces, comienza la despolarización de los ventrículos y su consecuente contracción. Cuando el impulso pasa del nodo AV al haz de His, en el ECG se registra una deflexión negativa conocida como onda Q. El impulso continúa propagándose hacia las ramas derecha e izquierda de dicho haz hasta llegar a las fibras de Purkinje, entonces se registran las ondas R y S en el ECG. El complejo QRS representa la despolarización ventricular. Finalmente, hay una pausa antes de que se registre la onda T, la cual representa la repolarización ventricular. La repolarización de todas las células del miocardio implica que estas se vuelvan a cargar negativamente en su interior, con lo que se preparan para ser despolarizadas nuevamente durante el siguiente ciclo cardíaco. En la Figura 1.4, se ilustra el ECG registrado sobre un corazón sano.



Figura 1.4. Esquema de un electrocardiograma, representando tres latidos consecutivos. [4]

En la Figura 1.5 se muestra un esquema de la relación entre el ECG y las fases del PA. A pesar de que visualizar esta relación entre el ECG y el PA puede ayudar al entendimiento de la conducción eléctrica en el corazón completo como función de la propagación eléctrica de un PA a nivel celular, se debe aclarar que estas señales registran fenómenos que corresponden a escalas

de tiempo y de espacio muy diferentes. Además, se debe considerar que es la propagación del PA a través del corazón completo lo que genera la señal del ECG.

Los cambios patológicos en las propiedades de los canales iónicos por los cuales fluyen distintos iones en el sarcolema modifican la duración y morfología del PA, así como su dinámica de propagación a través del miocardio, lo que puede dar lugar a la generación de arritmias cardíacas que pueden ser detectadas en el ECG. Por esto, es de considerable importancia entender y establecer los mecanismos moleculares y celulares que sostienen un ciclo cardíaco normal. Los mecanismos celulares que determinan la dinámica del PA pueden ser estudiados a nivel de una sola célula, de un tejido (2 dimensiones) o del corazón completo (3 dimensiones). [4]

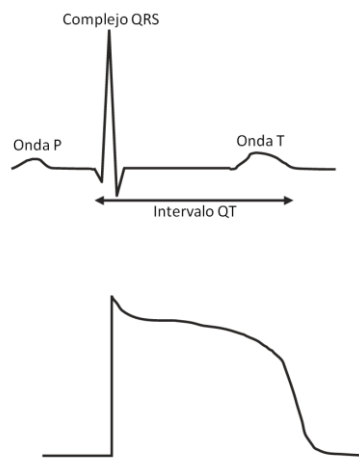


Figura 1.5. Esquema de la relación entre el ECG y el potencial de acción ventricular. [10]

1.2 La Función de la Dinámica de Calcio en la Actividad Eléctrica del Corazón

1.2.1 Liberación de Calcio Inducida por Calcio en el Músculo Cardíaco

La contracción y relajación del músculo cardíaco están reguladas principalmente por cambios en la concentración de calcio intracelular $[Ca]_i$. [11] Durante el potencial de acción, entra calcio a los miocitos a través de los canales de calcio tipo-L y en menores cantidades por el canal intercambiador de Na^+/Ca^{2+} . [12] El flujo de Ca^{2+} a través del canal de calcio tipo-L dependiente de voltaje, que se encuentran en el sarcolema de los miocitos cardíacos, provoca un incremento localizado de la concentración de Ca^{2+} en el espacio ubicado entre la membrana celular y las membranas del retículo sarcoplásmico (RS). Esto causa un aumento en la probabilidad de apertura del canal de rianodina (RyR), lo que da lugar a la liberación de Ca^{2+} del RS hacia el citoplasma, [13-17] de manera que aumenta la $[Ca]_i$ de aproximadamente 100 nM hasta 1 μ M. [12,18-20] Posteriormente, el calcio interactúa con miofilamentos de actina y miosina a través de la proteína troponina C, lo que genera la contracción cardíaca. Después de la contracción cardíaca, la $[Ca]_i$ disminuye, principalmente debido a la recaptura de calcio hacia el RS a través de la bomba de Ca^{2+} del RS, (SERCA), y por el transporte de Ca^{2+} al exterior de la célula, por medio del intercambiador de Na^+/Ca^{2+} . [21] Estos procesos constituyen la liberación de calcio inducida por calcio (CICR)

1.2.2 Teoría del Control Local

En 1992 Michael D. Stern desarrolló la teoría conocida como *local control* en la que establece que la dinámica de la CICR debería depender de la relación espacial que existe entre los canales de calcio tipo-L (DHPR) y los canales de RyR del retículo sarcoplásmico. [17] Subsecuentes trabajos teóricos y experimentales han ido agregando más elementos a dicha teoría, en la cual el elemento básico estructural consiste en el espacio diádico ubicado entre los canales de RyR, hallados al final de los sarcómeros, y los canales de calcio tipo-L, localizados en los túbulos transversos. Los canales de RyRs son activados por un incremento local de la $[Ca]_i$ en el espacio diádico, más que por incrementos en el Ca^{2+} intracelular total. Éstos cambios son transitorios y se atribuyen a la suma de *unidades de calcio* liberadas por canales de RyR

llamadas *sparks de Ca²⁺*, los cuales fueron observados usando *confocal microscopy* en miocitos de rata. [22,23,24] La producción de éstos *sparks* es una propiedad de todos los tipos de células cardiacas y su relación con el Ca²⁺ intracelular varía de acuerdo al tipo celular. [25] Los *sparks* también pueden dispararse por el flujo de Ca²⁺ que entra a la célula, vía los canales DHPR. [26-28]

Se piensa que los *sparks de Ca²⁺* podrían terminar por diferentes mecanismos. Algunos de los procesos propuestos son los siguientes: (i) agotamiento del Ca²⁺ en el la terminación de unión del RS (*local Ca²⁺ depletion*); [25] (ii) inactivación estocástica de los canales individuales de RyR que da lugar a la inactivación de un aglomerado de RyRs (*stochastic attrition*); [17] (iii) desensibilización de los canales RyR debido a una disminución del calcio luminal del RS; (iv) interacción mecánica entre canales de RyR, que influye en su dinámica (*coupled gating*); [29,30] (v) inactivación del canal de RyR independiente del Ca²⁺ (*channel inactivation and adaptation*); [31-33] (vi) ocurrencia de un periodo refractario después de un incremento global de Ca²⁺ y antes de que más Ca²⁺ vuelva a liberarse del RS (*refractoriness of local CICR*). [34,35]

El incremento en el número de *sparks de Ca²⁺* medidos en células cardiacas puede relacionarse con la ocurrencia de algunas cardiopatías. [36]

1.2.3 La Dinámica de Calcio y la Prolongación del PA en la Generación de Arritmias Cardiacas

Durante la excitación-contracción del corazón pueden liberarse *sparks de Ca²⁺* disparados por el influjo de Ca²⁺ a través de los canales de DHPR, por el proceso de CICR. [25] Por otra parte, pueden liberarse *sparks de Ca²⁺* espontáneos aun en ausencia de flujo de Ca²⁺ a través de los canales de DHPR o por otras vías que crucen la membrana celular. [13,22,25,27,37,38] Estos *sparks* pueden ocasionarse por la tasa de apertura del RyR [39] que depende del calcio intracelular transitorio; del Ca²⁺ en el RS, de la concentración del Ca²⁺ libre en el citosol, así como del Ca²⁺ luminal en el RS. [25] En condiciones normales, éstos *sparks* son eventos aislados. Sin embargo, en condiciones de sobrecarga de calcio transitorio o en el RS la ocurrencia de *sparks* de mayor magnitud y duración, se propaga en el tiempo y en el espacio

celular dando lugar a ondas de elevada concentración de Ca^{2+} . [40-43] La sobrecarga de Ca^{2+} que desestabiliza el RS, se debe a una elevada cantidad de Ca^{2+} en el RS. [44] Sin embargo, algunas veces se refiere a una elevada cantidad de Ca^{2+} citosólico o extracelular. [25]

Bajo condiciones de sobrecarga de Ca^{2+} , los cambios en el PA producen una corriente I_{ii} y contracciones tardías. El incremento de la concentración de calcio, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ se observa como ondas propagadas de elevada concentración. [45] Además, la I_{ii} puede interactuar con las corrientes I_{CaL} y con corrientes de K^+ repolarizantes, generando post-despolarizaciones tempranas (EADs). [46] Asimismo, la I_{ii} puede dar lugar a post-despolarizaciones tardías (DADs). [46-49] Los orígenes de la I_{ii} se han relacionado con la sincronización de la liberación espontánea de Ca^{2+} del RS, [45] y con las ondas de Ca^{2+} . [45,50,51-53] Otros autores afirman que la I_{ii} corresponde a la corriente de intercambio I_{NaCa} . [54,55] Asimismo, se ha reportado que cambios en la duración del potencial de acción (DPA) promueven alteraciones en el Ca^{2+} diastólico y en la carga de Ca^{2+} en el RS. Estos cambios se deben a la dependencia del influjo de Ca^{2+} en el voltaje membranar y al eflujo de Ca^{2+} a través del intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Estos procesos afectan la generación de *sparks* y de *ondas de Ca^{2+}* , [56-60] así como la probabilidad de que ocurran EADs. La prolongación del PA debido a la disminución de corrientes repolarizantes de K^+ [61-65] tiende a modificar la carga de Ca^{2+} y la liberación de *sparks de Ca^{2+}* . En algunas ocasiones, los *sparks* y las ondas de Ca^{2+} afectan los EADs vía la corriente I_{ii} , [45,66,67] favoreciendo que los EADs alcancen un valor umbral y se dispare una extrasístole, mientras que los DADs dependen básicamente de *sparks* y *ondas de Ca^{2+}* para activar la I_{ii} . [25]

La ocurrencia de EADs favorecida por la prolongación del PA puede deberse a interacciones entre las corrientes repolarizantes de K^+ y las corrientes de despolarización de Ca^{2+} , [68-71] o a corrientes de Na^+ prolongadas. [72-74] Los EADs y los DADs (post-despolarizaciones) provocan una conducción eléctrica anómala del PA, que de ser propagada a través de los miocitos puede generar arritmias cardiacas. Los post-potenciales, así como el incremento en la automaticidad de las células cardiacas, ocasionados por alteraciones en la dinámica de Ca^{2+} , pueden dar lugar a arritmias cardiacas. [25] La sobrecarga de Ca^{2+} que favorece éstos fenómenos puede ocurrir debido a incrementos en la duración del PA (DPA), el flujo de I_{CaL} , la concentración extracelular de Ca^{2+} , la concentración de sodio intracelular o por la

reducción del sodio extracelular. [12] Otro mecanismo por el cual puede ocurrir una sobrecarga de Ca^{2+} en el RS es por un aumento en la frecuencia de estimulación beta-adrenérgica, lo que incrementa la sensibilidad del RS ante el Ca^{2+} . [75]

1.2.4 La Estimulación Beta-Adrenérgica

En el corazón humano, las catecolaminas, como la adrenalina pueden acoplarse a beta-receptores localizados en los miocitos cardiacos, lo que incrementa la tasa de contracción del músculo cardiaco y la frecuencia cardiaca. En condiciones de estrés o de ejercicio físico, hay mayor liberación de adrenalina, la cual se enlaza a beta-receptores que se encuentran acoplados a proteínas G, que se activan cuando el receptor se enlaza con la adrenalina. Una vez activada la proteína G, ésta activa a la enzima adenilato ciclasa, la cual sintetiza al segundo mensajero cAMP, que activa a la proteína quinasa dependiente de cAMP, quinasa A (PKA). [76] La PKA esta compuesta por unidades catalíticas y unidades regulatorias, estas últimas se enlazan al segundo mensajero adenosín monofosfato cíclico (cAMP), liberando a las unidades catalíticas. La PKA fosforila a la proteína reguladora fosfolamban, PLB, lo que provoca que la interacción entre fosfolamban y SERCA2 disminuya, incrementando el transporte de Ca^{2+} al interior de la célula a través de SERCA. [77-80] Además, la PKA fosforila al RyR, [81] lo que provoca que la calstabilina 2 se disocie del RyR. [82,83] La fosforilación de RyR acelera la cinética de adaptación del canal, [33] incrementa su probabilidad de apertura, [75] así como su sensibilidad a la activación dependiente de Ca^{2+} , [82,83] (ver Figura 1.6). Se ha visto que el incremento en la liberación de Ca^{2+} del RS se debe principalmente a un incremento en el contenido de Ca^{2+} en el mismo. [84] Además, los canales de DHPR también son fosforilados por la PKA, [85,86] lo que incrementa su probabilidad de apertura y el Ca^{2+} citosólico.

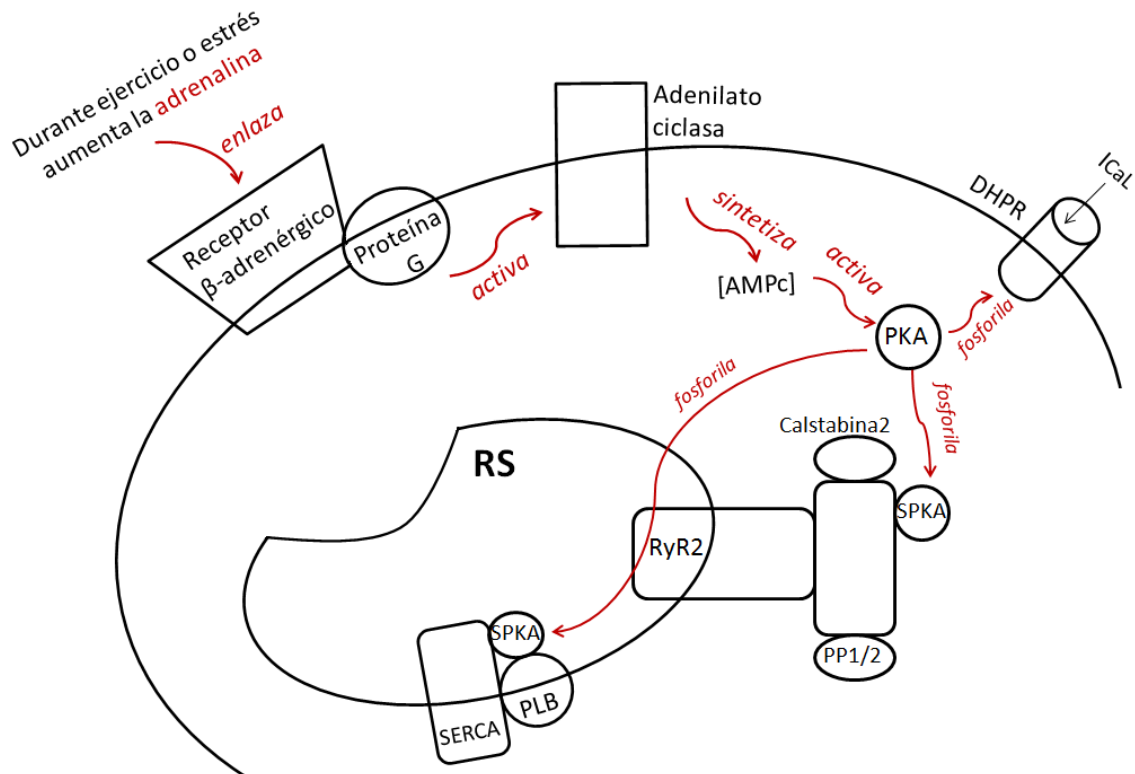


Figura 1.6. Esquema de algunos mecanismos involucrados en la estimulación beta-adrenérgica. Las fosforilaciones por parte de PKA incrementan la velocidad de transporte de Ca^{2+} por SERCA, la probabilidad de apertura de RyR, la corriente I_{CaL} , por lo que incrementa el Ca^{2+} citosólico. PLB = proteína fosfolamban; PKA = proteína cinasa A; DHPR = canal de calcio dependiente del voltaje; RS = retículo sarcoplásmico; RyR2 = canal de rianodina de liberación de Ca^{2+} ; SPKA = sitios de anclaje de la PKA.

La estimulación beta-adrenérgica provoca el incremento del número de canales de calcio tipo-L funcionales y acelera la tasa a la que se abren y cierran. [87] También, promueve el incremento en el Ca^{2+} intracelular transitorio $[\text{Ca}^{2+}]_i$, [80] la magnitud de la corriente I_{CaL} y la prolongación de la inactivación del canal DHPR. [88] Asimismo, afecta la modulación de la dinámica de corrientes de potasio [89] lo que redundará en el flujo de Ca^{2+} y la morfología del PA. Finalmente, incrementa la frecuencia cardíaca ocasionando un aumento en el influjo de Ca^{2+} a la célula [11,90] y en el contenido de Ca^{2+} en el RS. [11,84,75]

Los efectos derivados de la estimulación beta-adrenérgica son comunes a cualquier individuo sano. Sin embargo, cuando ocurren de manera atemporal, en condiciones de sobrecarga de Ca^{2+} o de manera simultánea con otras condiciones electrofisiológicas anómalas en el corazón, pueden originar arritmias cardíacas. Se ha observado que, ante una sobrecarga de Ca^{2+} en el RS es muy probable que ocurra la liberación espontánea de *sparks de Ca^{2+}* ,

[91,25,75], lo que puede generar *ondas de Ca²⁺* que se propaguen en el interior celular. [25]. Durante estimulación beta-adrenérgica la fosforilación de la fosfolamba por la PKA, propicia una elevada carga de Ca²⁺ en el RS lo que promueve un incremento en la amplitud y en la frecuencia de *sparks* liberados. [75]

Cabe mencionar que la estimulación beta-adrenérgica puede repercutir en la DPA en diversas maneras. Si la DPA aumenta, puede incrementarse la fuerza de contracción del corazón, mientras que si decrece puede abreviar la fuerza y el tiempo de contracción del mismo. Estos cambios están relacionados con el incremento en el primer caso, o con el decremento en el segundo caso, del Ca²⁺ transitorio. [84] Finalmente, existe evidencia de que la estimulación beta-adrenérgica puede inducir despolarizaciones tempranas (EAD), así como despolarizaciones tardías (DAD), causadas por una sobrecarga de Ca²⁺ en el RS y por la liberación espontánea del mismo, inducida por Ca²⁺. [92-95]

1.2.5 Alternancias de Calcio y en la Duración del Potencial de Acción como Sustratos de Arritmogénesis

El incremento de Ca²⁺ citosólico debido al proceso de excitación-contracción del corazón, es llamado calcio transitorio (CaT). Diversas técnicas experimentales han hecho posible medir fluctuaciones del CaT en miocitos cardiacos, tejido e inclusive en células de Purkinje [25]. Algunos de éstos experimentos revelaron que la magnitud del CaT puede alternar de un latido cardiaco a otro, lo que resulta en una secuencia larga-corta-larga (por ejemplo L-C-L) de la concentración de Ca²⁺, conocida como alternancias de CaT.

La ocurrencia de alternancias de CaTs se favorecen por una sobrecarga de Ca²⁺ en el RS; [96-98] por la liberación y/o recaptación de Ca²⁺ anómala del RS y por fluctuaciones en el contenido de Ca²⁺ en el RS. [96] Además, durante estimulación eléctrica rápida, éstas fluctuaciones dependen de fluctuaciones en el Ca²⁺ liberado del RS, del contenido de Ca²⁺ en el RS, [99,100] así como por una recuperación lenta del canal de RyR o del canal de Ca²⁺ tipo-L.

El incremento en el contenido de Ca^{2+} en el RS da lugar al incremento del eflujo del mismo, [96,101] que posteriormente se compensa con el decremento de Ca^{2+} en el RS. Esta autoregulación ocurre con un retraso temporal, de manera que, dado un incremento de Ca^{2+} en el RS, aparece un CaT de magnitud y duración grandes correspondiente al latido presente. Posteriormente, durante el siguiente latido, aparecerá un CaT pequeño proveniente de un RS relativamente vacío. Esta alternancia en el contenido de Ca^{2+} del RS da lugar a una dependencia importante entre el Ca^{2+} liberado y el Ca^{2+} del RS. [102] La relación entre el Ca^{2+} liberado y el capturado por el RS fue cuantificada y establecida como un predictor de la ocurrencia de alternancias del CaT. [103] Estos resultados experimentales son la base de trabajos teóricos y simulaciones computacionales. [104-109] Sin embargo, existe evidencia de que las alternancias de CaT pueden ocurrir también en ausencia de fluctuaciones en el contenido de Ca^{2+} en el RS. [110-114] La activación, inactivación y recuperación del RyR podrían ser determinantes en la ocurrencia de CaTs. [115] Dada una recuperación del RyR suficientemente lenta, entonces se espera que el siguiente latido este relacionado con una recuperación completa del RyR. Si esta alternancia prevalece, entonces surgirá una alternancia en la magnitud y duración del CaT. Los dos mecanismos antes descritos son los más aceptados en la generación de alternancias de CaT.

Se han reportado alternancias de CaT como causantes de arritmias cardiacas, [116] como fibrilación ventricular (FV) durante isquemia. [117-118] Las alternancias de Ca^{2+} transitorio (ACaT), generan ondas de Ca^{2+} intracelulares con potencial arritmogénico, dinámica que se magnifica si hay una sobrecarga de Ca^{2+} en el RS en condiciones de isquemia y taquicardia. [119] Estas ACaTs y fluctuaciones de Ca^{2+} citosólico, han causado muerte cardiaca súbita durante infarto al miocardio. [120-121] Las alternancias de CaT pueden dar lugar a dos tipos de alternancias a nivel del miocardio. El primer tipo de alternancia se debe a que la amplitud del CaT alterna de un latido a otro, simultáneamente en distintas regiones dentro de la célula. Si dejamos latir el corazón por ejemplo cuatro veces, entonces podría generarse en un punto dado de la célula un patrón de un pico largo correspondiente a la amplitud del CaT, seguido de uno corto, seguido de uno largo, terminando con uno corto, L-C-L-C. Si en otro lugar de la célula se genera un segundo patrón similar al primero (L-C-L-C), entonces se dice que, existe una alternancia del tipo concordante.

Un segundo tipo de alternancia del CaT es una variación del anterior entonces, dado un patrón de alternancia de CaT del tipo L-C-L-C, si aparece un segundo patrón en otro lugar de la misma célula de la forma: C-L-C-L, entonces se tiene una alternancia discordante. Este fenómeno produce gradientes de Ca^{2+} [122] que inducen ondas de Ca^{2+} , [123] las cuales se propagan en la célula dando lugar a DADs. [120,124] Además, se ha confirmado que las alternancias de CaT facilitan las EADs y las DADs, [125-129] lo que puede dar lugar a PA espontáneos. [116,130] Es importante considerar que, las alternancias de CaTs pueden ocurrir de manera independiente a la dinámica del voltaje de membrana. [131-133] No obstante, la dinámica del voltaje de membrana regula directamente la dinámica de Ca^{2+} , por lo que ambos contribuyen a la generación de alternancias. [134,135]

Las alternancias de Ca^{2+} , [96-99,136] así como la estimulación eléctrica rápida, [137-139] propician alternancias en la duración del PA (ADPA), lo que genera gradientes de la DPA a través del tejido, causando un bloqueo localizado [99,140,141] y arritmias [140,142] por un mecanismo por reentrada, [143] tales como taquicardia y FV. [144,145] Las alternancias de repolarización cardiaca también han sido asociadas con muerte cardiaca súbita. [145] En ausencia de alternancia discordante de la DPA, una heterogeneidad eléctrica preexistente, puede dar lugar al rompimiento de la onda bloqueada, lo que puede causar reentrada. [143] Asimismo, las alternancias en la DPA han propuestas como un diagnóstico precursor de arritmias más severas. [25] En un estudio realizado sobre pacientes con fibrilación atrial (FA) y sujetos sanos, se observó en todos los pacientes que las alternancias en la DPA precedieron los eventos de FA. [146] Con base en estudios similares, se ha propuesto que la supresión de alternancias en la DPA podría tener un efecto antiarrítmico [147-149]

Por otro lado, las alternancias en la DPA causadas por aquellas en el CaT, [136,150] inducen la alternancia de las ondas T (ATW) observadas en el ECG, situación que puede desencadenar FV. [151] Estas ATW se refieren al cambio de un latido a otro en la morfología y amplitud de las ondas T, lo que indica que existe una alternancia en la repolarización ventricular. [152] Clínica y experimentalmente se ha observado que la alternancia de las ondas T precede a eventos de taquicardia ventricular y de fibrilación ventricular [116] y en algunos casos preceden

a la muerte cardiaca súbita, [153] por lo que la alternancia de las ondas T ya es un indicador de arritmias, [154,155] y de riesgo de SCD. [138,156]

Las alternancias de la onda T han sido relacionadas con alternancias en la amplitud del PA en pacientes con TV/FV. Por otra parte, relacionaron la eliminación de oscilaciones de Ca^{2+} con la eliminación de alternancias en el PA y en las ondas T. [152] Además, se ha confirmado un efecto antiarrítmico por eliminación de alternancias de Ca^{2+} [145] y de la DPA. [157] Finalmente, se ha propuesto la relación entre alternancias de Ca^{2+} durante isquemia con aquellas en la DPA y en la onda T, como un mecanismo arritmogénico. [120]

1.2.6 Alternancias en la Duración del Potencial de Acción y en la onda T como Indicadores de Riesgo de Arritmias Letales

En miocardios sanos, ante un incremento en la frecuencia de estimulación, la DPA y el intervalo diastólico (ID) decrecen. El ID normalmente se refiere al intervalo entre el final de la fase 3 de repolarización del PA y la fase 0 del siguiente PA. Esta restitución de la DPA asegura que el ID se preserve aún durante estimulación rápida, lo que asegura que después de cada latido, los ventrículos tendrán tiempo suficiente de recuperación antes de que ocurra el siguiente latido. Dicha restitución se cuantifica a través de lo que se conoce como curva de restitución, en la cual se grafica la DPA *versus* su ID previo, [116] (ver Figura 1.7). Esta curva puede ser obtenida con una estimulación del tipo *steady-state* a distintos periodos de estimulación o bien aplicando un protocolo de estimulación del tipo S1-S2. La pendiente de dicha curva está relacionada con la estabilidad del voltaje de membrana, la cual es función sobre todo de la dinámica de las corrientes I_{CaL} , I_{Na} , I_{Kr} y I_{Ks} . [102,141,158] Si la pendiente de la curva de restitución obtenida con estimulación rápida es mayor a 1 entonces, de acuerdo a la hipótesis de restitución, cambios pequeños en el ID podrían provocar fluctuaciones largas en la DPA y en la refractoriedad del PA. [159] Esta dinámica del PA puede dar lugar a gradientes largos de repolarización y causar conducción por reentrada, provocando arritmias cardiacas como FV. [159]

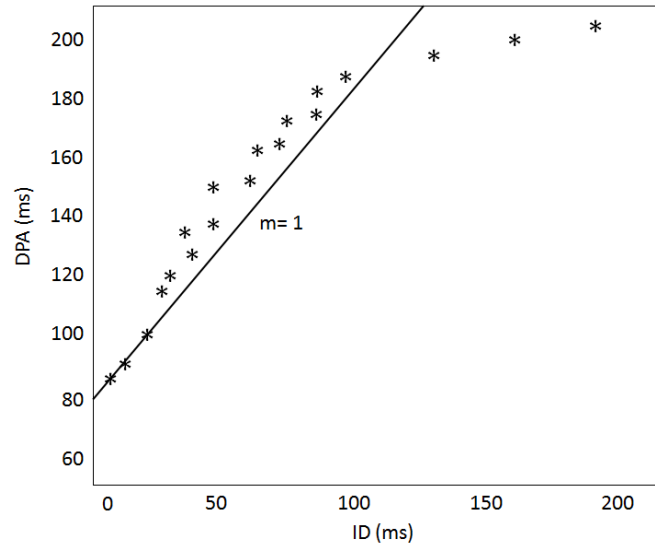


Figura 1.7. Ilustración de una curva de restitución. La línea sólida corresponde a una línea trazada *ad hoc* con pendiente $m = 1$. En la abscisa se grafica el intervalo diastólico, ID, mientras que en la ordenada se grafica la duración del PA, medidos a diferentes periodos de estimulación (curva de asteriscos). Note que las alternancias en la DPA ocurren por encima de la curva con pendiente 1.

En algunos experimentos *in vivo* [160] y *in vitro* [161,162], después de aplicar beta-bloqueadores y otros antiarrítmicos se observó la reducción de la curva de restitución [160] por debajo de 1, [162] lo que se relacionó con el decremento en las alternancias de la DPA como mecanismo antifibrilatorio.

A partir de distintos estudios realizados en pacientes con enfermedad estructural del corazón, [159] se obtuvieron curvas de restitución con pendiente ≥ 1 relacionadas con la ocurrencia de arritmias, mientras que en el caso de los sujetos sanos, dichas pendientes fueron menores a 1. Además, en sujetos con TV y FV, una pendiente de restitución pronunciada se relacionó con la ocurrencia de dichas arritmias cardiacas. [163] En condiciones de estimulación beta-adrenérgica en corazones humanos, una pendiente de restitución pronunciada se relacionó con la ocurrencia de eventos de FV. [164] Sin embargo, existe evidencia de que las alternancias en la DPA pueden ocurrir aun cuando la pendiente de restitución es ≤ 1 o bien pueden estar ausentes aun con una pendiente ≥ 1 . [165-168] Además, se han registrado alternancias en la DPA durante estimulación rápida, aun con pendientes de restitución ≥ 1 . [169] Finalmente, se ha sugerido que pueden existir mecanismos distintos a la restitución de la DPA que generen alternancias en la DPA, de manera que una pendiente de restitución ≥ 1 , no es una condición suficiente para predecir las alternancias y consecuentes arritmias. [170] Recientemente, se

propuso un método no invasivo en el que calcularon un índice, $\Delta\alpha$, el cual cuantifica la restitución de la DPA. [171] Este índice se calcula como el cociente entre el intervalo de las ondas TT y el intervalo RR a distintas condiciones de *steady-state*. Dicho índice es un predictor de SCD en pacientes con falla cardiaca crónica. [172] Por otra parte, cuando se trabaja con tejidos o modelos matemáticos en 2 ó mas dimensiones, también es necesario considerar la velocidad de conducción (VC) de la onda de propagación de la señal eléctrica como criterio para predecir la ocurrencia de alternancias [116,170] y de posibles arritmias.

La actividad eléctrica del corazón involucra muchas variables y parámetros, los cuales interaccionan entre sí. Además, la conducción del impulso eléctrico puede verse afectada por enfermedades genéticas, por defectos estructurales en el corazón o por la estimulación o supresión de la actividad simpática, por mencionar algunas causas. Entonces, considerar únicamente un parámetro cuantitativo como criterio para determinar la ocurrencia de alternancias (de Ca^{2+} , en la DPA o de ondas T) y las subsecuentes arritmias es insuficiente. Sin embargo, considerando todos los distintos sustratos y condiciones a los que se ve sometido el corazón, estos parámetros como indicadores de riesgo de posibles arritmias, representan un gran avance en el entendimiento de la dinámica de la actividad eléctrica del corazón y sus patologías.

1.3 Modelos Matemáticos del Potencial de Acción

En el estudio de canalopatías es importante reconocer los mecanismos moleculares que determinan la dinámica del PA ya que la propagación de PAs anómalos propicia la generación de arritmias cardíacas. Una manera de analizar y determinar los mecanismos involucrados en la dinámica del PA es a través de modelos físico-matemáticos del mismo.

En el presente capítulo se plantean los fundamentos físicos de los primeros modelos matemáticos de sistemas excitables, como las células del axón gigante del calamar y los cardiomiocitos. Estos trabajos dieron la pauta para el subsecuente desarrollo de modelos más adecuados para el estudio de la actividad eléctrica del corazón y las diversas patologías que lo afectan.

1.3.1 Modelo de Potencial de Acción de Neurona

Una de las contribuciones científicas más fascinantes por su trascendencia y por su simplicidad ha sido la de modelar el potencial de acción a través del formalismo utilizado por Hodgkin y Huxley (HH), con el cual simularon el PA del axón de calamar. Hodgkin y Huxley concibieron la membrana celular como un capacitor en un circuito eléctrico del tipo RC (ver Figura 1.8), lo que les valió el premio Nobel en Fisiología y Medicina en 1963. Numerosos modelos de la actividad eléctrica de miocitos y del corazón completo han sido desarrollados a partir de este trabajo. [173]

La membrana celular está compuesta en su interior por dos capas paralelas de lípidos. A lo largo de esta capa bilipídica se encuentran embebidas estructuras proteicas que funcionan como canales iónicos, a través de los cuales fluyen distintas corrientes de iones. En el caso del axón de calamar las principales corrientes que cruzan la membrana son de iones Na^+ y K^+ . Los flujos de estos iones a través de diferentes canales iónicos presentan ciertas resistencias, las cuales fueron modeladas como resistencias eléctricas conectadas en paralelo, como se muestra en la Figura 1.8.

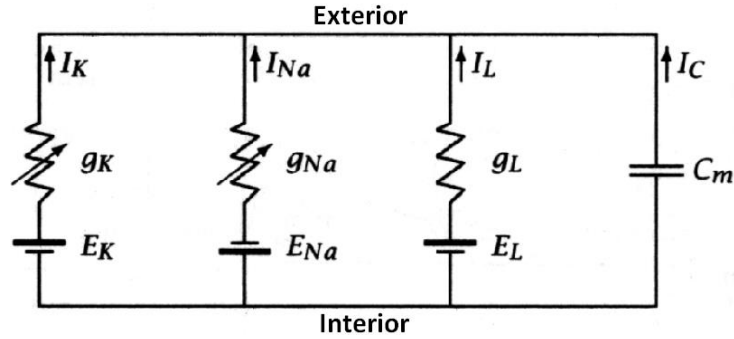


Figura 1.8. Esquema de un circuito eléctrico RC, representando las corrientes de iones de K^+ , de Na^+ y de fuga, así como sus conductancias, g_{kx} , correspondientes. Modificado de [174]

La corriente total que cruza la membrana del axón cambia a través del tiempo y se calcula como la suma de las distintas corrientes iónicas y de la corriente capacitiva, de manera que la corriente total que cruza la membrana se puede expresar con la siguiente ecuación:

$$I(t) = C(dV / dt) + I_i \quad (1.1)$$

donde, C es la capacitancia, I_i se refiere a las corrientes iónicas, V es el voltaje de membrana y t es el tiempo. Hodgkin y Huxley se basaron en observaciones experimentales realizadas con el protocolo de *voltage clamp*, en el cual se fija el potencial intermembranal, mientras que se registran las corrientes iónicas. Consideraron I_i como la suma de las corrientes de sodio, I_{Na} , de potasio, I_K y de una corriente de fuga, I_L . Además, utilizaron la ley de Ohm para describir estas corrientes iónicas en términos de sus correspondientes conductancias, g_{Na} , g_k y g_L , de manera que la suma de corrientes puede expresarse como

$$I_i = I_{Na} + I_K + I_L$$

$$I_i = g_{Na}(V - E_{Na}) + g_k(V - E_k) + g_L(V - E_L) \quad (1.2)$$

donde las conductancias son conductancias máximas y E_x con $x = Na, K, L$, se refiere a los potenciales en equilibrio de cada uno de los iones involucrados. Ellos plantearon cada una de las corrientes en términos de variables de activación e inactivación de los canales de sodio y potasio, de manera que la ecuación 1.2 puede ser escrita como sigue:

$$I_i = g_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) + g_k n^4 (V - E_k) + g_L (V - E_L) \quad (1.3)$$

donde m , h y n son variables, que dependen del voltaje de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \frac{dm}{dt} &= \alpha_m(V)(1-m) - \beta_m(V)m = (m_\infty - m) / \tau_m \\ \frac{dn}{dt} &= \alpha_n(V)(1-n) - \beta_n(V)n = (n_\infty - n) / \tau_n \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(V)(1-h) - \beta_h(V)h = (h_\infty - h) / \tau_h \end{aligned} \quad (1.4)$$

Las variables α y β son funciones del voltaje V y fueron determinadas a partir de datos experimentales. La solución de las ecuaciones (1.4) cuando V es constante tiene la siguiente forma

$$n(t) = n_\infty (n_\infty - n(0)) \exp(-t / \tau_n) \quad (1.5)$$

El sistema de ecuaciones (1.1) - (1.5) constituye el modelo de cuatro variables propuesto y resuelto por Hodgkin and Huxley en 1952. [173,175]

1.3.2 Modelo de Potencial de Acción de un Miocito Cardíaco

En 1962 Denis Noble modificó el modelo de Hodgkin y Huxley para describir el PA de células de Purkinje. Uno de los principales cambios realizado en el modelo de miocito fue considerar que el ion de potasio cruza la membrana celular a través de dos canales distintos. Entonces, el flujo de este ion queda representado matemáticamente por dos ecuaciones de corriente, una que corresponde al flujo del ion desde el interior al exterior de la célula con una conductancia g_{k2} y otra corriente que va en sentido opuesto con una conductancia g_{k1} , la cual es una función del potencial de membrana. La corriente de sodio quedó expresada de manera muy similar a la planteada por Hodgkin y Huxley considerando datos de células de Purkinje. La

inclusión de dichos parámetros se basa en observaciones experimentales de aquella época. [176-178] La corriente total que cruza la membrana celular se expresa como sigue

$$I(t) = C(dV/dt) + I_i \quad (1.6)$$

donde I_i es la suma de las corrientes de sodio y potasio, las cuales se expresan de la siguiente manera

$$I_k = (g_{k1} + g_{k2})(V + 100) \quad (1.7)$$

$$I_{Na} = (400 \cdot m^3 h + 0.14)(V - 40) \quad (1.8)$$

en donde las conductancias están dadas por las siguientes expresiones

$$g_{k1} = 1.2 \exp[(-V - 90)/150] + 0.015 \exp[(V + 90)/60] \quad (1.9)$$

$$g_{k2} = 1.2n^4. \quad (1.10)$$

Asimismo,

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n \quad (1.11)$$

$$\alpha_n = \frac{0.0001(-V - 50)}{\exp[(-V - 50)/10] - 1} \quad (1.12)$$

$$\beta_n = 0.002 \exp[(-V - 90)/80] \quad (1.13)$$

$$g_{Na} = m^3 h \bar{g}_{Na}, \quad (1.14)$$

donde \bar{g}_{Na} es una constante y m y h obedecen a las siguientes ecuaciones

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m \quad (1.15)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(1-h) - \beta_h h \quad (1.16)$$

donde α_m , β_m y β_h son funciones de V .

$$\alpha_m = \frac{0.1(-V - 48)}{\exp[(-V - 48)/15] - 1} \quad (1.17)$$

$$\beta_m = \frac{0.12(V + 8)}{\exp[(V + 8)/5] - 1} \quad (1.18)$$

$$\alpha_h = 0.17 \exp[(-V - 90)/20] \quad (1.19)$$

$$\beta_h = \left[\exp\left(\frac{-V - 42}{10}\right) + 1 \right]^{-1} \quad (1.20)$$

Las ecuaciones (1.6) - (1.20) constituyen el modelo de PA de cuatro variables, V , n , m , h , desarrollado por Noble. [176] A partir de este modelo se han derivado muchos otros modelos de la actividad eléctrica del corazón, para una célula, para tejido e inclusive para el corazón completo. Cada uno de estos modelos ha ajustado sus parámetros a los datos experimentales disponibles en la literatura más reciente.

1.3.3 Modelo de Potencial de Acción de un Miocito Ventricular Humano

En el desarrollo de la presente tesis estuvimos interesados específicamente en el PA de ventrículos de humano bajo condiciones del síndrome de Andersen-Tawil, (SAT). Por lo tanto, elegimos basarnos en uno de los modelos de PA de humano conocidos hasta el momento, cuyo código computacional fue de fácil acceso. [179] Adicionalmente, este modelo considera, con respecto a modelos previos, datos experimentales obtenidos sobretodo de miocitos ventriculares humanos [179,180-182] y reproduce de manera adecuada la duración del PA (DPA). [179,183-185] Asimismo, el modelo incluye la dinámica de calcio con cierto detalle, lo cual consideramos

importante tomar en cuenta ya que algunos de los fenómenos que queríamos reproducir, como post-despolarizaciones tempranas (EAD), ocurren al final del *plateau* del PA, el cual está gobernado en gran parte por la dinámica de calcio. Por otra parte, es uno de los modelos de PA de humano computacionalmente más eficientes, que plantea con gran detalle la dinámica de cada una de las corrientes, manteniéndose con un número relativamente reducido de variables (9 variables). [179-182] A continuación, se describe el modelo de PA de ventrículo humano en el que nos basamos para crear un modelo de SAT. Asimismo, se presentan los resultados y las conclusiones que posteriormente nos llevaron a proponer el desarrollo de un modelo con características más *ad hoc* de la dinámica de calcio. El modelo esta dado por ecuaciones diferenciales del tipo de HH. La ecuación de la dinámica del potencial de acción está escrita en función de las corrientes iónicas que atraviesan la membrana celular, de la siguiente manera:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{I_{ion} + I_{stim}}{C_m} \quad (1.21)$$

en donde V es el voltaje transmembranal, I_{ion} se refiere a la suma de las corrientes iónicas que atraviesan la membrana, I_{stim} representa la corriente de estimulación externa, t es el tiempo y C_m es la capacitancia celular por unidad de área. La suma de todas las corrientes iónicas está dada por la siguiente expresión:

$$I_{ion} = I_{Na} + I_{K1} + I_{to} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{CaL} + I_{NaCa} + I_{NaK} + I_{pCa} + I_{pK} + I_{bCa} + I_{bNa}, \quad (1.22)$$

donde I_{Na} es la corriente rápida de sodio, I_{CaL} es la corriente de calcio tipo L, I_{to} , es la corriente externa transitoria, I_{Kr} , es la componente rápida de la corriente de potasio rectificadora, I_{Ks} , es la componente lenta de la corriente rectificadora de potasio, mientras que, I_{K1} es la corriente rectificadora entrante de potasio. En este modelo, dichas corrientes fueron escritas en términos de parámetros ajustados a datos experimentales recientes. Además, I_{NaCa} , es la corriente intercambiadora de Na^+/Ca^{2+} , I_{NaK} es la corriente de la bomba Na^+/K^+ , I_{pCa} y

I_{pK} son las corrientes del *plateau* de Ca^{2+} y K^+ , mientras que I_{bCa} y I_{bK} son las corrientes de fondo de Ca^{2+} y K^+ . Las ecuaciones de estas corrientes están escritas en función de variables que representan los posibles estados de activación de los canales. Además, están escritas en términos de las conductancias asociadas a cada uno de ellos, y del potencial de membrana, V , de la siguiente manera:

$$I_{Na} = G_{Na} m^3 h j (V - E_{Na}) \quad (1.23)$$

donde G_{Na} es la conductancia máxima de I_{Na} , m es la constante de activación, h , es la constante de inactivación y j , es una constante de inactivación lenta. Estas constantes están descritas matemáticamente de manera similar a las descritas en el modelo de HH. El resto de las corrientes están dadas por las siguientes ecuaciones.

$$I_{to} = G_{to} r_{\infty}(V) s (V - E_k) \quad (1.24)$$

$$I_{Kr} = G_{Kr} x_{r1} x_{r2\infty}(V) (V - E_k) \quad (1.25)$$

$$I_{CaL} = G_{CaL} d_{\infty}(V) sf \cdot rf (V - 60) \quad (1.26)$$

donde las constantes de activación, r_{∞} en (1.24), x_{r1} en (1.25), y d_{∞} en (1.26), son usadas bajo una aproximación del tipo *steady-state* (*estado estacionario*). En (1.24) s , es una constante de inactivación dependiente de voltaje; en (1.25) $x_{r2\infty}$ es una constante de inactivación; mientras que en (1.26) sf y rf son constantes de inactivación lenta y rápida, correspondientemente, dependientes de voltaje. Además, G_{Kr} y G_{CaL} , son las conductancias máximas de I_{Kr} y I_{CaL} , correspondientemente.

Adicionalmente, E_k es un potencial de reversa. La componente lenta de la corriente rectificadora de potasio esta expresada como sigue

$$I_{Ks} = G_{Ks} x_s^2 (V - E_{Ks}) \quad (1.27)$$

donde x_s es una constante de activación y E_{K_s} es el potencial de reversa, el cual está determinado por una permeabilidad grande al K^+ y por una permeabilidad relativamente pequeña a los iones Na^+ . Además, G_{K_s} es la conductancia máxima de I_{K_s} . La corriente entrante rectificadora de potasio se expresa como:

$$I_{K1} = G_{K1} \sqrt{\frac{K_0}{5.4}} x_{K1\infty} (V - E_k) \quad (1.28)$$

donde $x_{K1\infty}$, es un factor de rectificación independiente del tiempo y dependiente del voltaje. Esta corriente depende de la concentración de potasio extracelular, K_0 , lo cual se incluye a través del término de la raíz cuadrada. Además, G_{K1} es la conductancia máxima de I_{K1} . Otra corriente que depende de K_0 es la siguiente:

$$I_{NaK} = R_{NaK} \frac{K_0 Na_i}{(K_0 + K_{mK}) + (Na_i + K_{mNa})(1 + 0.1245e^{-0.1VF/RT} + 0.0353e^{-VF/RT})}, \quad (1.29)$$

donde K_0 es la concentración extracelular de potasio; Na_i es la concentración intracelular de sodio; K_{mK} y K_{mNa} son constantes de saturación medias de I_{NaK} de potasio y de sodio correspondientemente.

La corriente de intercambio Na^+/Ca^{2+} , se obtiene de la siguiente ecuación,

$$I_{NaCa} = k_{NaCa} \frac{e^{\gamma VF/RT} Na_i^3 Ca_0 - e^{(\gamma-1)VF/RT} Na_0^3 Ca_i \alpha}{(K_{mNa}^3 + Na_0^3)(K_{mCa} + Ca_0)(1 + k_{sat} e^{(\gamma-1)VF/RT})}, \quad (1.30)$$

donde k_{NaCa} es el máximo de I_{NaCa} ; γ es el parámetro dependiente de voltaje; K_{mCa} y K_{mNa} son las constantes de saturación de calcio y de sodio, correspondientemente; k_{sat} es el factor de saturación y α es el factor que mejora el comportamiento de salida de I_{NaCa} . Además, Na_0 es la concentración extracelular de sodio. Esta corriente depende de la concentración de calcio extracelular, Ca_0 , y del calcio citosólico, Ca_i , concentraciones que son constantes en este

modelo. Además, I_{NaCa} depende del voltaje, V . Otras cantidades que dependen del calcio intracelular son la corrientes I_{pCa} e I_{bCa} de la siguiente manera

$$I_{pCa} = G_{pCa} \frac{Ca_i}{K_{pCa} + Ca_i}, \quad I_{bCa} = G_{bCa}(V - E_{Ca}), \quad (1.31)$$

donde G_{pCa} es la conductancia máxima de I_{pCa} ; K_{pCa} es la constante de saturación media y G_{bCa} es la conductancia máxima de I_{bCa} . Finalmente, la ecuación de la corriente I_{pK} , está dada por la siguiente expresión

$$I_{pk} = G_{pk} \frac{V - E_k}{1 + e^{(25-V)/5.98}}, \quad (1.32)$$

mientras que la corriente de fondo de sodio está descrita como sigue:

$$I_{bNa} = G_{bNa}(V - E_{Na}), \quad (1.33)$$

donde G_{pK} y G_{bNa} son las constantes máximas de I_{pK} y de I_{bNa} correspondientemente. La lista de los valores de los parámetros utilizados se puede hallar en la literatura. [179] El sistema de ecuaciones antes descrito se integró con el método de Euler, utilizando un $\Delta t = 0.02$ ms. El PA y algunas de las principales corrientes que lo generan se muestran en la Figura 1.9. El valor mínimo que toma el voltaje es de -84 mV y la $DPA_{90\%}$ fue de 290 ms. La despolarización del PA esta gobernada sobre todo (con un valor absoluto > 0.2 pA/pF) por las corrientes, I_{CaL} , I_{NaCa} , I_{K1} , I_{to} e I_{Na} . Las principales corrientes que dan forma al *plateau* del PA, son, I_{CaL} , I_{NaCa} e I_{NaK} , mientras que las corrientes de potasio I_{K1} , I_{Ks} e I_{Kr} participan sobre todo en la última fase de repolarización, como se ilustra en la Figura 1.9.

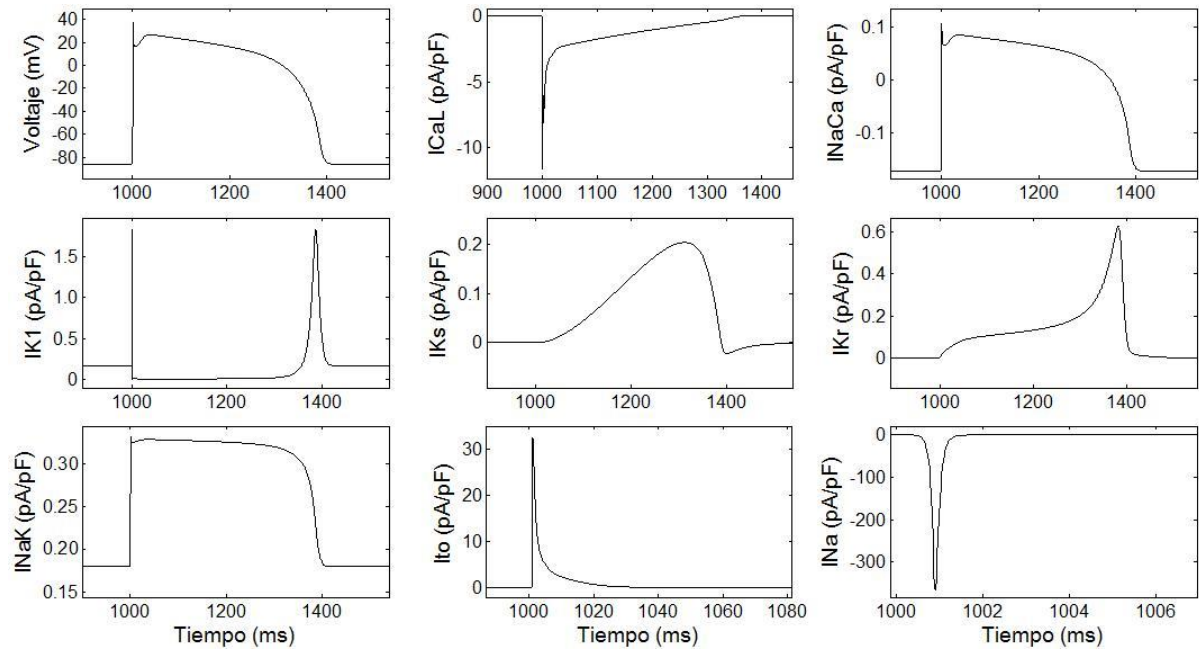


Figura 1.9. Potencial de acción y algunas de las principales corrientes que lo generan. Primer panel de izquierda a derecha, PA de un miocito ventricular humano obtenido del modelo base, corriente de calcio tipo-L, corriente intercambiadora de Na⁺/Ca²⁺. Segundo panel, de izquierda a derecha, corriente rectificadora entrante, corriente rectificadora tardía lenta, corriente rectificadora tardía rápida. Tercer panel de izquierda a derecha, corriente de la bomba de Na⁺/K⁺, corriente saliente transitoria y corriente rápida de sodio.

1.4 Análisis del Electrocardiograma

En la presente sección se describen solo algunas de las principales herramientas de la electrocardiografía, relacionadas directamente con el trabajo aquí desarrollado.

1.4.1 Parámetros Derivados del Electrocardiograma

El ECG presenta características persistentes en la morfología de las ondas que lo conforman (P-QRS-T) así como en el promedio de la frecuencia cardiaca y del intervalo RR. La valoración del ECG puede consistir en la medición del tiempo que dura cada latido y de las amplitudes de las ondas que se registran latido a latido. Algunos de los principales intervalos medidos sobre el ECG, como los intervalos RR, QT, PP y PQ se ilustran en la Figura 1.10. El valor de dichos intervalos para el caso de individuos sanos es conocido [186] y cuando estos presentan valores distintos es un indicador de irregularidades cardiacas.

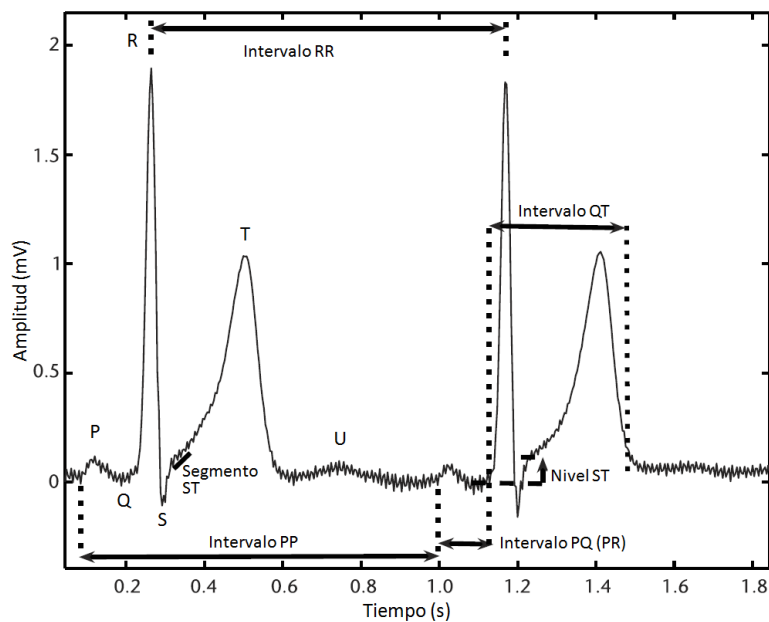


Figura 1.10. Esquema del ECG correspondiente a dos latidos cardiacos, mostrando las ondas que lo componen y algunos de los principales intervalos que lo caracterizan. Modificado de [186]

1.4.2 Análisis Cuantitativo del ECG

Existen algunos métodos bien establecidos para identificar arritmias a partir de la morfología de las ondas que componen el ECG y de los valores de algunos intervalos medidos sobre el ECG. [186]

Uno de estos métodos consiste en la detección del complejo de ondas QRS y en el etiquetamiento de los latidos registrados, identificando la ocurrencia de una arritmia como la aparición de una serie de latidos de un tipo particular. Otra técnica utilizada consiste en obtener valores estadísticos de la frecuencia cardiaca en los cuales ocurre la arritmia. Finalmente, es posible construir un modelo de la dinámica de los distintos ritmos cardiacos y comparar la señal así generada con los datos registrados de pacientes.

Con el primer método es posible clasificar una arritmia a partir de una secuencia de latidos ectópicos. A partir de este análisis, junto con el de la frecuencia cardiaca, es posible identificar distintas arritmias. Existen diversas técnicas para la clasificación de latidos que pueden consultarse en la literatura. [187-193]

El segundo método utiliza los valores estadísticos de la frecuencia cardiaca o del intervalo RR, como el promedio o la desviación estándar. [194] A cortas escalas, el tiempo entre latidos o la frecuencia es irregular, lo que refleja el balance del sistema simpátovagal. Ésta irregularidad es estudiada como la variabilidad de la frecuencia cardiaca (HRV). [195] Las mediciones de la HRV reflejan las distintas fuentes de actividad simpática o parasimpática sobre el sistema nervioso autónomo en el nodo sinoatrial, por lo que los intervalos RR asociados con latidos anormales (que no se generan en el nodo sinusal) no se incluyen en el cálculo de la HRV y solo se toman en cuenta series consecutivas de latidos normales. Debido a que la HRV está gobernada por distintos sistemas fisiológicos, para cuantificar el efecto de cada uno de ellos se debe realizar primero una separación del dominio de frecuencia de bandas.

La HRV puede ser evaluada también a través de métodos espectrales con los cuales se puede separar la variabilidad del ritmo cardiaco debida a la excitación vagal de la producida por la excitación simpática. Estos análisis se pueden calcular a escalas de tiempo cortas de 5 minutos, o bien por largos periodos de 24 horas. En la literatura se puede encontrar los detalles de estos métodos, tales como, estadística del dominio de tiempo [194,196], análisis de la HRV en

el dominio de la frecuencia [186], componentes espectrales de corto [197-200] y largo plazo. [194] La mayoría de los métodos espectrales antes mencionados, utilizan una transformada de Fourier rápida [194] o alguna variación de estimación espectral autoregresiva [201], lo que requiere implícitamente de estacionariedad. [186] Además, la HRV está determinada por la interacción de variables hemodinámicas, electrofisiológicas y humorales, así como por la regulación del sistema nervioso autónomo y el central. [194] Por lo tanto, la respuesta de la HRV es no-lineal y se ha planteado que el uso de métodos no-lineales podrían ser de utilidad en su estudio.

