

TESIS DOCTORAL

Título

“Espectros de Frecuencia y Patrones de las Ondas de Propagación Eléctrica en el Entendimiento de la Fibrilación Auricular Paroxística y Persistente: Implicaciones en el Desarrollo de Nuevas Estrategias Terapéuticas”.

Title

“Frequency Analysis and Patterns of Electrical Waves Propagation to Understand Paroxysmal and Persistent Atrial Fibrillation: Implications in the Development of New Therapeutic Strategies”

Autor

David Filgueiras Rama

Directores

José Jalife

Omer Berenfeld

Tutor

Rafael Peinado Peinado

Agradecimientos

Al Dr. y Prof. Rafael Peinado Peinado por su capacidad docente más allá del ámbito intelectual y científico, pero sobre todo por el modelo ejemplar de doctrina hacia quienes pretendemos, a lo largo de nuestra vida, aportar conocimiento a las generaciones venideras.

Al Dr. y Prof. José Jalife por su ejemplo y dirección hacia la excelencia conservando el respeto, el compañerismo y el trabajo en equipo como elementos fundamentales del progreso humano.

Al Dr. y Prof. Omer Berenfeld por su tutela directa en aspectos básicos del conocimiento científico y el análisis crítico de resultados. Muy especialmente agradezco su apoyo y confianza firme en los momentos más difíciles del aprendizaje y obtención de resultados.

A todos los miembros del “Center for Arrhythmia Research” de la University of Michigan, por su ayuda imprescindible en la elaboración de este trabajo. Muy especialmente a los Drs. Steven Ennis y Raphael Martins por su compromiso diario y capacidad de sacrificio en beneficio de todo un equipo de personas e investigadores excelentes.

A mis padres, hermanos y familiares por su apoyo incondicional y ejemplo de superación frente a las dificultades que existen en cualquier ámbito de la vida. Igualmente por su entusiasmo y alegría por todos los logros y progresos que poco a poco suponen el premio al esfuerzo y la dedicación a una vocación por el conocimiento y ayuda a los demás.

A todos aquellos amigos, conocidos y encuentros casuales que a lo largo de mi vida me han hecho romper barreras, conocer nuevas perspectivas y puntos de vista, especialmente a través de la crítica constructiva y el refuerzo positivo.

Índice

1. **Introducción general.**
2. **Mecanismos implicados en la iniciación y mantenimiento de la fibrilación auricular.**
 - 2.1 **Clasificación de la fibrilación auricular.**
 - 2.2 **Mecanismos generales de las arritmias: Implicaciones en la fibrilación auricular.**
 - 2.2.1 **Formación anormal del impulso; automatismo anormal.**
 - 2.2.2 **Actividad desencadenada.**
 - 2.2.3 **Reentrada.**
 - 2.3 **Teorías actuales para explicar la fibrilación auricular.**
 - 2.4 **Mecanismos iónicos involucrados en la modulación de la dinámica de rotores.**
3. **Métodos generales.**
 - 3.1 **Mapeo óptico en corazones aislados.**
 - 3.1.1 **Extracción del corazón y perfusión en el sistema Langendorff.**
 - 3.1.2 **Fibrilación auricular con aumento de presión intracavitaria en el corazón aislado y perfundido en el sistema de Langendorff.**
 - 3.1.3 **Fibrilación auricular con acetilcolina en el corazón aislado y perfundido en el sistema de Langendorff.**
 - 3.1.4 **Procedimiento de mapeo óptico.**
 - 3.2 **Análisis espectral.**
 - 3.3 **Análisis de los patrones dinámicos de activación durante fibrilación auricular.**
 - 3.3.1 **Generación de mapas de fase.**
 - 3.3.2 **Caracterización de los patrones de activación.**
 - 3.3.3 **Análisis de direccionalidad de las ondas activación.**
 - 3.4 **Modelo de fibrilación auricular paroxística y persistente *in vivo*.**
 - 3.4.1 **Determinación de los valores de frecuencia dominante *in vivo*.**

- 3.4.2 Evaluación de la eficacia en la substracción del complejo QRS-T.
 - 3.5 Cambios estructurales en fibrilación auricular persistente.
 - 3.6 Simulaciones computacionales.
 - 3.6.1 Simulaciones en el modelo de fibrilación auricular paroxística.
 - 3.6.2 Simulaciones en el modelo de fibrilación auricular persistente.
 - 3.7 Determinación de biomarcadores, análisis de Western Blotting, aislamiento celular y electrofisiología celular, y RT-PCR.
4. Resumen de los trabajos compendiados.

*(Como primer autor y contribuciones significativas en la misma línea de investigación) * Equal contribution.*

- 4.1 La cloroquina termina la fibrilación auricular con aumento de presión intracavitaria de forma más eficaz que la flecainida en el modelo de corazón de oveja. **David Filgueiras-Rama**, Raphael P. Martins, Sergey Mironov, Masatoshi Yamazaki, Conrado J. Calvo, Steve R. Ennis, Krishna Bandaru, Sami F. Noujaim, Jérôme Kalifa, Omer Berenfeld y José Jalife. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2012;5;561-570.
- 4.2 Patrones de actividad ectópica y reentrante en la pared posterior de la aurícula izquierda durante fibrilación auricular con aumento de presión intracavitaria. Yamazaki M*, **Filgueiras-Rama D***, Berenfeld O, Kalifa J. *Prog Biophys Mol Biol.* 2012;110;269-77.
- 4.3 Terminación de la fibrilación auricular paroxística en el corazón de cerdo mediante una estrategia basada en las diferencias presentes entre aurículas y ventrículos en las propiedades de los canales iónicos. Sandeep V. Pandit*, Sharon Zlochiver*, **David Filgueiras-Rama**, Sergey Mironov, Masatoshi Yamazaki, Steven R. Ennis, Sami F. Noujaim, Antony J. Workman, Omer Berenfeld, Jerome Kalifa y José Jalife. *Cardiovasc Res* 2011;89;843-851.
- 4.4 Los gradientes de frecuencia mantenidos en el tiempo durante fibrilación auricular persistente en el modelo animal de oveja se asocian a fuentes estables en la aurícula izquierda. **David Filgueiras-Rama***, Nicholas F. Price*, Raphael P. Martins, Masatoshi Yamazaki, Uma Mahesh R. Avula, Kuljeet Kaur, Jérôme Kalifa, Steven R. Ennis, Elliot Hwang, Vijay Devabhaktuni, Jose Jalife y Omer Berenfeld. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5;1160-7.
- 4.5 La tasa de incremento de los valores de frecuencia dominante en el tiempo predice la transición de la fibrilación auricular paroxística a fibrilación auricular persistente de larga duración. Raphael P. Martins, Kuljeet Kaur, Elliot Hwang, Rafael J. Ramirez, B. Cicero Willis, **David Filgueiras-Rama**, Steven R. Ennis, Yoshio Takemoto, Daniela Ponce-Balbuena, Manuel Zarzoso, Ryan P.

O'Connell, Hassan Musa, Guadalupe Guerrero-Serna, Uma Mahesh R. Avula, Michael F. Swartz, Sandesh Bhushal, Makarand Deo, Sandeep V. Pandit, Omer Berenfeld y José Jalife. *Circulation*. 2014. *Epub ahead of print*.

5. Discusión global de los resultados de los trabajos compendiados.

5.1 *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012;5:561-570.

5.1.1 Porqué la cloroquina resulta más efectiva que la flecainida en la terminación de los episodios de fibrilación auricular en el contexto de aumento de presión intracavitaria?

5.1.2 Implicaciones clínicas de los efectos de la cloroquina en la terminación de la fibrilación auricular.

5.2 *Prog Biophys Mol Biol*. 2012;110:269-77.

5.3 *Cardiovasc Res* 2011;89;843-851.

5.3.1 Puede ser el bloqueo de I_{Kur} un objetivo en el tratamiento antiarrítmico de la fibrilación auricular?

5.3.2 Implicaciones de la hiperpotasemia en la terminación preferencial de la fibrilación auricular frente a la fibrilación ventricular.

5.4 *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012;5;1160-7.

5.4.1 Implicaciones de un gradiente de valores de frecuencia dominante entre aurícula izquierda y aurícula derecha en fibrilación auricular persistente.

5.4.2 Mecanismo subyacente a los valores de DF_{max} en aurícula izquierda durante fibrilación auricular persistente.

5.5 *Circulation*. 2014. *Epub ahead of print*.

5.5.1 Interpretación de los cambios de los valores de frecuencia dominante *in vivo*.

5.5.2 Relación entre los cambios estructurales y el remodelado eléctrico.

5.5.3 Predicción de la transición desde fibrilación auricular paroxística a persistente.

6. Conclusiones.

- 7. Figuras.**
- 8. Bibliografía.**
- 9. Copia completa de los trabajos compendiados.**

Index

1. Overall introduction.
2. Mechanisms underlying the initiation and maintenance of atrial fibrillation.
 - 2.1 Classification of atrial fibrillation.
 - 2.2 Mechanisms of arrhythmias: implications in atrial fibrillation.
 - 2.2.1 Abnormal impulse formation; Abnormal automaticity.
 - 2.2.2 Triggered activity.
 - 2.2.3 Reentry.
 - 2.3 Current theories for atrial fibrillation.
 - 2.4 Ionic mechanisms involved in the modulation of rotor dynamics.

3. Methods.

English version of the outlined sections of methods is available in Section 9.

- 3.1 Optical mapping in isolated hearts.
 - 3.1.1 Heart removal and Langendorff perfusion.
 - 3.1.2 Stretch-induced atrial fibrillation in Langendorff-perfused hearts.
 - 3.1.4 Cholinergic atrial fibrillation in Langendorff-perfused hearts.
 - 3.1.4 Optical mapping procedure.
- 3.2 Spectral analysis.
- 3.3 Analysis of patterns of activation during atrial fibrillation.
 - 3.3.1 Generation of phase maps.
 - 3.3.2 Characterization of patterns of activation.
 - 3.3.3 Directionality analysis.
- 3.4 *In vivo* model of paroxysmal and persistent atrial fibrillation.
 - 3.4.1 *In vivo* determination of dominant frequency values.
 - 3.4.2 Evaluation of ventricular activity removal.
- 3.5 Structural changes in persistent atrial fibrillation.

3.6 Computational simulations.

3.6.1 Simulations in paroxysmal atrial fibrillation.

3.6.2 Simulations in persistent atrial fibrillation.

3.7 Serum biomarkers, Western Blotting, cell isolation and patch-clamp recordings, and RT-PCR.

4. Summary of the original research publications.

(As first author and significant contributions in the same research area).

** Equal contribution.*

English version of the outlined research publications is available in Section 9.

- 4.1 Chloroquine terminates stretch-induced atrial fibrillation more effectively than flecainide in the sheep heart.** *David Filgueiras-Rama*, Raphael P. Martins, Sergey Mironov, Masatoshi Yamazaki, Conrado J. Calvo, Steve R. Ennis, Krishna Bandaru, Sami F. Noujaim, Jérôme Kalifa, Omer Berenfeld y José Jalife. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2012;5:561-570.
- 4.2 Ectopic and reentrant activation patterns in the posterior left atrium during stretch-related atrial fibrillation.** Yamazaki M*, *Filgueiras-Rama D**, Berenfeld O, Kalifa J. *Prog Biophys Mol Biol.* 2012;110;269-77.
- 4.3 Targeting atrio-ventricular differences in ion channel properties for terminating acute atrial fibrillation in pigs.** Sandeep V. Pandit*, Sharon Zlochiver*, *David Filgueiras-Rama*, Sergey Mironov, Masatoshi Yamazaki, Steven R. Ennis, Sami F. Noujaim, Antony J. Workman, Omer Berenfeld, Jerome Kalifa y José Jalife. *Cardiovasc Res* 2011;89;843-851.
- 4.4 Long-term frequency gradients during persistent atrial fibrillation in sheep are associated with stable sources in the left atrium.** *David Filgueiras-Rama**, Nicholas F. Price*, Raphael P. Martins, Masatoshi Yamazaki, Uma Mahesh R. Avula, Kuljeet Kaur, Jérôme Kalifa, Steven R. Ennis, Elliot Hwang, Vijay Devabhaktuni, Jose Jalife y Omer Berenfeld. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5;1160-7.
- 4.5 Dominant frequency increase rate predicts transition from paroxysmal to long-term persistent atrial fibrillation.** Raphael P. Martins, Kuljeet Kaur, Elliot Hwang, Rafael J. Ramirez, B. Cicero Willis, *David Filgueiras-Rama*, Steven R. Ennis, Yoshio Takemoto, Daniela Ponce-Balbuena, Manuel Zarzoso, Ryan P. O'Connell, Hassan Musa, Guadalupe Guerrero-Serna, Uma Mahesh R. Avula, Michael F. Swartz, Sandesh Bhushal, Makarand Deo, Sandeep V. Pandit, Omer Berenfeld

y José Jalife. *Circulation*. 2014. Epub ahead of print.

5. Overall discussion of the results.

English version of the outlined sections of the overall discussion is available in Section 9.

5.1 *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012;5:561-570.

5.1.1 Why is chloroquine more effective than flecainide in stretch-induced atrial fibrillation?

5.1.2 Clinical implications of chloroquine effects on terminating atrial fibrillation.

5.2 *Prog Biophys Mol Biol*. 2012;110:269-77.

5.3 *Cardiovasc Res* 2011;89:843-851.

5.3.1 Is I_{Kur} an effective anti-arrhythmic target in atrial fibrillation?

5.3.2 Hyperkalemia, preferential termination of atrial fibrillation, and its implications.

5.4 *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012;5:1160-7.

5.4.1 Implications of left-to-right dominant frequency gradients in persistent atrial fibrillation.

5.4.2 Mechanism underlying the DF_{max} in persistent atrial fibrillation.

5.5 *Circulation*. 2014. Epub ahead of print.

5.5.1 Interpretation of *in vivo* changes in dominant frequency during atrial fibrillation.

5.5.2 Structural remodeling and the link to electrical remodeling.

5.5.3 Predicting transition from paroxysmal to persistent atrial fibrillation.

6. Conclusions.

7. Figures.

8. References.

9. Copy of the original research publications.

1. Introducción general.

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia crónica sostenida más frecuente en la población general.¹ Actualmente, se estima que en EEUU unos 2,5 millones de personas padecen FA y lo que es más importante, estudios poblacionales pronostican que su prevalencia se incrementará de forma significativa en los próximos años, pudiendo triplicarse en el año 2050.² La FA dobla el riesgo de mortalidad en ambos sexos, y supone un factor de riesgo mayor para *ictus* embólico.³ En concreto, la FA es responsable de al menos un 15-20% de todos los *ictus* embólicos.⁴ Los pacientes con FA también presentan deterioro en su calidad de vida,^{5, 6} lo cual en muchos casos, supone el principal motivo por el que se decide una estrategia de control de ritmo. La importancia clínica de la arritmia se ve representada en el coste asociado al manejo de la FA, ya que supone un impacto muy significativo en los costes de hospitalización y los cuidados generales de salud.⁷ Esto ha llevado al desarrollo de estrategias antiarrítmicas encaminadas a conseguir un descenso en el número de hospitalizaciones, así como a la implementación de guías de práctica clínica para intentar reducir el número de ingresos no subsidiarios de medidas hospitalarias para el manejo de la FA, lo cual podría ser esencial ante un rápido aumento en la prevalencia de la FA en los próximos años.⁸ Actualmente, tanto los fármacos antiarrítmicos como las terapias invasivas siguen teniendo una eficacia limitada y subóptima en el control de recurrencias y síntomas de la arritmia, a pesar de los últimos avances tecnológicos y en el entendimiento de los mecanismos, derivados de modelos experimentales,⁹⁻¹² y de las nuevas estrategias de mapeo utilizadas en los procedimientos de ablación.¹³⁻¹⁵

Durante años, diferentes estrategias farmacológicas han intentado restablecer el ritmo sinusal y prevenir recurrencias. Sin embargo, muchos de estos fármacos antiarrítmicos se han asociado a la aparición de efectos secundarios sustanciales e interrupción del tratamiento.¹⁶ Recientemente, nuevas generaciones de fármacos antiarrítmicos han llegado a la práctica clínica y otros se encuentran en fase de experimentación. En líneas generales, los nuevos fármacos actúan de forma más específica sobre corrientes iónicas auriculares y al mismo tiempo involucradas en el mantenimiento de la FA,¹⁷ evitando de esa manera efectos

proarrítmicos potencialmente graves como las taquicardias ventriculares. Por otro lado, se busca el desarrollo de nuevas sustancias con perfil de bloqueo multicanal en base a fármacos de eficacia demostrada, pero con menor toxicidad y similar o superior eficacia. Sin embargo, los nuevos antiarrítmicos presentan el potencial riesgo de aparición de nuevos efectos secundarios.¹⁸ Otras sustancias con estrategias más innovadoras, como el control de la homeostasis del Ca^{2+} intracelular y actuación sobre conexinas y uniones abiertas están empezando a ser estudiadas. Cada vez se da más importancia a la necesidad de actuar sobre el sustrato arritmogénico auricular, y sobre los factores que promueven el mantenimiento a largo plazo de la arritmia. En esta línea, nuevos compuestos y nuevas indicaciones de fármacos ya disponibles tratan de controlar el sustrato arritmogénico auricular (fibrosis, hipertrofia ventricular, inflamación, etcétera), en lo que se conoce como terapia '*upstream*'.

El tratamiento quirúrgico de la FA puede ser una opción en algunos pacientes seleccionados mediante la técnica descrita por Cox JL en 1991,¹⁹ en la que se pretende una compartimentación de las aurículas que potencialmente genera regiones independientes con masa auricular insuficiente para sostener las múltiples ondas de propagación fibrilatoria. Sin embargo, el procedimiento quirúrgico supone una estrategia altamente invasiva, a pesar de la evolución de la técnica y la obtención de resultados satisfactorios en el mantenimiento a largo plazo del ritmo sinusal.²⁰ Hoy en día, la estrategia de ablación con catéter propuesta inicialmente por Haïssaguerre y *col.*, con el objetivo de eliminar focos ectópicos de actividad auricular localizados en las venas pulmonares e iniciadores de FA,²¹ ha desbancado a la cirugía como técnica invasiva de elección y ha sido ampliamente extendida a grandes poblaciones de pacientes.²² Sin embargo, la técnica supone un abordaje anatómico con poco soporte mecanicista y experimental en poblaciones de pacientes con sustratos de FA heterogéneos y complejos, en los que desafortunadamente la tasa de éxito del procedimiento ha disminuido de forma dramática, a pesar de utilizar estrategias de ablación anatómica más extensas.^{23, 24} En muchos de estos casos, resulta necesario mantener o restablecer el tratamiento antiarrítmico para un control óptimo de los síntomas derivados de la FA.²³ Independientemente de los resultados del procedimiento, existen limitaciones importantes que impiden su aplicación rutinaria

a una población creciente de pacientes con FA, ya que se trata de procedimientos de larga duración, escasa especificidad y con una tasa de complicaciones serias no trivial.²² El desarrollo tecnológico de la última década ha permitido realizar los procedimientos de ablación con catéter de la FA en menos tiempo y con menor dosis de radiación.²⁵ Para ello, en los últimos años se han extendido los denominados dispositivos *'single shots'*, que permiten, de una forma simplificada y con una "única aplicación", el aislamiento de cada una de las venas pulmonares de forma individualizada.²⁶ Estas estrategias de aislamiento simplificado se han visto acompañadas de otros desarrollos tecnológicos como la ablación remota, guiada tanto por fuerzas mecánicas como por fuerzas magnéticas, la monitorización de la fuerza de contacto del catéter y la visualización directa de la zona de ablación durante el aislamiento de venas pulmonares.²⁶ A pesar de todo este desarrollo técnico e instrumental, todas las estrategias se basan en el mismo concepto de aislamiento eficaz de las venas pulmonares desde un punto de vista fundamentalmente anatómico, sin tener certeza de que el mecanismo real de iniciación y mantenimiento de la FA dependa en cada caso, de forma individualizada, de las venas pulmonares. Estas nuevas estrategias de ablación tampoco han demostrado un aislamiento más eficaz de las venas pulmonares que la estrategia clásica de ablación punto a punto con catéter. Incluso no existe una demostración de que estas nuevas tecnologías de aislamiento simplificado de venas pulmonares hayan disminuido el número de complicaciones de los procedimientos. Sin embargo, recientemente se ha apuntado a que el uso de técnicas de imagen para guiar el procedimiento de ablación, como el ecocardiograma intracardíaco, parece ser adecuado para la disminución de complicaciones mayores,²⁷ lo cual tendrá que ser demostrado en series aleatorizadas frente a procedimientos sin guía de ecocardiografía intracardíaca.

En base a lo expuesto, parece lógico pensar que es necesario establecer estrategias que sean precisas en eliminar el mecanismo que inicia o mantiene la FA. Las estrategias actuales carecen de esta capacidad y por eso fracasan en un porcentaje de pacientes significativo, especialmente en casos de FA persistente y de larga duración.²⁴ Para ello es necesario generar modelos experimentales con alta similitud a la FA humana y que permitan determinar las bases mecanicistas exactas que expliquen la perpetuación de la arritmia en el tiempo. Estos modelos

también se pueden ver complementados con simulaciones computacionales que apoyen y ayuden a entender procesos complejos en el mantenimiento de la arritmia. El desarrollo en este aspecto permitiría, sin lugar a dudas, un abordaje más específico y eficaz en el tratamiento de la FA y el control de recurrencias. En esta línea existen pequeñas contribuciones que pretenden cambiar el rumbo de la estrategia actual, comúnmente extendida, de aislamiento de las venas pulmonares. En concreto, el mapeo en tiempo real y guiado por ordenador de la FA, ha permitido demostrar la presencia de fuentes localizadas que mantienen la arritmia hasta en un 96% de los pacientes.¹⁴ Para más detalle, esas fuentes han sido clasificadas de tipo reentrante y se han localizado en distintos lugares de la aurícula izquierda dependiendo de cada caso. Incluso se ha contabilizado un mayor número de fuentes reentrantes en los pacientes con FA persistente comparado con aquellos pacientes con FA paroxística. La utilización de este tipo de mapeo para guiar la ablación y eliminación de estas fuentes reentrantes ha mostrado resultados muy prometedores al observarse terminación de la FA hasta en un 56% de los casos, después de la aplicación de radiofrecuencia y eliminación de la fuente primaria asociada al mantenimiento de la arritmia.¹⁵ Esto tiene especial relevancia al conseguirse el resultado sin realizar el aislamiento clásico de venas pulmonares, que por si solo conseguía la terminación de la FA en un 20% de los casos. Los datos del procedimiento agudo de ablación también se correspondieron con mejores resultados en el seguimiento en comparación con el aislamiento de venas pulmonares.¹⁵ Estos resultados son altamente motivantes y abren un cambio necesario y real en el abordaje invasivo de la FA. Suponen abordar la FA desde un punto de vista del entendimiento profundo de los mecanismos esenciales que la mantienen en el tiempo, lo cual se había simplificado en la última década y con el paso de los años, se ha ido demostrando que el aislamiento de venas pulmonares no es la estrategia idónea para el tratamiento de la FA. Sin embargo, en el momento actual esta nueva estrategia de mapeo sólo está disponible a un nivel prácticamente experimental y no validada en otros centros con experiencia en el tratamiento invasivo de la FA.

Por todo ello resulta necesario abordar el problema de la FA desde las bases que expliquen su iniciación y perpetuación en el tiempo, tanto desde el punto de vista celular, como iónico y de patrones de propagación de ondas, con especial

atención a los cambios que perpetúan la arritmia en el tiempo y la hacen persistente. Sólo de esta forma podremos desarrollar las terapias apropiadas para el tratamiento eficaz y definitivo de esta arritmia, tanto médico como invasivo.

La presente tesis pretende investigar las bases mecanicistas del mantenimiento de la FA en el tiempo, desde un punto de vista de los patrones dinámicos de activación y propagación de ondas, así como desde un punto de vista celular e iónico, que en conjunto expliquen los cambios presentes en los patrones observados. Todo ello obtenido desde un modelo animal que simule la FA que ocurre en pacientes y que clásicamente evoluciona desde episodios de FA paroxística, a FA persistente y de larga duración.

De forma breve y a modo de introducción más específica se exponen los principales mecanismos actualmente implicados en el mantenimiento de la FA.

2. Mecanismos implicados en la iniciación y mantenimiento de la fibrilación auricular.

2.1. Clasificación de la fibrilación auricular.

Se han propuesto diferentes clasificaciones de la FA. Sin embargo, actualmente se recomienda clasificar la FA en base al comportamiento en el tiempo de la misma. A pesar de que esta clasificación no tiene en cuenta todos los aspectos de la FA, su recomendación se basa en su simplicidad y su relevancia clínica.²⁸ En primer lugar, se puede distinguir entre aquellos pacientes que sólo han tenido un episodio de FA frente a aquellos con 2 o más episodios de FA. En los casos con múltiples episodios documentados, la arritmia se denomina recurrente. En cualquier caso, no existe diferenciación entre episodios sintomáticos o asintomáticos, o en términos de duración o presencia de episodios previos no detectados. Si la arritmia termina de forma espontánea en un máximo de 7 días, se designa como paroxística. Aquellos episodios que persisten por más de 7 días se denominan persistentes, lo cual habitualmente implica la necesidad de cardioversión farmacológica o eléctrica para su terminación. El término FA permanente se reserva para aquellos casos en los que la arritmia persiste durante

1 año o más y se decide no llevar a cabo una estrategia de control de ritmo. Si a pesar de la persistencia de la arritmia por periodos mayores o iguales a 1 año, se decide intentar restablecer el ritmo sinusal, se denomina FA de larga duración.²⁸

En base a esta clasificación temporal, un mismo paciente puede ser clasificado en cualquiera de las categorías descritas en función del momento de evolución y valoración de la arritmia. Así por ejemplo, algunos pacientes desarrollan episodios de FA paroxística durante años y nunca llegan a tener episodios persistentes. Sin embargo, otros pacientes evolucionan de episodios paroxísticos a persistentes y finalmente permanentes. De hecho, en un modelo multivariado, la edad supone el único factor independiente de progresión hacia FA permanente en pacientes con FA paroxística o persistente, que no tienen cardiopatía asociada o hipertensión, lo cual permite caracterizar los episodios como de FA aislada (*'lone AF'*).²⁹ Incluso, la presencia extrasistolia auricular o episodios de taquicardia supraventricular documentados en el ECG de superficie o el registro de Holter ECG de 24 horas se asocia a una menor progresión hacia FA permanente.²⁹ Esto último tiene relevancia, ya que pone de manifiesto el hecho de que en algunos pacientes, la presencia de focos de actividad focal, principalmente localizados en las venas pulmonares, puedan ser los iniciadores de la arritmia.^{21, 30} Sin embargo, en otros pacientes un sustrato auricular patológico puede jugar el papel predominante en el inicio y el mantenimiento en el tiempo de la arritmia.³¹ De esta forma, la progresión hacia FA permanente puede explicarse en muchos casos por la presencia de comorbilidades y el envejecimiento.

En modelos animales, la FA se hace más estable y más persistente en el tiempo a medida que se incrementa el tiempo de estimulación auricular a alta frecuencia de forma artificial por medio de un marcapasos.^{32, 33} Después de un período de una a dos semanas bajo estimulación auricular rápida, la FA puede convertirse en persistente, lo cual se asocia a una pérdida de capacidad de recuperación del ritmo sinusal tras el intento de cardioversión,³⁴ que puede llegar a ser completamente ineficiente en algunos de los casos.

En pacientes con FA paroxística y persistente es difícil conocer exactamente la carga de FA y la duración de los episodios. Algunos pacientes con episodios breves de FA y sin patología estructural cardíaca pueden no llegar a desarrollar

FA permanente con el tiempo, ya que estos episodios son generalmente de duración limitada, insuficiente para crear remodelado auricular, tanto eléctrico como estructural y mecánico, necesario para perpetuar la arritmia en el tiempo.

La relevancia clínica de esta clasificación viene marcada por sus implicaciones terapéuticas. En concreto, en lo que se refiere a la necesidad de anticoagulación, ya que en el momento actual es la única medida terapéutica que es capaz de aumentar la supervivencia en pacientes con FA.³⁵ De forma breve, los pacientes menores de 64 años, con FA aislada no valvular, no necesitarían tratamiento anticoagulante para la prevención de eventos embólicos, ya que el riesgo de un fenómeno embólico es similar al esperado para la población general.³⁶ La duración de los episodios de FA también es importante en la decisión clínica de control del ritmo, de tal forma que aquellos episodios con una duración indeterminada o de más de 48 horas, requieren descartar previamente la posibilidad de trombo en la aurícula izquierda mediante ecocardiografía transesofágica o establecer anticoagulación en rango terapéutico adecuado antes de la cardioversión. El patrón temporal también marca las posibilidades de éxito de la cardioversión, de forma que la probabilidad de éxito cae significativamente en aquellos episodios de FA persistente de más de 6 meses de duración, lo cual determina que en muchos de esos pacientes se opte por una estrategia de control de frecuencia y terapia antitrombótica apropiada.

2.2. Mecanismos generales de las arritmias: Implicaciones en la fibrilación auricular.

2.2.1 Formación anormal del impulso; automatismo anormal.

El automatismo se define como la capacidad de algunas células excitables de generar de forma espontánea potenciales de acción en ausencia de un estímulo externo. En el corazón, bajo condiciones normales, las células del nodo sinusal, las células del nodo aurículo-ventricular y las células del sistema His-Purkinje poseen esa capacidad de automatismo. Los potenciales de acción de estos tres tipos celulares tienen la característica peculiar de generar una despolarización espontánea de forma gradual en la fase 4 del potencial de acción, lo cual lleva el potencial de membrana hacia el umbral de activación.

Las bases iónicas del automatismo son complejas y controvertidas. En el nodo sinusal y el nodo aurículo-ventricular el proceso de despolarización automática incluye un descenso en la conductancia del K^+ y una activación de la corriente de entrada I_f , activada por hiperpolarización, así como de las corrientes de entrada de Ca^{2+} y la corriente dependiente del intercambiador Na^+/Ca^{2+} .³⁷ En las células de Purkinje la corriente I_f parece ser la predominante.

En condiciones patológicas asociadas a niveles bajos de pH, aumento del K^+ extracelular y exceso de catecolaminas, puede surgir actividad automática anormal tanto en células auriculares como ventriculares.³⁸ En concreto, en algunos casos de FA, es posible identificar descargas focales desde las venas pulmonares.²¹ Aunque en humanos no se ha demostrado todavía la presencia de células automáticas, como las presentes en el nodo sinusal,³⁹ se acepta de forma general que las descargas generadas por automatismo anormal en el tejido miocárdico auricular presente en las venas pulmonares,^{21, 40} pueden ser responsables tanto del inicio como del mantenimiento de la FA. El hecho de que en algunos casos sea posible restablecer el ritmo sinusal después de la ablación mediante radiofrecuencia de focos identificables con origen en las venas pulmonares, apoya la idea de que descargas rápidas con origen en tales focos puedan mantener la FA en el tiempo. Otros casos de FA no terminan durante la ablación y aislamiento de venas pulmonares, sin embargo la arritmia no vuelve a ser inducible después de la cardioversión y restablecimiento del ritmo sinusal. Esto último apoya el papel iniciador de los focos de actividad espontánea en las venas pulmonares, que una vez aisladas no son capaces de salir de las mismas y propagarse hacia la aurícula. De cualquier modo, es posible que otros mecanismos distintos a actividad automática puedan estar presentes en el interior de las venas pulmonares y del mismo modo puedan controlarse y dar lugar a la terminación de la FA con el aislamiento de las venas.