Algunos de los parámetros derivados de dichos métodos son el parámetro $1/f$, obtenido del espectro de Fourier, [202-203] el exponente de escalamiento H y el exponente de Lyapunov [204]. También se ha calculado la entropía de Kolmogorov [205] y la dimensión de correlación D_2 . A partir de la representación de datos se han desarrollado gráficas de atractores de baja-dimensión, de descomposición de valores singulares, mapas de Poincaré y gráficas de trayectoria de atractores. [194] Otros métodos compatibles con la no-estacionariedad de las series de tiempo incluyen el *detrended fluctuation analysis* [206], el cálculo de la entropía multiescala, [207] de la *wavelet entropy*, [208] de la multifractalidad, [209] y el análisis de la fractalidad en las series de latidos. [210,211]

Cuando las series de tiempo de la frecuencia no presenten estacionariedad es posible utilizar técnicas que segmentan dichas series en puntos en donde se identifican cambios, de manera que se analizan los segmentos aislados. [212] Otra posibilidad es utilizar métodos que analizan cambios efímeros de la señal en los puntos en que estos ocurren, lo que se conoce como análisis de perturbación. [188] Estas técnicas incluyen el análisis de la turbulencia de la frecuencia cardiaca, [213-216] y de la turbulencia del intervalo QT, que examina la variación del intervalo QT medido después de una contracción ventricular prematura (PVC). [217]

Finalmente, se han desarrollado modelos para identificar o reproducir características particulares de la dinámica que presentan algunas arritmias. Por ejemplo, se desarrolló un modelo que ha servido para reproducir de manera aproximada la distribución estadística de los intervalos RR observada durante arritmias atriales, [218] así como un segundo modelo que clasifica los latidos de acuerdo a su distribución estadística. [219] A partir de éstos trabajos se han elaborado diversos modelos con el propósito de reproducir las dinámicas que presentan los

latidos anormales durante condiciones patológicas. [220] Las distribuciones de latidos ectópicos así generadas, se comparan con datos de pacientes.

Uno de los métodos, extensamente desarrollado a partir de su aparición, es la técnica conocida como *heartprints*, [220,221] que permite analizar series de latidos ectópicos generadas a partir de dichos modelos y de datos de pacientes. Este método analiza la dinámica transitoria de los latidos ectópicos en registros largos y consiste de un montaje gráfico de histogramas utilizado para identificar distintas propiedades de las arritmias y sus cambios. [220] El *heartprint* permite representar las dependencias que existen entre el intervalo sinusal (RR) y el intervalo ectópico (VV), el número de latidos sinusales que se encuentran entre latidos ectópicos (NIB) y el intervalo de acoplamiento, (CI). Estas cantidades medidas sobre el ECG se ilustran en la Figura 1.11.

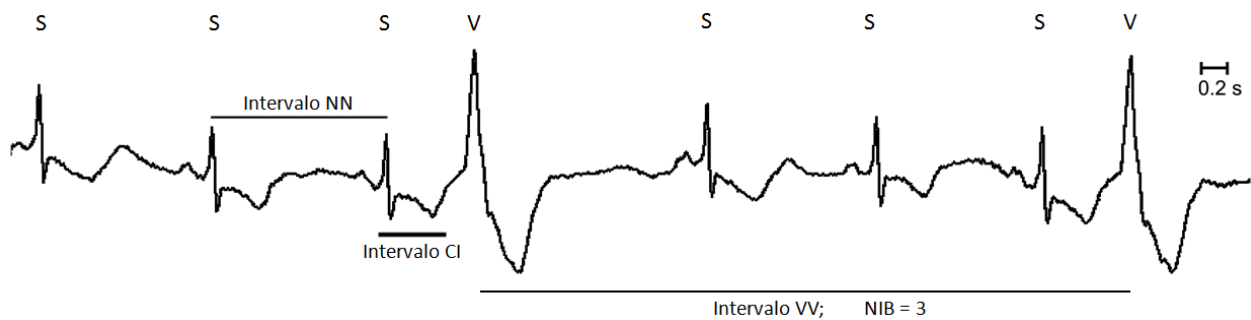


Figura 1.11. Trazo de un ECG, con los latidos etiquetados con una S, si el latido es normal y con una V, si el latido es anormal. Además, se muestran el intervalo entre latidos sinusales NN, el intervalo de acoplamiento CI, el intervalo entre dos latidos anormales VV y el número de latidos sinusales entre dichos latidos ectópicos NIB. Modificado de [222]

En la Figura 1.12, se ilustra un *heartprint* de un paciente de 80 años de sexo masculino. [221] El histograma de los intervalos NN se muestra a la izquierda de la figura y los histogramas de los intervalos VV, del número NIB y del intervalo CI se muestran a la derecha en la parte superior de la figura. La ordenada en los cuadros inferiores de la figura representa el intervalo entre latidos sinusales, NN. La abscisa de estos mismos cuadros representa el intervalo VV, el NIB y el CI respectivamente. Las dependencias entre los intervalos NN y las cantidades en las abscisas se presentan en una escala de grises, donde las zonas más oscuras representan la ocurrencia de más eventos.

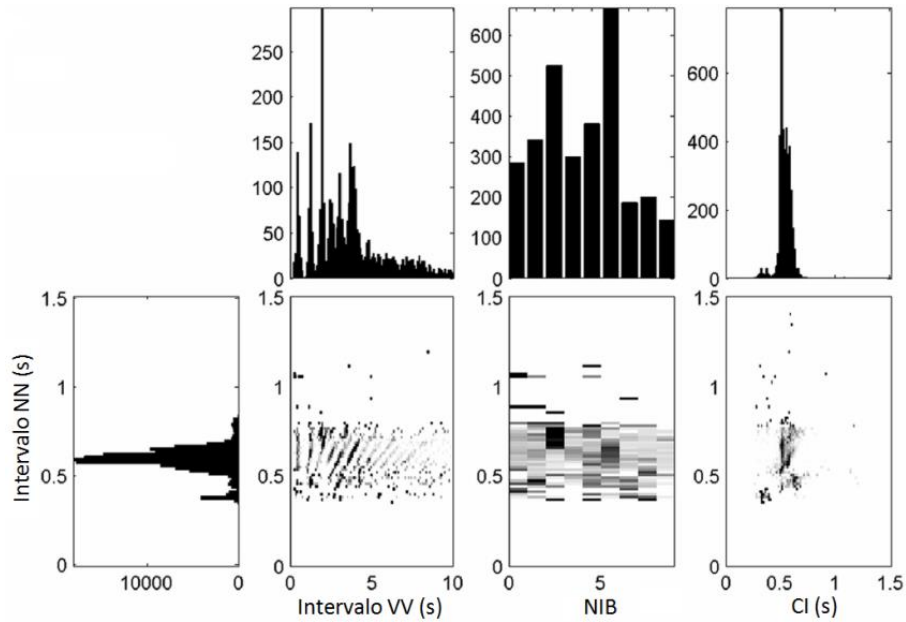


Figura 1.12. *Heartprint* de un paciente de 80 años del sexo masculino con una historia clínica desconocida. Se observa que los intervalos NN tuvieron valores de entre 0.4 y 0.8 s con un rango ancho de los valores del NIB y con un intervalo de acoplamiento CI, altamente variable. [221]

Las propiedades estadísticas que reflejan los *heartprints* de datos de pacientes pueden compararse con aquellas de *heartprints* obtenidos de distribuciones de latidos ectópicos generadas con modelos. Estos modelos pueden construirse considerando el proceso fisiológico generador de ciertas arritmias, de manera que la distribución de latidos resultante reflejará dicho mecanismo. Es por esto que, en algunos casos, las distribuciones estadísticas que muestran los *heartprints* pueden utilizarse para entender el mecanismo fisiológico que las genera. Esta técnica ha sido optimizada y se ha utilizado en el análisis de series de latidos para estratificación de riesgo. [221]

1.4.3 Introducción a la Función de Información Mutua

En el presente trabajo utilizamos una herramienta matemática conocida como *mutual information function (MIF)* con el propósito de identificar la ocurrencia de ciertas arritmias ventriculares en algunas cardiopatías. Inicialmente, la MIF había sido utilizada para medir la diferencia entre la incertidumbre promedio de la información de entrada y de salida que pasaba a través de un canal, lo que proporcionaba una medida de la información transferida en el proceso. [223,224] En el presente trabajo utilizamos por primera vez la MIF para analizar arritmias, en particular la ocurrencia de bigeminismo ventricular en ciertas condiciones patológicas del

corazón, asociadas con arritmias ventriculares frecuentes. El bigeminismo se refiere a una arritmia ventricular en la que latidos ectópicos se encuentran alternando entre latidos sinusales. El reconocimiento de bigeminismo se realizó sobre series simbólicas generadas a partir de ECGs de pacientes. En esta sección se introduce el concepto de la MIF, mientras que en el capítulo 4 de Resultados, se detalla la metodología y los resultados obtenidos de este trabajo.

A partir de ECGs de pacientes se obtuvieron series simbólicas que consistían de una secuencia de símbolos, los cuales podían ser N, si el latido había sido etiquetado como uno normal ó V, si el latido había sido considerado ectópico. La serie simbólica así obtenida (e.g. NVNVNNNVVVNNNVN) corresponde a las secuencia de latidos de un registro de ECG de 24 horas, de manera que la MIF utilizada mide la dependencia estadística entre los latidos que conforman dicha serie. De tal manera que, dado un alfabeto denotado como $A = \{N, V\}$ y un cadena infinita $s = (\dots, a_0, a_1, \dots)$ con $a_i \in A, i \in \mathbb{Z}$, donde \mathbb{Z} representa el conjunto de todos los números enteros y los valores de a_i pueden repetirse, la MIF para esta cadena se define como: [225]

$$I(k, s) = \sum_{\alpha \in A} \sum_{\beta \in A} P_{\alpha, \beta}(k, s) \log_2 \left[\frac{P_{\alpha, \beta}(k, s)}{P_{\alpha}(s)P_{\beta}(s)} \right]$$

donde $P_{\alpha, \beta}(k, s)$ es la probabilidad conjunta de hallar el símbolo α seguido del símbolo β , el cual se encuentra a k sitios de α . Este valor de k , es el número de sitios que separan a los símbolos α y β . Escogiendo el logaritmo en base 2, $I(k, s)$ se mide en bits y proporciona información sobre la ocurrencia del símbolo A_{β} una vez que se ha hallado el símbolo A_{α} . La MIF, $I(k, s)$ toma valores de cero si y solo si los eventos son estadísticamente independientes. Esta función es simétrica, entonces $I(\alpha, \beta) = I(\beta, \alpha)$, por lo que el promedio de información de α sobre β es igual al promedio de información de β sobre α . Además, cumple con $I(\alpha, \beta) = I(\beta, \alpha) \geq 0$. La MIF obtenida de series simbólicas de pacientes generó patrones asociados a la ocurrencia de bigeminismo ventricular, de trigeminismo y de la combinación de ambos, entre otros. Estos patrones se esquematizan a partir de la MIF calculada sobre series sintéticas generadas computacionalmente en la Figura 1.13.

De esta manera, la MIF proporciona una visualización rápida y simplificada de la ocurrencia de dichas arritmias registradas en *Holters* de 24 horas. En ciertas cardiopatías como el síndrome de Andersen-Tawil (SAT) se ha observado que el bigeminismo es una de las primeras manifestaciones observadas en el ECG, la cual puede desencadenar en episodios de arritmias letales. Es por ello que el reconocimiento de la ocurrencia de bigeminismo y de su persistencia fueron de interés en el presente trabajo.

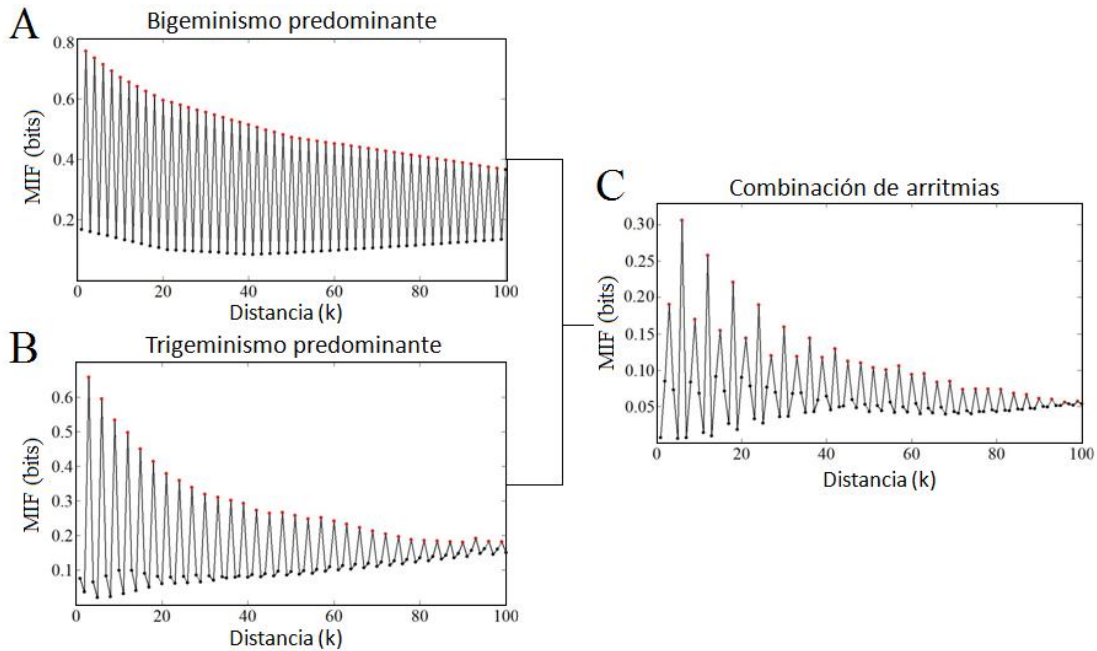


Figura 1.13. Patrones de la MIF de series simbólicas sintéticas. El panel A muestra un patrón típico en presencia de bigeminismo persistente; en el panel B, se observa un patrón relacionado con la ocurrencia de trigeminismo persistente; el panel C muestra la MIF obtenida cuando ambas arritmias ocurren. Los puntos rojos y negros representan los valores de la MIF, los cuales se unen a través de una línea en negro para formar los patrones mostrados. [222]

En la sección 4.1, se muestran los resultados publicados [225] a partir del cálculo de la MIF en series simbólicas de pacientes con SAT y de pacientes con eventos de muerte cardíaca súbita (SCD). Aunque en este trabajo nos concentramos en la actividad eléctrica cardíaca del SAT, el estudio de la MIF sobre datos de pacientes con SCD nos permitió revisar si la MIF presentaba diferencias entre sus patrones, de acuerdo a las distintas condiciones patológicas que generaron el bigeminismo.

1.5 El Síndrome de Andersen-Tawil

1.5.1 Características Clínicas de Pacientes con el Síndrome de Andersen-Tawil

En 1971, Andersen describió a una familia que presentó anomalías dismórficas, parálisis periódica y latidos ventriculares ectópicos. [226] Posteriormente, Tawil y su grupo de trabajo describieron 15 casos similares de 8 familias diferentes con las mismas características antes reportadas. [227,228] Las alteraciones dismórficas pueden presentarse como estatura corta, hipertelorismo, orejas bajas, defecto palatal e hipoplasia mandibular. La debilidad muscular se ha relacionado con sensibilidad a la concentración del potasio extracelular, $[K^+]_o$. [226,227,229] Algunos pacientes con síndrome de Andersen-Tawil (SAT) presentan mutación del gen *KCNJ2*, que codifica la subunidad alfa del canal de potasio Kir2.1, lo que resulta en la inhibición de la corriente entrante de potasio, I_{K1} . [229-231] Sin embargo, el SAT ha mostrado variabilidad en la penetrancia intrafamiliar. [228,229,232]

En el ECG de pacientes con SAT se ha observado el intervalo QT prolongado, ocurrencia de ondas U y anomalías en la onda T. [228,230,231,233] Además, se presentan latidos ectópicos y arritmias ventriculares sobre todo bigeminismo, que en algunos casos desencadena *torsade de points*, taquicardia ventricular (TV) bidireccional y TV polimórfica no sostenida que podrían dar lugar a fibrilación ventricular, (FV). [229-231,233-238] El bigeminismo observado en el SAT, se refiere a una arritmia ventricular caracterizada por la alternancia de latidos anormales, con latidos generados en el nodo sinusal. Cabe mencionar que la TV bidireccional ha sido asociada con una sobrecarga de calcio intracelular en otras cardiopatías. [235] Además, el ejercicio físico es uno de los principales factores que provocan la TV polimórfica en pacientes con SAT, [234] lo que también puede ocurrir por mutaciones en el gen *KCNJ2*. [236]

Son pocos los casos en los que se ha reportado muerte cardíaca súbita, [238,239] y algunos pacientes con SAT han experimentado paro cardiorespiratorio. [230,240,241] Recientemente, se reportó un caso de una paciente que tuvo un paro cardiorespiratorio repentino y se encontró que las primeras alteraciones electrocardiográficas registradas antes de dicho paro fueron la prolongación del intervalo QT y la ocurrencia bigeminismo. [241] Antes de corregir el bajo potasio extracelular de la paciente, se observó taquicardia de QRS estrecho y prolongado.

Posterior a la cardioversión eléctrica aplicada para contrarrestar el paro cardiorespiratorio, se registró prolongación del intervalo QT, prominentes ondas U y anomalías en la onda T. La descripción de este caso es un ejemplo de las condiciones clínicas en las que pueden ocurrir las alteraciones cardiacas antes mencionadas. [241] La Figura 1.14 muestra algunas de las características electrocardiográficas observadas en el SAT. [230,231]

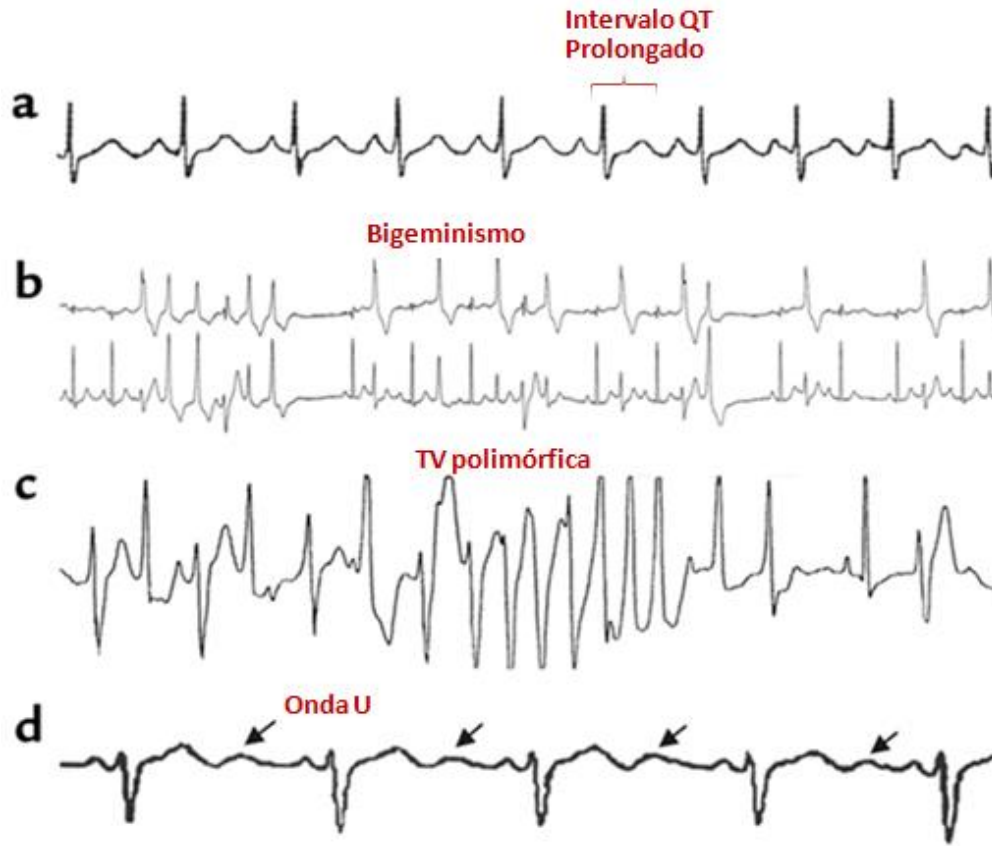


Figura 1.14. ECG mostrando distintas arritmias observadas en el SAT tales como (a) prolongación del intervalo QT; (b) taquicardia ventricular (TV) no sostenida, seguida de bigeminismo; (c) TV bidireccional que degenera en TV polimórfica; (d) ondas U prominentes. Modificada de [230]

Adicionalmente, se ha observado en pacientes con SAT que la ocurrencia de ondas U está relacionada con la aparición de post-despolarizaciones tardías (DADs), las cuales se exacerban por estimulación beta-adrenérgica (por inyección de epinefrina), como se muestra en la Figura 1.15. También, se ha observado que durante la estimulación beta-adrenérgica, la ocurrencia de ondas U es seguida por latidos ectópicos prematuros (VPB) los cuales alternan con un patrón de bigeminismo, como se muestra en la Figura 1.16. [242]

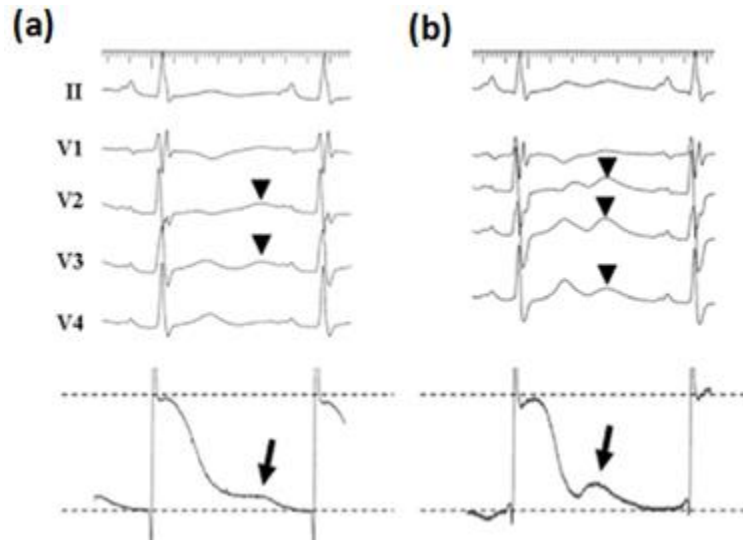


Figura 1.15. Trazos de un ECG (arriba) y PA monofásico (abajo) medidos sobre un paciente con SAT. (a) Antes de inyectar epinefrina; (b) después de inyectar epinefrina se exacerbaban las ondas U observadas en el ECG y las despolarizaciones tardías, DAD, del potencial de acción. [242]

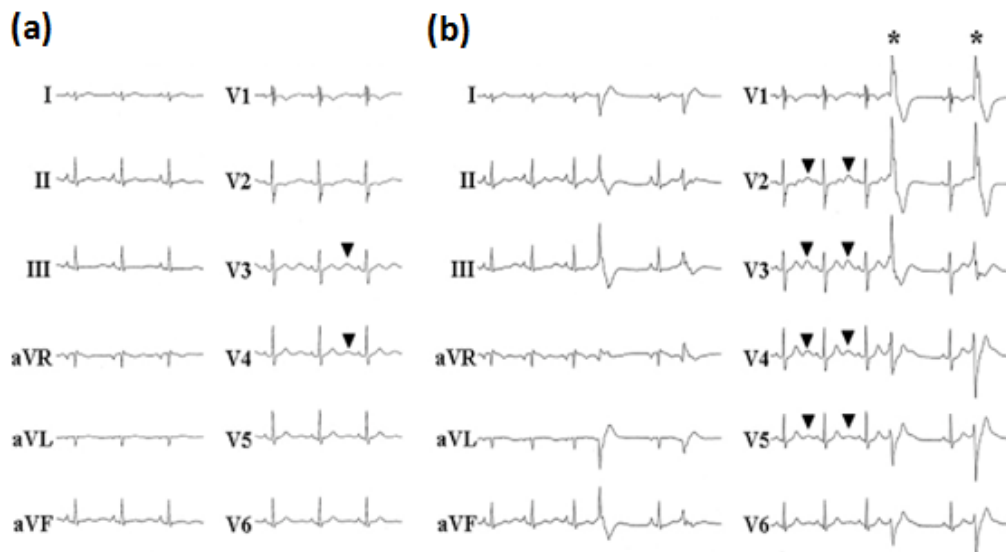


Figura 1.16. ECG de un paciente con SAT. (a) aparición de ondas U; (b) ondas U seguidas por latidos ectópicos prematuros con patrón de bigeminismo, observados después de estimulación beta-adrenérgica. [242]

Finalmente, en un estudio realizado a partir de los hollers de 24 horas registrados de pacientes con SAT que presentaron bigeminismo persistente, se observó la ocurrencia de latidos ectópicos con intervalo de acoplamiento (CI) fijo. Para realizar este estudio se desarrollaron *heartprints*, los cuales muestran la distribución de los CIs, medidos entre el latido precedente a cada latido ectópico, en relación con los intervalos NN, como se muestra en la Figura 1.17.

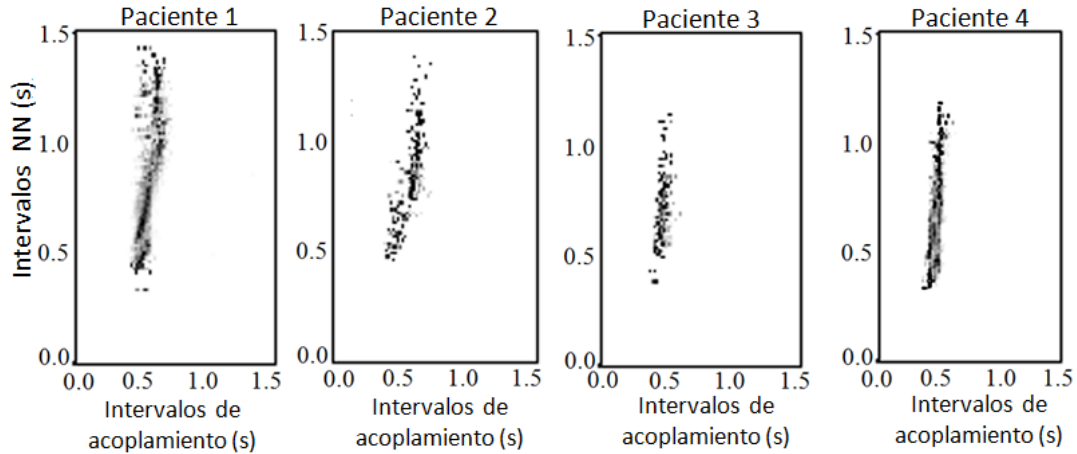


Figura 1.17. Intervalos de acoplamiento, CI, en relación a los intervalos NN, medidos a partir de un registro de un Holter de 24 horas en cuatro pacientes con SAT que presentaron bigeminismo persistente. [222]

La caracterización sistemática del CI en Holters de 24 horas en el SAT es una característica importante, que debe tomarse en cuenta al momento de tratar de elucidar el mecanismo arritmogénico en esta cardiopatía. Anteriormente se propusieron dos mecanismos generadores de bigeminismo, los cuales toman en cuenta el CI para su descripción. El primer mecanismo se refiere a la parasístole, [243] en la que se propone que el bigeminismo comienza debido a la alternancia de un latido sinusal con un latido propagado a partir de un foco ectópico ventricular. Las características asociadas a este mecanismo observadas en el ECG incluyen, la ocurrencia de latidos ectópicos con un CI variable o fijo en el caso de parasístole intermitente. Por otra parte, se ha observado que los latidos sinusal y ectópico que alternan, se fusionan. Además, el intervalo QT puede ser normal o prolongado. [244] También se ha explicado la ocurrencia de bigeminismo, a partir de la parasístole modulada. [245-247]

El segundo mecanismo propuesto para explicar la ocurrencia del bigeminismo es conocido como reentrada. [248,249] Este mecanismo se refiere a la situación en la que el avance de un impulso eléctrico sinusal se retrasa o queda bloqueado en uno o más segmentos del sistema eléctrico de conducción. Al mismo tiempo, la transmisión eléctrica se mantiene normal en el resto del sistema, dando lugar a un retraso o a una conducción retrograda de los impulsos eléctricos hacia las células cardiacas vecinas. Las características electrocardiográficas asociadas a este mecanismo son la ocurrencia de latidos ectópicos con un CI fijo, mientras que el intervalo QT es normal. En algunas ocasiones se observan dos latidos fusionados. [248]

También se ha propuesto que el bigeminismo puede ocurrir debido a alternancias de DADs que inducen actividad por disparo. [243] Sin embargo, el mecanismo generador de bigeminismo bajo las condiciones electrofisiológicas específicas del SAT no ha sido elucidado.

1.5.2 Modelos Experimentales del Síndrome de Andersen-Tawil

Para estudiar los fenómenos electrofisiológicos del SAT se han desarrollado modelos experimentales, en los cuales se registraron ECGs y PAs. [250] En un experimento realizado en células ventriculares de perro se bloqueó la corriente I_{K1} aplicando una disolución de CsCl a las preparaciones, para simular la mutación en el canal Kir2.1. Como resultado, el intervalo QT y la fase 3 del PA se prolongaron, Figura 1.18 (a). La condición de hipocalemia que presentan algunos pacientes con SAT se simuló reduciendo la concentración de potasio extracelular $[K^+]_o$, lo que causó la ocurrencia de ondas U y la prolongación del PA, Figura 1.18 (b). [250]

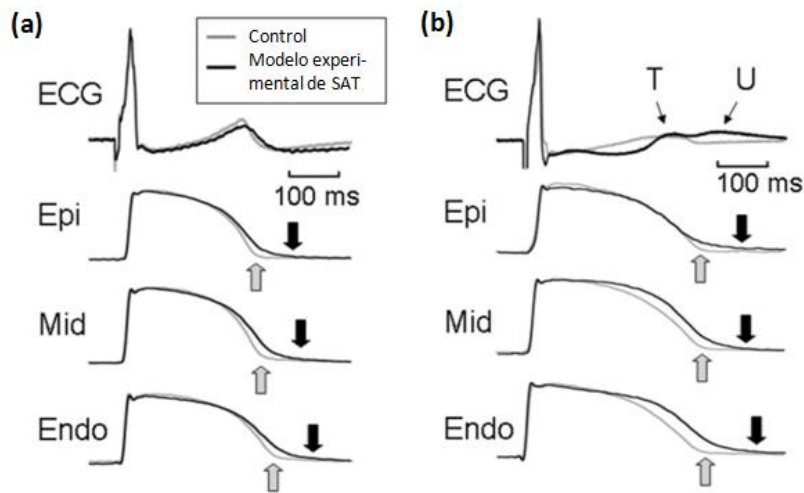


Figura 1.18. ECG y PA. (a) Prolongación suave del intervalo QT y de la fase 3 del PA, después de añadir CsCl, en preparaciones de células tipo epi, endo y M; (b) Aparición de ondas U y prolongación del PA en una preparación con CsCl y reducción de $[K^+]_o$. Modificada de [250]

En el mismo experimento, en preparaciones con CsCl ocurrieron activaciones prematuras ventriculares (VPA) con patrón de bigeminismo, iniciadas por DADs, Figura 1.19 (a). Además, hubo eventos de TV monomórfica debido a la actividad repetitiva surgida de DADs, en condiciones de reducción de $[K^+]_o$, con CsCl y bajo estimulación beta-adrenérgica inducida por la aplicación de una disolución de isoproterenol, Figura 1.19 (b). Asimismo, se observó TV polimórfica y bidireccional. [250]

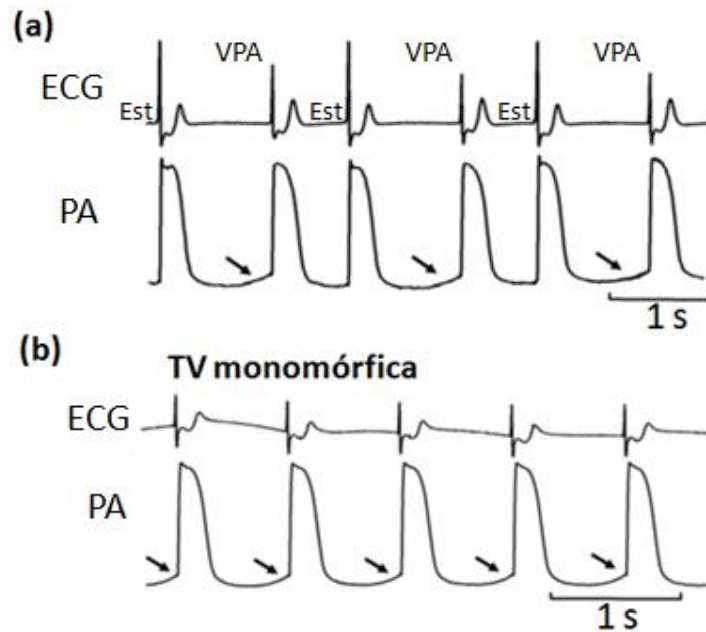


Figura 1.19. (a) Bigeminismo iniciado por post-despolarizaciones tardías (DAD) indicadas con una flecha; (b) TV monomórfica generada por la activación causada por DADs, indicadas con una flecha. Experimento realizado en ventrículo de perro. Modificada de [250] Est = estimulado; VPA = *ventricular premature activation*.

Otros experimentos en los que se bloqueó la corriente I_{K1} con cloruro de bario (BaCl_2), mostraron como resultado la prolongación del intervalo QT. Además, la fase 3 del PA se prolongó, lo que se relacionó con alteraciones en la onda T. [251] Sin embargo, se sabe que el BaCl_2 se filtra por los canales de Ca^{2+} tipo-L en disoluciones donde se encuentran iones Ca^{2+} y Ba^{2+} mezclados, [252] y retarda la inactivación del canal, [253] lo que dificulta la interpretación de los efectos del BaCl_2 en términos de supresión de la corriente I_{K1} . [254]

Finalmente, en un experimento en el que se inhibieron los canales Kir2.1 en miocitos ventriculares, se observó como resultado la prolongación del intervalo QT y actividad espontánea del PA. [254] Esta actividad asemeja la actividad de células tipo marcapaso en donde la repetitiva actividad eléctrica comienza con una despolarización gradual de la fase 4 del PA y con un lento avance en la despolarización de éste. [254-256]

1.5.2.1 La Dinámica de Calcio en el Síndrome de Andersen-Tawil

En un modelo experimental de SAT creado a partir de tejidos de perro a los que se agregó cloruro de cesio para bloquear la corriente I_{K1} y una disolución baja en potasio, se evaluó de

manera indirecta la contribución de la corriente de Ca^{2+} en la ocurrencia de TV. Para ello se añadió verapamil para bloquear el canal de Ca^{2+} y se observó que tanto las DADs como la TV se suprimieron. Estos resultados sugieren que la sobrecarga de Ca^{2+} fue la principal causante de dichas arritmias en éste modelo. [250] A partir de estudios similares, se consideró que prevenir una sobrecarga de Ca^{2+} en pacientes con SAT podría evitar la ocurrencia de arritmias. De hecho, existe evidencia de que la TV bidireccional y la ocurrencia de ondas U se suprimieron después de administrarle una terapia con verapamil (bloqueador de canal de Ca^{2+} tipo-L) a un paciente con SAT. [257] En otro estudio, se reportó que el uso de verapamil en un paciente con SAT eliminó la TV bidireccional. [258]

Por otra parte, se han desarrollado modelos experimentales del SAT en los que se ha evaluado de manera directa la dinámica de calcio como resultado de bloquear la corriente I_{K1} y en algunos casos en condiciones de hipocalcemia. Ejemplo de ello es un modelo en el que se evaluaron los cambios en el Ca^{2+} intracelular en relación con la ocurrencia de arritmias ventriculares. En éstos experimentos realizados en ventrículos de cobayo, se observaron variaciones en la amplitud del Ca^{2+} transitorio, como resultado de bloquear la corriente I_{K1} (ver Figura 1.20). En este modelo se simuló el SAT por la aplicación de una disolución de cloruro de bario y de una disolución baja en potasio, $[\text{KCl}] = 2 \text{ mM}$. Las 17 preparaciones estudiadas mostraron al menos un tipo de arritmia (latidos ectópicos prematuros y/o TV). En este estudio se asoció un incremento significativo en la amplitud del Ca^{2+} transitorio (ver Figura 1.20) con el incremento en la incidencia de latidos ectópicos y TV. [259]

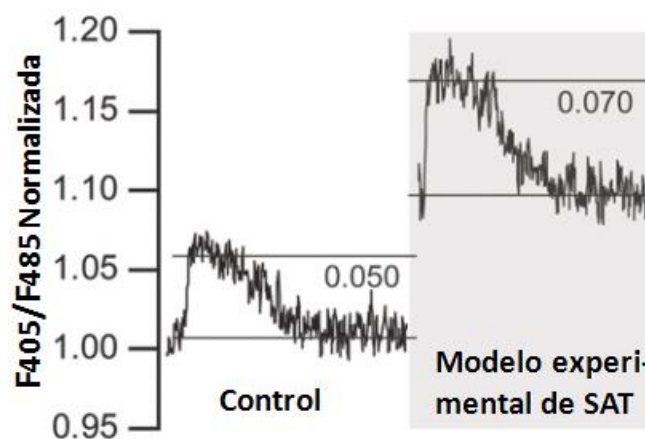


Figura 1.20. Cambios en el Ca^{2+} transitorio medidos en un modelo experimental de SAT y en un preparación control. En la ordenada se grafica la señal radiométrica de Ca^{2+} calculada = $F405/F485$. Modificado de [259]

En otro modelo experimental realizado en miocitos ventriculares de conejo, en el que se indujo el SAT añadiendo una disolución de CsCl, se reportó la ocurrencia de TV bidireccional ocasionada por la alternancia en el nivel de Ca^{2+} diastólico intracelular. Esta alternancia dio lugar a alternancias de PAs, disparados por un frente de onda externo, con PAs disparados por la liberación espontánea de Ca^{2+} (Figura 1.21). [260] Además, se presentaron eventos de TV bidireccional después de añadir isoproterenol para simular estimulación beta-adrenérgica, y por estimulación eléctrica rápida. [260] En la Figura 1.21, se observa en la parte superior la TV bidireccional, mientras que el voltaje y el Ca^{2+} están señalados en azul y rojo correspondientemente. Las flechas en rojo indican una elevación de Ca^{2+} que no alcanzó a disparar un PA. Seguida a esta ligera elevación se observa un incremento secundario del Ca^{2+} dado por el proceso de liberación de calcio inducida por calcio (CICR). Los PAs ocurridos mientras sucedía éste fenómeno fueron generados por un frente de onda externo. Las flechas en verde indican un incremento abrupto en el Ca^{2+} dado por una liberación espontánea del Ca^{2+} , lo que provoca el disparo de un PA. [260]

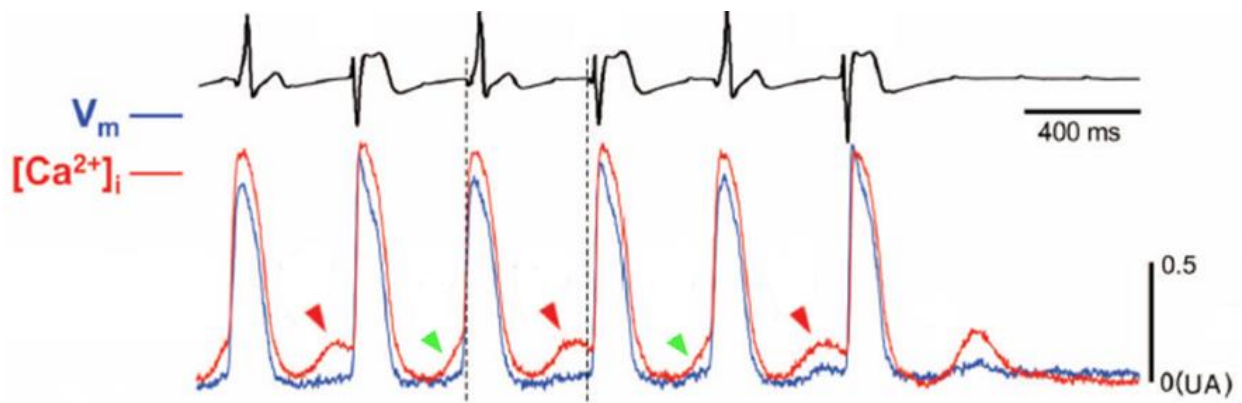


Figura 1.21. En negro se observa un evento de taquicardia ventricular. En azul se ve la alternancia de PAs disparados por un impulso externo alternando con DADs, ocasionados por un incremento abrupto (flechas verdes) del $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Las flechas en rojo indican una elevación de Ca^{2+} , que no alcanzó a propagar un PA, seguida de un incremento dado por el proceso de la CICR. Modificado de [260] UA = Unidades arbitrarias.

A partir de estos trabajos previos sabemos que la prolongación del intervalo QT, la ocurrencia de ondas U y de bigeminismo en el SAT, se generan a partir de la reducción en la corriente I_{K1} . Éstos fenómenos se exageran en condición de hipocalcemia y por estimulación beta-adrenérgica, inducida de manera química y por estimulación eléctrica rápida. Además, la aparición de ondas U podría deberse a la ocurrencia de DADs y de la prolongación del intervalo

QT, los cuales se exacerban bajo estimulación beta-adrenérgica. Adicionalmente, los DADs favorecen el comienzo de TV. Finalmente, se mencionó la relación que existe entre el incremento de calcio citosólico y la ocurrencia de arritmias ventriculares en el SAT.

1.5.3 Modelos Teóricos del Síndrome de Andersen-Tawil

Con el propósito de escudriñar los mecanismos adyacentes a algunas de las condiciones electrofisiológicas observadas en el SAT, se han desarrollado modelos teóricos de éste síndrome. Ejemplo de ello es un modelo de PA de un miocito ventricular de conejo, que simula el SAT reduciendo la conductancia G_{Kl} , de la corriente I_{Kl} a un 50% y la $[K^+]_o$. [230] A partir de estas simulaciones se observaron post-despolarizaciones tempranas (EAD), (Figura 1.22 (a)).

Posteriormente, se observó actividad espontánea y despolarizaciones tardías (DAD), Figura 1.22 (b). Finalmente, estos efectos se eliminaron después de disminuir la corriente I_{NaCa} , Figura 1.22 (c). La generación de PA espontáneos y de DAD se asociaron con oscilaciones de Ca^{2+} intracelular. [230]

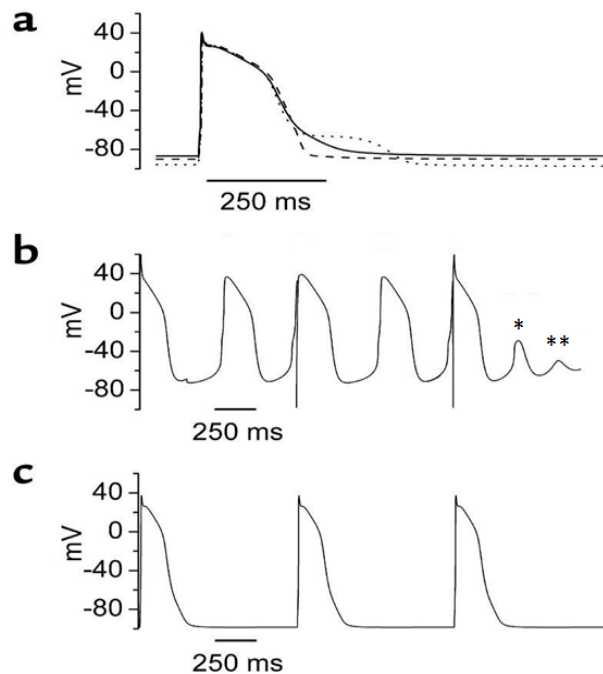


Figura 1.22. (a) PA en condiciones normales (línea sólida), PA con reducción de I_{Kl} (línea segmentada) y PA con post-despolarización temprana (EAD) después de reducir I_{Kl} y $[K^+]_o$ (línea punteada); (b) PAs seguidos de actividad espontánea del PA (*) y de post-despolarización tardía DAD (**); (c) eliminación de DAD y de PA espontáneos, por reducción de la corriente I_{NaCa} . [230]

En otro modelo de PA de miocito ventricular de cobayo se observó la prolongación de la fase 3 del PA mientras se bloqueaba la corriente I_{K1} en intervalos del 10%, mientras que, el bloqueo del 90% de dicha corriente ocasionó EAD, como se muestra en la Figura 1.23. Post-despolarizaciones del tipo EAD y de DAD, así como PA espontáneos fueron observadas a partir del mismo modelo. Los PAs espontáneos también se obtuvieron en condiciones de hipocalcemia. [261]

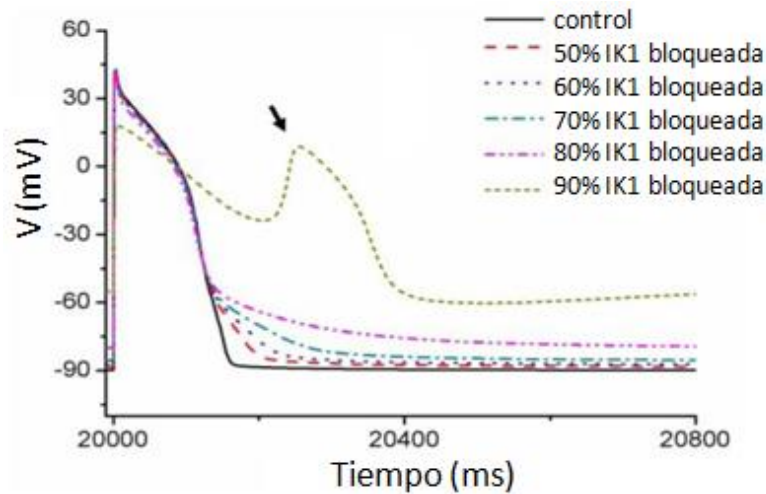


Figura 1.23. Prolongación del PA, derivada de la reducción de la corriente I_{K1} en intervalos del 10%. La reducción de I_{K1} al 10% de su capacidad, generó la ocurrencia de una despolarización temprana, (EAD). [261]

A partir de otros dos modelos *in silico* se observó que la reducción de la corriente I_{K1} prolonga la fase terminal del PA, lo que genera la ocurrencia de PAs espontáneos provocados por la activación de la corriente de intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. [262-263] La corriente I_{NaCa} depende de la concentración de Ca^{2+} intracelular $[\text{Ca}^{2+}]_i$, lo que sugiere una importante sensibilidad ante la estimulación beta-adrenérgica, como se observó experimentalmente. [263]

Finalmente, en un modelo de corazón de conejo con HF (*heart failure*), se mostró que la reducción de I_{K1} contribuye a sensibilizar el miocardio frente a cambios en el $[\text{Ca}^{2+}]_i$, de manera que el corazón se vuelve más propenso a la ocurrencia de arritmias. [54] En el capítulo 5, discutiremos las inconveniencias en utilizar los modelos aquí reportados para investigar los parámetros relacionados con la arritmogénesis en el SAT.

La evidencia clínica, experimental y teórica planteada en las secciones precedentes, pone de manifiesto los parámetros fundamentales que se deben considerar en el modelado de la

arritmogénesis en el SAT. Además, el mecanismo electrofisiológico que propicia la arritmogénesis en el SAT sigue sin elucidarse. Una de las primeras arritmias ventriculares que se manifiestan en el SAT es el bigeminismo, la cual no es una arritmia letal. Sin embargo, es una de las arritmias predominantes y persistentes en éste síndrome, de manera que, entender la dinámica de su ocurrencia arrojaría luz sobre el mecanismo que conduce a arritmias más severas y en algunos casos a la muerte cardiaca súbita. Por otra parte, para elucidar el mecanismo de arritmogénesis en el SAT a nivel molecular, es necesario hallar la relación que existe entre los parámetros electrofisiológicos relacionados con la aparición de post-despolarizaciones, de PA espontáneos, así como con la elevación de calcio intracelular durante la ocurrencia de arritmias cardiacas.

2 Hipótesis

A partir de la función de información mutua (MIF) es posible cuantificar la correlación estadística presente en la dinámica del bigeminismo, así como reconocer la ocurrencia de ésta arritmia observada en el síndrome de Andersen-Tawil. Asimismo, el desarrollo de un modelo matemático del potencial de acción (PA) de ventrículo humano, que considere las variaciones temporales y espaciales del calcio intracelular, permitiría investigar la relación entre los parámetros fisiológicos adyacentes a las alteraciones del PA, del calcio intracelular y de la arritmogénesis en el SAT.

3 Objetivos

1. Cuantificar la correlación estadística entre los latidos que siguen un patrón de bigeminismo en el SAT, utilizando la función de información mutua.

2. Desarrollar un modelo de PA de ventrículo humano que incluya los cambios temporales y espaciales del calcio intracelular.

3.1 Objetivos particulares

1. Calcular la MIF en series simbólicas de pacientes con SAT e identificar el patrón que genera ésta función cuando la arritmia predominante es bigeminismo.

2. Establecer la relación que existe entre la correlación estadística dada por la MIF y el porcentaje, así como con la distribución de las arritmias en la series simbólicas analizadas.

3. A partir del modelo de PA desarrollado, simular alternancias en la duración del PA y en el calcio intracelular, en condiciones de estimulación rápida para un ventrículo humano sano.

4. Utilizando el modelo desarrollado, obtener la dinámica del PA y del calcio intracelular, correspondientes a un ventrículo humano con SAT. A partir de éstos resultados, establecer la relación entre los parámetros que condicionan las alteraciones observadas en el PA y en el calcio intracelular.

Capítulo 4. La Función de Información Mutua en el Análisis de Series Simbólicas Cardiacas

4.1 La función de información mutua revela patrones de bigeminismo

4.1.1 Introducción

En el síndrome de Andersen-Tawil (SAT) una de las arritmias predominantes es el bigeminismo, el cual se caracteriza por la alternancia de un latido ectópico (V) entre dos latidos sinusales (N). Esta arritmia en algunos casos puede evolucionar a muerte cardíaca súbita. Actualmente se desconoce la dinámica que siguen los latidos ectópicos que condicionan la ocurrencia de arritmias letales en el SAT, de manera que el estudio sobre la ocurrencia de los latidos ectópicos que siguen un patrón de bigeminismo es relevante. Para investigar la correlación que tienen entre sí los latidos N y V, que siguen un patrón de bigeminismo utilizamos la función de información mutua (MIF). Esta función matemática proporciona una herramienta no invasiva y no costosa para investigar la ocurrencia de arritmias cardiacas. Además, es la primera vez que se utiliza en series simbólicas cardiacas no relacionadas con la variabilidad de la frecuencia cardíaca.

4.1.2 Significado de la Función de Información Mutua

La función de información mutua está dada por la siguiente expresión [264]

$$I(X; Y) \equiv \sum_{i,j} P(i,j) \log \left[\frac{P(i,j)}{P_X(x_i)P_Y(y_j)} \right]$$

A continuación se plantean de manera muy breve algunos fundamentos matemáticos, cuya exposición hace más fácil entender el significado de la MIF y la motivación que tuvimos para calcular ésta función considerando variables correspondientes a series simbólicas cardiacas.

Pensemos en un juego de azar que consiste en sacar, a ojos cerrados, cubos de distintos colores (blanco, rojo, azul, amarillo o verde) de un contenedor. Además, a cada color se le asigna un puntaje como sigue: blanco = 2, rojo = 2, azul = 2, amarillo = 1, verde = 0. Entonces, el espacio de muestra Ω , estará formado por los posibles resultados del experimento (ω_i). Además, se define una variable aleatoria $X(\omega_i)$, como una función valuada en los reales y definida en un espacio de muestra Ω . Si $\Omega = \{\omega_1, \dots, \omega_n\}$, entonces, para cualquier $\omega_i \in \Omega$, la cantidad $X(\omega_i)$ es un número real. Supongamos que a cada valor que tome la variable aleatoria se le asocia una probabilidad de ocurrencia. Entonces, éstas probabilidades constituirán una distribución de probabilidades, que puede ser representada por una función matemática o una gráfica. Además, en el caso de que la variable aleatoria sea discreta, la suma de todas las probabilidades que conforman tal distribución cumple la siguiente expresión [264]

$$P(\Omega) = \sum_{\omega \in \Omega} P(\omega) = 1 \quad (1)$$

Dada la variable aleatoria es posible definir su promedio como sigue

$$\langle X \rangle = \sum_{\omega} P(\omega)X(\omega) \quad (2)$$

Pensemos ahora en el siguiente experimento, en el cual se tienen 8 cajas y se sabe que en una de éstas cajas hay una moneda y la pregunta es ¿dónde está la moneda? Para averiguar en qué caja se encuentra la moneda, podemos hacer varias preguntas y claramente existirán unas estrategias mejores que otras para generar éstas preguntas. Es decir, habrá estrategias en las que con un número pequeño de preguntas nos acerquemos más a la respuesta correcta, de modo que la información faltante será menor en comparación a la información faltante cuando se utiliza una estrategia inadecuada. La información faltante se puede entender como el número de preguntas que tenemos que realizar para obtener la respuesta. En la teoría de la información, el promedio de la información faltante (MI) se define en términos de la distribución de probabilidades del experimento, la cual en éste caso es: $\{1/8, 1/8, 1/8, 1/8, 1/8, 1/8, 1/8, 1/8\}$. Shannon, quien desarrolló la teoría de la información en 1948, planteó el siguiente escenario: consideremos la ocurrencia de un experimento descrito con la variable aleatoria X , con una distribución de probabilidad conocida. Entonces, ¿podemos encontrar una medida relacionada con la incertidumbre que se tiene sobre el resultado del experimento? Shannon asumió que si

hubiera una función $H(p_1, \dots, p_n)$ para responder tal pregunta, entonces ésta tendría las siguientes características [264]

(i) H sería continua en todos los valores de p_i .

(ii) Si todas las p_i son iguales (*i.e.* $p_i = 1/n$), entonces H tendría un valor máximo y se incrementaría de manera monótona con respecto a n .

(iii) Si la selección del evento se rompe en distintas y sucesivas selecciones, la cantidad H sería la suma de los valores individuales de H .

Con respecto a la primer condición, consideramos que los cambios en la probabilidad son muy pequeños. El tercer requerimiento se refiere a la independencia sobre el agrupamiento de eventos. Shannon probó que la función que cumple con éstos requerimientos es la siguiente función [264]

$$H(p_1, \dots, p_n) = -K \sum_{i=1}^n p_i \log p_i \quad (3)$$

donde K es una constante positiva. La demostración puede encontrarse en la literatura [264]

Para comprender mejor el significado de la ecuación anterior, hagamos el siguiente ejercicio. Supongamos que jugamos a lanzar dos dados simultáneamente. Entonces, X y Y son las variables aleatorias relacionadas con el experimento y los posibles resultados para cada dado son los siguientes: $\{1, 2, 3, 4, 5, 6\}$. La suma de los resultados de ambos dados es $S = X + Y$, cuyos resultados son: $\{2, 3, 4, 5, 6, \dots, 12\}$. Las probabilidades correspondientes a éstos eventos se muestran en la Figura 4.1. Una vez conocida la distribución de probabilidad, es posible calcular la entropía H , dada por la ecuación (3) con lo que se obtiene que:

$$H_2 = -\sum_{i=2}^{12} p_i \log p_i = 3.274.$$

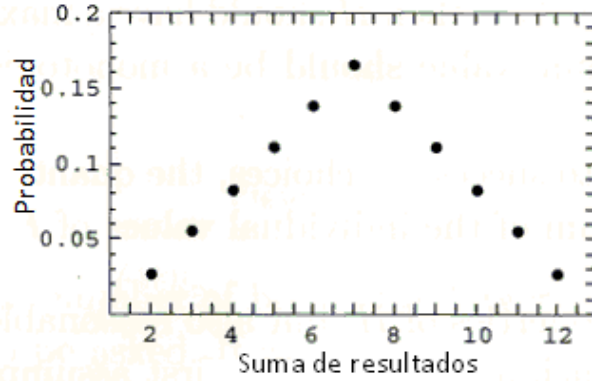


Figura 4.1. Distribución de probabilidad de la suma de resultados de dos dados. [264]

Si ahora, consideramos que se lanzan N dados a la vez, la suma de todos los resultados posibles se puede obtener como $S_N = X_1 + X_2 + \dots + X_N$. Esta vez, la distribución de probabilidades tendrá más elementos. Si a partir de éste experimento, se calcula la cantidad H_N asociada con la distribución S_N , como función de N , entonces se pueden obtener los siguientes valores de H en función del número de dados que se consideran: $H_1 = 2.58$; $H_2 = 3.27$; $H_3 = 3.59$; $H_4 = 3.81$; $H_5 = 3.98$; $H_6 = 4.11$. Estos resultados se grafican en función de N en la Figura 4.2. En ésta figura, podemos ver que la información faltante dada por la ecuación (3) es mayor cuando se ha incrementado el número de dados involucrados. [264]

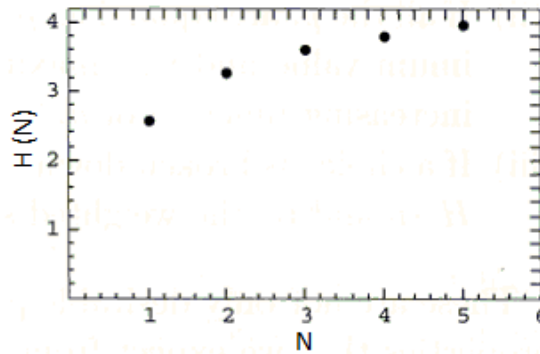


Figura 4.2. La función H definida en (3) para distinto número de dados, N . [264]

Ahora, veamos cómo se comporta la función H en relación con la distribución de probabilidades. Pensemos en el siguiente experimento. Se tiene una moneda que se lanza al aire, de manera que cuando caiga podemos tener solo dos posibles resultados: cara o cruz. A cada posible resultado se le asocian las probabilidades p_1 y p_2 correspondientemente y éstas las podemos escribir como: $p_1 = p$ y $p_2 = 1 - p$, de manera que la función H es [264]

$$H = - \sum p_i \log_2 p_i = - p \log_2 p - (1-p) \log_2 (1-p). \quad (4)$$

La Figura 4.3 muestra la función H como función de p , de manera que ésta función tiende a cero cuando $p = 0$ y $p = 1$.