A nivel experimental, ha sido posible identificar actividad automática a una longitud de ciclo relativamente larga (≈ 1000 ms) en tejido de venas pulmonares aisladas procedentes de perros.⁴¹ La presencia de isquemia en las preparaciones experimentales podría explicar la presencia de despolarización heterogénea y la aparición de actividad automática anormal derivada de esa despolarización, lo cual explicaría la generación de actividad focal espontánea de baja frecuencia. A

nivel clínico también se puede identificar actividad anormal automática en el interior de las venas pulmonares después del aislamiento de las mismas, especialmente en pacientes con FA paroxística refractaria a tratamiento médico antiarrítmico.⁴²

El automatismo anormal puede responder al uso de bloqueantes de canales de Ca^{2+} , bloqueadores del canal de Na^{+} y β -bloqueantes.⁴¹ En pacientes con FA paroxística la administración de verapamilo, propanolol o procainamida disminuyen la densidad de rachas de latidos ectópicos con origen en venas pulmonares e iniciadoras de FA. De hecho, la administración de isoproterenol en perfusión en pacientes pretratados con alguno de estos fármacos resulta ineficaz para inducir FA sostenida.⁴³ El incremento de la corriente rectificadora de K^{+} también debería inhibir el automatismo, ya que el potencial de membrana de reposo se hace más negativo. Sin embargo, el uso de adenosina en pacientes con FA paroxística, que han sido sometidos a un estudio electrofisiológico para ablación, demuestra que la frecuencia dominante (FD_{max}), derivada del análisis espectral de la señal auricular, se incrementa después de la infusión de adenosina en cada una de las regiones de las que se obtienen registros, con respecto a los valores de FD_{max} basales.⁴⁴ El efecto de la adenosina es consistente con un mecanismo reentrante, ya que en el supuesto caso de automatismo este debería verse inhibido.

En conjunto, en la mayoría de casos la evidencia no apoya la idea aislada de actividad automática anormal como mecanismo que explique el mantenimiento en el tiempo de la FA. Sin embargo, es posible que este mecanismo esté implicado en casos seleccionados de FA paroxística.⁴²

2.2.2 Actividad desencadenada.

La actividad desencadenada se origina a partir de oscilaciones del potencial de membrana que ocurren durante o inmediatamente después del potencial de acción. Por definición, la actividad desencadenada no puede ocurrir en ausencia de una despolarización espontánea previa o potencial de acción inicial, sin embargo la presencia de actividad desencadenada puede originar, por si misma,

actividad espontánea sostenida repetitiva. Se pueden distinguir dos tipos de actividad desencadenada: postpotenciales precoces y postpotenciales tardíos.

Los postpotenciales precoces son potenciales oscilatorios que pueden ocurrir durante la fase 2 o fase 3 del potencial de acción. El incremento de las corrientes de entrada (ej, I_{Ca-L} o I_{Na}) o el descenso de las corrientes de salida durante la fase de meseta del potencial de acción o durante la fase 3 (ej, I_{Kr} o I_{Ks}) podría causar una prolongación del potencial de acción y generar postpotenciales precoces. La corriente de Ca^{2+} Tipo L es probablemente la de mayor implicación en la aparición de postpotenciales precoces. Situaciones como la bradicardia y bajas concentraciones de K^+ extracelular son factores predisponentes para la aparición de postpotenciales precoces. Una nueva forma de postpotenciales precoces, denominada potenciales precoces al final de la fase 3, ha sido recientemente implicada en el reinicio de la FA tras su terminación.⁴⁵ En concreto, frecuencias altas de activación, asociadas a un acortamiento marcado de la duración del potencial de acción e intensa liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico, parecen ser necesarias para la aparición de este tipo de postpotenciales precoces al final de la fase 3, en el periodo inmediatamente después de la terminación de la FA o bajo estimulación a alta frecuencia. El reinicio de la FA fue observado tras actividad desencadenada originada por un postpotencial precoz al final de la fase 3 del potencial de acción.⁴⁵

Aunque los postpotenciales precoces podrían estar involucrados en la recurrencia de FA después de la terminación de un episodio, su papel parece muy limitado en aquellas recurrencias que ocurren días o meses después de la terminación de un episodio de FA. Así mismo, en base a esto es difícil explicar su papel en el mantenimiento de la FA, más allá del inicio de recurrencias.

Los postpotenciales tardíos son el resultado de un aumento del Ca^{2+} intracelular, de tal forma que si la célula miocárdica y el retículo sarcoplásmico se sobrecargan de Ca^{2+} , se evidencia la aparición de activación dependiente de Ca^{2+} durante la diástole. Este aumento de Ca^{2+} activa el intercambiador electrotrónico de Na^+/Ca^{2+} que origina la aparición de postpotenciales tardíos. La presencia de isquemia, concentraciones bajas de K^+ extracelular, concentraciones tóxicas de digital y las catecolaminas se asocian a la aparición de postpotenciales tardíos.

También existe una asociación entre la aparición de postpotenciales tardíos y la frecuencia de activación, de tal forma que es posible aumentar el número de postpotenciales tardíos a medida que se disminuye la longitud de ciclo de estimulación y se incrementa la duración del tren de estímulos.⁴⁶

Desde el punto de vista clínico y electrofisiológico, resulta complicado la demostración de la actividad desencadenada como mecanismo de inicio o mantenimiento de la FA. Los pocos datos disponibles provienen de estudios en los que la actividad focal se encontraba confinada al sitio de iniciación tras el aislamiento de las venas pulmonares o seno coronario.^{47, 48} En estos casos, estrategias tanto farmacológicas como de estimulación sugieren la presencia de actividad desencadenada en el interior de las venas pulmonares o en el seno coronario. Sin embargo, dadas las limitaciones inherentes a un estudio clínico, no es posible descartar por completo la presencia de un mecanismo reentrante que explique el mismo fenómeno. En perros anestesiados la provocación de postpotenciales precoces se ha relacionado con la aparición de taquicardia auricular polimórfica y FA.⁴⁹ En venas pulmonares aisladas de perros sanos y perros sometidos a estimulación auricular a alta frecuencia es posible identificar postpotenciales precoces, que dan lugar a rachas de ritmos irregulares de alta frecuencia.⁴¹ Este efecto se ve incrementado con la administración de isoproterenol y es significativamente más pronunciado en el grupo de perros sometidos a estimulación auricular.⁴¹

En corazones aislados de oveja, perfundidos en el sistema de Langendorff, la presencia de postpotenciales que dan lugar a actividad focal parece afectar la dinámica de ondas durante FA, de tal forma que originan desestabilización de fuentes reentrantes denominadas rotores y generan fragmentación de ondas, que suponen el inicio de nuevos rotores. Este efecto es más evidente tras estimulación adrenérgica y colinérgica mediante isoproterenol y acetilcolina (ACh), y se ve dramáticamente reducido después de disminuir la aparición de actividad desencadenada dependiente de la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular mediante rianodina o cafeína.⁵⁰ En casi la totalidad de casos, la persistencia de FA después de reducir la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular sugiere que el mecanismo reentrante es el principal responsable del mantenimiento de la FA.⁵⁰

2.2.3 Reentrada.

La reentrada anatómica, también conocida como movimiento circular de reentrada, puede definirse como la propagación de un frente de activación alrededor de un obstáculo fijo que origina una activación repetitiva del músculo cardíaco a una determinada frecuencia que depende de la velocidad de conducción, de la duración del periodo refractario y del perímetro del obstáculo. El circuito de reentrada tiene un segmento ('gap') excitable, el cual separa el frente de propagación del impulso de su propia cola refractaria. De forma esquemática, los principios elementales para la aparición de una reentrada anatómica o movimiento circular de reentrada son los siguientes:

- (1) Un circuito anatómico bien definido.
- (2) La longitud de onda, definida como el producto de la velocidad de conducción por el periodo refractario, del frente de propagación tiene que ser necesariamente más corta que la longitud del circuito.
- (3) El inicio de la actividad reentrante requiere bloqueo unidireccional del frente de propagación y presencia de velocidad de conducción lenta en parte del circuito.
- (4) La activación reentrante puede ser detenida por cualquier factor que interrumpa el circuito. De forma similar, es posible reiniciar la reentrada mediante la aplicación de estímulos prematuros o estrategias farmacológicas, condiciones físicas o fisiológicas que den lugar a bloqueo unidireccional.

Aunque estos principios de la reentrada anatómica pueden aplicarse fácilmente a algunos tipos de arritmias cardíacas como la taquicardia por reentrada intranodal clásica, existe otro tipo de mecanismo reentrante que puede explicar el mantenimiento de arritmias cardíacas más complejas como la taquicardia ventricular polimórfica,⁵¹ la FA,^{9, 52} y la fibrilación ventricular.⁵³ Entender la reentrada en estos sustratos complejos requiere asimilar el concepto de que los obstáculos, alrededor de los cuales ocurre la actividad reentrante, pueden ser también funcionales sin necesidad de representar un circuito estático.⁵⁴ La condición esencial para el inicio de una reentrada funcional es que el frente de onda debe encontrarse un área de refractariedad transitoria, la cual podría originar fragmentación y encorvamiento del frente de activación. En el punto de

fragmentación (también conocido como punto de singularidad) la curvatura del frente de propagación es tan pronunciada que el frente despolarizante no puede invadir el tejido excitable y en reposo, que se encuentra inmediatamente por delante (mal emparejamiento entre la fuente y el punto de drenaje de la misma). Debido a esto, el punto de singularidad se convierte en un punto de pivote alrededor del cual gira el frente de propagación; En otras palabras, el punto de singularidad se convierte en el motor giratorio (rotor) que determina el resto de la actividad reentrante. Bajo estas condiciones el frente de onda adquiere la forma de una espiral compleja con incremento progresivo de la curvatura convexa hacia el centro de rotación de la misma (Figura 1).⁵⁵

La reentrada funcional puede ocurrir en 2 dimensiones (2D) o en 3 dimensiones (3D). En 2D, la onda organizada por el rotor se denomina onda espiral. Sin embargo, tanto las paredes auriculares como las ventriculares están formadas por múltiples capas de células cardíacas eléctricamente acopladas formando un sincitio eléctrico en 3D. Esto provoca que las ondas espirales pueden organizarse en distintas capas superpuestas de forma transmural desde el endocardio hasta el epicardio para dar lugar a una forma de remolino, que es el equivalente 3D de una onda espiral. En este caso, el centro de rotación se convierte en lineal, constituyendo un filamento con forma de 'I'. Sin embargo, los remolinos 3D pueden ser más complejos porque sus filamentos pueden adquirir formas complejas no lineales (ej, forma de 'L', forma de 'U', forma de 'O').⁵⁶ Esto hace que muy frecuentemente la propia estructura 3D del miocardio haga muy difícil la identificación de rotores (remolinos 3D) responsables del mantenimiento de la arritmia. En la mayoría de las ocasiones, sólo es posible observar signos indirectos de actividad compleja en 3D en la superficie endocárdica o epicárdica.⁵⁷ A esto se añade el hecho de que los rotores pueden ser relativamente estacionarios o pueden desplazarse, de tal forma que el patrón de activación de la arritmia se hace todavía más complejo.

El uso de análisis espectral a partir de mapeo óptico de alta resolución ha permitido identificar determinadas regiones con activación periódica a alta frecuencia durante FA, junto con la presencia de gradientes de frecuencia entre la aurícula izquierda y la aurícula derecha.⁵⁸ Este análisis espectral ha permitido un apoyo claro a la hipótesis de que fuentes reentrantes en el tejido miocárdico de la

aurícula izquierda suponen el mecanismo básico para el mantenimiento de la FA.⁵⁸ Los rotors pueden desplazarse e interactuar con nuevos obstáculos tanto anatómicos como funcionales, dando lugar a ondas secundarias y conducción fibrilatoria.⁵⁹

Un paso inicial para entender el papel de la reentrada en la FA es examinar las características anatómicas de las venas pulmonares. Algunos pacientes con FA paroxística tienen actividad espontánea con origen en las venas pulmonares y la ablación mediante radiofrecuencia es altamente efectiva para restablecer el ritmo sinusal y prevenir nuevas recurrencias de FA.²¹ Como se ha descrito en apartados anteriores, existen múltiples mecanismos para explicar el origen de la actividad procedente de las venas pulmonares, sin embargo la reentrada es el mecanismo más aceptado.⁴² La propia arquitectura de las venas pulmonares es compleja y el patrón de orientación de las bandas de fibras musculares es altamente desigual y anisotrópico.⁶⁰ Esta estructura compleja, junto con el desarrollo de fibrosis hace todavía más probable la aparición de un fuente reentrante.⁶¹ En venas pulmonares obtenidas de corazones de perros, se han identificado regiones con velocidad de conducción muy lenta, con descenso progresivo de la velocidad de conducción y con bloqueo de la conducción. En esas muestras de venas pulmonares, el uso de mapeo óptico permitió identificar la aparición de actividad reentrante después de la aplicación de extraestímulos e isoproterenol.⁶² Datos procedentes de pacientes que se han sometido a un procedimiento de aislamiento de venas pulmonares para tratamiento de la FA también apoyan el mecanismo reentrante con origen en las venas pulmonares. El uso de un protocolo de estimulación rápida permite inducir rachas de taquicardia sostenida en el interior de las venas pulmonares aisladas hasta en el 2,6% de los casos. Estos datos se ven apoyados por la posibilidad de encarrilamiento y terminación mediante estimulación. Esto se asocia a la presencia de propiedades de conducción decremental y periodos refractarios cortos en todas las venas con episodios inducibles de taquicardia hasta en un 26,4% de los pacientes.⁴² Por lo tanto, existe un consenso bastante generalizado sobre la presencia fuentes de reentrada en el interior de las venas pulmonares como mecanismo frecuentemente involucrado en la FA clínica.^{42, 57}

Estudios experimentales han demostrado que fuentes reentrantes de alta frecuencia (rotors) localizados en las aurículas se manifiestan como áreas

localizadas de organización. La región con los rotores más rápidos se correlaciona con aquella que se activa a mayor frecuencia y supone la región que domina el resto de regiones y patrones de activación secundarios. Las ondas de propagación con origen en esos rotores interaccionan en su camino, tanto con obstáculos funcionales como anatómicos, lo cual da lugar a la fragmentación del frente de propagación y genera el fenómeno de conducción fibrilatoria.¹⁰ Experimentos realizados usando un modelo de FA colinérgica en corazones aislados de oveja, demuestran una distribución heterogénea entre la aurícula derecha y la aurícula izquierda de los canales de K^+ activados por acetilcolina ($I_{K,ACh}$), lo cual condiciona la aparición de un gradiente de frecuencias máximas de activación desde la aurícula izquierda hacia la aurícula derecha, así como un patrón predominante de direccionalidad de propagación de los impulsos desde la aurícula izquierda hacia la aurícula derecha.⁵² En otras palabras, en este modelo experimental de FA, las fuentes de alta frecuencia de activación se localizan en la aurícula izquierda. Estudios complementarios han demostrado que el decremento gradual en la frecuencia de activación observada desde la aurícula izquierda hacia la aurícula derecha, así como el patrón de conducción fibrilatoria pueden ser fácilmente explicados por la fragmentación de los frentes de propagación que pasan de izquierda a derecha a través del haz de Bachmann y el trayecto ínfero-posterior a través del seno coronario.⁵⁹

En concordancia con la idea expresada en el párrafo anterior, experimentos realizados en tejido auricular de oveja, perfundido de forma retroaórtica en el sistema de Langendorff, muestran que la estimulación del haz de Bachmann a frecuencias más elevadas de un valor umbral (frecuencia límite de fragmentación) originan un incremento de la complejidad y decremento de la organización de la onda de propagación, en cierta manera semejante a la conducción fibrilatoria propia de la FA.⁵⁹ Un modelo experimental diferente, en el que se incrementa la presión intracavitaria de las aurículas para inducir FA, en corazones aislados de oveja e igualmente perfundidos en el sistema de Langendorff, muestra que la FA se mantiene en el tiempo por la presencia de fuentes de activación rápida principalmente ubicadas en la intersección entre las venas pulmonares superiores y la pared posterior de la aurícula izquierda. Lo que es más, en 3 de 9 casos, las

fuentes de alta frecuencia fueron identificadas como rotores en ese punto de intersección.⁹

En pacientes con FA ha sido demostrada una organización jerárquica similar a la descrita en modelos experimentales en lo que respecta a frecuencias de activación. En pacientes con FA paroxística, los valores de FD_{max} muestran un gradiente de izquierda a derecha en frecuencias de activación y demuestran que las venas pulmonares y la pared posterior de la aurícula izquierda son las regiones que de forma habitual albergan las fuentes con mayor frecuencia de activación.^{63, 64} La ablación de esas zonas termina la FA paroxística en un alto porcentaje de los casos.⁶⁵ El mecanismo arritmogénico de tales fuentes de alta frecuencia podría ser focal o automático. Sin embargo, el hecho de que la adenosina incremente la frecuencia en las regiones que dominan la activación en condiciones basales, apoya el mecanismo reentrante en el mantenimiento de la FA.⁴⁴

En FA persistente y permanente, el papel de las venas pulmonares es menos relevante en lo que se refiere a su capacidad para albergar las regiones con mayor frecuencia de activación.⁶⁵ Resulta habitual observar que en pacientes con FA persistente y permanente, las fuentes de alta frecuencia se localizan tanto en la aurícula derecha como en la aurícula izquierda, más que en las venas pulmonares.⁶⁵ El mapeo epicárdico de la aurícula de algunos pacientes con FA persistente de larga duración, sometidos a cirugía cardíaca, ha identificado zonas de las aurículas que se activan siguiendo un patrón marcado de intervalos regulares y a longitudes de ciclo relativamente cortas.⁶⁶ Los electrogramas registrados en esas regiones muestran una morfología altamente organizada y monomórfica latido a latido. El resto de las regiones de mapeo muestran patrones de activación irregular y longitudes de ciclo más largas que en la región de activación regular. En la mayoría de casos, el patrón más regular y más rápido se localiza en la aurícula izquierda.⁶⁶ El uso de regiones de mapeo limitadas podría explicar porqué en algunos casos no es posible identificar la región con activación regular y rápida. Aunque en este estudio sólo se incluyeron 9 pacientes, los resultados sugieren la presencia de fuentes reentrantes en pacientes con FA persistente de larga duración.

Resulta interesante que en pacientes con FA paroxística y persistente sometidos a un procedimiento de ablación, la eliminación del gradiente de frecuencias de izquierda a derecha resulta ser un predictor de mantenimiento del ritmo sinusal a largo plazo.⁶⁴ En pacientes con FA persistente fue necesario ablacinar regiones extrapulmonares, ya que la mitad de las localizaciones con FD_{max} se documentaron fuera de las venas pulmonares.⁶⁴ De nuevo, los datos apoyan la actividad reentrante como motor que mantiene la FA.

2.3 Teorías actuales para explicar la fibrilación auricular.

La FA ha sido motivo de discusión e investigación continua desde el inicio del siglo XX. El desarrollo del electrocardiograma permitió surgir las primeras preguntas intrigantes sobre el origen de ritmos documentados por primera vez y compatibles con lo que hoy denominamos FA. En la primera mitad del siglo pasado, existían dos teorías para explicar la FA basadas en el movimiento circular del impulso y en la presencia de focos ectópicos de activación.⁶⁷ Aunque inicialmente Sir Thomas Lewis aceptó la idea original propuesta por Theodor Engelmann en 1885, y posteriormente desarrollada por Heinrich Winterberg (1906), sobre el origen de la FA en múltiples focos heterogéneos con actividad sincronizada, realmente fueron Carl Rothberger y Winterberg quienes propusieron la idea de la “taquisistolia”, la cual asociaba el desarrollo de FA con la presencia de descargas focales ectópicas extremadamente rápidas. Sin embargo, después de la descripción teórica y demostración experimental de Mines (1913) y Garrey (1914) sobre el movimiento circular reentrante, Lewis adoptó esta teoría en su descripción de la FA.^{68, 69} La usó como base para su propuesta de un circuito simple de reentrada que podría generar actividad fibrilatoria.

La reentrada alrededor de un obstáculo anatómico podría explicar tanto el flutter como la FA, dependiendo del tamaño del circuito y de sus períodos refractarios. En el supuesto caso de un circuito pequeño y períodos refractarios más cortos que en el tejido auricular circundante, la propagación de las ondas hacia la aurícula no sería uniforme, lo cual daría lugar a FA en el resto de la aurícula.⁶⁹ De acuerdo con esta teoría, la eliminación de la reentrada eliminaría la FA.

La teoría de actividad focal ectópica fue posteriormente recuperada por los experimentos de Scherf realizados en los años cuarenta en modelos animales de perro.⁷⁰ En sus experimentos, Scherf administraba cristales de aconitina al epicardio de la orejuela auricular derecha, lo cual provocaba la generación de actividad desencadenada a altas frecuencias de activación. En la mayoría de casos, la frecuencia de activación se incrementaba hasta valores que daban lugar a la aparición de FA. Curiosamente, el aislamiento de la orejuela auricular derecha del resto de la aurícula se seguía de una terminación de la FA.⁷⁰

Las dos teorías mencionadas anteriormente, movimiento circular reentrante y actividad focal como causas de la FA, tienen importantes limitaciones, particularmente cuando se intenta usar una u la otra para explicar FA persistente o permanente. Es difícil imaginar circunstancias en las que cualquiera de estos mecanismos pueda mantener la FA durante meses o incluso años. Ante esta problemática, a finales de los años cincuenta, Moe y Abildskov desarrollaron una nueva teoría basada en la idea de que la fibrilación puede existir como un estado estable, el cual se puede auto-perpetuar en el tiempo, independientemente del mecanismo de iniciación.⁷¹ En perros anestesiados, Moe y Abildskov mostraron que la FA se perpetuaba en el tiempo siempre y cuando se mantuviese la estimulación sobre el nervio vago. El estímulo vagal creaba una distribución no uniforme de los periodos refractarios. Esto último, junto con una masa auricular suficiente y velocidades de conducción lentas, favorecería la perpetuación de la arritmia debido a la posibilidad de coexistencia de múltiples frentes de onda dinámicos, aleatorios e independientes.⁷¹ Un modelo computacional desarrollado por los mismos investigadores mostró que el número mínimo de ondas necesario para perpetuar la arritmia era entre 23 y 40.⁷² Sus estudios establecieron la hipótesis de las múltiples ondas, la cual fue posteriormente apoyada por los experimentos realizados en el modelo animal de perro por Allesie y col.⁷³ Este grupo mapeó la propagación de los frentes de activación durante FA inducida por estimulación auricular rápida y en presencia de acetilcolina. El estudio demostró que la presencia de múltiples frentes de onda propagándose generaba actividad auricular desorganizada. En esos experimentos, el número de frentes de onda necesarios para mantener la arritmia fue estimado entre 4 y 6, lo cual era poco robusto, especialmente teniendo en cuenta el alto número de frentes de onda que

previamente había propuesto el modelo de Moe y Abildskov. Sin embargo, esta teoría recibió apoyo adicional de otros estudios en animales y pacientes, especialmente después de observarse que algunos casos de FA podían ser tratados con éxito con la técnica quirúrgica de MAZE, mediante la cual se lleva a cabo una compartimentación de las aurículas que crea regiones independientes incapaces de mantener frentes de onda múltiples.¹⁹

En los últimos años, el uso de modelos simulados por ordenador junto con el uso de sustancias sensibles al voltaje y cámaras de alta resolución para registrar la propagación de ondas en la superficie de corazones aislados y perfundidos, ha permitido objetivar las limitaciones de la teoría de las múltiples ondas. Los datos del mapeo de alta resolución espacial (del orden de micras) y temporal durante FA, han demostrado que la actividad irregular observada en el ECG de superficie en FA puede ser explicada por una única o un pequeño número de rotores que giran a alta frecuencia.^{58, 74} El rotor fuerza al frente de excitación a girar alrededor del punto de rotación. Las ondas espirales y en forma de remolino 3D emitidas por el rotor se propagan a través del músculo cardíaco e interaccionan con obstáculos anatómicos y funcionales, de tal forma que se genera fragmentación y formación nuevas ondas secundarias. Esta explicación es incompatible con la teoría de múltiples ondas, la cual requiere como condición que las ondas se propaguen de forma aleatoria a través de la aurícula de forma similar al patrón de Brownian observado en las ondulaciones originadas por partículas en el agua. La ausencia de organización en la propagación de ondas implica que la frecuencia de activación en un punto en concreto pueda ser distinta en un momento puntual. Sin embargo a nivel global y desde el punto de vista estadístico, la frecuencia de activación no debería diferir entre las diferentes regiones de la aurícula, lo cual no ocurre durante FA ya que la frecuencia de activación difiere entre distintos territorios de las aurículas tanto en experimentos animales como en estudios realizados en pacientes. Desafortunadamente, debido a limitaciones técnicas no es posible observar los filamentos o los patrones reentrantes en forma de remolino en la estructura 3D del músculo auricular. Sin embargo, el análisis espectral de alta resolución hace posible la identificación de regiones con actividad periódica. Los lugares con mayor frecuencia de activación sugieren la presencia de fuentes de reentrada organizadas (rotores), y en la mayoría de casos las regiones que

albergan las frecuencias más altas se localizan en la aurícula izquierda. De forma ocasional, es posible identificar un rotor persistente en el tiempo en la región con mayor frecuencia de activación.^{9, 50, 58} Además, los rotores y ondas espirales, tanto desde el punto de vista eléctrico como químico, tienen tendencia a ser altamente estables.⁵⁶

En la aurícula izquierda, la región posterior alberga la actividad organizada más rápida desde el punto de vista espacial y temporal.¹⁰ Análisis más detallados también demuestran que las ondas generadas por rotores estables en la aurícula izquierda sufren patrones de distribución complejos y fenómenos de bloqueo a medida que las ondas se propagan hacia la aurícula derecha, lo cual se manifiesta como conducción fibrilatoria.⁵⁹ El límite externo de la región de FD_{max} es la zona en la que se observa una mayor fragmentación de la actividad, alrededor de la actividad más regular.¹⁰ Por lo tanto, la demostración de gradientes de frecuencia entre aurícula izquierda y aurícula derecha no puede ser explicado por la teoría de múltiples ondas.

Datos publicados en pacientes con FA de larga duración, que han sido sometidos a un procedimiento de ablación, en el que se sigue una estrategia de ablación progresiva desde la aurícula izquierda a la aurícula derecha, también apoyan el papel de las fuentes de alta frecuencia en FA de larga duración.²³ La ablación se realizaba en la aurícula derecha tras completar la ablación en la aurícula izquierda y ante la persistencia de un gradiente de derecha a izquierda. En el 55% de los pacientes en los que persistía un gradiente de derecha a izquierda, el episodio de FA conseguía terminarse tras la ablación en aurícula derecha. Es remarcable que en esos pacientes en los que existía un gradiente de derecha a izquierda, tras completar la ablación en la aurícula izquierda, tenían una historia de evolución de la FA más larga y un diámetro de la aurícula derecha mayor.²³ Parece razonable especular que la activación de la aurícula derecha de forma continua y a alta frecuencia, desde fuentes reentrantes en la aurícula izquierda, puede causar remodelado eléctrico que con el tiempo permita extender la posibilidad de albergar nuevas fuentes de reentrada y rotores en la aurícula derecha, fuera de las venas pulmonares. Esto también explica la baja tasa de éxito en la ablación de la FA cuando esta se mantiene por largos periodos de tiempo, ya que pueden surgir nuevos rotores en la aurícula derecha.

Las simulaciones por ordenador también apoyan la teoría de los rotores,⁵³ sin embargo las simulaciones por ordenador de Moe y colaboradores se basaban en una distribución aleatoria de los periodos refractarios, de tal manera que células próximas tenían periodos refractarios muy distintos.⁷² Tal asunción no es compatible con el conocimiento actual de la electrofisiología de las células cardíacas, en las que las conexiones intercelulares tienden a minimizar cualquier diferencia a nivel microscópico y crear gradientes de periodos refractarios a lo largo del tejido.⁷⁵

2.4 Mecanismos iónicos involucrados en la modulación de la dinámica de rotores.

La teoría de los rotores se ha convertido en una explicación mecanicista relevante para la FA, aunque es cierto que esta explicación no está aceptada de forma general. El entendimiento profundo de la dinámica de rotores permitiría el desarrollo de estrategias más específicas para detener su persistencia y su reiniciación, y de esta forma prevenir la FA. El paso inicial en la iniciación de un rotor es la aparición de fragmentación del frente de propagación después de la interacción de un frente de onda con un obstáculo anatómico o funcional. Este proceso puede ocurrir en un medio totalmente homogéneo con la única condición de la presencia de heterogeneidad transitoria en el sistema, lo cual puede ser reproducido con simulaciones usando un protocolo de estimulación S1-S2. El frente de onda originado por S1 se asocia a un segundo frente de onda S2, perpendicular a S1, de tal forma que si S2 se inicia antes de que la cola de repolarización de S1 haya desaparecido, S1 actúa como una barrera para la propagación de S2 en el punto de intersección, lo cual resulta en la iniciación de una onda de rotación en espiral.⁷⁶ Bajo ciertas condiciones de excitabilidad, la presencia de un obstáculo anatómico o funcional con bordes marcados en sus extremos puede desestabilizar la propagación de ondas eléctricas, dando lugar a la formación de patrones de activación en espiral que se autoperpetúan en el tiempo y dan lugar a actividad eléctrica cardíaca turbulenta.^{77, 78} Por lo tanto, ambas situaciones pueden iniciar la aparición de fuentes reentrantes de alta frecuencia en el corazón y dar lugar a nuevas fuentes de reentrada y fragmentación de las ondas de propagación originadas.

La velocidad de propagación de un frente de onda depende de su curvatura, en tal medida que las ondas cuyos frentes son cóncavos se propagan de forma más rápida que las ondas planas, y éstas lo hacen más rápido que las ondas con frentes convexos.⁷⁹ El frente de onda de las ondas en espiral generadas por un rotor tienen una curvatura convexa que se incrementa de forma progresiva, lo cual da lugar a un descenso progresivo en la velocidad de conducción hacia el centro de la rotación (núcleo). En la periferia inmediata del núcleo, la curvatura alcanza un valor crítico que origina un desequilibrio entre la corriente despolarizante procedente del frente de onda y la corriente electrotónica necesaria para despolarizar las células en estado de reposo en el interior del núcleo. De esta forma, el potente efecto electrotónico ejercido por el núcleo acorta la duración del potencial de acción en sus cercanías.⁸⁰ Esto provoca que la longitud de onda más corta se localice en las proximidades del núcleo (Figura 1).