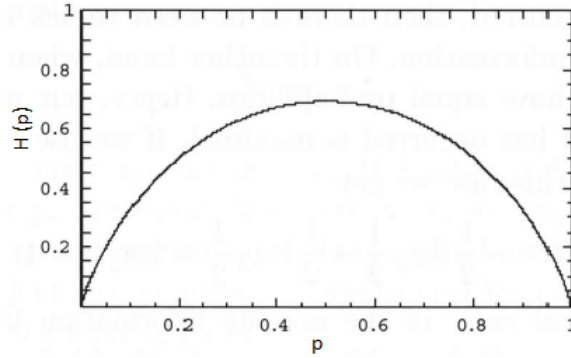


Figura 4.3. La función H para dos posibles resultados. [264]

Supongamos ahora que tenemos dos variables aleatorias X y Y , cada una con distribuciones de probabilidad $P_X(i) = P\{X = x_i\}$ y $P_Y(j) = P\{Y = y_j\}$, $i = 1, 2, \dots, n$ y $j = 1, 2, \dots, m$. Sea $P(i,j)$ la probabilidad conjunta de los eventos $\{X = x_i\}$ y $\{Y = y_j\}$. Entonces, la función H definida en la distribución de probabilidades $P(i,j)$ es

$$H(X, Y) = - \sum_{i,j} P(i, j) \log P(i, j) \quad (5)$$

Las probabilidades marginales son [264]

$$p_i = \sum_{j=1}^m P(i, j) = P_X(i) \quad (6)$$

$$q_j = \sum_{i=1}^n P(i, j) = P_Y(j) \quad (7)$$

La función de información asociada con las variables X y Y es [264]

$$H(X) = - \sum_{i=1}^n P_X(i) \log P_X(i) = - \sum_{ij} P(i, j) \log \sum_{j=1}^m P(i, j) \quad (8)$$

$$H(Y) = -\sum_{j=1}^m P_Y(j) \log P_Y(j) = -\sum_{ij} P(i, j) \log \sum_{i=1}^n P(i, j) \quad (9)$$

Estas ecuaciones cumplen con la siguiente expresión [264]

$$H(X, Y) = H(X) + H(Y). \quad (10)$$

Supongamos que realizamos dos experimentos, de los cuales obtenemos dos conjuntos de resultados. Si existe dependencia entre los dos conjuntos de resultados, entonces la información faltante sobre el experimento compuesto (X, Y) será menor que la información faltante sobre los dos experimentos por separado. Entonces, la correspondiente cantidad condicional $H(Y/X)$ es

$$H(Y/X) = H(X, Y) - H(X), \quad (11)$$

de manera que $H(Y/X)$ mide la diferencia entre la información faltante sobre X y Y y la información faltante sobre X . Reescribiendo (11) tenemos que

$$H(X, Y) = H(X) + H(Y/X) \quad (12)$$

$$H(X, Y) = H(Y) + H(X/Y), \quad (13)$$

lo que significa que la información faltante en dos experimentos es la suma de la información faltante en un experimento más la información faltante cuando el resultado del segundo experimento es conocido.

A partir de las cantidades anteriormente definidas, podemos escribir la función de información mutua (MIF) en términos de dichas cantidades como [264]

$$I(X; Y) \equiv H(X) + H(Y) - H(X, Y). \quad (14)$$

Entonces, de las ecuaciones (14), (7) y (6) tenemos que

$$I(X; Y) = -\sum_{i=1}^n P_X(x_i) \log P_X(x_i) - \sum_{j=1}^m P_Y(y_j) \log P_Y(y_j) + \sum_{i,j} P(i, j) \log P(i, j) \quad (15)$$

$$I(X;Y) = \sum_{i,j} P(i,j) \log \left[\frac{P(i,j)}{P_X(x_i)P_Y(y_i)} \right] \quad (16)$$

$$I(X;Y) = \sum_{i,j} P(i,j) \log g(i,j) \geq 0 \quad (17)$$

donde $g(i,j)$ es, por definición, la correlación entre los eventos $\{X = x_i\}$ y $\{Y = y_i\}$. De las ecuaciones (14) y (2) podemos ver que $I(X;Y)$ es una medida del promedio de la correlación entre las variables X y Y , de manera que es una medida del grado de dependencia entre X y Y .

Finalmente, a partir de las ecuaciones (14), (12) y (13) se puede escribir lo siguiente

$$I(X;Y) = H(Y) - H(Y/X) \geq 0 \quad (18)$$

ó

$$I(X;Y) = H(X) - H(X/Y) \geq 0. \quad (19)$$

La MIF es siempre no-negativa y es igual a cero cuando dos experimentos son independientes. Entonces, $I(X;Y)$ mide la reducción promedio en la información faltante sobre la ocurrencia de X dado que se conoce Y y *vice versa*. [264]

En nuestro caso planteamos el problema de la siguiente manera. A partir de registros de Holters de 24 horas, obtenemos series simbólicas que nos indican la secuencia de latidos sinusales (N) intercalados con algunos eventos correspondientes a la ocurrencia de latidos ectópicos (V). Entonces tenemos series simbólicas de la forma: ...NNNNN**V**N**V**N**V**N**V**N**V**N**V**N**V**NNNNNN**V**NNNN**V**NNNNNN**V**NNNNNNNNNNNN**V**NNNN**V**... En éste caso los latidos V en rojo, se encuentran formando un patrón de bigeminismo, mientras que los latidos V en verde no constituyen el patrón de alguna arritmia. Entonces, uno podría preguntarse (i) “¿Los latidos N y V que forman dicha serie están correlacionados entre sí?” y “¿La correlación entre la ocurrencia de latidos N y V es característica del tipo de arritmia que forman éstos latidos?” y (ii) “¿En qué manera la correlación estadística entre los eventos de la serie simbólica está relacionada con el porcentaje de eventos V y su distribución en las series?”. En el siguiente apartado se describe cómo abordamos las preguntas planteadas en (i). Los resultados de ésta investigación se publicaron en

Physica A. [225] En la sección 4.2, desarrollamos el uso de la MIF como herramienta de apoyo en la caracterización del fenotipo arrítmico en pacientes con síndrome de Andersen-Tawil. Finalmente, en la sección 4.3 se aborda la segunda preguntada planteada en (ii).

4.1.3 La Función de Información Mutua Utilizada en Series Simbólicas Cardiacas

La MIF se calculó usando series simbólicas derivadas de registros de Holters de 24 horas de pacientes con SAT y de pacientes con algún evento de muerte cardiaca súbita (SCD) y los resultados dieron lugar a una publicación científica, [225] que anexamos al final del presente trabajo. A partir de éstos ECGs, a cada latido proveniente del nodo sinusal se le asignó una "N", mientras que, a los latidos ectópicos provenientes de un foco ectópico se les asignó la letra "V". A través de este procedimiento se generaron las series simbólicas que analizamos (*e.g* NVNVN>NNNVVVV). La MIF está dada en unidades de bits de información y nos dice qué tan probable es la ocurrencia de un latido A, dada la ocurrencia previa de un latido B, donde A y B pueden ser latidos normales o ectópicos. La correlación estadística medida con la MIF es la suma de las correlaciones calculadas entre dos símbolos que se encuentran a una distancia k entre sí. En el manuscrito publicado que anexamos, [225] se establecen éstos conceptos a partir de la expresión matemática de la MIF.

Los patrones obtenidos de la MIF reflejaron los distintos tipos de arritmias ventriculares presentes, tales como bigeminismo (*i.e.* NVNVNV...), trigeminismo (*i.e.* NVVNVVN...) y cuatrigeminismo (*i.e.* NVVVNVVVN...). En todos los casos, los valores de la MIF unidos por una línea continua dieron lugar a patrones de oscilaciones decrecientes. Notablemente, en el caso de bigeminismo predominante, los valores de la MIF solo se hallaron en la cresta o en el valle de cada oscilación, mientras que en el caso de trigeminismo predominante, se observaron además puntos intermedios entre los puntos situados en la cresta y el valle de cada oscilación, ver Figura 4.4. Los patrones fueron cada vez más complejos, de acuerdo a los porcentajes de las distintas arritmias presentes. Sin embargo, en el caso de las series simbólicas que presentaron latidos ectópicos distribuidos al azar, los cuales no presentaron alguna secuencia de ocurrencia

característica, la MIF tomó valores distintos de cero pero no mostró un patrón de oscilaciones decrecientes. Finalmente, en ausencia de latidos ectópicos, la MIF fue igual a cero.

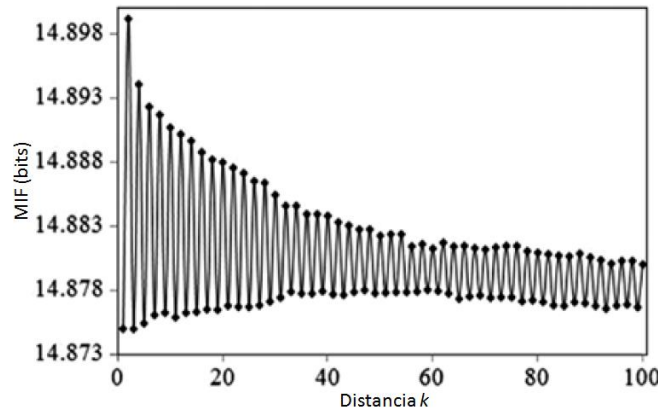


Figura 4.4. Ejemplo de la MIF calculada sobre la serie simbólica de un paciente con bigeminismo predominante. Modificado de [225]

En general, la MIF obtenida de todas las series simbólicas que presentaron algún tipo de arritmia estuvo caracterizada por generar patrones de oscilaciones decrecientes. Sobre éstas oscilaciones se trazó la envolvente superior (ES), la cual se refiere a la línea que une a todos los puntos máximos de las oscilaciones. Posteriormente, la ES se graficó en escala log-log y se realizó un ajuste lineal sobre ésta, mientras que en otros casos se realizó un ajuste del tipo Pareto. Asimismo, se calcularon los parámetros correspondientes a dichos ajustes. Esto se realizó con el propósito de caracterizar las oscilaciones obtenidas, a través de un índice cuantitativo derivado de dicho ajuste, (Figura 4.5). Sin embargo, es necesario realizar un estudio sistemático y cuantitativo sobre dichos parámetros que esclarezca la relación de éstos con la dinámica de los latidos ectópicos presentes en las series simbólicas analizadas.

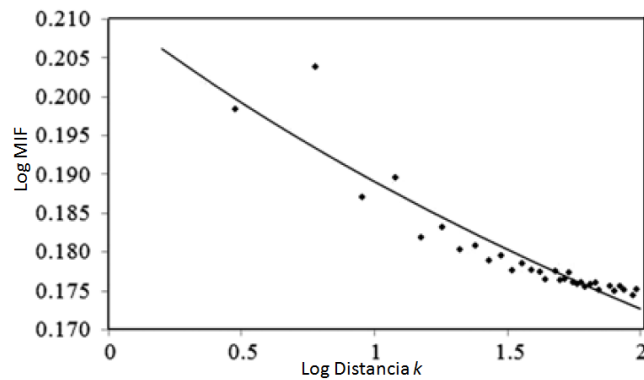


Figura 4.5. Ejemplo del ajuste tipo Pareto realizado sobre la envolvente superior de las oscilaciones generadas a través de la MIF.

Estos estudios se extendieron también al caso de pacientes que presentaron algún evento de muerte cardíaca súbita. La MIF permite la visualización de la ocurrencia de bigeminismo, trigeminismo o cuadrigeminismo, ya que los patrones obtenidos de ésta función proporcionan un patrón relacionada con el tipo de arritmia presente, que en el caso de bigeminismo predominante es muy característico. Esto permite una visualización clara y rápida de la ocurrencia y persistencia de bigeminismo, registrada en registros de Holters de 24 horas.

De esta manera, la MIF nos permitió demostrar que los latidos que conforman el bigeminismo en el SAT son eventos que están correlacionados estadísticamente entre sí. Además, la MIF mostró un patrón específico correspondiente a la ocurrencia de bigeminismo predominante. Al final del presente trabajo anexamos la publicación derivada de ésta investigación.

4.2 La MIF Utilizada en la Caracterización del Fenotipo Arrítmico en el Síndrome de Andersen-Tawil

4.2.1 Introducción

En esta sección presentamos los resultados de utilizar la MIF como una herramienta matemática en el reconocimiento de arritmias ventriculares predominantes en el SAT. La detección oportuna de arritmias repetitivas, especialmente de bigeminismo es de gran importancia en el SAT, ya que se ha observado que a partir de éstos eventos se pueden desencadenar arritmias tales como TV y FV, dando lugar a muerte cardiaca súbita. Los resultados que se presentan en ésta sección, forman parte de un artículo que se ha enviado para su evaluación a la revista científica *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, [222] éste manuscrito lo anexamos al final del presente trabajo. Además, nuestro grupo de investigación desarrolló *heartprints* del intervalo de acoplamiento (CI), a partir de registros de Holters de 24 hrs de pacientes con SAT, de manera que se determinó que la ocurrencia de latidos ectópicos estuvo caracterizada por un CI fijo. Entonces, a partir del reconocimiento y visualización de arritmias ventriculares a través de la MIF, así como de la caracterización del CI, se determinó el fenotipo de las arritmias en el SAT. [222]

4.2.2 Métodos

Grupo de estudio

Se utilizaron registros de Holters de 24 horas realizados sobre 4 sujetos pertenecientes a dos familias diferentes. Las principales características clínicas de estos pacientes se incluyen en la Tabla 4.1. En la misma tabla incluimos los porcentajes de las arritmias que calculamos a partir de series simbólicas derivadas de los ECGs de los pacientes, utilizando un programa desarrollado en MatLab7.0. Los primeros tres casos corresponden a miembros de una misma familia. El caso A1 se refiere a una mujer de 36 años, con un desfibrilador automático implantado, que ha tenido eventos de TV/FV, el caso A2 corresponde una mujer de 18 años, mientras que el caso A3 se refiere a un niño de 8 años. El caso B1 corresponde a una niña de 11 años, miembro de una familia diferente a la anteriormente mencionada. Todos presentaron intervalo QT prolongado y prominentes ondas U. Además, en todos los casos se confirmó la mutación en el gen KCNJ2.

Tabla 4.1. Características clínicas del grupo de estudio. Las arritmias ventriculares se evaluaron de registros de Holters de 24 hrs por cada sujeto.

Sujeto	Edad	Género	Mutación KCNJ2	Anomalías faciales	Parálisis por hipocalemia	Arritmias ventriculares			
						VPB (latidos)	Bigeminismo (%)	Trigeminismo (%)	TV no s. (episodios)
A1	36	F	Sí	Sí	Sí	26,491	20	12	812
A2	18	F	Sí	Sí	Sí	539	53	3	0
A3	8	M	Sí	Sí	Sí	608	66	0	0
B1	11	F	Sí	Sí	No	53,522	45	2	2,139

% = porcentaje de latidos relativo al número total de latidos prematuros ventriculares (VPB).
TV no s = TV no sostenida.

Función de Información Mutua (MIF)

El método por el cual obtuvimos las series simbólicas a evaluar fue el mismo que el descrito en la publicación presentada en la sección previa. Asimismo, la definición de la MIF puede hallarse en la misma referencia. [225] En el presente trabajo, la metodología y los programas desarrollados anteriormente fueron actualizados utilizando MatLab7.0. Además, con el propósito de ilustrar la técnica, desarrollamos series simbólicas sintéticas (obtenidas con programas computacionales y no de ECGs), para representar algunos patrones de arritmias específicos como bigeminismo (*e.g* NVNVNV...), trigeminismo (*e.g* NVNNVNNVNNV...), TV (*e.g*. VVVVN VVVVVNVVVV...) o una combinación de éstos. A partir de éstas series sintéticas, obtuvimos patrones de la MIF correspondientes a cada una de las arritmias mencionadas, (Figura 4.6). La Figura 4.6.A presenta la MIF obtenida de series simbólicas con 204 latidos prematuros ventriculares (VPBs), distribuidos de manera azarosa. La Figura 4.6.B corresponde a un patrón de la MIF obtenido de una serie con bigeminismo predominante (con 180 VPBs, de los cuales el 54.44% está en bigeminismo y el 45.56% está en TV). La Figura 4.6.C muestra la MIF obtenida de una serie con trigeminismo predominante (con 90 VPBs, de los cuales el 56.66% está en trigeminismo y el 43.33% está en TV). Finalmente, la Figura 4.6.D

ilustra la MIF obtenida de una serie con una combinación de bigeminismo y trigeminismo (con 88 VPBs, de los cuales 26.14 % está en bigeminismo y el 54.55 % está en trigeminismo).

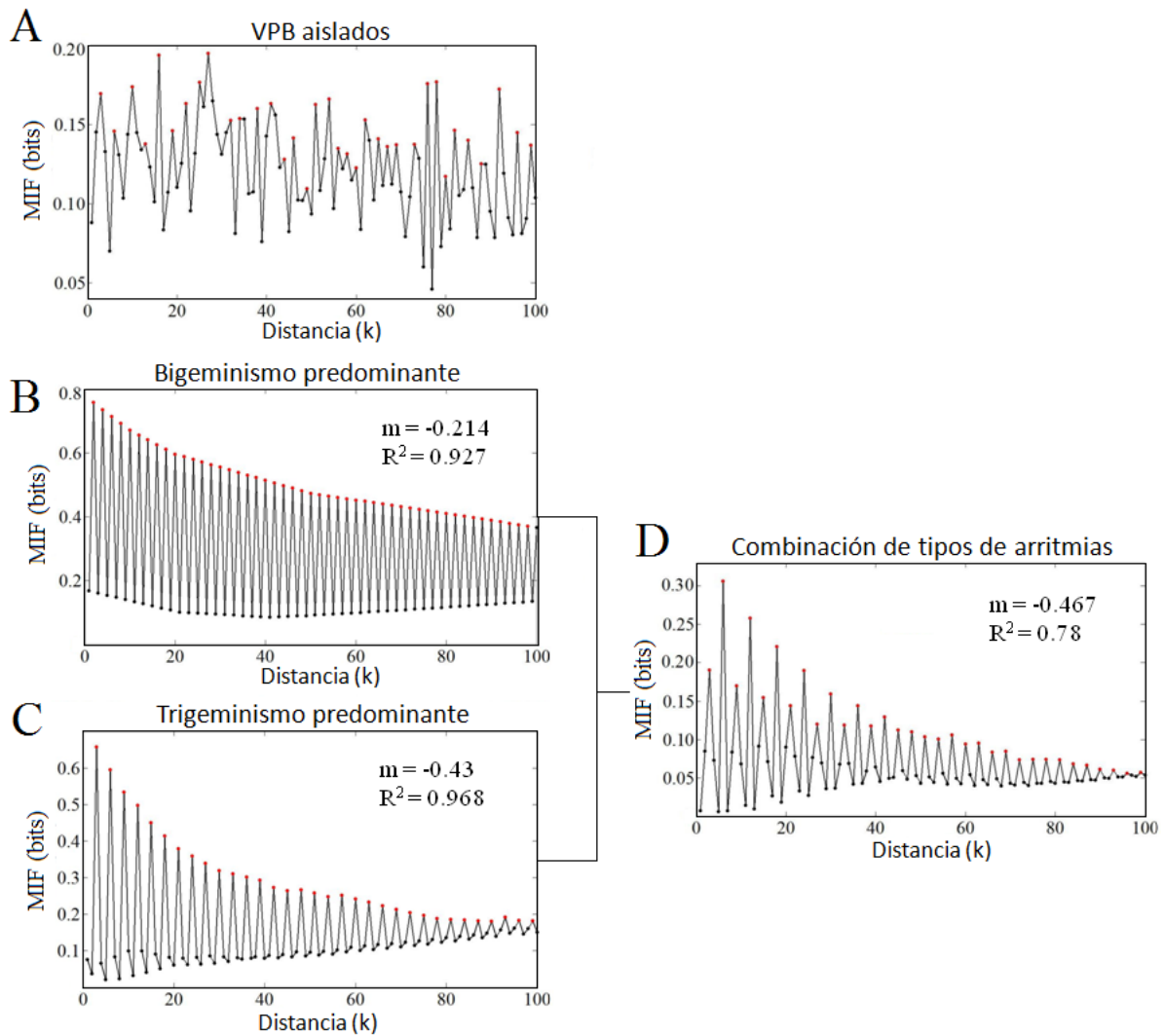


Figura 4.6. Función de Información Mutua (MIF) de series simbólicas sintéticas con VPBs que siguen patrones de arritmias ventriculares predominantes como (A) VPBs distribuidos al azar; (B) bigeminismo; (C) trigeminismo; (D) y una combinación de bigeminismo y trigeminismo. El decaimiento de la envolvente superior (puntos rojos) se estimó a través de un ajuste lineal en escala log-log. m = pendiente de la ecuación lineal de ajuste; R^2 = coeficiente de determinación del ajuste. VPBs = latidos prematuros ventriculares.

La MIF de las series con VPBs con arritmias repetitivas frecuentes (*e.g.* bigeminismo) muestran un patrón de decaimiento oscilatorio. Los puntos situados en la crestas de éstas oscilaciones están resaltados en rojo en la Figura 4.6 y la línea que uniría éstos puntos es llamada envolvente superior. Esta envolvente superior se grafica en escala log-log, con lo cual se obtiene una línea recta a la cual se le realiza un ajuste lineal usando mínimos cuadrados, con lo que se

obtiene la pendiente (m) y el coeficiente de correlación (R^2) correspondientes. Por otra parte, la MIF es igual a cero en el caso de series sintéticas donde no hay VPBs, mientras que para las series en las que los VPBs están distribuidos al azar, la MIF toma valores distintos de cero pero no presenta un patrón de oscilaciones.

4.2.3 Resultados

La Figura 4.4 muestra la MIF obtenida de series simbólicas obtenidas de ECGs de pacientes con SAT. El caso A3, el cual exhibe únicamente bigeminismo (*i.e* bigeminismo puro), presenta el porcentaje más alto de ésta arritmia (66%) entre los pacientes estudiados y muestra un patrón de decaimiento oscilatorio. La amplitud de éstas oscilaciones desciende lentamente, lo que se refleja en el ajuste lineal realizado sobre la envolvente superior (ES) de éstas oscilaciones, de manera que la pendiente, $m = - 0.368$, no es muy pronunciada y el coeficiente de determinación es $R^2 = 0.953$. Por otra parte, los casos A2 y B1, los cuales presentan bigeminismo predominante de 53% y 45%, también presentan un patrón de decaimiento oscilatorio. El ajuste lineal de las envolvente superiores de A2 y B1 arrojaron pendientes de $m = - 0.355$ y $m = - 0.642$, con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.87$ y $R^2 = 0.977$, respectivamente. Finalmente, el caso A1 no muestra una clara predominancia de bigeminismo (20%) sobre otras arritmias. La MIF de A1 presenta oscilaciones de amplitud corta con decaimiento sinuoso. El ajuste lineal dio valores de la pendiente de $m = - 0.1$ con $R^2 = 0.93$.

4.2.4 Discusión

El presente análisis cuantitativo de los VPBs en pacientes con SAT mostró que la ocurrencia de arritmias ventriculares es predominantemente de bigeminismo y trigeminismo en grados variables, (Tabla 4.1). Asimismo, el análisis mostró que los patrones de la MIF obtenida en los casos reportados en la Tabla 4.1, presenta un patrón distintivo de decaimiento oscilatorio cuando se presenta bigeminismo predominante y persistente.

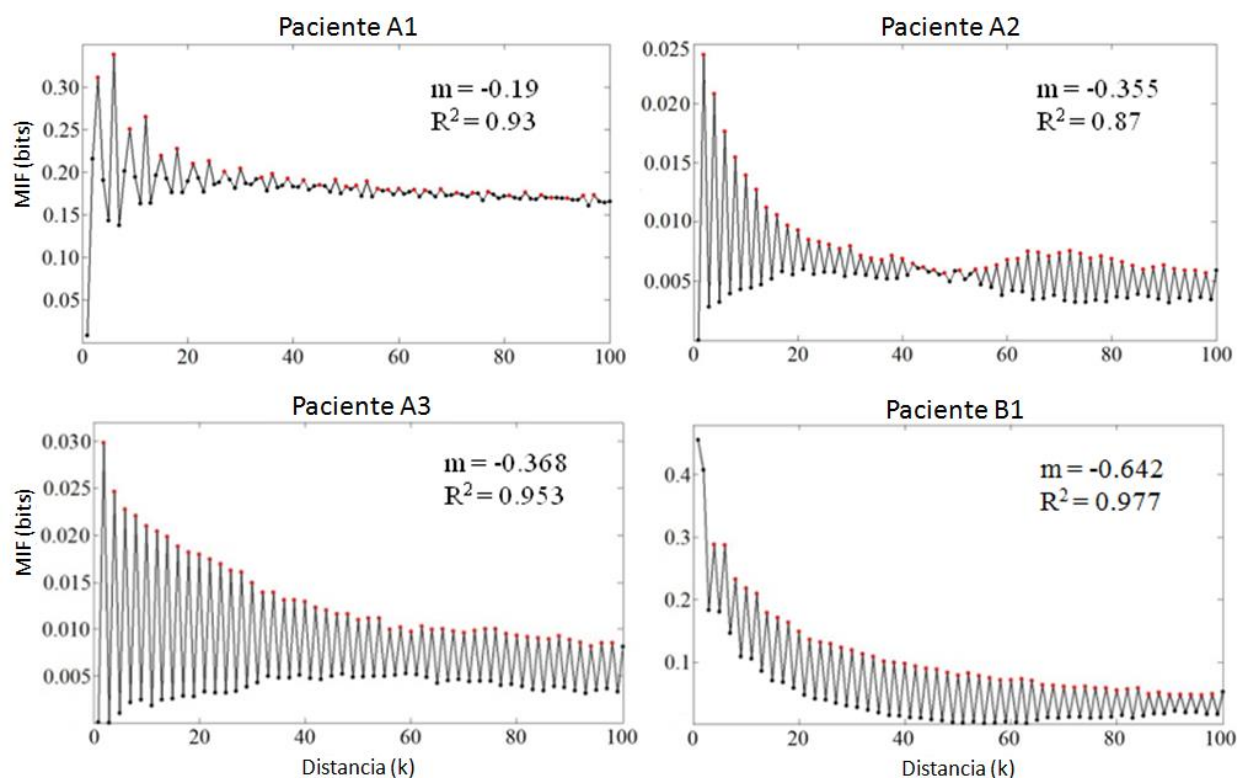


Figura 4.7. Función de información mutua (MIF) de series simbólicas de pacientes con síndrome de Andersen-Tawil. Note que el patrón de bigeminismo en los paneles inferiores (pacientes A3 y B1) es similar a la simulación de la figura 4.6 B, y que el patrón de la MIF derivado de una combinación de arritmias (pacientes A1 y A3) es similar al simulado en la Figura 4.6 D. La razón de decaimiento de la envolvente superior (puntos en rojo) se estimó a partir del ajuste lineal en escala log-log. m = pendiente de la ecuación lineal de ajuste; R^2 = coeficiente de determinación.

Patrones de la MIF obtenidos de series simbólicas de pacientes con síndrome de Andersen-Tawil

A partir de la serie simbólica del paciente A3, obtenida de su registro Holter de 24 horas, se obtuvo un patrón de la MIF con decaimiento oscilatorio, (Figura 4.7). La persistencia de la arritmia a través de las 24 horas del registro (70.2% en el día y 35.3% por la noche) puede estar relacionada con el decaimiento oscilatorio suave ($m = -0.368$), de manera que la amplitud de las oscilaciones no cambia drásticamente. Notablemente, los valores de la MIF que generan dicho patrón (puntos negros y rojos unidos por una línea negra continua) se encuentran sobre la envolvente superior (puntos en rojo) y en la envolvente inferior (puntos en negro) en la Figura 4.7. Entonces, éste patrón es similar al simulado en la Figura 4.6 B, el cual corresponde a un patrón de la MIF obtenido de una serie sintética con bigeminismo puro.

La MIF correspondiente a los sujetos A2 y B1 son similares a la MIF calculada para el caso con bigeminismo puro, ya que los valores de la MIF se hallan en la envolvente superior (puntos rojos) e inferior (puntos negros), Figura 4.7. Esto se debe a la predominancia del bigeminismo sobre otras arritmias, ver Tabla 4.1. En el caso A2 las oscilaciones de la MIF decrecen inicialmente y posteriormente se incrementan, Figura 4.7. Esta tendencia podría estar relacionada con el incremento del porcentaje de bigeminismo entre los periodos del día y la noche (38.1% en el día vs 58.2% por la noche).

Finalmente, el paciente A1 no muestra una clara predominancia de bigeminismo con respecto a otras arritmias como trigeminismo y TV, por lo que los valores de la MIF no se encuentran únicamente en las envolventes inferior y superior, sino también entre los puntos de las crestas y valles de las oscilaciones, ver Figura 4.7. Este patrón es similar al obtenido de series sintéticas cuando existe una combinación de bigeminismo y trigeminismo, al cual llamamos, *combinación de tipos de arritmias* en la Figura 4.6.D.

Por otra parte, éste es el primer estudio realizado con registros de Holters de 24 horas completos, en el que se analiza la prevalencia de las arritmias ventriculares en pacientes con SAT. En trabajos previos se reportó la ocurrencia de bigeminismo en registros de Holters de 24, pero no se cuantificó. [257,265-269] También, se ha reportado predominancia de arritmias ventriculares durante el día o durante la noche. [265,268] En el presente estudio, el bigeminismo fue más prevalente durante el día en todos los casos (resultados no mostrados). A partir de los resultados de la sección 4.1, así como de los resultados aquí mostrados, hemos observado que la amplitud de las oscilaciones de la MIF está relacionada con el porcentaje de las arritmias presentes. Asimismo, observamos que la pendiente de decaimiento de dichas oscilaciones está asociada con la distribución y/o persistencia de los VPBs y de las arritmias. Es necesario un estudio cuantitativo de la MIF para relacionar éstas características con índices numéricos, que permitan establecer éstas observaciones de manera sistemática y con base en criterios numéricos. En la sección 4.3 presentamos un estudio analítico y cuantitativo de la MIF cuyo objetivo es extraer índices numéricos relacionados con la distribución y porcentaje de los VPBs y de las arritmias ventriculares en el SAT.

4.2.5 Conclusiones

En la presente sección se describió el análisis cuantitativo realizado sobre la ocurrencia de los VPBs en el SAT, el cual utiliza técnicas previamente probadas. [225] Se cuantificaron los VPBs que ocurrieron con distintos patrones de arritmias ventriculares. Asimismo, se obtuvieron patrones de la MIF característicos del bigeminismo y trigeminismo predominantes, así como de la combinación de éstas arritmias, utilizando series simbólicas sintéticas los cuales sirvieron para comparar los patrones obtenidos a partir de datos de pacientes. Adicionalmente, se obtuvieron patrones característicos de bigeminismo predominante a partir de las series simbólicas de pacientes con SAT. Estos resultados junto con los obtenidos por nuestro grupo de trabajo, quienes determinaron que los VPBs ocurrieron con un CI fijo, permitieron establecer un fenotipo característico de los VPBs en el SAT, a partir de registros de Holters de 24 horas. [222] La caracterización de los VPBs ocurridos en el SAT podría tener una aplicación potencial para el estudio de la arritmogénesis en éste síndrome. Finalmente, la MIF es una herramienta matemática que podría ser de utilidad y de apoyo en el reconocimiento y caracterización de arritmias ventriculares en otras cardiopatías.

4.3 Análisis Cuantitativo de la MIF de Series Simbólicas Cardiacas

4.3.1 Introducción

Con base en los resultados de las secciones 4.1 y 4.2, consideramos que el patrón de decaimiento oscilatorio de la MIF calculada sobre series simbólicas que presentan patrones de arritmias, podría estar relacionado con el porcentaje de la arritmia presente, así como con su distribución en éstas series. En la presente sección establecemos una relación cuantitativa entre los patrones de la MIF y el porcentaje de latidos ectópicos, así como con su distribución a través de una serie simbólica. Esta relación está dada por índices numéricos obtenidos a través de un ajuste tipo ley de potencia de la envolvente superior (ES) de la MIF. Además, evaluamos la correlación entre dichos índices y el porcentaje de latidos ectópicos (VPBs) a través del coeficiente de correlación ρ de Spearman.

En la sección 4.3.2 se plantea la metodología para realizar el ajuste lineal, así como la del ajuste tipo Pareto. El análisis analítico del ajuste Pareto sobre la MIF, así como los detalles del proceso seguido para realizar dicho ajuste se encuentran en el Apéndice I. Finalmente, se plantean las estrategias realizadas para probar la relación entre el porcentaje de VPBs, así como su distribución en la serie simbólica y los patrones de la MIF.

4.3.2 Métodos

En esta sección se calcula la MIF de series simbólicas obtenidas de 7 registros de Holters de 24 horas de 3 pacientes con SAT y de 13 registros de 13 pacientes con historia de muerte cardíaca súbita, cuyas características clínicas se enlistan en la Tabla 4.2. El procedimiento para obtener los datos es el mismo que el descrito en la sección de métodos del manuscrito publicado, anexo en la sección 4.1. Asimismo, la metodología para obtener las series simbólicas se encuentra en la sección de métodos de la misma publicación. [225] El procedimiento general fue el siguiente: (i) calcular la MIF de cada una de las series simbólicas obtenidas de los ECGs de los pacientes con SAT, a través de un algoritmo computacional actualizado en MatLab7.0; (ii) en el caso de que los patrones de la MIF así obtenidos presenten oscilaciones que decaen, extraer los puntos de la envolvente superior (ES) de la MIF (Figura 4.8 panel superior); (iii) graficar en escala log-log la ES y obtener los parámetros de un ajuste lineal (pendiente, b , ordenada al

origen, a , y coeficiente de correlación, R^2), utilizando mínimos cuadrados (Figura 4.5 panel inferior); (iv) en caso de que se haya obtenido una línea recta del paso (iii) con un coeficiente de correlación $R^2 \geq 0.9$, confirmar a través de un ajuste tipo Pareto, que la distribución de los puntos de la ES sigue una ley de potencia y obtener los parámetros σ y α de éste ajuste, (Figura I del apéndice I); (v) identificar y cuantificar la correlación entre los parámetros de ajuste y el porcentaje de VPBs.

Ajuste Lineal utilizando el Método de Mínimos cuadrados

El método de mínimos cuadrados se utilizó para hallar los parámetros de la ecuación lineal: $y = a + bx$, donde y corresponde a los puntos de la envolvente superior (ES) de la MIF, a es la ordenada al origen, b es la pendiente, y x corresponde a la distancia, k (Figura 4.8). Los detalles de éste método pueden encontrarse en la literatura. [270]

Ajuste a una distribución tipo ley de potencia

Hemos mostrado que en algunos casos la ES de la MIF de las series simbólicas de pacientes con SAT, siguen un comportamiento tipo ley de potencia revelado a partir de un ajuste lineal o bien de un ajuste Pareto. [225] En el trabajo presentado en esta sección, usamos criterios ampliados con bases cuantitativas para confirmar o descartar si las ESs obtenidas siguen una distribución tipo ley de potencia. En muchas ocasiones, se asocia un comportamiento del tipo ley de potencia a los datos que siguen un ajuste lineal en escala log-log. Sin embargo, realizar únicamente un ajuste lineal con mínimos cuadrados para hacer tal afirmación resulta ser un criterio insuficiente. Se han desarrollado otros criterios matemáticos para confirmar si los datos analizados que generan una recta, graficados en escala log-log, presentan un comportamiento de ley de potencia. Uno de estos criterios considera realizar un ajuste tipo Pareto para confirmar que los datos siguen un comportamiento tipo ley de potencia. [271] En el Apéndice I presentamos un argumento analítico para mostrar que la ES del patrón de oscilaciones de la MIF podría ajustarse a una ley de potencia. Además, en el mismo apéndice detallamos el procedimiento que seguimos para realizar el ajuste tipo Pareto.

Tabla 4.2. Latidos prematuros ventriculares (VPB) y las principales arritmias en registros de Holters de pacientes con SAT y de pacientes que presentaron muerte cardiaca súbita (SCD).

Caso	Total VPB (latidos)	Total VEB (%)	Bigeminismo (%)	Trig. (%)	Cuadrig. (%)	TVns (%)
ATS-1	177	0.19	24.86	1.69	0.00	0.00
ATS-2	57603	44.44	57.51	8.46	0.69	12.98
ATS-3	608	0.54	66.28	0.00	0.99	0.00
ATS-4	539	0.59	52.69	2.78	2.41	0.00
ATS-5	26492	26.00	20.10	12.46	0.87	11.02
ATS-6	53522	49.62	44.85	1.75	0.27	15.42
SCD-31	5673	9.12	2.24	12.62	1.37	36.42
SCD-33	3238	4.70	79.96	2.93	0.40	2.47
SCD-34	38	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00
SCD-35	2614	2.61	1.15	0.73	0.38	7.31
SCD-36	1505	1.96	1.73	0.00	0.00	63.65
SCD-37	772	1.19	29.15	0.39	2.07	16.32
SCD-41	1584	8.90	0.19	7.39	16.48	37.82
SCD-44	9791	8.27	2.34	0.09	80.86	1.23
SCD-45	973	1.01	45.32	0.62	2.26	5.76
SCD-46	1841	11.14	83.60	0.00	0.54	2.44
SCD-47	18750	20.86	94.99	0.12	0.00	0.79
SCD-48	4364	2.99	2.66	8.85	1.97	2.45
SCD-50	4345	6.81	11.16	0.48	0.07	31.55
SCD-52	6498	14.35	39.58	11.22	1.54	33.41

TVns = taquicardia ventricular no sostenida; Trig = trigeminismo; Cuadrig = cuadrigeminismo.

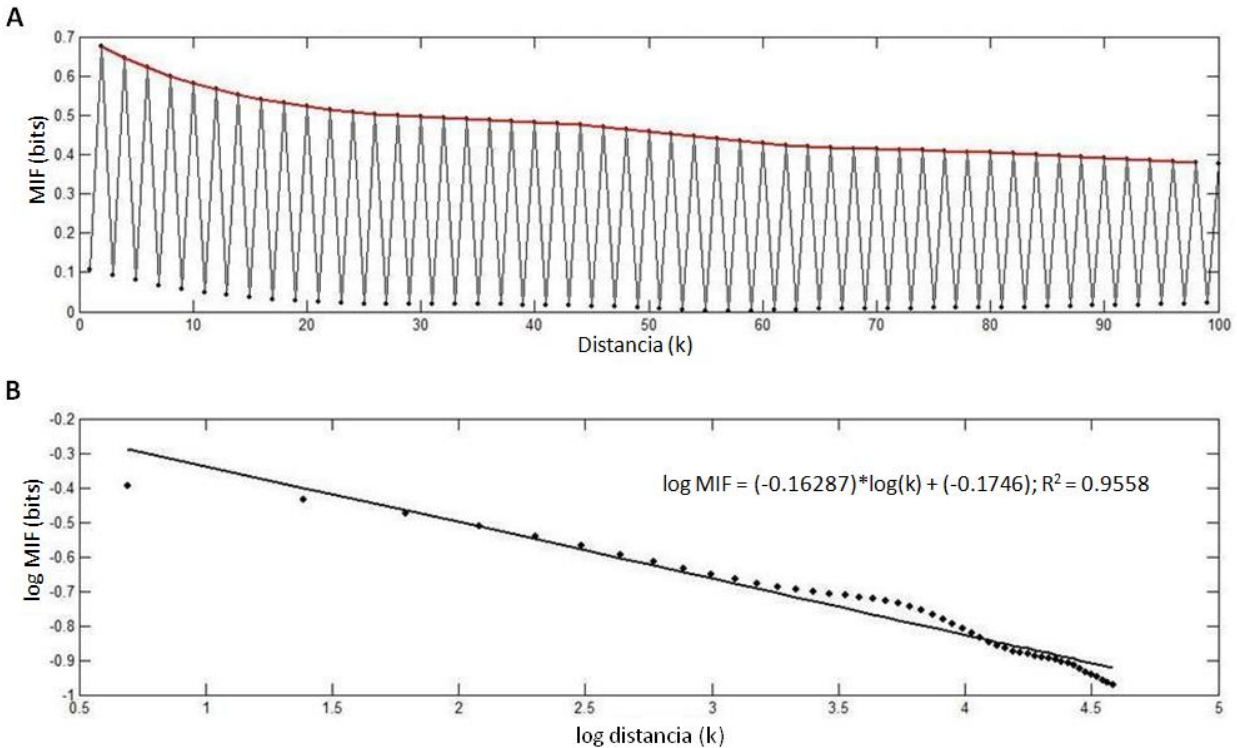


Figura 4.8. Ejemplo de la Función de Información Mutua (MIF) y de su envolvente superior (en rojo) obtenida para una serie simbólica con bigeminismo predominante (panel superior); ajuste lineal de la envolvente superior (panel inferior).

Efecto del porcentaje de latidos ectópicos sobre los parámetros de ajuste

Con el propósito de investigar la posible relación entre el porcentaje de latidos ectópicos presentes en una serie simbólica y los parámetros del ajuste lineal, así como del ajuste tipo Pareto, ocultamos los latidos ectópicos como a continuación se describe. Dada una serie simbólica de un paciente con SAT, ocultamos un porcentaje de los latidos ectópicos presentes, lo que hicimos en incrementos del 10%, hasta que el 100% de los VPBs quedaron enmascarados. Este *enmascaramiento* se realizó respetando el lugar de los VPBs de manera que, la serie conservó su longitud. Además, los VPBs se fueron enmascarando desde la posición uno de la serie simbólica, de manera consecutiva. Entonces, por cada serie simbólica obtuvimos diez nuevas series, cada una con el 10%, 20%, 30 %, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ó el 100% de los VPBs enmascarados. Posteriormente, calculamos la MIF de las nuevas series así obtenidas y sus envolventes superiores (ESs) fueron extraídas. Finalmente, se realizó el ajuste lineal con mínimos cuadrados y el ajuste Pareto a cada una de las ESs.

Efecto de la distribución de latidos ectópicos sobre los parámetros de ajuste

Con el propósito de investigar los posibles efectos tanto del porcentaje, como de la distribución de los VPBs en las series simbólicas, sobre los parámetros del ajuste lineal y del ajuste Pareto, ocultamos los VPBs presentes en la series como a continuación se describe. Se enmascaró de manera sistemática un porcentaje dado de VPBs, lo cual se hizo en incrementos del 10% hasta un 100%. Esta vez, los VPBs se enmascararon de manera aleatoria a través de las series simbólicas, de manera que por cada serie simbólica obtuvimos diez series nuevas. Posteriormente, obtuvimos la MIF de dichas series y extrajimos sus ESs, para las cuales obtuvimos los parámetros del ajuste lineal y del ajuste Pareto antes descritos.

Correlación entre los parámetros de ajuste y el porcentaje de latidos ectópicos

Con el propósito de probar la correlación entre los parámetros obtenidos de los ajustes (m , b , R^2 , α y σ) y el porcentaje de VPBs presentes en las series simbólicas, calculamos la ρ de Spearman, con el paquete estadístico SPSS versión 15.0. Dicha correlación ρ , puede tomar valores de entre - 1 a + 1. Los valores positivos indican que existe una correlación positiva entre las variables probadas, mientras que un valor negativo de ρ , implica una correlación negativa. Finalmente, un valor igual o cercano a cero implica que no hay correlación alguna entre las variables.

Para realizar la prueba, primero obtuvimos el promedio de las pendientes obtenidas de todas las series con el 10% de VPBs enmascarados. Después, calculamos el promedio de todas las pendientes derivadas de las series con 20% de VPBs enmascarados y así sucesivamente hasta obtener el promedio de las pendientes del ajuste lineal realizado sobre las series con el 100% de VPBs ocultos. De manera similar, obtuvimos los promedios de los valores de R^2 , α , y σ . Posteriormente, realizamos la prueba de Spearman para probar si había alguna correlación entre los promedios así obtenidos y el porcentaje de VPBs enmascarados de manera consecutiva, así como para el caso en el que ocultamos los VPBs de manera aleatoria. Para cada prueba de Spearman realizada obtuvimos un coeficiente de correlación ρ , y su correspondiente error estándar, σ .

4.3.3 Resultados

Efectos del enmascaramiento consecutivo de VPBs sobre los patrones de la MIF obtenidos

La Figura 4.9 muestra un ejemplo (caso SCD-47) del efecto que causa sobre la MIF, enmascarar los VPBs en incrementos del 10% hasta el 100% de manera consecutiva. Hay que notar en ésta figura que la magnitud de los valores de la MIF decrecen mientras el porcentaje de VPBs enmascarados se incrementa. Sin embargo, el patrón de oscilaciones característico de la MIF se preserva, excepto cuando todos los VPBs son enmascarados, *i.e.* cuando la MIF es igual a cero. Un comportamiento similar se observó en el resto de los caso registrados en la Tabla 4.2.

Por otra parte, la Figura 4.10. muestra un ejemplo (caso SCD-47) de los cambios observados en el porcentaje de las arritmias presentes en las series simbólicas, como resultado de enmascarar los VPBs en incrementos del 10% hasta el 100%, de manera consecutiva. A partir del caso reportado en ésta figura observamos que, cuando se incrementa el porcentaje de VPBs enmascarados, el porcentaje de bigeminismo se incrementa; el de trigeminismo decrece, mientras que el porcentaje de taquicardia ventricular (TV) oscila. En el resto de los casos enlistados en la Tabla 4.2, se observaron cambios similares ante un enmascaramiento consecutivo.

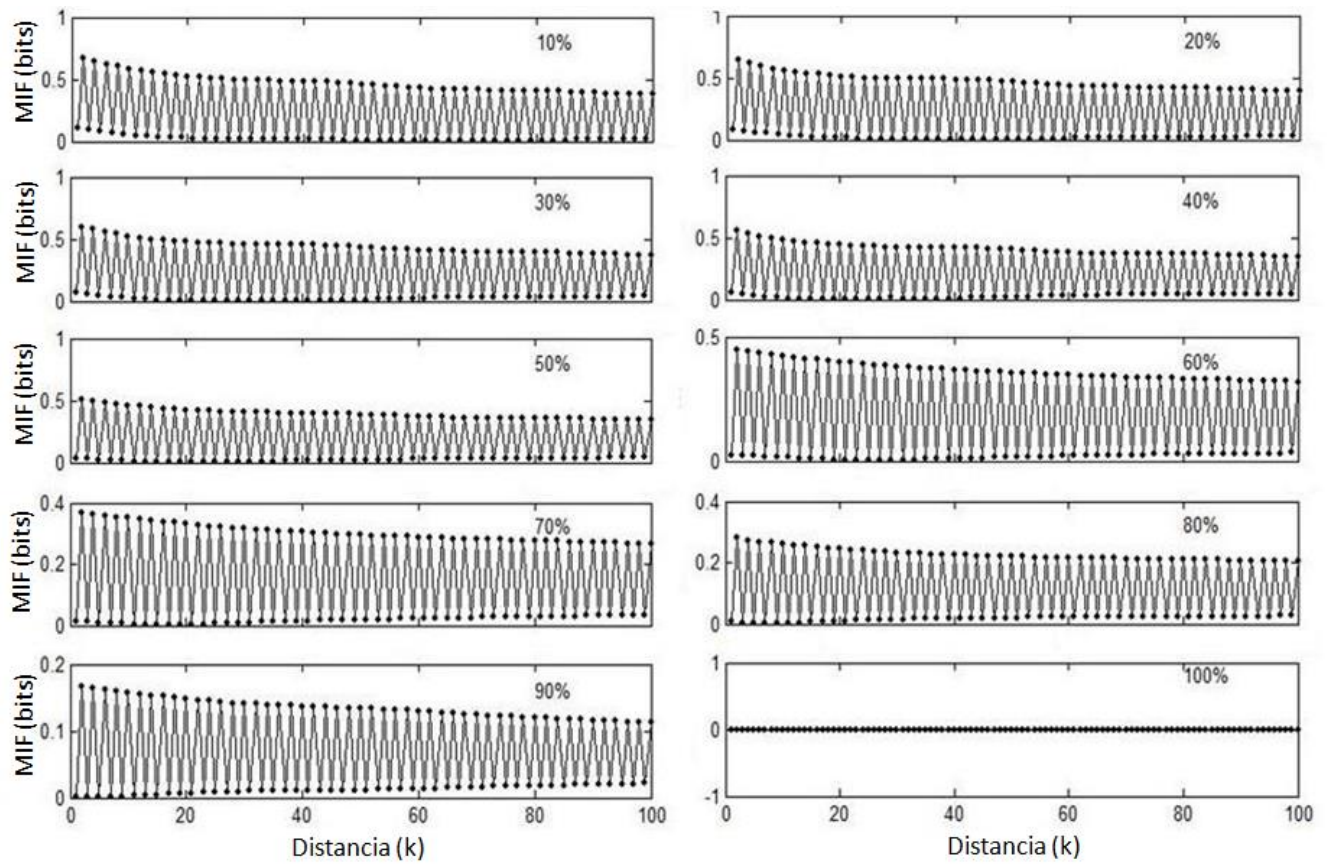


Figura 4.9. Efecto de la reducción de VPBs enmascarados consecutivamente en incrementos del 10%, sobre la MIF.
 VPBs = latidos prematuros ventriculares.

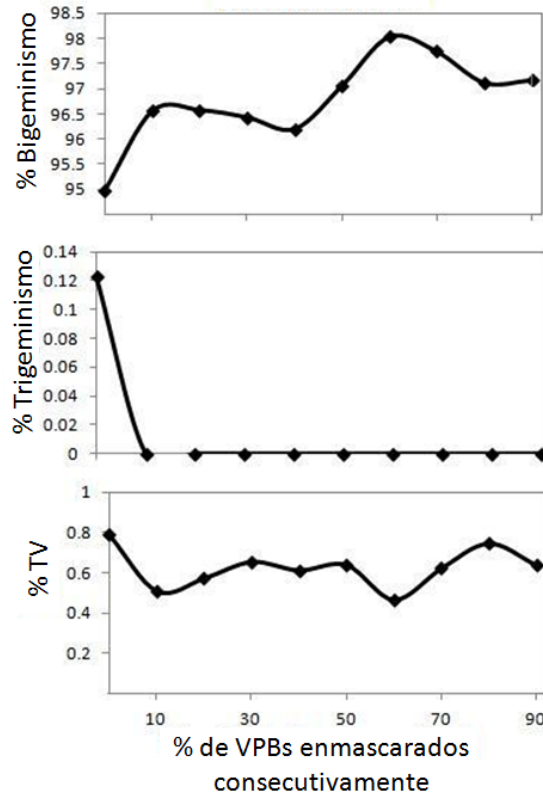


Figura 4.10. Cambio en el porcentaje de arritmias ventriculares debido al enmascaramiento de latidos ectópicos realizado en una manera consecutiva. VPBs = latidos prematuros ventriculares.

Efecto del enmascaramiento aleatorio de los VPBs sobre los patrones de la MIF

La Figura 4.11 muestra un ejemplo de la MIF cuando los VPBs fueron enmascarados de manera aleatoria (caso SCD-47). Es muy interesante notar que cuando apenas se ha ocultado el 10% de los VPBs, las oscilaciones características de la MIF, (ver Figura 4.11 A) prácticamente desaparecen, hasta anularse por completo cuando el 100% de los VPBs se ha ocultado (Figura 4.11 B). Además, en la Figura 4.12 se muestra un ejemplo de las variaciones en los porcentajes de las arritmias mientras que el porcentaje de VPBs enmascarados se incrementa, (caso SCD-47).

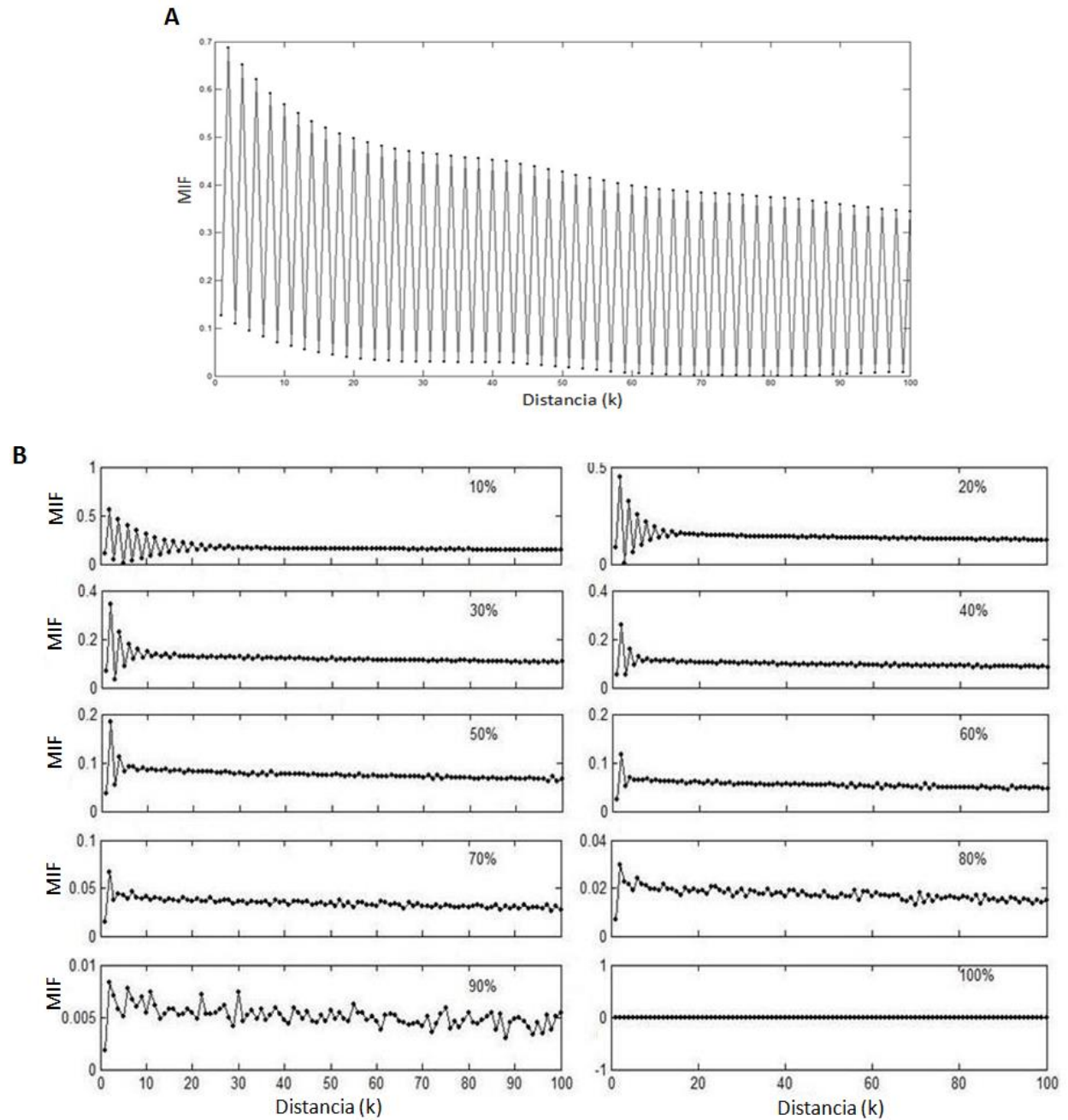


Figura 4.11. **A.** Ejemplo de la MIF obtenida de una serie simbólica de paciente con SAT; **B.** Cambios en el patrón de la MIF, debido al enmascaramiento aleatorio de latidos ectópicos ventriculares realizada en incrementos del 10%.

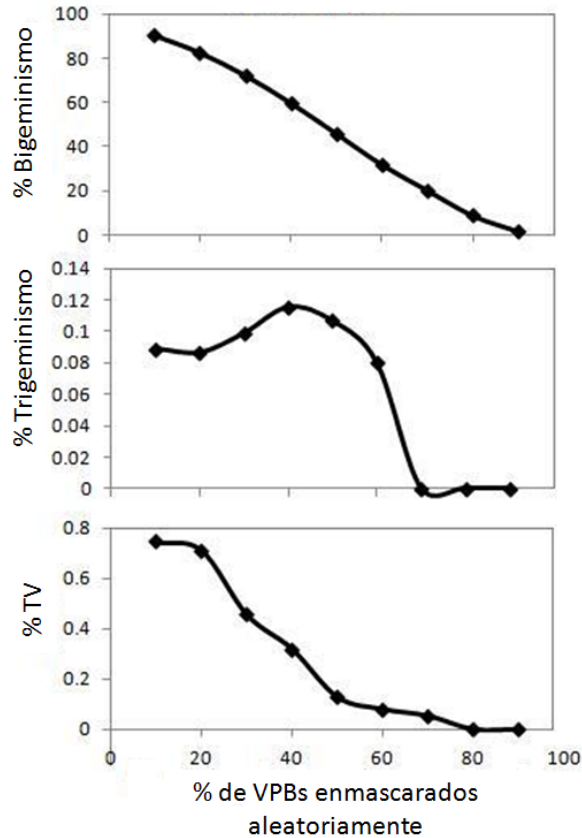


Figura 4.12. Cambios en el porcentaje de arritmias ventriculares debido al enmascaramiento aleatorio de latidos ectópicos. VPBs = latidos prematuros ventriculares.

Correlación entre los parámetros de los ajustes, lineal y Pareto, y el porcentaje de latidos ectópicos enmascarados

La Figura 4.13 muestra un ejemplo de los parámetros obtenidos del ajuste lineal, m , b y R^2 , para uno de los casos registrados en la Tabla 4.2. Estos parámetros fueron evaluados sobre las envolventes superiores de las MIF obtenidas del enmascaramiento de VPBs en incrementos del 10% hasta el 100%, realizado de manera consecutiva (Figura 4.13 izquierda) y aleatoria (Figura 4.13 derecha). De manera similar, la Figura 4.14 muestra los parámetros obtenidos del ajuste Pareto α y σ , a partir de enmascarar los VPBs consecutiva (Figura 4.14 izquierda) y aleatoriamente (Figura 4.14 derecha).

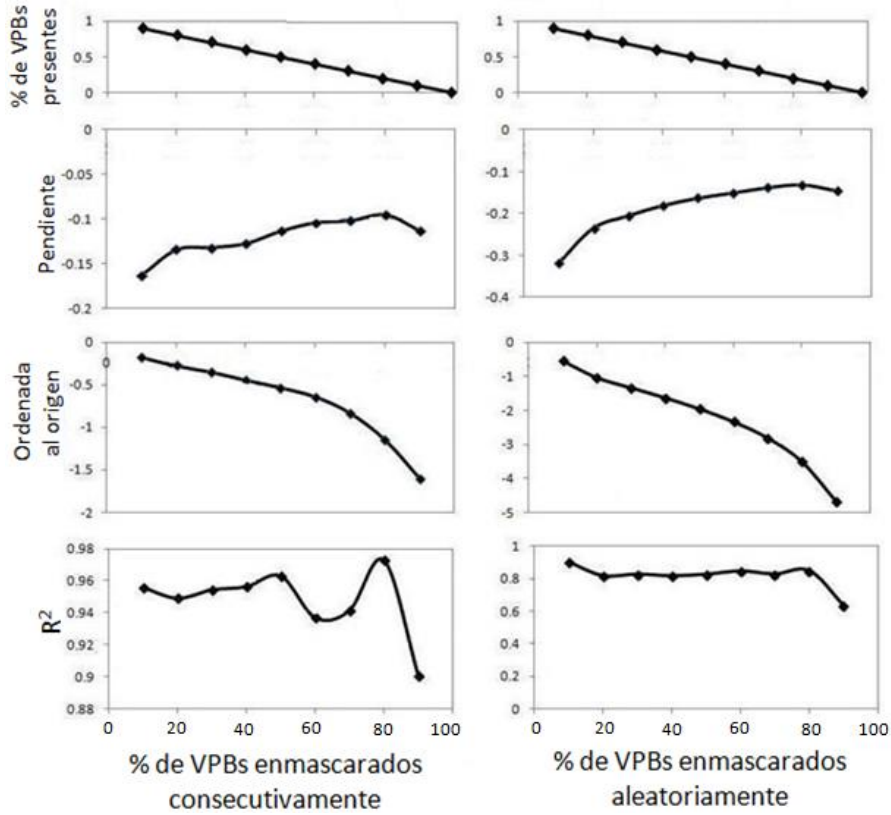


Figura 4.13. Ejemplo de los parámetros obtenidos con mínimos cuadrados, el ajuste sobre una envolvente superior dada, cuando los latidos ectópicos se redujeron de manera consecutiva (izquierda) y de forma aleatoria (derecha). VPBs = latidos prematuros ventriculares.

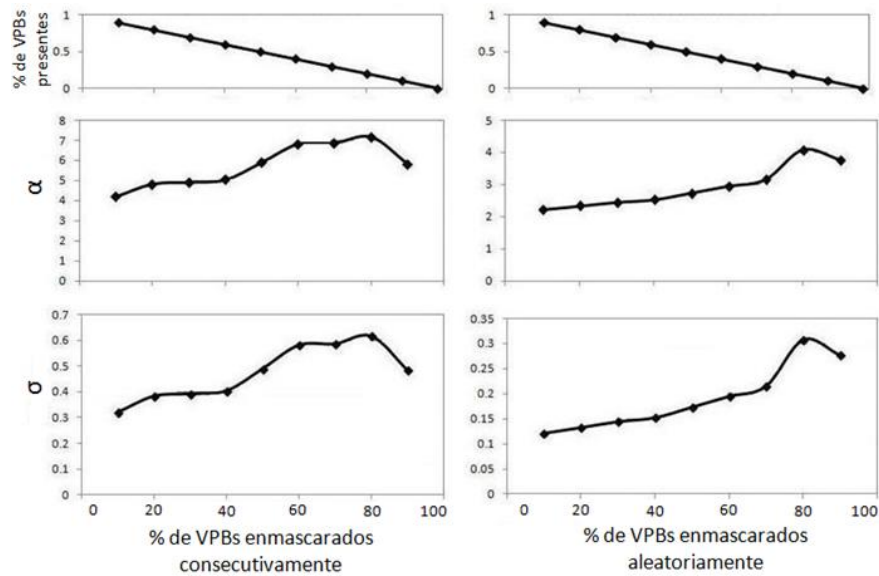


Figura 4.14. Ejemplo de parámetros obtenidos del ajuste tipo Pareto de una envolvente superior dada, cuando los latidos ectópicos se redujeron consecutivamente (derecha) y aleatoriamente (izquierda). VPBs = latidos prematuros ventriculares.

Finalmente, en la Figura 4.15 mostramos los parámetros, ρ y la p , obtenidos de la prueba de Spearman. La ρ indica la correlación entre el porcentaje de latidos ectópicos enmascarados (indicado en las abscisas) y el parámetro de ajuste (indicado en las ordenadas). Hay que notar la correlación negativa entre los promedios de las ordenadas al origen $\langle a \rangle$, y el porcentaje de VPBs enmascarados aleatoriamente ($\rho = -1$ con $p < 0.001$). Otra correlación negativa y significativa se observó entre el promedio de las R^2 y el porcentaje de VPBs enmascarados de manera aleatoria ($\rho = -0.98$ con $p < 0.001$). Además, se observaron correlaciones significativas y positivas entre el promedio de los parámetros, α y σ , y el porcentaje de VPBs enmascarados únicamente en el caso en el que estos se ocultaron de manera consecutiva ($\rho = -0.92$ con $p < 0.001$).

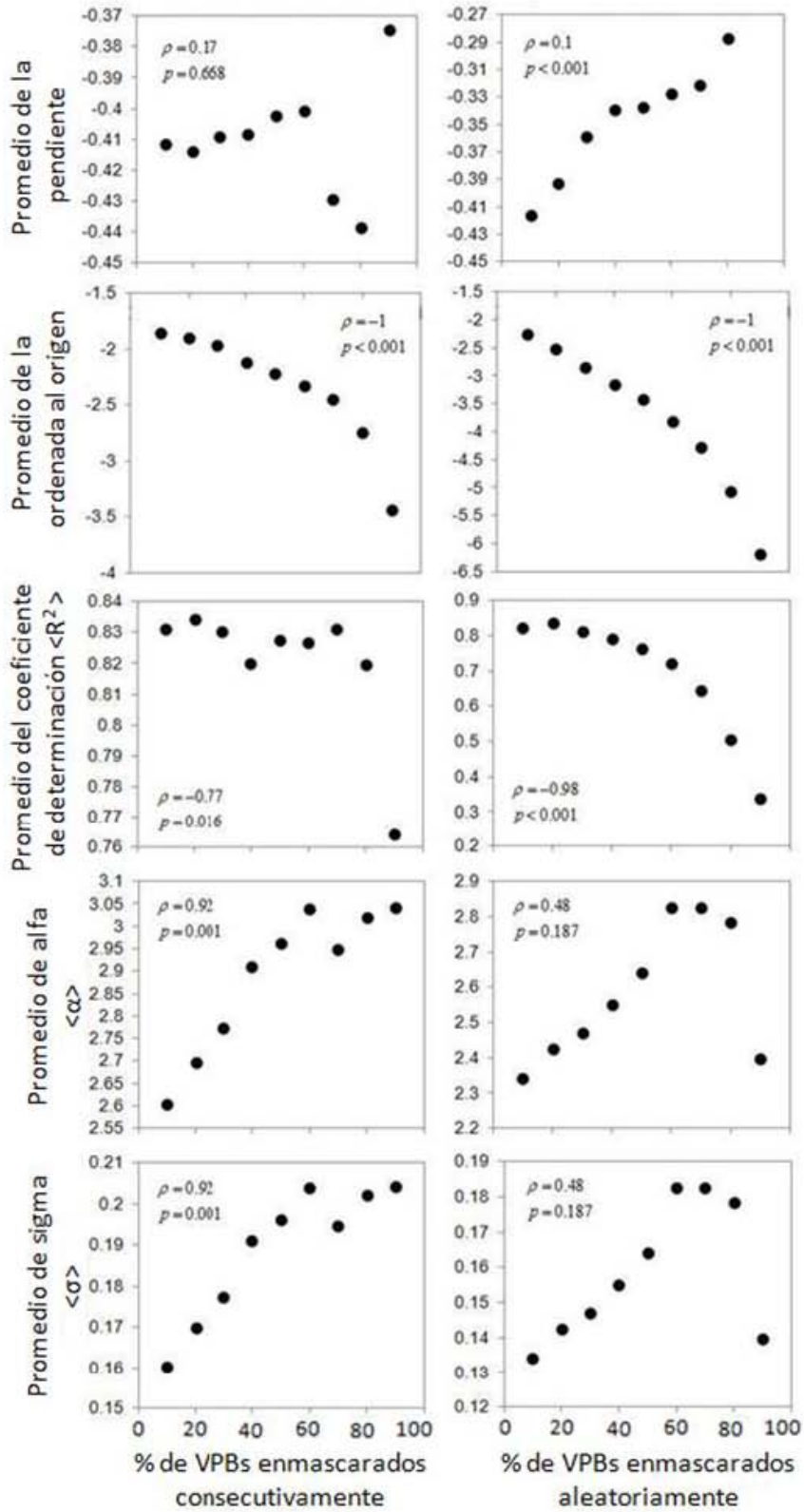


Figura 4.15. Correlación entre los VPBs enmascarados y los parámetros de ajuste, cuando los latidos ectópicos se enmascararon de manera consecutiva (izquierda) y de forma aleatoria (derecha). Coeficiente de correlación de Spearman (ρ) y los correspondientes valores de p , obtenidos para cada parámetro comparado.

4.3.4 Discusión

Efectos del enmascaramiento consecutivo de VPBs sobre los patrones de la MIF obtenidos

De la Figura 4.9 podemos observar que el efecto de enmascarar los VPBs en incrementos del 10% y de manera consecutiva, da como resultado la disminución de los valores de la MIF, de manera que hay una disminución de la correlación estadística que calcula la MIF. Esta disminución en la correlación se debe a que cada vez hay menos VPBs en la serie. Sin embargo, dicha disminución en la correlación no indica la pérdida de aglomeraciones o *clusters* de VPBs organizados con patrones de arritmias. Esto se puede verificar en la Figura 4.10, donde se presenta la variación de distintos tipos de arritmias como función del número de VPBs presentes en las series. En esta figura observamos que el porcentaje de las arritmias no decrece necesariamente, a pesar de que los VPBs decrecen.

Efectos del enmascaramiento aleatorio de VPBs sobre los patrones de la MIF obtenidos

De la Figura 4.11 podemos observar que el efecto de enmascarar tan solo el 10% de VPBs de manera aleatoria, ocasiona la pérdida del patrón de la MIF y solo se conservan algunas oscilaciones a distancias cortas, k . La supresión de VPBs realizada de esta manera, tiene efectos dramáticos en la tendencia de la MIF y por lo tanto en el porcentaje de las arritmias presentes en las series. Esto se puede corroborar en la Figura 4.12, que muestra un ejemplo de los cambios en el porcentaje de las arritmias a medida que se suprimen los VPBs aleatoriamente. En ésta figura, observamos que el bigeminismo y los eventos de taquicardia ventricular (TV) van disminuyendo cada vez que se enmascaran más VPBs de forma aleatoria. Esta disminución en las arritmias no es lineal y no es igual en todos los casos estudiados. Sin embargo, en todos los casos se observó una disminución gradual de al menos una de las arritmias presentes en las series.

Ocultar de manera aleatoria los VPBs podría generar la ruptura de *clusters* de VPBs que se encuentran formando algún tipo de arritmia. De acuerdo a éstos resultados, suprimir tan solo el

10% de los VPBs que ocurren a lo largo de 24 horas, podría tener efectos favorables interrumpiendo la generación y la persistencia de las arritmias.

Correlación entre los parámetros de los ajustes, lineal y Pareto, y el porcentaje de latidos ectópicos enmascarados

Las correlaciones halladas a través de la prueba de Spearman nos indica que existe una relación entre algunos de los parámetros de ajuste (lineal y Pareto) y el porcentaje de VPBs enmascarados. Esta relación se puede calcular a través de la ρ de Spearman. A partir de los resultados mostrados en la Figura 4.15, notamos que existe una correlación negativa ($\rho = -1$), entre el promedio de las ordenadas al origen, $\langle a \rangle$, y el porcentaje de VPBs enmascarados aleatoriamente. Esto quiere decir que a menor número de VPBs ocultos, el valor de la a , es mayor y *vice versa*. Esto concuerda con lo observado en la Figura 4.11, en donde los valores de la ES de la MIF van decreciendo mientras se incrementa el número de VPBs ocultos, por lo que es de esperarse que la ordenada al origen, a , siga la misma tendencia.

Además, se obtuvo una correlación negativa significativa ($\rho = -0.98$), entre el coeficiente de correlación R^2 y el número de VPBs enmascarados aleatoriamente, (Figura 4.15). Esto nos indica que el ajuste lineal tendrá una mejor aproximación a medida que se incremente el número de VPBs ocultos. Esto se debe a que, desde que se oculta solo el 10% de VPBs, el patrón de la MIF prácticamente desaparece y solo se preservan algunas oscilaciones a distancias k muy cortas, (Figura 4.11). A medida que se ocultan más VPBs, estas oscilaciones que persistieron se van haciendo más pequeñas, de manera que la ES de la MIF se va allanando. Esto da como resultado que el ajuste lineal tenga un R^2 cada vez más cercano a 1, mientras se incrementa el número de VPBs ocultos.

Finalmente, observamos una correlación positiva cercana a 1, entre los parámetros del ajuste Pareto (α , σ) y el número de VPBs enmascarados. Esto indica que, a mayor número de VPBs ocultos mayor será el valor de α , lo cual se cumple de manera similar para σ . Esta correlación se observó únicamente cuando los VPBs se enmascararon consecutivamente. Aunque

ésta no es una correlación perfecta con valor igual a 1, es estadísticamente significativa y quiere decir que, a mayor número de VPBs ocultos, los valores de σ y de α son mayores.

4.3.5 Conclusiones y perspectivas

La forma de suprimir los VPBs ya sea consecutiva o aleatoriamente tuvo implicaciones diferentes sobre los patrones de la MIF y sobre los porcentajes de las arritmias presentes en las series simbólicas. Aparentemente, tiene un mayor impacto suprimir los VPBs de manera aleatoria, que de manera consecutiva. Esto sugiere que podría ser más importante la distribución de los VPBs que su porcentaje en la serie. De acuerdo a lo observado en este análisis estadístico, la supresión aleatoria de VPBs podría tener implicaciones positivas sobre la evolución de las arritmias a través de 24 horas. Sin embargo, es necesario realizar investigación clínica y experimental con el propósito de probar esta hipótesis.

En el presente análisis la correlación negativa ($\rho = -0.98$) entre el promedio de los coeficiente de correlación, $\langle R^2 \rangle$, y el porcentaje de VPBs enmascarados aleatoriamente, estuvo relacionada con el allanamiento de las oscilaciones en la MIF. Entonces, uno podría esperar que dado un decremento en los valores de $\langle R^2 \rangle$, disminuya la ocurrencia de arritmias ventriculares. Por otra parte, obtuvimos una correlación negativa ($\rho = -1$) entre el promedio de las ordenadas al origen, $\langle a \rangle$, y el porcentaje de VPBs enmascarados aleatoriamente. Entonces, podemos esperar que si los valores de a , se incrementan, el número de VPBs presentes seguirá la misma tendencia.

Finalmente, a partir de la correlación positiva entre α y los VPBs ($\rho = 0.92$), enmascarados consecutivamente, podemos interpretar que, dado un incremento en los valores de α , la ocurrencia de VPBs es menor. El presente trabajo es un precedente de que los parámetros de un ajuste tipo ley de potencia, realizado sobre la envolvente superior de la MIF, pueden ser indicadores del porcentaje de VPBs y de su distribución en las series simbólicas de pacientes con SAT. Es necesario desarrollar un estudio sistemático con más casos, para probar la sensibilidad y la capacidad de aplicación clínica de estos parámetros.

Capítulo 5. Modelo de Potencial de Acción en el Síndrome de Andersen-Tawil

5.1 Modelo de Potencial de Acción de Ventrículo Humano con Síndrome de Andersen-Tawil

5.1.1 Introducción

Uno de los objetivos de la presente tesis fue investigar la relación entre los parámetros electrofisiológicos adyacentes a la ocurrencia de PA espontáneos y post-despolarizaciones (PD), que pueden ocurrir como despolarizaciones tempranas (EAD) o tardías (DAD) del PA en el Síndrome de Andersen-Tawil (SAT). Con éste propósito, utilizamos un modelo de PA de ventrículo humano para simular las condiciones electrofisiológicas del SAT, es decir, el bloqueo de la corriente de potasio I_{K1} debido a la mutación genética en el gen KCNJ2 y la baja concentración de potasio extracelular (hipocalemia). Debido a que las alteraciones del PA observadas en el SAT se exacerban bajo estimulación beta-adrenérgica (β -A), simulamos ésta activación incrementando la frecuencia de estimulación, así como la conductancia de la corriente I_{CaL} y de la corriente I_{Ks} , de acuerdo a investigaciones previas. [272] A partir de éstas simulaciones, el propósito fue identificar los parámetros que condicionan la ocurrencia de PD, así como de PA espontáneos y plantear la relación que guardan entre sí dichos parámetros.

Por otra parte, la duración de los PAs obtenidos de dichas simulaciones se prolongó en condiciones de reducción de la corriente I_{K1} y de la concentración de potasio extracelular $[K^+]_o$; del incremento en la corriente I_{CaL} y del aumento en la frecuencia de estimulación. Dicha prolongación es un sustrato necesario para la ocurrencia de post-potenciales en el SAT. Sin embargo, no observamos la ocurrencia de despolarizaciones tempranas o tardías. Además, observamos PA auto-oscilatorios en condiciones de I_{K1} y de $[K^+]_o$ reducidas.

El análisis de los resultados nos llevó a plantear la necesidad de incluir una dinámica de calcio más detallada en el modelo, para considerar algunos elementos importantes de la

estimulación β -A y de la liberación de calcio inducida por calcio (CICR) de una manera más realista (ver sección 5.2).

5.1.2 Materiales y Metodología

El modelo de potencial de acción utilizado es aquel descrito en la sección 1.3.3, correspondiente a un modelo de PA de miocito ventricular humano. [179] Las condiciones electrofisiológicas relacionadas con el SAT que incluimos en éste modelo son las siguientes: a) la mutación genética sobre el gen KCNJ2, el cual codifica para el canal de potasio Kir2.1, por el que atraviesa la membrana celular la corriente de potasio I_{KI} ; b) la condición de hipocalemia; c) el incremento de la frecuencia cardiaca por estimulación beta-adrenérgica.

Para simular la mutación genética sobre el gen KCNJ2 se redujo la conductancia, G_{KI} , correspondiente a la corriente de potasio I_{KI} , mientras que para simular la hipocalemia se redujo la concentración de potasio, $[K^+]_o$. La reducción de ambos parámetros se realizó en decrementos de 10%, desde el 100% hasta el 10% .

La estimulación beta-adrenérgica incrementa el flujo de las corrientes I_{CaL} y I_{Ks} , [273] de manera que, siguiendo investigaciones previas, [272] incrementamos las conductancias G_{CaL} y G_{Ks} , asociadas a éstas corrientes. El aumento de ambas conductancias se realizó de un 100% hasta un 200% en incrementos de 10%. Además, se varió la frecuencia de estimulación de 1 Hz a 0.5 Hz. Asimismo, se modificaron éstos parámetros uno a la vez y se calculó la duración del potencial de acción (DPA) para cada simulación. Adicionalmente, se analizaron los PA y las corrientes que condicionan su dinámica en busca de posibles alteraciones.

Posteriormente, se variaron 2, 3 y hasta 4 parámetros simultáneamente. Las combinaciones de los parámetros modificados fueron las siguientes: (1) G_{KI} y G_{CaL} ; (2) G_{KI} y G_{Ks} ; (3) $[K^+]_o$ y G_{Ks} ; (4) G_{KI} , $[K^+]_o$ y G_{CaL} ; (5) G_{KI} , $[K^+]_o$ y G_{Ks} ; (6) G_{KI} , $[K^+]_o$, G_{Ks} y G_{CaL} . Los incrementos o decrementos realizados, según el parámetro, fueron de 10%, desde el 10% hasta el 100% (o *vice versa*). Finalmente, variamos todos los parámetros a la vez (G_{KI} , $[K^+]_o$, G_{CaL} , G_{Ks} , frecuencia de estimulación), en los rangos antes descritos. Todas las simulaciones antes descritas se efectuaron para el caso de células tipo M. Se utilizaron dos protocolos de estimulación uno constante, en el

que cada segundo se aplicó un pulso de -52 mV con una duración de 0.1 s. Este pulso se aplicó durante todo el tiempo de integración de la simulación (e.g. 50 s). El segundo protocolo de estimulación consistió en aplicar un pulso de -52 mV con duración de 1s. Esta vez, el pulso se aplicó únicamente durante la mitad del tiempo de integración de la simulación, de manera que, para una simulación de 50 s de integración, únicamente se aplicó el estímulo por 25s. Como resultado de cada simulación obtuvimos una serie de PAs, cuya morfología y duración se inspeccionaron para detectar las posible ocurrencia de PD y PA espontáneos.

Con base en éstos resultados, se eligieron algunas combinaciones de parámetros para simular la condición del SAT, en el caso de células tipo ENDO. La morfología y duración de los potenciales de acción obtenidos de estas simulaciones, se inspeccionaron de la misma manera. En la siguiente sección se muestran los resultados más relevantes.

5.1.3 Resultados

Sensibilidad del Modelo

La Figura 5.1 muestra el incremento observado en la duración del potencial de acción (DPA), como resultado de simular la mutación del canal de potasio disminuyendo la conductancia G_{K1} . Los valores de la DPA van desde 389.34 ms con el 100% de la G_{K1} hasta 430.46 ms con el 10% de G_{K1} , (Figura 5.1). De acuerdo a la ecuación de la corriente I_{K1} , que es función de G_{K1} , como se expresa a continuación, la DPA disminuye en función de los decrementos de G_{K1} .

$$I_{K1} = G_{K1} \sqrt{\frac{K_o}{5.4}} x_{K1\infty} (V - E_k)$$

Sin embargo, el aumento en la DPA no sigue una relación lineal, (Figura 5.1). Por otra parte, el incremento de la DPA, concuerda cualitativamente con resultados experimentales previos en los cuales, tras reducir la expresión de I_{K1} , se prolonga la DPA. [250,251] Además, dicho incremento ocurre por la prolongación en la fase 3 del PA, como se ha observado experimentalmente.

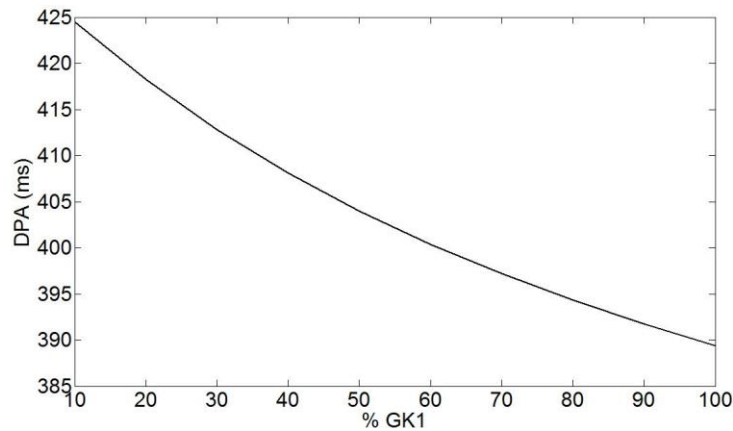


Figura 5.1 Variación de la duración del potencial de acción (DPA) como función de la conductancia G_{K1} de la corriente I_{K1} .

La Figura 5.2 muestra el incremento de la DPA con respecto a la disminución de la concentración de potasio extracelular, $[K^+]_o$. Los valores de la DPA van desde 389.34 ms al 100% de $[K^+]_o$, hasta 627.48 ms al 10% de $[K^+]_o$. El incremento en DPA se debe a que al disminuir $[K^+]_o$, disminuyen las principales corrientes de potasio que participan en la última parte de la repolarización, I_{K1} , I_{Ks} y I_{Kr} .

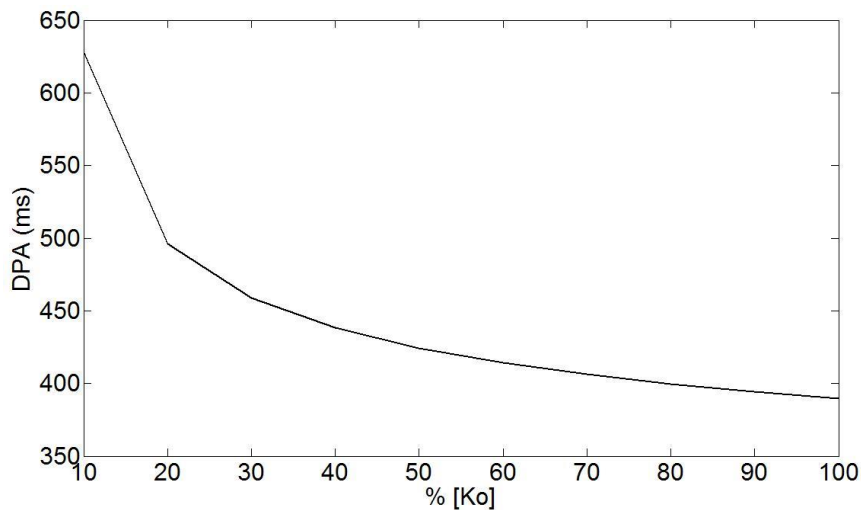


Figura 5.2. Cambios en la duración del potencial de acción (DPA) como función de la concentración de potasio extracelular, $[K^+]_o$.

Además, como resultado de incrementar la conductancia G_{CaL} , se observó un incremento en la DPA, como se muestra en la Figura 5.3. Esta tendencia se debe a que al aumentar G_{CaL} , se incrementa la corriente I_{CaL} , que participa sobre todo en el *plateau* del PA.

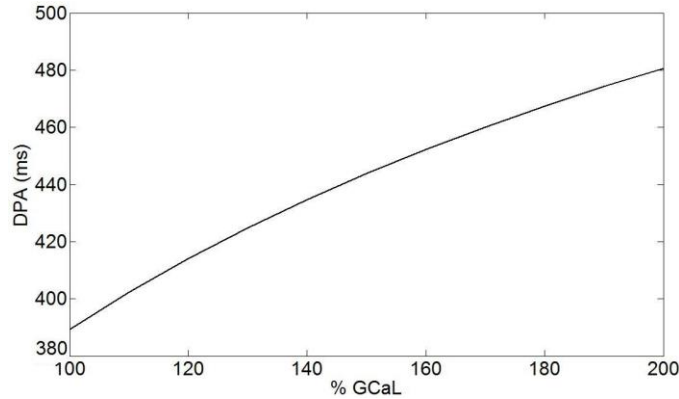


Figura 5.3. Cambios en la duración del potencial de acción (DPA) como función de la conductancia G_{CaL} , correspondiente a la corriente de calcio tipo-L, I_{CaL} .

El incremento de la conductancia G_{Ks} no mostró tener algún efecto ni en la morfología ni en la duración del PA en este modelo. Finalmente, observamos que por arriba de un periodo de estimulación (PE), PE = 1000 ms, la DPA se incrementa, mientras que por debajo de este valor la DPA disminuye, como se muestra en la Figura 5.4. En éste caso, la DPA toma valores desde 331.74 con un PE = 500 ms, hasta 392.78 ms con un PE = 1400 ms. El decremento en la DPA es una adaptación al incremento de la frecuencia de estimulación, resultado sobre todo de la disminución de la corriente, I_{CaL} . Además, hay que notar que el incremento de la DPA tiende a un límite.

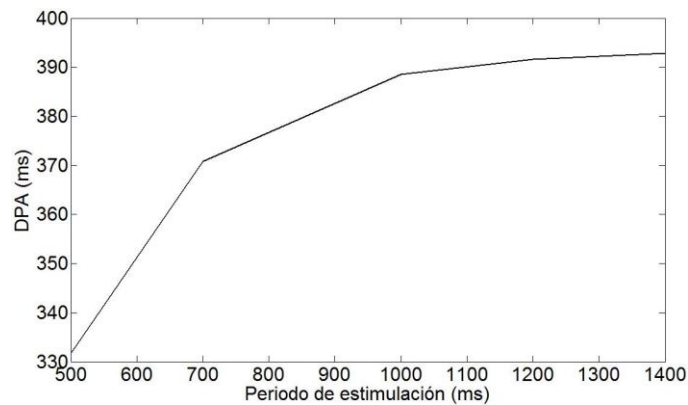


Figura 5.4. Cambios en la duración del potencial de acción (DPA) como función del periodo de estimulación.

Simulación del Síndrome de Andersen-Tawil

La Figura 5.5 muestra la morfología del PA obtenida de hacer variar los parámetros G_{Kl} y $[K^+]_o$ simultáneamente ($G_{Kl} \leq 50\%$) y ($[K^+]_o = 10\%$). El tiempo total de simulación fue de 15 000 ms y se dejó de estimular después de 6000 ms. Adicionalmente, se obtuvieron resultados similares a partir de una simulación de 40 000 ms en la que se dejó de estimular después de 20 000 ms. Además, se utilizó una frecuencia de estimulación de 1000 ms. El valor mínimo del voltaje obtenido es de -92.74 mV, lo que indica que la membrana celular se hiperpolarizó. Adicionalmente, el PA presenta una despolarización lenta hasta que el voltaje alcanza un valor umbral por encima del cual se propaga. Este comportamiento auto-oscilatorio se obtuvo también por la reducción de los parámetros G_{Kl} y $[K^+]_o$, así como por el incremento simultáneo tanto de G_{CaL} como de la frecuencia de estimulación.

En éste caso observamos que, durante la despolarización lenta, se activa el canal de la corriente entrante rectificadora de potasio, I_{Kl} , de manera que hay un flujo de iones de K^+ al exterior de la célula. Este flujo promueve la repolarización de la membrana. Sin embargo, la despolarización predomina e inhibe la salida de iones de K^+ , facilitando la propagación del PA. Otras corrientes que presentan una activación temprana anómala son, I_{NaCa} y I_{NaK} . Por otra parte, no hay informes previos del PA siguiendo un comportamiento auto-oscilatorio en modelos teóricos o experimentales del SAT.

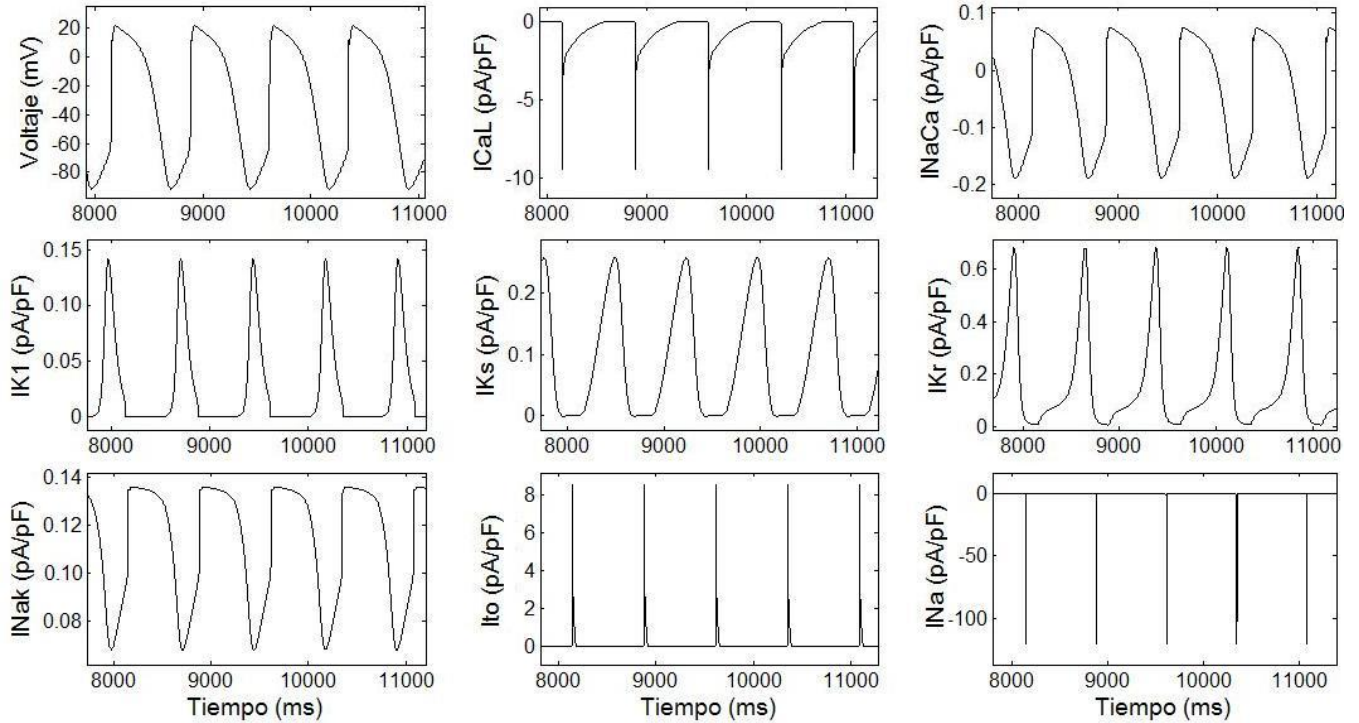


Figura 5.5. Potencial de acción y algunas de las principales corrientes obtenidas en condición del SAT a partir de un modelo de miocito ventricular humano.

5.1.4 Discusión

Comportamiento auto-oscilatorio en condiciones de SAT

En condiciones electrofisiológicas, el canal entrante rectificador de K^+ , deja salir iones de K^+ de la célula en un rango de voltaje muy cercano al voltaje de membrana en reposo. En nuestro modelo de SAT observamos que la corriente I_{K1} fluye al exterior de la célula en respuesta a una despolarización lenta, lo que tiende a repolarizar la célula. Sin embargo, el voltaje de membrana se incrementa hasta sobrepasar un valor umbral, a partir del cual se propaga aun en ausencia de estimulación. Además, ésta despolarización bloquea el canal rectificador entrante de K^+ . A partir de experimentos realizados sobre miocitos ventriculares de cobayo, se reportó la ocurrencia de PA disparados espontáneamente, como resultado de bloquear la corriente I_{K1} . [274]

De manera similar a este experimento, a partir de nuestro modelo de PA en condiciones del SAT, obtuvimos PA disparados de manera espontánea en ausencia de estimulación eléctrica, (Figura 5.5). Además, la reducción del potasio extracelular causó la hiperpolarización del voltaje

de membrana, lo que concuerda con observaciones experimentales realizadas por otros grupos de investigación. En la Figura 5.5, observamos que las corrientes que participan en la despolarización lenta son las corriente I_{K1} , I_{NaK} y la corriente I_{NaCa} . Estos resultados obtenidos del modelo de SAT concuerdan con lo observado en diversos experimentos, en los cuales relacionan la corriente I_{NaK} con la modulación del ritmo cardiaco. [90,275] También se ha asociado la dinámica de las corrientes I_{NaK} [90] e I_{K1} con la inducción de automaticidad. [274,276]

Se ha observado en simulaciones *in silico* que los PA espontáneos pueden preceder o suceder la ocurrencia de post-despolarizaciones en el SAT. [230,261] En el presente trabajo solo observamos la ocurrencia de automaticidad y no de post-despolarizaciones. Esta actividad espontánea también se observó en un experimento en el que se inhibió en miocitos ventriculares de manera dominante-negativa el canal Kir2.1. [254] En éste trabajo reportado en la literatura se comprobó que los miocitos ventriculares tienen una actividad latente tipo marcapaso, la cual se suprime normalmente por la acción de la corriente I_{K1} , (Figura 5.6). [254]

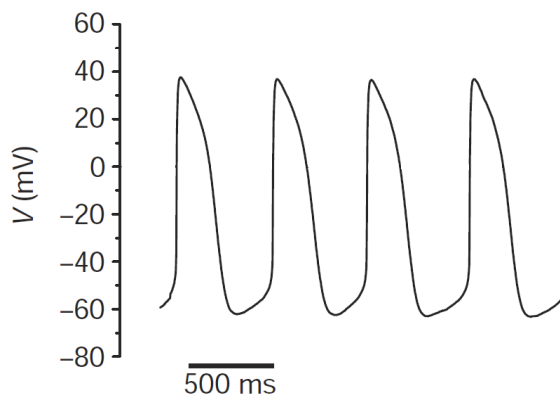


Figura 5.6. Actividad espontánea del PA inducida por la supresión de los canales de potasio Kir2.1 en miocitos ventriculares. [254]

Alteraciones de la Dinámica de Calcio en el Síndrome de Andersen-Tawil

A partir de las simulaciones realizadas es posible concluir que el modelo de PA de ventrículo humano utilizado, responde de manera adecuada a la reducción de la corriente I_{K1} , de la concentración de potasio $[K^+]_o$, y de la frecuencia de estimulación, así como al aumento de la conductancia G_{CaL} , dando como resultado el incremento de la DPA. Dicha prolongación de la DPA es un sustrato importante para la ocurrencia de post-despolarizaciones. Por otra parte, la

actividad beta-adrenérgica incrementa el flujo de las corriente I_{CaL} , e I_{Ks} , [273] lo que aparentemente favorece la ocurrencia de EADs y de DADs. [261] En nuestro modelo del SAT, incrementamos de manera lineal la conductancia G_{CaL} , correspondiente a la corriente de calcio tipo-L, lo que no necesariamente ocurre de ésta manera bajo estimulación beta-adrenérgica. Los cambios en G_{CaL} favorecieron el incremento de la DPA, pero no así la ocurrencia de post-despolarizaciones. La dinámica de la corriente I_{CaL} depende tanto del potencial de membrana, así como de los cambios en la concentración de Ca^{2+} intracelular, parámetros que consideramos en el modelo, pero cuya dinámica parece estar limitada para inducir post-despolarizaciones en el PA. Finalmente, la simulación de la estimulación beta-adrenérgica a través del incremento de G_{Ks} no mostró tener efecto alguno sobre la morfología o duración del PA.

El análisis de los resultados nos llevó a sugerir que una adecuada implementación de la CICR sensible a estimulación beta-adrenérgica, podría ser crucial para reproducir las alteraciones en el PA y en la dinámica de calcio observadas en el SAT. Además, los efectos de la estimulación beta-adrenérgica sobre la dinámica del PA y del calcio han sido modelados de manera limitada en el SAT. [261]

Algunas de las principales consecuencias de la estimulación beta-adrenérgica que podrían estar relacionadas con la generación de post-despolarizaciones, bigeminismo y las subsecuentes arritmias ventriculares en el SAT, son las alteraciones en la CICR y en la concentración de Ca^{2+} intracelular. En el modelo de PA utilizado como plataforma, dicha concentración se mantiene constante, lo cual representa una limitación de éste para simular estos fenómenos. Además, éste modelo considera que la liberación de Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico (RS) sucede en un único evento, característica que lo hace un modelo tipo *common pool*. Esta simplificación de la CICR utiliza menos ecuaciones diferenciales y por lo tanto reduce el tiempo de integración. Sin embargo, dicha liberación es un proceso que ocurre a través de varios eventos discretos, por lo que consideramos que la inclusión de éstas dinámicas mejorarían la simulación del PA en el SAT. Las alteraciones en la dinámica de calcio pueden promover alternancias de calcio, lo que en algunos casos da lugar a la alternancia de la DPA que genera arritmias ventriculares como TV, lo que podría inducir la muerte cardíaca súbita en pacientes con SAT. De manera que, si queremos dilucidar los parámetros electrofisiológicos adyacentes a la arritmogénesis en el SAT,

es necesario incluir algunos de los parámetros relacionados con el proceso de CICR, que podrían ser relevantes en la generación de alteraciones del PA.

5.1.5 Conclusión y Perspectivas

Las simulaciones del PA de ventrículo humano en condiciones del SAT realizadas en el presente trabajo, nos indican que la reducción de la corriente I_{K1} y de la $[K^+]_o$, así como el incremento de I_{CaL} y de la frecuencia de estimulación, inducen la prolongación del PA y generan PA espontáneos. Sin embargo, no se observaron post-despolarizaciones. A partir de la noción de que la dinámica de calcio puede ser fundamental en la ocurrencia de arritmias en el SAT, decidimos desarrollar un modelo que contenga más detalles electrofisiológicos de la dinámica de calcio. En particular, decidimos incluir una dinámica de calcio capaz de reproducir la acumulación y las alternancias en el calcio transitorio, fenómenos que pueden favorecerse por estimulación beta-adrenérgica y también por la influencia bidireccional del voltaje transmembranal.

5.2 Modelo de Potencial de Acción de Ventrículo Humano en el Síndrome de Andersen-Tawil: Una Aproximación Monte-Carlo

5.2.1 Introducción

En la sección precedente planteamos la necesidad de incluir en el modelo utilizado de PA de ventrículo humano, una dinámica de calcio capaz de reproducir alteraciones de la CICR, sensible a estimulación beta-adrenérgica (β -A) y a las condiciones electrofisiológicas del SAT. Además, se ha observado la ocurrencia de post-despolarizaciones y de eventos de TV y FV, precedidos por bigeminismo, que en algunas ocasiones se exacerban por β -A. [230,242] Asimismo, se han reportado elevaciones de calcio intracelular relacionadas a la ocurrencia de latidos ectópicos y TV, [259] así como alternancias del calcio intracelular relacionadas a la ocurrencia de post-despolarizaciones en el SAT. [260] Por lo que, utilizando el modelo desarrollado, pretendemos simular alteraciones del PA relacionadas con aquellas en el Ca^{2+} intracelular.

El modelo utilizado como plataforma para simular el PA de miocitos ventriculares de humano, bajo condiciones electrofisiológicas del SAT es el modelo que fue descrito en la sección 1.3.3. También, utilizamos como plataforma un modelo de la CICR, que utiliza una aproximación Monte Carlo. Este último se basa en la teoría del *control local* para modelar la CICR y considera que el calcio que entra a la célula por el canal de calcio tipo-L estimula la liberación del mismo a través del RS, el cual libera Ca^{2+} en elementos discretos conocidos como *sparks de Ca^{2+}* . El Ca^{2+} así liberado es función sobre todo de un incremento local de Ca^{2+} más que de un incremento global en el Ca^{2+} citosólico. Estos *sparks de Ca^{2+}* se liberan de un aglomerado o un *cluster* de canales de rianodina, RyR, lo que da lugar a un incremento en el Ca^{2+} transitorio que induce la contracción cardíaca una vez que el Ca^{2+} se une a miofilamentos en una secuencia de eventos conocidos como acoplamiento de excitación-contracción.

Usualmente, los modelos de la CICR simulan la liberación de Ca^{2+} del RS como un único evento en el que se libera todo el Ca^{2+} o nada. Sin embargo, existe evidencia experimental de que esta liberación ocurre de manera gradual con el influjo del Ca^{2+} . [277,278] El modelo en el que nos basamos utiliza una formulación Monte Carlo para describir ésta liberación gradual de Ca^{2+} .

[279] Este modelo considera que existe un espacio diádico entre el aglomerado de canales de rianodina, RyR, (*calcium release unit*) y el canal de Ca^{2+} tipo-L, en el cual los cambios locales de la concentración de calcio $[\text{Ca}^{2+}]$, generan la liberación de unidades de calcio. Este modelo de la CICR se acopló al modelo de PA de ventrículo humano de manera que en el nuevo modelo de PA, las corrientes originales, I_{CaL} y I_{NaCa} , son sustituidas por el promedio de la corriente I_{CaL} , y por la corriente de intercambio de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, I_{ncx} , obtenidas de la simulación Monte Carlo. En la sección de materiales y metodología se describe con detalle los cambios realizados.

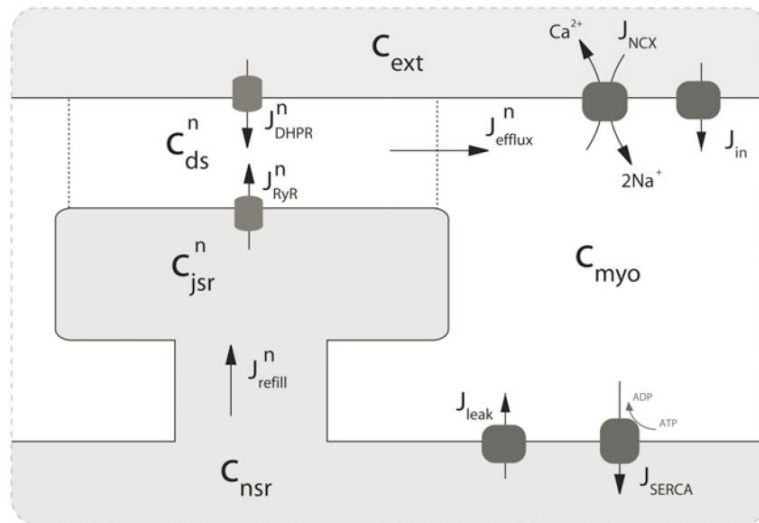


Figura 5.7. Esquema de las distintas concentraciones y flujos planteados en modelo de la CICR con aproximación Monte Carlo. [278]

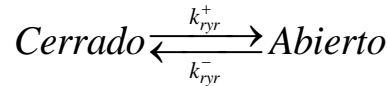
5.2.2 Materiales y Metodología

Modelo de PA con Dinámica de Calcio

El modelo de la CICR en el cual nos basamos propone que la liberación de Ca^{2+} ocurre a través de una CRU (*calcium release unit*). Cada una de éstas unidades está asociada a un espacio diádico que se encuentra entre la CRU y el canal de calcio tipo-L. Además, hay cuatro distintas concentraciones de Ca^{2+} que se distinguen entre sí por su ubicación dentro del espacio celular (Figura 5.7). Estas concentraciones corresponden a la concentración de Ca^{2+} del espacio diádico, C_{ds}^n y del retículo de unión C_{jsr}^n , donde el índice n denota el número de CRU. Asimismo, se consideran la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma, C_{myo} , y una concentración en la red del RS, C_{nsr} . A partir de la compartimentalización de las concentraciones de Ca^{2+} , se plantean los flujos,

J_{dhpr}^n y J_{ryr}^n , los cuales indican la entrada de Ca^{2+} al espacio diádico a través del canal DHPR o por el aglomerado de RyRs, respectivamente. Además, el flujo J_{efflux}^n , indica la difusión de Ca^{2+} entre el espacio diádico y el citoplasma, mientras que el flujo J_{refill}^n , corresponde a la difusión de Ca^{2+} desde la red del RS a la terminal de unión del mismo. El superíndice en éstos dos últimos flujos corresponde a la n -ésima CRU. Otros flujos que son función de C_{myo} , son el flujo J_{in} , que indica el flujo del Ca^{2+} en el mioplasma al exterior celular a través del canal intercambiador de Na^+/Ca^{2+} ; el flujo J_{serca} , que indica la captura del Ca^{2+} al interior del RS vía la bomba ATP_{asa} (SERCA) y un flujo pasivo, J_{leak} que corresponde al transporte de Ca^{2+} desde el RS al mioplasma. [279]

El canal de Ca^{2+} tipo-L (*i.e* canal receptor de dihidropiridina, DHPR) y el aglomerado de canales RyRs (CRU), pueden estar en dos posibles estados, completamente cerrados o completamente abiertos. Entonces, la cinética de cada CRU estará dada por las constantes que conducen a los estados abiertos o cerrado, k_{ryr}^+ y k_{ryr}^- , correspondientemente, como se ilustra a continuación. [279]



La constante de activación del aglomerado de RyRs es función de la concentración de Ca^{2+} en el espacio diádico, C_{ds} , de la siguiente manera:

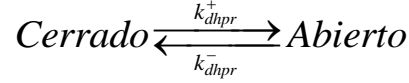
$$k_{ryr}^+ = \bar{k}_{ryr}^+ \frac{(C_{ds}^n)^4}{(K_{ryr})^4 + (C_{ds}^n)^4}. \quad (1)$$

Dicha constante de activación depende de la concentración de Ca^{2+} en el RS de unión, C_{jsr}^n , a través de la activación máxima media, K_{ryr} , la cual es una función decreciente de C_{jsr}^n , de la siguiente manera:

$$K_{ryr} = K_{ryr}^{\max} - \alpha_{ryr} C_{jsr}^n \quad (2)$$

Esta dependencia asegura que la liberación de Ca^{2+} del RS presente un periodo refractario después de que la liberación haya terminado. La constante de inactivación k_{ryr}^- tiene un valor

fijo. Además, cada canal de DHPR asociado a una CRU solo puede estar en dos posibles estados, cerrado o abierto, de manera que, para cada estado hay una constante asociada como se esquematiza a continuación:



En el nuevo modelo consideramos una constante de apertura dada por el modelo de PA con parámetros de humano, de la siguiente manera

$$k_{dhpr}^+ = D_INF - (D_INF - k_{dhpr}^+) \exp(-dt / \tau_d) \quad (4)$$

$$Ad = 1.4 / (1 + \exp((-35 - V) / 13)) + 0.25 \quad (5)$$

$$Bd = 1.4 / (1 + \exp((V + 5) / 5)) \quad (6)$$

$$Cd = 1 / (1 + \exp((50 - V) / 20)) \quad (7)$$

$$\tau_d = Ad * Bd + Cd \quad (8)$$

Además, el modelo plataforma de la CICR no considera la desactivación dependiente de voltaje y de calcio del canal DHPR. Sin embargo, la corriente I_{CaL} determina en gran medida la duración del *plateau* del PA humano y consideramos que podría ser crucial en la generación de post-despolarizaciones en el SAT. Entonces, escribimos la constante de inactivación del canal DHPR como el producto de tres constantes de desactivación, de manera que, $k^-_{dhpr} = sf * rf * fc ds$. Estas constantes corresponden a una constante de inactivación lenta, sf , y una de inactivación rápida, rf , ambas dependientes del voltaje de membrana. Además, la constante de inactivación, $fc ds$, depende del promedio de calcio en el espacio diádico, $Cdsavg$. Estas constantes fueron multiplicadas por un parámetro *ad hoc*, α , para reproducir la duración de un PA de ventrículo humano, con una duración de 280 ms.

Las ecuaciones de éstas constantes están dadas por aquellas planteadas en el modelo plataforma de PA de humano (sección 1.3.3). Sin embargo, en nuestro modelo escribimos la constante de inactivación, $fc ds$, dependiente de Ca^{2+} , en función del calcio calculado en el

espacio diádico. La constante de inactivación lenta, sf , está dada por el siguiente sistema de ecuaciones, donde V , se refiere al voltaje de membrana,

$$sf = F_INF - (F_INF - sf) \exp(-dt / \tau f) \quad (9)$$

$$F_INF = 1 / (1 + \exp((V+20)/7)) \quad (10)$$

$$Af = 1102.5 * \exp(-(V+27)*(V+27)/225) \quad (11)$$

$$Bf = 200 / (1 + \exp((13-V)/10)) \quad (12)$$

$$Cf = (180 / (1 + \exp((V+30)/10))) + 20 \quad (13)$$

$$\tau f = Af + Bf + Cf . \quad (14)$$

Mientras que, la constante de inactivación rápida, rf , dependiente de V , se expresa de la siguiente manera:

$$rf = F2_INF - (F2_INF - rf) \exp(-dt / \tau rf) \quad (15)$$

$$F2_INF = 0.67 / (1 + \exp((V+35)/7)) + 0.33 \quad (16)$$

$$Arf = 600 * \exp(-(V+25)*(V+25)/170) \quad (17)$$

$$Brf = 31 / (1 + \exp((25-V)/10)) \quad (18)$$

$$Crf = 16 / (1 + \exp((V+30)/10)) \quad (19)$$

$$\tau rf = Arf + Brf + Crf \quad (20)$$

Finalmente, escribimos la constante de inactivación, $sfcds$, en función del promedio del Ca^{2+} en el espacio diádico, $Cdsavg$, como sigue:

$$sfcds = F_Cads_INF - (FCads_INF - sfcds) \exp(-dt / \tau fcds) \quad (21)$$

$$FCads_INF = (0.6) / (1 + (Cdsavg / 0.05)(Cdsavg / 0.05)) + 0.4 \quad (22)$$

$$\tau fcds = 80 / (1 + (Cdsavg / 0.05)(Cdsavg / 0.05)) + 2 \quad (23)$$

La dinámica de las concentraciones de Ca^{2+} , anteriormente descritas, (Figura 5.7), está dado por las siguientes cuatro ecuaciones diferenciales ordinarias, las cuales se escriben en función de los distintos flujos anteriormente descritos.

$$\frac{dCds^n}{dt} = \frac{1}{\lambda_{ds}} \left(J_{efflux}^n + J_{dhpr}^n + J_{ryr}^n \right) \quad (24)$$

$$\frac{dCjsr^n}{dt} = \frac{1}{\lambda_{jsr}} \left(J_{refill}^n - J_{ryr}^n \right) \quad (25)$$

$$\frac{dCnsr}{dt} = \frac{1}{\lambda_{nsr}} \left(J_{serca} + J_{refill}^T + J_{leak} \right) \quad (26)$$

$$\frac{dCmyo}{dt} = J_{leak} + J_{efflux}^T - J_{ncx} - J_{serca} + J_{in}. \quad (27)$$

Donde $1 \leq n \leq N$. Además, N corresponde al número total de espacios diádicos y al número total de uniones del RS. Cabe aclarar que éste modelo considera que la CICR se lleva a cabo a través de N canales DHPR asociados a N CRUs, a través de N espacios diádicos. Además, cada CRU es considerada como un aglomerado de canales de RyR que se encuentran en las uniones del RS. Las características y ecuaciones de los flujos, J , de las ecuaciones 24-27 se describen más adelante. Los parámetros, λ_{nsr} , λ_{ds} , y λ_{jsr} corresponden a los distintos volúmenes efectivos que se escriben en función del volumen del mioplasma V_{myo} y están dados por las siguientes expresiones,

$$\lambda_{nsr} = \frac{V_{nsr} / \beta_{nsr}}{V_{myo} / \beta_{myo}} \quad (28)$$

$$\lambda_{ds} = \frac{1}{N} \left(\frac{V_{ds}^T / \beta_{ds}}{V_{myo} / \beta_{myo}} \right), \quad (29)$$

mientras que, λ_{jsr} , sigue una ecuación del tipo λ_{ds} . Además, β_{myo} es el factor *buffer* del mioplasma; β_{nsr} es el factor *buffer* de la red del RS; β_{ds} es el factor *buffer* del subespacio diádico. Además, V_{myo} y V_{nsr} corresponden a los volúmenes del mioplasma y de la red del RS, correspondientemente. Mientras que el volumen total del espacio diádico está dado como:

$V_{ds}^T = NV_{ds}$, con N el número total de espacios diádicos considerados. Los flujos correspondientes a las ecuaciones 24-27 (Figura 5.7) siguen las siguientes ecuaciones

$$J_{dhpr}^n = -\frac{A_m}{zF} I_{dhpr}^n \quad (30)$$

donde, $A_m = C_m \beta_{myo} / V_{myo}$, con C_m , el área capacitiva de la membrana. La corriente I_{dhpr}^n , que pasa por cada n -ésimo canal DHPR, está dada como:

$$I_{dhpr}^n = \gamma_{dhpr}^n \frac{P_{dhpr}^T}{N} \left(\frac{zFV}{V_\theta} \right) \left(\frac{C_{ds}^n e^{V/V_\theta} - C_{ext}}{e^{V/V_\theta} - 1} \right) \quad (31)$$

con $V_\theta = RT / zF$. El parámetro P_{dhpr}^T corresponde a la permeabilidad total de los canales de Ca^{2+} tipo-L y γ_{dhpr}^n es una variable aleatoria que solo puede tomar valores de cero, si el canal DHPR está cerrado o de 1 si el canal está abierto. El superíndice n , de la variable γ , corresponde al n -ésimo canal DHPR. De manera similar, en la ecuación para J_{ryr} , la variable γ_{ryr}^n , toma valores de 0 ó 1, los cuales se obtienen de manera aleatoria, a través de un proceso Monte Carlo. Además, z es la carga del ión correspondiente a la corriente, F es la constante de Faraday y V es el voltaje de membrana. Otros flujos que están escritos en términos de n , son los siguientes:

$$J_{ryr}^n = \gamma_{ryr}^n \frac{v_{ryr}^T}{N} (C_{jsr}^n - C_{ds}^n) \quad (32)$$

$$J_{efflux}^n = \frac{v_{efflux}^T}{N} (C_{ds}^n - C_{myo}) \quad (33)$$

$$J_{refill}^n = \frac{v_{refill}^T}{N} (C_{nsr} - C_{jsr}^n), \quad (34)$$

donde la ecuación (32) corresponde al flujo J_{ryr}^n , que pasa por cada n -ésimo CRU; (33) es flujo asociado al calcio C_{ds}^n en cada n -ésimo espacio diádico y (34) es el flujo J_{refill}^n , asociado a cada n -ésima unión del RS. Además, v_{ryr}^T , es la constante de liberación total de calcio de un *cluster* de RyR; v_{efflux}^T , es la constante de eflujo en el espacio diádico; mientras que, v_{refill}^T , es la constante de llenado de la unión del RS. Los flujos que no dependen de n , se obtienen de las siguientes ecuaciones:

$$J_{ncx} = -\frac{A_m}{F} I_{ncx} \quad (35)$$

$$I_{ncx} = I_{ncx}^0 \frac{[Na^+]_{myo}^3 C_{ext} e^{\eta_{ncx} FV/RT} - [Na^+]_{ext}^3 C_{myo} e^{(\eta_{ncx}-1)FV/RT}}{\left(K_{ncx,n}^3 + [Na^+]_{ext}^3\right) \left(K_{ncx,c} + C_{ext}\right) \left(1 + k_{ncx}^{sat} e^{(\eta_{ncx}-1)FV/RT}\right)} \quad (36)$$

$$J_{serca} = v_{serca} \frac{\left(\frac{C_{myo}}{K_{fs}}\right)^{\eta_{fs}} - \left(\frac{C_{nsr}}{K_{rs}}\right)^{\eta_{rs}}}{1 + \left(\frac{C_{myo}}{K_{fs}}\right)^{\eta_{fs}} + \left(\frac{C_{nsr}}{K_{rs}}\right)^{\eta_{rs}}} \quad (37)$$

$$J_{leak} = v_{leak} (C_{nsr} - C_{myo}) \quad (38)$$

$$J_{in} = -\frac{A_m}{zF} I_{in} \quad (39)$$

con I_{in} dado por la siguiente expresión

$$I_{in} = g_{in} (V - E_{Ca}) \quad (40)$$

$$E_{Ca} = (RT/2F) \ln(C_{ext}/C_{myo}). \quad (41)$$

En las ecuaciones 36-41, Na_{myo} y Na_{ext} son las concentraciones de sodio intracelular y extracelular, correspondientemente. Mientras que C_{myo} y C_{ext} son las concentraciones de calcio en el mioplasma y extracelular, correspondientemente. Además, η_{ncx} , es la dependencia en el voltaje del intercambio de Na^+/Ca^{2+} ; $K_{ncx,n}$ y $K_{ncx,c}$ son las constantes de saturación de sodio y de calcio, correspondientemente. Mientras que k_{ncx}^{sat} es un factor de saturación; v_{serca} es la constante máxima de SERCA; K_{fs} es la constante media de saturación hacia delante de SERCA; K_{rs} es la constante media de saturación de reversa y v_{leak} es la tasa de fuga de calcio del RS. Finalmente, η_{fs} y η_{rs} son las constantes de cooperación hacia delante y de reversa.