Aunque la corriente de Na^+ (I_{Na}) es el principal componente de la despolarización en el frente de onda, la corriente rectificadora de entrada de K^+ , I_{K1} , es fundamental para el control de la excitabilidad cardíaca y la frecuencia y estabilidad de los rotores.⁵³ I_{K1} desempeña una función importante en el control del gradiente electrotónico entre las células en estado de reposo del núcleo y las células activas en su periferia inmediata. La interrelación fundamental entre I_{K1} e I_{Na} para controlar la frecuencia de los rotores y su estabilidad, se hace evidente en los experimentos realizados por Nougaim y colaboradores, usando un modelo animal de ratón con sobreexpresión de I_{K1} .⁸¹ La sobreexpresión de I_{K1} acelera la fase final de la repolarización del potencial de acción y origina hiperpolarización del potencial de membrana durante la diástole. Durante reentrada, la sobreexpresión de I_{K1} se traduce en un acortamiento de la longitud de onda y mayor disponibilidad de canales de Na^+ , lo cual incrementa la excitabilidad en el frente de la onda en rotación. La sobreexpresión de I_{K1} incrementa el gradiente de voltaje entre las células activas, alrededor del núcleo y las células en reposo, dentro del propio núcleo. Esto último contribuye a aumentar las corrientes electrotónicas que surgen entre las células en reposo y las células activas, lo cual acelera la repolarización de las células activas y reduce la velocidad de conducción en la vecindad del núcleo.⁸¹ Así mismo, las células no excitadas en el centro del núcleo proporcionan una mayor conductancia de salida de lo normal, lo

cual disminuye la probabilidad de estas células de ser excitadas por las células despolarizadas de la periferia, reduciendo de esta forma el tamaño del núcleo y desplazamiento. Por último, durante fibrilación se objetivan rotores ventriculares más estables en el corazón de ratón con sobreexpresión de I_{K1} .⁸¹

La corriente rectificadora de potasio dependiente de acetilcolina ($I_{K,ACh}$) desempeña un papel fundamental en el estudio de FA a nivel experimental y también en algunos pacientes.⁴⁴ $I_{K,ACh}$ provoca una hiperpolarización del potencial de membrana celular, acorta la duración del potencial de acción y el periodo refractario, lo cual se traduce en un incremento de la frecuencia de rotación de las fuentes de reentrada y de la conductancia de membrana en reposo.⁴⁴ La administración de Ach produce un incremento dosis-dependiente de la frecuencia de la FA, de tal forma que cuanto más alta sea la concentración de ACh, más alta será la frecuencia de rotación del rotor y más complejo el patrón fibrilatorio (Figura 2).⁸² $I_{K,ACh}$ se caracteriza por tener mayor densidad en la aurícula izquierda que en la aurícula derecha, lo cual se debe a una distribución heterogénea de la innervación dependiente del nervio vago, la distribución de los receptores muscarínicos y canales de $I_{K,ACh}$ (Figura 2). Tanto los receptores muscarínicos como los canales de $I_{K,ACh}$ son más abundantes en la aurícula izquierda que en la aurícula derecha. Esto se traduce en que el incremento progresivo de las concentraciones de ACh en corazones de oveja aislados, y perfundidos retrógradamente a través de la aorta en el sistema de Langendorff, provoca un incremento progresivo de la frecuencia de rotación de los rotores, con un mayor efecto en la aurícula izquierda que en la aurícula derecha. Además, el aumento de la heterogeneidad en las frecuencias de activación incrementa la probabilidad de fragmentación de las ondas de propagación y complejidad de los patrones de fibrilación.⁸² En pacientes con FA paroxística, la activación de los canales de $I_{K,ACh}$ ($I_{K,Ado}$) a través de la administración de adenosina, incrementa los valores de FD_{max} a nivel local, particularmente en la región de unión de las venas pulmonares con la aurícula izquierda, lo cual amplifica el gradiente de frecuencia de izquierda a derecha.⁴⁴

En un escenario más simple, la reducción de la excitabilidad mediante el disminución de I_{Na} origina una menor velocidad de la fase cero del potencial de acción (dV/dt) y de la amplitud del mismo, junto con un acortamiento de la duración

del potencial de acción, disminución de la velocidad de conducción y consecuente acortamiento de la longitud de onda. Cuando se reduce la excitabilidad hasta un valor crítico y la onda de propagación interactúa con un obstáculo anatómico o funcional, el frente de onda puede fragmentarse, encorvarse e iniciar un proceso de reentrada que se autoperpetúa en el tiempo.⁷⁷ El bloqueo del canal de Na^+ afectará a la reentrada, de forma que la reducción de la excitabilidad tenderá a reducir el punto crítico de la curvatura del frente de onda espiral para la aparición de bloqueo de propagación, lo que se traduce en una mayor distancia de giro y del núcleo, así como una menor longitud de onda. En base a esto, disminuye la probabilidad de interacción entre el frente de onda y su cola, lo cual enlentece la reentrada y podría hacerse más estable. Sin embargo, rotaciones más lentas podrían hacer el rotor más vulnerable a su terminación por su interacción con potenciales ondas que afecten a su dinámica de rotación.⁸³ Respecto a esto, aunque los antiarrítmicos clásicos de clase I (bloqueadores de I_{Na}) terminan de forma eficaz la FA paroxística, de poco tiempo de evolución, su efecto proarrítmico también se ha asociado a un incremento de la mortalidad en pacientes con historia previa de infarto de miocardio.⁸⁴ Por lo tanto, el sustrato ventricular después de un infarto podría incrementar el riesgo de fragmentación de ondas y aparición de reentrada ante la presencia de disminución de la excitabilidad por bloqueo de I_{Na} .

La morfología y duración del potencial de acción es muy dependiente del flujo transmembrana de iones Ca^{2+} . La corriente de calcio tipo L ($I_{\text{Ca-L}}$) es necesaria para mantener la propagación, especialmente con velocidades de conducción muy bajas, lo cual ocurre en la periferia del núcleo de rotación del rotor, debido a una curvatura muy pronunciada del frente de onda y un potencial de membrana de reposo ligeramente despolarizado. El bloqueo de $I_{\text{Ca-L}}$ aumenta el tamaño del núcleo, disminuye la frecuencia de rotación del rotor y el grado de fragmentación de los frentes de onda de excitación.⁸⁵ En un estudio clínico, en pacientes con FA persistente y al menos 7 días bajo tratamiento con verapamil se realizó análisis de frecuencia a partir de los trazados del ECG de superficie. La frecuencia fibrilatoria fue significativamente menor en aquellos paciente tratados con verapamilo comparado con los controles.⁸⁶ Aunque el estudio no fue aleatorizado, los efectos sobre el bloqueo de $I_{\text{Ca-L}}$, junto con los datos procedentes de otras series pequeñas, apoyan los resultados.⁸⁷

Las alteraciones en la dinámica del Ca^{2+} intracelular están íntimamente relacionadas con el desarrollo de postpotenciales tardíos. Por ejemplo, durante estimulación a alta frecuencia o bajo tratamiento con digoxina, el Ca^{2+} se incrementa, lo cual ocasiona una mayor probabilidad de liberación espontánea de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico y la subsecuente aparición de postpotenciales tardíos y generación de actividad desencadenada precoz, que puede ocasionar fragmentación de los frentes de onda de activación y fibrilación.⁸⁸ Durante fibrilación ventricular, se cree que los postpotenciales tardíos desempeñan un papel secundario en el mecanismo reentrante. Por otro lado, durante FA, existen casos clínicos documentados, en los que el mecanismo más probable que explica el mantenimiento de la arritmia, es la presencia de actividad desencadenada desde las venas pulmonares.⁴³ En un modelo animal de FA en oveja, inducida mediante aumento de la presión intracavitaria bajo estimulación adrenérgica y colinérgica, la presencia de actividad focal en la región de mapeo óptico de alta resolución se ha correlacionado con una mayor probabilidad de fragmentación del frente de onda y formación de nuevos rotores, al mismo tiempo que desestabiliza los rotores existentes.⁵⁰ El hecho de que los rotores sigan manteniendo la FA después de reducir la sobrecarga de Ca^{2+} intracelular con rianodina o cafeína, sugiere que los postpotenciales tardíos desempeñan un papel secundario en este modelo de FA.⁵⁰

La corriente rectificadora tardía de potasio (I_K) tiene dos componentes, I_{Kr} e I_{Ks} , con cinéticas de activación rápida y lenta, respectivamente.⁸⁹ En ambos casos, las cinéticas de desactivación muestran considerables variaciones dependientes de la especie.⁹⁰ La combinación de lenta desactivación de I_{Kr} e I_{Ks} ayuda a explicar el mecanismo de refractariedad postrepolarización.⁹¹ Por lo tanto, la presencia de una distribución espacial heterogénea en la densidad de I_K podría fácilmente explicar la formación de fragmentación del frente de onda, tanto a nivel auricular como ventricular. Durante una reentrada funcional, la reducción uniforme de I_K debería incrementar la duración del potencial de acción de forma más marcada en la periferia, que en el centro de rotación. En las proximidades del núcleo, la repolarización ocurre de forma prematura debido a la influencia electrotónica del núcleo, lo cual devuelve el potencial de membrana al nivel de reposo antes de que I_K tenga el tiempo suficiente para activarse.⁸⁰ Por lo tanto, el bloqueo de I_K no

debería tener demasiado efecto sobre el núcleo del rotor, sin embargo, podría prolongar la duración del potencial de acción en la periferia del rotor dando lugar a conducción fibrilatoria.

A nivel clínico, el aumento de función de I_{Ks} se asocia con FA familiar, lo cual se ha atribuido a un acortamiento de la duración del potencial de acción y del período refractario efectivo.⁹² En experimentos controlados de mapeo óptico, la sobreexpresión de I_{Ks} en monocapas de células neonatales de ventrículo de rata, ha demostrado que una cinética de recuperación de I_{Ks} no homogénea en el espacio es suficiente para dar lugar a fragmentación de ondas y formación de reentrada.⁹¹ Cabe resaltar que aunque los datos obtenidos en monocapas no pueden extrapolarse de forma directa a la fisiología humana, los resultados permiten especular que el mecanismo más probable de la aparición de conducción fibrilatoria, en casos de FA familiar por aumento de función de I_{Ks} , es el fenómeno de refractariedad postrepolarización, lo cual da lugar a fragmentación múltiple de las ondas de propagación y conducción fibrilatoria. Experimentos similares en monocapas celulares que sobreexpresan I_{Kr} , se asocian a rotores más rápidos, menor longitud de onda y potenciales de acción más cortos, lo que aumenta la estabilidad de los rotores.⁹³

La corriente ultra-rápida rectificadora tardía de potasio (I_{Kur}) desempeña un papel importante en la repolarización auricular.⁹⁴ La corriente está ausente en los ventrículos, lo cual la hace un objetivo atractivo en el desarrollo de nuevos fármacos antiarrítmicos.⁹⁵ En miocitos humanos aislados, I_{Kur} muestra una recuperación relativamente lenta desde la inactivación a potenciales diastólicos, así como una dependencia de frecuencia significativa a temperaturas fisiológicas.⁹⁶ El descenso dependiente de frecuencia de I_{Kur} podría ocasionar una duración del potencial de acción durante taquicardia mayor que el esperado si la corriente fuese frecuencia independiente. Por lo tanto, I_{Kur} podría tener ciertas propiedades antiarrítmicas frente al inicio de un mecanismo reentrante. Sin embargo, los resultados actuales son controvertidos con respecto al uso de sustancias bloqueadoras de I_{Kur} para terminar la FA, con algunos datos que incluso sugieren un potencial efecto proarrítmico debido al acortamiento del potencial de acción auricular y el período refractario efectivo en perros sanos.⁹⁷

En células cardíacas humanas, la corriente transitoria de salida de potasio (I_{TO}) se activa en la fase de meseta del potencial de membrana y es responsable de la repolarización transitoria observada durante la fase 1 del potencial de acción. La recuperación de I_{TO} desde la inactivación es lenta, lo cual ocasiona una menor amplitud a frecuencias más rápidas y una prolongación del potencial de acción. En células ventriculares de conejo aisladas, I_{TO} desempeña una función fundamental en el mecanismo del fenómeno de Wenckebach.⁹⁸ Este efecto podría ser importante en las regiones frontera entre dominios de frecuencia distintos durante FA, de tal forma que favorezca la conducción fibrilatoria. Estudios realizados en cabras a las 48 horas después de remodelado eléctrico ocasionado por la propia FA han mostrado que el bloqueo de I_{Kur} e I_{TO} , es capaz de terminar la FA siguiendo un patrón dosis-dependiente, lo cual se debe a la prolongación del período refractario efectivo y de la longitud de onda.⁹⁹ Este efecto fue más pronunciado que el conseguido con el uso de dofetilide y bloqueo de I_{Kr} , lo cual podría explicarse por una mayor contribución de I_{Kur} e I_{TO} a la repolarización auricular en las aurículas con remodelado eléctrico. Aunque el remodelado iónico durante FA ocasiona disminución de I_{Kur} , I_{TO} e I_{Ca-L} , una mayor reducción de I_{Ca-L} podría explicar el postulado de una mayor contribución de I_{Kur} e I_{TO} .

3. Métodos generales.

Los trabajos compendiados utilizan como base para el entendimiento de la FA un modelo *ex vivo* con mapeo óptico de alta resolución y un modelo *in vivo*, en el que se induce la arritmia mediante estimulación auricular a alta frecuencia hasta que la arritmia se mantiene de forma espontánea en el tiempo. En el modelo *in vivo* se realiza un análisis detallado de los cambios celulares y estructurales que ocurren durante la evolución de la arritmia. Ambos modelos se complementan con simulaciones computacionales. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité Ético para el Uso y Cuidado de los Animales (UCUCA) de la Universidad de Michigan y cumplen con las reglas establecidas por el Instituto Nacional de Salud (NIH) de los EE.UU. para la experimentación animal.

A modo de resumen se describen los elementos más relevantes de ambos modelos.

3.1 Mapeo óptico en corazones aislados.

3.1.1 Extracción del corazón y perfusión en el sistema de Langendorff.

Las ovejas, con pesos comprendidos entre 35-40 kg, fueron anestesiadas utilizando 4-6 mg/Kg de propofol y 60-100 mg/kg de pentobarbital sódico. Los corazones fueron extraídos a través de esternotomía media y posteriormente se conectaron a un sistema de perfusión de Langendorff con solución de Tyrode oxigenada (95% O₂, 5% CO₂). El flujo se estableció a una velocidad constante de 240 a 270 ml/min, con pH de 7,4 y temperatura controlada de 35,5 a 37,5 °C. La composición del Tyrode (en mM) fue: NaCl 130, KCl 4,0, MgCl₂ 1, CaCl₂ 1,8, NaHCO₃ 24, NaH₂PO₄ 1,2, glucosa 5,6 y albúmina 0,04 g/L. Se utilizó blebbistatin 10 µM en el medio de perfusión (Enzo Life Science International, INC. Plymouth Meeting, PA, USA) para reducir la fuerza contráctil y permitir el mapeo óptico libre de artefactos de movimiento.

3.1.2 Fibrilación auricular con aumento de presión intracavitaria en el corazón aislado y perfundido en el sistema de Langendorff.

El corazón aislado y canulado a través de la aorta para una correcta perfusión coronaria, se somete a una punción trans-septal para permitir que la presión intracavitaria se iguale en ambas aurículas. Todos los orificios venosos se cierran de forma manual con suturas, a excepción de la vena cava inferior, en la que se inserta una cánula de salida, que se conecta a un sensor digital (Biopac Systems transducer-TSD104A; Biopac Systems, Inc., Goleta, CA, USA), para el control de la presión intracavitaria. La presión se incrementa hasta 12 cm H₂O, lo que conduce a un aumento de aproximadamente el 30% del volumen auricular con respecto al volumen correspondiente a una presión fisiológica de 6 cm H₂O. La presión se mantiene estable durante todo el tiempo de experimentación. Antes de sellar los orificios venosos se posicionan catéteres tetrapolares (Torq, Medtronic Inc./Minneapolis/MN/USA) en cada una de las venas pulmonares para registrar señales bipolares a partir los dos pares de electrodos distales (frecuencia de muestreo, 1 kHz) utilizando un amplificador de Biopac Systems (DA100C; Biopac Systems, Inc., Goleta, CA, USA). Otros tres electrodos bipolares, hechos a medida, se colocan en el techo de la aurícula izquierda y de la orejuela izquierda, así como en la parte superior de la orejuela de la aurícula derecha.

Bajo aumento de presión auricular, se induce FA a través de estimulación a alta frecuencia con ráfagas (50-100 ms de longitud de ciclo) de 10 segundos de duración, mediante un electrodo de estimulación situado en la parte superior de la orejuela izquierda. La FA se mantiene de forma estable en el tiempo bajo estas condiciones de aumento de presión intracavitaria. Esto permite la obtención de vídeos de hasta 5 segundos de duración a intervalos regulares, tanto en condiciones basales como tras la administración de las sustancias de interés.

3.1.3 Fibrilación auricular con acetilcolina en el corazón aislado y perfundido en el sistema de Langendorff.

Después de la canulación y perfusión del corazón en el sistema de Langendorff y tras un periodo de 15 minutos de estabilización, se añade blebbistatin al medio para reducir los artefactos de movimiento durante el mapeo. En este modelo colinérgico de FA se introduce carbacol (0,25-0,5 μ M) en el medio de perfusión, para inducir posteriormente FA tras la estimulación con ráfagas de 10 segundos de duración a alta frecuencia (50-100 ms de longitud de ciclo) o mediante el uso

de una pila en contacto con la superficie epicárdica. En estas condiciones se consigue un éxito completo para inducción de FA estable que permite su mapeo en condiciones basales y posteriormente, en caso necesario, tras la administración de sustancias potencialmente eficaces en la terminación de episodios.

3.1.4 Procedimiento de mapeo óptico.

Para el mapeo óptico es necesario emplear sustancias (tintes) sensibles al voltaje que permitan detectar los cambios en voltaje que aparecen en el tejido a medida que se propagan las ondas de activación. Para ello se realiza una inyección de 5 a 10 ml de Di-4-ANEPPS (10 mg/ml) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) durante un período de carga de 10 minutos. Esto permite obtener fluorescencia sensible al voltaje tras la iluminación láser de la superficie del epicardio de la aurícula izquierda y/o la aurícula derecha (longitud de onda de 532 nm). La fluorescencia emitida se transmite a través de un filtro de paso de 600 nm de longitud de onda y se proyecta en una cámara de vídeo LittleJoe CCD (80x80 pixels, SciMeasure Analytical Systems, Inc. Decatur, GA, USA), que es capaz de adquirir imágenes a una velocidad de hasta 2000 fotogramas por segundo (ver esquema en Figura 3). Se obtienen vídeos de hasta cinco segundos de duración a intervalos regulares durante FA. El área de la superficie epicárdica de mapeo puede oscilar entre 14-25 cm² en función del modelo y el tamaño del corazón en el que se realice el mapeo.

En determinados modelos de FA también se emplea el mapeo óptico endocárdico de la pared posterior de la aurícula izquierda manteniendo intacta la pared auricular. Para ello se utiliza una segunda cámara LittleJoe CCD (80x80 píxeles) que se sincroniza con la/s cámara/s epicárdica/s. Resulta necesario introducir un endoscopio rígido de doble canal de 10 mm de diámetro, con un campo de visión de 90 grados (Everest VIT, Inc. Flanders, NJ, USA). El endoscopio se introduce a través de la pared anterior del ventrículo izquierdo, se progresa hasta cruzar la válvula mitral y se posiciona en la aurícula izquierda tras centrar el campo de visión en la superficie endocárdica de la pared posterior de la aurícula izquierda. El área óptica de mapeo en la pared posterior es de ≈ 4 cm², aunque puede ser mayor en corazones de modelos de FA persistente. Esta

técnica permite la visualización de las cuatro venas pulmonares y el septo que separa las venas derechas de las venas izquierdas (Figura 3). El endoscopio se acopla a la cámara CCD a través de un adaptador a medida. La iluminación láser a 532 nm de longitud de onda se entrega a través del canal de excitación del endoscopio utilizando una guía de luz líquida (0,2 pulgadas). Los registros ópticos se sincronizan con los registros eléctricos para ser adquiridos de forma simultánea.

3.2 Análisis espectral.

El análisis de frecuencias permite la identificación de regiones con alta tasa de activación durante la FA, junto con gradientes de frecuencia entre la aurícula izquierda y la derecha. Los valores de frecuencia dominante y los mapas de frecuencia de las distintas regiones se obtienen a partir de cada película óptica después de aplicar la transformada rápida de Fourier para la señal de fluorescencia de los registros temporales procedentes de cada píxel.⁵³ La transformación de Fourier también se aplica a los registros de señales bipolares sincronizadas con las secuencias de mapeo óptico.

3.3 Análisis de los patrones dinámicos de activación durante fibrilación auricular.

3.3.1 Generación de mapas de fase.

El análisis de los patrones dinámicos de activación durante FA se basa en las películas de fase generadas a través de la transformación de Hilbert.¹⁰⁰ Brevemente, la fase instantánea del potencial de acción registrado en cada píxel se determina mediante la transformación de las señales originales de la secuencia temporal, de tal manera que cada componente espectral se desplaza por su cuarto de ciclo correspondiente.¹⁰¹ Posteriormente, la fase instantánea de la señal se obtiene de la tangente inversa del cociente entre la señal transformada y la señal original. El ángulo de fase, con valores de radio entre $-\pi$ y π se representa como un esquema progresivo de colores para construir un mapa de fase, en el que el continuo cambio de fases a nivel espacial refleja el proceso de excitación, la repolarización y la recuperación.¹⁰⁰

3.3.2 Caracterización de los patrones de activación.

Diferentes clases de patrones de activación pueden ser identificados utilizando películas de fase (ver Figura 4), incluyendo los siguientes:

- Un rotor se identifica por la presencia de convergencia de todas las fases en un punto de singularidad que además se mantiene más allá de una rotación (Figura 4A y Figura 1).
- Un afloramiento se define como un frente de onda que aparece en el campo de visión y se propaga de forma centrífuga hacia su periferia (Figura 4B).
- Un patrón de ondas periódicas organizadas de forma espacial y temporal se definen como un mínimo de cuatro ondas periódicas secuenciales que salen de la misma ubicación en el campo de visión, con la misma dirección e intervalos similares entre ondas (Figura 4C).

La caracterización de los patrones de activación permite correlacionar la localización espacial de los dominios de frecuencia más altos con el patrón de activación obtenido más frecuente. Esto último destaca el papel fundamental del mapeo de la superficie endocárdica de la pared posterior de la aurícula izquierda, ya que habitualmente representa a la región en la que se encuentran los dominios de frecuencia más altos durante FA.

3.3.3 Análisis de direccionalidad de las ondas activación.

El análisis de direccionalidad de las ondas de propagación en la pared posterior y superficies epicárdicas permite el seguimiento preciso de la ondas con propagación centrífuga y aquellas con propagación centrípeta. Este análisis se realiza a intervalos regulares y se basa en la transformación de Hilbert. Los patrones de activación se clasifican como rotores o afloramientos, según lo descrito en el apartado anterior.

3.4 Modelo de fibrilación auricular paroxística y persistente *in vivo*.

Para el implante de dispositivos se utilizaron ovejas de 6 a 8 meses de edad (≈ 40 Kg). El propofol intravenoso y el isoflurano inhalado se utilizaron para la inducción y mantenimiento de la anestesia, respectivamente. Se insertó un

electrodo bipolar en la pared libre de la aurícula derecha a través de acceso venoso yugular, el cual se conectó a un generador de marcapasos (Victory XLDR, St. Jude Medical. Sylmar, CA. USA) implantado subcutáneamente. Inmediatamente después se realizó el implante de un segundo dispositivo de monitorización electrocardiográfica continua (Reveal XT, Medtronic, Inc. Minneapolis, MN. USA), posicionado subcutáneamente en la región pectoral izquierda en íntima relación con la aurícula izquierda (Figura 5 A, B). En base a las imágenes de fluoroscopia se determinó la proximidad del dispositivo de monitorización continua a la aurícula izquierda, así como su posición enfrentada con la del electrodo situado en la aurícula derecha. Esto asegura la recopilación de actividad procedente de aurícula izquierda y aurícula derecha. Se obtuvieron los valores de fracción de eyección del ventrículo izquierdo mediante ecocardiografía transtorácica (Sonos 5500, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) en el momento del implante, y previo a la eutanasia y realización de los estudios de mapeo *ex vivo*. También se realizaron estudios de ecocardiografía en momentos intermedios del protocolo de FA *in vivo* en función de las necesidades. La valoración ecocardiográfica se utilizó en base a las imágenes obtenidas en la proyección de eje largo paraesternal.

Pasados 10 días de recuperación tras el implante, se programó el marcapasos para inducir FA mediante estimulación auricular a alta frecuencia. Para ello, se utilizó un algoritmo consistente en 30 segundos de estimulación a 20 Hz seguido por un periodo de detección de 10 segundos. El dispositivo implantable de monitorización electrocardiográfica continua se programó para identificar episodios de FA que tuviesen una duración superior a 6 segundos, lo cual se realizó durante la ventana de 10 segundos de detección. Ambos dispositivos se interrogaron semanalmente a lo largo del estudio *in vivo*, incluyendo el registro de episodios de detección automática. En todos los animales, se determinó la duración en días y semanas hasta el registro del primer episodio de FA sostenida, definida como aquellos episodios > 6 segundos de duración. Una vez registrado se confirmó la persistencia de FA con seguimientos semanales de los animales.

Los animales fueron clasificados en base a la definición clínica de FA persistente, denominándose como tal los episodios de FA que se mantuvieron más de 7 días tras la supresión de toda interferencia externa por parte del

marcapasos y la estimulación auricular rápida. Aquellos episodios con duraciones ≤ 7 días fueron considerados como FA paroxística.²⁸

3.4.1 Determinación de los valores de frecuencia dominante *in vivo*.

Adquisición de datos: Durante el protocolo *in vivo* se realizó una adquisición simultánea de 2 tipos de electrogramas: (i) Electrogramas procedentes del electrodo localizado en la pared libre de la aurícula derecha recogidos con una velocidad de muestreo de 512 Hz, y (ii) Electrogramas registrados por el dispositivo implantable de monitorización cardíaca que se exportaron en forma de archivos PDF. Estos últimos, se procesaron mediante el uso de soporte Matlab (MathWorks, Natick MA) para la digitalización de los trazados originales. La calidad de la señal obtenida fue determinada mediante inspección visual del trazado original con la señal digitalizada. La escala temporal se calculó para cada trazado de forma individual en base a la distancia media entre las líneas de escala temporal presentes en el archivo de imagen en formato PDF.

Procesado de los datos: Los registros obtenidos a partir del dispositivo implantable de monitorización electrocardiográfica continua, en íntima proximidad a la aurícula izquierda, contienen una mezcla de actividad auricular y ventricular. Para poder analizar la actividad auricular, se realizó una sustracción del complejo QRS y onda T, lo que se corresponde con los componentes ventriculares del registro. Para incrementar la validez del método de sustracción del complejo QRS-T se utilizaron dos algoritmos distintos: (i) El análisis de componentes principales¹⁰² y (ii) El valor adaptativo singular para cancelación del QRS-T.¹⁰³ Después de la sustracción del complejo QRS-T se aplicó un filtro tipo Butterworth de señal de paso banda (4-35 Hz) a cada uno de los trazados. Se utilizó la transformación rápida de Fourier para obtener los valores de FD en segmentos de 5 segundos de duración obtenidos a partir de cada uno de los dispositivos. Finalmente, los valores de FD obtenidos para la aurícula derecha y la aurícula izquierda se compararon para identificar la presencia de diferencias entre ambas aurículas *in vivo*.

3.4.2 Evaluación de la eficacia en la substracción del complejo QRS-T.

Para dar soporte y validez a los métodos de substracción del complejo QRS-T, se realizó una evaluación de ambos métodos en una serie de trazados computacionales elaborados con actividad auricular y ventricular obtenida a partir de los animales estudiados. Cada trazado elaborado consistía en la incorporación de complejos QRS-T a actividad auricular fibrilatoria con frecuencias conocidas con exactitud. La frecuencia cardíaca seleccionada para evaluar la capacidad de ambos métodos para determinar la FD auricular se estableció en base a la frecuencia ventricular media registrada durante el estudio *in vivo* (≈ 100 latidos/min). Los trazados se agruparon de acuerdo a la variabilidad en la morfología de los complejos QRS-T entre sí, lo cual se estableció mediante el índice de correlación de Pearson.

3.5 Cambios estructurales en fibrilación auricular persistente.

Los corazones preservados en solución de formol al 10% y obtenidos de los animales estudiados *in vivo* y de sus controles, se utilizaron para la cuantificación del área de la pared posterior de la aurícula izquierda y para estudiar los cambios en el grado de fibrosis parcheada e intersticial. Las piezas macroscópicas fueron diseccionadas para exponer la pared posterior y obtener imágenes macroscópicas de la superficie endocárdica de la pared posterior. El área de esta superficie se cuantificó mediante delineado manual de los bordes exteriores de las venas pulmonares. Posteriormente se obtuvieron muestras de tejido de la pared libre de la aurícula izquierda y derecha, y del septo entre el ostium de venas pulmonares. El tejido miocárdico se fijó en solución de formol al 10% y se empapó en parafina para obtener secciones de 4 μm de grosor. Las secciones fueron analizadas de forma ciega por un miembro del equipo investigador especialista en histología cardíaca.

La determinación cuantitativa de fibrosis se realizó sobre las imágenes obtenidas a partir de las secciones teñidas con rojo Picrosirius. Las imágenes se obtuvieron con una amplificación de 10X, tanto con una cámara color digital CCD (DC-330, DAGE-MTI) instalada en un microscopio Zeiss Axioplan2 o con una

cámara color de 12 bits CCD (Qicam, Qimaging) instalada en un microscopio Zeiss ACIO imager A1. Los píxeles correspondientes al área teñida en rojo se normalizaron en relación al área total de píxeles ocupada por la imagen tisular. Los resultados fueron expresados como porcentaje de colágeno. La determinación de las áreas totales ocupadas por cardiomiocitos y colágeno, con exclusión de las luces vasculares, fue usado para determinar el valor del porcentaje. Un análisis similar fue realizado tras nuevas secciones de la aurícula izquierda y tinción con tricrómico de Masson con el objetivo de confirmar los resultados obtenidos con la tinción rojo Picrosirius.

3.6 Simulaciones computacionales.

3.6.1 Simulaciones en el modelo de fibrilación auricular paroxística.

Las simulaciones realizadas en el modelo de FA paroxística se basan en el modelo modificado de célula auricular humana incorporado en una lámina 2D para simular la presencia de un rotor,¹⁰⁴ como se describe en estudios previos.¹⁰⁵ La información obtenida en los últimos años permite orientar las simulaciones y llevar a cabo modelos computacionales para ver los cambios ocurridos en rotores, que potencialmente mantienen la FA en el tiempo. Los detalles específicos de las simulaciones en 2D empleadas en el modelo de FA paroxística pueden verse en la Sección 9 en el trabajo *Cardiovasc Res 2011;89;843-851*.

3.6.2 Simulaciones en el modelo de fibrilación auricular persistente.

En las simulaciones computacionales del modelo de FA persistente se implantó una versión modificada del modelo humano de célula auricular normal de Grandi-Pandit para simular el potencial de acción celular y su propagación en tejido cardíaco en 2D.¹⁰⁶ La formulación de I_{Na} en el modelo original se reemplazó por el modelo de miocito ventricular en mamíferos para obtener la propagación en láminas 2D de tejido cardíaco.¹⁰⁷ Además, los valores de conductancia máxima para I_{K1} se incrementaron un 30% para obtener excitabilidad tisular y propagación adecuada. La velocidad de conducción en el tejido también se ajustó a valores de 0,58 m/s.^{108, 109}

Las simulaciones realizadas en los distintos grupos de animales pertenecientes a distintas etapas evolutivas de la FA, así como en el grupo control se realizaron en base a los datos obtenidos de las magnitudes de I_{Na} , I_{Ca-L} , I_{TO} e I_{K1} a nivel experimental. En todos los casos, la reentrada en las láminas virtuales 2D (6 cm^2) se inició usando un protocolo de estimulación cruzada S1-S2. Los detalles específicos de la simulación en 2D empleada en el modelo de FA persistente pueden verse en la Sección 9 en el trabajo *Circulation 2014. Epub ahead of print*.

3.7 Determinación de biomarcadores, análisis de Western Blotting, aislamiento celular y electrofisiología celular, y RT-PCR.

El detalle de estas técnicas empleadas en la caracterización de las distintas etapas de evolución del modelo de FA *in vivo* puede verse en la Sección 9 en el trabajo *Circulation 2014. Epub ahead of print*.

4. Resumen de los trabajos compendiados.

4.1. La cloroquina termina la fibrilación auricular con aumento de presión intracavitaria de forma más eficaz que la flecainida en el modelo de corazón de oveja.

(Circ Arrhythm Electrophysiol 2012;5;561-570)

Aunque los mecanismos que mantienen la FA en el tiempo todavía no se conocen por completo, existe una evidencia cada vez más potente hacia un mecanismo reentrante (rotores) como motor principal de la FA. Como se ha descrito en apartados anteriores, esta evidencia proviene tanto de estudios experimentales en animales como de datos obtenidos en pacientes sometidos a ablación de FA.^{9, 44, 58} Ocasionalmente, a nivel experimental es posible identificar rotores estables en la región de máxima frecuencia de activación.⁵⁰

En el corazón humano, la dilatación auricular y el aumento de presión intracavitaria predisponen a la aparición de FA con valores de FD_{max} directamente relacionados con el nivel de presión en la aurícula izquierda.¹¹⁰ De forma similar, en el modelo de animal de oveja sometido a aumento de presión intracavitaria auricular, la pared posterior de la aurícula izquierda representa la región con mayores frecuencias de activación y es clave en el mantenimiento de la arritmia.⁹ Sin embargo, el papel de los rotores en un modelo de FA con aumento de presión intracavitaria es cuestionado, ya que ante condiciones de aumento de presión y estiramiento, las descargas focales derivadas de actividad desencadenada podrían suponer el mecanismo principal de mantenimiento de la FA. Esto se debe a que el estiramiento celular despolariza el potencial de membrana de reposo y activa canales de cationes dependientes de estiramiento, lo cual puede generar postpotenciales que se correlacionarían con la observación de descargas focales en las regiones de mapeo.¹¹¹ Sin embargo, la actividad focal observada también podría representar la expresión en superficie de fuentes de reentrada intramurales.⁵⁶

A nivel de canales iónicos, las corrientes rectificadoras de entrada de K^+ (I_{K1} , $I_{K,ACH}$, e $I_{K,ATP}$) desempeñan un papel fundamental en el control de la dinámica de rotores.^{44, 81, 112} Datos obtenidos por Noujaim y colaboradores han demostrado que

la cloroquina es capaz de bloquear la región del poro de las subunidades Kir2.1, Kir3.1 y Kir6.2, responsables de la corriente rectificadora de entrada de K^+ (I_{K1}), de la corriente K^+ dependiente de ACh ($I_{K,ACh}$) y de la corriente de K^+ dependiente de ATP ($I_{K,ATP}$), respectivamente. Resulta, especialmente interesante el efecto de la cloroquina sobre el potencial de membrana de reposo, ya que lo despolariza y además provoca un aumento del automatismo, explicable por sus efectos sobre el bloqueo de I_{K1} .¹¹³ Por lo tanto, esto último podría originar un aumento de actividad focal dependiente de postpotenciales.

La hipótesis del trabajo es que la reentrada desempeña un papel esencial en el mantenimiento de la FA en el modelo con aumento de presión intracavitaria, por lo que la cloroquina debería ser eficaz en el restablecimiento del ritmo sinusal, en base a su capacidad para bloquear las corrientes rectificadoras de entrada de K^+ . El trabajo compara los efectos de la cloroquina con los producidos por la flecainida en el modelo de FA con aumento de presión intracavitaria y estudia los patrones de excitación mediante el uso de mapeo óptico de alta resolución en corazones de oveja aislados y perfundidos a través el sistema de Langendorff. La justificación razonada para esta comparación se basa en el hecho de que, de forma similar a la amiodarona y los fármacos antiarrítmicos recientemente introducidos en la práctica clínica como la droneradrona y el vernakalant,¹¹⁴⁻¹¹⁶ la flecainida no bloquea I_{K1} en su rango de concentraciones terapéuticas.¹¹⁷ La flecainida es así mismo más efectiva que la amiodarona en la cardioversión precoz de la FA de menos de 48 horas de evolución,¹¹⁸ y es recomendada por las guías de práctica clínica en pacientes sin cardiopatía estructural de base.¹¹⁹

Los datos del estudio demuestran que la cloroquina es más efectiva que la flecainida en el restablecimiento del ritmo sinusal en el modelo de aumento de presión intracavitaria de oveja. El modelo se asemeja a la FA paroxística en pacientes con sobrecarga de presión intraauricular y dilatación auricular.¹¹⁰ La terminación de la FA tras la administración de cloroquina se relaciona con un incremento significativo del tamaño del núcleo de los rotores, lo cual se correlaciona con una disminución de la frecuencia de activación auricular en la región de FD_{max} y del número de descargas focales observadas. El bloqueo de la corriente de Na^+ tras la administración de flecainida termina la FA en algunos casos tras observarse el paso a flutter auricular, aunque sin ser capaz de

restablecer el ritmo sinusal. Sin embargo, tras fracaso de la flecainida, la cloroquina fue capaz de terminar los episodios de FA tras el lavado de la flecainida del medio de perfusión. Experimentos adicionales con bloqueo selectivo de la corriente rectificadora tardía de potasio con cinética rápida de activación (I_{Kr}), mediante la administración de E-4031, demostraron que la cloroquina fue igualmente superior a esta para la terminación de episodios con FD_{max} por encima de 8 Hz, lo que demuestra el papel de I_{K1} en fuentes de reentrada de alta frecuencia.

A pesar de que la cloroquina es una sustancia con bloqueo preferencial de I_{K1} , su efecto también se centra en I_{Kr} ,¹¹³ lo cual puede hacerse más evidente a concentraciones elevadas. Aunque desde el punto de vista teórico la cloroquina también bloquea otras corrientes rectificadoras de K^+ , como $I_{K,ATP}$ (papel prominente en situaciones de isquemia) e $I_{K,ACh}$ (fundamental en la FA vagal),^{120, 121} parece razonable pensar que en la FA con aumento de presión intracavitaria el efecto principal de la cloroquina se debe al bloqueo de I_{K1} , ya que no existen las condiciones de isquemia o estímulo vagal necesarias para incrementar el papel de las otras dos corrientes rectificadoras de K^+ . En conjunto, los datos del trabajo apoyan de forma contundente la teoría del rotor como actividad que mantiene la FA en el modelo con aumento de presión intracavitaria y que el bloqueo de las corrientes rectificadoras de entrada de K^+ (fundamentalmente I_{K1}) podrían llegar a ser una alternativa terapéutica en el futuro diseño de nuevos fármacos antiarrítmicos. En humanos existen casos de FA familiar en los que se ha identificado la presencia de una mutación en el gen *KCNJ2* que origina un aumento de función de I_{K1} .¹²² La posibilidad teórica de un bloqueo selectivo de esa corriente se presenta como una estrategia terapéutica altamente específica para este tipo de pacientes u otros en los que I_{K1} tenga un papel predominante.

4.2. Patrones de Actividad ectópica y reentrante en la pared posterior de la aurícula izquierda durante fibrilación auricular con aumento de presión intracavitaria. *(Prog Biophys Mol Biol. 2012;110:269-77)*

Las venas pulmonares y la región anatómica que rodea el *antrum* de las mismas en la aurícula izquierda desempeñan un papel fundamental en la iniciación y mantenimiento de la FA. Existe evidencia experimental de que el estiramiento incrementa los valores de FD_{max} y la propagación de ondas desde las venas pulmonares hacia la aurícula izquierda,^{9, 58} así como la aparición de actividad ectópica en venas pulmonares aisladas.¹²³ lo cual sugiere un aumento de la dominancia de las venas pulmonares en el mantenimiento de la FA. Sin embargo, los mecanismos iónicos que subyacen la actividad ectópica en las venas pulmonares no están claros y es perfectamente posible que estas sean capaces de permitir un mecanismo reentrante en su interior. El ostium de las venas pulmonares está compuesto por una variedad de células, incluyendo extensiones de miocitos de la aurícula. Existe una capa más externa de tejido conectivo que rodea la vena (túnica adventicia), una capa media (media) y una capa más interna (íntima). En los humanos, la continuidad del miocardio auricular desde la pared de la aurícula izquierda hacia la pared de las venas pulmonares está bien establecida.¹²⁴ En cobayas la capa media de las venas pulmonares está formada por músculo cardíaco en el extremo proximal, en su unión con la aurícula y por músculo liso en el extremo distal intrapulmonar.¹²⁵

Más relevante resulta la aparición de actividad espontánea en la parte distal del interior de las venas pulmonares, identificada en cobayas tras la apertura quirúrgica de la pared torácica y previa extracción de los pulmones, la cual además, resultaba sincrónica con la contracción auricular.¹²⁵ La frecuencia de la actividad espontánea era variable pero habitualmente mantenida entorno a 0,5 Hz, lo cual supone un valor significativamente menor que la frecuencia cardíaca normal de la especie, entre 230-380 lpm (\approx 3,8 - 4,7 Hz). En venas pulmonares aisladas de perros y conejos también se ha identificado la presencia de actividad espontánea rápida y de baja amplitud, aunque el mecanismo subyacente resulta desconocido.⁴¹ Estudios posteriores mostraron que los cardiomiocitos aislados de

venas pulmonares normales de perros y conejos pueden manifestar automatismo, así como postpotenciales,¹²⁶ lo cual se incrementa mediante estímulos profibrilatorios como la estimulación auricular o la exposición a hormona tiroidea *in vitro*.^{127, 128} Experimentos de Miyauchi y colaboradores han mostrado la presencia de repolarización heterogénea en las venas pulmonares, lo cual se asocia con mayor propensión hacia la aparición de postpotenciales precoces y actividad desencadenada inducida por isoproterenol y estimulación rápida.¹²⁹

A pesar de la alta tendencia de las venas pulmonares para generar actividad ectópica, llama la atención el hecho de que la FA paroxística no sea incluso más frecuente en la población general. Es posible que se necesiten factores asociados para que una vulnerabilidad latente se manifieste en situaciones fisiológicas reales *in vivo*,¹³⁰ o quizás la necesidad de otra condición como la existencia de reentrada para el mantenimiento de la arritmia, más allá del estímulo inicial. En cualquier caso, independientemente del mecanismo de mantenimiento, la eliminación de la actividad procedente de las venas pulmonares se ha demostrado eficaz en el tratamiento de algunos casos de FA mediante la ablación con catéter.^{21, 131} Sin embargo, hasta la fecha si estos puntos de actividad focal tienen un mecanismo automático, por postpotenciales o reentrante, no está completamente resuelto.

De forma global la dilatación auricular y el estiramiento derivado predisponen a la aparición de FA. De hecho, la dilatación auricular supone un factor de riesgo independiente para la aparición de FA.¹³² El mecanismo que subyace a ese aumento de riesgo no se entiende por completo, aunque los mecano-receptores y canales iónicos sensibles al estiramiento desempeñan un papel importante. Además, el estiramiento auricular origina un aumento de la actividad procedente de las venas pulmonares, lo cual pone de manifiesto la importancia de las mismas en base a lo descrito en los párrafos anteriores.⁹ **El objetivo** de este artículo es presentar y discutir datos experimentales sobre la dinámica de propagación de ondas durante FA en el corazón aislado con aumento de presión intracavitaria y perfundido de forma retroaórtica, con especial interés en la región de la pared posterior de la aurícula izquierda y venas pulmonares. Los datos pretenden aportar nueva evidencia sobre el mecanismo que mantiene la FA en el contexto agudo de aumento de presión intracavitaria y estiramiento, gracias al uso de un

modelo establecido, mapeo óptico de alta resolución y el análisis detallado de los patrones de propagación de ondas.

Los resultados muestran que durante FA inducida por estiramiento existe un patrón de propagación espacio-temporal evidente desde las venas pulmonares hacia la aurícula izquierda, que se hace más prominente a medida se aumenta el grado de estiramiento auricular. En concordancia con lo anterior, también se objetiva un gradiente de frecuencia desde la región de las venas pulmonares hacia la pared libre de la aurícula izquierda y aurícula derecha que se hace más importante con el aumento del grado estiramiento.

El análisis de los patrones de activación durante FA con estiramiento desde la superficie endocárdica o epicárdica mostró que se trata de patrones complejos que pueden variar, incluyendo reentrada, descargas focales, colisión de ondas, ondas de propagación lineal y presencia de múltiples frentes de onda fragmentados y reentrada secundaria (ver Figuras representativas en el trabajo original de la Sección 9). Esta complejidad de patrones dinámicos en superficie hace muy compleja la interpretación tridimensional de la actividad en el grosor de la pared miocárdica. Aunque, hoy en día no existe la capacidad de mapeo tridimensional, los patrones en superficie pueden correlacionarse con su potencial expresión tridimensional, especialmente observando la correlación entre la superficie endocárdica y epicárdica. Esto último permitió distinguir patrones con idéntica presentación en el endocárdico y el epicardio y aparición simultánea, así como patrones con diferente expresión endo-epicárdica. De forma global el estudio muestra que el 59% de los patrones observados en la superficie endocárdica y epicárdica son idénticos, frente a un 49% de los casos en los que resultan no concordantes.

En el primer supuesto, la generación de mapas de fase en ambas superficies de mapeo identificó episodios de FA con puntos de rotación simultáneos en endocardio y epicardio, compartiendo eje de rotación transmural perpendicular a ambas superficies de una manera evidente (ver Figura representativa en la Sección 9). En un 15% de los casos, el patrón simultáneo en ambas superficies no fue reentrante y sí en forma de descargas focales (ver Figura representativa en la Sección 9). Aunque en este último supuesto podría parecer evidente la existencia

un mecanismo no reentrante subyacente, localizado en el interior del espesor de la pared auricular, un análisis exhaustivo de estos casos permite establecer que es perfectamente posible la existencia de ejes de rotación no lineales dentro de la estructura tridimensional, que expliquen la aparición de actividad focal en ambas superficies. Esto último es especialmente relevante en las zonas más gruesas de la pared auricular.

Más complejo resulta interpretar patrones endo-epicárdicos disociados, no idénticos. La simulación de filamentos con distintas formas, como centros de rotación de la reentrada en tres dimensiones, permiten explicar los patrones observados (ver Figura representativa en la Sección 9). De esta forma se explican patrones reentrantes en una de las superficies y focales en la opuesta o incluso la coexistencia de dobles patrones reentrantes en una misma superficie con descargas focales en la opuesta. La existencia de filamentos con forma de 'L' y forma de 'U', entre otros, explican estos supuestos. Es importante resaltar que los extremos terminales del filamento deben estar en alguna localización del borde miocárdico, teniendo en cuenta que no puede corresponderse con el interior la pared, incluso tratándose del borde de una escara aislada intramural rodeada de tejido viable. El análisis de centros de rotación y rotores en la superficie endocárdica, muestra que estos se localizan fundamentalmente en la pared posterior de la aurícula izquierda, especialmente en la región circundante al *ostium* y *antrum* de las venas pulmonares

Dado la complejidad y dinamismo de los patrones expuestos, se pone de manifiesto la relevancia del mapeo endocárdico y epicárdico simultáneo, sin el cual los patrones observados pueden ser malinterpretados como falsa actividad con origen focal no reentrante, siendo realmente la expresión en superficie de una fuente reentrante con una morfología predecible de su filamento tridimensional.

4.3. Terminación de la fibrilación auricular paroxística en el corazón de cerdo mediante una estrategia basada en las diferencias presentes entre aurículas y ventrículos en las propiedades de los canales iónicos.

(Cardiovasc Res 2011;89;843-851).

El uso de los fármacos antiarrítmicos constituye la primera opción de tratamiento en los pacientes con FA a pesar del desarrollo tecnológico e incremento significativo en las técnicas de ablación con catéter.¹³³ Sin embargo, la eficacia de los fármacos es parcial y además no está exenta de efectos secundarios que pueden llegar a ser importantes.¹³⁴ Un problema adicional es el potencial riesgo de arritmias ventriculares potencialmente letales con el uso de fármacos antiarrítmicos.⁸⁴ Como resultado de esto, existe un especial interés en el desarrollo de fármacos antiarrítmicos con dianas selectivas presentes en el miocardio auricular y no en los ventrículos.⁹⁵

Hoy en día está bien establecida la existencia de diferencias en la expresión y funcionalidad de canales iónicos entre las aurículas y ventrículos en muchas especies, incluyendo los humanos.¹³⁵ La corriente ultra-rápida rectificadora tardía de K^+ (I_{Kur}), importante en la repolarización auricular en humanos, está ausente en los ventrículos, es actualmente uno de los objetivos para el desarrollo de fármacos antiarrítmicos con selectividad auricular.^{95, 134} Sin embargo, los resultados experimentales respecto a su eficacia han sido controvertidos, sin estar actualmente definida su utilidad en la terminación de la FA,⁹⁹ o incluso su potencial proarrítmico.⁹⁷ En la misma línea, estudios recientes también han identificado diferencias importantes entre las propiedades biofísicas del canal de Na^+ (I_{Na}) de aurículas y ventrículos, de tal forma que la aurícula muestra un valor más negativo del valor de potencial membrana para alcanzar el punto medio del estado de inactivación.¹³⁶ Esto último ha abierto una nueva vía de exploración en las diferencias presentes entre aurículas y ventrículos para la terminación de los episodios de FA.¹³⁷

El objetivo de este trabajo fue estudiar la utilidad de las dos estrategias anteriormente descritas con selectividad auricular en la terminación de los

episodios de FA, en un modelo de FA en corazón aislado de cerdo y perfundido a través del sistema de Langendorff, con presencia continua de carbacol en el medio, para permitir el mantenimiento de la FA durante los experimentos. En concreto, estudiamos la eficacia del bloqueo selectivo de I_{Kur} mediante el uso de 4-aminopiridina (4-AP) y de DPO-1. También postulamos que las diferencias inherentes entre aurículas y ventrículos en las propiedades biofísicas del estado de inactivación de I_{Na} podrían ponerse de manifiesto manipulando la concentración de K^+ extracelular. Nuestra **hipótesis** fue que para incrementos ligeros de la concentración de K^+ extracelular, la I_{Na} auricular se vería afectada en mayor medida que su equivalente a nivel ventricular como resultado de un valor más negativo del potencial de membrana para alcanzar el punto medio del estado de inactivación. Esto se traduciría en terminación de la FA, pero no de un episodio simultáneo de fibrilación ventricular.

Para una interpretación más precisa de los resultados también usamos simulaciones computacionales. Se utilizó una reformulación de las ecuaciones para I_{Kur} que tuvieron en cuenta la atenuación de la corriente con incrementos en la frecuencia de activación.^{96, 138, 139} La actualización del modelo iónico de la célula auricular se incorporó en paneles de dos dimensiones para simular patrones reentrantes de tipo funcional (rotores) y poder estudiar los mecanismos iónicos que subyacen la terminación de un episodio de FA.¹⁰⁴

De forma global **los resultados del estudio muestran** que el bloqueo selectivo de I_{Kur} no es capaz terminar la FA en un modelo con presencia continua de carbacol en el medio, en corazones aislados de cerdo. Las simulaciones matemáticas sugieren que esta falta de eficacia se debe a una menor contribución de I_{Kur} a la repolarización neta de la célula en presencia de una amplia contribución de $I_{K,ACH}$. Por otro lado, el aumento de la concentración extracelular de K^+ termina el episodio de FA de forma más precoz y eficaz que el episodio simultáneo de fibrilación ventricular. El modelo computacional indica que esto puede ser debido, al menos parcialmente, a las diferencias en las propiedades del estado de inactivación de I_{Na} entre la aurícula y el ventrículo, así como por un mayor tamaño de la masa miocárdica ventricular.

4.4. Los gradientes de frecuencia mantenidos en el tiempo durante fibrilación auricular persistente en el modelo animal de oveja se asocian a fuentes estables en la aurícula izquierda.

(Circ Arrhythm Electrophysiol. 2012;5;1160-7).

En los casos en los que la FA se mantiene de forma continua en el tiempo durante más de 7 días se define como persistente. La recuperación del ritmo sinusal de forma espontánea, farmacológica o mediante ablación resulta infrecuente en aquellos casos en los que la arritmia se ha mantenido durante periodos de más de 1 año, casos en los que se acuña el término de FA permanente.²⁸

Estudios experimentales mediante el uso de mapeo óptico de alta resolución han demostrado que la FA en un contexto agudo, a menudo depende de un número escaso de fuentes de reentrada denominadas rotores, que generan actividad periódica y organizada en forma de ondas en espiral que dan vueltas a alta frecuencia alrededor de un centro de rotación funcional.⁵⁸ Como se ha descrito en el apartado de introducción general, las ondas que surgen de dichos rotores interactúan con obstáculos anatómicos y funcionales a medida que se produce la propagación de las ondas en la periferia del rotor. Esto último da lugar al fenómeno de conducción fibrilatoria, en el que las zonas periféricas al rotor no son capaces de activarse a la misma frecuencia que el propio rotor. De esta forma se establece una distribución espacial y escalonada de frecuencias dominantes (FD) en las aurículas.⁵² El análisis espectral tanto en modelos animales como en pacientes con FA paroxística ha demostrado zonas de FD máxima (FD_{max}) en las venas pulmonares o en la proximidad de las mismas.^{44, 52} También se ha demostrado la presencia de un gradiente de frecuencia de aurícula izquierda a aurícula derecha con identificación ocasional de fuentes de reentrada en la región de FD_{max}. Los valores de FD_{max} tienen la capacidad potencial de proporcionar datos mecanicistas y servir como guía durante la estrategia de ablación; la presencia de un gradiente de aurícula izquierda a aurícula derecha en los valores de FD_{max} y su eliminación mediante ablación con radiofrecuencia ha demostrado predecir la evolución libre de FA tanto en pacientes con FA paroxística como persistente.⁶⁴

Las aurículas de los pacientes con FA persistente tienen una mayor distribución de zonas de FD_{max} , principalmente fuera de la región de las venas pulmonares, al igual que valores de FD_{max} más elevados que en los pacientes con FA paroxística.^{64, 110} Estudios en animales y en pacientes con FA persistente han atribuido la aceleración de la frecuencia de activación auricular al desarrollo de remodelado auricular tanto en animales como en humanos.^{140, 141} Sin embargo, los estudios hasta la fecha han estado limitados a una evaluación de los periodos de FA persistente relativamente breve o incluso con duración real indeterminada.^{140, 142, 143} Lo que es más, hasta la fecha no se ha proporcionado información sobre la distribución espacial de las frecuencias de activación auricular en modelos de FA persistente *in vivo* con íntima similitud a la FA persistente clínica. En el presente trabajo, pretendimos proporcionar los datos necesarios para esclarecer las limitaciones de estudios previos mediante el estudio *in vivo* de los cambios en el tiempo de los valores de FD_{max} y su evolución entre la aurícula izquierda y la aurícula derecha a medida que la FA paroxística se convierte en persistente.

Mediante el uso de un modelo animal de FA persistente en oveja, junto con monitorización continua del ritmo cardíaco con dos dispositivos implantables, pretendimos estudiar la **hipótesis** de que durante FA *in vivo* los valores de FD_{max} se incrementan de forma progresiva al mismo tiempo que se mantiene a largo plazo una diferencia de valores de FD entre la aurícula izquierda y la aurícula derecha. **Los resultados muestran** que existe un aumento progresivo de los valores de FD_{max} a lo largo de un periodo de 2 semanas tras la detección del primer episodio de FA, lo que sugiere el desarrollo de remodelado eléctrico progresivo secundario a la propia FA. Lo que es más importante, de forma consistente y persistente en el tiempo se objetiva un diferencia de valores de FD entre la aurícula izquierda y derecha que se mantiene hasta más de 22 semanas de seguimiento en la mayoría de los animales. Aunque en este modelo la fibrosis intersticial no se incrementó de forma significativa, el aumento de tamaño de la pared posterior hace que los rotors presentes en esa localización tengan menos probabilidades de colisionar con bordes anatómicos, lo cual condiciona una mayor probabilidad de persistencia de la arritmia. Por otro lado, cambios a nivel subcelular, como en el receptor de rianodina, pueden haber condicionado la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico y contribuido a la persistencia

de la FA a través del incremento de la actividad desencadenada, dispersión de la refractariedad o mediante el favorecimiento del mecanismo de reentrada.¹⁴⁴ El mapeo auricular *ex vivo* y el consiguiente análisis estructural confirmó la presencia de gradientes en los valores de FD desde la pared posterior hacia la aurícula derecha, así como la identificación de patrones de activación congruentes con la existencia de fuentes de reentrada funcional (rotores) como el mecanismo que mantiene la actividad dinámica de las ondas de propagación durante FA persistente.

4.5. La tasa de incremento de los valores de frecuencia dominante en el tiempo predice la transición de la fibrilación auricular paroxística a fibrilación auricular persistente de larga duración.

(Circulation. 2014. Epub ahead of print)

Este trabajo supone una continuación lógica del trabajo previo, en el que se pretende estudiar la progresión de la FA hacia episodios de larga duración y los mecanismos iónicos y moleculares que subyacen tal evolución. La historia natural de la FA generalmente comienza con episodios de FA paroxística. Aunque algunos pacientes pueden tener episodios paroxísticos de forma indefinida, sobre todo con el uso de fármacos antiarrítmicos, una gran proporción de pacientes con FA evolucionan hacia episodios cada vez de mayor duración que acaban convirtiéndose en persistentes. En estos pacientes, la progresión desde FA paroxística a persistente y posteriormente permanente es probablemente el reflejo de un remodelado progresivo electrofisiológico y/o estructural en ambas aurículas, lo cual hace la arritmia más estable y persistente en el tiempo.¹⁴⁵ Sin embargo, a pesar de más de 100 años de investigación sobre FA, los mecanismos fundamentales que determinan la progresión de FA paroxística a persistente y permanente no se conocen con claridad, lo cual se asocia a estrategias de prevención y tratamiento subóptimas.

El remodelado eléctrico, evidenciado por el acortamiento de la refractariedad auricular, comienza a desarrollarse en los primeros días de la FA.³¹ Aunque

algunos cambios en canales iónicos han sido asociados al remodelado eléctrico en modelos animales y en humanos,^{141, 146, 147} todavía persiste un desconocimiento sobre como estos cambios se integran para originar la estabilización de la FA en el tiempo. De forma paralela la aparición de un remodelado estructural y fibrosis podría también contribuir a la aparición de alteraciones en la conducción intraauricular e incrementar la susceptibilidad para la aparición de FA, aunque su papel en la progresión desde FA paroxística a persistente no está claro.

Recientemente, el desarrollo del modelo de FA persistente descrito en el trabajo previo, con clasificación de los episodios de una forma clínicamente relevante, mostró que los valores de FD en ambas aurículas se incrementan de forma progresiva durante el periodo inicial de las dos primeras semanas, después del cual la FD permanece estable durante las semanas posteriores de seguimiento.¹⁴⁸ En este nuevo trabajo se pretende extender el estudio para investigar de forma sistemática si el incremento gradual de los valores de FD puede predecir el momento en el que la FA se convertirá en persistente. Para ello se realizó una modificación del modelo, de tal forma que la estimulación auricular a alta frecuencia se detenía temporalmente cuando la FA se iniciaba, durante los episodios paroxísticos, y de forma permanente cuando los episodios se convertían en persistentes y permanentes, sin nueva documentación de recuperación del ritmo sinusal. El trabajo comparó tres grupos de animales: controles operados sin estimulación auricular, un grupo de FA en el momento de la transición a FA persistente (> 7 días documentados de FA sin recuperación espontánea del ritmo sinusal) y un grupo de FA persistente de larga duración (> 1 año de duración de los episodios sin recuperación espontánea del ritmo sinusal).

La **hipótesis** del trabajo fue que la tasa de incremento de los valores de FD objetivados en los episodios de FA paroxística predice el punto temporal de la transición desde FA paroxística a persistente. Además esta transición se asocia a cambios precoces dominados por el remodelado eléctrico, mientras que el remodelado estructural, con la aparición de fibrosis intersticial aparece de una forma más gradual y se manifiesta de forma tardía cuando la FA persistente se ha estabilizado.

A nivel general, **el estudio muestra** que la estimulación auricular rápida e intermitente ocasiona un incremento progresivo de los valores de FD en los episodios sucesivos de FA paroxística. Cuando los valores de FD se estabilizan, la FA se convierte en persistente, y resulta posible correlacionar la tasa de incremento de los valores de FD con el desarrollo posterior de FA persistente. El acortamiento de la duración del potencial de acción se debe a los cambios ocurridos en la expresión de los genes que codifican canales iónicos (descenso de NaV1.5, CaV1.2 y KV4.2: incremento de Kir2.3) , lo cual ya está presente o ocurre de forma rápida durante la transición, al mismo tiempo que explica la aceleración de la FD. En ausencia de disfunción ventricular izquierda, existe una dilatación progresiva de la aurícula, aparición de insuficiencia mitral, hipertrofia de miocitos y desarrollo de fibrosis auricular, lo cual se convierte en significativo después de la estabilización de los valores de FD.

Todo esto demuestra que la tasa de incremento de los valores de FD en el tiempo, durante la progresión de FA paroxística a persistente, predice el punto temporal en el que la FA se vuelve persistente, lo cual refleja cambios en la duración del potencial de acción y de las densidades de I_{Ca-L} , I_{K1} , I_{Na} e I_{TO} . El trabajo supone la primera caracterización detallada del remodelado electrofisiológico y estructural involucrado en la transición de FA paroxística a persistente y de larga duración.

5. Discusión global de los resultados de los trabajos compendiados.

Ciertos aspectos relevantes de cada uno de los trabajos resumidos en el apartado anterior merecen ser discutidos.

5.1 *Circ Arrhythm Electrophysiol. 2012;5:561-570.*

Los mecanismos que explican la FA en el contexto de aumento de la presión intracavitaria y estiramiento de la pared auricular han sido controvertidos. Esto se debe a que el estiramiento despolariza el potencial de membrana de reposo y favorece la aparición de postpotenciales,¹¹¹ lo cual puede ser interpretado como que estos postpotenciales son por lo tanto, el mecanismo subyacente del episodio de FA. Para mayor confusión, el empleo de mapeo óptico en condiciones de estiramiento, en corazones completos, evidencia la aparición de descargas focales en la superficie de mapeo,⁵⁰ lo cual podría interpretarse como que puede ser debido a actividad desencadenada originada en ese mismo punto o en el interior de la pared auricular. Sin embargo, ese mismo patrón podría ser explicado por un mecanismo reentrante con un eje de giro en tres dimensiones, paralelo a la superficie de mapeo. En el primer trabajo, tanto el uso de cloroquina como flecainida, en el modelo de FA con aumento de presión intracavitaria, permitió documentar un descenso en el número de descargas focales en la superficie de mapeo, junto con un descenso concomitante del número de reentradas identificadas, pudiendo sugerir que quizás las descargas focales puedan ser secundarias a una actividad reentrante subyacente tridimensional, en el interior del espesor de la pared auricular. Ante estos escenarios, resultó ser muy interesante el efecto de la cloroquina y su capacidad para terminar la FA, en base a su efecto preferencial sobre el bloqueo de la corriente rectificadora de entrada de K^+ , I_{K1} . Con la ayuda del análisis riguroso de la dinámica de rotores reales durante FA, se evidenció como la administración de cloroquina aumentaba el centro del rotor de forma significativa antes de la terminación del episodio (ver Figura 6 del artículo original recogido en la Sección 9). Los patrones de activación en la pared posterior de la aurícula izquierda (zona de la FD_{max}) mostraron que el número de descargas focales, antes de la terminación del episodio de FA, era todavía superior al

número de rotores identificados en condiciones de FA sin cloroquina, sin embargo la FA terminaba y se restablecía el ritmo sinusal. Esto último, indica de una forma clara que la reentrada es esencial para el mantenimiento del episodio de FA bajo condiciones de aumento de presión y que la presencia de un mecanismo de reentrada intramural con ejes de rotación dinámicos explica muy probablemente la aparición de descargas focales en superficie, que son expresión de conducción fibrilatoria secundaria.

5.1.1 Porqué la cloroquina resulta más efectiva que la flecainida en la terminación de los episodios de FA en el contexto de aumento de presión intracavitaria?