Los flujos totales J^T_{dhpr} y J^T_{ryr} tienen la forma:

$$J^T_{dhpr} = \sum_{n=1}^N J^n_{dhpr} \quad (42)$$

$$J^T_{ryr} = \sum_{n=1}^N J^n_{ryr} \quad (43)$$

El promedio de la concentración de Ca^{2+} en el espacio diádico se obtiene como sigue:

$$C^{avg}_{ds} = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N C^n_{ds} \quad (44)$$

Los valores de los parámetros de éstas ecuaciones se pueden hallar en la literatura. [279] Las variables γ , que se encuentra en las ecuaciones de la corriente I^n_{dhpr} (31) y del flujo J^n_{ryr} (32), se obtienen a través de una integración Monte Carlo y se obtiene un valor diferente para cada n -ésima variable. Se tienen dos probabilidades de cambio, una que indica la probabilidad de que el canal DHPR cambie de estado (de abierto a cerrado o *vice versa*). De manera similar, para cada CRU se tienen dos probabilidades de cambio. Estas probabilidades de cambio de estado están dadas por las siguientes ecuaciones:

$$P^n_{dhpr} = \gamma^n_{dhpr} * dt * k^-_{dhpr} + (1-\gamma^n_{dhpr}) * dt * k^+_{dhpr}, \quad (45)$$

$$P^n_{ryr} = \gamma^n_{ryr} * dt * k^-_{ryr} + (1-\gamma^n_{ryr}) * dt * k^+_{ryr}, \quad (46)$$

La ecuación (45) es la probabilidad de cambio del n -ésimo canal DHPR, en donde γ es una variable aleatoria que puede tomar valores de 1 ó 0, que se calcula n veces para cada P^n_{dhpr} . De manera similar (46) es la probabilidad de cambio de la n -ésima CRU, en donde γ puede tomar valores de 1 ó 0 y se calcula N veces. Las variables γ^n_{dphr} , se obtienen a partir de un método de integración tipo Monte Carlo, que es un método numérico que utiliza números pseudoaleatorios. En nuestro caso, generamos un número aleatorio que puede tomar valores entre 0 y 1, utilizando una función de MatLab7.0 que permite generar números pseudoaleatorios. Si el número así obtenido es mayor que la probabilidad de cambio en (45), entonces, γ^n_{dphr} toma un valor igual a cero. Además, si el número aleatorio es menor que (45), entonces, γ^n_{dphr} , toma un valor igual a 1. Para cada tiempo de integración, t , se calculan N , variables γ , donde $N = 10\ 000$, que representa

el número de CRUs funcionales observadas en miocitos cardiacos. [280] De manera similar, obtuvimos los valores de $\gamma^{n_{ryr}}$, en (46). Cabe mencionar que para calcular por primera vez las probabilidades (45) y (46) se fijan los valores de $\gamma^{n_{dhpr}}$ y de $\gamma^{n_{ryr}}$ a 1. A partir de la segunda vez que se calculan éstas probabilidades y las γ , se utilizan los números aleatorios mencionados. A partir de estas variables γ y de condiciones iniciales dadas para las concentraciones, [279] se integran las ecuaciones (24) - (27) con el método de integración de Euler, utilizando MatLab7.0. A partir de ésta integración, se obtienen las corrientes I_{dhpr} y I_{ncx} , dadas por las ecuaciones (31) y (36) las cuales se usan para calcular el PA, a través de la ecuación convencional para el voltaje de membrana:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{I_{ion} + I_{stim}}{C_m}, \quad (47)$$

donde la suma de corrientes se expresa como:

$$I_{ion} = I_{Na} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{K1} + I_{NCX} + I_{NaK} + I_{pCa} + I_{pK} + I_{bNa} + I_{bCa} + I_{Ca_avg} + I_{to} + I_{stim}, \quad (48)$$

donde el resto de las ecuaciones de las corrientes corresponden al modelo de PA de ventrículo humano, descrito en la sección 1.3.3. A partir del nuevo modelo de PA de miocito ventricular así obtenido, se calculó un PA con características de PA de ventrículo humano.

Simulación de alternancias de calcio y alternancias en la duración del potencial de acción

Algunas de las consecuencias de la estimulación beta-adrenérgica son el incremento de la frecuencia cardiaca, de la concentración de Ca^{2+} intracelular y de la probabilidad de apertura del canal RyR, entre otras. Además, el incremento de la velocidad de estimulación por arriba de un valor crítico, provoca que el PA experimente oscilaciones en su duración, lo que se conoce como alternación de la DPA, que se ha relacionado con la ocurrencia de arritmias cardiacas en diversas cardiopatías. En algunas ocasiones, éstas alternancias en la DPA están dirigidos por alternancias en el calcio intracelular.

Nosotros esperamos simular éstos fenómenos a partir de un valor crítico del periodo de estimulación y esperamos que éste umbral cambie en condiciones del SAT. Asimismo, el modelo contiene una dinámica de calcio suficientemente detallada como para reproducir la posible ocurrencia de post-despolarizaciones en condiciones de SAT. Con éste propósito y a partir del modelo desarrollado calculamos el PA y el calcio intracelular a diferentes periodos de estimulación. Para ello utilizamos un protocolo de estimulación tipo *steady state* variando los periodos de estimulación (PEs) en un proceso continuo, desde 1000 ms hasta 240 ms en intervalos decrecientes de 20 ms. Posteriormente, se realizó el mismo procedimiento, estimulando con un PE desde 400 ms hasta 100 ms, en decrementos de 5 ms. Además, registramos los cambios en el calcio del espacio diádico, ya que observamos que la concentración de Ca^{2+} en éste espacio es la más afectada por cambios en la dinámica de CICR en éste modelo. Asimismo, registramos los cambios en la DPA, que graficamos con respecto al periodo de estimulación, con lo que obtuvimos curvas de bifurcación. A partir de éstas curvas, determinamos si la DPA alterna, en qué periodo de estimulación comienzan éstas alternancias y el rango máximo de variación de las mismas. Estas características de las oscilaciones de la DPA varían de especie en especie y entre los distintos tipos de miocitos cardiacos. Se ha observado que en miocitos humanos, el rango de alternancia de la DPA, así como el periodo de estimulación en el que comienzan a ocurrir, difiere entre pacientes con enfermedad cardiaca estructural de aquellos sin ésta enfermedad. [159] Estos datos clínicos se utilizaron para comparar los resultados que obtuvimos a partir de nuestras simulaciones, con el propósito de validar el modelo desarrollado.

Simulación del potencial de acción en condiciones electrofisiológicas del SAT

A partir de estimulación rápida, obtuvimos alternancias en la DPA y en el calcio intracelular. Una vez que determinamos el periodo de estimulación al que comenzaron dichas alternancias y su magnitud, introdujimos las condiciones electrofisiológicas adyacentes al SAT. El PA de miocitos con SAT se simuló con la reducción de la corriente I_{KI} y de la concentración de potasio extracelular, $[\text{K}^+]_o$. Para ello, redujimos la conductancia asociada a la corriente de potasio, G_{KI} y la $[\text{K}^+]_o$ en decrementos del 10%, desde un 100% hasta un 10%, cambiando simultáneamente ambas variables y también cambiando una variable a la vez. A partir de éstas

nuevas simulaciones se registraron los cambios observados en el PA y en el calcio diádico y se determinaron los procesos electrofisiológicos adyacentes a éstos cambios.

Análisis del origen de las alternancias en el potencial de acción

En algunos casos, las alternancias en la DPA, relacionadas con arritmias cardiacas, se originan a partir de alternancias en el calcio transitorio (cambios en el Ca^{2+} citosólico debido a la CICR). Entonces, para elucidar el origen de las alternancias en la DPA obtenidas durante estimulación rápida, realizamos nuevas simulaciones. Esta vez utilizamos únicamente el modelo de la CICR sin acoplarlo al de PA, pero considerando los cambios antes descritos, en la constante de inactivación y de activación de la corriente I_{CaL} . A partir de éste modelo, simulamos la CICR con un potencial de membrana constante de 20 mV. Los cambios en el Ca^{2+} diádico se registraron y se determinó la viabilidad del modelo para inducir alternancias de la DPA en un modelo de PA.

5.2.3 Resultados

Potencial de acción de una célula sana

En condiciones dadas para una célula sana, se simuló el PA, estimulando con una frecuencia de 1 Hz. En el modelo de PA, los parámetros correspondientes a la CICR provienen de datos obtenidos de experimentos realizados en mamíferos pequeños como cobayo, mientras que el resto de las corrientes están descritas en términos de parámetros de miocitos ventriculares humanos. Dada esta diferencia en la naturaleza de los parámetros, los resultados obtenidos son más importantes por las dinámicas generadas, que por las magnitudes de las corrientes y concentraciones obtenidas.

El PA de acción obtenido del nuevo modelo tuvo una duración de 280 ms y presentó una morfología similar a la de células ventriculares humanas tipo epi, con un pico de despolarización pronunciado y una subsecuente repolarización rápida. La corriente I_{K1} , el promedio de la corriente I_{CaL} y el promedio de la concentración del Ca^{2+} diádico, $C_{\text{ds_avg}}$, se muestran en la

Figura 5.8. El promedio de las corrientes I_{CaL} y de la concentración de Ca^{2+} diádico son menores a las observadas en células humanas.

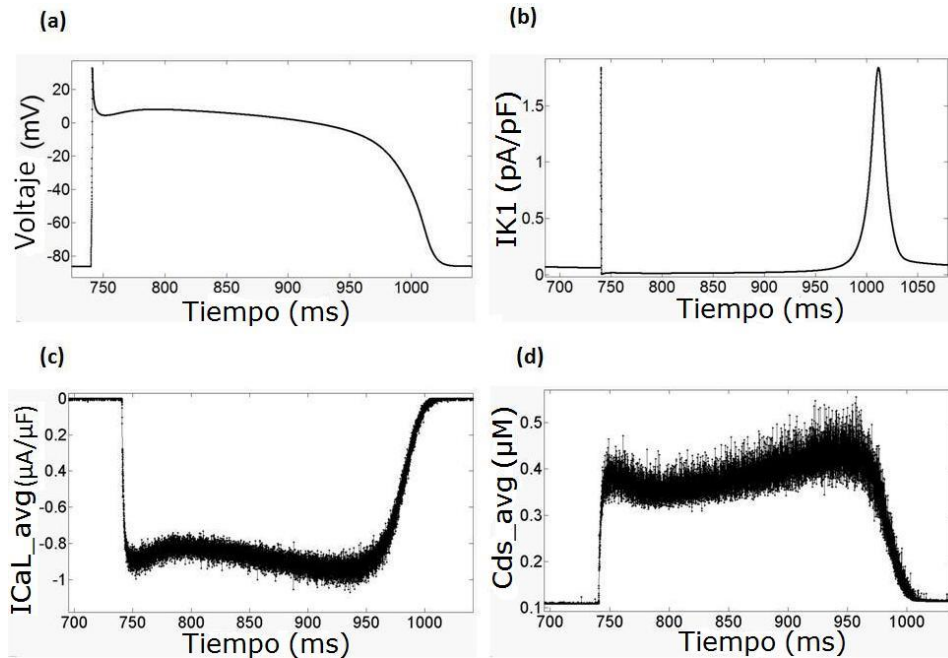


Figura 5.8. Potencial de acción y algunas de las principales corrientes y concentraciones que lo generan, correspondientes a una célula sana estimulada con un periodo de estimulación de 1s. (a) PA del miocito ventricular; (b) la corriente rectificadora entrante de potasio, I_{K1} ; (c) el promedio de la corriente I_{CaL} ; (d) el promedio de la concentración de calcio en el espacio diádico C_{ds_avg} .

Alternancias de calcio y en el potencial de acción

A partir de simulaciones realizadas con el modelo de PA desarrollado, registramos el PA y el calcio diádico obtenidos en condiciones de célula sana, con un protocolo de estimulación tipo *steady state* aplicado a distintos PE, desde 1000 ms hasta 250 ms de manera continua, (Figura 5.9). En ésta figura se muestra las alternancias de calcio y de la DPA obtenidas a un periodo de estimulación de 300 ms. Las alternancias en la DPA y el calcio diádico comenzaron a un PE de 320 ms y se observaron hasta un PE de 260 ms.

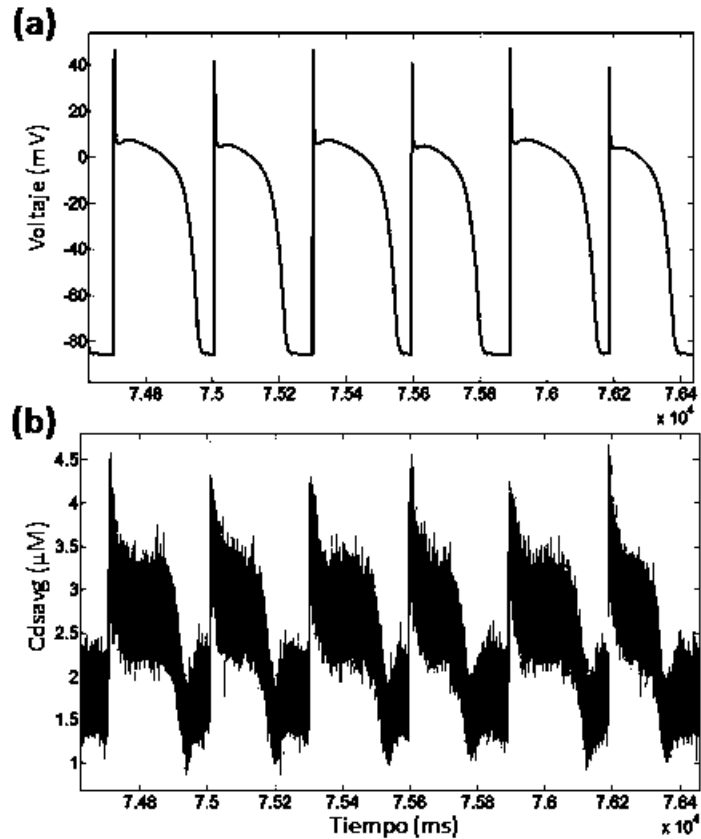


Figura 5.9. PA obtenido en condiciones de célula sana con estimulación rápida. (a) El PA alternando a un periodo de estimulación rápida de 300 ms; (b) el promedio de la concentración de Ca^{2+} diádico a un periodo de estimulación de 300 ms.

Potencial de acción y calcio diádico en condiciones del SAT

Utilizando el modelo de PA desarrollado, se obtuvo el PA, el promedio de Ca^{2+} diádico, así como la corriente I_{K1} y el promedio de la corriente I_{CaL} , obtenidas a un periodo de estimulación de 1 s en condiciones de SAT (Figura 5.10). El PA se hiperpolarizó, alcanzando un valor mínimo de - 98 mV. En la Figura 5.10 (a), se observan despolarizaciones no estimuladas (NE), alternando entre PAs, que comenzaron con una despolarización de pendiente lenta interrumpida por una estimulación externa aplicada. Las despolarizaciones con pendiente lenta NE, son seguidas por una reactivación anómala de la corriente I_{CaL} , Figura 5.10 (c). Asimismo, se observa que la dinámica del Ca^{2+} diádico, C_{ds_avg} , está dirigida por las despolarizaciones rápidas, Figura 5.10 (d). Finalmente, podemos ver que la inactivación de I_{K1} en la fase 0 y en la fase 4 del PA ocurre con una pendiente lenta (flecha verde), que ocasiona una despolarización con

pendiente lenta. A partir de ésta despolarización lenta, las despolarizaciones NE logran propagarse a partir de un valor umbral en el que se reactiva I_{CaL} .

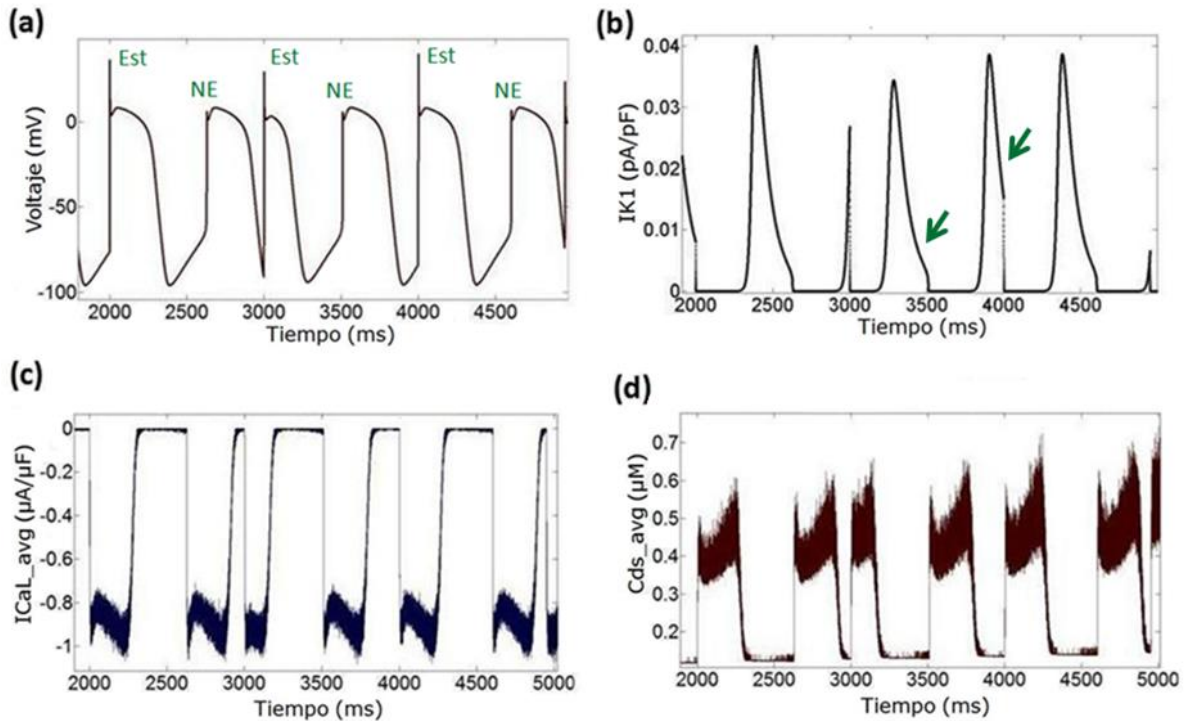


Figura 5.10. Potencial de acción y algunas de las principales corrientes y concentraciones que lo generan, para el caso de una célula con SAT. (a) Despolarizaciones no estimuladas (NE) alternando entre PA propagados sobre todo por el estímulo externo aplicado (Est), debido a una reducción en la corriente I_{K1} y a la reducción del potasio extracelular, $[K^+]_o$ a un 10% de sus magnitudes originales. (b) La corriente I_{K1} reducida a un 10% de su magnitud original, presenta pendientes de desactivación lentas (flechas en verde). (c) El promedio de la corriente I_{CaL} . (d) Promedio del Ca^{2+} diádico, el cual está alternando entre el Ca^{2+} inducido por CICR y el Ca^{2+} inducido por despolarizaciones NE.

Bifurcación en la duración del potencial de acción en condiciones de estimulación rápida

Las alternancias en la DPA obtenidas en condiciones de un cardiomiocito sano y de estimulación rápida, se graficaron en función del PE, como se muestra en la Figura 5.11. Estas oscilaciones en la DPA mostraron una bifurcación a partir del PE = 300 ms, que continuó hasta un PE = 260 ms.

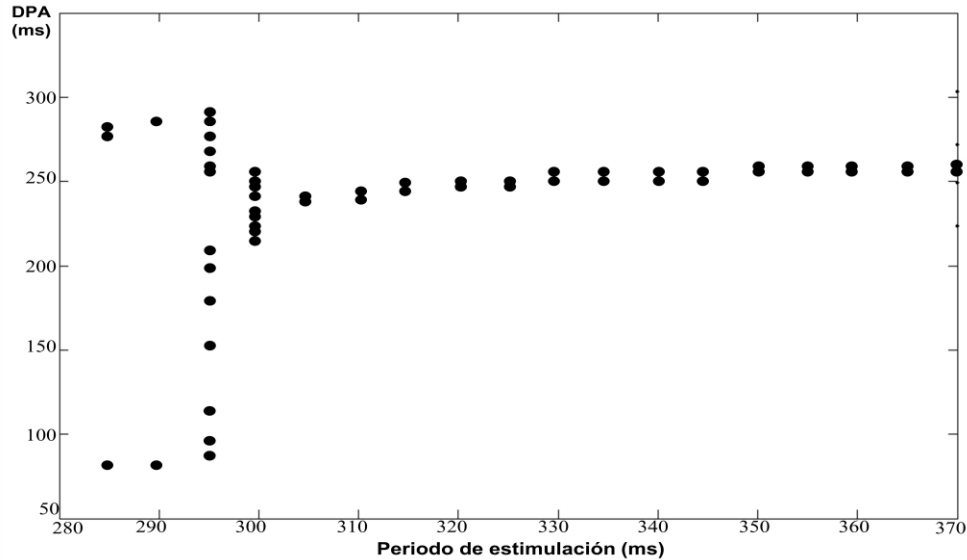


Figura 5.11. Valores de la DPA alternando a diferentes periodos de estimulación, para un cardiomiocito sano. La estimulación se realizó con un protocolo tipo *steady state* en decrementos de 5 ms.

5.2.4 Discusión

Potencial de acción en condiciones de una célula sana

Acoplando el modelo de la CICR con el de PA de miocitos humanos, logramos reproducir un PA con una duración y morfología semejantes a las de un PA de ventrículo humano (ver Figura 5.8). Para ello fue crucial modificar la integración Monte Carlo, de manera que considerara la inactivación dependiente de voltaje y de calcio de la corriente I_{CaL} . Es interesante notar que, a pesar de que la corriente I_{CaL} no presenta la magnitud de la corriente I_{CaL} observada en miocitos de humanos, sigue siendo la corriente principal que sustenta el *plateau* del PA en éste modelo.

Bifurcacion en la duración del potencial de acción

Para el caso del PA simulado para una célula sana con estimulación rápida, obtuvimos alternancias en la DPA, las cuales graficamos como función del PE, (Figura 5.11). Además, comparamos dichas alternancias con aquellas reportadas en la literatura para un paciente, quien fue parte del grupo control de dicho estudio, [159] ver Figura 5.12 (a). En éste caso, las alternancias comenzaron a una frecuencia de estimulación de 160 bpm, lo cual corresponde

aproximadamente a un periodo de estimulación de 375 ms, mientras que las alternancias obtenidas con nuestro modelo comenzaron a 300 ms. Además, la máxima diferencia entre las alternancias de dicho paciente es de 20 ms, mientras que la máxima diferencia obtenida con el modelo es de 200 ms, ver Figura 5.12.

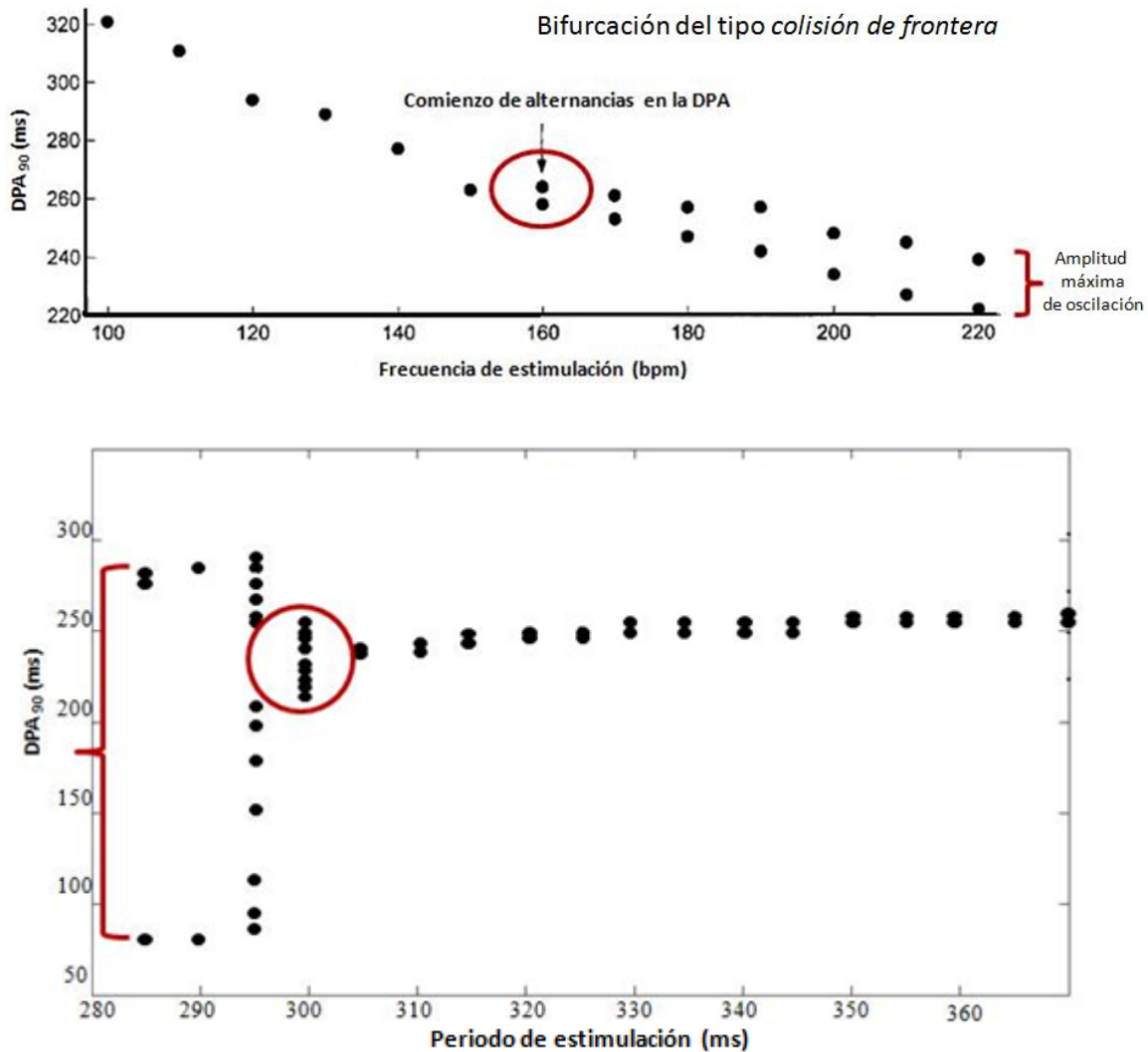


Figura 5.12. Panel superior: Bifurcación de la DPA₉₅ correspondiente a datos un paciente; [159] Panel inferior: Bifurcación del DPA₉₀ hallada con el modelo desarrollado, para el caso de un cardiomiocito sano con estimulación rápida.

Algunos autores han propuesto que las alternancias en la DPA surgen de bifurcaciones de periodo doble clásicas, [281-285] mientras que otros han propuesto que dichas alternancias se generan como bifurcaciones de periodo doble tipo *colisión de frontera*. [286-288] Las

alternancias en la DPA a nivel celular pueden dar lugar a inestabilidades eléctricas a nivel del miocardio completo, lo que puede provocar arritmias fatales. Es por ello que entender el mecanismo a través del cual ocurren las alternancias, podría ser de utilidad para modelar inestabilidades eléctricas en tejido cardíaco (2-dimensiones). [289] Además, ya se ha modelado la supresión de alternancias cardíacas debido a la supresión de bifurcaciones tipo *colisión de frontera*. [290] En la figura 5.13 (a) se ilustra una bifurcación clásica con periodo doble, en donde se aprecia que las ramas de la bifurcación son tangentes. [282] En la misma figura en el inciso (b), se esquematiza una bifurcación del tipo *colisión de frontera*, donde se observa que las ramas no son tangentes entre sí. [286]

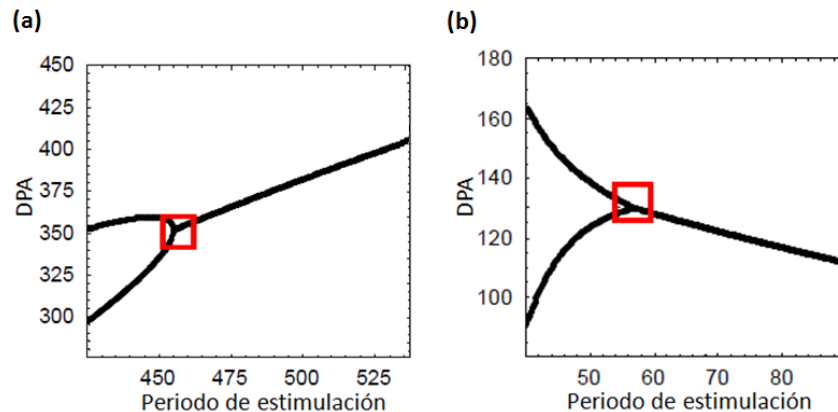


Figura 5.13 (a) Bifurcación clásica de periodo doble; [282] (b) Bifurcación tipo *colisión de frontera*. [286]

A partir de las Figura 5.12 y 5.13, podemos observar que la bifurcación obtenida con nuestro modelo se abre de manera abrupta, lo que sugiere que se trata de una bifurcación tipo *trinchete*, (Figura 5.14). Este último tipo de bifurcación se caracteriza por pasar de un punto estable a uno inestable y por la aparición simultánea de dos puntos estables como se ilustra en la Figura 5.14 (b). [6,300] Entonces, es deseable modificar el tipo de bifurcación de la DPA obtenida a partir del modelo desarrollado, para obtener una bifurcación de periodo doble.

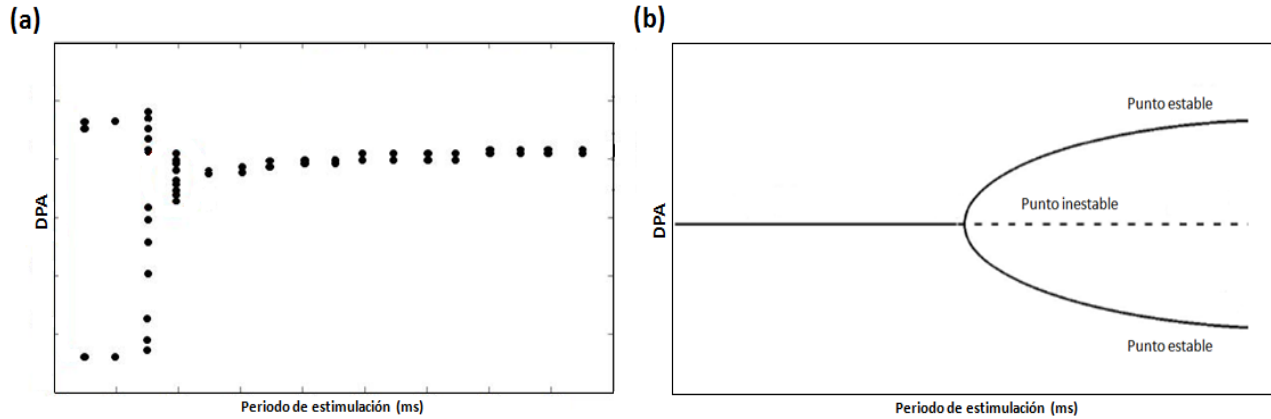


Figura 5.14 (a) Bifurcación obtenida del modelo, el punto inestable no es visible; (b) esquema de una bifurcación tipo *trinchete*. Modificado de [300]

Determinación del origen de las alternancias del potencial de acción

Con el propósito de determinar el significado y el origen de las alternancias en la DPA obtenidas, revisamos la literatura y propusimos nuevas simulaciones para verificar la naturaleza de éstas. En experimentos realizados en ventrículos de conejo se demostró que las alternancias de éstas. En experimentos realizados en ventrículos de conejo se demostró que las alternancias en el PA que dan lugar a arritmias cardiacas son aquellas generadas por alternancias en el calcio transitorio. La Figura 5.15 (a) muestra los resultados de dichos experimentos, en los cuales se observó la alternancia simultánea del calcio transitorio y de la DPA, en un experimento donde el voltaje se dejó transcurrir libremente. Además, se observaron alternancias del calcio transitorio a partir de un experimento en el que el voltaje se fijó usando un PA en forma de una onda periódica, ver Figura 5.15 (b). [102,131]

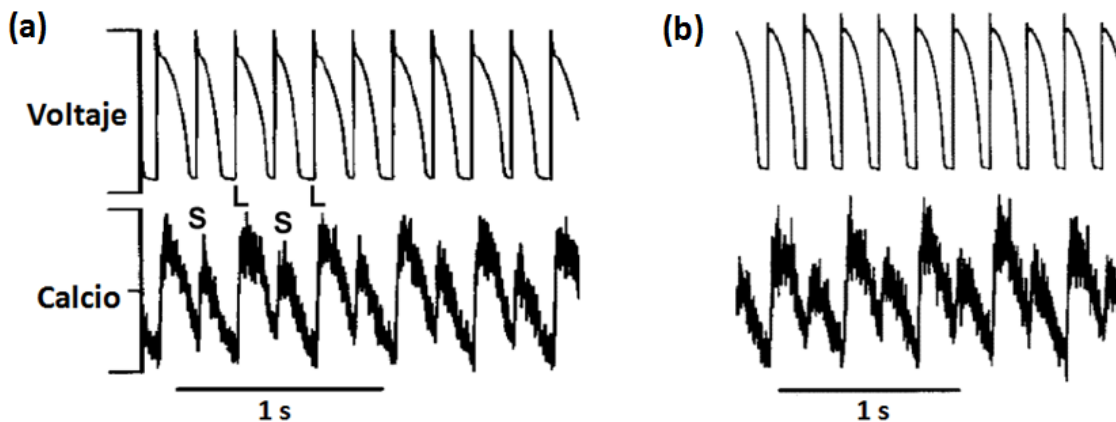


Figura 5.15. Potenciales de acción y concentración de calcio transitorio medidos en un experimento en células ventriculares de conejo. (a) Alternancias en la DPA y en el calcio transitorio medidas en un experimento en el que se dejó transcurrir el voltaje libremente; (b) alternancias en el calcio transitorio en un experimento donde se fijó el voltaje. [102] S = *short*; L = *long*.

Los resultados indicados en la Figura 5.15 muestran que la ocurrencia de alternancias en el calcio es independiente de las alternancias en el potencial de membrana. A pesar de que las oscilaciones del PA y del calcio son fenómeno acoplados bidireccionalmente, aparentemente hay una dirección privilegiada que da lugar a arritmias cardiacas. Además, dicho acoplamiento varía de especie a especie y entre los distintos tipos de miocitos cardiacos. Entonces, para determinar si las alternancias eléctricas (en la DPA) obtenidas a partir nuestro modelo fueron causadas por alternancias en el calcio diastólico, realizamos nuevas simulaciones. Utilizando el modelo de CICR sin acoplar con el modelo de PA, se realizaron dos simulaciones en las que se aplicó un protocolo de estimulación tipo *steady state* y se estimuló de manera continua a distintos PE de 300, 200, 100 75 y 50 ms. Cada simulación se realizó a voltaje constante de 10 mV y de 20 mV correspondientemente. Como resultado de éstas simulaciones, no se observaron variaciones importantes en el promedio del calcio diádico. La Figura 5.16 muestra la dinámica del promedio del calcio diádico, Cds_avg , obtenida a 20 mV, en la que no se observan alternancias de calcio.

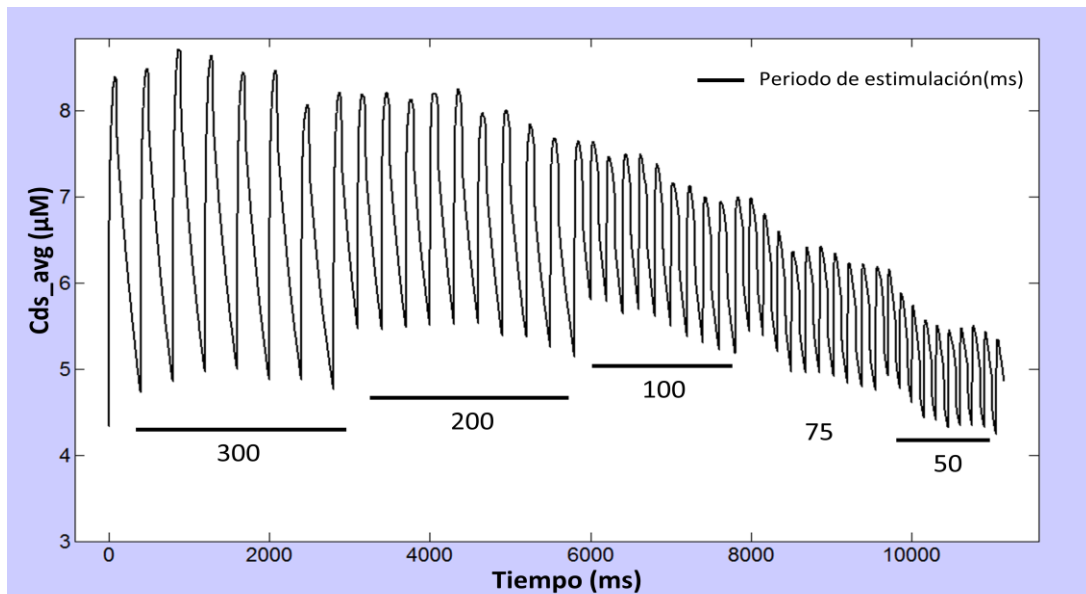


Figura 5.16. Promedio del Ca^{2+} diádico, Cds_avg , obtenido de la estimulación continua a distintos PE de 300, 200, 100, 75 y 50 ms. Simulación realizada a partir del modelo original de CICR planteado en la sección 5.1.2, con un pulso cuadrado de estimulación de 20 mV.

A partir del modelo de PA mostrado en la sección 5.1, en el cual no se habían considerado detalles de la CICR, no obtuvimos alternancias en la DPA ni alternancias de Ca^{2+} , ni en condiciones de estimulación rápida ni en condiciones del SAT. Adicionalmente, a partir del

nuevo modelo de PA desarrollado, considerando un cardiomiocito sano, obtuvimos alternancias en la DPA y en el calcio diádico en condiciones de estimulación rápida. Por otra parte, a partir de las simulaciones únicamente de la CICR a voltaje constante, durante estimulación rápida, no se registraron alteraciones en la dinámica de calcio. Estos resultados sugieren que, para la obtención de alternancias en la DPA y en el calcio, fue crucial modificar el modelo plataforma del PA e incluir la CICR con una aproximación Monte Carlo, así como la desactivación dependiente de voltaje y de calcio de la corriente I_{CaL} . Aparentemente, las alternancias de calcio no ocurrieron de manera independiente al voltaje de membrana en nuestro modelo. Sin embargo, las alternancias en la DPA presentan una dependencia bidireccional con aquellas observadas en el calcio diádico, de manera que podrían ser un sustrato importante en la simulación de arritmogénesis.

Potencial de acción en condiciones del Síndrome de Andersen-Tawil

En la Figura 5.10 podemos observar el PA, la corriente I_{K1} , el promedio de la corriente I_{CaL} y el promedio del calcio diádico derivados de la simulación de SAT a un periodo de estimulación de 1 s. Además, observamos la alternancia de PAs que se propagan sobretodo por estimulación eléctrica con despolarizaciones no estimuladas (NE). Estas despolarizaciones se inician como despolarizaciones con una pendiente lenta, que alcanza un valor umbral por encima del cual se propagan, propiciando la reactivación de I_{CaL} y por lo tanto del calcio diádico. Esta despolarización lenta está relacionada con una reactivación anómala de la corriente I_{K1} .

En condiciones electrofisiológicas, el canal entrante rectificador de K^+ deja salir iones de K^+ de la célula a valores de voltaje muy cercanos a los del voltaje en reposo, lo que favorece la repolarización en la fase 3 del PA, hasta que éste alcance su potencial de reposo. Sin embargo, a valores muy negativos, que no son electrofisiológicamente viables, se favorece la entrada de K^+ . Además, existe un valor de la conductancia G_{K1} asociada a la corriente I_{K1} , alrededor del cual cambia la dirección del flujo de K^+ . El valor de G_{K1} al cual ocurre éste cambio depende de la concentración de potasio extracelular. [292] Además, en nuestro caso, la reducción de la concentración $[K^+]_o$ hiperpolarizó el potencial de membrana a valores de -98 mV. Durante ésta hiperpolarización, la desactivación de la corriente I_{K1} se volvió más lenta, ver Figura 5.10 (b), lo que indujo una despolarización lenta del potencial de membrana en ausencia de estimulación

eléctrica. Esta despolarización alcanzó un valor umbral a partir del cual se activó la corriente I_{CaL} , que estuvo asociada con el incremento en el promedio del calcio diádico. La reducción de la concentración $[K^+]_o$ alteró la corriente I_{KI} , no solo por el cambio en E_k , sino también por el cambio en la conductancia G_{KI} , que es función de $[K^+]_o$. De acuerdo a la dinámica que presenta la corriente I_{KI} en la Figura 5.10, las alteraciones en I_{KI} por la reducción de $[K^+]_o$ están relacionadas con la hiperpolarización y la despolarización lenta del PA.

Por otra parte, comparamos los resultados de las simulaciones realizadas en condiciones de SAT con resultados reportados en la literatura, obtenidos de un modelo experimental de SAT. [260] En éstos experimentos, se observó la alternancia de PA-E con DADs. Los PA-E fueron inducidos por estimulación eléctrica de un foco externo y estuvieron asociados a un incremento en el calcio transitorio debido a la CICR, ver Figura 1.21 (sección 1.5 de antecedentes). Además, los DADs estuvieron asociados a la liberación de calcio espontáneo. Por otra parte, a partir de nuestras simulaciones de SAT, en las que estimulamos a un $PE = 1$ s, obtuvimos PA-E que lograron propagarse por el pulso aplicado alternando con despolarizaciones no estimuladas, como se muestra en la Figura 5.17. En ésta figura podemos observar que tanto los PA-E como las despolarizaciones NE comienzan con una pendiente de despolarización lenta, lo que sugiere un comportamiento auto-oscilatorio por reducción de la corriente I_{KI} . En el caso de los PA-E, la despolarización lenta se interrumpe por el estímulo aplicado, lo que aparentemente da lugar a un PA-E, mientras que en ausencia de estimulación, la despolarización lenta es seguida por la re-activación de la corriente I_{CaL} y el subsecuente incremento en el calcio diastólico, dando lugar a la propagación de despolarizaciones NE. Entonces, lo que obtuvimos en éste caso fue un comportamiento auto-oscilatorio del PA, el cual es interrumpido por la estimulación externa aplicada.

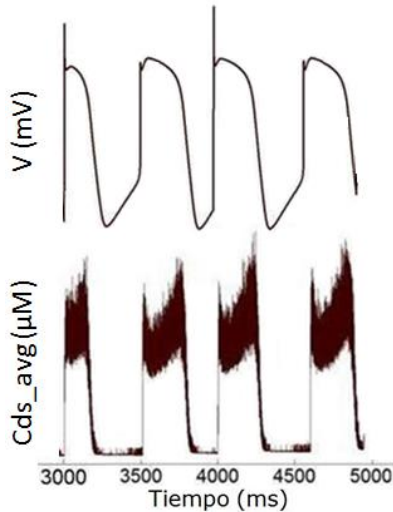


Figura 5.17. Potencial de acción y el promedio de calcio en el espacio diádico, obtenidos en condiciones de SAT con periodo de estimulación de 1 s.

5.2.5 Conclusiones y Perspectivas

El modelo de PA desarrollado tiene algunas características deseables en un modelo con el cual se quisiera reproducir alternancias de calcio y las consecuentes alternancias en la DPA en condiciones del SAT. Estas características están relacionadas con los siguientes fenómenos electrofisiológicos que se consideraron en el modelo desarrollado: (i) la inactivación dependiente de voltaje y de calcio, del canal de calcio tipo-L; (ii) los canales de DHPR y de RyR son sensibles principalmente a concentraciones locales de calcio, más que al calcio total intracelular; (iii) la CICR es un proceso gradual dirigido por el promedio del influjo de calcio.

Por otra parte, el modelo desarrollado produce alternancias de calcio y alternancias en la duración del PA en condiciones de estimulación rápida, mientras que en condiciones del SAT predomina un comportamiento auto-oscilatorio del PA. Además, no se registró la ocurrencia de post-despolarizaciones de ningún tipo.

Creemos que en condiciones del SAT es posible la ocurrencia de post-despolarizaciones tardías (DADs), así como de alternancias en la DPA y en el calcio intracelular. La ocurrencia de DADs ha sido reportada en la literatura a partir de datos clínicos y de modelos experimentales del SAT. Asimismo, existe evidencia experimental de la elevación y de alternancias del Ca^{2+} intracelular en condiciones del SAT. Sin embargo, no hay evidencia experimental de alternancias

en la DPA en éste síndrome. En otras cardiopatías, dichas alternancias son una consecuencia natural de aquellas en el calcio citosólico.

El siguiente paso en el modelado del PA en el SAT es modificar la sensibilidad de los parámetros de la CICR para reproducir alternancias de la DPA y de calcio, en condiciones del SAT. Asimismo, es deseable que éstas oscilaciones presenten características similares a las observadas en humanos. Para ello es necesario modificar la sensibilidad de algunos parámetros relacionados con dichos procesos. ¿Qué parámetros y en qué manera deben ser modificados? Para contestar ésta pregunta sugerimos utilizar métodos matemáticos que permiten hacer predicciones sobre el comportamiento de una variable en un modelo, dado el cambio en alguno de sus parámetros. [292] Específicamente, proponemos registrar los cambios en la DPA, en relación al parámetro μ (μ = calcio liberado/calcio capturado por el RS) y en función de los cambios en los parámetros adyacentes al SAT. Adicionalmente, sería útil realizar el mismo análisis de sensibilidad en otro modelo de la CICR que reproduce alternancias de calcio [294] y con base en éstas investigaciones, evaluar la viabilidad de los modelos para reproducir las alteraciones del PA y del calcio intracelular observadas en el SAT.

Por otra parte, los datos provenientes de modelos experimentales permiten comparar y validar las simulaciones computacionales de los modelos matemáticos que describen de manera simplificada los fenómenos electrofisiológicos. Con éste propósito, hemos realizado algunos experimentos en ventrículos de puerco en condiciones de SAT. Los avances de ésta investigación los mostramos en el capítulo 6.

CAPÍTULO 6. Modelo Experimental del Síndrome de Andersen-Tawil

6.1. Introducción

En la sección 1.5 de antecedentes, describimos los resultados reportados en la literatura sobre la ocurrencia de post-despolarizaciones tardías en PA medidos sobre el miocardio de un paciente con SAT. [242] Además, se han reportado post-despolarizaciones y elevaciones de calcio transitorio, [259] así como alternancias de calcio, [260] a partir de modelos experimentales del SAT. El incremento en el calcio transitorio está relacionado con una amplificación del calcio en el RS, lo que puede dar lugar a alternancias de calcio y a las subsecuentes oscilaciones en la DPA. Asimismo, la sobrecarga de calcio en el RS está relacionada con la ocurrencia de post-despolarizaciones. Por otra parte, utilizando el modelo de PA desarrollado en el presente trabajo, observamos alternancias en la DPA por estimulación rápida, así como la ocurrencia de PAs espontáneos en condiciones del SAT (I_{K1} y concentración de K^+ reducidas). A partir de éstos datos, creemos que, además de las post-despolarizaciones, es posible la ocurrencia de alternancias en la DPA en el SAT, las cuales podrían estar dirigidas por oscilaciones en el calcio transitorio.

En la presente sección mostramos los resultados obtenidos a partir de un modelo experimental de SAT en un ventrículo izquierdo de puerco. Estos experimentos se realizaron con el propósito de obtener datos con los cuales se puede verificar las dinámicas del PA observadas a partir del modelo matemático desarrollado. Asimismo, tuvieron como objetivo verificar la ocurrencia de posibles alternancias en la DPA en condiciones de SAT. En éstos experimentos medimos la dinámica del PA durante estimulación rápida. Asimismo, simulamos el SAT añadiendo una disolución de cloruro de cesio (CsCl) a la preparación de estudio para bloquear la corriente I_{K1} . También, simulamos la actividad beta-adrenérgica añadiendo una disolución de isoproterenol. Notablemente, registramos la ocurrencia de alternancias intermitentes en la DPA, cuando se bloqueó I_{K1} , lo cual no hemos encontrado reportado en la literatura. Asimismo, en condiciones de la I_{K1} reducida y de estimulación beta-adrenérgica, observamos alternancias en la DPA. Finalmente, registramos PA espontáneos, como consecuencia de bloquear la corriente I_{K1} , lo que coincide con resultados obtenidos a partir del modelo matemático de PA desarrollado. Los

experimentos realizados fueron parte del trabajo desarrollado durante una estancia en el Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA, bajo la dirección del Dr. F. Fenton.

6.2. Metodología

Optical mapping

En el presente trabajo experimental se midió el PA utilizando la técnica conocida como *optical mapping* (*mapeo óptico*), cuyos principios básicos describimos brevemente a continuación. Esta técnica es usada en electrofisiología cardíaca para el estudio del ritmo normal, así como de arritmias del miocardio [295] y puede ser usada a nivel subcelular, *in vitro*, o en el corazón completo, *in vivo*. A través de ésta técnica es posible medir el PA a diferentes tiempos y en distintos sitios sobre la superficie de la muestra de estudio. En el *optical mapping*, la preparación de estudio se perfunde con un colorante sensible al voltaje y ésta se ilumina utilizando una fuente de luz de longitud de onda apropiada, que corresponde al espectro de absorción del colorante aplicado. [296] El colorante así excitado regresa a su estado basal, emitiendo fotones de longitud de onda mayor a los de la luz aplicada. Estas emisiones fluorescentes son captadas y filtradas por un sistema óptico compuesto por filtros, lentes y espejos. Entonces, dicho sistema concentra la luz filtrada en un fotodetector, el cual cuantifica el promedio de luz fluorescente emitida por cada uno de los múltiples píxeles. Estas emisiones de fotones son proporcionales a los cambios en el voltaje de membrana. Los colorantes utilizados alteran su espectro de emisión en respuesta a cambios en el voltaje transmembranal. Finalmente, la señal registrada se transforma para dar como resultado el potencial de membrana, en tiempo real y en distintos sitios de la preparación. Los detalles de los distintos colorantes utilizados, así como los diferentes detectores utilizados en esta técnica pueden ser hallados en la literatura. [295-299] En las Figuras 6.1 y 6.2, se ilustran los principales componentes del *optical mapping* que utilizamos en éste experimento. En éstas figuras, la fuente de luz corresponde a la luz de excitación y el sistema óptico está constituido por lentes con un filtro de paso alto, el cual solo deja pasar la luz fluorescente emitida por el colorante. Finalmente, en la Figura 6.3 se muestra el registro de los fotones emitidos por el colorante en la preparación. Esta señal (en rojo) corresponde a la señal medida en la zona indicada con un círculo rojo en el ventrículo (en la pantalla).

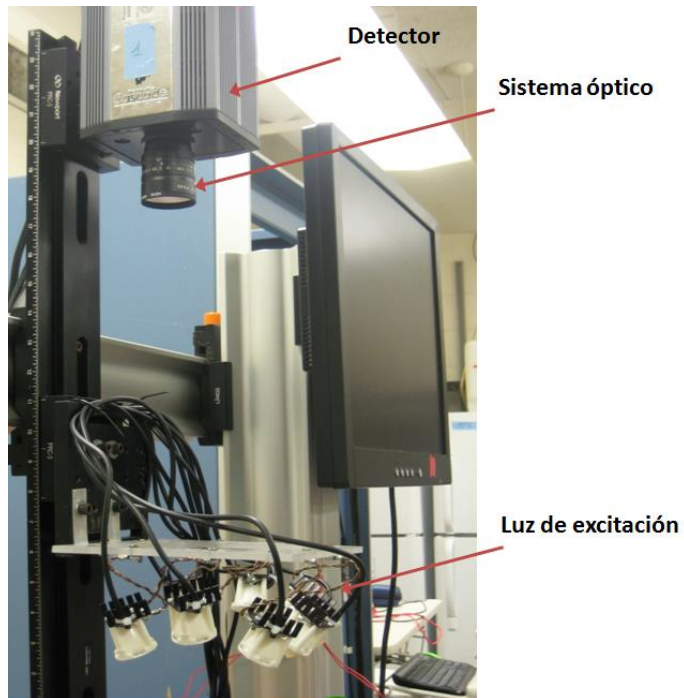


Figura 6.1. Principales componentes del sistema *optical mapping*. La luz de excitación corresponde a la fuente de luz. El sistema óptico está formado por lentes y un filtro de paso alto, el cual deja pasar solo la luz fluorescente emitida por el colorante. Fotografía tomada en el laboratorio del Dr. F. Fenton.

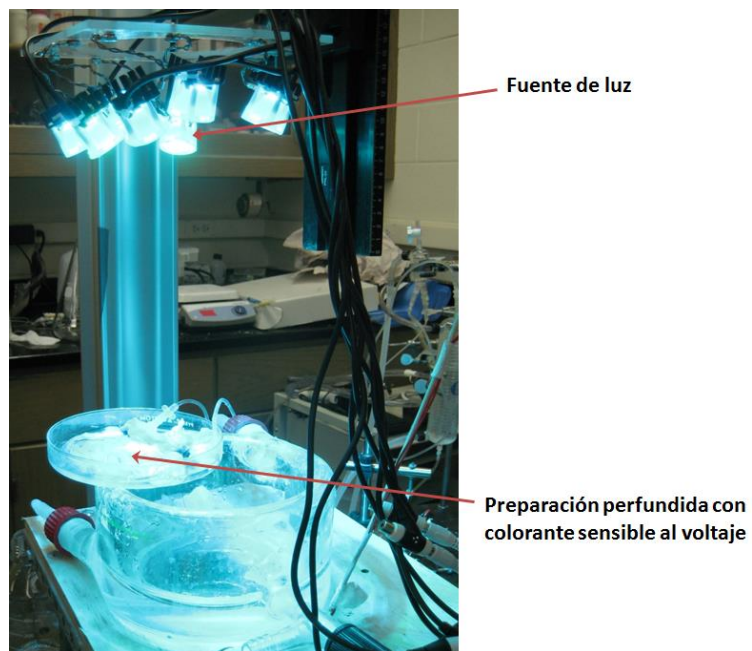


Figura 6.2. Principales componentes del sistema *optical mapping*. La luz blanca se ha apagado para verificar si el ventrículo ha absorbido el colorante sensible al voltaje aplicado. Fotografía tomada en el laboratorio del Dr. F. Fenton.