La mayor eficacia de la cloroquina frente a la flecainida en este modelo puede estar relacionada con el hecho de que la dilatación auricular se asocia a un descenso de la velocidad de conducción e incrementa el grado de heterogeneidad espacial en la conducción.¹⁴⁹ Por lo tanto, bajo condiciones de aumento de presión intracavitaria y estiramiento, determinadas barreras anatómicas y funcionales pueden hacerse evidentes y facilitar la iniciación y el mantenimiento de actividad reentrante. La flecainida provoca un descenso adicional de la velocidad de conducción, lo cual incrementa el tamaño del núcleo del rotor y favorece el anclaje de este alrededor de un obstáculo. Finalmente aparece una actividad reentrante de menor frecuencia de rotación. Esto explicaría el descenso observado en los valores de FD y la conversión de FA a taquicardia auricular en presencia de flecainida en el medio de perfusión. Además, ante ciertas condiciones de excitabilidad críticas, los obstáculos no excitables pueden desestabilizar el frente de propagación causando la formación de una reentrada sostenida. Estas inestabilidades en el frente de propagación han sido descritas en presencia de bloqueo de I_{Na} , lo cual origina una separación de la onda de propagación del borde de la barrera anatómica o funcional e inicia la formación de reentrada.⁷⁷

5.1.2 Implicaciones clínicas de los efectos de la cloroquina en la terminación de la FA.

La dilatación auricular y el estiramiento predisponen a la aparición de FA, con valores de FD directamente relacionados con los valores de presión.¹¹⁰ La FA en

el corazón de oveja con aumento de la presión intracavitaria muestra gradientes de frecuencia desde la pared posterior de aurícula izquierda a la aurícula izquierda y aurícula derecha, similares a los observados en pacientes con FA paroxística. En este trabajo demostramos que una estrategia basada en actuar de forma preferencial sobre un canal iónico esencial para el mantenimiento de los rotores, mediante el bloqueo de las corrientes rectificadoras de entrada de K^+ , en especial I_{K1} , es altamente efectiva en la terminación de la FA en este modelo. Por el contrario, el bloqueo del canal de Na^+ mediante el uso de flecainida no fue capaz de restablecer el ritmo sinusal en este modelo, de forma similar a la pérdida de capacidad de cardioversión observada con el uso de flecainida en pacientes con dilatación auricular.¹⁵⁰

Aunque desde el punto de vista teórico, el bloqueo de I_{K1} resulta atractivo para la terminación de la FA, la estrategia utilizada no es posible emplearla a nivel clínico debido a la falta de fármacos antiarrítmicos con capacidad para bloquear I_{K1} en su rango terapéutico. Esto se asocia al temor de que el bloqueo de I_{K1} origina despolarización del potencial de membrana de reposo y podría dar lugar a arritmias por postpotenciales y actividad desencadenada.¹⁵¹ Tal temor puede reducirse al considerar los pacientes heterocigotos con síndrome de Andersen, los cuales carecen de un alelo del gen *KCNJ2* que origina una pérdida de función de las subunidades Kir2.1. A pesar de ello, los pacientes sólo presentan una ligera prolongación del intervalo QT corregido y raramente sufren muerte súbita.¹⁵² Además, la cloroquina no induce postpotenciales precoces en miocitos aislados estudiados con técnica de *'patch-clamp'*, incluso a concentraciones de 10 μM .¹¹³

Noujaim y colaboradores han demostrado que el bloqueo de I_{K1} , más que ser proarrítmico, ejerce un importante efecto antiarrítmico como se evidencia en la capacidad de la cloroquina para terminar los rotores en episodios de FA con acetilcolina en el medio de perfusión.¹²¹ En el trabajo actual, con un modelo de aumento de presión intracavitaria, si existiese un efecto favorecedor de los postpotenciales debido a la cloroquina, este se vería exacerbado debido a la potenciación de la despolarización del potencial de membrana en reposo al sumarse estiramiento y bloqueo de I_{K1} .¹¹¹ Aunque escaso, existe soporte clínico publicado en los años 50, apoyando la alta eficacia antiarrítmica de la cloroquina en la terminación de la FA.¹⁵³

Finalmente, en base al perfil de expresión de la subfamilia Kir2.X, las subunidades Kir2.3 predominan en la aurícula humana con respecto a su expresión ventricular.¹⁵⁴ La cristalización de la proteína, el modelado de la molécula y el conocimiento detallado de sus interacciones con moduladores (ej. PIP2)¹⁵⁵ podrían dar lugar a la aparición de nuevas estrategias farmacológicas centradas en el bloqueo selectivo de las subunidades Kir2.3. Esto último resulta especialmente relevante en el contexto de la insuficiencia cardíaca congestiva, en el que una disminución de la función de I_{K1} podría asociarse a un mayor riesgo de proarritmia ventricular.¹⁵⁶

5.2 Prog Biophys Mol Biol. 2012;110:269-77.

Como se ha descrito en la parte de resumen de este trabajo, la FA bajo condiciones de estiramiento en el corazón normal de oveja se caracteriza por la presencia de diferentes patrones de activación; actividad focal, fragmentación de ondas y fuentes de reentrada de corta duración, todo ello indicando que existe una interacción entre los patrones de actividad focal y el mecanismo reentrante.⁵⁰ Los distintos patrones tampoco tienen porque ocurrir de forma concordante entre endocardio y epicardio,¹⁵⁷ lo cual sugiere la existencia de propagación transmural que podría asociarse a una mayor persistencia de la FA. La disociación de la actividad endo-epicárdica puede explicarse por las propiedades dinámicas de los rotores en 3D. La Figura 5A del trabajo (ver Sección 9) muestra un patrón de reentrada a nivel epicárdico con actividad de tipo focal en la superficie endocárdica. La Figura 5A también muestra que una reentrada intramural con un filamento en forma de 'L' puede explicar los patrones de activación observados en la superficie. En este ejemplo, uno de los extremos del filamento con forma de 'L' se localiza en la superficie epicárdica y el otro se ancla fuera del campo de visión. En este supuesto en concreto, la posibilidad de actividad focal intramural no explica los patrones observados en ambas superficies. Otro ejemplo expuesto en la Figura 5B también muestra actividad disociada en ambas superficies de mapeo; un filamento en forma de 'U' mostraría actividad reentrante doble en una de las superficies y actividad focal también doble en la superficie opuesta. Este mismo patrón en superficie podría explicarse por la presencia de dos rotores independientes con un filamento con forma de 'L' para cada uno de ellos. Bajo

condiciones de estiramiento el mapeo de la pared posterior y región de venas pulmonares durante FA permite identificar la formación de puntos de reentrada en la región de la pared posterior con ligeros movimientos serpenteantes mayoritariamente en la proximidad del *ostium* y el *antrum* de alguna de las venas pulmonares como se demuestra en la Figura 6B (ver sección 9), en la que se superponen los puntos de formación de rotores y su región de desplazamiento, con la región anatómica en la que ocurre.

Aunque los patrones de actividad endocárdica y epicárdica en un momento determinado pueden también ser idénticos, los ejemplos descritos ponen de manifiesto la relevancia del mapeo dual endo-epicárdico, ya que la simple visualización de actividad focal en una de las superficies no permite descartar la existencia de actividad reentrante intramural. Este trabajo da mayor consistencia en la interpretación de los resultados del trabajo descrito previamente en el apartado 5.1 en lo que se refiere al valor de los patrones de activación observados durante el mapeo de FA y la terminación de episodios tras la eliminación de la reentrada, aún en presencia de actividad focal significativa. De todas formas, los resultados no permiten asegurar de forma definitiva la presencia de los filamentos descritos en la estructura tridimensional de la pared auricular. En el futuro, nuevos desarrollos tecnológicos que permitan mapeo tridimensional podrán demostrar esta interpretación de los patrones de activación observados.

5.3 *Cardiovasc Res* 2011;89;843-851.

Este trabajo añade aspectos relevantes desde el punto de vista teórico para la terminación de la FA basándose en el principio de los rotores, como mecanismo que mantiene la FA en el tiempo, y en la necesidad de desarrollar nuevas sustancias con selectividad auricular y capacidad para terminar los rotores. Los resultados del trabajo muestran que el bloqueo selectivo de I_{Kur} no es capaz de terminar la FA inducida en presencia de carbacol, en el corazón de cerdo, lo cual se debe probablemente a la gran atenuación de su efecto por la corriente $I_{K,ACh}$ en este modelo. Por otro lado, el estudio también muestra de forma muy ilustrativa que las diferencias existentes en las propiedades del estado de inactivación de I_{Na} entre la aurícula y el ventrículo se traducen en una mayor susceptibilidad de la

actividad fibrilatoria auricular al aumento de las concentraciones extracelulares de K^+ .

5.3.1 Puede ser el bloqueo de I_{Kur} un objetivo en el tratamiento antiarrítmico de la fibrilación auricular?

Desde el punto de vista teórico, el bloqueo de I_{Kur} puede ser atractivo en la terminación de episodios de FA, ya que se trata de un canal con especificidad auricular, sin presencia en los ventrículos de humanos.^{95, 134} Sin embargo, existen dudas sobre su eficacia para poder terminar la FA, debido principalmente a una reducción de la magnitud de la corriente frecuencia-dependiente.^{96, 138, 139} Por otro lado, la contribución de I_{Kur} a la repolarización auricular puede verse disminuida en FA persistente en humanos.¹⁰⁵ A pesar de este dato, en un modelo animal en cabras con presencia de remodelado auricular y FA, el compuesto AVE0118 (un bloqueador relativamente selectivo de I_{Kur}) ha mostrado capacidad para terminar la FA.⁹⁹ El bloqueo de I_{Kur} también es capaz de terminar la reentrada en modelos computacionales de FA en presencia de remodelado.¹⁰⁵ Por el contrario, el bloqueo de I_{Kur} con 4-AP no terminó la FA en un modelo canino de FA colinérgica, e incluso resultó ser proarrítmico.⁹⁷ Los resultados del presente estudio en cerdos son consistentes con este último estudio en el modelo colinérgico canino, lo cual se ve apoyado por los resultados obtenidos en el modelo computacional. En base a esto, podemos razonablemente esperar que en FA paroxística, para frecuencias >10 Hz, el bloqueo de I_{Kur} no sería útil como estrategia para terminar la FA. Sin embargo, para frecuencias fibrilatorias entre 4-6 Hz podría ser útil. El valor del bloqueo selectivo de I_{Kur} en FA persistente está por determinar y serán necesarios experimentos adecuados con bloqueo selectivo mediante 4-AP o DPO-1 para obtener resultados fiables. El uso de AVE018 no es muy específico, ya que también bloquea I_{TO} e $I_{K,ACh}$.¹⁵⁸

5.3.2 Implicaciones de la hiperpotasemia en la terminación preferencial de la fibrilación auricular frente a la fibrilación ventricular.

El estudio también demuestra que el aumento de las concentraciones de K^+ extracelular tiende a ser antifibrilatorio en el corazón aislado. Las variaciones en

las concentraciones de K^+ necesarias para terminar la FA son mucho menores que las necesarias para terminar el episodio simultáneo de fibrilación ventricular. Esto se relaciona potencialmente con las diferencias existentes en las propiedades biofísicas de I_{Na} entre la aurícula y el ventrículo,¹³⁶ y también explica parcialmente el hecho conocido, pero mal entendido, de la alta sensibilidad de la aurícula al aumento de las concentraciones de K^+ en el medio.

El uso de elevadas concentraciones de K^+ en el medio para terminar la FA en nuestros experimentos demuestra la prueba de concepto que existen diferencias inherentes en la disponibilidad de I_{Na} entre aurículas y ventrículos, que potencialmente podrían explotarse para terminar la FA de una forma más selectiva. Estos datos hacen plantearse la posibilidad teórica de diseñar nuevas sustancias que actúen de forma preferencial sobre I_{Na} de la aurícula sin afectar de forma significativa al ventrículo, disminuyendo de este modo el riesgo de proarritmia ventricular en la terminación de episodios de FA.

5.4 *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5;1160-7.

Los resultados principales de este artículo muestran un aumento progresivo de los valores de FD_{max} a lo largo de un periodo de 2 semanas desde la detección del primer episodio de FA, lo cual indica la aparición de un remodelado eléctrico progresivo secundario a la FA. Más importante resulta el hecho de objetivar la presencia de diferencias en valores de FD entre aurícula izquierda y aurícula derecha que persisten a largo plazo (>22 semanas) en este modelo *in vivo* de FA persistente. Estos valores *in vivo* de FD_{max} en la aurícula izquierda se correlacionan, en el corazón aislado y perfundido, con la presencia de rotores, gradientes de frecuencia y propagación preferencial desde la pared posterior hacia el resto del tejido auricular.

5.4.1 Implicaciones de un gradiente de valores de frecuencia dominante entre aurícula izquierda y aurícula derecha en FA persistente.

Existen datos clínicos en pacientes con FA persistente y permanente, sometidos a cirugía cardíaca y mapeo epicárdico con electrodos, que apoyan la existencia de

gradientes de FD desde la aurícula izquierda a la aurícula derecha. La longitud de ciclo de los electrogramas en la región de activación más rápida es también más regular que la observada en la región con activación irregular. Aienza y colaboradores han demostrado que es posible identificar un gradiente de FD izquierda-derecha en un 84% de los pacientes con FA persistente. Más interesante resulta el hecho de que la eliminación de ese gradiente es un predictor de no recurrencias en el seguimiento.⁶⁴ Hocini y colaboradores también han mostrado la existencia de gradientes en pacientes con FA persistente de larga duración,²³ en los que en algunos casos es posible objetivar un gradiente derecha-izquierda, después de la prolongación de la longitud de ciclo de la FA en la aurícula izquierda. En estos casos la ablación complementaria en la aurícula derecha es capaz de terminar la FA en el 55% de los casos. También resulta interesante el hecho de que estos pacientes son los que tienen mayor dilatación de la aurícula derecha y mayor tiempo de evolución de la FA.

El modelo y hallazgos descritos en este artículo se asemejan a etapas precoces de la FA persistente, en las que todavía existe un gradiente izquierda-derecha, con actividad organizada en la pared posterior de la aurícula izquierda que da lugar a conducción fibrilatoria en la periferia. Aunque en este periodo de tiempo de hasta 26 semanas no se objetivó un aumento de fibrosis significativo, periodos más prolongados en FA podrían extender el proceso de fibrosis a múltiples regiones de la aurícula izquierda y derecha, aumentando de esta forma la posibilidad de aparición de fuentes de reentrada a otros niveles de ambas aurículas.

5.4.2 Mecanismos subyacentes a los valores de DF_{max} en la aurícula izquierda durante FA persistente.

El remodelado eléctrico auricular y los cambios funcionales en estructuras subcelulares ocasiona acortamiento del potencial de acción y de los periodos refractarios,¹⁴³ así como una mayor predisposición a la aparición de actividad desencadenada Ca^{2+} -dependiente,¹⁵⁹ que en conjunto favorecen la aparición de reentrada. Sin embargo, es controvertido el mecanismo básico que subyace los patrones de propagación observados durante FA persistente, de tal forma que tanto los rotors, como ondas fibrilatorias de propagación aleatoria o actividad

desencadenada han sido sugeridos como posibles mecanismos. Datos obtenidos en pacientes sometidos a cirugía y mapeo eléctrico epicárdico, muestran la presencia de patrones no repetitivos de actividad focal que ocurren más frecuentemente en la región de venas pulmonares comparado con las regiones de aurícula derecha e izquierda.¹⁶⁰ Aunque esos resultados podrían hacer pensar en la presencia de ondas fibrilatorias aleatorias propagándose en el espesor tridimensional de la pared auricular, debemos tener en cuenta las limitaciones inherentes al uso de un mapeo exclusivamente epicárdico (ver también discusión en la referencia del apartado **5.2** previo: *Prog Biophys Mol Biol.* 2012;110:269-77), así como secuencial y no simultáneo en las tres regiones. Todo ello impide descartar la posibilidad real de rotores intramurales que dan lugar a actividad focal en la superficie de mapeo. Además, tampoco resulta posible descartar la presencia de actividad desencadenada intramural dependiente del Ca^{2+} , ya que no se realizó mapeo simultáneo de voltaje y Ca^{2+} .¹⁴⁴ Como punto de confluencia, nuestro estudio también identifica una mayor cuantificación de actividad focal comparado con la cuantificación de rotores en la pared posterior de la aurícula izquierda. Sin embargo, frente a las limitaciones descritas previamente del mapeo epicárdico no simultáneo, la visualización directa del endocardio de la pared posterior de la aurícula izquierda, junto con el mapeo simultáneo de esta región, la pared libre de aurícula izquierda y derecha, y el uso de mapeo óptico, con mucha mayor resolución de mapeo que las placas multielectrodos convencionales, nos permitió la identificación de rotores serpenteantes con un filamento perpendicular a la superficie de mapeo. Además, estos rotores se identificaron en los lugares de FD_{max} . Frecuentemente, el desplazamiento del rotor, se asociaba a cambios en los patrones de activación de superficie a actividad focal, lo cual explica que pueda erróneamente interpretarse como actividad focal. Esto último también hace más probable que cualquier fenómeno de actividad desencadenada, dependiente de Ca^{2+} , esté más relacionado con la iniciación de reentrada que en el mantenimiento a largo plazo de la arritmia.

5.5 *Circulation. 2014. Epub ahead of print.*

Este trabajo representa una evolución lógica del trabajo previo para una caracterización detallada de los cambios iónicos, moleculares y estructurales que

ocurren en la transición de la FA paroxística a persistente y después de períodos prolongados de FA. Estos cambios explican el patrón de comportamiento de la arritmia *in vivo* y además indican que el momento de la transición hacia persistente puede predecirse en función de los cambios observados en los valores de FD_{max} .

5.5.1 Interpretación de los cambios de los valores de frecuencia dominante *in vivo*.

El incremento de los valores de FD *in vivo* fue diferente en cada uno de los animales, con un rango de 4 a 50 semanas. Es importante destacar que una vez alcanzado un valor estable los valores de FD, estos no volvieron a cambiar, incluso tras 1 año de seguimiento en FA persistente. Este incremento progresivo de los valores de FD es una consecuencia del remodelado eléctrico. La persistencia de la FA acorta la duración del potencial de acción y el período refractario efectivo, lo cual acorta la longitud de onda y favorece la aceleración y estabilización de la reentrada. Los principales determinantes del acortamiento del potencial de acción son el descenso de I_{Ca-L} y el incremento de I_{K1} .^{161, 162} Los resultados de este estudio muestran como cambios iónicos mayores una disminución de I_{Na} e I_{Ca-L} , secundario a un descenso en la expresión de NaV1.5 y CaV1.5, junto con un aumento de la densidad de I_{K1} , secundario a un incremento en la expresión de Kir2.3. Estos cambios aparecen en el momento de la transición a FA persistente y forman parte del remodelado que ocurre durante los episodios de FA paroxística. Estos cambios evolucionan de forma paralela al incremento de los valores de FD. Del mismo modo que la FD se estabiliza, estos cambios también se estabilizan una vez alcanzado el estado de FA persistente.

Las simulaciones computacionales mostraron que el aumento de la densidad de I_{K1} contribuye a la aceleración y estabilidad de los rotors, así como a su persistencia en el tiempo. De forma similar, la disminución de I_{Na} , a pesar de reducir ligeramente la excitabilidad, contribuye a la estabilización de los rotors, como se muestra en las simulaciones hechas sin disminución de I_{Na} , en las que existe un mayor movimiento de los rotors y mayor riesgo de terminación de los mismos. Las simulaciones también muestran que la combinación de disminución de I_{Ca-L} y aumento de I_{K1} son los dos cambios que más contribuyen al incremento

de los valores de FD y a la estabilización de los rotores, especialmente en el momento de la transición a FA persistente.

5.5.2 Relación entre los cambios estructurales y el remodelado eléctrico.

Este modelo de FA persistente, sin cardiopatía de base, muestra cambios significativos a nivel estructural. Se observa una hipertrofia de miocitos y un incremento progresivo de la dilatación de la aurícula que resulta significativo, cuando se comparan ovejas del grupo control con aquellas en el momento de transición y con FA de larga duración. Esto sugiere que podría existir cierta asociación entre la dilatación auricular y el incremento en los valores de FD. De forma adicional, los marcadores en suero de fibrosis intersticial se incrementan de forma progresiva hasta el final del seguimiento. Los niveles de colágeno y de fibrosis también tienden a aumentar en el momento de la transición a FA persistente y se presentan francamente aumentados en los animales con FA persistente de larga duración. Resulta interesante el incremento de la α -actina de músculo liso (α -SMA) a nivel auricular, que representa un marcador de activación de los miofibroblastos.¹⁶³ Este incremento se objetiva en ambas aurículas en el momento de la transición y tiende a volver a descender a valores equiparables al grupo control en los animales con FA persistente de larga duración. Estos cambios pueden reflejar cambios similares a los descritos en el contexto de infarto de miocardio, de forma que una fase proliferativa de miofibroblastos da paso a una fase de maduración, en la que disminuye la densidad celular y aumenta la escara fibrótica basada en colágeno.¹⁶⁴ El incremento en la proteína α -SMA puede reflejar un aumento de la activación auricular de los miofibroblastos y proliferación, derivado de la estimulación auricular y mayor activación de canales del receptor TRPC3 (transient receptor potential canonical-3),¹⁶⁵ lo cual puede haber contribuido no sólo al desarrollo de fibrosis, sino también al remodelado eléctrico a través de la liberación de citoquinas profibróticas. Entre estas citoquinas se encuentra el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), recientemente asociado a acortamiento del potencial de acción y descenso de I_{Ca-L} .

¹⁶⁶
L.

Otro aspecto interesante es la ausencia de cambios o incluso disminución en la mayoría de las proteínas involucradas en el manejo del Ca^{2+} , sin cambios en el cociente RyR2 fosforilado/RyR2 total, lo que hace improbable en este modelo que los cambios ocurridos en la expresión de canales iónicos pueden estar asociados a remodelado en el manejo del Ca^{2+} intracelular o incremento en la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico. Sin embargo, persiste la posibilidad de que la sobrecarga de Ca^{2+} derivada de la activación a alta frecuencia pudiese activar el sistema NFAT-calmodulina calcineurina dependiente de Ca^{2+} y provocar la disminución de $I_{\text{Ca-L}}$ observada.¹⁶⁷

5.5.3 Predicción de la transición desde fibrilación auricular paroxística a persistente.

Estudios en pacientes con seguimiento a medio y largo plazo han mostrado que la tasa de progresión desde FA paroxística a FA persistente o permanente oscila entre un 14,6% y un 35,3% durante un período de 1 a 12 años.¹⁶⁸⁻¹⁷⁰ Muchos factores clínicos, parámetros ecocardiográficos y electrocardiográficos se han relacionado de forma independiente con la progresión hacia FA persistente, incluyendo la edad,^{145, 169-171} la hipertensión, el ataque isquémico transitorio e ictus previo y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica,¹⁴⁵ entre otros. Datos publicados con pacientes portadores de marcapasos muestran que la interrogación de la memoria del dispositivo demuestra un 24% de riesgo de transición a FA persistente después de una media de seguimiento de 5 meses.¹⁶⁸ Resulta interesante la pendiente que refleja los cambios en la carga de taquicardia auricular y FA en función del tiempo; los pacientes que desarrollaron FA persistente mostraron un incremento de la carga de FA en el tiempo, comparado con aquellos pacientes que permanecieron con episodios de FA paroxística, en quienes no se existía un cambio progresivo en la duración de la FA (14 s/día vs 0 s/día, $p < 0,001$). De forma similar, en el modelo animal de este estudio observamos un incremento de $d\text{DF}/dt$ y de la duración de los episodios muy diferente entre los animales que desarrollan rápidamente FA persistente y aquellos que permanecen en FA paroxística durante largos períodos de tiempo antes de la transición. Los cambios ocurridos en ambas aurículas en la $d\text{DF}/dt$ fueron capaces de predecir el momento de la transición, sin embargo los cambios

iónicos ocurrieron de forma más intensa en la aurícula izquierda, especialmente en lo que se refiere a I_{Ca-L} e I_{K1} , que contribuyen de forma especial a la estabilización de los rotores.

6. Conclusiones.

Los datos de los trabajos expuestos a lo largo del documento muestran una clara progresión hacia el entendimiento profundo de los mecanismos que mantienen la FA en el tiempo, incluso durante periodos muy prolongados y con alta relevancia clínica. El uso de tecnología de mapeo óptico adaptada al conocimiento actual, el procesado y análisis riguroso de la señal fibrilatoria *in vivo* y *ex vivo*, junto con la caracterización iónica y molecular de los procesos de remodelado, y la integración en modelos computacionales, ha permitido establecer con claridad que la reentrada y los rotores son el principal mecanismo de mantenimiento de la FA en el tiempo a lo largo de las diferentes etapas de progresión de la FA, así como en distintas situaciones experimentales. Además, el uso de fármacos y sustancias experimentales ha permitido determinar su capacidad para la eliminación de los rotores y la consiguiente terminación de la FA, lo cual permite establecer nuevas vías de desarrollo en el diseño de nuevos fármacos antiarrítmicos, especialmente con selectividad auricular.

1. Overall Introduction.

Atrial fibrillation (AF) is by far the most common sustained arrhythmia seen in clinical practice.¹ The prevalence of the arrhythmia is progressively increasing in developed countries and moreover, it is expected to affect up to 12 million people only in the US by 2050.² AF is associated with a doubling of mortality in both sexes and is a major risk factor for stroke.³ Specifically, AF is responsible for at least 15% to 20% of all embolic strokes.⁴ Patients with AF also experience a reduced quality of life compared with controls and the general population,^{5, 6} which may represent the main reason for aiming a rhythm control strategy. Its importance is also highlighted by the cost of AF management: AF burden has a huge impact on hospitalization costs and on overall health care.⁷ It has been suggested that new antiarrhythmic drugs such as dronedarone, which has been shown to decrease hospitalizations, together with implementation of guidelines to reduce the admissions that are not critical for AF care may become essential to support the rapid increase in the prevalence of AF in subsequent years.⁸

Despite current technological breakthroughs and recent understanding of mechanisms underlying AF,⁹⁻¹² based on animal models and new mapping strategies used in clinical procedures,¹³⁻¹⁵ both antiarrhythmic drugs and interventional procedures have important limitations to achieve complete control of the arrhythmia burden and symptoms. For many years, various pharmacologic approaches have been tried to convert AF to sinus rhythm, as well as to prevent recurrences. However, many of such drugs, while effective, are associated with substantial side effects and proarrhythmia, and therefore are commonly withdrawn.¹⁶ New, more atrial-selective I_{Kur} , $I_{K,ACh}$, or I_{To} blocking drugs are currently under development. Atrial-selective prolongation of the effective refractory period (ERP) could terminate AF without increasing the risk of ventricular arrhythmias.¹⁷ New variants of older drugs are being tried with the goal of decreasing the incidence of side effects, but concurrently new and often severe adverse effects are appearing.¹⁸ Other substances with more innovative targets, such as regulation of intracellular Ca^{2+} handling, connexins and gap junctions have begun to be studied.

Current knowledge highlights the role of atrial substrate and remodeling as arrhythmogenic factors involved in the long-term maintenance of the arrhythmia. *Upstream* therapies try to control such arrhythmogenic substrate (fibrosis, ventricular hypertrophy, inflammation, etc) and prevent recurrences.

Surgical elimination of certain arrhythmogenic substrates such as AF may represent a therapeutic option using the surgical technique described by Cox JL in 1991,¹⁹ in which the compartmentalization of the atria would create independent regions unable to sustain the multiple fibrillatory wavelets. However, surgical procedures are still highly invasive, despite new technological advancements and acceptable long-term success to maintain sinus rhythm.²⁰ The highly successful catheter-based procedure pioneered by Haïssaguerre and colleagues,²¹ of ablating ectopic triggers that arise from the pulmonary veins in paroxysmal AF has progressively been extended to a much more heterogeneous population,²² in which unfortunately the success rate is significantly lower and frequently requires the continuation of antiarrhythmic therapy.^{17, 23, 24} Limitations related to the long duration of the procedure, its lack of specificity, and the presence of important side effects and complications make this approach impractical for the AF population at large.²² In the last decade, different navigation systems able to create electro-anatomical maps have led to a decrease in X-ray exposure and to a better characterization of the arrhythmogenic substrate.²⁵ The ablation strategy has progressively evolved to new technical developments aiming to simplify pulmonary vein isolation and increase safety. Thus, the so-called 'single-shot' devices for pulmonary vein isolation are based on the encouraging aim of achieving complete isolation of the vein after one single application (single-shot) using circular catheters or balloon-like ablation devices.²⁶ Single-shot devices have emerged, along with other new technological developments such as mechanical and magnetic-based remote navigation, contact force-controlled catheter ablation and new real-time imaging of endocardial ablation during pulmonary vein isolation.²⁶ However, all these technological advancements have not been associated with higher rates long-term success after AF ablation, which is certainly related with anatomical-based strategies, without complete understanding of the mechanisms leading initiation and maintenance of AF. However, none of the approaches have demonstrated higher rates of long-term pulmonary vein isolation and AF-free

compared with RF ablation by experienced operators. Moreover, there is lack of evidence to assert that new and simplified ablation strategies for pulmonary vein isolation have decreased complication rates. Recent data suggest that the use of intracardiac echocardiography might minimize major complications during pulmonary vein isolation,²⁷ which has to be demonstrated in large and randomized series.

From the foregoing it seems reasonable to conclude that generating insights into AF mechanisms from the use of appropriate experimental and numerical models may have crucial relevance in our attempts to improve patient care and to develop new and more specific therapies. It should be noticed that new approaches aiming to understand the mechanisms underlying AF, especially in persistent AF patients,²⁴ have to be developed to increase the long-term freedom from recurrent AF. Thus, physiologically-guided computational mapping during AF has recently shown localized sources sustaining the arrhythmia in 96 % of AF patients.¹⁴ Moreover, those sources were mainly classified as re-entrant sources, which were widely spread around the left atrium from case to case. The number of sources was significantly higher in persistent AF than paroxysmal AF patients. Interestingly, AF terminated in 56 % of cases after ablation of the primary source without performing pulmonary vein isolation. Conversely, AF termination was only achieved in 20 % of cases that underwent conventional pulmonary vein isolation. Freedom from AF was also significantly higher in the source-based guided ablation group compared with the conventional pulmonary vein isolation group.¹⁵ Such results are very striking and encouraging. In fact, this new approach raises important mechanistic considerations in AF ablation, which looked forgotten during the last few years of the AF ablation era. However, the mapping strategy is still unknown for the vast majority of the electrophysiologist and the results have only been reported from a couple of centres.

All together make it necessary to approach AF understanding from the bases to explain both initiation and long-term maintenance of the arrhythmia, either at the cellular level or at the ionic and electrical propagation level. Changes occurring during perpetuation of the arrhythmia deserve especial consideration to identify potential therapeutic targets. Only such a depth understanding will enable to develop appropriate and specific therapies aiming to definitive control of the

arrhythmia.

The present thesis aims at investigating the basic mechanisms underlying long-term maintenance of AF, from the dynamic patterns of activation and wave propagation to the cellular and ionic changes that explain such patterns. Results were obtained from animal models resembling human AF at different stages from paroxysmal to persistent and long-term persistent AF.

Briefly, more detailed description about current knowledge of AF mechanisms is explained in the next section.

2. Mechanisms underlying the initiation and maintenance of atrial fibrillation.

2.1 Classification of atrial fibrillation.

Several classifications have been proposed for AF, but one based on the temporal pattern of the arrhythmia has been recommended recently. Although such a classification does not account for all aspects of AF, its recommendations are based on its simplicity and clinical relevance.²⁸ First, one may distinguish between patients in whom only one AF episode has been detected and patients with 2 or more AF episodes. In such cases with multiple documented episodes, AF is classified as recurrent. In either case, there is no differentiation between symptomatic and asymptomatic episodes, or in terms of the duration or the occurrence of previous, undetected episodes. If the arrhythmia terminates spontaneously it is designated as paroxysmal, but when it is sustained for more than 7 days it is termed persistent. Persistent AF usually requires pharmacologic or electrical cardioversion for termination. The term permanent is used in cases of long-standing AF (>1 year), in which the cardioversion has not been attempted or has failed. Long-standing AF episodes, in which cardioversion and rhythm control is attempted, are designated as long-standing persistent AF.²⁸

One single patient can be classified into the 3 different categories outlined, depending on the moment.²⁸ For instance, some patients have episodes of paroxysmal AF for years and never develop persistent AF. Yet others develop

persistent or permanent AF. In fact, in a multivariate model, age is the only independent predictor of progression to permanent AF in patients with paroxysmal or persistent AF and no concomitant heart disease or hypertension (lone AF).²⁹ Furthermore, the presence of premature supraventricular complexes or supraventricular tachycardia on the surface electrocardiogram (ECG) or Holter recording is associated with a decreased risk of progression to permanent AF.²⁹ The latter highlights the evidence that in some patients rapidly discharging foci, mainly located in the pulmonary veins, initiate the arrhythmia,^{21, 30} whereas in others a diseased atrial substrate has a dominant role.³¹ Therefore, the progression to permanent AF could be explained by the comorbidities associated with the aging process.

In animal models, the stability of AF progressively increases with time in artificially sustained AF by fast atrial pacing.^{32, 33} After a period of one to two weeks the AF becomes persistent and the cardioversion success rate decreases until cardioversion is no longer possible in most cases.³⁴

In humans with paroxysmal and persistent AF it is difficult to know the exact burden and duration of the episodes. Thus, patients with short-lasting episodes and without structural heart disease might not develop permanent AF, because the episodes are usually not long enough to create the remodeling that has been described in animal models.

The clinical relevance of this classification is related to therapeutic implications, specifically related to antithrombotic therapy, because at the present time it is the only therapy that can increase survival in patients with AF.³⁵ Thus, patients with lone AF who are younger than 64 years would not need antithrombotic therapy to prevent ischemic stroke, because the risk of ischemic stroke is similar to that of the expected risk of the general population.³⁶ The duration of AF is also important in deciding the cardioversion approach. In those episodes lasting for more than 48 hours or of unknown duration, it is necessary to rule out the possibility of an atrial thrombus by transesophageal echocardiogram or establishing appropriate anticoagulation before the cardioversion. Long-standing AF cases lasting longer than 6 months imply that the likelihood of successful cardioversion is very low, so a strategy focused on rate control and appropriate antithrombotic therapy should be

considered.

2.2 Mechanisms of arrhythmias: Implications in atrial fibrillation.

2.2.1 Abnormal impulse formation; Abnormal automaticity.

Automaticity is defined as the ability of some excitable cells to produce spontaneous action potentials in the absence of an external input. In the heart, under normal conditions, sinoatrial nodal cells, atrioventricular nodal cells, and His-Purkinje cells possess the property of automaticity. The action potentials of all 3 cell types have a characteristic ability to gradually undergo spontaneous depolarization during phase 4, which brings the membrane potential to the threshold for activation. The ionic bases of automaticity are complex and controversial. In the sinoatrial and atrioventricular nodes, it involves a decrease in K^+ conductance and activation of the hyperpolarization-activated current (I_f), as well as of inward Ca^{2+} currents and the current carried by the Na^+/Ca^{2+} exchanger.³⁷ In Purkinje cells, the I_f current seems to predominate. Under pathologic conditions associated with low intracellular pH, elevated extracellular K^+ , and excess catecholamines, abnormal automaticity may arise from either atrial or ventricular cells.³⁸

In some cases of AF, it is possible to identify focal discharges from the pulmonary veins.²¹ Although pacemaker cells in the pulmonary veins have not been demonstrated as yet in humans,³⁹ it is generally assumed that discharges in the myocardial venous sleeves,^{21, 40} generated by cells undergoing abnormal automaticity, are not only the “triggers” but are also capable of sustaining AF. The fact that in some cases it is possible to restore sinus rhythm after radiofrequency ablation of identifiable foci in the pulmonary veins supports the idea that rapid discharges from such foci can maintain AF. However, some cases of AF do not terminate on ablation but are no longer reinducible after cardioversion. The latter supports the “trigger” role of pulmonary veins foci in the initiation of AF. In either case, arrhythmogenic mechanisms other than automaticity inside the pulmonary veins may also be terminated by local ablation.

In isolated pulmonary veins from normal dogs it was possible to identify automatic discharges, but the interval between discharges was relatively long

(1000 ms).⁴¹ Ischemic conditions may lead to heterogeneous depolarization and depolarization-induced abnormal automaticity, and explain the generation of slow spontaneous discharges. Slow automaticity has been also identified in isolated pulmonary veins after catheter ablation in patients with refractory paroxysmal AF.⁴²

The abnormal automaticity may respond to Ca^{2+} channel blockers, Na^+ channel blockers, and β -blockers.⁴¹ In patients with paroxysmal AF administration of verapamil, propranolol or procainamide decreases the density of ectopic beat bursts that originate in the pulmonary veins and initiate AF. Infusion of isoproterenol in cases pretreated with any of these drugs is unable to induce sustained AF.⁴³ Increasing the inward rectifier potassium channel current I_{K1} should also abolish automaticity, because the resting membrane potential becomes more negative. Nevertheless, the use of adenosine in patients with paroxysmal AF who have undergone an electrophysiological study demonstrated that the maximal dominant frequency (DF_{max}) increases after adenosine at each region compared with baseline.⁴⁴ The adenosine effect would be consistent with a reentry mechanism.

Altogether, the evidence does not support the idea that abnormal automaticity maintains AF in the majority of cases. However, this mechanism could be involved in selected cases of paroxysmal AF.⁴²

2.2.2 Triggered activity.

Triggered activity arises from membrane potential oscillations that occur during or immediately following an action potential. By definition, triggered activity cannot occur in the absence of a previous spontaneous or driven action potential, but a triggered action potential may itself trigger additional self-sustaining responses. Two different types of triggered activity can be distinguished: and delay afterdepolarizations.

Early afterdepolarizations are oscillatory potentials that may occur during phase 2 or 3 of the action potential. Increasing the inward currents (eg, $I_{\text{Ca-L}}$ or I_{Na}) or decreasing the outward currents during the plateau or phase 3 (eg, I_{Kr} or I_{Ks}) could induce action potential prolongation and generate early afterdepolarizations. The L-type Ca^{2+} window current is probably the most likely responsible for the

generation of early afterdepolarizations. Situations such as bradycardia and low extracellular K^+ are predisposing factors for early afterdepolarizations. A new type of early afterdepolarizations, called late-phase 3 early afterdepolarizations, has been recently described.⁴⁵ Rapid rates of excitation, strong abbreviations of the action potential, and intense calcium release from the sarcoplasmic reticulum were apparently necessary to induce late-phase 3 early afterdepolarizations in the period following rapid pacing and AF termination. Reinitiation of AF was observed after late-phase 3 early afterdepolarization-induced triggered beats.⁴⁵ Although afterdepolarizations may be involved in AF recurrences after termination of paroxysmal AF, their role seems to be very limited in recurrences occurring days or months after AF termination. Likewise, it is difficult to explain their role in AF maintenance.

Delay afterdepolarizations are the result of intracellular calcium overload. If the cell and the sarcoplasmic reticulum are overloaded with Ca^{2+} , then Ca^{2+} waves appear during diastole. These waves activate the electrogenic sodium calcium exchanger and thereby produce delay afterdepolarizations. Ischemia, low extracellular K^+ , and toxic concentrations of digitalis or catecholamines are all associated with delay afterdepolarizations. There is also a rate dependence of the delay afterdepolarizations, so it is possible to increase the number of delay afterdepolarizations, thus increasing the stimulation rate and burst duration.⁴⁶ Demonstration of triggered activity either initiating or sustaining AF in human electrophysiological studies has been difficult. The few data available come from studies in which the ectopic discharges are confined to their site of initiation after isolation of the pulmonary veins or coronary sinus.^{47, 48} In those cases, pharmacologic and stimulation strategies suggest triggered activity inside the pulmonary veins or coronary sinus, but it has not been possible to completely rule out microentrant activity. Induction of early afterdepolarizations was shown to lead to polymorphic atrial tachycardia and AF in anesthetized dogs.⁴⁹ In isolated pulmonary veins from healthy dogs and dogs with chronic rapid atrial pacing it was possible to identify early afterdepolarizations leading to bursts of high-frequency irregular rhythms.⁴¹ This effect was increased by isoproterenol and was significantly higher in the chronic group.⁴¹

In stretch-induced AF in Langendorff-perfused sheep hearts, afterdepolarization-

induced focal discharges from the pulmonary veins appear to affect the dynamics by destabilizing the rotors and generating wavebreaks and new rotors. This effect is more evident after adrenergic and cholinergic stimulation with isoproterenol and acetylcholine (ACh), and it is dramatically reduced after reducing intracellular Ca^{2+} overload–related triggered activity with ryanodine or caffeine.⁵⁰ The persistence of AF after reducing intracellular calcium overload in almost all cases suggests that the reentrant sources are the main mechanism that sustains the AF.⁵⁰

2.2.3 Reentry.

Anatomic reentry, also known as circus movement reentry, may be defined as the circulation of the cardiac impulse around a fixed obstacle, leading to repetitive excitation of the heart at a frequency that depends on the conduction velocity, the duration of the refractory period, and the perimeter of the obstacle. The reentry circuit has an excitable gap, which separates the front of the impulse from its own refractory tail. The basic principles of conditions for anatomic or circus movement reentry are the following: (1) a well-defined anatomic circuit; (2) the wavelength (conduction velocity times refractory period) of the circulating impulse needs to be shorter than the length of the circuit; (3) the initiation of the reentry requires unidirectional block and the presence of slow conduction in part of the circuit; (4) reentrant activity may be stopped by any factor that interrupts the circuit. Similarly, it is possible to reinduce the reentry by means to the application of premature stimuli or by the use of pharmacologic, physiologic, or physical conditions that create unidirectional block.

Although these principles of anatomic reentry may apply to some types of cardiac arrhythmias such as the classic AV nodal reciprocating tachycardias, a different type of reentrant mechanism is responsible for more complex arrhythmias such as polymorphic ventricular tachycardia,⁵¹ AF,^{9, 52} and ventricular fibrillation.⁵³ Understanding reentry in such cases requires a grasp of the concept that the obstacles around which reentrant activity occurs may also be functional, not requiring a fixed circuit.⁵⁴ The essential condition for the initiation of functional reentry is that the wavefront should encounter an area of transient refractoriness, which could lead to wavebreak and curling of the wavefront. At the wavebreak point (also known as the “singularity point,” SP) the curvature of the wavefront is so

steep that the depolarizing wavefront cannot invade the resting excitable tissue ahead of it (source to sink mismatch). Consequently the SP becomes a pivot around which the rest of the wavefront rotates; in other words, the SP becomes the spinning engine (rotor) that organizes the rest of the reentrant activity. Under these conditions, the wavefront acquires the shape of an involute spiral with increasing convex curvature toward the center of rotation (Figure 4).⁵⁵

Functional reentry can occur in 2 dimensions (2D) or 3 dimensions (3D). In 2D, the wave organized by the rotor is called a spiral wave. However, because the atrial and ventricular walls are formed by multiple layers of electrically coupled muscle cells forming a 3D electrical syncytium, spiral waves may stack on top of each other transmurally from epi- to endocardium to result in a scroll wave, which is the 3D equivalent of the spiral wave. In this case the center of rotation becomes a linear, I-shaped filament. However, 3D scroll waves may be more complex than that because their filaments may also acquire more complex nonlinear shapes (eg, L-shape, U-shape, O-shape).⁵⁶ As such, more often than not the 3D structure of the myocardium makes it very difficult to identify the rotors (scroll waves) responsible for the arrhythmia. In the vast majority of circumstances, one can only observe indirect signs of the complex 3D activity on the epicardial or endocardial surface.⁵⁷ Moreover, rotors and scroll waves may be stationary or they may meander or drift, in which case the pattern of the arrhythmia will be even more complex.

The use of spectral analysis of high-resolution optical mapping data has enabled the identification of discrete sites of high-frequency periodic activity during AF, along with frequency gradients between left and right atria.⁵⁸ Spectral analysis has generated strong support for the hypothesis that fast reentrant sources on the left atrial wall are the drivers that support the arrhythmia.⁵⁸ The rotors can drift and interact with new anatomic and functional obstacles, giving rise to wavelets and fibrillatory conduction.⁵⁹

An initial step toward understanding the role of reentry in AF is to examine the anatomic characteristics of the pulmonary veins. Some patients with paroxysmal AF have ectopic beats from the pulmonary veins, and radiofrequency ablation is highly effective in restoring sinus rhythm and preventing recurrences.²¹ Although

different mechanisms to generate focal discharges from the pulmonary veins are described above, reentry is the most accepted mechanism.⁴² The architecture of the pulmonary veins is complex, in such a way that the pattern of orientation of the muscle fiber bundles is highly nonuniform and anisotropic.⁶⁰ The presence of fibrosis makes the reentrant activity even more complex and easily inducible.⁶¹ In dog hearts, areas with very slow conduction, progressively decreased conduction, and conduction block have been demonstrated in the pulmonary veins. In the same experiments, optical mapping allowed the identification of reentrant activity in the pulmonary vein samples after extrastimuli and isoproterenol.⁶² Data from patients who underwent a pulmonary vein isolation procedure for AF also support the reentry mechanism in the pulmonary veins. Using a rapid stimulation protocol, investigators were able to induce sustained tachycardia inside the isolated pulmonary veins in up to 2.6% of cases. Entrainment and termination by burst pacing were also possible. Decremental conduction properties and short refractory periods were observed in all the veins with inducible sustained pulmonary vein tachycardia in up to 26.4% of patients.⁴² Therefore, there is general agreement that a reentrant mechanism inside the pulmonary veins is often involved in clinical AF.^{42,}

57

Experimental studies have demonstrated that high-frequency reentrant sources (rotors) in the atria manifest as localized areas of organization. The region with the fastest rotors activates at the highest frequency and drives the overall arrhythmia. The waves emanating from such rotors interact with either functional or anatomic obstacles in their path, resulting in the phenomenon of fibrillatory conduction.¹⁰ As shown by experiments using a model of ACh-induced AF in isolated sheep hearts, the heterogeneous distribution in the left and right atria of ACh-activated potassium (K_v,ACh) channels results in a left to right DF gradient, as well as a dominant left to right propagation of the impulses.⁵² In other words, in this model of acute AF the high-frequency sources localize in the left atrium. Additional studies demonstrated that the gradual decrease in AF frequency from the left to the right atria and the pattern of fibrillatory conduction can be easily explained by the breakdown of the waves traveling rightward across Bachmann's bundle and the inferoposterior pathway (coronary sinus).⁵⁹

In strong support of the above idea, optical mapping data from isolated,

coronary-perfused sheep right atrial preparations showed that pacing the Bachmann bundle at rates higher than a critical rate (breakdown frequency) increases the complexity and decreases the organization of wave propagation, in a manner resembling fibrillatory conduction.⁵⁹ A different model in which the intraatrial pressure is increased to produce stretch and induce AF in isolated Langendorff-perfused sheep hearts showed that AF is maintained by rapidly activating sources at the junction between the superior pulmonary veins and posterior left atrium. In 3 of 9 cases the sources were identified as rotors in the pulmonary vein junction.⁹

A similar hierarchical organization in the rate of activation of different regions in the atria has also been demonstrated in patients with AF. In paroxysmal AF, DF analysis showed a left to right frequency gradient and demonstrated that the pulmonary veins and posterior left atrium junction are the most common regions harboring the high-frequency sources.^{63, 64} Ablation of such sites terminated paroxysmal AF in a high percentage of cases.⁶⁵ The arrhythmogenic mechanisms of such high-frequency sources might be focal or automatic. However, the fact that adenosine increases the frequency at sites that activate at the highest rate at baseline supports the reentrant mechanism of AF maintenance.⁴⁴

In persistent and permanent AF, the role of the pulmonary veins becomes less prevalent in terms of harboring the highest DF sources.⁶⁵ Thus, in patients with persistent and permanent AF many of the so called high-frequency drivers tend to localize in either or both atria, rather than the pulmonary veins. Epicardial mapping of the atria of some patients with chronic AF who underwent open cardiac surgery identified areas of the atria that were activated at remarkable regular intervals with relatively short cycle lengths (CLs).⁶⁶ The electrograms recorded at those sites showed a highly organized and monomorphic beat-to-beat morphology. The rest of the mapped areas showed irregular activation and CLs longer than in the regular area. In most of the cases the most regular and fastest pattern was localized at the left atrium.⁶⁶ The limited mapping area might help explain why in some other cases it was not possible to identify the regular and fast area. Although only 9 patients were studied, the results suggested the presence of reentrant sources in patients with long-standing persistent AF.

It is interesting that in patients with paroxysmal and persistent AF undergoing an ablation procedure, abolition of the left to right frequency gradient is a long-term predictor of sinus rhythm maintenance.⁶⁴ In patients with persistent AF it was necessary to ablate extrapulmonary vein sites, because half of the DF_{max} locations were outside the pulmonary veins.⁶⁴ The data support reentrant activity sustaining AF, and in cases with persistent AF those sources are more often localized outside the pulmonary veins.

2.3 Current theories for atrial fibrillation.

AF has been a reason for discussion and continuing investigation since the turn of the twentieth century. The development of the ECG allowed the first striking questions about the origin of new recording rhythms compatible with AF. In the first half of the last century, 2 theories based on variations of circus movement and ectopic foci were the prevalent scientific explanations for AF.⁶⁷ Although initially Sir Thomas Lewis accepted the idea originally proposed by Theodor Engelmann in 1885, and subsequently developed by Heinrich Winterberg (1906) that AF was caused by the synchronous activity of multiple heterotypic foci, it was Carl Rothberger with Winterberg who proposed the idea of “tachysystole,” which attributed AF to the extremely rapid discharge rate of an ectopic focus. However, after the theoretical description and experimental demonstration by Mines (1913) and by Garrey (1914) of the circus movement reentry, Lewis adopted such a theory in his description of AF.^{68, 69} He used it as the basis for his proposal of a single circuit generating fibrillatory activity.

Reentry around an anatomic obstacle could explain either flutter or AF, depending on the size and the refractory period of the circuit. Thus, in the case of a small circuit and a refractory period briefer than in the surrounding atria, the propagation of the waves to the atria would not be uniform, leading to AF in the rest of the atria.⁶⁹ According to this theory, elimination of the reentry would terminate the AF.

The focal ectopic focus theory was subsequently revived by Scherf's experiments in the dog in the 1940s.⁷⁰ Scherf administered small aconitine crystals to the epicardium of the right atrial appendage, which triggered spontaneous

electrical discharges at exceedingly rapid rates. In most cases, the rate of the tachycardia increased to such an extent that it became AF. The isolation of the appendage from the rest of the atria terminated the arrhythmia.⁷⁰

The aforementioned two theories, that is, circus movement and ectopic focal AF, have important limitations, particularly when one attempts to use either one of them to explain persistent or permanent AF. It is difficult to envision any condition in which either mechanism can sustain for months or even years. Thus, by the end of the 1950s, Moe and Abildskov developed a new theory based on the idea that fibrillation can exist as a stable state, which can be self-sustained and independent of its initiating agency.⁷¹ In anesthetized dogs they showed that AF was self-perpetuating as long as the vagus was stimulated. The vagal stimulus would create a nonuniform distribution of the refractory periods. The latter, along with a large enough atrial mass and slow conduction velocity, would favor the perpetuation of the arrhythmia by permitting the coexistence of multiple independent, randomly wandering wavelets.⁷¹ A computer model developed by the same investigators showed that the minimum number of wavelets required to perpetuate the arrhythmia was between 23 and 40.⁷² Their studies gave rise to the multiple wavelet hypothesis, which was later on supported by experiments in dogs done by Allesie and colleagues.⁷³ This group mapped the spread of excitation in the atria during rapid pacing–induced AF in the presence of ACh. The study demonstrated multiple propagating wavelets giving rise to turbulent atrial activity. In those experiments, the number of wavelets required to sustain the arrhythmia was estimated to be between 4 and 6, which was somewhat puzzling given the large number of wavelets previously theorized by Moe and Abildskov. Nevertheless, additional support for the theory came from animal and human mapping studies, especially after the observation that some cases of long-standing persistent AF could be successfully treated with the surgical MAZE procedure, in which the compartmentalization of the atria would create independent regions unable to sustain the multiple wavelets.¹⁹

In recent years, computer modeling together with the use of voltage-sensitive probes and high-resolution video imaging to record electrical wave propagation on the surface of isolated hearts began to question the validity of the multiple wavelet theory. High spatial (on the order of micrometers) and temporal resolution

recordings during fibrillation demonstrated that the turbulent electrical activity in the ECG could be explained by a single or a small number of rapidly spinning rotors.^{58, 74} The rotor forces the excitation wave to rotate around a pivot point. The spiral waves and scroll waves emitted by the rotor propagate through the cardiac muscle and interact with anatomic and functional obstacles, leading to fragmentation and new wavelet formation. This explanation is incompatible with the multiple wavelet theory, which requires as a condition that the wavelets wander randomly throughout the atria in a manner resembling the Brownian motion of particles in water. Randomness implies that, while at any given point in time the frequency of activation may differ in different parts of the atria, statistically the frequency should be the same everywhere; this is not what happens in AF, in which frequency of activation is hierarchical in both experimental animals and humans. Unfortunately, it is currently not possible to observe the filaments or the scroll waves propagating through the 3D atrial muscle, due to technical limitations. However, high-resolution spectral analysis makes it possible to identify the regions of periodic activity. The highest frequency sites suggest the presence of organized reentrant sources (rotors), and in many cases the domains harboring the higher frequencies are localized in the left atrium, and occasionally it is possible to identify a long-persistent rotor in the highest frequency domain.^{9, 50, 58} Indeed, rotors and spiral waves, whether electrical or chemical, have the tendency to be remarkably stable.⁵⁶

In the left atrium, the posterior wall harbors the fastest spatiotemporally organized activity.¹⁰ Further analysis also demonstrates that waves generated by stable rotors in the left atrium undergo complex, spatially distributed conduction block patterns as they head toward the right atrium, manifesting as fibrillatory conduction.⁵⁹ The outer limit of the DF_{\max} domain is the area where the most fractionated activity surrounds the most regular activity.¹⁰ Therefore, left to right dominant frequency gradients during AF may not be explained by the multiple wavelet theory.

Recently, data published in patients with long persistent AF who underwent a stepwise ablation procedure support the role of high-frequency sources in long-lasting persistent AF.²³ Ablation was performed in the right atrium after all left atrial AF sources had been ablated and a right to left atrial gradient existed. In 55% of

cases with persistent right to left frequency gradient the AF terminated on right atrial ablation. Of note, those patients with right to left frequency gradient after left atrial ablation had a longer AF history and a larger right atrial diameter.²³ It is reasonable to speculate that continuous high frequency and heterogeneous bombardment with fibrillatory waves during long-lasting AF produced electrical remodeling substantial enough to spread the likelihood of new sources and rotors to appear in either atria outside the pulmonary veins. This proposal would also explain the lower success rate after ablation of the left atrial sources, raising secondary rotors in the right atrium.

Computer simulations also support the rotor theory,⁵³ however, the computational model by Moe and colleagues was based on random distribution of the refractory periods, in such a way that closely apposed cardiac cells could have widely different refractory periods.⁷² Such an assumption is not compatible with current knowledge in cardiac cellular electrophysiology, whereby electrical intercellular connections tend to minimize any difference at the microscopic level and to create gradients of refractory period across tissues.⁷⁵

2.4 Ionic mechanisms involved in the modulation of rotor dynamics.

Although not universally accepted, rotor theory has become an important mechanistic explanation for AF. Depth understanding of rotors dynamics will allow more specific strategies to stop them and prevent their de novo formation, and thus prevent AF. The initial step in the initiation of a rotor is a wavebreak after the interaction of a wavefront with a functional or anatomic obstacle. This process may occur in a totally homogeneous medium with the only condition of a transient heterogeneity in the system, which can be simulated with an S1-S2 protocol. The S1 wave is followed by a second wave (S2) perpendicular to S1. If S2 is initiated before the repolarizing tail of S1 has disappeared, S1 acts as a barrier for S2 propagation at the intersection point, resulting in a rotating spiral wave.⁷⁶ Under certain conditions of excitability, the presence of an anatomic or functional obstacle with sharp edges may destabilize the propagation of electrical waves, giving rise to the formation of self-sustained vortices and turbulent cardiac electrical activity.^{77, 78}

Both situations may initiate high-frequency reentrant sources in the heart and give rise to new reentrant sources and wave fragmentation.

The propagation velocity of a wavefront depends on its curvature, in such a way that waves whose fronts are concave propagate faster than planar waves, and the latter move faster than convex waves.⁷⁹ The wavefronts of the spiral waves emitted by a rotor have an increasingly steeper convex curvature, which results in a progressive decrease of the conduction velocity (CV) toward the center of rotation (ie, the core). At the perimeter of the core the curvature reaches a critical value, leading to a mismatch between the depolarizing current supplied by the wavefront and the electrotonic current required to depolarize the resting cells inside the core. Thus, the powerful electrotonic effect exerted by the core shortens the AP duration (APD) in its vicinity.⁸⁰ Consequently, the shortest wavelength ($WL=CV \times APD$) will be near the core (Figure 4).

Whereas I_{Na} is the main component of the depolarizing current at the wavefront, I_{K1} is crucial for control of the cardiac excitability and the frequency and stability of rotors.⁵³ I_{K1} plays an important role controlling the electrotonic gradient between the resting cells in the core and the active cells at its immediate periphery. The crucial role of the interplay between I_{K1} and I_{Na} in controlling rotor frequency and stability became evident in experiments conducted by Nougaim and colleagues using an I_{K1} overexpressing mouse model.⁸¹ I_{K1} upregulation accelerated the final phase of the AP repolarization and induced membrane hyperpolarization during diastole. During reentry the overexpression translated into a shorter WL and greater Na^+ channel availability, increasing the excitability ahead of the rotating wavefront. I_{K1} overexpression increased the voltage gradient in between the active cells surrounding the core and the resting cells inside the core. The latter contributed to enhancement of the electrotonic currents flowing between the resting and active cells, which further accelerated the repolarization of the active cells and reduced the CV in the vicinity of the core.⁸¹ Likewise, the nonexcited cells in the center of the core provided a larger outward conductance than normal, which further decreased the probability of the cells being excited by the surrounding actively depolarized cells, helping to reduce both the core size and meandering. Finally, during fibrillation, faster and more stable ventricular rotors were present in the I_{K1} overexpressing mouse heart.⁸¹

The ACh-sensitive potassium current ($I_{K,ACh}$) plays an important role in experimental AF as well as in some patients.⁴⁴ $I_{K,ACh}$ hyperpolarizes the cell membrane, and abbreviates the APD and refractory period, increasing the frequency of the reentrant sources and the resting membrane conductance.⁴⁴ ACh produces a dose-dependent increase in AF frequency. The higher the ACh concentration, the higher is the rotor frequency and the more complex the fibrillatory patterns (Figure 5).⁸² The current displays larger density in the left atrium than in the right atrium, which is related to heterogeneous distribution of both vagal innervation and muscarinic receptors, as well as K,ACh channels (Figure 5). Both muscarinic receptors and K,ACh channels are more abundant in the left atrium than the right atrium. Progressively increasing the ACh concentration in isolated Langendorff-perfused hearts increases progressively the frequency of the rotors and the number of rotations, with a greater effect in the left than the right atrium. In addition, the augmented heterogeneity in activation frequency increases the likelihood for wavebreak and the complexity of the fibrillatory patterns.⁸² In humans with paroxysmal AF, activation of $I_{K,ACh}$ ($I_{K,Ado}$) channels by adenosine increases the local DF, particularly in the pulmonary veins-left atrium junction region, amplifying the left to right frequency gradient.⁴⁴

In a simpler scenario, reducing the excitability by decreasing I_{Na} leads to smaller upstroke velocity (dV/dt) and amplitude of the AP along with reduced APD, CV, and WL. When the excitability is reduced to a critical point and the propagating wave interacts with a functional or anatomic obstacle, the wavefront may break, curl, and initiate self-sustained reentry.⁷⁷ Na channel blockade will affect reentry in such a way that the reduced excitability will tend to reduce the critical spiral wavefront curvature for propagation block, with larger path length and core, as well as smaller WL. Therefore, the probability for wavefront-wavetail interaction decreases and the reentry would be slower and more stable. However, a slower rotation might make the rotor more vulnerable for annihilation by interacting with an incoming wave. On the other hand, a substrate that forces the rotor to meander may favor interaction with the boundaries and also lead to eventual termination.⁸³ In this regard, although class IC antiarrhythmics effectively terminate recent-onset AF, their well-known proarrhythmic action leads to increased mortality in patients with a history of myocardial infarction.⁸⁴ Therefore, the ventricular substrate after an

infarction might increase the risk of wavebreak and reentry on Na^+ channel blockade.

The duration and morphology of the AP is highly dependent on the transmembrane influx of the Ca^{2+} ions. The L-type calcium current ($I_{\text{Ca-L}}$) is necessary for sustained propagation, especially during very slow conduction, which prevails at the core of a spiral wave because of both a very steep wavefront curvature and a slightly depolarized resting membrane potential. Blockade of the L-type calcium channel by verapamil increases the size of the core, and decreases the rotor frequency and the degree of fragmentation of the excitation wavefronts.⁸⁵ In one clinical study, patients with persistent AF and at least 7 days under treatment with verapamil were assessed by frequency analysis from surface ECG recordings. The fibrillatory frequency was significantly lower in those patients treated with the drug as compared with controls.⁸⁶ Although the study was not randomized, the known electrophysiological effects of $I_{\text{Ca-L}}$ blockade along with other small published series support the results.⁸⁷ Alterations in intracellular Ca^{2+} kinetics are intimately related to the development of delay afterdepolarizations. For example, during high-frequency pacing or during treatment with digoxin, the intracellular Ca^{2+} increases, leading to a higher propensity for spontaneous calcium release from the sarcoplasmic reticulum and to eventual generation of delay afterdepolarizations that trigger premature discharges, and ultimately result in wavebreaks and fibrillation.⁸⁸ In ventricular fibrillation, delay afterdepolarizations are thought to play a secondary role behind reentry. On the other hand, in AF a few clinical cases have been reported in which the most likely mechanism sustaining the arrhythmia was triggered activity from the pulmonary veins.⁴³ In a sheep model of stretch-induced AF under adrenergic and cholinergic stimulation, focal discharges identified in the optically mapped atria enhanced the likelihood of wavebreak and new rotor formation, but at the same time destabilized existing rotors.⁵⁰ The fact that the rotors kept sustaining the AF after reducing the intracellular Ca^{2+} overload with ryanodine or caffeine suggested that delay afterdepolarizations also play a secondary role in this AF model.⁵⁰

The delayed rectifier current (I_{K}) has 2 components, I_{Kr} and I_{Ks} , with fast and slow kinetics of activation, respectively.⁸⁹ In both cases, the deactivation kinetics show considerable species-dependent variation.⁹⁰ The combination of slow

deactivation of I_{Kr} and I_{Ks} helps explain the mechanism of post-repolarization refractoriness.⁹¹ Therefore, the presence of spatial heterogeneities in I_K density would easily explain the formation of wavebreaks in both atria and ventricles. During functional reentry, uniform I_K reduction should increase the APD more in the periphery than closer to the center of rotation. Near the center, repolarization occurs prematurely because of the electrotonic influence of the core, which returns the membrane potential to rest before I_K has enough time to activate.⁸⁰ Therefore, I_K blockade should not affect the APD near the core; however, it should make the APD larger in the periphery of the rotor, resulting in fibrillatory conduction.

Of note, gain of function of I_{Ks} is associated with familial AF, which has been attributed to shortening the atrial APD and ERP.⁹² In well-controlled optically mapping experiments, adenovirally mediated upregulation of I_{Ks} in neonatal rat ventricular monolayers showed that spatially inhomogeneous I_{Ks} recovery kinetics during diastole may be sufficient to allow the formation of wavebreaks leading to reentry.⁹¹ It is noteworthy that although the monolayer data cannot be directly extrapolated to the human situation, the results do allow the speculation that the most likely mechanism leading to fibrillation in the familial cases of I_{Ks} gain of function is post-repolarization refractoriness, leading to multiple wavebreaks and fibrillatory conduction. Similar experiments in monolayers overexpressing I_{Kr} showed faster rotors, shorter WL and shorter APD, which altogether increased rotors stability.⁹³

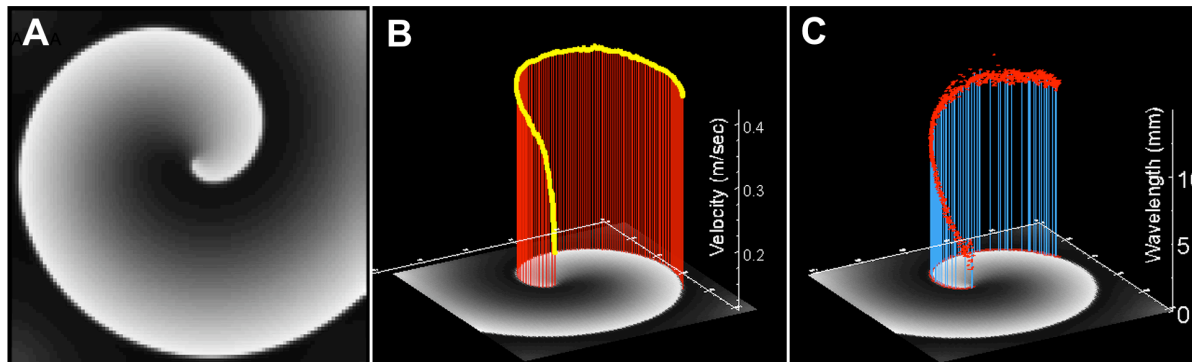
The ultra-rapid delayed rectifier current (I_{Kur}) is an important player in atrial repolarization.⁹⁴ The current is absent in the ventricles, which makes it a target for new antiarrhythmic therapy in AF.⁹⁵ In isolated human atrial myocytes, I_{Kur} shows relatively slow recovery from inactivation at diastolic potentials, as well as significant frequency dependence at physiologic temperatures.⁹⁶ The rate dependence decrease in I_{Kur} may tend to result in longer APD during tachycardia than if I_{Kur} was rate independent. Thus, the I_{Kur} properties might be protective against reentrant arrhythmia. However, the results are controversial with regard to the use of I_{Kur} blockade to terminate AF, with some data suggesting proarrhythmic effects due to abbreviation of the atrial APD₉₀ and ERP in healthy dogs.⁹⁷

In human atrial cells, the transient outward current (I_{To}) activates in the plateau range of membrane potential and is responsible for the transient repolarization during phase 1 of the AP. I_{To} recovery from inactivation is slow, leading to smaller amplitude at fast rates and AP prolongation. In isolated rabbit ventricular cells, I_{To} plays a key role in the mechanism of Wenckebach rhythms.⁹⁸ The latter might play an important role in the boundaries between frequency domains, favoring fibrillatory conduction. Studies in goats 48 hours after AF-induced electrical remodeling have shown that AF terminates in a dose-dependent manner after I_{Kur}/I_{To} blockade, as a result of prolongation of the atrial ERP and WL.⁹⁹ The effect was stronger than that produced by I_{Kr} blockade with dofetilide, which could be explained by a larger contribution of I_{Kur} and I_{To} to atrial repolarization in the electrically remodeled atria. Although AF leads to downregulation of I_{Kur} , I_{To} , and I_{Ca-L} , a greater reduction of I_{Ca-L} might explain the postulated larger contribution of I_{Kur} and I_{To} .