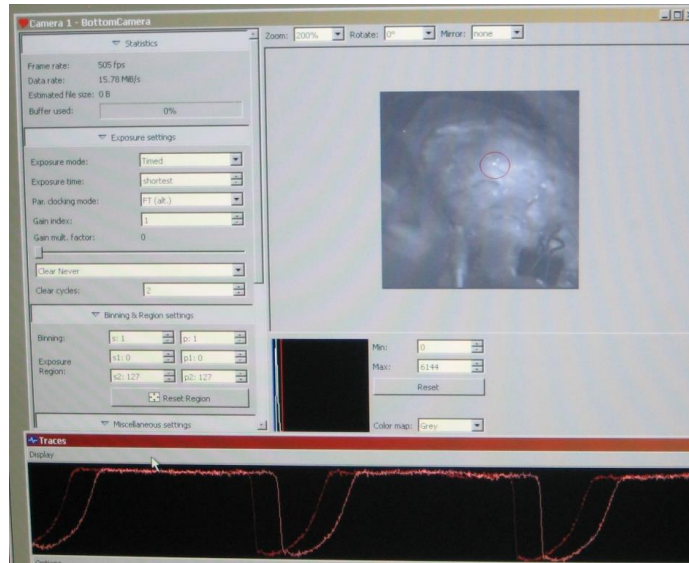


Figura 6.3. Registro de la señal emitida por el colorante sensible al voltaje (en rojo), detectada en la zona indicada con un círculo rojo sobre la imagen del ventrículo. Esta señal es transformada posteriormente para corresponder con la señal del PA.

Preparación del ventrículo

El protocolo seguido para la manipulación de los animales utilizados para el desarrollo del presente trabajo fue aprobado por *Institutional Animal Care and Use Committees, USA*, (<http://www.iacuc.org>). Los estudios se realizaron utilizando corazones obtenidos de puercos adultos. Los puercos fueron anestesiados y utilizados previamente en prácticas medicas. Posteriormente, se les practicó la eutanasia, de acuerdo a las recomendaciones de la *American Veterinary Medical Association (AVMA) Panel on Euthanasia (PDF)* y sus corazones fueron extirpados rápidamente. La arteria coronaria se canuló con tubo de polietileno y el atria izquierda y el ventrículo izquierdo se extirparon y se depositaron en una cámara de tejido a 37° C, donde fueron perfundidos con una disolución de Tyrode normal. Después de equilibrar la preparación por 30 minutos, se le aplicó un colorante sensible al voltaje, amino naphthyl ethenyl pyridinium (Di-4-ANEPPS) (10 $\mu\text{mol/L}$). Además, se añadió blebbistatin (10 $\mu\text{mol/L}$ infusión constante por 30 minutos) para prevenir artefactos por el movimiento de contracción.

Modelo experimental del síndrome de Andersen-Tawil

Para modelar el SAT, se bloqueó la corriente I_{K1} con una disolución de cloruro de cesio, CsCl, (10 mmol/L) por 30 minutos. Posteriormente se estimuló el ventrículo con un electrodo siguiendo un protocolo de estimulación tipo *steady state* a distintos periodos de estimulación (PE) de 1000, 525, 500, 450, 400, 375, 350, 300 y 275 ms. Durante ésta estimulación se registró la actividad del PA. Posteriormente, se dejó de estimular y se agregó una disolución de isoproterenol (0.30 $\mu\text{mol/L}$), que simula la estimulación beta-adrenérgica. En estas condiciones se registró la evolución del PA hasta que el tejido presentó TV. El PA así registrado se comparó con los datos de PA obtenidos a distintos PE de la preparación sin CsCl y sin isoproterenol, que sirvió como blanco.

6.3. Resultados

En la Tabla 6.1, se enlistan los registros de la DPA medida bajo diferentes condiciones fisiológicas del ventrículo. Los registros 1-19 corresponden los casos en los que se perfundió la muestra únicamente con disolución de Tyrode, mientras que durante los registros 20-23 se perfundió una disolución cardiopléjica. En los registros 24-26 se aplicó nuevamente una disolución de Tyrode y durante los registro 27-36 se perfundió CsCl. Los registros 37-43 corresponden a aquellos en los que la muestra contenía CsCl pero no fue estimulada eléctricamente. Finalmente, durante los registros 44-48, se añadió una disolución de isoproterenol, sin estimulación eléctrica. En la misma Tabla se indican los PE aplicados, cada uno de los cuales se impuso hasta la estabilización de la señal.

Durante los primeros registros (1-19) se mantuvo al ventrículo perfundido con una disolución de Tyrode, la cual simula la composición química de la sangre. Durante estimulación rápida desde un PE = 650 ms hasta un PE = 250 ms, no se observaron alteraciones en el PA, (Figura 6.4). Mientras que al PE = 225 ms, se presentó un episodio de FV, (Figura 6.5). Entonces, se aplicó una disolución cardiopléjica a la preparación, con la cual se inhibió la actividad eléctrica para estabilizar el ventrículo, (Tabla 6.1). Cabe mencionar que hasta éste momento no se observó alternancia en la DPA y que la única alteración registrada fue la FV.

Entonces, se añadió una disolución de Tyrode nuevamente y agregamos una disolución de CsCl para bloquear la corriente I_{K1} , asimismo se estimuló a distintos PEs, desde PE = 1000 ms hasta PE = 275 ms. En éstas condiciones, se observó la ocurrencia de alternancias intermitentes en la DPA, (Figura 6.6). Posteriormente, se dejó de estimular eléctricamente, periodo en el cual se observaron PA espontáneos de manera intermitente, (Figura 6.7). Finalmente, ya sin estimulación eléctrica, se aplicó una disolución de isoproterenol, para simular la estimulación beta-adrenérgica, lo que indujo alternancias en la DPA, (Figura 6.8) hasta que el ventrículo entró en TV. Entonces se aplicó una disolución de Tyrode para revertir el proceso, pero el ventrículo ya no se pudo recuperar de ésta arritmia.

Registro	Periodo de estimulación (ms)	Observaciones
1	650*	
2	650*	
3	650*	
4	650*	
5	525*	
6	500*	
7	350*	
8	425*	
9	400*	
10	375*	
11	350*	
12	350*	
13	325*	
14	300*	
15	275*	
16	250*	
17	225*	FV
18	225*	FV
19	225*	FV
20	Sin estimulación**	En recuperación
21	Sin estimulación**	En recuperación
22	Sin estimulación**	En recuperación
23	Sin estimulación**	En recuperación
24	600*	En recuperación
25	1000*	
26	1000*	
27	1000 ¹	
28	550 ¹	
29	500 ¹	
30	450 ¹	
31	400 ¹	
32	375 ¹	DPA alternando
33	350 ¹	
34	350 ¹	DPA alternando
35	300 ¹	DPA alternando
36	275 ¹	DPA alternando
37	Sin estimulación ¹	Actividad espontánea (AE)
38	Sin estimulación ¹	AE
39	Sin estimulación ¹	AE
40	Sin estimulación ¹	AE intermitente
41	Sin estimulación ¹	AE intermitente
42	Sin estimulación ¹	AE intermitente
43	Sin estimulación ¹	AE intermitente
44	Sin estimulación ²	DPA alternando
45	Sin estimulación ²	DPA alternando
46	Sin estimulación ²	DPA alternando
47	Sin estimulación ²	DPA alternando
48	Sin estimulación ²	DPA alternando
49	Tyrode	TV

Tabla 6.1. Registros realizados de la DPA, con sus correspondientes periodos de estimulación y con las principales observaciones realizadas. En cada caso se indican las disoluciones perfundidas sobre el ventrículo de puerco.

* = Disolución de Tyrode; ** = Disolución cardiopléjica; 1 = CsCl; 2 = isoproterenol; AE = actividad espontánea; FV = fibrilación ventricular; TV = taquicardia ventricular.

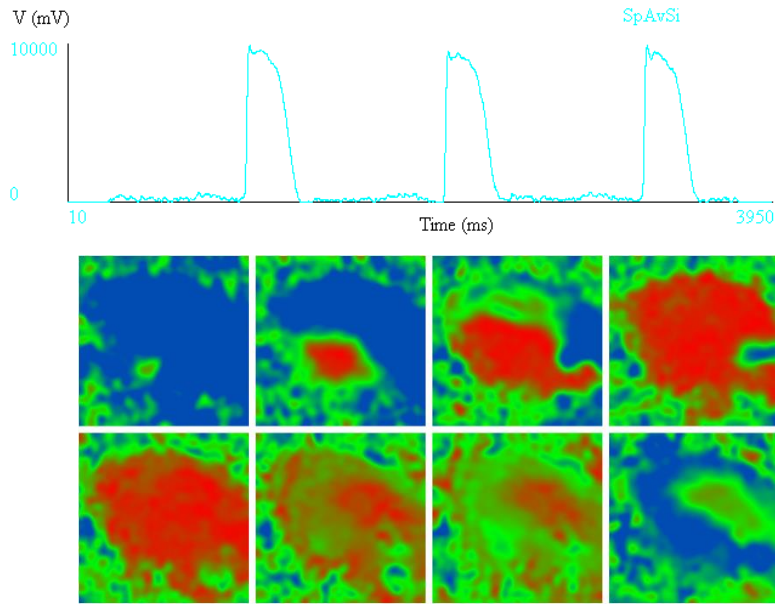


Figura 6.4 En el panel superior se observa la ocurrencia de 3 PAs consecutivos registrados a través del tiempo, en condiciones de una célula sana a un PE = 600 ms, correspondiente al registro 2 de la Tabla 6.1. En el panel inferior se observa la propagación del PA en el ventrículo completo a distintos tiempos. En rojo se muestran los valores más altos del PA, mientras que el color azul corresponde a los valores mínimos de éste. Los ocho cuadros aquí mostrados representan la propagación de un solo PA. La dinámica del PA es normal.

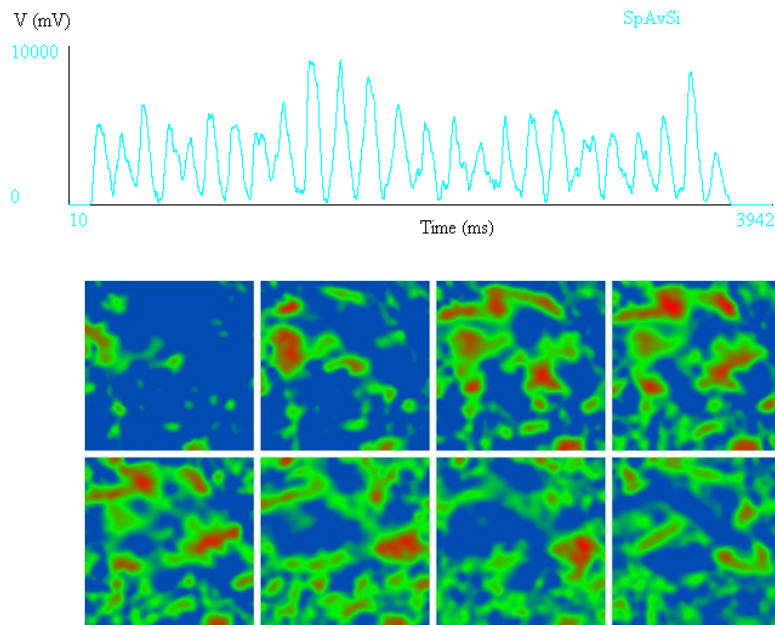


Figura 6.5. Panel superior, PA registrado durante un evento de FV en el ventrículo, en condiciones de estimulación rápida. Panel inferior, propagación del PA en el ventrículo completo durante FV. En rojo se muestran los valores más altos del PA, mientras que el color azul corresponde a los valores mínimos de éste.

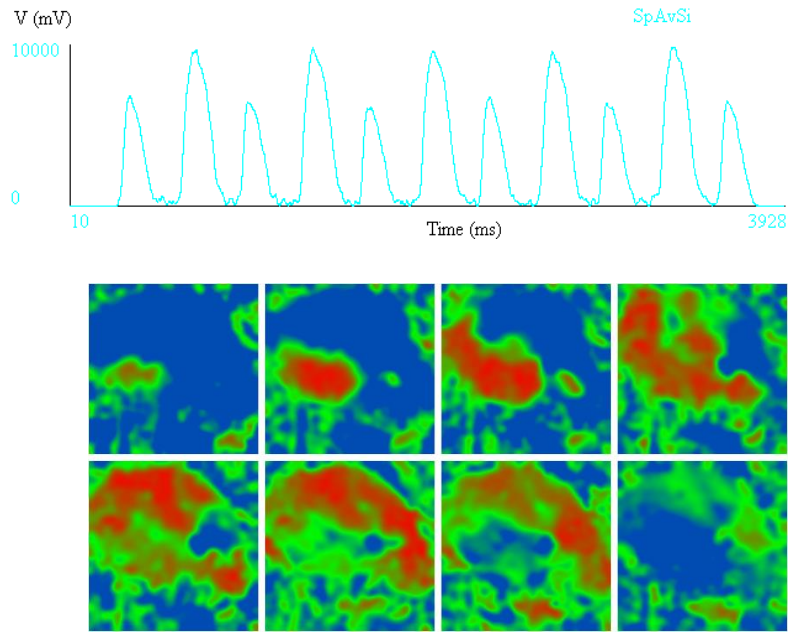


Figura 6.6. Panel superior, alternancias del PA, en condiciones de I_{K1} reducida a un $PE = 350$ ms, correspondiente al registro 34 de la Tabla 6.1. El panel inferior muestra el PA a través del ventrículo completo, mientras ocurren las alternancias del PA. El color rojo indica los valores máximos del PA, mientras que los valores mínimos de éste están en azul.

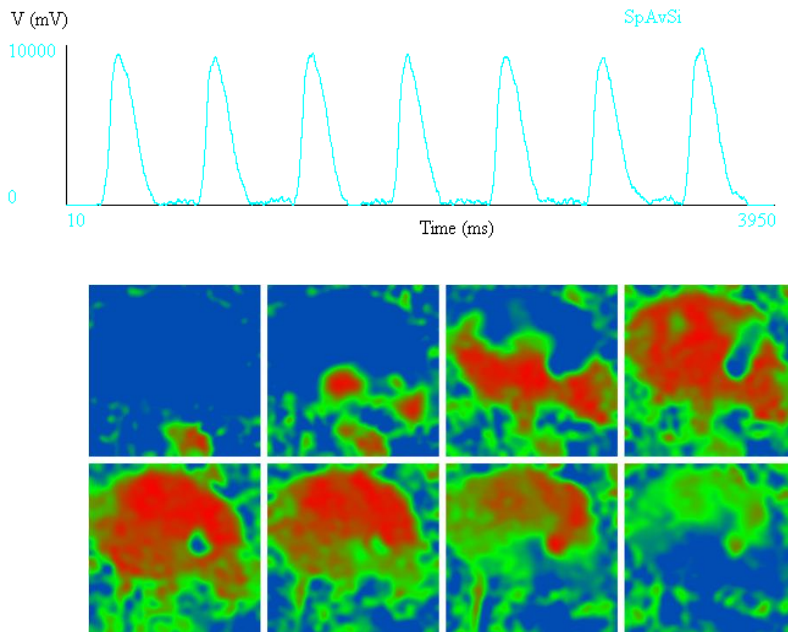


Figura 6.7. Panel superior, PA espontáneos, en condiciones de I_{K1} reducida, correspondiente al registro 38 de la Tabla 6.1. Panel inferior, propagación del PA a través del ventrículo completo, durante la ocurrencia de PA espontáneos. El color rojo indica los valores máximos del PA, mientras que los valores mínimos de éste están en azul. Los ocho cuadros aquí mostrados representan la propagación de un solo PA.

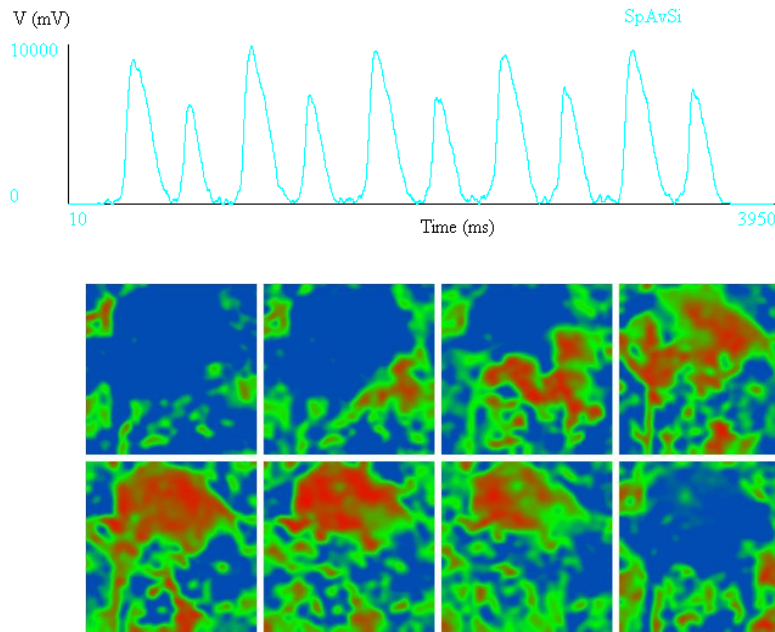


Figura 6.8. Panel superior, alternancias en el PA, en condiciones de I_{K1} reducido y de estimulación beta-adrenérgica con una disolución de isoproterenol, correspondiente al registro 46 de la Tabla 6.1. Panel inferior, propagación del PA en todo el ventrículo izquierdo de puerco. El color rojo indica los valores máximos del PA, mientras que los valores mínimos de éste están en azul.

6.4. *Discusión*

Alternancias en la DPA en el modelo experimental del síndrome de Andersen-Tawil

En condiciones de una célula sana y bajo estimulación rápida no se observaron alternancias en la DPA y solo se observó un evento de FV. Después de perfundir el ventrículo con CsCl durante estimulación rápida, así como después de añadir una disolución de isoproterenol, se observaron alternancias en la DPA, por lo que la ocurrencia de éstas alternancias en éste experimento se asociaron a las siguientes condiciones electrofisiológicas: (i) reducción de la corriente I_{K1} ; (ii) estimulación beta-adrenérgica durante la reducción de I_{K1} . Además, cuando se aplicó la disolución de CsCl se observó actividad espontánea. Cabe mencionar que se ha mostrado en experimentos *in vitro* que la inhibición de la corriente I_{K1} induce PA espontáneos. [254]

Debido a que no medimos las corrientes iónicas involucradas con las alteraciones del PA reportadas, no podemos explicar los orígenes de las alternancias en el PA y de la actividad espontánea como función de las corrientes que las generaron. Sin embargo, los resultados obtenidos son indicios relevantes de la ocurrencia de alternancias en la DPA en condiciones del SAT. Es necesario realizar experimentos en los que se mida simultáneamente los cambios en el calcio intracelular y en el PA, para confirmar los resultados obtenidos y para explicar la relación de la dinámica del calcio con la ocurrencia de las alternancias eléctricas medidas.

Características de las alternancias en la DPA en el síndrome de Andersen-Tawil

Los registros recabados corresponden al PA medido en varios lugares del ventrículo a distintos tiempos. Con el propósito de visualizar las alternancias en la DPA obtenidas, recuperamos los valores del $PA_{75\%}$, así como de los BCL (*basic cycle length*) a 13 tiempos diferentes, en cuatro sitios distintos del ventrículo (puntos A-D, en la Figura 6.9). Por cada sitio se recuperaron los datos (PA y BCL) correspondientes a ~2500 ms del registro total. A partir de éstos valores obtuvimos promedios de la DPA correspondientes a un BCL dado. Entonces, graficamos los promedios de la DPA así obtenidos en función de los BCL y obtuvimos la Figura 6.9, en la que podemos ver algunas de las principales características de las alternancias observadas. Los promedios de la DPA así obtenidos, corresponden a los datos de los registros 27-36 de la Tabla 6.1.

En la Figura 6.9, observamos que las alternancias en la DPA en 4 puntos distintos del ventrículo de puerco comenzaron aproximadamente a un $BCL = 375$ ms. Adicionalmente, la máxima amplitud de dichas oscilaciones fue de 130 ms correspondiente al punto A, mientras que la oscilación mínima fue de 60 ms asociada a los punto C y D. Por otra parte, en corazones humanos con falla estructural del miocardio se han registrado alternancias de la DPA con una amplitud máxima de 20 ms, las cuales comenzaron a un $BCL = 375$ ms. [159] En nuestro experimento la alternancia en la DPA comenzó también a un $PE = 375$ ms. Sin embargo, las características de la actividad eléctrica del corazón varían de especie a especie y aun más, entre los distintos tipos de cardiomiocitos, por lo que no debe esperarse que las características de las oscilaciones en la DPA obtenidas en éste experimento coincidan con datos de pacientes.

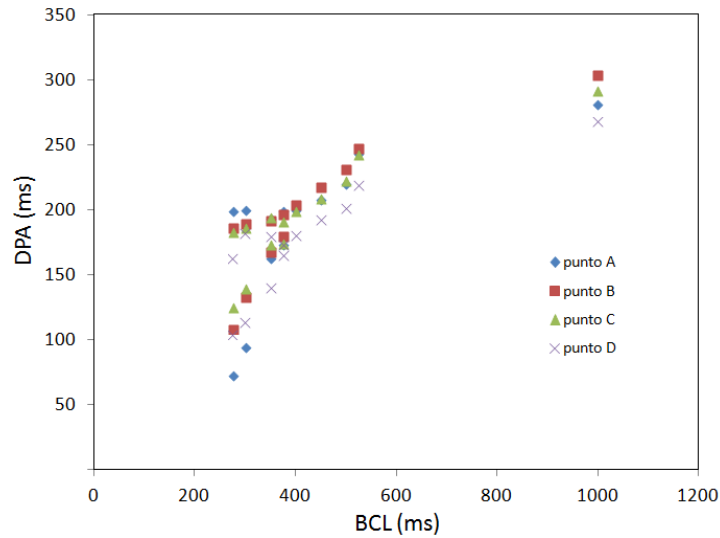


Figura 6.9. Duración del PA en función del BCL. Los valores de la DPA se obtuvieron a partir de un modelo experimental del SAT, en el que se añadió CsCl para bloquear I_{K1} . Los puntos A-D, se refiere a las mediciones de la DPA realizadas en 4 sitios diferentes del ventrículo de puerco. El comienzo de las alternancias en la DPA en los distintos puntos (A, B, C y D) se registró aproximadamente a un BCL de 375 ms. BCL = *basic cycle length*.

No obstante, se ha reportado que para mamíferos terrestres, la DPA tiene una correlación inversamente proporcional al peso corporal de éstos, [299] de manera que se podría esperar que los valores de la DPA medidos en cardiomiocitos de puerco guarden alguna relación con aquellos medidos en humanos. Es necesario recabar más datos de la DPA para poder realizar una comparación como ésta.

Por otra parte, en la Figura 6.10, comparamos la bifurcación obtenida para el punto B de la Figura 6.9, con una bifurcación típica del tipo *colisión de frontera*. En éste tipo de bifurcación, los puntos se separan en una forma no tangencial entre ellos, sino de manera más suave, tal y como se muestra en la figura. Se ha relacionado éste tipo de bifurcación con la ocurrencia de alternancias en la DPA cardiaco. [286-288] Además, éstas alternancias pueden dar lugar a inestabilidades eléctricas en el miocardio que pueden ser fatales. Por lo que entender los mecanismos que generan éste tipo de alternancias podría ayudar a modelar dichas heterogeneidades eléctricas en un modelo de tejido cardiaco. Adicionalmente, es deseable reproducir éste tipo de bifurcación a partir del modelo matemático desarrollado.

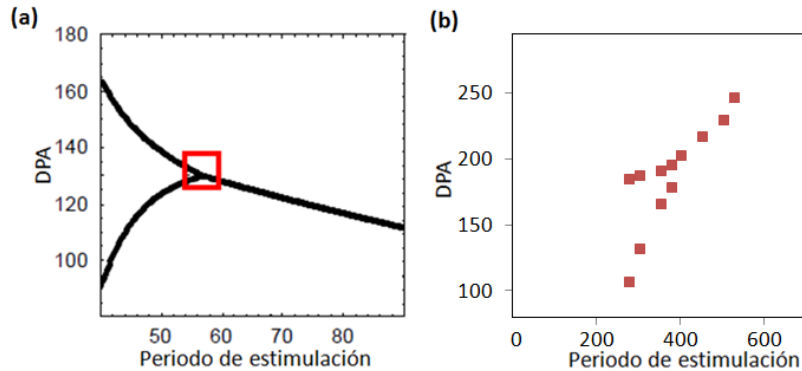


Figura 6.10. (a) Ilustración de una bifurcación tipo *colisión de frontera*. [286] (b) Bifurcación obtenida a partir de nuestros datos experimentales (punto B de la Figura 6.9), mostrando una bifurcación tipo *colisión de frontera*.

Curvas de restitución en un modelo experimental del síndrome de Andersen-Tawil

Como se mencionó en la sección 1.2.6 de antecedentes, la pendiente de la curva de restitución se usa como un indicador de riesgo de que ocurran arritmias cardíacas. Esta curva se obtiene de graficar la DPA vs el intervalo diastólico (ID). Si los puntos así graficados presentan una pendiente $m > 1$, esto podría ser un indicador de la ocurrencia de arritmias. A partir de los datos registrados durante el experimento antes descrito, obtuvimos curvas de restitución con el propósito de interpretar la dinámica del PA observado en términos de la propensión a arritmias cardíacas. En particular, generamos dos series de curvas de restitución, una correspondiente al PA registrado sobre la preparación perfundida únicamente con disolución de Tyrode (registros 1-19 de la Tabla 6.1) durante estimulación eléctrica rápida. Mientras que, la segunda serie de curvas corresponde a los datos de PA obtenidos sobre la misma preparación perfundida con CsCl (registros 27-36 Tabla 6.1) y durante estimulación rápida. A partir de los datos registrados, se recuperaron los datos de la DPA y de su correspondiente ID. Esto se realizó para 13 distintos tiempos, en cuatro lugares diferentes del ventrículo. Los datos así recabados corresponden a ~2500 ms del registro total. Se obtuvieron promedios de la DPA y del ID correspondientes a un PE dado y se graficaron. En la Figura 6.11, se muestran los datos de la DPA y de ID, correspondientes al caso en que la preparación se perfundió únicamente con una disolución de Tyrode y se estimuló a los siguientes periodos, PE = 1000, 525, 500, 450, 400, 375, 350, 300, 275 ms.

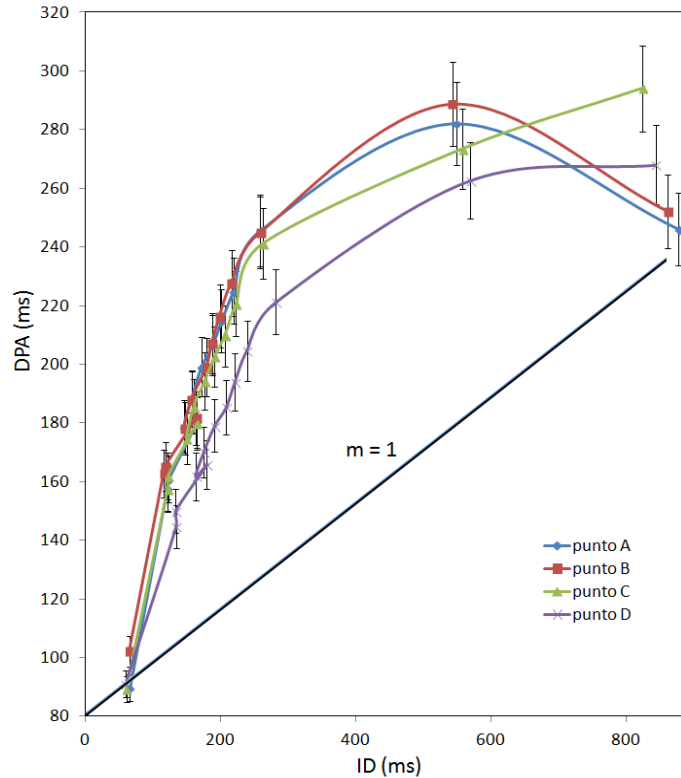


Figura 6.11. Curvas de restitución correspondientes a los datos registrados en 4 diferentes sitios del ventrículo (puntos A-D). Estas curvas están por encima de la línea recta negra con pendiente $m = 1$, trazada *ad hoc*, para comparar con las pendientes experimentales. Datos tomados de los registros 1-19 de la Tabla 6.1.

Las curvas de restitución obtenidas en condiciones de una célula sana con estimulación rápida, presentaron pendientes con valor > 1 , lo que podría indicar el riesgo de ocurrencia de arritmias cardiacas, (Figura 6.11). La ocurrencia de éstas arritmias se constató posteriormente, ya que el ventrículo presentó FV a un PE = 225 ms, (Tabla 6.1 registros 17-20). La ocurrencia de FV precedida por alternancias en la DPA sugiere que el mecanismo generador de la arritmia podría ser una heterogeneidad eléctrica en el ventrículo.

Finalmente, se realizó una segunda serie de curvas de restitución siguiendo un proceso similar al descrito anteriormente. Estas curvas de restitución corresponden a los datos de la DPA de los registros 27-36 de la Tabla 6.1 y se obtuvieron a partir de la preparación perfundida con CsCl durante estimulación rápida. A diferencia de la curva antes presentada, en este caso realizamos dos curvas por cada punto (A-D). Este procedimiento se realizó debido a las alternancias en la DPA obtenidas, las cuales presentan valores largos (L) alternando entre valores

más cortos (C) de la DPA. Por ejemplo, para el punto A se realizaron dos curvas, la primera parte de la curva 1-A (en azul en la Figura 6.12) contiene los valores de la DPA sin alternar, la segunda parte de la misma curva contiene los valores-(C) de la DPA. Mientras que, para la segunda curva correspondiente al mismo punto A, 2-A (en rojo Figura 6.12) la primer parte de esta curva se refiere a los puntos de la DPA antes de las alternancias y la segunda parte de la misma curva se refiere a los valores-(L) de las alternancias de la DPA. Este proceso se realizó para los cuatro puntos (A-D) y se obtuvieron las curvas mostradas en la Figura 6.12.

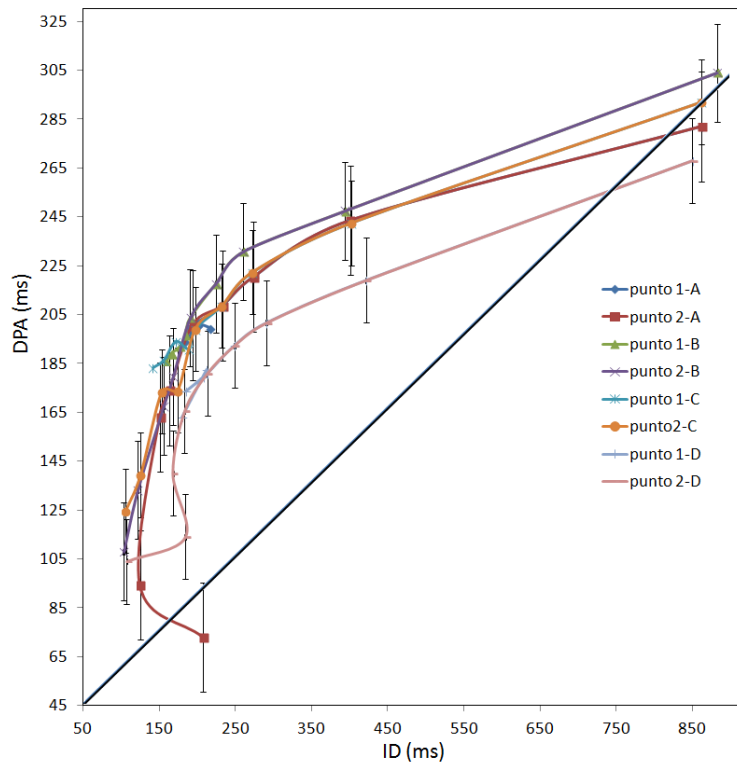


Figura 6.12. Curvas de restitución correspondientes a los datos de la DPA medidos sobre 4 distintos sitios del ventrículo. Los datos corresponden a aquellos de los registros 27-36 de la Tabla 6.1. Estas curvas están por encima de la línea recta negra con pendiente $m = 1$, trazada *ad hoc*, para comparar con las pendientes experimentales.

Las curvas de restitución obtenidas en condiciones de I_{K1} reducida con estimulación rápida presentaron pendientes con valor > 1 , (ver Figura 6.12) lo que podría indicar el riesgo de ocurrencia de arritmias cardíacas.

6.5. Conclusiones

En condiciones de reducción de la corriente I_{KI} y durante estimulación rápida se observaron alternancias intermitentes en la DPA de manera que, confirmamos que es deseable que un modelo matemático del SAT sea capaz de reproducir éstos eventos. Por otra parte, las alternancias en la DPA graficadas en función del BCL dieron lugar a curvas de bifurcación, a partir de las cuales determinamos el BCL en el que comenzaron a oscilar los valores de la DPA. El análisis de las oscilaciones en la DPA ayuda a especificar las alteraciones en el PA, en función de la especie y del tipo de cardiomiocito y establece un precedente para entender el mecanismo de la arritmogénesis en el SAT. Adicionalmente, las características cuantitativas de dichas oscilaciones son deseables de reproducir a partir de un modelo matemático del PA. También, se observó actividad espontánea durante la reducción de I_{KI} , lo que confirma los resultados obtenidos a partir del modelo teórico del SAT (sección 5.1.3 de resultados). Este comportamiento auto-oscilatorio coincide con los eventos de PAs espontáneos por inhibición del canal Kir2.1, reportados en la literatura. [254] Notablemente, se observaron alternancias persistentes de la DPA durante la reducción de I_{KI} y la estimulación beta-adrenérgica (β -A), inducida con isoproterenol, sin estimulación eléctrica. Estos resultados sugieren que la actividad β -A induce alternancias en la DPA en condiciones de la I_{KI} reducida, vía los receptores beta-adrenérgicos de los cardiomiocitos, más que por la estimulación de la actividad simpática. Entonces, las alternancias en la DPA podrían estar dirigidas por alteraciones en la dinámica de calcio. Para confirmar éstas propuestas es necesario realizar mediciones simultáneas del PA y del calcio intracelular en un modelo experimental de SAT. Cabe mencionar que no hemos encontrado reportadas en la literatura la ocurrencia de alternancias en la DPA en condiciones de I_{KI} reducida durante estimulación β -A. Finalmente, sería interesante inducir la condición de hipocalemia y registrar su relación con la dinámica del PA y del calcio intracelular.

Cabe mencionar que el tiempo en que se realizaron éstos experimentos y la disponibilidad de los corazones utilizados fueron limitados. Es deseable realizar más experimentos relacionados, que incluyan la medición simultánea del calcio transitorio y del PA para esclarecer los orígenes de las oscilaciones en la DPA. Esto contribuiría a establecer las bases de la arritmogénesis en el SAT, ya que en muchos casos éstas oscilaciones a nivel celular generan la propagación anómala del PA a través del miocardio, que induce arritmias fatales como FV.

Además, se generaría evidencia de procesos electrofisiológicos importantes de considerar para modelar la arritmogénesis en el SAT a través de modelos computacionales.

Por otra parte, en el presente trabajo se exploraron las capacidades de los experimentos de electrofisiología cardiaca utilizando *optical mapping*. Esto nos permitió visualizar las variables que son posibles de registrar mediante éstos experimentos, con el propósito de implementarlas en un modelo matemático del SAT. Además, fue posible sugerir la naturaleza patológica de las alternancias en la DPA a través de las curvas de restitución realizadas, así como, del análisis de las bifurcaciones observadas en éstas oscilaciones. Cabe mencionar que en los experimentos del SAT reportados en la literatura, no se realiza éste tipo de análisis cuantitativo sobre la dinámica de los fenómenos observados. Finalmente, éstos resultados son indicios de líneas de investigación que integren los datos experimentales con el desarrollo de modelos matemáticos de la actividad eléctrica del corazón.

7. CONCLUSIONES

En el presente trabajo probamos que los latidos ectópicos que forman un patrón de bigeminismo en el SAT, presentan una correlación estadística entre sí, que fue posible cuantificar a través de la MIF. Además, la MIF reflejó la predominancia de bigeminismo sobre otras arritmias ventriculares, cuando se calculó sobre serie simbólicas obtenidas de ECG de pacientes con SAT. En particular, el patrón de la MIF relacionado con la ocurrencia de bigeminismo mostró un patrón de oscilaciones que decaen, cuyos puntos solución se encuentran únicamente en la cresta o en el valle de dichas fluctuaciones. Este patrón permite una visualización clara y rápida de la ocurrencia de bigeminismo, de manera que la MIF puede ser de utilidad y de apoyo en la caracterización del fenotipo de las arritmias en el SAT y en otras cardiopatías.

Adicionalmente, se obtuvieron índices cuantitativos, a partir de un ajuste lineal y tipo Pareto de la envolvente superior de las oscilaciones de la MIF, los cuales estuvieron estadísticamente correlacionados con la incidencia y la distribución de los latidos ectópicos a través de la serie simbólica. Notablemente, la supresión de tan solo el 10% de latidos ectópicos realizada aleatoriamente sobre la serie simbólica, disminuyó el porcentaje de las arritmias ventriculares presentes en registros de 24 horas, así como su correlación estadística calculada con la MIF. Por lo que sugerimos que la distribución de ocurrencia de las arritmias a través de 24 horas, podría ser más importante que su porcentaje de ocurrencia. Por lo tanto, la supresión de una cantidad mínima de latidos ectópicos realizada de manera aleatoria a través del día podría suprimir la evolución de arritmias como bigeminismo, que en algunos casos degenera en arritmias fatales.

Por otra parte, a partir de modelos teóricos y experimentales del SAT establecimos que es fundamental considerar cierto nivel de detalles electrofisiológicos de la dinámica de calcio, para el adecuado modelado del PA. Además, generamos evidencia experimental de la ocurrencia de alternancias en la DPA, en condiciones de la reducción de la corriente I_{K1} , de estimulación beta-adrenérgica y de estimulación rápida. Los resultados sugieren que ésta estimulación β -A, favorece dichas alternancias, sobretodo por alteraciones en el calcio intracelular. Adicionalmente, las pendientes de las curvas de restitución obtenidas a partir de éstas alternancias fueron > 1 , lo que sugiere que las oscilaciones en la DPA observadas podrían dar

lugar a arritmias cardiacas. Estas alteraciones en la DPA podrían generar inestabilidades eléctricas a nivel del miocardio, como mecanismo arritmogénico en condiciones del SAT. Entonces, en el modelado teórico del SAT es fundamental considerar las dinámicas que propicien alternancias en el calcio intracelular, que dirigan aquellas en la DPA.

8 Referencias

1. Guyton, A. C. *Textbook of Medical Physiology*, edición 11, Elsevier, USA, **2006**.
2. <https://www.google.com.mx/search?q=heart+physiology+images>
3. <http://enfermeria7057504.wordpress.com/2012/05/10/electrocardiografia-basica/>
4. Nerbonne, J. M. *Physiol. Rev.* **2005**, 85, 1205-1253.
5. <http://thevirtualheart.org>
6. Guevara, M. R. *Nonlinear Dynamics in Physiology and Medicine*, Editores: Beuter, A.; Glass, L.; Mackey, M. C. Titcombe, M. S. Canadá, **2003**.
7. <https://www.google.com.mx/search?q=action+potential>
8. Beeler, G. W.; Reuter, H. *J. Physiol.* **1977**, 268, 177-210.
9. Antzelevich, Ch. *Circ. Res.* **2000**, 87, 964-965.
10. Jentsch, T. J.; Hübner, Ch. A.; Fuhrmann, J. C. *Nat. Cell Biol.* **2004**, 6(11), 1039-1047.
11. Eisner, D. A.; Trafford, A. W.; Díaz, M. E.; Overend, C. I.; O'Neill, S. C. *Cardiovasc. Res.* **1998**, 38, 589-604.
12. Bers, D. M. *Circ. Res.* **2000**, 87, 275-281.
13. Bers, D.M. *Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force*, Alemania, **2001**.
14. Cannell, M.B.; Soeller, C.; *Biophys. J.* **1997**, 73, 112-122.
15. Fabiato, A.; Fabiato, F. *Circ. Res.* **1972**, 31, 293-307.
16. Scham, J.S.; Cleeman, L.; Morad, M. *Proc. Nat. Acad. Sci.U.S.A.* **1995**, 92, 121-125.
17. Stern, M.D. *Biophys. J.* **1992**, 63, 497-517.
18. Hove-Madsen, L.; Bers, D.M. *Am. J. Physiol.* **1993**, 264, C677-C686.
19. Berlin, J.R.; Bassani, J.W.M.; Bers, D.M. *Biophys. J.* **1994**, 67, 1775-1787.
20. Trafford, A.W.; Díaz, M.E.; Eisner, D.A. *Pflugers Arch.* **1999**, 437, 501-503.
21. Reyes-Juárez, J.L.; Zarain-Herzberg, A. *Arc. Cardiol. Mex.* **2006**, 76, 18-32.
22. Cheng, H.L.; Lederer, W.J. *Science.* **1993**, 262, 740-744.
23. Sipido, K.R.; Carmeliet, E. Van der Werf, F. *J. Physiol. (Lond)*, **1998**, 508, 439-451.
24. Wier, W.G.; Balke, C.W. *Circ. Res.* **1999**, 85, 770-776.
25. Cheng, H.; Lederer, W.J. *Physiol. Rev.* **2008**, 88, 1491-1545.
26. López-López, J.R.; Shacklock, P.S.; Balke, C.W.; Wier, W.G. *J. Physiol. (Lond)*. **1994**, 480, 21-29.
27. Cannell, M.B.; Cheng, H.; Lederer, W.J. *Biophys. J.* **1994**, 67, 1942-1945.
28. López-López, J.R.; Shacklock, P.S.; Balke, C.W.; Wier, W.G. *Science.* **1995**, 268, 1042-1045.
29. Marx, S.O.; Gaburjakova, J.; Gaburjakov, A.M.; Henrikson, C.; Ondrias, K.; Marks, A.R. *Circ. Res.* **2001**, 88, 1151-1159.
30. Marx, S.O.; Ondrias, K.; Marks, A.R. *Science.* **1998**, 281, 818-821.

31. Cheng, H.; Fill, M.; Valdivia, H.; Lederer, W.J. *Science*. **1995**, *267*, 2009-2010.
32. Gyorke, S.; Fill, M. *Science*. **1993**, *260*, 807-809.
33. Valdivia, H.H.; Kaplan, J.H.; Ellis-Davies, G.C.; Lederer, W.J. *Science*. **1995**, *267*, 1997-2000.
34. Brochet, D.X.; Yang, D.; Di, M.A.; Lederer, W.J.; Franzini-Armstrong, C.; Cheng, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2005**, *102*, 3099-3104.
35. Sham, J.S.; Songs L.S.; Chen, Y.; Deng, L.H.; Stern, M.D.; Lakatta, E.G.; Cheng, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **1998**, *95*, 15096-15101.
36. Lindner, M.; Brandt M.C.; Sauer, H.; Hescheler, J.; Böhle, D.J.; Beuckelmann, D.J. *Cell Calcium*. **2002**, *31(4)*, 175-182.
37. Lukyanenko, V.; Gyorke, S. *J. Physiol*. **1999**, *521*, 575-585.
38. Luo, D.; Yang D.; Lan, X.; Li K.; Li, X.; Chen, J.; Zhang, Y.; Xiao, R.P.; Han, Q.; Chen, H. *Cell Calcium*. **2008**, *43(2)*, 165-174.
39. Sobie, E.A.; Lederer, W.J. *J. Mol. Cell Cardiol*. **2012**, *52*, 304-311.
40. Cheng, H.; Lederer, M.R.; Lederer, W.J.; Cannell M.B. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. **1996**, *270*, C148-C159.
41. Lipp, P.; Niggli, E. *Biophys. J.* **1993**, *65*, 2272-2276.
42. Izu, L.T.; Wier, W.G.; Balke, C.W. *Biophys. J.* **1998**, *75*, 1144-1162.
43. Smith, G.D.; Keizer, J.E.; Stern, M.D.; Lederer, W.J.; Cheng, H. *Biophys. J.* **1998**, *75*, 15-32.
44. Kass, R.S.; Lederer, W.J.; Tsien, R.W.; Weingart, R. *J. Physiol*. **1978**, *281*, 187-208.
45. Berlin, J.R.; Cannell, M.B.; Lederer, W.J. *Circ. Res*. **1989**, *65*, 115-126.
46. Lederer, W.J.; Tsien, R.W. *J. Physiol*. **1976**, *263*, 73-100.
47. Ferrier, G.R.; Moe, G.K. *Circ. Res*, **1973**, *33*, 508-515.
48. Ferrier, G.R.; Saunders, J.H.; Mendez, C. *Circ. Res*. **1973**, *32*, 600-609.
49. Volders, P.G.; Kulcsar, A.; Vos, M.A.; Sipido, K.R.; Wellens, H.J.; Lazzara, R.; Szabo, B. *Cardiovasc. Res*. **1997**, *34*, 348-359.
50. Coombes, S.; Hinch, R.; Timofeeva, Y. *Prog. Biophys. Mol. Biol*. **2004**, *85*, 197-216.
51. Keizer, J.; Smith, G.D.; Ponce-Dawson, S.; Pearson, J.E. *Biophys J*, **1998**, *75*, 595-600.
52. Song, L.S.; Pi Y.; Kim, S.J.; Yatani, A.; Guatimosim, S.; Kudej, R.K.; Zhang, Q.; Cheng, H.; Hittinger, L.; Ghaleh, B.; Vatner, D.E.; Lederer, W.J.; Vatner, S.F. *Circ. Res*. **2005**, *97*, 457-464.
53. Wier, W.G.; Keurs, H.E.D.J.; Marban, E.; Gao, W.D.; Balke, C.W. *Circ. Res*. **1997**, *81*, 462-469.
54. Pogwizd, S.M.; Schlotthauer, K.; Li L.; Yuan, W.; Bers, D.M. *Circ. Res*. **2001**, *88*, 1159-1167.

55. Bers, D.M.; Pogwizd, S.M.; Schlotthauer, K. *Basic Res. Cardiol.* **2002**, *97(Suppl.1)*, 36-42.
56. Bridge, J.H.; Ershler, P.R.; Cannell, M.B. *J. Physiol.* **1999**, *518*, 469-478.
57. Cannell, M.B.; Crossman, D.J.; Soeller, C. *J. Muscle Res. Cell Motil.* **2006**, *27*, 297-306.
58. Grantham, C.J.; Cannell, M.B. *Circ. Res.* **1996**, *79*, 194-200.
59. Sah, R.; Ramirez, R.J.; Kaprielian R.; Backx, P.H. *J. Physiol.* **2001**, *533*, 201-214.
60. Sobie, E.A.; Cannell, M.B.; Bridge, J.H.; *Biophys. J.* **2008**, *94*, 54-56.
61. Kaab, S.; Dixon, J.; Duc, J.; Ashen, D.; Nabauer, M.; Beuckelmann, D.J.; Steinbeck, G.; McKinnon, D.; Tomaselli, G.F. *Circulation.* **1998**, *98*, 1383-1393.
62. Lebeche, D.; Kaprielian, R.; Hajjar, R. *J. Mol. Cell Cardiol.* **2006**, *40*, 725-735.
63. Miake, J.; Marban, E.; Nuss, H.B. *J. Clin. Invest.* **2003**, *111*, 1529-1536.
64. Nabauer, M.; Kaab, S. *Cardiovasc. Res.* **1998**, *37*, 324-334.
65. Wickenden. A.D.; Lee. P.; Sah. R.; Huang. Q.; Fishman. G.I.; Backx. P.H. *Circ. Res.* **1999**, *85*, 1067-1076.
66. Choi, B.R.; Burton, F.; Salama, G.; *J. Physiol.* **2002**, *543*, 615-631.
67. Cordeiro, J.M.; Bridge, J.H.; Spitzer, K.W. *Cell Calcium.* **2001**, *29*, 289-297.
68. Damiano, B.P.; Rosen, M.R. *Circulation.* **1984**, *69*, 1013-1025.
69. Hauswirth, O.; Noble, D.; Tsien, R.W. *J. Physiol.* **1969**, *200*, 255-265.
70. Nuss, H.B.; Kaab, S.; Kass, D.A.; Tomaselli, G.F.; Marban, E. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **1999**, *277*, H80-H91.
71. Nuss H.B.; Marban E.; Johns D.C.; *J. Clin. Invest.* 1999, *103*, 889-896.
72. Abriel, H.; Cabo, C.; Wehrens, X.H.; Rivolta, I.; Motoike, H.K.; Memmi, M.; Napolitano, C.; Priori, S.G.; Kass, R.S. *Circ. Res.* **2001**, *88*, 740-745.
73. Clancy, C.E.; Kass, R.S. *Physiol. Rev.* **2005**, *85*, 33-47.
74. Flaim, S.N.; Giles, W.R.; McCulloch, A.D. *Heart Rhythm.* **2007**, *4*, 768-778.
75. Li, Y.; Kranias, E.G.; Mignery, G.A.; Bers, D.M. *Circ. Res.* **2002**, *90*, 309-316.
76. Lodish, H.; Berk, A.; Zipursky, S.L.; Matsudaira, P.; Baltimore, D.; Darnell, J. *Molecular Cell Biology*, 4th edition, Nueva York, **2000**. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21718/>
77. Brittsan, A.G.; Kranias, E.G. *J. Mol. Cell Cardiol.* **2000**, *32*, 2131-2139.
78. MacLennan, D.H.; Kranias, E.G. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 566-577.
79. Lindemann, J.P.; Jones, L.R.; Hathaway, D.R.; Henry, B.G.; Watanabe, A.M. *J. Biol. Chem.* **1983**, *258(1)*, 464-471.
80. Zhou, Y-Y.; Song, L-Sh.; Lakatta, E.G.; Xiao, R-P.; Cheng, H. *J. Physiol.* **1999**, *521(2)*, 351-361.
81. Yoshida, A.; Takahashi M.; Imagawa, T.; Shigekawa, M.; Takisawa H.; Nakamura, T. *J. Biochem.* **1992**, *111(2)*, 186-190.
82. Dorn, G.W.2nd.; Force, T. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 527-537.

83. Marx, S.O.; Reiken, S.; Hisamatsu, Y.; Jayaraman, T.; Burkhoff, D.; Rosembliit, N.; Marks, A. R. *Cell*. **2000**, *101*, 365-376.
84. Hussain, M.; Orchard, C.H. *J. Physiol.* **1997**, *505.2*, 385-402.
85. Trautwein, W.; Hescheler, J. *Annu. Rev. Physiol.* **1990**; *52*, 257-274.
86. Haase, H.; Karczewski, P.; Beckert, R.; Krause, E.G. *Febs. Letters*. **1993**, *335(2)*, 217-222.
87. Tsien, R.W.; Bean, B.P.; Hess, P.; Lansman, J.B.; Nilius, B.; Nowycky, M.C. *J Mol. Cell Cardiol.* **1986**, *18(7)*, 691-710.
88. Xiao, R.P.; Lakatta, E.G. *Circ. Res.* **1993**, *73*, 286-300.
89. Scamps, F. *J. Physiol.* **1996**, *491*, 81-97.
90. DiFrancesco, D. *Circ. Res.* **2010**, *106*, 4334-446.
91. Jiang, D.; Xiao B.; Yang, D.; Wang, R.; Choi, P.; Zhang, L.; Cheng, H.; Chen, S.R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2004**, *101*, 13062-13067.
92. Sweidan, R.; Gresztelyi, I.; Fugate, R.; Szabo, B.; Lazzara, R. *Circulation*. **1990**, *82(supplIII)*, 523.
93. Szabo, B.; Banyasz, T.; Fugate, R.; Lazzara, R. *Eur. Heart J.* **1991**, *12(suppl)*, 46.
94. Priori, S.G.; Corr, P.B. *Am. J. Physiol.* **1990**, *258*, H1796-H1805.
95. Yamada, K.A.; Corr, P.B. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **1992**, *3*, 209-224.
96. Diaz, M.E.; O'Neill, S.C.; Eisner, D.A. *Cir. Res.* **2004**, *94*, 650-656.
97. Eisner, D.A.; Diaz, M.E.; Li, Y.; O'Neill, S.C.; Trafford, A.W. *Exp. Physiol.* **2005**, *90*, 3-12.
98. Goldhaber, J.I.; Xie L.H.; Duong, T.; Motter, C.; Khuu, K.; Weiss, J.N. *Circ. Res.* **2005**, *96*, 459-466.
99. Cantalapiedra, I.R.; Lugo C.A.; Peñaranda, A.; Echeberria, B. *Comput. Cardiol.* **2011**, *38*, 645-648.
100. Xie, L.H.; Sato, D.; Garfinkel, A.; Qu, Z.; Weiss, J.N. *Biophys J.* **2008**, *95*, 3100-3110.
101. Bassani, J.W.; Yuan, W.; Bers, D.M. *Am. J. Physiol.* **1995**, *268(Pt 1)*, C1313-1319.
102. Shiferaw, Y.; Qu Z.; Garfinkel, A.; Karma, A.; Weiss, J. *Ann. NY Acad Sci.* **2006**, *1080*, 376-394.
103. 103. Eisner, D.A.; Choi, H.S.; Diaz, M.E.; O'Neill, S.C. *Circ Res.* **2000**, *87*, 1087-1094.
104. Weiss, J.N.; Karma, A.; Shiferaw, Y.; Chen, P.S.; Garfinkel, A.; Qu, Z. *Circ. Res.* **2006**, *98*, 1244-1253.
105. Shiferaw, Y.; Watanabe, M.A.; Garfinkel, A.; Weiss, J.N.; Karma, A. *Biophys J.* **2003**, *85*, 3666-3696.
106. Qu, Z. Shiferaw, Y.; Weiss, J.N. *Phys. Rev. E.* **2007**, *75*, 011927.
107. Tao, T.; O'Neill, S.C.; Diaz, M.E.; Li, Y.T.; Eisner, D.A.; Zhang, H. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2008**, *295*, H598-609.

- 108.** Huertas, M.A.; Smith, G.D.; Gyorke, S. *Biophys. J.* **2010**, *99*, 377-387.
- 109.** Li, Q.; O'Neill, S.C.; Tao, T.; Li Y.; Eisner, D.; Zhang, H. *Biophys. J.* **2012**, *102*, 1471-1482.
- 110.** Huser, J. Wang, Y.G.; Sheehan, K.A. *J. Physiol.* **2000**, *524(Pt 3)*, 795-806.
- 111.** Picht, E.; DeSantiago, J.; Blatter, L.A.; Bers, D.M. *Circ. Res.* **2006**, *99*, 740-748.
- 112.** Shkryl, V.M.; Maxwell, J.T.; Domeier, T.L.; Blatter, L.A. *Circ. Physiol.* **2012**, *302*, H2310-2320.
- 113.** Kornyejev, D.; Petrosky, A.D.; Zepeda, B.; Ferreiro, M.; Knollmann, B.; Escobar, A.L. *J. Mol. Cell Cardiol.* **2012**, *52*, 21-31.
- 114.** Restrepo, J.G.; Weiss, J.N.; Karma, A. *Biophys. J.* **2008**, *95*, 3767-3789.
- 115.** Alvarez-Lacalle, E.; Cantalapiedra, I.R.; Peñaranda, A.; Cinca, J.; Hove-Madsen, L.; Echeberria, B. *Plos One.* **2013**, *8(2)*, e55042.
- 116.** Gaeta, S.A.; Christini, D.J. *Front. Physiol.* **2012**, *3(157)*,1-13.
- 117.** Lee, H.C.; Mohabir, R.; Smith, N.; Franz, M.R.; Clusin, W.T. *Circulation.* **1988**, *78*, 1047-1059.
- 118.** Pastore, J.M.; Girouard, S.D.; Laurita, K.R.; Akar, F.G. Rosenbaum, D.S. *Circulation.* **1999**, *99*, 1385-1394.
- 119.** Sipido, K.R.; Varro, A.; Eisner, D. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2006**, *171*, 159-199.
- 120.** Clusin, W.T. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **2003**, *40*, 337-375.
- 121.** Eisner, D.A.; Venetucci, L.A.; Trafford, A.W. *Circ. Res.* **2006**, *99*, 223-224.
- 122.** Aistrup, G.L.; Shiferaw, Y.; Kapur, S.; Kadish, A.H.; Wasserstrom, A. *Circ. Res.* **2009**, *104*, 639-649.
- 123.** Blatter, L.A.; Kockskamper, J.; Sheehan, K.A.; Zima, A.V.; Huser, J.; Lipsius, S.L. *J. Physiol.* **2003**, *546*, 19-31.
- 124.** Wehrens, X.H.; Lehnart, S.E.; Marks, A.R. *Annu. Rev. Physiol.* **2005**, *67*, 69-98.
- 125.** Minamikawa, T.; Cody S.H.; Williams, D.A. *Am. J. Physiol.* **1997**, *272(Pt 2)*, H236-H243.
- 126.** Knot, H.J.; Laher I.; Sobie, E.A.; Guatimosim, S.; Gomez-Viquez, L.; Hartmann, H.; Song, L-S.; Lederer, W.J.; Graier, W.F.; Malli, R.; Frieden, M.; Petersen, O.H. *Mol. Interv.* **2005**, *5*, 112-127.
- 127.** Keurs, H.E.D.J.T.; Boyden, P.A. *Physiol. Rev.* **2007**, *87*, 457-506.
- 128.** Venetucci, L.A.; Trafford, A.W.; O'Neill, S.C.; Eisner, D.A. *Cardiovasc. Res.* **2008**, *77*, 285-292.
- 129.** Xie, L-H.; Weiss, J.N. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2009**, *297*, H997-H1002.
- 130.** Miura, M.; Ishide, N.; Oda, H.; Sakurai, M.; Shinozaki, T.; Takishima, T. *Am. J. Physiol.* **1993**, *265(Pt 2)*, H439-H444.
- 131.** Chudin, E.; Goldhaber, J.; Garfinkel, A.; Weiss, J.; Kogan, B. *Biophys. J.* **1999**, *77*, 2930-2941.
- 132.** Zhilin, Q.; Nivala, M.; Weiss, J.N. *J. Mol. Cell Cardiol.* **2013**, *58*, 100-109.