6. Conclusions.

Data from all the original manuscripts discussed in this thesis show a sequential and well-structured approach toward a deep understanding of the mechanisms responsible for AF maintenance, even after long periods of AF, which provides additional clinical relevance. By using optical mapping technology optimized with current technological advancements, signal processing and rigorous analysis of fibrillatory patterns *in vivo* and *ex vivo*, along with ionic and molecular characterization of AF remodeling and further incorporation into computational models, have led to strongly established reentry and rotors as the main mechanism underlying AF maintenance. Furthermore, reentry seems to be present along different AF stages, from paroxysmal to long-term persistent AF and in different experimental settings. In addition, the use of both clinical and experimental drugs have yielded their capability to terminate rotors and AF, which enable us to give insights into new antiarrhythmic targets to terminate AF, specially focused on atrial selectivity.

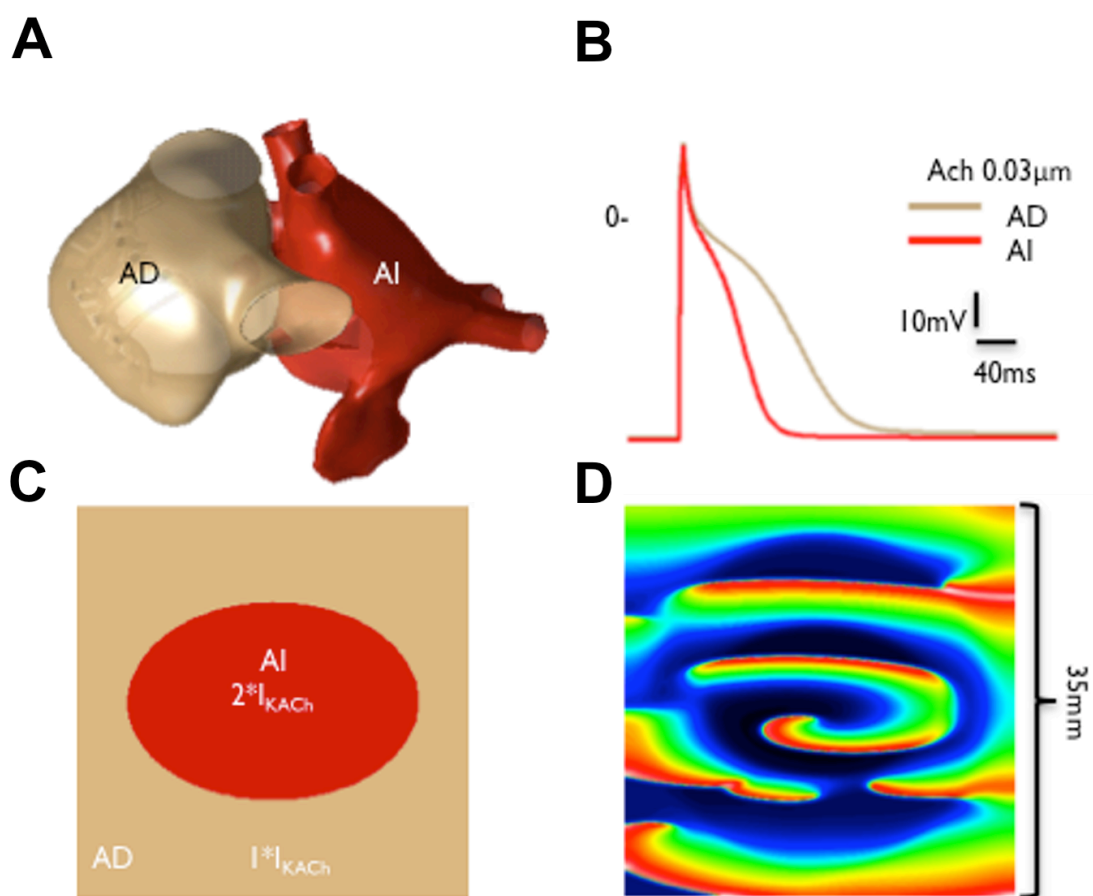
7. Figuras/Figures.



(From David Filgueiras Rama & José Jalife. *Mechanisms Underlying Atrial Fibrillation. Basic Science for Clinical Electrophysiologist: SAUNDERS 2011:3 ;141-156*).

Figura 1. Un rotor y sus propiedades. **(A)** Simulación computacional de una onda espiral originada por un rotor en una estructura en 2 dimensiones. **(B)** Descenso progresivo de la velocidad de conducción debido a un aumento del ángulo de la curvatura convexa hacia la punta del frente de onda. **(C)** Acortamiento progresivo de la longitud de onda hacia el centro de rotación (núcleo). La longitud de onda más corta se localiza en la proximidad del núcleo.

Figure 1. A rotor and its properties. **(A)** Computational simulation of spiral waves originated by a rotor in a 2-dimensional structure. **(B)** Progressive decrease of the conduction velocity (CV) due to the steeper convex curvature toward the tip of the wave front. **(C)** Progressive decrease of the wavelength (WL) toward the center of rotation (core). The shortest wavelength is localized near the core.

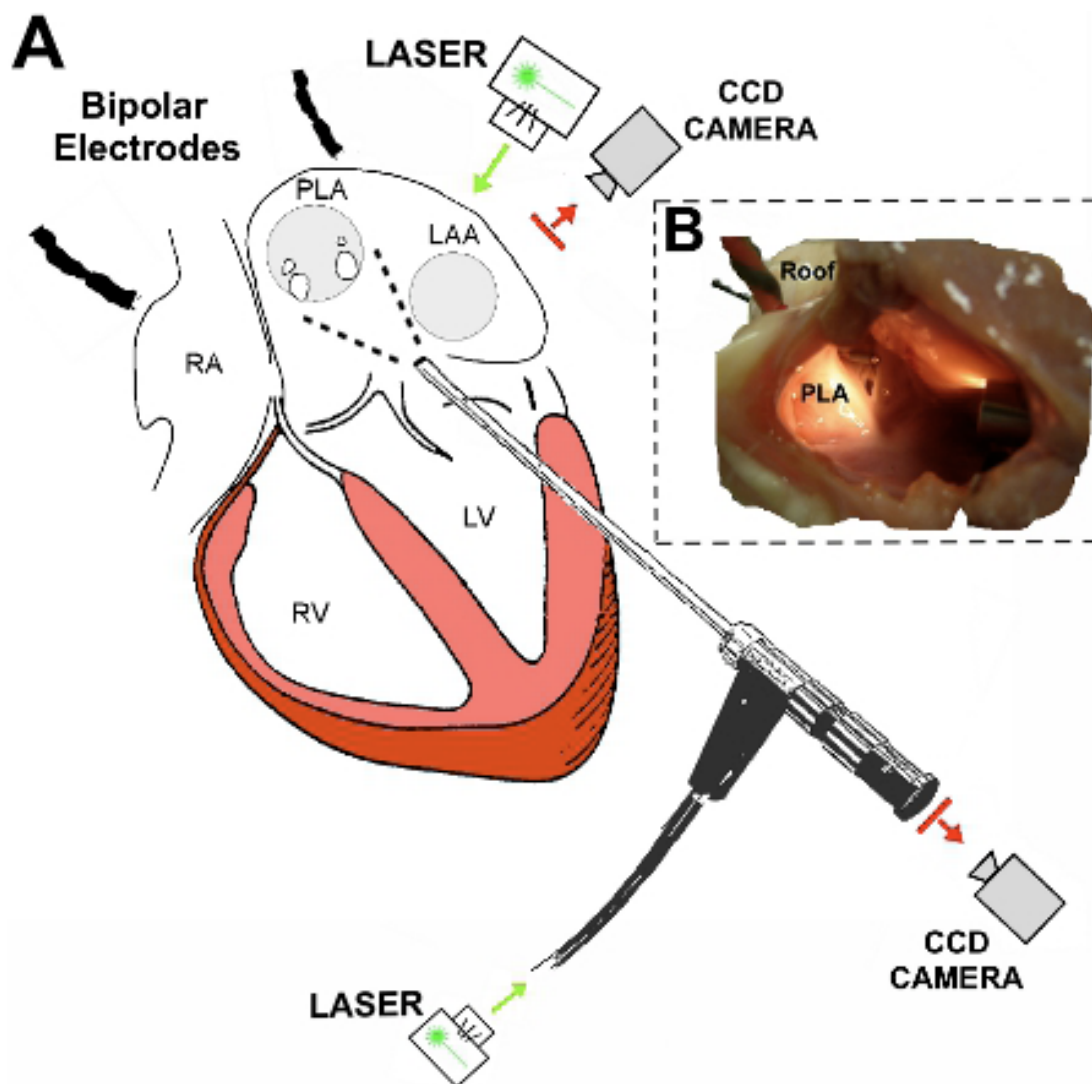


(Modified from Filgueiras-Rama D, Castrejón S, Calvo C et al. Basic mechanisms of the new antiarrhythmic drugs in atrial fibrillation. Arch Cardiol Mex. 2012; 82;139-52).

Figura 2. (A) Modelo 3D de aurícula derecha (AD, marrón) y aurícula izquierda (AI, rojo). **(B)** Efectos en el potencial de acción tras la administración de ACh, con mayor acortamiento de la duración del potencial de acción en AI (Rojo) debido a una mayor densidad de receptores muscarínicos M_2 . **(C) y (D)** Modelo 2D con una zona central con mayor densidad de $I_{K,ACh}$, simulando AI (Rojo) y una zona periférica con menor densidad simulando AD (Marrón), lo cual crea un substrato heterogéneo desde el punto de vista funcional, con presencia de un gradiente de $I_{K,ACh}$ de centro a periferia (AI-AD). En **(D)** las ondas de propagación generadas por el rotor, al llegar a la región heterogénea periférica con menor $I_{K,ACh}$, dan lugar a conducción fibrilatoria.

Figure 2. (A) 3D model of the right atrium (brown) and left atrium (red). **(B)** ACh effects on the action potential, which shows greater shortening of the action potential duration in the left atrium due to higher density of muscarinic receptors M_2 . **(C) and (D)** 2D model

with a central area expressing higher density of $I_{K,ACH}$ (left atrium like, red) and the periphery mimicking the right atrium with lower density of $I_{K,ACH}$ (brown). Such a distribution generates an heterogeneous functional substrate, with the presence of an $I_{K,ACH}$ gradient from the center to the periphery. In **(D)** propagation waves generated by a rotor give raise to fibrillatory conduction upon reaching the heterogeneous region at the periphery.



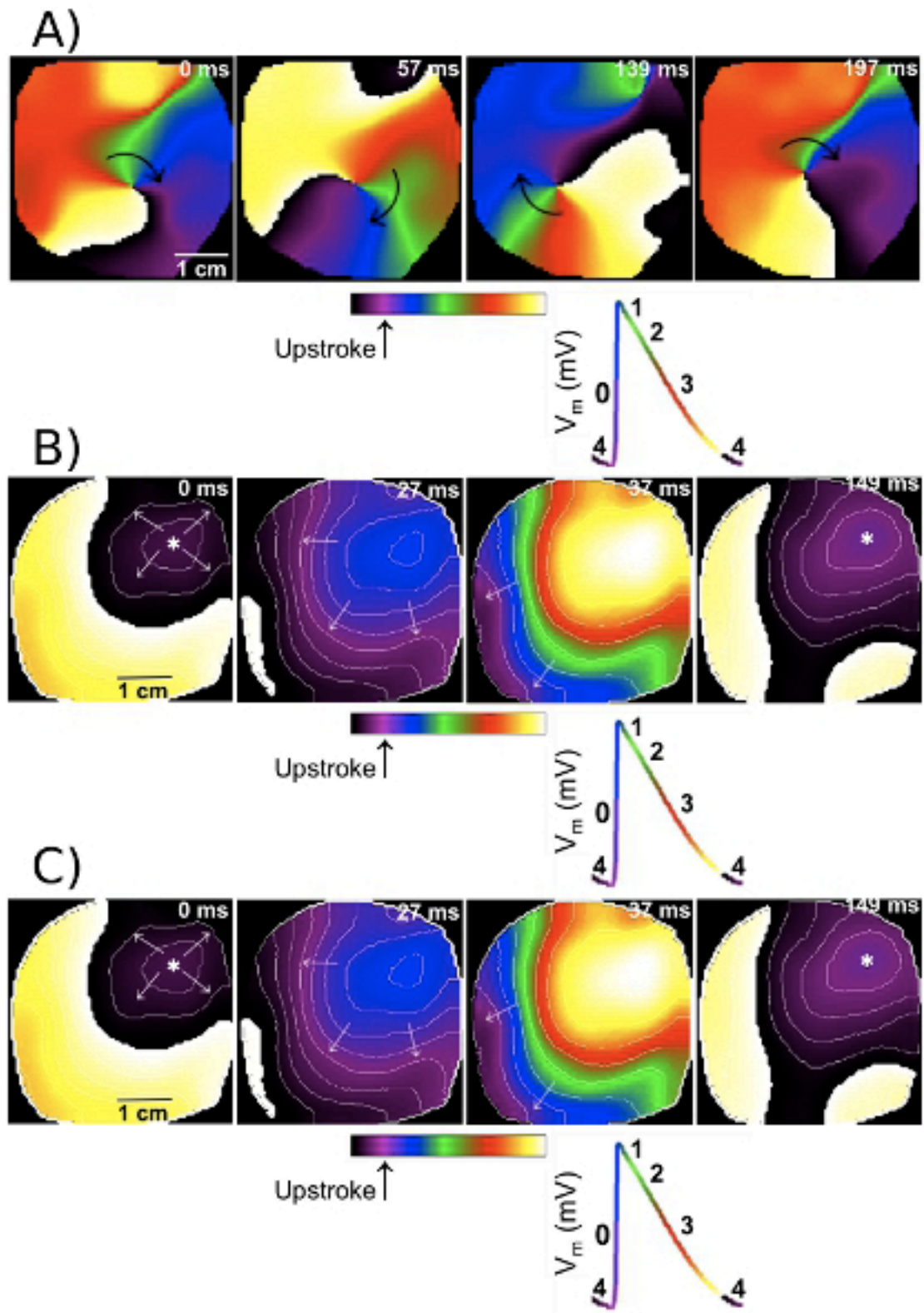
(From David Filgueiras Rama, Raphael Pedro Martins, Steven R. Ennis et al. *High-Resolution Endocardial and Epicardial Optical Mapping in a Sheep Model of Stretch-Induced Atrial Fibrillation*. *J Vis Exp* 2011:53;e3103).

Figura 3. Representación esquemática de la preparación experimental del mapeo óptico.

(A) Un endoscopio rígido se introduce en el ventrículo izquierdo a través de la pared anterior del mismo y se posiciona en la aurícula izquierda, tras pasar la válvula mitral, para enfocar hacia la pared posterior de la aurícula izquierda. Una cámara CCD se acopla al endoscopio rígido y se utiliza iluminación láser a través de una guía líquida conectada a la parte inferior del endoscopio. El mapeo epicárdico se realiza en la superficie de la orejuela izquierda. Se posicionan electrodos bipolares en la aurícula derecha y en el techo de aurícula izquierda. De forma complementaria se obtienen señales bipolares desde las venas pulmonares. **(B)** Visión lateral de la aurícula izquierda tras la apertura de la pared lateral con motivos ilustrativos. La punta del endoscopio rígido ilumina la superficie

endocárdica de la pared posterior de la aurícula izquierda. Puede visualizarse un electrodo bipolar en el techo de la aurícula izquierda.

Figure 3. Diagrammatic representation of the optical mapping experimental set up. **(A)** A rigid borescope is introduced through the anterior wall of the left ventricle and the mitral valve orifice and focused on the endocardial surface of the posterior left atrium. A CCD camera is coupled to the borescope and laser illumination is provided through a laser liquid guide connected to the inferior part of the borescope. Epicardial mapping is performed on the left atrial appendage. Bipolar electrodes are placed on right atrium and roof of the left atrium. Additional bipolar signals are obtained from the pulmonary veins. **(B)** Lateral view of the left atrium following opening the lateral wall for illustration purposes. The tip of the borescope illuminates the endocardial surface of the posterior left atrium. A bipolar electrode is located on the roof of the left atrium.

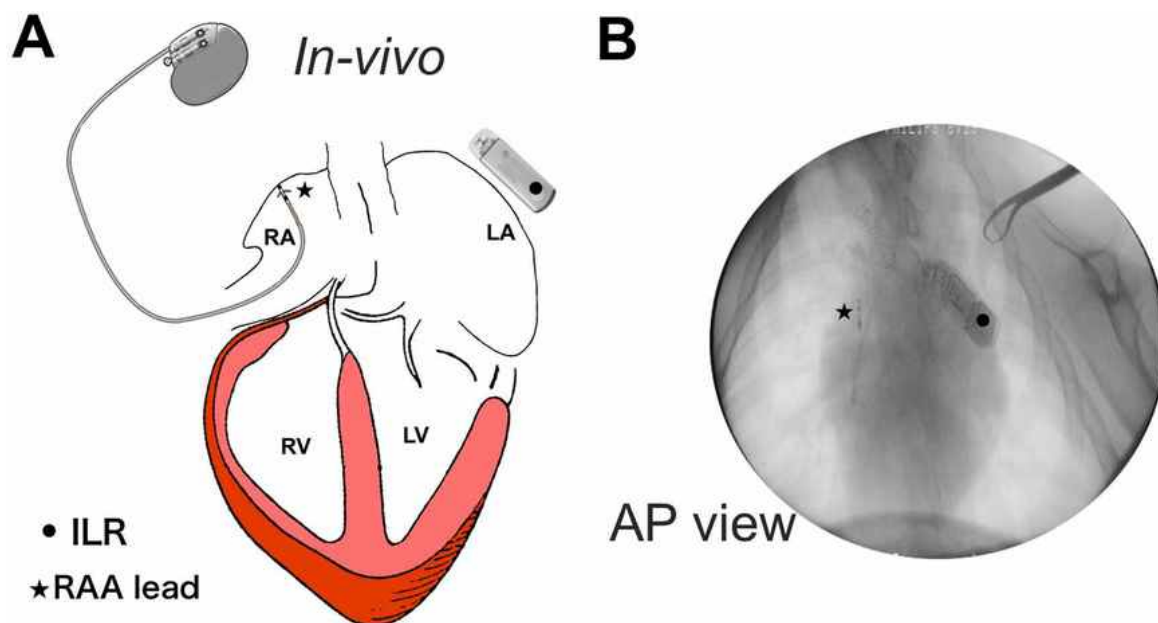


(From David Filgueiras Rama, Raphael Pedro Martins, Steven R. Ennis et al. High-Resolution Endocardial and Epicardial Optical Mapping in a Sheep Model of Stretch-Induced Atrial Fibrillation. *J Vis Exp* 2011;53:e3103).

Figura 4. Diferentes patrones de activación identificados después de la generación de

películas fase. **(A)** Fotogramas secuenciales de la aurícula izquierda que muestran el punto central de rotación de un rotor (punto de singularidad). De izquierda a derecha, se observa la realización de una rotación completa. **(B)** Un ejemplo de afloramiento o patrón focal de activación en la orejuela de aurícula izquierda. La onda aparece en la esquina superior derecha del campo de visión y se propaga hacia fuera en todas direcciones. **(C)** Cuatro ondas consecutivas con organización espacio-temporal (a 0, 182, 352 y 512 ms, respectivamente) que provienen de la pared posterior de la aurícula izquierda y se propagan hacia la orejuela de la aurícula izquierda. Las isocronas se representan a intervalos de 10 ms. En la parte inferior se representan las distintas fases del potencial de acción codificadas en colores.

Figure 4. Different patterns of activation identified after the generation of phase movies. **(A)** Sequential snap shots of the left atrial show the pivoting of a rotor around its center of rotation (Singularity point). From left to right, one full rotation is completed. **(B)** A sample breakthrough activation pattern on the left atrial appendage. The wave appears on the upper right corner of the field of view and propagates outward. **(C)** Four spatiotemporally organized periodic waves (at 0, 182, 352 and 512 ms, respectively) coming from the posterior left atrium region toward the left atrial appendage. Isochrones are plotted at 10 ms intervals. Bottom, key for the different phases of the action potential is color-coded.



(From David Filgueiras-Rama, Nicholas F. Price, Raphael P. Martins et al. Long-term Frequency Gradients during Persistent Atrial Fibrillation in Sheep are Associated with Stable Sources in the Left Atrium. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5;1160-7.).

Figura 5. Representación esquemática del modelo *in vivo* de fibrilación auricular. **(A)** Esquema de un marcapasos con el electrodo en aurícula derecha (asterisco) y el dispositivo implantable de monitorización electrocardiográfica (punto negro) en íntima proximidad a la aurícula izquierda. **(B)** Imagen fluoroscópica del electrodo en la aurícula derecha (asterisco) y del dispositivo implantable de monitorización electrocardiográfica (punto negro).

Figure 5. Diagram of the *In vivo* model of atrial fibrillation. **(A)** A diagram of a pacemaker with the lead in the right atrial appendage (asterisk) and implantable loop recorder (black point) close to the left atrium. **(B)** Fluoroscopic view of the lead in the right atrial appendage (asterisk) and the implantable loop recorder next to the left atrium (black point).

8. Bibliografía/References.

1. Kannel WB, Wolf PA, Benjamin EJ, Levy D. Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: Population-based estimates. *Am J Cardiol.* 1998;82:2N-9N.
2. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, Chang Y, Henault LE, Selby JV, Singer DE. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: National implications for rhythm management and stroke prevention: The anticoagulation and risk factors in atrial fibrillation (atria) study. *JAMA.* 2001;285:2370-2375.
3. Merino JL, Doiño D, Estrada A, Castrejon S, Filgueiras D, Ortega M, M A. Repercusión de la fibrilación auricular: Epidemiología e impacto clínico-económico. *Revista Iberoamericana de Arritmología.* 2011;1:246-258.
4. Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: The framingham study. *Stroke.* 1991;22:983-988.
5. Engelman MD, Pehrson S. Quality of life in nonpharmacologic treatment of atrial fibrillation. *Eur Heart J.* 2003;24:1387-1400.
6. Dorian P, Jung W, Newman D, Paquette M, Wood K, Ayers GM, Camm J, Akhtar M, Luderitz B. The impairment of health-related quality of life in patients with intermittent atrial fibrillation: Implications for the assessment of investigational therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1303-1309.
7. Coyne KS, Paramore C, Grandy S, Mercader M, Reynolds M, Zimetbaum P. Assessing the direct costs of treating nonvalvular atrial fibrillation in the united states. *Value Health.* 2006;9:348-356.
8. Zimetbaum P, Reynolds MR, Ho KK, Gaziano T, McDonald MJ, McClennen S, Berezin R, Josephson ME, Cohen DJ. Impact of a practice guideline for patients with atrial fibrillation on medical resource utilization and costs. *Am J Cardiol.* 2003;92:677-681.
9. Kalifa J, Jalife J, Zaitsev AV, Bagwe S, Warren M, Moreno J, Berenfeld O, Nattel S. Intra-atrial pressure increases rate and organization of waves emanating from the superior pulmonary veins during atrial fibrillation. *Circulation.* 2003;108:668-671.
10. Kalifa J, Tanaka K, Zaitsev AV, Warren M, Vaidyanathan R, Auerbach D, Pandit S, Vikstrom KL, Ploutz-Snyder R, Talkachou A, Atienza F, Guiraudon G, Jalife J, Berenfeld O. Mechanisms of wave fractionation at boundaries of high-frequency excitation in the posterior left atrium of the isolated sheep heart during atrial fibrillation. *Circulation.* 2006;113:626-633.
11. Klos M, Calvo D, Yamazaki M, Zlochiver S, Mironov S, Cabrera JA, Sanchez-Quintana D, Jalife J, Berenfeld O, Kalifa J. Atrial septopulmonary bundle of the posterior left atrium provides a substrate for atrial fibrillation initiation in a model of vagally mediated pulmonary vein tachycardia of the structurally normal heart. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2008;1:175-183.
12. Zlochiver S, Yamazaki M, Kalifa J, Berenfeld O. Rotor meandering contributes to irregularity in electrograms during atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2008;5:846-854
13. Marquez MF, Gomez-Flores J, Aranda-Faustro A, Cazares-Campos I, Cardenas M. [recent advances in the pathophysiology of atrial fibrillation]. *Arch Cardiol Mex.* 2009;79 Suppl 2:18-25.
14. Narayan SM, Krummen DE, Rappel WJ. Clinical mapping approach to diagnose electrical rotors and focal impulse sources for human atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2012;23:447-454.
15. Narayan SM, Krummen DE, Shivkumar K, Clopton P, Rappel WJ, Miller JM. Treatment of atrial fibrillation by the ablation of localized sources: Confirm

- (conventional ablation for atrial fibrillation with or without focal impulse and rotor modulation) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60:628-636.
16. Lafuente-Lafuente C, Mouly S, Longas-Tejero MA, Mahe I, Bergmann JF. Antiarrhythmic drugs for maintaining sinus rhythm after cardioversion of atrial fibrillation: A systematic review of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 2006;166:719-728.
 17. Bingen BO, Neshati Z, Askar SF, Kazbanov IV, Ypey DL, Panfilov AV, Schaliy MJ, de Vries AA, Pijnappels DA. Atrium-specific kir3.X determines inducibility, dynamics, and termination of fibrillation by regulating restitution-driven alternans. *Circulation*. 2013;128:2732-2744.
 18. Kober L, Torp-Pedersen C, McMurray JJ, Gotzsche O, Levy S, Crijns H, Amlie J, Carlsen J. Increased mortality after dronedarone therapy for severe heart failure. *N Engl J Med*. 2008;358:2678-2687.
 19. Cox JL. The surgical treatment of atrial fibrillation. Iv. Surgical technique. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1991;101:584-592.
 20. Prasad SM, Maniar HS, Camillo CJ, Schuessler RB, Boineau JP, Sundt TM, 3rd, Cox JL, Damiano RJ, Jr. The cox maze iii procedure for atrial fibrillation: Long-term efficacy in patients undergoing lone versus concomitant procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;126:1822-1828.
 21. Haissaguerre M, Jais P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, Garrigue S, Le Mouroux A, Le Metayer P, Clementy J. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med*. 1998;339:659-666.
 22. Deshmukh A, Patel NJ, Pant S, Shah N, Chothani A, Mehta K, Grover P, Singh V, Vallurupalli S, Savani GT, Badheka A, Tuliani T, Dabhadkar K, Dibu G, Reddy YM, Sewani A, Kowalski M, Mitrani R, Paydak H, Viles-Gonzalez JF. In-hospital complications associated with catheter ablation of atrial fibrillation in the united states between 2000 and 2010: Analysis of 93 801 procedures. *Circulation*. 2013;128:2104-2112.
 23. Hocini M, Nault I, Wright M, Veenhuyzen G, Narayan SM, Jais P, Lim KT, Knecht S, Matsuo S, Forclaz A, Miyazaki S, Jadidi A, O'Neill MD, Sacher F, Clementy J, Haissaguerre M. Disparate evolution of right and left atrial rate during ablation of long-lasting persistent atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1007-1016.
 24. Weerasooriya R, Khairy P, Litalien J, Macle L, Hocini M, Sacher F, Lellouche N, Knecht S, Wright M, Nault I, Miyazaki S, Scavee C, Clementy J, Haissaguerre M, Jais P. Catheter ablation for atrial fibrillation: Are results maintained at 5 years of follow-up? *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;57:160-166.
 25. Earley MJ, Showkathali R, Alzetani M, Kistler PM, Gupta D, Abrams DJ, Horrocks JA, Harris SJ, Sporton SC, Schilling RJ. Radiofrequency ablation of arrhythmias guided by non-fluoroscopic catheter location: A prospective randomized trial. *Eur Heart J*. 2006;27:1223-1229.
 26. David Filgueiras-Rama, Merino JL. The future of pulmonary vein isolation – single-shot devices, remote navigation or improving conventional radiofrequency delivery by contact monitoring and lesion characterisation? *Arrhythmia & Electrophysiology Review*. 2013;2:59-64.
 27. Aldhoon B, Wichterle D, Peichl P, Cihak R, Kautzner J. Complications of catheter ablation for atrial fibrillation in a high-volume centre with the use of intracardiac echocardiography. *Europace*. 2013;15:24-32.
 28. Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, Schotten U, Savelieva I, Ernst S, Van Gelder IC, Al-Attar N, Hindricks G, Prendergast B, Heidbuchel H, Alfieri O, Angelini A, Atar D,

- Colonna P, De Caterina R, De Sutter J, Goette A, Gorenek B, Heldal M, Hohloser SH, Kolh P, Le Heuzey JY, Ponikowski P, Rutten FH, Vahanian A, Auricchio A, Bax J, Ceconi C, Dean V, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hobbs R, Kearney P, McDonagh T, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Vardas PE, Widimsky P, Agladze V, Aliot E, Balabanski T, Blomstrom-Lundqvist C, Capucci A, Crijns H, Dahlof B, Folliguet T, Glikson M, Goethals M, Gulba DC, Ho SY, Klautz RJ, Kose S, McMurray J, Perrone Filardi P, Raatikainen P, Salvador MJ, Schalij MJ, Shpektor A, Sousa J, Stepinska J, Uuetoa H, Zamorano JL, Zupan I. Guidelines for the management of atrial fibrillation: The task force for the management of atrial fibrillation of the european society of cardiology (esc). *Europace*. 2010;12:1360-1420.
29. Jahangir A, Lee V, Friedman PA, Trusty JM, Hodge DO, Kopecky SL, Packer DL, Hammill SC, Shen WK, Gersh BJ. Long-term progression and outcomes with aging in patients with lone atrial fibrillation: A 30-year follow-up study. *Circulation*. 2007;115:3050-3056.
30. Waktare JE, Hnatkova K, Sopher SM, Murgatroyd FD, Guo X, Camm AJ, Malik M. The role of atrial ectopics in initiating paroxysmal atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2001;22:333-339.
31. Allessie M, Ausma J, Schotten U. Electrical, contractile and structural remodeling during atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*. 2002;54:230-246.
32. Morillo CA, Klein GJ, Jones DL, Guiraudon CM. Chronic rapid atrial pacing. Structural, functional, and electrophysiological characteristics of a new model of sustained atrial fibrillation. *Circulation*. 1995;91:1588-1595.
33. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*. 1995;92:1954-1968.
34. Eijsbouts S, Ausma J, Blaauw Y, Schotten U, Duytschaever M, Allessie MA. Serial cardioversion by class ic drugs during 4 months of persistent atrial fibrillation in the goat. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2006;17:648-654.
35. Singer DE, Albers GW, Dalen JE, Go AS, Halperin JL, Manning WJ. Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: The seventh accp conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. *Chest*. 2004;126:429S-456S.
36. Kopecky SL, Gersh BJ, McGoon MD, Whisnant JP, Holmes DR, Jr., Ilstrup DM, Frye RL. The natural history of lone atrial fibrillation. A population-based study over three decades. *N Engl J Med*. 1987;317:669-674.
37. Anumonwo J, Jalife J. Cardiac electrophysiology and arrhythmias. In: Fisch C, Surawicz B, eds. *Cardiac electrophysiology and arrhythmias*. New York: Elsevier; 1991:35-50.
38. Katzung BG, Morgenstern JA. Effects of extracellular potassium on ventricular automaticity and evidence for a pacemaker current in mammalian ventricular myocardium. *Circ Res*. 1977;40:105-111.
39. Ho SY, Cabrera JA, Tran VH, Farre J, Anderson RH, Sanchez-Quintana D. Architecture of the pulmonary veins: Relevance to radiofrequency ablation. *Heart*. 2001;86:265-270.
40. Anderson KP, Stinson EB, Mason JW. Surgical exclusion of focal paroxysmal atrial tachycardia. *Am J Cardiol*. 1982;49:869-874.
41. Chen YJ, Chen SA, Chang MS, Lin CI. Arrhythmogenic activity of cardiac muscle in pulmonary veins of the dog: Implication for the genesis of atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*. 2000;48:265-273.

42. Takahashi Y, Iesaka Y, Takahashi A, Goya M, Kobayashi K, Fujiwara H, Hiraoka M. Reentrant tachycardia in pulmonary veins of patients with paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2003;14:927-932.
43. Chen SA, Hsieh MH, Tai CT, Tsai CF, Prakash VS, Yu WC, Hsu TL, Ding YA, Chang MS. Initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating from the pulmonary veins: Electrophysiological characteristics, pharmacological responses, and effects of radiofrequency ablation. *Circulation*. 1999;100:1879-1886.
44. Atienza F, Almendral J, Moreno J, Vaidyanathan R, Talkachou A, Kalifa J, Arenal A, Villacastin JP, Torrecilla EG, Sanchez A, Ploutz-Snyder R, Jalife J, Berenfeld O. Activation of inward rectifier potassium channels accelerates atrial fibrillation in humans: Evidence for a reentrant mechanism. *Circulation*. 2006;114:2434-2442.
45. Burashnikov A, Antzelevitch C. Reinduction of atrial fibrillation immediately after termination of the arrhythmia is mediated by late phase 3 early afterdepolarization-induced triggered activity. *Circulation*. 2003;107:2355-2360.
46. Fujiwara K, Tanaka H, Mani H, Nakagami T, Takamatsu T. Burst emergence of intracellular Ca^{2+} waves evokes arrhythmogenic oscillatory depolarization via the $Na^{+}-Ca^{2+}$ exchanger: Simultaneous confocal recording of membrane potential and intracellular Ca^{2+} in the heart. *Circ Res*. 2008;103:509-518.
47. Rostock T, O'Neill MD, Takahashi Y, Sanders P, Haissaguerre M. Interactions between two simultaneous tachycardias within an electrically isolated pulmonary vein. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2007;18:441-445.
48. Knecht S, O'Neill MD, Matsuo S, Lim KT, Arantes L, Derval N, Klein GJ, Hocini M, Jais P, Clementy J, Haissaguerre M. Focal arrhythmia confined within the coronary sinus and maintaining atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2007;18:1140-1146.
49. Satoh T, Zipes DP. Cesium-induced atrial tachycardia degenerating into atrial fibrillation in dogs: Atrial torsades de pointes? *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1998;9:970-975.
50. Yamazaki M, Vaquero LM, Hou L, Campbell K, Zlochiver S, Klos M, Mironov S, Berenfeld O, Honjo H, Kodama I, Jalife J, Kalifa J. Mechanisms of stretch-induced atrial fibrillation in the presence and the absence of adrenergic stimulation: Interplay between rotors and focal discharges. *Heart Rhythm*. 2009;6:1009-1017.
51. Cerrone M, Noujaim SF, Tolkacheva EG, Talkachou A, O'Connell R, Berenfeld O, Anumonwo J, Pandit SV, Vikstrom K, Napolitano C, Priori SG, Jalife J. Arrhythmogenic mechanisms in a mouse model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circ Res*. 2007;101:1039-1048.
52. Mansour M, Mandapati R, Berenfeld O, Chen J, Samie FH, Jalife J. Left-to-right gradient of atrial frequencies during acute atrial fibrillation in the isolated sheep heart. *Circulation*. 2001;103:2631-2636.
53. Samie FH, Berenfeld O, Anumonwo J, Mironov SF, Udassi S, Beaumont J, Taffet S, Pertsov AM, Jalife J. Rectification of the background potassium current: A determinant of rotor dynamics in ventricular fibrillation. *Circ Res*. 2001;89:1216-1223.
54. Allesie MA, Bonke FI, Schopman FJ. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. *Circ Res*. 1973;33:54-62.
55. Jalife J, Berenfeld O. Molecular mechanisms and global dynamics of fibrillation: An integrative approach to the underlying basis of vortex-like reentry. *J Theor Biol*. 2004;230:475-487.
56. Wellner M, Berenfeld O, Jalife J, Pertsov AM. Minimal principle for rotor filaments. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:8015-8018.

57. Berenfeld O, Mandapati R, Dixit S, Skanes AC, Chen J, Mansour M, Jalife J. Spatially distributed dominant excitation frequencies reveal hidden organization in atrial fibrillation in the langendorff-perfused sheep heart. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2000;11:869-879.
58. Mandapati R, Skanes A, Chen J, Berenfeld O, Jalife J. Stable microreentrant sources as a mechanism of atrial fibrillation in the isolated sheep heart. *Circulation.* 2000;101:194-199.
59. Berenfeld O, Zaitsev AV, Mironov SF, Pertsov AM, Jalife J. Frequency-dependent breakdown of wave propagation into fibrillatory conduction across the pectinate muscle network in the isolated sheep right atrium. *Circ Res.* 2002;90:1173-1180.
60. Saito T, Waki K, Becker AE. Left atrial myocardial extension onto pulmonary veins in humans: Anatomic observations relevant for atrial arrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2000;11:888-894.
61. Spach MS, Josephson ME. Initiating reentry: The role of nonuniform anisotropy in small circuits. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1994;5:182-209.
62. Arora R, Verheule S, Scott L, Navarrete A, Katari V, Wilson E, Vaz D, Olgin JE. Arrhythmogenic substrate of the pulmonary veins assessed by high-resolution optical mapping. *Circulation.* 2003;107:1816-1821.
63. Lazar S, Dixit S, Marchlinski FE, Callans DJ, Gerstenfeld EP. Presence of left-to-right atrial frequency gradient in paroxysmal but not persistent atrial fibrillation in humans. *Circulation.* 2004;110:3181-3186.
64. Atienza F, Almendral J, Jalife J, Zlochiver S, Ploutz-Snyder R, Torrecilla EG, Arenal A, Kalifa J, Fernandez-Aviles F, Berenfeld O. Real-time dominant frequency mapping and ablation of dominant frequency sites in atrial fibrillation with left-to-right frequency gradients predicts long-term maintenance of sinus rhythm. *Heart Rhythm.* 2009;6:33-40.
65. Sanders P, Berenfeld O, Hocini M, Jais P, Vaidyanathan R, Hsu LF, Garrigue S, Takahashi Y, Rotter M, Sacher F, Scavee C, Ploutz-Snyder R, Jalife J, Haissaguerre M. Spectral analysis identifies sites of high-frequency activity maintaining atrial fibrillation in humans. *Circulation.* 2005;112:789-797.
66. Sahadevan J, Ryu K, Peltz L, Khrestian CM, Stewart RW, Markowitz AH, Waldo AL. Epicardial mapping of chronic atrial fibrillation in patients: Preliminary observations. *Circulation.* 2004;110:3293-3299.
67. Lewis T. *The mechanism and graphic registration of the heart beat.* London: Shaw; 1925.
68. Garrey WE. Auricular fibrillation. *Physiol Rev.* 1924;4:215.
69. Lewis T, Fell HS, Stroud WD. Observations upon flutter and fibrillation. ii. The nature of auricular flutter. *Heart.* 1920;7:191-233.
70. Scherf D. Studies on auricular tachycardia caused by aconitine administration. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1947;64:233-239.
71. Moe GK, Abildskov JA. Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J.* 1959;58:59-70.
72. Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA. A computer model of atrial fibrillation. *Am Heart J.* 1964;67:200-220.
73. Allesie MA, Lammers WEJEP, Bonke FIM, J. H. Experimental evaluation of moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology and arrhythmias.* Orlando: Grune & Stratton; 1985:p. 265-275.

74. Gray RA, Jalife J, Panfilov AV, Baxter WT, Cabo C, Davidenko JM, Pertsov AM. Mechanisms of cardiac fibrillation. *Science*. 1995;270:1222-1223; author reply 1224-1225.
75. Delmar M, Duffy HS, Soren PL, Taffet SM, DC S. Molecular organization and regulation of the cardiac gap junction channel connexin43. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: From cell to bedside*. Philadelphia, PA: Saunders; 2004:66-76.
76. Keldermann RH, ten Tusscher KH, Nash MP, Bradley CP, Hren R, Taggart P, Panfilov AV. A computational study of mother rotor vf in the human ventricles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296:H370-379.
77. Cabo C, Pertsov AM, Davidenko JM, Baxter WT, Gray RA, Jalife J. Vortex shedding as a precursor of turbulent electrical activity in cardiac muscle. *Biophys J*. 1996;70:1105-1111.
78. Jalife J, Pandit SV. Ionic mechanisms of wavebreak in fibrillation. *Heart Rhythm*. 2005;2:660-663.
79. Fast VG, Kleber AG. Role of wavefront curvature in propagation of cardiac impulse. *Cardiovasc Res*. 1997;33:258-271.
80. Beaumont J, Davidenko N, Davidenko JM, Jalife J. Spiral waves in two-dimensional models of ventricular muscle: Formation of a stationary core. *Biophys J*. 1998;75:1-14.
81. Noujaim SF, Pandit SV, Berenfeld O, Vikstrom K, Cerrone M, Mironov S, Zugermayr M, Lopatin AN, Jalife J. Up-regulation of the inward rectifier k⁺ current (i_{k1}) in the mouse heart accelerates and stabilizes rotors. *J Physiol*. 2007;578:315-326.
82. Sarmast F, Kolli A, Zaitsev A, Parisian K, Dhamoon AS, Guha PK, Warren M, Anumonwo JM, Taffet SM, Berenfeld O, Jalife J. Cholinergic atrial fibrillation: I(k_{ach}) gradients determine unequal left/right atrial frequencies and rotor dynamics. *Cardiovasc Res*. 2003;59:863-873.
83. Kneller J, Kalifa J, Zou R, Zaitsev AV, Warren M, Berenfeld O, Vigmond EJ, Leon LJ, Nattel S, Jalife J. Mechanisms of atrial fibrillation termination by pure sodium channel blockade in an ionically-realistic mathematical model. *Circ Res*. 2005;96:e35-47.
84. Preliminary report: Effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction. The cardiac arrhythmia suppression trial (cast) investigators. *N Engl J Med*. 1989;321:406-412.
85. Samie FH, Mandapati R, Gray RA, Watanabe Y, Zuur C, Beaumont J, Jalife J. A mechanism of transition from ventricular fibrillation to tachycardia : Effect of calcium channel blockade on the dynamics of rotating waves. *Circ Res*. 2000;86:684-691.
86. Bollmann A, Sonne K, Esperer HD, Toepffer I, Klein HU. Patients with persistent atrial fibrillation taking oral verapamil exhibit a lower atrial frequency on the ecg. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2002;7:92-97.
87. Meurling CJ, Ingemansson MP, Roijer A, Carlson J, Lindholm CJ, Smideberg B, Sornmo L, Stridh M, Olsson SB. Attenuation of electrical remodelling in chronic atrial fibrillation following oral treatment with verapamil. *Europace*. 1999;1:234-241.
88. Lakireddy V, Bub G, Baweja P, Syed A, Boutjdir M, El-Sherif N. The kinetics of spontaneous calcium oscillations and arrhythmogenesis in the in vivo heart during ischemia/reperfusion. *Heart Rhythm*. 2006;3:58-66.
89. Wang Z, Fermini B, Nattel S. Delayed rectifier outward current and repolarization in human atrial myocytes. *Circ Res*. 1993;73:276-285.

90. Cheng JH, Kodama I. Two components of delayed rectifier k⁺ current in heart: Molecular basis, functional diversity, and contribution to repolarization. *Acta Pharmacol Sin.* 2004;25:137-145.
91. Munoz V, Grzeda KR, Desplantez T, Pandit SV, Mironov S, Taffet SM, Rohr S, Kleber AG, Jalife J. Adenoviral expression of *IKs* contributes to wavebreak and fibrillatory conduction in neonatal rat ventricular cardiomyocyte monolayers. *Circ Res.* 2007;101:475-483.
92. Chen YH, Xu SJ, Bendahhou S, Wang XL, Wang Y, Xu WY, Jin HW, Sun H, Su XY, Zhuang QN, Yang YQ, Li YB, Liu Y, Xu HJ, Li XF, Ma N, Mou CP, Chen Z, Barhanin J, Huang W. *Kcnq1* gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation. *Science.* 2003;299:251-254.
93. Hou L, Deo M, Furspan P, Pandit SV, Mironov S, Auerbach DS, Gong Q, Zhou Z, Berenfeld O, Jalife J. A major role for *hERG* in determining frequency of reentry in neonatal rat ventricular myocyte monolayer. *Circ Res.* 2010;107:1503-1511.
94. Firek L, Giles WR. Outward currents underlying repolarization in human atrial myocytes. *Cardiovasc Res.* 1995;30:31-38.
95. Ehrlich JR, Nattel S. Novel approaches for pharmacological management of atrial fibrillation. *Drugs.* 2009;69:757-774.
96. Feng J, Xu D, Wang Z, Nattel S. Ultrarapid delayed rectifier current inactivation in human atrial myocytes: Properties and consequences. *Am J Physiol.* 1998;275:H1717-1725.
97. Burashnikov A, Antzelevitch C. Can inhibition of *IKur* promote atrial fibrillation? *Heart Rhythm.* 2008;5:1304-1309.
98. Yehia AR, Shrier A, Lo KC, Guevara MR. Transient outward current contributes to Wenckebach-like rhythms in isolated rabbit ventricular cells. *Am J Physiol.* 1997;273:H1-11.
99. Blaauw Y, Gogelein H, Tieleman RG, van Hunnik A, Schotten U, Allessie MA. "Early" class III drugs for the treatment of atrial fibrillation: Efficacy and atrial selectivity of *AVE0118* in remodeled atria of the goat. *Circulation.* 2004;110:1717-1724.
100. Warren M, Guha PK, Berenfeld O, Zaitsev A, Anumonwo JM, Dhamoon AS, Bagwe S, Taffet SM, Jalife J. Blockade of the inward rectifying potassium current terminates ventricular fibrillation in the guinea pig heart. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2003;14:621-631.
101. Claerbout JF. *Fundamentals of geophysical data processing.* New York: McGraw-Hill; 1976.
102. Castells F, Mora C, Rieta JJ, Moratal-Perez D, Millet J. Estimation of atrial fibrillatory wave from single-lead atrial fibrillation electrocardiograms using principal component analysis concepts. *Med Biol Eng Comput.* 2005;43:557-560.
103. Alcaraz R, Rieta JJ. Adaptive singular value cancellation of ventricular activity in single-lead atrial fibrillation electrocardiograms. *Physiol Meas.* 2008;29:1351-1369.
104. Courtemanche M, Ramirez RJ, Nattel S. Ionic mechanisms underlying human atrial action potential properties: Insights from a mathematical model. *Am J Physiol.* 1998;275:H301-321.
105. Pandit SV, Berenfeld O, Anumonwo JM, Zaritski RM, Kneller J, Nattel S, Jalife J. Ionic determinants of functional reentry in a 2-d model of human atrial cells during simulated chronic atrial fibrillation. *Biophysical Journal.* 2005;88:3806-3821.

106. Grandi E, Pandit SV, Voigt N, Workman AJ, Dobrev D, Jalife J, Bers DM. Human atrial action potential and Ca^{2+} model: Sinus rhythm and chronic atrial fibrillation. *Circ Res*. 2011;109:1055-1066.
107. Viswanathan PC, Shaw RM, Rudy Y. Effects of I_{Kr} and I_{Ks} heterogeneity on action potential duration and its rate dependence: A simulation study. *Circulation*. 1999;99:2466-2474.
108. Gelband H, Bush HL, Rosen MR, Myerburg RJ, Hoffman BF. Electrophysiologic properties of isolated preparations of human atrial myocardium. *Circ Res*. 1972;30:293-300.
109. Workman AJ, Kane KA, Rankin AC. The contribution of ionic currents to changes in refractoriness of human atrial myocytes associated with chronic atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*. 2001;52:226-235.
110. Yoshida K, Ulfarsson M, Oral H, Crawford T, Good E, Jongnarangsin K, Bogun F, Pelosi F, Jalife J, Morady F, Chugh A. Left atrial pressure and dominant frequency of atrial fibrillation in humans. *Heart rhythm*. 2011;8:181-187.
111. Kamkin A, Kiseleva I, Wagner KD, Bohm J, Theres H, Gunther J, Scholz H. Characterization of stretch-activated ion currents in isolated atrial myocytes from human hearts. *Pflugers Arch*. 2003;446:339-346.
112. Uchida T, Yashima M, Gotoh M, Qu Z, Garfinkel A, Weiss JN, Fishbein MC, Mandel WJ, Chen PS, Karagueuzian HS. Mechanism of acceleration of functional reentry in the ventricle: Effects of atp-sensitive potassium channel opener. *Circulation*. 1999;99:704-712.
113. Sanchez-Chapula JA, Salinas-Stefanon E, Torres-Jacome J, Benavides-Haro DE, Navarro-Polanco RA. Blockade of currents by the antimalarial drug chloroquine in feline ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001;297:437-445.
114. Sato R, Koumi S, Singer DH, Hisatome I, Jia H, Eager S, Wasserstrom JA. Amiodarone blocks the inward rectifier potassium channel in isolated guinea pig ventricular cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;269:1213-1219.
115. Patel C, Yan GX, Kowey PR. Dronedronarone. *Circulation*. 2009;120:636-644.
116. Fedida D. Vernakalant (rsd1235): A novel, atrial-selective antifibrillatory agent. *Expert Opin Investig Drugs*. 2007;16:519-532.
117. Caballero R, Dolz-Gaiton P, Gomez R, Amoros I, Barana A, Gonzalez de la Fuente M, Osuna L, Duarte J, Lopez-Izquierdo A, Moraleda I, Galvez E, Sanchez-Chapula JA, Tamargo J, Delpon E. Flecainide increases $K_{ir2.1}$ currents by interacting with cysteine 311, decreasing the polyamine-induced rectification. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:15631-15636.
118. Donovan KD, Power BM, Hockings BE, Dobb GJ, Lee KY. Intravenous flecainide versus amiodarone for recent-onset atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 1995;75:693-697
119. Camm AJ, Lip GY, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, Hohnloser SH, Hindricks G, Kirchhof P. 2012 focused update of the esc guidelines for the management of atrial fibrillation: An update of the 2010 esc guidelines for the management of atrial fibrillation--developed with the special contribution of the european heart rhythm association. *Europace*. 2012;14:1385-1413.
120. Noma A. Atp-regulated K^{+} channels in cardiac muscle. *Nature*. 1983;305:147-148.
121. Noujaim SF, Stuckey JA, Ponce-Balbuena D, Ferrer-Villada T, Lopez-Izquierdo A, Pandit S, Calvo CJ, Grzeda KR, Berenfeld O, Chapula JA, Jalife J. Specific residues of the cytoplasmic domains of cardiac inward rectifier potassium channels are effective antifibrillatory targets. *FASEB J*. 2010;24:4302-4312.

122. Xia M, Jin Q, Bendahhou S, He Y, Larroque MM, Chen Y, Zhou Q, Yang Y, Liu Y, Liu B, Zhu Q, Zhou Y, Lin J, Liang B, Li L, Dong X, Pan Z, Wang R, Wan H, Qiu W, Xu W, Eurlings P, Barhanin J. A kir2.1 gain-of-function mutation underlies familial atrial fibrillation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;332:1012-1019.
123. Chang SL, Chen YC, Chen YJ, Wangcharoen W, Lee SH, Lin CI, Chen SA. Mechanoelectrical feedback regulates the arrhythmogenic activity of pulmonary veins. *Heart*. 2007;93:82-88.
124. de Bakker JM, Ho SY, Hocini M. Basic and clinical electrophysiology of pulmonary vein ectopy. *Cardiovasc Res*. 2002;54:287-294.
125. Cheung DW. Electrical activity of the pulmonary vein and its interaction with the right atrium in the guinea-pig. *The Journal of physiology*. 1981;314:445-456.
126. Chen YJ, Chen SA, Chen YC, Yeh HI, Chan P, Chang MS, Lin CI. Effects of rapid atrial pacing on the arrhythmogenic activity of single cardiomyocytes from pulmonary veins: Implication in initiation of atrial fibrillation. *Circulation*. 2001;104:2849-2854.
127. Cha TJ, Ehrlich JR, Zhang L, Chartier D, Leung TK, Nattel S. Atrial tachycardia remodeling of pulmonary vein cardiomyocytes: Comparison with left atrium and potential relation to arrhythmogenesis. *Circulation*. 2005;111:728-735.
128. Chen YC, Chen SA, Chen YJ, Chang MS, Chan P, Lin CI. Effects of thyroid hormone on the arrhythmogenic activity of pulmonary vein cardiomyocytes. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:366-372.
129. Miyauchi Y, Hayashi H, Miyauchi M, Okuyama Y, Mandel WJ, Chen PS, Karagueuzian HS. Heterogeneous pulmonary vein myocardial cell repolarization implications for reentry and triggered activity. *Heart Rhythm*. 2005;2:1339-1345.
130. Nattel S. Pulmonary vein cellular electrophysiology and atrial fibrillation: Does basic research help us understand clinical pulmonary-vein arrhythmogenesis? *Heart Rhythm*. 2005;2:1346.
131. Jais P, Haissaguerre M, Shah DC, Chouairi S, Gencel L, Hocini M, Clementy J. A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation. *Circulation*. 1997;95:572-576.
132. Vaziri SM, Larson MG, Benjamin EJ, Levy D. Echocardiographic predictors of nonrheumatic atrial fibrillation. The framingham heart study. *Circulation*. 1994;89:724-730.
133. Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature*. 2002;415:219-226.
134. Page RL, Roden DM. Drug therapy for atrial fibrillation: Where do we go from here? *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4:899-910.
135. Gaborit N, Le Bouter S, Szuts V, Varro A, Escande D, Nattel S, Demolombe S. Regional and tissue specific transcript signatures of ion channel genes in the non-diseased human heart. *J Physiol*. 2007;582:675-693.
136. Burashnikov A, Di Diego JM, Zygmunt AC, Belardinelli L, Antzelevitch C. Atrium-selective sodium channel block as a strategy for suppression of atrial fibrillation: Differences in sodium channel inactivation between atria and ventricles and the role of ranolazine. *Circulation*. 2007;116:1449-1457.
137. Antzelevitch C, Burashnikov A. Atrial-selective sodium channel block as a novel strategy for the management of atrial fibrillation. *J Electrocardiol*. 2009;42:543-548.
138. Li GR, Sun H, To J, Tse HF, Lau CP. Demonstration of calcium-activated transient outward chloride current and delayed rectifier potassium currents in swine atrial myocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;36:495-504.

139. Ehrlich JR, Hoche C, Coutu P, Metz-Weidmann C, Dittrich W, Hohnloser SH, Nattel S, Gogelein H. Properties of a time-dependent potassium current in pig atrium: Evidence for a role of kv1.5 in repolarization. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;319:898-906.
140. Anne W, Willems R, Holemans P, Beckers F, Roskams T, Lenaerts I, Ector H, Heidbuchel H. Self-terminating af depends on electrical remodeling while persistent af depends on additional structural changes in a rapid atrially paced sheep model. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;43:148-158.
141. Voigt N, Trausch A, Knaut M, Matschke K, Varro A, Van Wagoner DR, Nattel S, Ravens U, Dobrev D. Left-to-right atrial inward rectifier potassium current gradients in patients with paroxysmal versus chronic atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010;3:472-480.
142. Roka A, Toth E, Szilagyi S, Merkely B. Electrical atrial fibrillation induction affects the characteristics of induced arrhythmia. *J Electrocardiol.* 2008;41:131-137.
143. Yue L, Feng J, Gaspo R, Li GR, Wang Z, Nattel S. Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. *Circ Res.* 1997;81:512-525.
144. Voigt N, Li N, Wang Q, Wang W, Trafford AW, Abu-Taha I, Sun Q, Wieland T, Ravens U, Nattel S, Wehrens XH, Dobrev D. Enhanced sarcoplasmic reticulum ca²⁺ leak and increased na⁺-ca²⁺ exchanger function underlie delayed afterdepolarizations in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation.* 2012;125:2059-2070.
145. de Vos CB, Pisters R, Nieuwlaat R, Prins MH, Tieleman RG, Coelen RJ, van den Heijkant AC, Allessie MA, Crijns HJ. Progression from paroxysmal to persistent atrial fibrillation clinical correlates and prognosis. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:725-731.
146. Van Wagoner DR, Pond AL, Lamorgese M, Rossie SS, McCarthy PM, Nerbonne JM. Atrial l-type ca²⁺ currents and human atrial fibrillation. *Circ Res.* 1999;85:428-436.
147. Caballero R, de la Fuente MG, Gomez R, Barana A, Amoros I, Dolz-Gaiton P, Osuna L, Almendral J, Atienza F, Fernandez-Aviles F, Pita A, Rodriguez-Roda J, Pinto A, Tamargo J, Delpon E. In humans, chronic atrial fibrillation decreases the transient outward current and ultrarapid component of the delayed rectifier current differentially on each atria and increases the slow component of the delayed rectifier current in both. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:2346-2354.
148. Filgueiras-Rama D, Price NF, Martins RP, Yamazaki M, Avula UM, Kaur K, Kalifa J, Ennis SR, Hwang E, Devabhaktuni V, Jalife J, Berenfeld O. Long-term frequency gradients during persistent atrial fibrillation in sheep are associated with stable sources in the left atrium. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:1160-1167.
149. Eijsbouts SC, Houben RP, Blaauw Y, Schotten U, Allessie MA. Synergistic action of atrial dilation and sodium channel blockade on conduction in rabbit atria. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2004;15:1453-1461.
150. Bollmann A, Binias KH, Toepffer I, Molling J, Geller C, Klein HU. Importance of left atrial diameter and atrial fibrillatory frequency for conversion of persistent atrial fibrillation with oral flecainide. *Am J Cardiol.* 2002;90:1011-1014.
151. Opthof T. Ik1 blockade is unlikely to be a useful antiarrhythmic mechanism. *Cardiovasc Res.* 1994;28:420.
152. Tristani-Firouzi M, Jensen JL, Donaldson MR, Sansone V, Meola G, Hahn A, Bendahhou S, Kwiecinski H, Fidzianska A, Plaster N, Fu YH, Ptacek LJ, Tawil R. Functional and clinical characterization of kcnj2 mutations associated with lqt7 (andersen syndrome). *J Clin Invest.* 2002;110:381-388.

153. Burrell ZL, Jr., Martinez AC. Chloroquine and hydroxychloroquine in the treatment of cardiac arrhythmias. *N Engl J Med.* 1958;258:798-800.
154. Schram G, Pourrier M, Melnyk P, Nattel S. Differential distribution of cardiac ion channel expression as a basis for regional specialization in electrical function. *Circ Res.* 2002;90:939-950.
155. Du X, Zhang H, Lopes C, Mirshahi T, Rohacs T, Logothetis DE. Characteristic interactions with phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate determine regulation of kir channels by diverse modulators. *J Biol Chem.* 2004;279:37271-37281.
156. Pogwizd SM, Schlotthauer K, Li L, Yuan W, Bers DM. Arrhythmogenesis and contractile dysfunction in heart failure: Roles of sodium-calcium exchange, inward rectifier potassium current, and residual beta-adrenergic responsiveness. *Circ Res.* 2001;88:1159-1167.
157. Everett TH, Wilson EE, Hulley GS, Olgin JE. Transmural characteristics of atrial fibrillation in canine models of structural and electrical atrial remodeling assessed by simultaneous epicardial and endocardial mapping. *Heart Rhythm.* 2010;7:506-517.
158. Gogelein H, Brendel J, Steinmeyer K, Strubing C, Picard N, Rampe D, Kopp K, Busch AE, Bleich M. Effects of the atrial antiarrhythmic drug ave0118 on cardiac ion channels. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2004;370:183-192.
159. Li D, Fareh S, Leung TK, Nattel S. Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs: Atrial remodeling of a different sort. *Circulation.* 1999;100:87-95.
160. de Groot NM, Houben RP, Smeets JL, Boersma E, Schotten U, Schalij MJ, Crijns H, Allessie MA. Electropathological substrate of longstanding persistent atrial fibrillation in patients with structural heart disease: Epicardial breakthrough. *Circulation.* 2010;122:1674-1682.
161. Bosch RF, Scherer CR, Rub N, Wohrl S, Steinmeyer K, Haase H, Busch AE, Seipel L, Kuhlkamp V. Molecular mechanisms of early electrical remodeling: Transcriptional downregulation of ion channel subunits reduces $i(\text{ca,l})$ and $i(\text{to})$ in rapid atrial pacing in rabbits. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:858-869.
162. Dobrev D, Graf E, Wettwer E, Himmel HM, Hala O, Doerfel C, Christ T, Schuler S, Ravens U. Molecular basis of downregulation of g-protein-coupled inward rectifying $k(+)$ current ($i(\text{k,ach})$) in chronic human atrial fibrillation: Decrease in *girk4* mRNA correlates with reduced $i(\text{k,ach})$ and muscarinic receptor-mediated shortening of action potentials. *Circulation.* 2001;104:2551-2557.
163. Frangogiannis NG, Michael LH, Entman ML. Myofibroblasts in reperfused myocardial infarcts express the embryonic form of smooth muscle myosin heavy chain (*smemb*). *Cardiovasc Res.* 2000;48:89-100.
164. Dobaczewski M, Gonzalez-Quesada C, Frangogiannis NG. The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;48:504-511.
165. Harada M, Luo X, Qi XY, Tadevosyan A, Maguy A, Ordog B, Ledoux J, Kato T, Naud P, Voigt N, Shi Y, Kamiya K, Murohara T, Kodama I, Tardif JC, Schotten U, Van Wagoner DR, Dobrev D, Nattel S. Transient receptor potential canonical-3 channel-dependent fibroblast regulation in atrial fibrillation. *Circulation.* 2012;126:2051-2064.
166. Musa H, Kaur K, O'Connell R, Klos M, Guerrero-Serna G, Avula UM, Herron TJ, Kalifa J, Anumonwo JM, Jalife J. Inhibition of platelet-derived growth factor- α signaling prevents electromechanical remodeling of adult atrial myocytes that contact myofibroblasts. *Heart Rhythm.* 2013;10:1044-1051.

167. Qi XY, Yeh YH, Xiao L, Burstein B, Maguy A, Chartier D, Villeneuve LR, Brundel BJ, Dobrev D, Nattel S. Cellular signaling underlying atrial tachycardia remodeling of I-type calcium current. *Circ Res*. 2008;103:845-854.
168. Saksena S, Hettrick DA, Koehler JL, Grammatico A, Padeletti L. Progression of paroxysmal atrial fibrillation to persistent atrial fibrillation in patients with bradyarrhythmias. *Am Heart J*. 2007;154:884-892.
169. Potpara TS, Stankovic GR, Beleslin BD, Polovina MM, Marinkovic JM, Ostojic MC, Lip GY. A 12-year follow-up study of patients with newly diagnosed lone atrial fibrillation: Implications of arrhythmia progression on prognosis: The belgrade atrial fibrillation study. *Chest*. 2012;141:339-347.
170. Kerr CR, Humphries KH, Talajic M, Klein GJ, Connolly SJ, Green M, Boone J, Sheldon R, Dorian P, Newman D. Progression to chronic atrial fibrillation after the initial diagnosis of paroxysmal atrial fibrillation: Results from the canadian registry of atrial fibrillation. *Am Heart J*. 2005;149:489-496.
171. Koide Y, Yotsukura M, Ando H, Aoki S, Suzuki T, Sakata K, Ootomo E, Yoshino H. Usefulness of p-wave dispersion in standard twelve-lead electrocardiography to predict transition from paroxysmal to persistent atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2008;102:573-577.