133. Wan, X.; Laurita, K.R.; Pruvot, E.J.; Rosenbaum, D.S. *J. Mol. Cell Cardiol.* **2005**, *39*, 419-428.
134. Jordan, P.N.; Christini, D.J. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2007**, *293*, H2109-H2118.
135. Qu, A.; Weiss, J.N. *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2007**, *293*, H2054-H2055.
136. Pruvot, E.J.; Rosenbaum, D.S.; Laurita, K.R. *Circ. Res.* **2004**, *94*, 1083-1090.
137. Euler, D.E. *Cardiovasc. Res.* **1999**, *42*, 583-590.
138. Walker, M.L.; Rosenbaum, D.S. *Cardiovasc. Res.* **2003**, *57*, 599-614.
139. Llach, A. *J. Physiol.* **2011**, *589.13*, 3247-3262.
140. Cherry, E.M.; Fenton, F.H. *New J. Phys.* **2008**, *10*, 43.
141. Fox, J.J.; McHarg, J.L.; Gilmour, F.Jr. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2002**, *282*, H516-H530.
142. Choi, B.R.; Salama, G. *J. Physiol.* **2000**, *529*, 171-188.
143. Qu, Z.; Garfinkel, A.; Chen, P-Sh.; Weiss, J.N. *Circulation.* **2000**, *102*, 1664-1670.
144. Gizzi, A.; Cherry, E.M.; Gilmour, R.F.Jr.; Luther, S.; Filippi, S.; Fenton, F.H. *Front. Physiol.* **2013**, *4(71)*, 1-20.
145. Livshitz, L.M.; Rudy, Y. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2007**, *292(6)*, H2854-H2866.
146. Narayana, S.M.; Franz, M.R.; Clopton, P.; Pruvot, E.J.; Krummen, D.E. *Circulation.* **2011**, *123*, 2922-2930.
147. Christini, D.J.; Riccio, M.L.; Culianu, C.A.; Fox, J.J.; Karma, A.; Gilmour, R.F.Jr. *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96*, 104101.
148. Krogh-Madsen, T.; Karma, A.; Riccio, M.L.; Jordan, P.N.; Christini, D.J.; Gilmour, R.F.Jr. *Phys. Rev. E Stat. Soft Matter Phys.* **2010**, *81(1 Pt 1)*, 011915.
149. Kanu, U.B. *IEEE Trans Bipomed Eng.* **2011**, *58(4)*, 894-904.
150. Diego, C.D.; Pai, R.K.; Dave, A.S.; Lynch, A.; Thu, M.; Chen, F.; Xie, L-H.; Weiss, J.N.; Valderrábano, M. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2008**, *294*, 1417-1425.
151. Clusin, W.T. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2008**, *294*, H1-H10.
152. Narayan, S.M. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2008**, *51(2)*, 118-127. (Narayan2008T)
153. Zipes, D.; Jalife J. *Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside*, Filadelfia, **2004**.
154. Verrier, R. L. et al.; *JACC.* **2012**, *59(17)*, 1570-1573.
155. Narayan, S.M.; Bayer, J.D.; Lalani, G.; Trayanova, N.A. *JACC.* **2008**, *52(22)*, 1782-1792.
156. Cutler, M.J.; Rosenbaum, D.S. *Heart Rhythm.* **2009**, *6(3 Suppl)*, S22-S28.
157. Mahajan, A.; Sato D.; Shiferaw, Y.; Baher, A.; Xie, A-H.; Peralta, R.; Olcese, R.; Garfinkel, A.; Qu, Zh.; Weiss, J.N. *Biophys. J.* **2008**, *94*, 411-423.
158. O'hara, T.; Virág, L.; Varró, A.; Rudy, Y. *PLoS Comput. Biol.* **2011**, *7*, e1002061.

- 159.** Koller, M.L.; Maier, S.K.G.; Gelzer, A.R.; Bauer, W.R.; Meesmann, B.M.; Gilmour, R.F.Jr. *Circulation*. **2005**, *112*, 1542-1548.
- 160.** Hao, S.C.; Christini, D.J.; Stein, K.M.; Jordan, P.N.; Iwai, S.; Bramwell, O.; Markowitz, S.M.; Mittal, S.; Lerman, B.B. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2004**, *287*, H390-H394.
- 161.** Riccio, M.L.; Koller, M.L.; Gilmour, R.F.Jr. *Circ. Res.* **1999**, *84*, 955-963.
- 162.** Wu, T.J.; Lin, S-F.; Weiss, J.N.; Ting, C-T.; Chen, P-S. *Circulation*. **2002**, *106*, 1859-1866.
- 163.** Pak, H-N.; Hong, S.J.; Hwang, G.S.; Lee, H.S.; Park, S-W.; Ahn, J.Ch.; Ro, Y.M.; Kim, Y-H. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **2004**, *15(12)*, 1357-1363.
- 164.** Taggart, P.; Sutton P.; Chalabi, Z.; Boyett, M.R.; Simon, R.; Elliot, D.; Gill, J.S. *Circulation*. **2003**, *107*, 285-289.
- 165.** Gilmour, R.F.; Otani, N.F.; Watanabe, M.A. *Am. J. Physiol.* **1997**, *272(Pt 2)*, H1826-H1832.
- 166.** Hall, G.; Bahar, S.; Gauthier, D. *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*, 2995-2998.
- 167.** Wu, R.; Patwardhan A. *Circ. Res.* **2004**, *94*, 634-641.
- 168.** Wu, R.; Patwardhan A. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **2006**, *17*, 87-93.
- 169.** Banville, I.; Gray, R.A. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **2002**, *13*, 1141-1149.
- 170.** Cherry, E.M.; Fenton F.H. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2004**, *286*, H2332-H2341.
- 171.** Mincholé, A.; Pueyo, E.; Rodríguez, J.F.; Zacur, E.; Doblaré, M.; Laguna, P. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. **2011**, *58*, 1172-1182.
- 172.** Ramírez, J.; Mincholé, A.; Bolea, J.; Laguna, P.; Pueyo, E. *CinC.* **2013**, *40*, 1-4.
- 173.** Hodgkin, A.L.; Huxley, A. F. *J. Physiol.* **1952**, *117*, 500-544.
- 174.** <http://hebb.mit.edu/courses/8.515/lecture1/sld022.htm>
- 175.** Murray, J. D. *Mathematical Biology*, 2^a edición, Springer, Berlín, **1993**.
- 176.** Noble, D. *J. Physiol.* **1962**, *85*, 317-352.
- 177.** Carmeliet, E. E. *J. Physiol.* **1961**, *156*, 375-388.
- 178.** Weidmann, S. *J. Physiol.* **1955**, *127*, 213-224.
- 179.** Ten Tusscher, K. H. W. J.; Panfilov, A. V. *Phys. Med. Biol.* **2006**, *51*, 6141-6156.
- 180.** Priebe, L.; Beuckelmann, D. *J. Circ. Res.* **1998**, *82*, 1206-1223.
- 181.** Bernus, O.; Wilders, R.; Zemlin, C. W.; Verschelde, H.; Panfilov, A. V. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2002**, *282*, H2296-H2308.
- 182.** Iyer, V.; Mazhari, R.; Winslow, R. L. *Biophys. J.* **2004**, *87*, 1507-1525.
- 183.** Drouin, E.; Charpentier, F.; Gauthier, Ch.; Laurent, K.; Le Marec, H. *JACC.* **1995**, *26(1)*, 185-192.
- 184.** Drouin, E.; Lande, G.; Charpentier, F. *J. Am. Coll. Cardiol.* **1998**, *32(4)*, 1063-1067.
- 185.** Li, G. R.; Feng, J.; Yue, L.; Carrier, M. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **1998**, *275*, H369-H377.

- 186.** Clifford, G. D.; Azuaje, F.; McSharry, P. *Advanced methods and Tools for ECG Data Analysis*, Editor: McSharry, P. E. Oxford, United Kingdom, **2006**.
- 187.** Moody, G. B.; Mark, R. G. *CIC*. **1989**, *16*, 269-272.
- 188.** Mark, R. G.; Moody, G. B. *Advances in Processing and Pattern Analysis of Biological Signals*, Editor: Plenum Press, New York, USA, **1996**.
- 189.** Coast, D. A.; Stern, R. M.; Cano, G. G.; Briller, S.A. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1990**, *37*, 826-836.
- 190.** Caswell, S. A.; Kluge, K. S.; Chiang, C. M. J. *Comput. Cardiol.* **1993**, *20*, 181-184.
- 191.** Zhou, S. H.; Rautaharju, P. M.; Calhoun, H. P. *Comput. Cardiol.* **1993**, *20*, 879-882.
- 192.** Guvenir, H. A.; Acar, B.; Demiroz, G.; Cekin, A. *Comput. Cardiol.* **1997**, *24*, 433-436.
- 193.** Maglaveras, N.; Stamkopoulos, T.; Diamantaras, K.; Pappas, C.; Srintzis, M. *Int. J. Med. Inform.* **1998**, *52(1)*, 191-208.
- 194.** Malik, M. *Circulation.* **1996**, *93*, 1043-1065.
- 195.** Kitney, R. I.; Rompelman, O. *The Study of Heart Rate Variability*, Editor: Oxford, University Press, Londres, **1980**.
- 196.** Malik, M.; Camm, A. *J. Heart Rate Variability*, Editor: Futura Publishing, Armonk, Nueva York, **1995**.
- 197.** Hirsh, J. A.; Bishop, B. *Am J. Physiol.* **1981**, *241*, H620-H629.
- 198.** Akselrod, S.; Gordon, D.; Ubel F. A.; Shannon, D.C.; Cohen, R. J. *Science.* **1981**, *213*, 220-222.
- 199.** Pagani, M.; Lombardi, F.; Guzzetti, S.; Rimoldi, O.; Furlan, R.; Pizzinelli, P.; Sandrone, G.; Malfatto, G.; Dell'Orto, S.; Piccaluga, E. *Circ. Res.* **1986**, *59*, 178-193.
- 200.** Malliani, A.; Pagani, M.; Lombardi, F.; Cerutti, S. *Circulation.* **1991**, *84*, 1482-1492.
- 201.** Di Bernardo, D.; Langley, P.; Murray, A.; *Physiol. Meas.* **2002**, *23(2)*, 355-364.
- 202.** Kobayashi, M.; Musha, T. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1982**, *29*, 456-457.
- 203.** Saul, J. P.; Albrecht, P.; Berger, R. D.; Cohen, R. J. *Computers in Cardiology*. Editor: IEEE Computer Society Press. Washington, DC, **1988**.
- 204.** Zhenzhou, W.; Zheng, L.; Yixiang, W.; Xinbao, N.; Yuzheng, L. *Chinese Sci. Bull.* **2002**, *47(21)*, 1845-1848.
- 205.** Babloyantz, A.; Destexhe, A. *Biol. Cybern.* **1988**, *58*, 203-211.
- 206.** Peng, C. K.; Havlin, S.; Stanley, H. E.; Goldberger, A. L. *Chaos.* **1995**, *5*, 82-87.
- 207.** Costa, M.; Goldberger, A. L.; Peng, C. K. *Phys. Rev. E.* **2005**, *71*, 021906-1-021906-18.
- 208.** Shiyang, L.; Ming, Y.; Cuncen, L. *Fluct. Noise Lett.* **2007**, *7*, L135-L142.
- 209.** Ivanov, P. C.; Amaral, L. A. N.; Goldberger, A. L.; Havlin, S.; Rosenblum, M. G.; Struzik, Z. R.; Stanley, H. E. *Nature.* **1999**, *399*, 461-465.

- 210.** Peng, C. K.; Hausdorff, J. M.; Goldberger, A. L. *Fractal Mechanisms in Neural Control*. Editor: Cambridge University Press, Cambridge, **2000**.
- 211.** Goldberger, A. L.; Amaral, L. A. N.; Hausdorff, J. M.; Ivanov P. Ch.; Peng, C-K.; Stanley, H. E. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 2466-2472.
- 212.** Dingfei, G.; Srinivasan, N.; Krishnan, M. *Biomed. Eng. Online.* **2002**, *1*(5).
- 213.** Schneider, R.; Barthel, P.; Schmidt, G. *J. Am. Coll. Cardiol.* **1999**, *33*(2), 315A.
- 214.** Iwasa, A.; Hwa, M.; Hassankhani, A.; Liu, T.; Narayan, S. M. *Pacing. Clin. Electrophysiol.* **2005**, *28*, 1189-1197.
- 215.** Watanabe, M. A. *Indian Pacing Electrophysiol. J.* **2003**, *3*(1), 10-22.
- 216.** Watanabe, M. A.; Schmidt, G. *Heart Rhythm.* **2004**, *1*(6), 732-738.
- 217.** Savelieva, I.; Wichterle, D.; Camm, J. A. *Pacing. Clin. Electrophysiol.* **2005**, *28*(s1), S187-S192.
- 218.** Zeng, W.; Glass, L. *Phys. Rev.E.* **1996**, *54*, 1779-1784.
- 219.** Schulte-Frolinde, V.; Ashkenazy, Y.; Ivanov, P. Ch.; Glass, L.; Goldberger, A. L.; Stanley, H. E. *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *87*(6), 068104.
- 220.** Schulte-Frolinde, V.; Ashkenazy, Y.; Goldberger, A.; Ivanov, P. Ch.; Costa, M.; Morley-Davies, A.; Stanley, H. E.; Glass, L. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.* **2002**, *66*, 031901.
- 221.** Glass, L.; Lerma, C.; Shrier, A. *Front. Physiol.* **2011**, *2*(88), 16.
- 222.** Márquez, M. F.; Núñez-Acosta, E.; José, M.V.; Glass, L.; Cárdenas M.; Infante, O.; Lerma, C., enviado a *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*.
- 223.** Shannon, C. E. *Bell. Syst. Tech. J.* **1948**, *27*, 379-423, 623-656.
- 224.** Li, W. J. *Stat. Phys.* **1990**, *60*(5-6), 823-837.
- 225.** Núñez-Acosta, E.; Lerma, C.; Márquez, M. F.; José, M. V. *Physica A.* **2012**, *391*, 693-707.
- 226.** Andersen, E. D.; Krasilnikoff, P. A.; Overvad, H. *Acta Pediatr. Scand.* **1971**, *60*, 559-564.
- 227.** Tawil, R.; Ptacek, L. J.; Pavlakis, S. G.; DeVivo, D. C.; Penn, A. S.; Ozdemir, C.; Griggs, R. C. *Ann. Neurol.* **1994**, *35*(3), 326-330.
- 228.** Sansone, V.; Griggs, R. C.; Meola, G.; Ptáček, L. J.; Barohn, R.; Iannaccone, S.; Bryan, W.; Baker, N.; Janas, S. J.; Scott, W.; Ririe, D.; Tawil, R. *Ann. Neurol.* **1997**, *42*, 305-312.
- 229.** Plaster, N. M. et al. *Cell.* **2001**, *105*, 511-519.
- 230.** Tristani-Firouzi, M. et al. *J. Clin. Invest.* **2002**, *110*(3), 381-388.
- 231.** Tristani-Firouzi, M.; Etheridge, S. P. *Pflugers Arch-Eur J. Physiol.* **2010**, *460*, 289-294.
- 232.** Canun, S.; Perez, N.; Beirana, L. G. *Am. J. Med. Genet.* **1999**, *85*, 147-156.
- 233.** Barajas-Martinez, H.; Hu, D.; Ontiveros, G.; Caceres, G.; Desai, M.; Burashnikov, E.; Scaglione, J.; Antzelevich, Ch. *Circ. Cardiovasc. Genet.* **2011**, *4*, 51-57.

234. Zhang, L.; Benson, D. W.; Tristani-Firouzi, M.; Ptacek, L. J.; Tawil, R.; Schwartz, P. J.; George, A. L.; Horie, M.; Andelfinger, G.; Snow, G. L.; Fu, Y. H.; Ackerman, M. J.; Vincent, G. M. *Circulation*. **2005**, *111*, 2720-2726.
235. Smith, A. H.; Fish, F. A.; Kannankeril, P. J. *Indian Pacing Electrophysiol. J.* **2006**, *6(1)*, 32-43.
236. Chun, T. U.; Epstein, M. R.; Andelfinger, G.; Ballester, L.; Vanoye, C. G.; George, A. L.; Jr. Benson, D. W. *Heart Rhythm*. **2004**, *1*, 235-241.
237. Kannankeril, P. J.; Roden, D. M.; Fish, F. A. *Electrophysiol.* **2004**, *15*, 119.
238. Airey, K. J.; Etheridge, S. P.; Tawil, R.; Tristani-Firouzi, M. *Heart Rhythm*. **2009**, *6(12)*, 1814-1817.
239. Peters, S.; Schulze-Bahr, E.; Etheridge, S. P.; Tristani-Firouzi, M. *Europace*. **2007**, *9*, 162-166.
240. Sansone, V.; Tawil, R. *Neurotherapeutics*. **2007**, *4*, 233-237.
241. Pyo, Y. J.; Joh, D. H.; Park, J. S.; Lee, S. J.; Lee, H.; Kim, W.; Joung, B. *Korean Circ. J.* **2013**, *43*, 62-65.
242. Nagase, S.; Kusano, K. F.; Yoshida, M.; Ohe, T. *Heart Rhythm*. **2007**, *4(4)*, 512-515.
243. Kieval, R. S.; Johnson N. J.; Rosen, M. R. *J. Am. Coll. Cardiol.* **1986**, *8(3)*, 644-646.
244. Salazar, J.; McKendrick, C. S. *Brit. Heart J.* **1970**, *32*, 377-385.
245. Oreto, G.; Luzzza, F.; Satullo, G.; Coglitore, S.; Schamroth, L. *Am. J. Cardiol.* **1985**, *55*, 1634.
246. Jalife, J.; Antzelevich, C.; Moe, G. K. *Pacing Clin. Electrophysiol.* **1982**, *5*, 911-926.
247. Jalife, J.; Michaels, D. C. *Cardiac Electrophysiology and Arrhythmias*. Editor: Zipes D. P.; Jalife, J.; Orlando, F. L.: Grune and Stratton, **1985**.
248. Langendorf, R.; Pick, A.; Winternitz, M. *Circulation*. **1955**, *11*, 422-430.
249. Glass, L.; Goldgerger, A. L.; Bélair, J. *Am J. Physiol.* **1986**, *251*, H841-H847.
250. Morita, H.; Zipes, D. P.; Morita, S. T.; Wu, J. *Cardiovasc. Res.* **2007**, *75*, 510-518.
251. Tsuboi, M.; Antzelevitch, Ch. *Heart Rhythm*. **2006**, *3(3)*, 328-335.
252. Rodriguez-Contreras.; Nonner, W.; Yamoah, E. N. *J. Physiol.* **2002**, *538*, 729-745.
253. Campbell, D. L.; Giles, W. R.; Shibata, E. F. *J. Physiol.* **1988**, *403*, 239-266.
254. Miake, J.; Marbán, E.; Nuss, H. B. *Nature*. **2002**, *419*, 132-133.
255. Brooks, C. M.; Lu, H-H. *The Sinoatrial Pacemaker of the Heart*, Editor: Thomas, Springfield, Illinois, **1972**.
256. Irisawa, H.; Brown, H. F.; Giles, W. *Physiol. Rev.* **1993**, *73*, 197-227.
257. Erdogan, O.; Aksoy, A.; Turgut, N.; Durusoy, E.; Samsa, M.; Altun, A. *J Electrocardiol.* **2008**, *41*, 325-328.

- 258.** Sumitomo, N.; Shimizu, W.; Taniguchi, K.; Hiraoka, M. *Heart Rhythm*. **2008**, 5(3), 132-133.
- 259.** Radwański, P. B.; Veeraraghavan, R.; Poelzing, S. *Heart Rhythm*. **2010**, 7(10), 1428-1435.
- 260.** Maruyama, M.; Lin, Sh-F.; Chen, P-Sh. *Heart Rhythm*. **2012**, 9(4), 626-627.
- 261.** Sung, R. J.; Wu, Sh-N.; Chen, P-Sh. *Heart Circ. Physiol*. **2006**, 291, H2597-H2605.
- 262.** Seemann, G.; Sachse, F. B.; Weiss, D. L.; Ptáček, L. J.; Tristani-Firouzi, M. *Am. J. Physiol. Heart. Cir. Physiol*. **2007**, 292, H549-H559.
- 263.** Silva, J.; Rudy, Y. *Circ. Res*. **2003**, 92, 261-263.
- 264.** Ben-Naim A.; *A Farewell to Entropy: Statistical Thermodynamics Based on Information*, World Scientific, Singapore, **2008**.
- 265.** Garcia-Touchard, A.; Somers, V. K.; Kara, T.; Nykodym, J.; Shamsuzzaman, A.; Lanfranchi, P.; Ackerman, M. J. *Nat. Pract. Cardiovasc. Med*. **2007**, 4, 284-288.
- 266.** Airey, K.J.; Etheridge, S.P.; Tawil, R. *Heart Rhythm*. **2009**, 6, 1814-1817.
- 267.** Efremidis, M.; Pappas, L.K.; Sideris, A.; Letsas, K. P.; Gavrielatos, G. D.; Kardaras, F. *Int J Cardiol*. **2006**, 112, e45-e47.
- 268.** Kuramoto, Y.; Furukawa, Y.; Yamada, T.; Okuyama, Y.; Fukunami, M. *Am J Med Sci*. **2012**, 344, 248-250
- 269.** Schoonderwoerd, B.A.; Wiesfeld, A.C.; Wilde, A. A.; van den Heuvel, F.; van Tintelen, J. P.; van den Berg, M. P.; van Veldhuisen, D. J.; van Gelder, I. C. *Heart Rhythm*. **2006**, 3, 1346-1350.
- 270.** Björck, A. *Numerical Methods for Least Squares Problems*, SIAM, North-Holland, Amsterdam, **1996**.
- 271.** Newman, M.E.J. *Contemp. Phys*. **2005**, 46, 323.
- 272.** Sung, R.J.; Wu, Sh-N.; Wu, J-Sh.; Chang, H-D.; Luo, Ch-H. *Am J Physiol Heart Circ. Physiol*. **2006**, 291, H2597-H2605.
- 273.** Shimizu, W.; Antzelevitch, Ch. *Circulation*. **1998**, 98, 2314-2322.
- 274.** Tse, H-F.; Xue, T.; Lau, Ch-Pak.; Siu, Ch-W.; Wang, K.; Zhang, Q-Y.; Tomaselli, G.F.; Akar, F.G.; Li, R.A. *Circulation*. **2006**, 114, 1000-1011.
- 275.** Xue, T.; Siu, Ch-W.; Lieu, D-K.; Lau, Ch-P.; Tse, H-F.; Li, R. A. *Circulation*. **2007**, 115, 1839-1850.
- 276.** Azene, E.M.; Xue, T.; Marban, E.; Tomaselli, G.F.; Li, R.A. *Cardiovas. Res*. **2005**, 67(2), 263-273.
- 277.** Fabiato, A. *J Gen Physiol*. **1985**, 85, 247-289.
- 278.** Wier, W.; Egan, T.; Lopez-Lopez, J.; Balke, C. *J. Physiol*. **1994**, 474, 463-471.
- 279.** Williams, G.S.B.; Huertas, M.A.; Sobie, E.A.; Jafri, M.S.; Smith, G.D. *Biophys. J*. **2007**, 92, 2311-2328.
- 280.** Cleeman, L.; Wang, W.; Morad, M. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*. **1998**, 95, 10984-10989.

- 281.** Nolasco, J. B.; Dahlen, R. W. *J. Appl. Physiol.* **1968**, *25*, 191-196.
- 282.** Chialvo, D.R.; Michaels, D.C.; Jalife, J. *Circ. Res.* **1990**, *66*, 525-545.
- 283.** Fox, J. J.; Bodenschatz, E.; Gilmour, R. F. *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *89*, 138101.
- 284.** Hall, G. M.; Gauthier, D. J. *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *88*, 198102.
- 285.** Tolkacheva, E. G.; Romeo, M. M.; Guerraty, M.; Gathier, D. J. *Phys. Rev. E.* **2004**, *69*, 031904.
- 286.** Sun, J.; Amellal, F.; Glass, L.; Billette, J. *J. Theor. Biol.* **1995**, *173*, 79-91.
- 287.** Hassouneh, M.A.; Abed, E.H. *Int J Bifurcation Chaos Appl Sci Eng.* **2004**, *14*, 3303-3315.
- 288.** Cherry, E.M.; Fenton, F.H. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2007**, *292*, H43-H55.
- 289.** Zhao, X.; Schaeffer, D. G.; Berger, C. M.; Krassowska, W.; Gauthier, D. J. *J. Comput. Nonlin. Dyn.* **2008**, *3*, 041004-1.
- 290.** Chen, D.; Wang, H.O.; Chin, Wai. *Proceedings of the IEEE International Symposium on.* **1998**, *3*, 635-638.
- 291.** Gonze, D.; Kaufman, M. Theory of Non-Linear Dynamical Systems, <http://homepages.ulb.ac.be/~dgonze/TEACHING/nonlinear.pdf>, **2012**.
- 292.** Vandenberg, C.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1987**, *84*, 2560-2564.
- 293.** Sobie, E.A. *Biophys. J.* **2009**, *96*, 1264-1274.
- 294.** Mahajan, A.; Shiferaw, Y.; Sato, D.; Baher, A.; Olcese, R.; Xie, L-H.; Yang, M-J.; Chen, P-Sh.; Restrepo, J. G.; Karma, A.; Garfinkel, A.; Qu, Zhilin.; Weiss, J. N. *Biophys. J.* **2008**, *94*, 392-410.
- 295.** Attin, M.; Clusin, W.T. *Biol. Res. Nurs.* **2009**, *11(2)*, 195-207.
- 296.** Laughner, J.I.; Ng F.S.; Sulkin, M.S.; Arthur, R.M.; Efimov, I.R. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2012**, *303(H753-H765)*.
- 297.** Efimov, I.R.; Nikolski, V.P.; Salama, G. *Circ Res.* **2004**, *95*, 21-33.
- 298.** Herron, T.J.; Lee, P.; Jalife, J. *Circ Res.* **2012**, *110*, 609-623.
- 299.** Arora, R.; Das, M.K.; Zipes, D.P.; Wu, J. *Indian Pacing Electrophysiol. J.* **2003**, *3(4)*, 187-196.
- 300.** Rosati, B.; Dong, M.; Cheng, L.; Liou, Sh-R.; Yan, Q.; Park, J.Y.; Shiang, E.; Sanguinetti, M.; Wang, H-Sh.; McKinnon, D. *Physiol. Genomics.* **2008**, *35*, 262-272.
- 301.** Cover, T.M. ; Thomas, J.A.; *Elements of Information Theory*, John Wiley and Sons, Nueva York, **1991**.

APÉNDICE I

En éste apéndice mostramos un argumento analítico que sugiere que la distribución de la envolvente superior de la MIF con patrón de oscilaciones que decaen, sigue una distribución tipo ley de potencia. Supongamos que tenemos alguna cantidad, y , que sigue la distribución exponencial:

$$p(y) \sim \exp(ay) \quad (1)$$

donde a es una constante con valor positivo o negativo. Supongamos que nos interesa alguna otra cantidad x que se encuentra relacionada con y en la forma exponencial: $x \sim \exp(by)$, donde b , es una constante de valor positivo o negativo. Entonces, la distribución de probabilidad de x es:

$$p(x) = \frac{x^{-1+a/b}}{b}, \quad (2)$$

la cual es una ley de potencia con exponente: $\alpha = 1 - a/b$. La forma general de una distribución la cual sigue una distribución de ley de potencia puede ser escrita como:

$$p(x) = cx^{-\alpha}, \quad (3)$$

para algún exponente α . [270] Por otra parte, la MIF está definida como: [300]

$$I(X;Y) = \sum_{x \in \mathbf{R}} \sum_{y \in \mathbf{R}} p(x,y) \log \frac{p(x,y)}{p(x)p(y)},$$

y puede reescribirse como: [301]

$$= E_{p(x,y)} \log \frac{p(X,Y)}{p(X)p(Y)}.$$

De manera que, podemos decir que la MIF tiene la forma general:

$$y = -k \ln x, \quad (5)$$

donde, hemos usado el logaritmo natural, de manera que, x pudiera estar exponencialmente relacionada a y , de la siguiente manera: $x = \exp(-y/k)$. Entonces, si la función de

probabilidad y , es también exponencial como en la ecuación (1), entonces la función de probabilidad de x será una distribución de ley de potencia de la forma (3). Por otra parte, si x sigue una ley de potencia, de la forma (3), la correspondiente función de distribución acumulativa de la frecuencia es [270]:

$$P(x) = c \int_x^{\infty} x'^{-\alpha} dx' = \frac{c}{\alpha - 1} x^{-(\alpha-1)} \quad (6).$$

Entonces, esta distribución (6) también sigue una ley de potencia con un exponente: $\alpha - 1$. Si graficamos $P(x)$ en escala logarítmica tendríamos otra vez una línea recta. El uso de la distribución acumulativa (6), es útil para distinguir el comportamiento tipo ley de potencia y tiene la ventaja sobre otros métodos de que no discrimina información de los datos. Cuando una distribución acumulativa sigue una ley de potencia se dice que sigue una distribución Pareto. El valor α en (6) se obtiene de la siguiente expresión:

$$\alpha = 1 + n \left[\sum_{i=1}^n \ln \frac{x_i}{x_{\min}} \right]^{-1}, \quad (7)$$

donde, $x_i, i = 1 \dots n$, son los valores de x , y x_{\min} es el valor mínimo de x para el cual todavía se cumple la ley de potencia. El error estadístico estimado para α está dado por la siguiente ecuación [270]:

$$\sigma = \sqrt{n} \left[\sum_{i=1}^n \ln \frac{x_i}{x_{\min}} \right]^{-1} = \frac{\alpha - 1}{\sqrt{n}}. \quad (8)$$

A continuación se resumen los pasos que seguimos para confirmar si las envolventes superiores de la MIF obtenida de las series simbólicas analizadas presentaban un comportamiento tipo ley de potencia. Estos pasos están gráficamente representados en la Figura I.

I. Seleccionamos los puntos de la ES de la MIF calculada para cada una de las serie simbólica obtenida de los registro descritos en la Tabla 4.1, Figura I a. Posteriormente, graficamos los valores de las ES versus la distancia k , en escala log-log, de lo cual obtuvimos una línea recta con pendiente, b , y con un coeficiente de determinación, R^2 . Si la $R^2 \geq 0.9$, entonces éste ajuste

representaba un indicador de que las ES podría presentar un comportamiento tipo ley de potencia. Entonces procedimos al paso II.

II. Obtuvimos la función de probabilidad de los puntos de la MIF, Figura I c.

III. En el caso de que la función de probabilidad obtenida en II presentara una forma exponencial entonces, graficamos en escala log-log todos los valores de la MIF *versus* la distancia k . De esta gráfica obtuvimos el valor mínimo x_{\min} , para el cual se cumplía todavía la ley de potencia, Figura I d.

IV. Desarrollamos los pasos II y III utilizando únicamente los valores de las ES en lugar de todos los valores de la MIF y obtuvimos un valor mínimo, x_{\min} . Posteriormente verificamos si los dos valores de x_{\min} , así obtenidos eran semejantes o suficientemente aproximados entre sí. Cuando éstos valores resultaron ser similares, decidimos obtener sistemáticamente el valor de x_{\min} del paso III, lo que consideramos una aproximación robusta pero realista que nos permitió optimizar nuestro algoritmo computacional, Figura I e y f.

V. Finalmente, calculamos la distribución Pareto, de la cual obtuvimos líneas rectas (no mostradas) y el parámetro α , así como el valor de su error estadístico esperado σ .

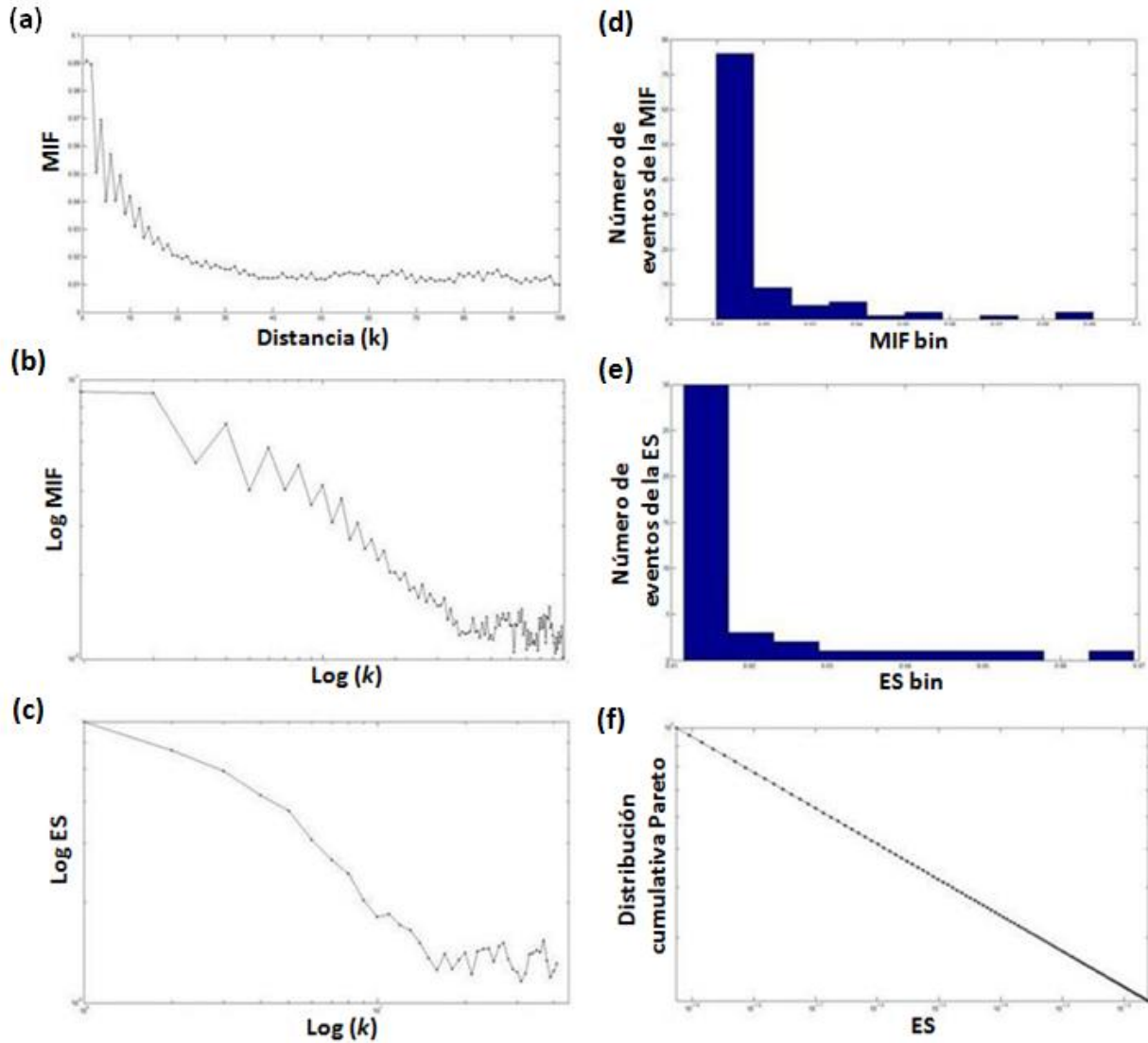


Figura I. (a) Ejemplo de la MIF calculada; (b) función de probabilidad de la MIF; (c) función de probabilidad de la MIF en escala log-log, para obtener el valor x_{min} ; (d) función de probabilidad de la ES; (e) función de probabilidad de la ES en log-log, para obtener el valor x_{min} ; (f) distribución acumulativa Pareto obtenida de la ecuación (6).



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Physica A

journal homepage: www.elsevier.com/locate/physa

Mutual information analysis reveals bigeminy patterns in Andersen–Tawil syndrome and in subjects with a history of sudden cardiac death

Elisa Núñez-Acosta^a, Claudia Lerma^b, Manlio F. Márquez^c, Marco V. José^{a,d,*}

^a Theoretical Biology Group, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CP 04510 México D.F. México

^b Departamento de Instrumentación Electromecánica, Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” Juan Badiano No. 1, Col. Sección 16, México, D.F. CP 14080 México

^c Departamento de Electrocardiología, Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” Juan Badiano No. 1, Col. Sección 16, México, D.F. CP 14080 México

^d Centro Internacional de Ciencias, Campus UNAM-UAEM, Col. Chamilpa, CP 62210, Cuernavaca, Morelos, México

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 October 2010

Received in revised form 22 June 2011

Available online 12 September 2011

Keywords:

Mutual information function

Ventricular bigeminy

Sudden cardiac death

Andersen–Tawil syndrome

Ventricular arrhythmias

Circadian rhythm

ABSTRACT

Herein we introduce the Mutual Information Function (MIF) as a mathematical method to analyze ventricular bigeminy in certain pathological conditions of the heart known to be associated with frequent ventricular arrhythmias. In particular, we show that the MIF is sensitive enough to detect the bigeminy pattern in symbolic series from patients with Andersen–Tawil syndrome as well as in a group of patients from the Sudden Cardiac Death Holter Databases. The results confirm that MIF is an adequate method to detect the autocorrelation between the appearance of sinus and ventricular premature beats resulting in a bigeminy pattern. It is also shown that MIF reflects the bigeminy patterns as a function of the percentage of ventricular premature beats present in the symbolic series and also as a function of the percentage of bigeminy. The MIF was also useful to establish a consistent difference in the bigeminy pattern related to the diurnal and nocturnal periods presumably associated to the circadian rhythm of the heart. Understanding of the ventricular bigeminy patterns throughout 24-hours could provide some insights into the pathogenesis of ventricular tachyarrhythmias in these pathological conditions.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Literature on the mathematical study of the human heart is abundant [1]. The use of mathematical models and statistical analyses are of great importance as we can improve our understanding of the dynamics of the heart in healthy and in non-healthy individuals. These methods are efficient, non-invasive, cheap, and have the potential of making predictions. The mathematical analysis of the ECG signal has a long history [2]. Indeed, there are some mathematical models capable of reproducing the beat to beat time series of different cardiac pathologies [3]. These approaches are based on the appearances of sequences of beats in the ECG and involve some parameters that presumably govern the system. However, these models do not necessarily produce satisfactory fittings to observed data and therefore they are far from explaining the heart dynamic underlying the beat generation. Despite these caveats, the extensive data analyses plus the understanding of the related physiology can assist a suitable perspective to the mathematical modeling of the dynamics embedded in the sequences of

* Corresponding author at: Theoretical Biology Group, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CP 04510 México D.F. México. Tel.: +52555 6223894; fax: +52555 6223894.

E-mail address: marcojose@biomedicas.unam.mx (M.V. José).

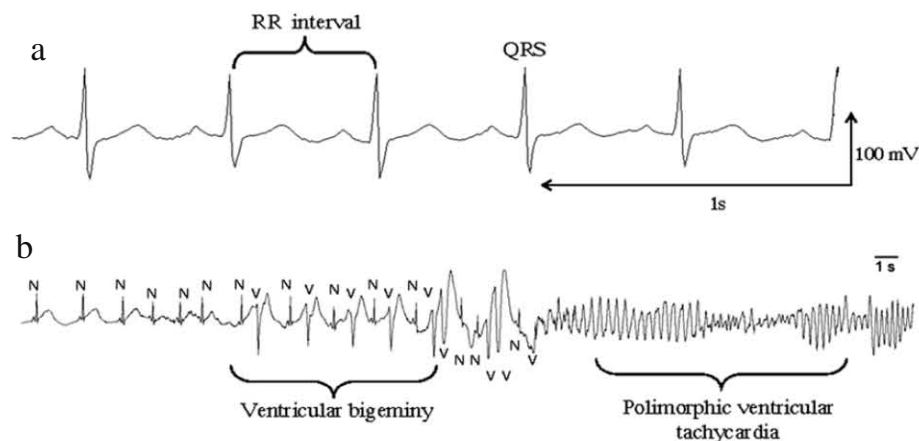


Fig. 1. (a) The electrocardiogram (ECG) of a healthy person; (b) ECG of a patient with Andersen–Tawil Syndrome in which normal (N) and ventricular ectopic (V) beats and an episode of ventricular tachycardia (VT) are shown. Fig. 1(b) was adapted from [7].

beats from different pathologies. Most analyses are over beat to beat time series (RR intervals) that may reflect normal beats and/or an alternation of normal with abnormal heartbeats. The former are originated at the sinus node (the pacemaker of the heart), while the latter are premature beats (also known as ectopic beats) which interrupt the normal sinus rhythm. Each of these types of beats can be characterized by its specific shape in the ECG (Fig. 1).

Sudden cardiac death (SCD) due to cardiac arrhythmias, specifically ventricular tachycardia (VT) or ventricular fibrillation (VF), is highly prevalent in industrialized countries, and mathematical methods able to detect warning dynamics previous to the sudden death episodes become very important [5,6]. The onset of these ventricular arrhythmias could be preceded by bigeminy (the alternation of a normal sinus beat between two ventricular premature beats). Either bigeminy or VT can degenerate into VF which in turns may lead to SCD. Analyses of ECGs and Holter recordings of patients with history of SCD have shown initial persistent extrasystoles with a bigeminy pattern previous to the SCD event [7,8].

The Andersen–Tawil Syndrome (ATS), a channelopathy also known as Long QT Syndrome type 7, is a rare entity with a classical triad of potassium (K^+) sensitive periodic paralysis, ventricular arrhythmias, and an unusual facial appearance. It is ascribed to mutations in the gene *KCNJ2* which encodes the inward rectifying potassium channel Kir2.1, resulting in a dominant negative suppression of Kir2.1 channel function [9,4]. Ventricular arrhythmias are common in ATS (64%) and include ventricular premature beats (VPB), bigeminy and polymorphic VT (three or more consecutive VPBs at a rate of 100 beats per minute) [4,10,11]. The VT is by itself the first sign of risk of SCD (Fig. 1(b)) [5]. Hence, we examined the relationship between the occurrence of bigeminy with the patterns of the Mutual Information Function (MIF) as obtained from symbolic series of patients with ATS and of patients with a history of SCD. The MIF has been used for numerical time series from patients with VPBs in order to distinguish different pathological conditions of the heart [12].

Several methods have been employed in the study of series of RR intervals, including heart rate variability (HRV), wavelet entropy, multiscale entropy, entropy rates, Shannon entropy, scaling properties of HRV (fractal dimension, detrended fluctuation). In general, spectral analysis, semivariograms, rescaled-range, wavelet analysis and Lyapunov exponents, have been used in order to investigate the interbeat time series [13–28].

In many cases, the foregoing methods tacitly assume that all time series come from solely normal beats. However, in pathological cases, the occurrence of ectopic beats cannot be dismissed since they are directly related to the risk of SCD. Therefore, the analyses that consider VPBs may shed some light into the dynamics of different arrhythmias. Only few works had taken into account VPBs seeking patterns that precede VT episodes, including heartprints and heart rate turbulence (HRT) [29–31]. The study of HRT, provides clues to anticipate the risk of ventricular arrhythmias. In some cases the origin of these arrhythmias can be even determined [30]. HRT has become an indicator of risk of mortality and SCD in different cardiac pathologies [31].

The aim of this work is to introduce the use of the MIF as a novel mathematical approach in cardiac research when analysing symbolic time series. This analysis allowed us to establish relationships between the appearance of bigeminy as well as its percentage with qualitative patterns observed in the MIF. In general, the observed pattern of the MIF consists of oscillations which decay as a function of distance and whose higher envelope curves can be fit sometimes to a power-law and/or to a Pareto distribution. The manuscript is organized as follows. First, we describe how we obtained the symbolic series of normal and VPBs and how we used the MIF to detect bigeminy in two groups of patients, one with ATS and another with history of SCD. Secondly, a surrogate analysis was made to determine if the MIF was able to detect actual biological signals. Third, we obtained the MIF as a function of the diurnal and nocturnal periods of ATS and SCD patients; wherever possible, statistical fittings to a power-law and/or to a Pareto distribution of the higher envelope curves of the MIFs were made. To test hypotheses of relative contributions to the MIF of different arrhythmias (e.g. bigeminy, trigeminy, quadrigeminy, etcetera), we developed *ad hoc* programs for masking certain strings of the symbolic sequences. Finally, we discussed our results emphasizing that, to our knowledge, this is the first time in which the MIF has been applied to analyze symbolic series as derived from ECGs of Holter recordings that include the occurrence of VPBs with a pattern of bigeminy.

2. Methods

2.1. Data sources

The MIF of symbolic series was studied from two datasets.

Andersen–Tawil Syndrome Holter database. We included 7 Holter recordings of approximately 23 h each from 3 patients of a family diagnosed with ATS more than 10 years ago [32]. Patient A was a 32 year-old woman with an implanted cardiac defibrillator due to documented polymorphic VT. Patient B was an 18 year-old woman with no history of VT/VF. Patient C was a 7 year-old boy who did not present a history of VT/VF. Holter recordings were obtained as part of the follow-up that these patients received at the Department of Electrocardiology of the Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. A digital Holter recorder (Burdick, Inc. USA) was used to obtain the 24-h recording of 3 channels at a sampling frequency of 128 samples per second. The automatic analysis of arrhythmias and labeling of heartbeats were performed with the program Vision Holter System (Spacelabs), which was supervised by a cardiac electrophysiologist (MFM).

Sudden Cardiac Death Holter database. We selected 13 Holter recordings, each from a different patient, from the SCD Holter database, which is freely available at www.physionet.org [33]. We selected the recordings without ventricular pacing, with documented sustained VT or VF, and where beat labels provided could be visually corroborated. Some clinical details were obtained from the webpage, while others were taken from a previous study of ventricular arrhythmias of the same recordings [7]. In general there were 7 women and 6 men, whose ages ranged from 30 to 89 years, with different clinical histories and medications. As is described on the database of the webpage, the Holters were obtained with 2-channel analog recorders, digitized at 250 samples per second and analysed with automatic software from Physionet, also supervised by a trained technician.

2.2. Procedure to generate the symbolic series

The symbolic series of each Holter recording were obtained by the *identification and labeling of each heartbeat* in the ECG signal (Fig. 1). Normal beats, labeled as N , included all heartbeats originated in the upper chambers of the heart (atria), both during sinus rhythm or atrial fibrillation. In the case of sinus rhythm, they were identified on the ECG by the presence of a P -wave preceding each QRS complex, and a regular rhythm, identified by similar consecutive RR intervals. In the case of atrial fibrillation the beats were identified by the normal features (shape, amplitude and duration) of the QRS complex. VPBs, labeled as V , included all heartbeats originated from the ventricles. They are also referred to as VPB whose QRS shape was markedly different from the normal beats. In particular, they show longer QRS complex duration, are not preceded by P -waves, have a preceding RR interval (coupling interval) shorter than the normal rhythm, and they are followed by an RR interval longer than normal (compensatory pause). The symbolic series consisted of a sequence of heartbeats labeled as N or V . Therefore, the symbolic series are made up of the alphabet $A = \{N, V\}$. In the case of bigeminy, the symbols N and V alternate along the symbolic series, i.e., ... $NVNVNVNVNV$... Other types of arrhythmias with repeating sequences are: trigeminy, where each V alternates with two N beats, i.e., ... $NNVNNVNNVNNV$..., quadrigeminy, where each V alternates with three N beats, i.e., ... $NNNVNNNV$..., and concealed bigeminy, where an odd number of N beats occur between each pair of V beats (e.g. ... $VNVNNNVNVNNNV$...).

2.3. An overview of the mutual information function

Precise indicators of statistical dependences are correlation functions. Assuming ergodicity and stationarity, the usual estimation of autocorrelation functions via averages over a sequence is given by $C(k) = \langle x(n)x(n+k) \rangle - \langle x(n) \rangle \langle x(n+k) \rangle$. Hence, the basic measure of correlation among beats in a symbolic sequence is the correlation function between 4 possible event-pairs:

$$\{C_{\alpha\beta}(k)\} = \{C_{NN}(k), C_{NV}(k), C_{VN}(k), C_{VV}(k)\} \quad \text{with } \alpha, \beta = \{N, V\},$$

each defined as the correlation between beat α and another beat β separated by a distance k :

$$C_{\alpha\beta}(k) = P_{\alpha\beta}(k) - P_{\alpha}P_{\beta},$$

where $P_{\alpha\beta}(k)$ is the joint probability of observing α and β separated by a distance k , and P_{α} and P_{β} are the marginal probabilities of the events α and β . Instead of calculating all correlation functions independently, we used the MIF. Initially the MIF was used to measure the difference between the average uncertainty in the input of an information channel before and after the output were received. A review of its use and properties can be found elsewhere [34]. Lets denote by $A = \{N, V\}$ an alphabet and $s = (\dots, a_0, a_1, \dots)$ an infinite string with $a_i \in A$, $i \in \mathbb{Z}$, where \mathbb{Z} represents the set of all integer numbers and the values of a_i can be repeated. The MIF of the string s is defined as:

$$I(k, s) = \sum_{\alpha \in A} \sum_{\beta \in A} P_{\alpha,\beta}(k, s) \log_2 \left[\frac{P_{\alpha,\beta}(k, s)}{P_{\alpha}(s)P_{\beta}(s)} \right]$$

where $P_{\alpha,\beta}(k, s)$ is the joint probability of having the symbol α followed k sites away by the symbol β on the string s , and $P_{\alpha}(s)$ and $P_{\beta}(s)$ are the marginal probabilities of finding α or β in the string s . By choosing the logarithm in base 2, $I(k, s)$ is measured in bits and gives information on the letter A_{β} knowing the letter A_{α} . The mutual information $I(k, s)$ vanishes if, and

only if, the events are statistical independent, i.e., if all 4 joint probabilities $P_{\alpha,\beta}(k, s)$ factorize. Thus, the MIF is a function capable of detecting any deviation from statistical independence. The function $I(k, s)$ is a measure of the information content of one event α about another event β , that is located at k places from α (or vice versa) in a symbolic series [35]. This function is symmetric, thus $I(\alpha, \beta) = I(\beta, \alpha)$, and hence the amount of information of α about β is equal to the amount of information in β about α . In addition, $I(\alpha, \beta) = I(\beta, \alpha) \geq 0$.

For the analysis presented in this work, the relevant window size of the MIF turned out to be every 100 beats; this means that the maximum value that k can take on was 100. Thus, we calculated the MIF from a symbolic series of patients with ATS and in subjects with a history of SCD for different purposes:

1. To determine if the MIF could reflect the presence of bigeminy. To this end, we calculated the MIF in all the complete symbolic series.
2. To test if there was an association between the MIF and bigeminy in regard to diurnal or nocturnal periods. For this purpose, we divided into two halves the symbolic series of ATS and SCD patients. In this step, we calculated the MIF of representative series recorded during diurnal and nocturnal periods.

2.4. Surrogate data analysis

To test if the MIF from the symbolic series could lead to a biased estimate, we randomized each symbolic series 300 times from which we obtained its average [36]. With this procedure we obtained a null distribution which carried no information [36]. Then, we were able to decide whether the MIF calculated for the original symbolic series was significantly different from the null distribution. In each case, we determined if the calculated MIF would actually contain information about the autocorrelation between the appearance of sinus and ectopic beats with a pattern of bigeminy. It turned out that the bias was not statistically significant and therefore the estimated MIF was left intact. We used the t -test and a p -value of less than 0.05 as statistically significant. To further validate our results, we carried out another statistical test which consisted of generating 300 surrogate series from each original series. We estimated the MIF for each one that led to 300 different distributions of MIF. By sorting out simultaneously each successive point from the MIFs obtained for each surrogate, we noticed that each distribution of the successive points pertained to a normal distribution because of the central limit theorem. Thus, we checked out if the first point of the actual distributions of the MIF calculated for the original time series belonged to the normal distribution generated by the surrogate series. We applied this procedure to all values of the original series. Then we were able to determine whether each value of the original MIF pertained to the different normal distributions generated by all surrogate series. This permitted us to conclude that the estimated MIF for the original series actually contained information about the appearance of patterns of bigeminy.

2.5. Fitting of the MIF

The general form of the MIF obtained from the symbolic series was characterized by an oscillatory decaying pattern, whose higher envelope curves were fitted to a power-law distribution and/or to a Generalized Discrete Pareto (GDP) distribution, wherever possible. This decay was not smooth in some cases, depending upon the percentage of bigeminy and the type of arrhythmias (less winding was associated to both a higher percentage of bigeminy and the lack of other types of arrhythmias, while more winding was influenced by the presence of other types of arrhythmias irrespective of the percentage of bigeminy). In order to characterize the higher envelope, we obtained a log–log plot of the higher envelope curves of $I(k)$ versus k and we fitted the curve to a power-law of the form: $y = cx^\lambda$, where c and λ are constants, λ being a scaling exponent. The goodness of fit was estimated by the coefficient of determination R^2 . If the power-law fit did not result in a straight line then we used a GDP distribution which reads as [37]: $P(X = m) = f(m) := \frac{1}{Z(m+b)^{k+1}}$. The model function f involves two unknown parameters k and b , where $k > 0$ and $b > -1$; Z is the generalized Riemann Zeta-Function value: $Z = \sum_{j=1}^J (j+b)^{-(k+1)}$, where J is the observed maximum of the MIF. The random variable X is the MIF level at a given distance. The argument m denotes a possible value of X . The GDP model for $b \neq 0$ provides the best fit to several empirical MIFs. The parameter k characterizes the skewness of the probability function; the parameter b characterizes the deviation of the GDP distribution from a simple power-law (the GDP with $b = 0$ and $k > 0$). The use of the Pareto distribution was used as a criterion for a better judgment in deciding whether the higher envelope curve of the MIF could be a good candidate for following a power-law-like behavior [38]. Thus, in all cases but one the fitting was applied considering the higher envelope curves. In the only one case (MIF from patient 7, Fig. 4(g)), the fitting was applied exclusively over the maximum relative values.

3. Results

3.1. MIF of symbolic series of patients with Andersen–Tawil Syndrome

In most cases in which bigeminy was present, there was an oscillatory decaying pattern of the MIF, $I(k)$, (Fig. 2) whose higher envelope curves showed a great variability of behaviors and sometimes they followed a power-law and/or a Pareto distribution (Fig. 3(a)). In one case (Fig. 2(e)), the pattern of the MIF was U-shaped (decreased at the beginning, remained constant for a while and later on increased), but the part that increased pertained to the nocturnal period only (see

MIF of symbolic series from ATS patients

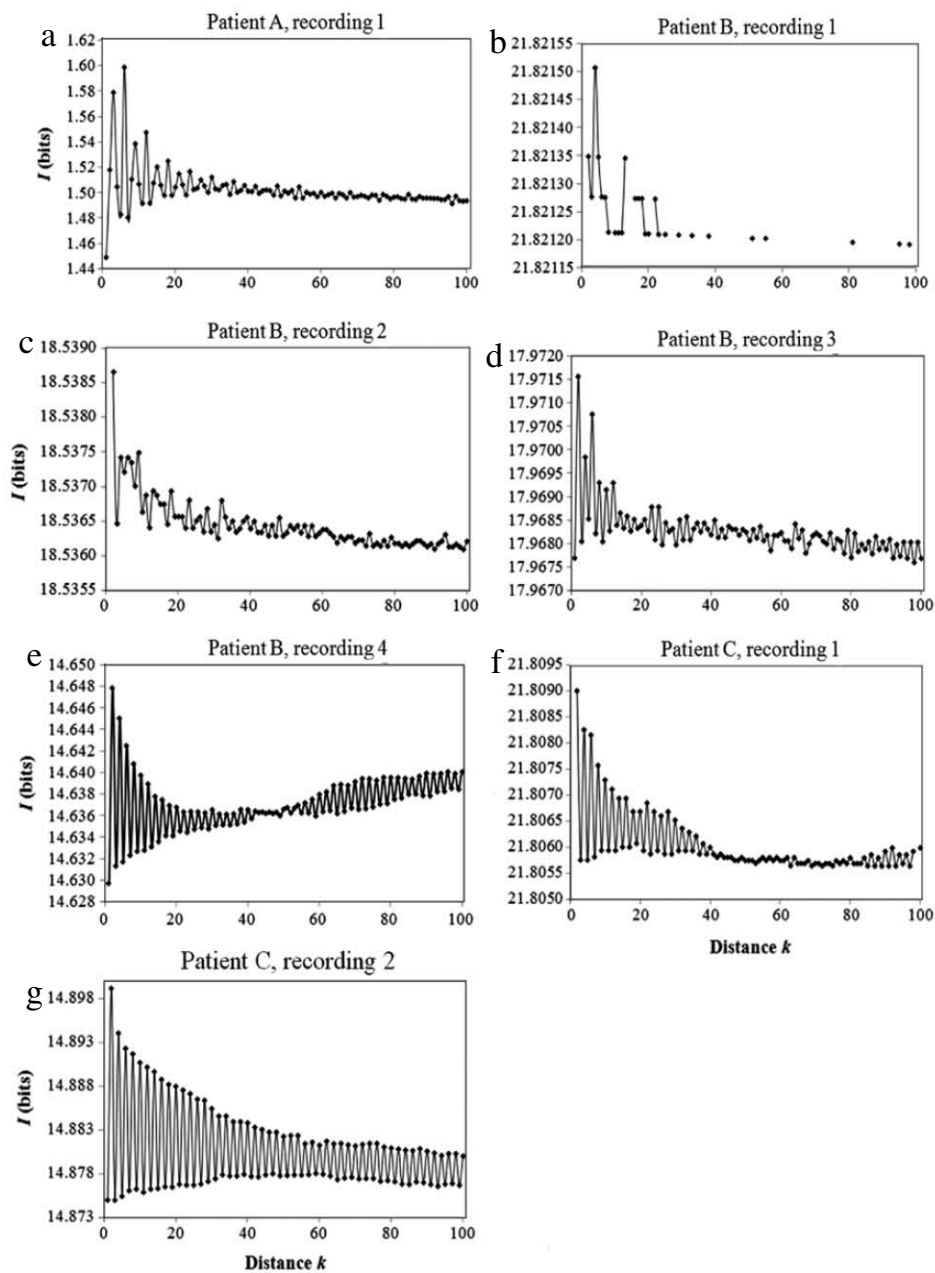


Fig. 2. MIF of symbolic series from ATS patients (Table 1). Note that when bigeminy is present there is a clear oscillatory decaying pattern (a), (c), (d), (f) and (g) whereas when there is no bigeminy (b) there are several fade-outs and there is not a clear oscillatory pattern. In (e) the general trend of the oscillations follows a U-pattern.

below Fig. 6(h)). In Table 1, the percentage of VPBs and bigeminy for all recordings from ATS patients are summarized. Wherever possible, the higher envelope curves were adjusted to both a power-law and to a Pareto distribution. In patient A recording 1, the higher envelope curve was adjusted to a power-law with $R^2 = 0.8752$, whereas the statistical fitting to a Pareto distribution was improved with $R^2 = 0.993$ (see Fig. 3 and Table 1). The range of R^2 , evaluated from the power-law fitting of the higher envelope curve of the MIF for ATS patients was from 0.9189 to 0.993 whereas in the scaling exponent λ the range was $(-0.0003, -0.00004)$. For patient A recording 1, the scaling exponent of the Pareto distribution was $b = -0.4975$. Rigorously those fitting with $R^2 \geq 0.9$ for either power-law or Pareto distribution may be considered as good candidates for following these distributions.

On the other hand, in the cases where there were VPBs but there was no bigeminy, then the MIF had many values equal to zero, which indicated the absence of correlations among beats, and hence the MIF pattern was not apparent (Fig. 2(b)). For these cases the fittings were not possible (e.g. patient B, recording 1, Table 1). The higher envelope curve of the MIF from patient B recording 4 decreased during the first part and it increased afterwards. Thus, this envelope curve could not be fitted to a power-law or to a GDP (Fig. 2(e) and Table 1). This behavior is discussed in Section 4.

Fittings of higher envelope curves to a power-law or Pareto distribution from MIF of ATS patients

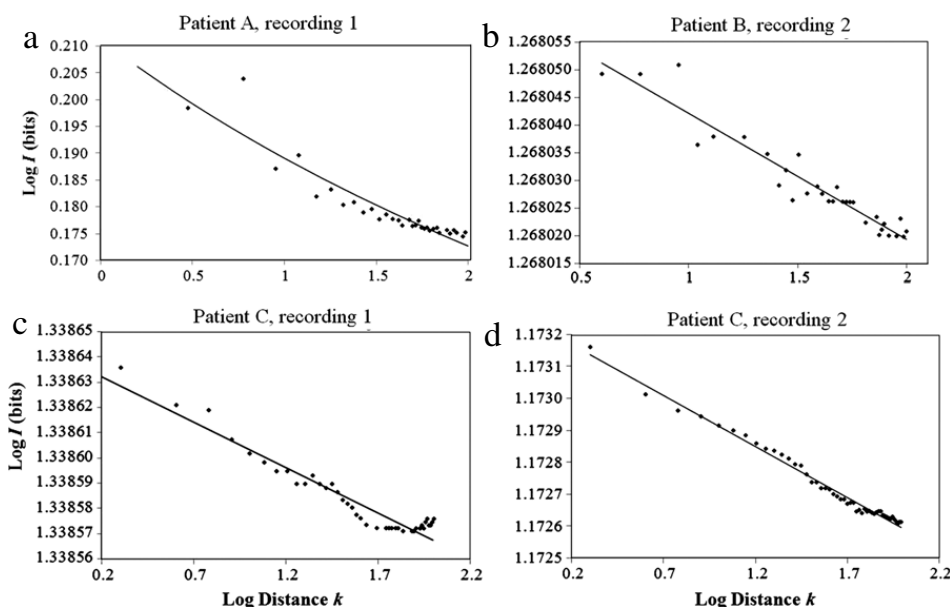


Fig. 3. The higher envelope curves of MIF, $I(k)$, were fit to a power-law (b, c and d) or Pareto (a) distributions from each recording of patients with ATS. In (a) patient A recording 1 had 26% of VPB with 20% of bigeminy (b) patient B recording 2 with 0.2% of VPB and 20% of bigeminy (c) patient B recording 3 had 0.2% of VPB with 25% of bigeminy (d) patient C recording 1 with 0.1% of VPB and 71% of bigeminy (e) patient C recording 2 with 0.5% of VPB and 66% of bigeminy. Recordings 1, 3 and 4 of patient B did not adjust to a power-law or Pareto distribution.

Table 1

Percentage of bigeminy from recordings of ATS patients and the coefficient of determination (R^2), evaluated from the power-law or Pareto fittings to the higher envelope curve of the MIF for each patient.

Patient	VPB (%)	Bigeminy (%)	Coefficient of determination (R^2)
A recording 1	26	20	0.993
B recording 1	0.1	0	None
B recording 2	0.2	20	0.9189
B recording 3	0.2	25	None
B recording 4	0.6	53	None
C recording 1	0.1	71	0.927
C recording 2	0.5	66	0.9867

3.2. MIF of symbolic series of patients with a history of sudden cardiac death

In almost all cases, the MIF obtained from symbolic series of patients with SCD that presented bigeminy, showed an oscillatory decaying pattern whose higher envelopes followed a power-law or a GDP distribution (Fig. 4(a), (b), (g)–(j), (l) and (m)).

In Fig. 5 we present the cases in which the fittings to a power-law or to a GDP evaluated over the higher envelope curves of $I(k)$ from recordings of patients with a history of SCD, were significant (the clinical details of all cases evaluated and the coefficient of determination, R^2 , are summarized in Table 2).

There is a variation of the decay when bigeminy is present, but most of the higher envelope curves were fitted to a power-law or to a GDP distribution (see Table 2). The range of values of the scaling exponent λ for SCD patients was $(-0.0102, -0.0004)$. For patient 2, the scaling exponent of the Pareto distribution was, $b = -8.0931$. The range of R^2 , evaluated from the power-law or from the GDP fittings of the higher envelope curve of the MIF for patients with a history of SCD ranged from 0.9059 to 0.998. In particular, the values of R^2 that corresponded to better fittings, tended to occur when the percentage of bigeminy increased and when the cases presented bigeminy only (patients 2, 9 and 10; see Table 2 and Fig. 5(b), (e) and (f)). These 3 patients showed an oscillatory pattern of the MIF whose higher envelope curve decayed following a power-law or a GDP distribution but showed practically no windings (see Fig. 4(b), (i) and (j)).

Another observed trend in the absence of bigeminy and other kinds of arrhythmias, was that the MIF could show an erratic behavior or present several fade-outs (values equal to zero), which indicated that there were no correlations among the beats. Particularly, there were 4 patients, that in spite of showing VPBs did not present bigeminy. VPBs from patients 3 and 4 did not show any kind of arrhythmia and their distribution of MIF did not show a discernible pattern (Fig. 4(c) and (d)). In contrast, patient 6 had trigeminy, quadrigeminy and concealed bigeminy altogether, in such a way that the MIF pattern showed irregular oscillations (Fig. 4(f)). Patient 11 presented trigeminy and concealed bigeminy, in such a manner

Table 2

Percentage of bigeminy from recordings of patients with a history of SCD and the coefficient of determination (R^2), evaluated from the power-law or Pareto fittings of the higher envelope curve of the MIF for each case.

Patient	VPB (%)	Bigeminy (%)	Persistent ventricular arrhythmias	Coefficient of determination (R^2)
1	6	1	Bigeminy, trigeminy and concealed bigeminy	0.9059
2	5	69	Bigeminy	0.998
3	3	0	None	None
4	1	0	None	None
5	1	6	Bigeminy, concealed bigeminy	None
6	7	0	Trigeminy, quadrigeminy, concealed bigeminy	None
7	10	45	Bigeminy, quadrigeminy and concealed bigeminy	0.9831 ^a
8	1	30	Bigeminy and concealed bigeminy	0.9888
9	14	80	Bigeminy	0.9844
10	36	96	Bigeminy	0.9937
11	3	0	Trigeminy and concealed bigeminy	None
12	5	10	Bigeminy and concealed bigeminy	None
13	13	38	Bigeminy and trigeminy	0.9378

^a The fitting was made upon the maximum relative values of the MIF.

that the pattern of MIF consisted of two alternating cycles of different magnitudes, one that decayed stepwise and other that displayed a rhythmic oscillation until both embedded cycles converge (Fig. 4(k)). Thus, the corresponding envelope curves of MIF of patients 3, 4, 6 and 11 did not adjust to a power-law or to GDP distributions (Table 2). It is possible to obtain different patterns of MIF related to different arrhythmias and/or combinations of them. This was observed in patients 1, 7, 8, 12 and 13, (Fig. 4(a), (g), (h), (l) and (m)). The MIF of these patients presented not only oscillations corresponding to bigeminy but also other features related to other types of arrhythmias reflected as non-uniform decays or slight windings or embedded oscillations. The fittings of the higher envelope curves of these patients (except patient 12) adjusted significantly to a power-law and/or to GDP distributions (Fig. 5(a), (c), (d), (e), (f), (g) and (b), Table 2).

Another interesting observation is the MIF evaluated for patient 7 who presented bigeminy, quadrigeminy and concealed bigeminy (Fig. 4(g)). In the distribution of values of the MIF two different embedded oscillations were observed, one that decreased in a power-law-like manner and the other which increased (Fig. 4(g)). Thus, we contended that the oscillations that decrease would correspond to a pattern of bigeminy, while the oscillations that increase would correspond to quadrigeminy and concealed bigeminy. To test this hypothesis, we masked the bigeminy sequences, i.e. we replaced the strings “VNV” with strings in lower cases “vnv”. Similarly, in order to mask quadrigeminy sequences, we replaced the strings “VNNNV” with strings in lower cases “vnnav”. Unexpectedly, the decaying pattern was not due to bigeminy but rather to quadrigeminy and the oscillatory increases were due to bigeminy. This is in agreement with the observation that ventricular quadrigeminy could also be a manifestation of concealed bigeminy [39]. Therefore, the higher envelope curve of MIF in this case would correspond to concealed bigeminy which also fitted a power-law (Fig. 5(c)).

Finally, patient 5 who presented bigeminy and concealed bigeminy, had initially an oscillatory decaying pattern and an irregular behavior afterwards (Fig. 4(e)). The envelope curve of this patient did not fit a power-law or a GDP distribution (Table 2).

3.3. The MIF as a function of the diurnal and nocturnal periods of ATS and SCD patients

In this section, we explored if there was a relationship of the MIF of patients with ATS and with history of SCD in regard to the diurnal and nocturnal periods. It was possible to obtain the MIF for all ATS patients for both diurnal and nocturnal periods with the exception of patient C, recording 1 for which the MIF was obtained for the nocturnal period only (Fig. 6). For all ATS patients the MIFs of the diurnal period were different from those obtained for the nocturnal period. In fact, either the diurnal or the nocturnal periods generated MIF patterns which resembled the ones observed for their corresponding complete recording of ~23 h.

In Fig. 7 we show some fittings of the higher envelope curves of the MIF in order to evaluate the circadian cycles of ATS patients. Patients B recording 3, and C recordings 1, who presented bigeminy, displayed envelopes curves whose fitting better corresponded to the nocturnal periods (Fig. 7(c), (e) and Table 3). Patient A recording 1, fitted a Pareto distribution better than to power-law for the diurnal period (Fig. 7(a)). In patient B recording 1, who had VPBs but no bigeminy, no fitting was made (not shown) (Table 3), whereas, for patients B recordings 2 and 4, and C recording 2, who presented bigeminy, the best fit corresponded to the diurnal periods (Fig. 7(b), (d), (f) and Table 3). The corresponding values of the coefficient of determination, R^2 , obtained from fittings of the envelopes curves of the MIF, calculated according to diurnal and nocturnal periods for patients with ATS are summarized in Table 3. The values of the scaling exponent λ for the diurnal period ranged from -0.0005 to -0.00009 , whereas for the nocturnal period the values are -0.00004 and -0.00009 . For patient A recording 1 in the diurnal period, the scaling exponent of the Pareto distribution was $b = -0.6765$.

In Fig. 8 and Table 4, we show the MIFs from patients with a history of SCD (patients 2, 7, 8, 10, and 12) as a function of the circadian cycles (12 h. approx.) whose higher envelope curves were adjusted to a power-law or to a GDP. The MIF for SCD patients whose relative maximum values could not be fitted to a power-law or to a GDP distribution (patients 3,

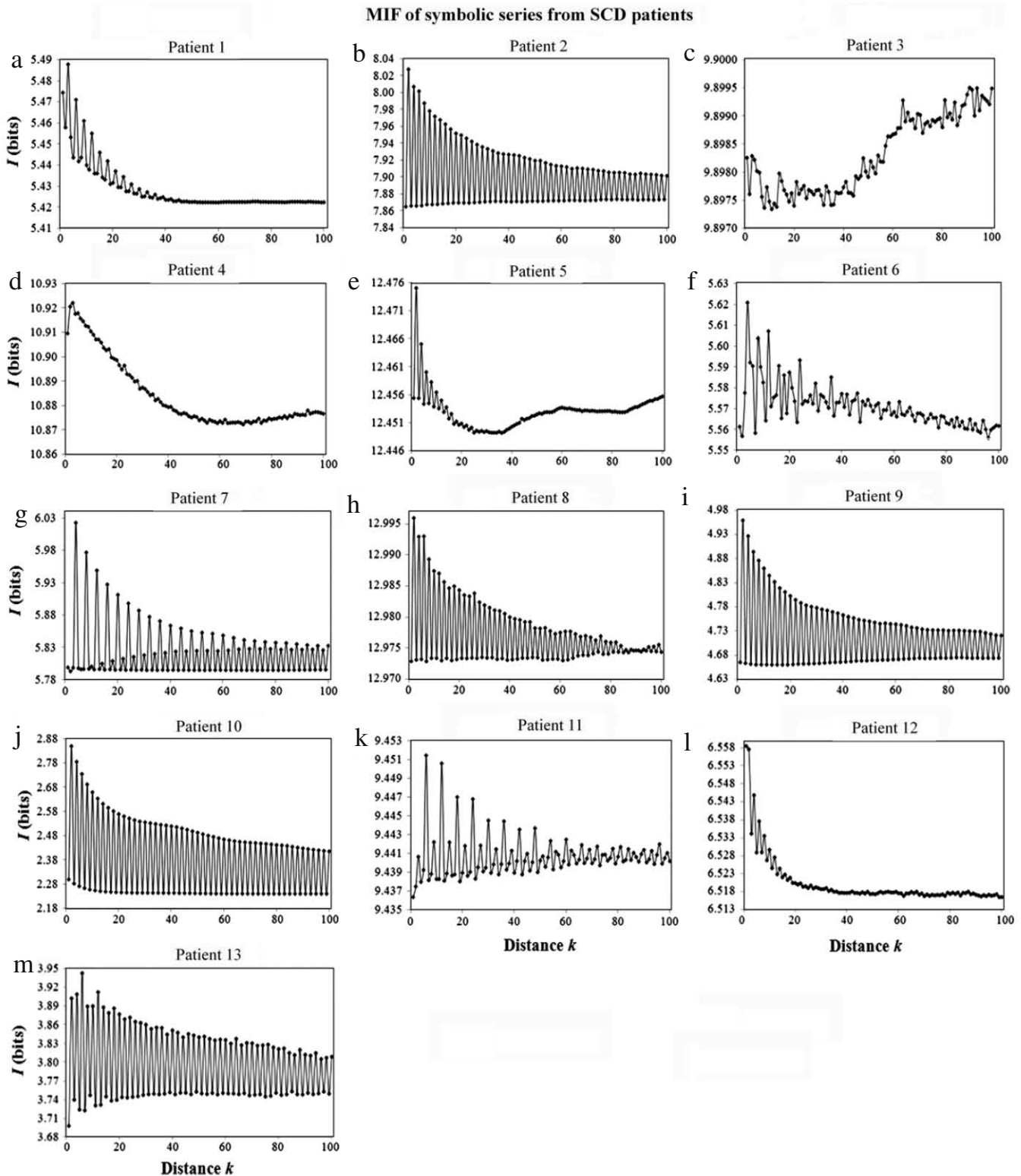


Fig. 4. MIF of symbolic series from 13 SCD patients (Table 2). For a more detailed description of these plots see Section 3.2.

4, 5, 11, and 12) are not shown. Patients 3 and 4 did not show any kind of arrhythmias in spite of showing VPBs while the MIF of patient 5 showed a W-shaped-like pattern. Patient 11 did show trigeminy and concealed bigeminy but not bigeminy. Patients 1, 6, 9 and 13 had registries of about only 10 h which did not permit the MIF analysis in terms of the circadian cycle.

For SCD patients the MIFs of the diurnal period were different from those obtained for the nocturnal period only for patients 8 (Fig. 8(e) and (f)) and 12 (Fig. 8(i) and (j)). In general, the MIFs obtained from the entire series (approx. 23 h) turned out to be similar either to the diurnal and/or nocturnal periods. Therefore the whole pattern is not governed by a particular circadian cycle.

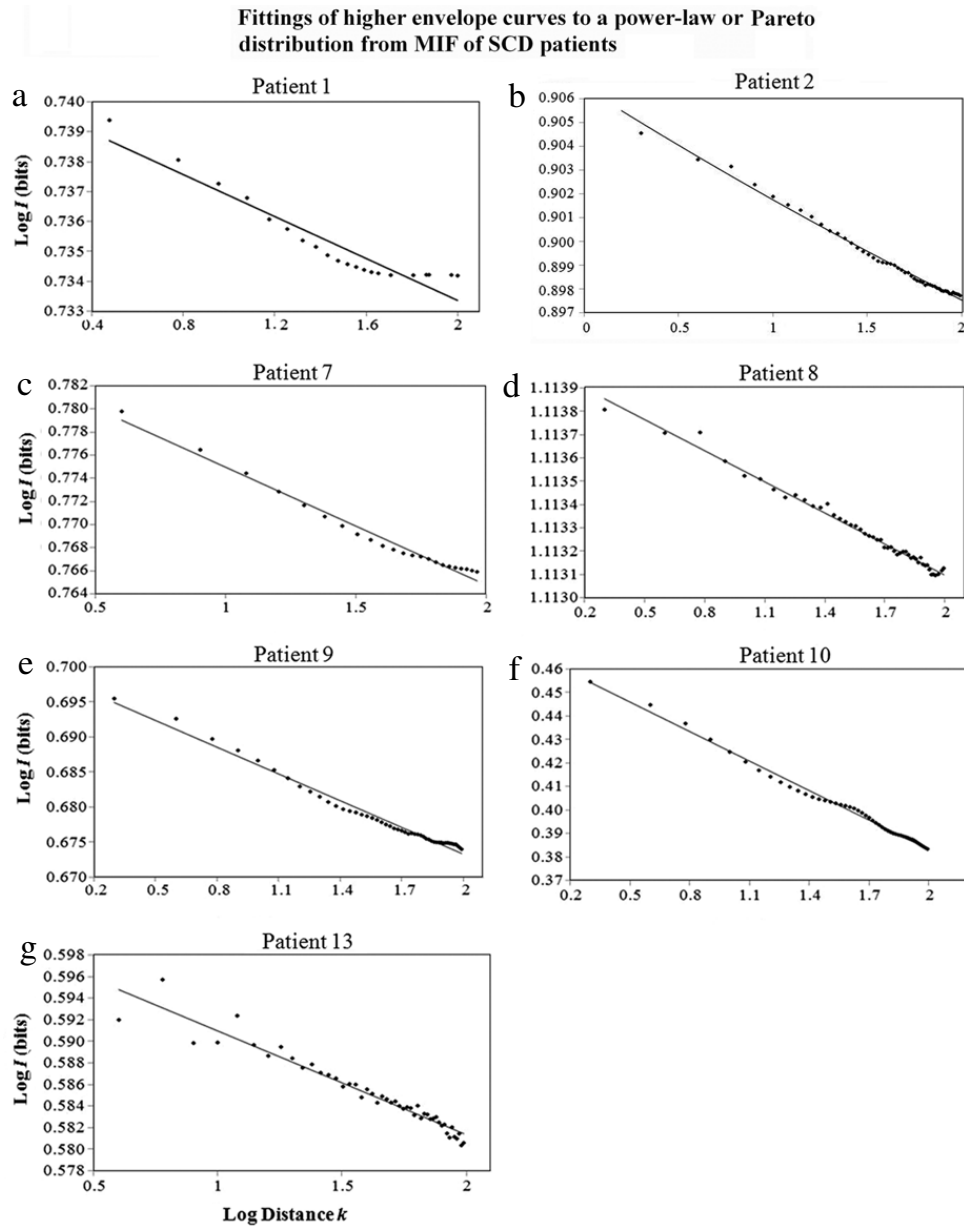


Fig. 5. The power-law (a, c, d, e, f and g) or Pareto (b) distribution, adjusted to the higher envelope curves of MIF, $I(k)$, obtained from each recording of patients with history of SCD. In (a) patient 1 had 6% of VPB with 1% of bigeminy; (b) patient 2 with 5% of VPB and 69% of bigeminy; (c) patient 7 with 10% of VPB and 45% of bigeminy; (d) patient 8 with 1% of VPB and 30% of bigeminy; (e) patient 9 had 14% of VPB with 80% of bigeminy; (f) patient 10 had 36% of VPB with 96% of bigeminy; (g) patient 12 had 5% of VPB with 10% of bigeminy; (h) patient 13 had 13% of VPB with 38% of bigeminy.

Table 3

Coefficient of determination of the fittings to a power-law or Pareto fittings of the MIF for the diurnal and nocturnal periods in patients with ATS.

Patient	Holter recording	Period of day		
		Diurnal (approx. 10 am–10 pm)	Nocturnal (approx. 10 pm–10 am)	Persistent ventricular arrhythmia
		Coefficient of determination (R^2)	Coefficient of determination (R^2)	
A	1	0.88	None	Bigeminy
B	1	None	None	None
	2	0.9	None	Bigeminy
	3	None	0.9047	Bigeminy
	4	0.9315	None	Bigeminy
C	1	None	0.9287	Bigeminy
	2	0.9837	None	Bigeminy

MIF of symbolic series from patients with ATS, as a function of circadian cycles

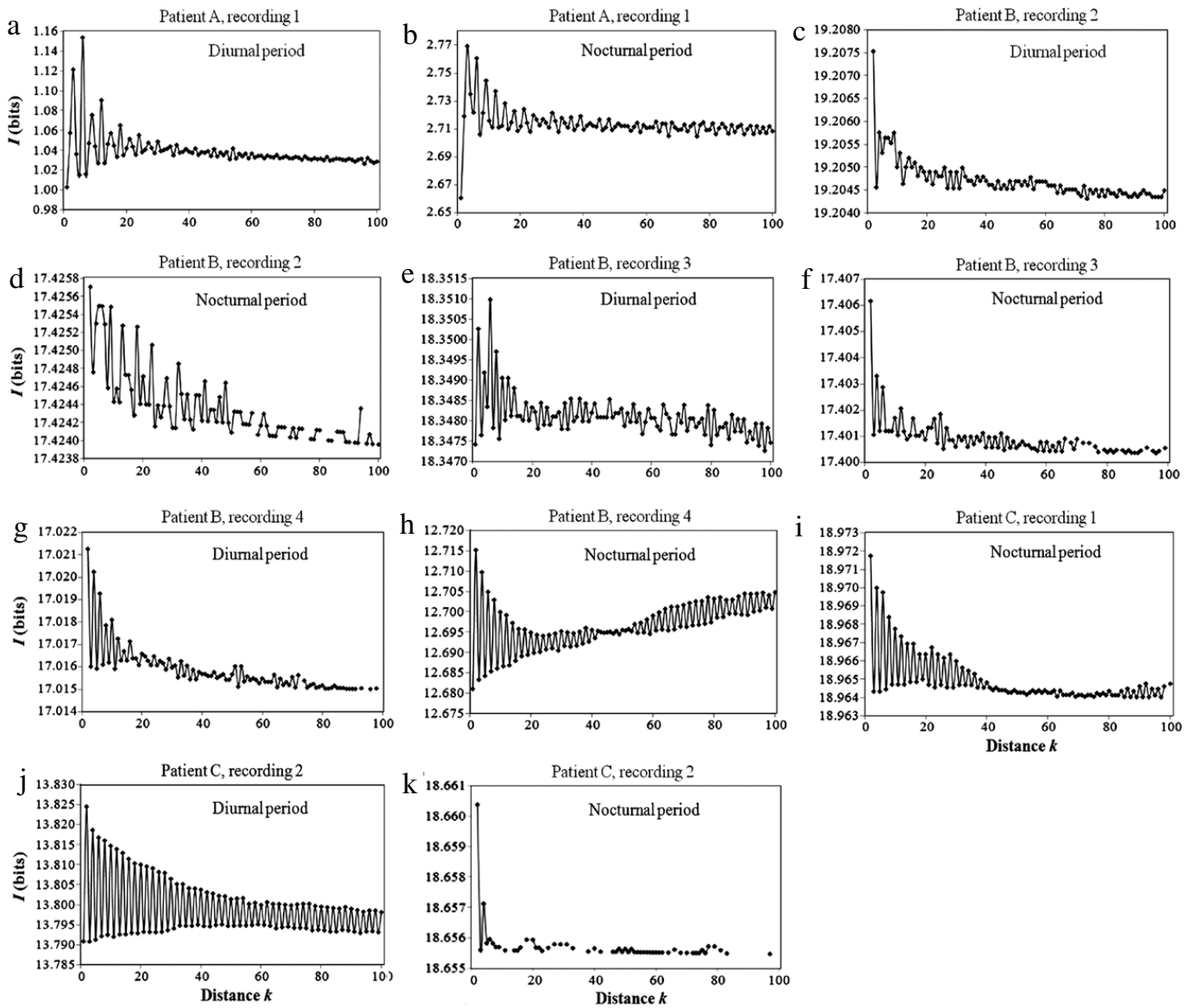


Fig. 6. MIF of symbolic series from patients with ATS as a function of the circadian cycles (see also Table 3). For a more detailed description of these plots see Section 3.3.

Table 4

Coefficient of determination of the fittings to a power-law distribution of the MIF for the diurnal and nocturnal periods in subjects with a history of SCD.

Patient	Diurnal period (approx. 10 am–10 pm) Coefficient of determination (R^2)	Nocturnal period (approx. 10 pm–10 am) Coefficient of determination (R^2)	Persistent ventricular arrhythmias
1	X		Bigeminy, trigeminy, concealed bigeminy
2	0.9864	0.9533	Bigeminy
3	None	None	None
4	None	None	None
5	None	None	Bigeminy, concealed bigeminy
6	X		Trigeminy, quadrigeminy, concealed bigeminy
7	0.9671	0.9886	Bigeminy, quadrigeminy and concealed bigeminy
8	0.9613	None	Bigeminy and concealed bigeminy
9	X		Bigeminy
10	0.9644	0.9916	Bigeminy
11	None	None	Trigeminy and concealed bigeminy
12	None	None	Bigeminy and concealed bigeminy
13	X		Bigeminy and trigeminy

The X indicate that the recording was obtained only for the diurnal period, thus the circadian fitting was not evaluated.

Fittings of higher envelope curves to a power-law or Pareto distribution from MIF of ATS patients as a function of circadian rhythm

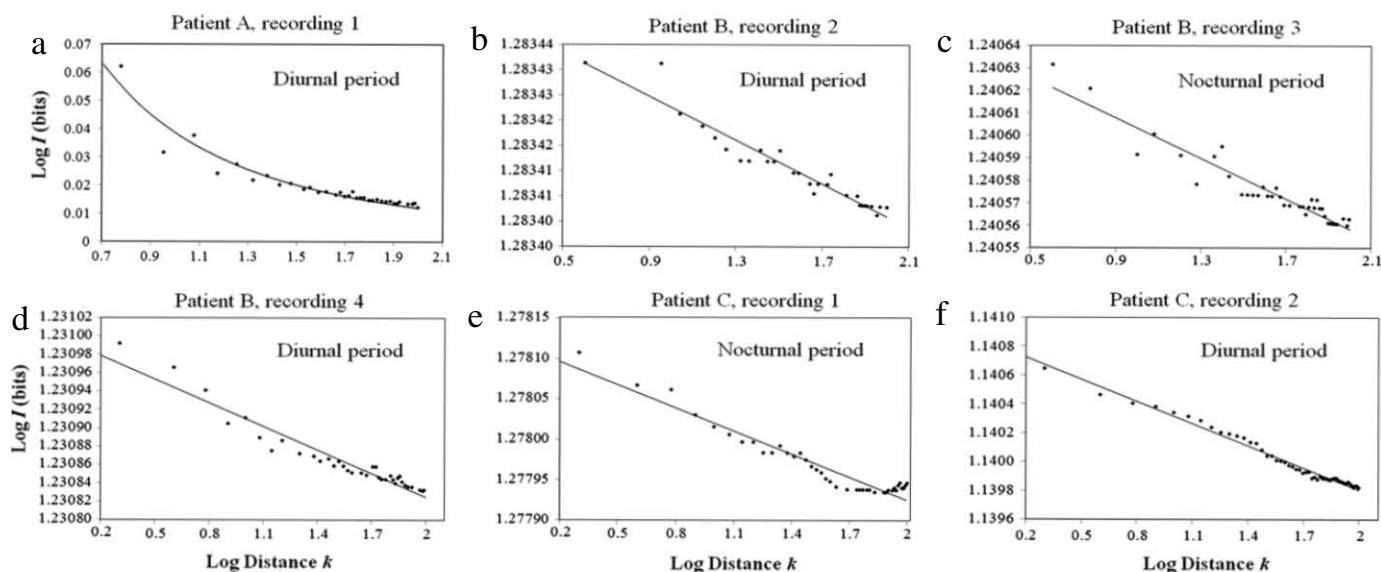


Fig. 7. The power-law (b, c, d, e and f) or Pareto (a) distributions, adjusted to the higher envelope curves of MIF, $I(k)$, obtained from each recording of patients with ATS as a function of the circadian cycle (diurnal or nocturnal). Patient B, recordings 2 (b) and 4 (d), patient A recording 1 (a), and patient C recording 2 (f), presented the best fittings of their respective higher envelope curve at the diurnal period; while, patient B recording 3 (c), and patient C recordings 1 (e), presented the best fittings over the higher envelope curves in the nocturnal period. For patient B recording 1, there was a lack of fitting since bigeminy was not present at all (not shown).

The fittings to a power-law distribution of the higher envelope curves of the MIF for diurnal and nocturnal periods of patient 2 (Fig. 9(a) and (b)), patient 7 (Fig. 9(c) and (d)), and patient 10 (Fig. 9(f) and (g)), were statistically significant. In contrast, in patient 8, the best fit to a power-law distribution corresponded only to the diurnal period (Fig. 9(e)). The same fittings for the remaining patients were not performed since we had only recordings corresponding to 10 h approximately. The values of the coefficient of determination, R^2 , obtained by fitting the envelopes curves of MIF, calculated according to diurnal and nocturnal periods for patients with history of SCD are summarized in Table 4. The values of the scaling exponent λ for the diurnal period ranged from -0.0057 to -0.0008 , whereas for the nocturnal period the values ranged from -0.1417 to -0.0007 .

4. Discussion

In this work, we show that there are specific MIF patterns related to the presence of bigeminy as recorded from the ECGs of Holter recordings from patients with ATS and from subjects with history of SCD. In all cases with bigeminy, the MIFs showed an oscillatory decaying pattern. The higher envelope curve of the MIF was sometimes fitted either to a power-law or to a GDP distribution. The MIF reflects not only bigeminy but also trigeminy, quadrigeminy and concealed bigeminy, as well as combinations of them. When only bigeminy is present the rhythmic oscillatory decay is clearly distinguished. In our work, 85.7% of the ATS recordings and 69.2% of the SCD recordings displayed bigeminy and all of them had a MIF with an oscillatory decaying pattern. We also point out that 67% of ATS and 78% of SCD patients who presented bigeminy showed statistically significant fittings to a power-law or to a GDP distribution of the higher envelope curves of their corresponding MIFs. When the percentage of bigeminy in ATS patients was greater than 20% (except patient B recording 3), the correlation coefficients (R^2) were of the order of 0.92 or higher (Table 1). For SCD patients, we observed R^2 greater than 0.98, when the percentage of bigeminy was above only 30% (Table 2) and greater than 0.93, when the percentage was above 38%.

Healthy individuals, with an exclusive sinus rhythm, will have a symbolic series composed by a series of only N 's and therefore the information content that we could extract from the MIF is simply zero. Therefore, the MIF is suitable for detecting departures from healthy status, i.e. for certain heart diseases that manifest VPBs. These results can only be achieved if the symbolic series, instead of the numerical ones, are used. Our results cannot be attained by applying the MIF to numerical time series since the observed patterns of bigeminy would be blurred by the high HRV. In this manner, the use of the MIF casts light upon the dynamics of bigeminy and other types of arrhythmias. It is intriguing that the MIF values are relatively high and the MIF oscillates in a very short range (around decimals or centesimals) indicating both a high information content as well as a high sensitivity of the MIF. A larger sample size is needed in order to provide reliable confidence intervals.

The MIF was also useful for examining the relative contributions of the observed oscillations due to diurnal and nocturnal recordings. In general, the pattern of the MIF for whole recordings that lasted from 20 to 24 h showed the typical oscillatory decaying dynamics. If we split the symbolic series into the diurnal and nocturnal intervals, we observed that the whole

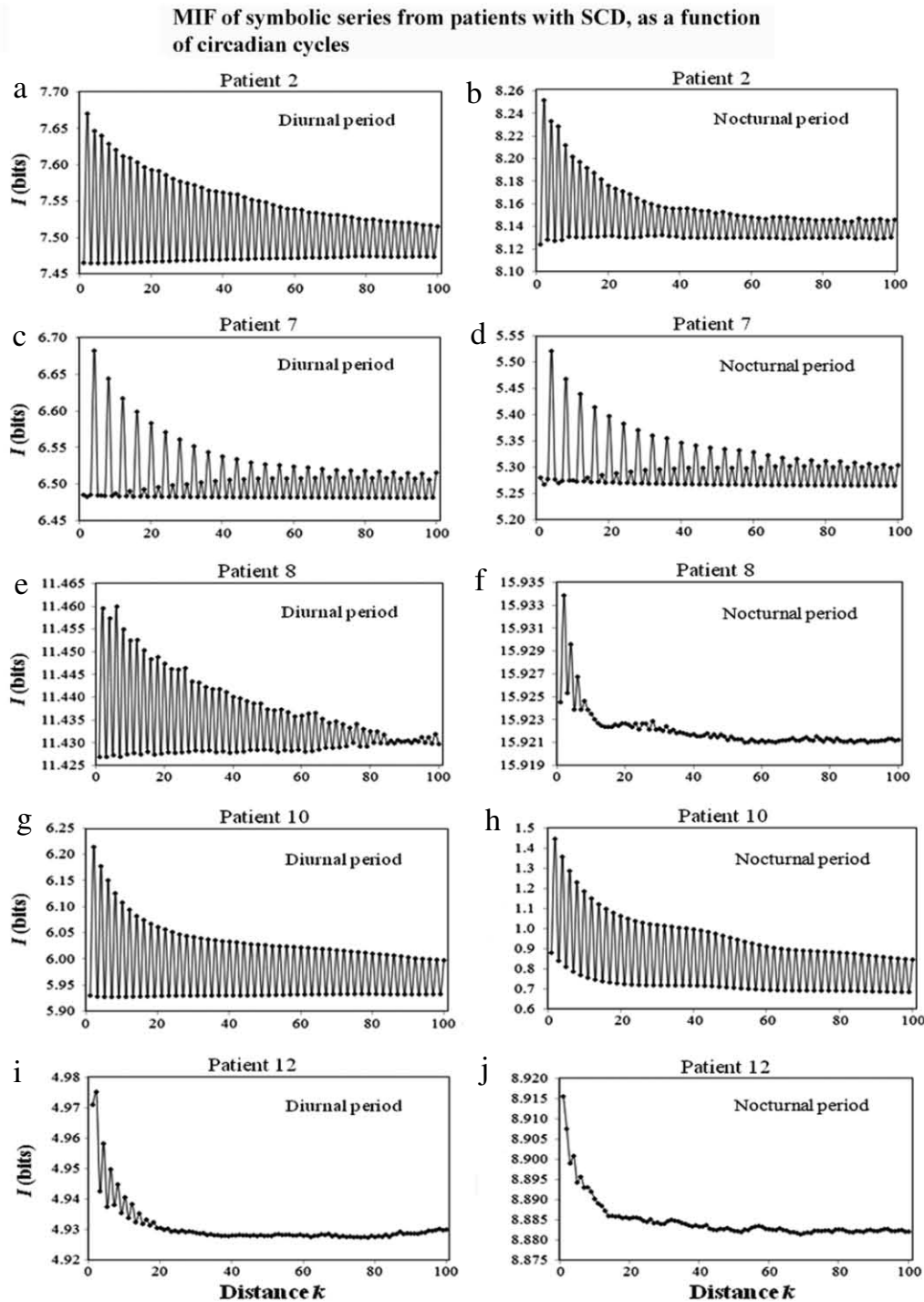


Fig. 8. MIF of symbolic series from patients with SCD as a function of the circadian cycles (see also Table 4). For a more detailed description of these plots see Section 3.3.

pattern of the MIF is reproduced in either or both of these intervals (see Figs. 6 and 8). However, there was a case in which the pattern of the MIF was U-shaped, i.e. there was an initial oscillatory decaying pattern, followed by a relatively constant region and an increase afterwards. The last increase disappeared only when the analysis was made for the diurnal period but the whole pattern persisted for the nocturnal period, ruling out that the increase at large distances could have arisen as a biased estimate. Furthermore, it is known that if the MIF decays very slowly (power-law function with very small exponent), binary sequences can be considered as *symbolic 1/f noise* [35]. In here, we have a U-shape MIF which is not consistent with the idea that the increase is due to symbolic noise. Therefore, it is likely that nocturnal arrhythmic events may be correlated with the ones that occur during the nocturnal period itself (see Fig. 6(h)). In fact, it has been demonstrated that the episodes with ventricular arrhythmias and the risk of SCD in patients with ATS increase during REM sleep, presumably due to the intermittent relationship between sympathetic and parasympathetic tone [40]. It has also been observed that long-range correlations reminiscent of the wake state can be encountered in the REM sleep period [26]. Then the U-shaped

Fittings of higher envelope curves to a power-law distribution from MIF of SCD patients as a function of circadian rhythm

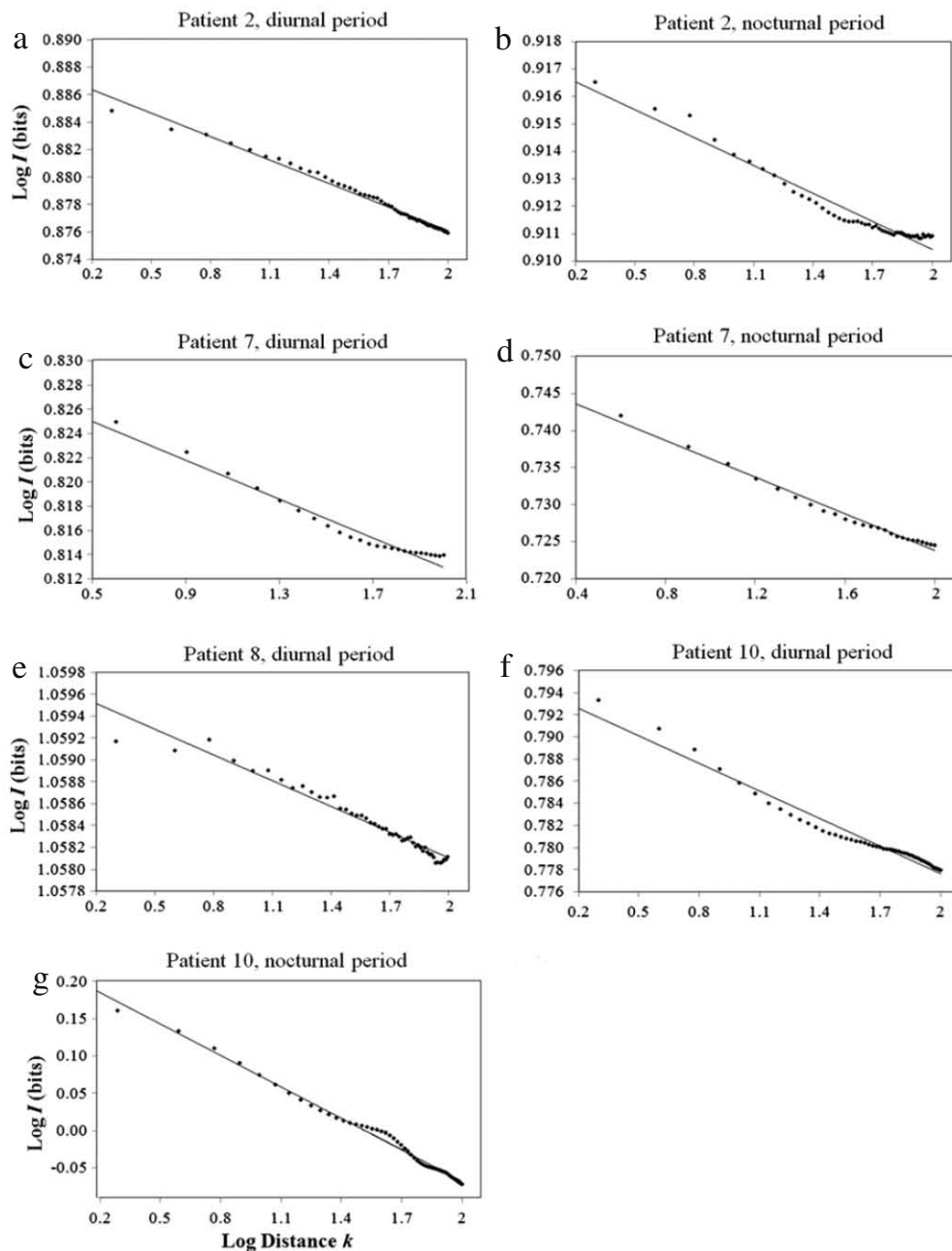


Fig. 9. Fittings to a power-law distribution, for both the diurnal and nocturnal periods of the higher envelope curves of MIF, $I(k)$, obtained from each recording of patients with SCD. Patient 2 diurnal period (a) and nocturnal period (b); patient 7 diurnal period (c) and nocturnal period (d); and patient 10 diurnal period (f) and nocturnal period (g). Patient 8 (e) showed the best fitting to a power-law distribution for the diurnal period. In contrast, patients 3, 4 and 11, who had no bigeminy, did not present any statistically significant fitting (not shown). Despite patient 5 presenting 6% of bigeminy, there was no fitting at all. Finally, for patients 1, 6, 9 and 13, we had only the diurnal recordings, and hence the circadian preferential fitting could not be determined.

pattern may be an actual biological signal that needs further experimental and theoretical modeling. On the other hand, differences of scaling properties of HRV as a function of the wake-sleep states, and which are related to the presence of ventricular arrhythmias have been reported [25]. In this way, the MIF could indeed be a good indicator for studying the effect of the circadian cycle upon bigeminy patterns.

In many patients, bigeminy is the first arrhythmia that heralds the SCD. Thus, it is important to understand the various processes related to bigeminy at different levels. Several different hypotheses have been put forward in order to explain the underlying mechanisms of bigeminy, amongst which are: the reentry, the parasystole, and triggering mechanisms. In the reentry model, there is a unidirectional block, associated to a retrograde propagation after a long ventricular pause. This retrograde propagation causes the occurrence of a VPB, after which there is a long compensatory pause until a normal beat ensues. These long pauses perpetuate the occurrence of bigeminy but when these pauses abbreviate, bigeminy ceases [41].

During a parasytote an independent pacemaker different to the sinus node, and with a different frequency, appears and it competes for the activation of the ventricles [42]. VPBs in ATS are an example of triggered activity. The reduction of the current I_{K1} in ATS prolongs the terminal repolarization phase of the action potential (AP), during which a spontaneous AP can be triggered. This trigger could be facilitated by the prolongation of an RR interval [7]. If this AP happens before the end of the repolarization phase, this is dubbed an early afterdepolarization (EAD). But if this AP occurs after the repolarization phase, this is named a delay after depolarization (DAD). These triggering mechanisms are responsible for bigeminy under this hypothesis. These triggering mechanisms as generators of ventricular arrhythmias or bigeminy have been experimentally [43,44] and theoretically supported [45]. Further, it has been shown in clinical settings that ATS patients can undergo DAD [46]. Depending upon the particular mechanism that generates bigeminy the most appropriate treatment can be administered. However, we are still far from elucidating these mechanisms, and modeling ongoing efforts are underway in our group.

In this work, we have ushered in the use of the MIF in symbolic series for recognizing harbingers of bigeminy patterns. In this context, the MIF could be used to estimate the statistical correlations that a symbolic series should present in order to be considered as a representative series in which bigeminy occurs. The MIF is also sensitive enough for discriminating other kinds of arrhythmias. This is the case of the MIF of patient 7 (see Fig. 4(g)), in which two types of oscillations coexist, ones that look like bigeminy and the others might be related to the presence of quadrigeminy and concealed bigeminy. In fact, it has been proposed that quadrigeminy could be a manifestation of concealed bigeminy [39], in such a way that the second type of oscillations could be a manifestation of concealed bigeminy only. In this work we masked a given string in order to elucidate the relative contributions of the combination of different types of arrhythmias (e.g. bigeminy, trigeminy, quadrigeminy). Further work in this topic is also underway.

In conclusion, the MIF is capable of detecting statistical correlations between normal and ectopic beats (VPBs) distributed in a symbolic series with a bigeminy pattern. The MIF is sensitive enough for detecting other types of arrhythmias and combinations of them. The distribution of the MIF when only bigeminy is present turned out to be clearly distinguished.

Acknowledgments

M.V.J. was financially supported by PAPIIT IN205307, and by the Multiproject: Tecnologías para la Universidad de la Información y la Computación, UNAM, Mexico. We thank Tzipe Govezensky for helpful discussions and Juan R. Bobadilla for preparing the first database of the surrogate analysis. MFM thanks Manuel Cárdenas, M.D. for his insightful discussions regarding the mechanisms of ventricular arrhythmias and Iris Cázares, M.D. for her assistance on data collection of ATS patients.

References

- [1] D. Noble, Modeling the heart, *Physiology* 19 (2004) 191–197.
- [2] G.D. Clifford, F. Azuaje, P.E. McSharry (Eds.), *Advanced Methods and Tools for ECG Data Analysis*, Artech House Publishing, Boston, 2006.
- [3] V. Schulte-Frohlinde, Y. Ashkenazy, A.L. Goldberger, P.C. Ivanov, M. Costa, A. Morley-Davies, H.E. Stanley, L. Glass, Complex patterns of abnormal heartbeats, *Phys. Rev. E* 66 (2002) 031901-1–031901-12.
- [4] L. Zhang, D.W. Benson, M. Tristani-Firouzi, L.J. Ptacek, R. Tawil, P.J. Schwartz, A.L. George, M. Horie, G. Andelfinger, G.L. Snow, Y.-H. Fu, M.J. Ackerman, G.M. Vincent, Electrocardiographic features in Andersen–Tawil syndrome patients with KCNJ2 mutations, *Circulation* 111 (2005) 2720–2726.
- [5] H.V. Huikuri, A. Castellanos, R.J. Myerburg, Sudden death due to cardiac arrhythmias, *N. Engl. J. Med.* 345 (20) (2001) 1473–1482.
- [6] D.P. Zipes, H.J.J. Wellens, Sudden cardiac death, *Circulation* 98 (1998) 2334–2351.
- [7] C. Lerma, C.H.F. Lee, L. Glass, A.L. Goldberger, The rule of bigeminy revisited: analysis in sudden cardiac death syndrome, *J. Electrocardiol.* 40 (2007) 78–88.
- [8] Z.J. Zheng, J.B. Croft, W.H. Giles, G.A. Mensah, Sudden cardiac death in the United States 1989 to 1998, *Circulation* 104 (2001) 2158–2163.
- [9] A.H. Smith, F.A. Fish, P.J. Kannankeril, Andersen–Tawil syndrome, *Indian Pacing Electrophysiol. J.* 6 (1) (2006) 32–43.
- [10] S. Peters, E.S. Bahr, S.P. Etheridge, M. Tristani-Firouzi, Sudden cardiac death in Andersen–Tawil syndrome, *Europace* 9 (2007) 162–166.
- [11] M. Tristani-Firouzi, J.L. Jensen, M.R. Donaldson, V. Sansone, G. Meola, A. Hahn, S. Bendahhou, H. Kwiecinski, A. Fidzianska, N. Plaster, Y.-H. Fu, L.J. Ptacek, R. Tawil, Functional and clinical characterization of KCNJ2 mutations associated with LQT7 (Andersen syndrome), *J. Clin. Investig.* 110 (3) (2002) 381–388.
- [12] M. Osaka, H. Saitoh, T. Yokoshima, H. Kishida, H. Hayakawa, R.J. Cohen, Nonlinear pattern analysis of ventricular premature beats by mutual information, *Methods Inf. Med.* 36 (4–5) (1997) 257–260.
- [13] P. Bernáola-Galván, P.C. Ivanov, L.A.N. Amaral, E. Stanley, Scale invariance in the nonstationarity of human heart rate, *Phys. Rev. Lett.* 87 (16) (2001) 168105-1–168105-4.
- [14] L. Shiyang, Y. Ming, L. Cuncen, Analysis of heart rate fluctuation based on wavelet entropy, *Fluct. Noise Lett.* 7 (2007) L135–L142.
- [15] M. Costa, A.L. Goldberger, C.-K. Peng, Multiscale entropy analysis of biological signals, *Phys. Rev. E* 71 (2005) 021906-1–021906-18.
- [16] J.F. Valencia, M. Vallverdú, R. Schroeder, A. Voss, R. Vázquez, A.B. de Luna, P. Caminal, Complexity of the short-term heart-rate variability, *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.* 28 (6) (2009) 72–78.
- [17] E. Tejera, A. Plain, A. Portelinha, J.L.H. Caceres, I. Rebelo, J.M. Nieto-Villar, Heart rate variability complexity in the ageing process, *Comput. Math. Methods Med.* 8 (4) (2007) 287–296.
- [18] J. Kurths, A. Voss, P. Saparin, A. Witt, H.J. Kleiner, N. Wessel, Quantitative analysis of heart rate variability, *Chaos* 5 (1) (1995) 88–94.
- [19] D. Cysarz, H. Bettermann, P. van Leeuwen, Entropies of short binary sequences in heart period dynamics, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 278 (2000) 2163–2172.
- [20] L. Guzmán-Vargas, E. Calleja-Quevedo, F. Angulo-Brown, Fractal changes in heart rate dynamics with ageing and heart failure, *Fluct. Noise Lett.* 3 (1) (2003) L83–L89.
- [21] P.C. Ivanov, L.A.N. Amaral, A.L. Goldberger, S. Havlin, M.G. Rosenblum, Z.R. Struzik, H.E. Stanley, Multifractality in human heartbeat dynamics, *Nature* 399 (1999) 461–465.
- [22] L.A.N. Amaral, A.L. Goldberger, P.C. Ivanov, H.E. Stanley, Scale-independent measures and pathologic cardiac dynamics, *Phys. Rev. Lett.* 81 (11) (1998) 2388–2391.

- [23] C.-K. Peng, J.M. Hausdorff, A.L. Goldberger, Fractal mechanisms in neural control: human heartbeat and gait dynamics in health and disease, in: *Nonlinear Dynamics, Self-organization and Biomedicine*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2000.
- [24] A.L. Goldberger, L.A.N. Amaral, J.M. Hausdorff, P.C. Ivanov, C.-K. Peng, H.E. Stanley, Fractal dynamics in physiology: alterations with disease and ageing, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (suppl. 1) (2002) 2466–2472.
- [25] P.C. Ivanov, A. Bunde, L.A.N. Amaral, S. Havlin, J. Fritsch-Yelle, R.M. Baeovsky, H.E. Stanley, A.L. Goldberger, Sleep-wake differences in scaling behavior of the human heartbeat: analysis of terrestrial and long-term space flight data, *Europhys. Lett.* 48 (5) (1999) 594–600.
- [26] A. Bunde, S. Havlin, J.W. Kantelhardt, T. Penzel, J.-H. Peter, K. Voigt, Correlated and uncorrelated regions in heart-rate fluctuations during sleep, *Phys. Rev. Lett.* 85 (17) (2000) 3736–3739.
- [27] P.E. McSharry, B.D. Malamud, Quantifying self-similarity in cardiac inter-beat interval time series, *Comput. Cardiol.* 32 (2005) 459–462.
- [28] W. Zhenzhou, L. Zheng, W. Yixiang, N. Xinbao, L. Yuzheng, Lyapunov exponents for synchronous 12-lead ECG signals, *Chinese Sci. Bull.* 47 (21) (2002) 1845–1848.
- [29] C. Lerma, N. Wessel, A. Schirdewan, J. Kurths, L. Glass, Ventricular arrhythmias and changes in heart rate preceding ventricular tachycardia in patients with an implantable cardioverter defibrillator, *Med. Biol. Eng. Comput.* 46 (2008) 715–727.
- [30] A. Iwasa, M. Hwa, A. Hassankhani, T. Liu, S.M. Narayan, Abnormal heart rate turbulence predicts the initiation of ventricular arrhythmias, *PACE* 28 (2005) 1189–1197.
- [31] M.A. Watanabe, Heart rate turbulence: a review, *Indian Pacing Electrophysiol. J.* 3 (1) (2003) 10–22.
- [32] S. Canún, N. Pérez, L.G. Beirana, Andersen syndrome autosomal dominant in three generations, *Am. J. Med. Genet.* 85 (2) (1999) 147–156.
- [33] A.L. Goldberger, L.A.N. Amaral, L. Glass, J.M. Hausdorff, P.C. Ivanov, R.G. Mark, J.E. Mietus, G.B. Moody, C.-K. Peng, H.E. Stanley, PhysioBank, PhysioToolkit, PhysioNet: components of a new research resource for complex physiologic signals, *Circulation* 101 (23) (2000) e215–e220.
- [34] C.E. Shannon, A mathematical theory of communication, *Bell Syst. Tech. J.* 27 (1948) 379–423. 623–656.
- [35] W. Li, Mutual information function vs. correlation functions, *J. Stat. Phys.* 60 (5–6) (1990) 823–837.
- [36] P. Wallisch, M. Lusignan, M. Benayoun, T.I. Baker, A.S. Dickey, N.G. Hatsopoulos, *Matlab for Neuroscientists*, Elsevier, Amsterdam, 2009.
- [37] N.L. Johnson, N.L. Johnson, S. Kotz, N. Balakrishnan, *Discrete Multivariate Distributions*, Wiley, New York, 1997.
- [38] M.E.J. Newman, Power laws, Pareto distributions and Zipf's law, *Contemp. Phys.* 46 (2006) 323–351.
- [39] N. Kerin, I. Mori, M.N. Levy, Ventricular quadrigeminy as a manifestation of concealed bigeminy, *Circulation* 52 (1975) 1023–1029.
- [40] A. Garcia-Touchard, V.K. Somers, T. Kara, J. Nykodym, A. Shamsuzzaman, P. Lanfranchi, M.J. Ackerman, Ventricular ectopy during REM sleep: implications for nocturnal sudden cardiac death, *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 4 (5) (2007) 284–288.
- [41] R. Langendorf, A. Pick, M. Winternitz, Mechanisms of intermittent ventricular bigeminy: I. Appearance of ectopic beats dependent upon length of the ventricular cycle, the “rule of bigeminy”, *Circulation* 11 (1955) 422–430.
- [42] A. Pick, Parasystole, *Circulation* 8 (1953) 243–252.
- [43] H. Morita, D.P. Zipes, S.T. Morita, J. Wu, Mechanism of U wave and polymorphic ventricular tachycardia in a canine tissue model of Andersen–Tawil syndrome, *Cardiovasc. Res.* 75 (2007) 510–518.
- [44] G.-R. Li, C.-P. Lau, A. Ducharme, J.-C. Tardif, S. Nattel, Transmural action potential and ionic current remodeling in ventricles of failing canine hearts, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 283 (2002) H1031–H1041.
- [45] R.J. Sung, S.-N. Wu, J.-S. Wu, H.-D. Chang, C.-H. Luo, Electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmias in relation to Andersen–Tawil syndrome under conditions of reduced IK1: a simulation study, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 291 (2006) H2597–H2605.
- [46] S. Nagase, K.F. Kusano, M. Yoshida, T. Ohe, Electrophysiologic characteristics of an Andersen syndrome patient with KCNJ2 mutation, *Heart Rhythm* 4 (4) (2007) 512–515.