

## Alteraciones estructurales precoces asociadas al remodelado eléctrico de la fibrilación auricular en un modelo canino de estimulación auricular sostenida a altas frecuencias. Efecto protector del Irbesartán

José Angel Cabrera<sup>†</sup>, MD, PhD, Vicente Climent\* MD, PhD, Margarita Murillo BSc\*, Carlos Castilla<sup>§</sup> PhD, José-Manuel Rubio<sup>§</sup>, MD, PhD; Pedro-Pablo Pérez<sup>§</sup>, Damián Sánchez-Quintana\* MD, PhD

<sup>†</sup>Unidad de Arritmias. Departamento de Cardiología. Hospital-Quirón Madrid. Universidad Europea de Madrid. Madrid. España \*Departamento de Anatomía y Biología Celular, Universidad de Extremadura, Facultad de Medicina, Badajoz, España. <sup>§</sup>Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid, España. No hay conflictos de interés por ningún autor

### Resumen

**Introducción y objetivos:** Estudios recientes en modelos animales han demostrado que los antagonistas de la angiotensina II previenen el remodelado eléctrico en la fibrilación auricular (FA). Las alteraciones estructurales de la pared auricular en las fases iniciales del remodelado eléctrico auricular y el impacto sobre las mismas del irbesartán, un fármaco antagonista de los receptores AT-1 de la angiotensina II, no han sido sistemáticamente analizadas.

**Métodos:** Se realizó estimulación auricular continua a 400 lpm durante 3 días en 8 perros y 4 perros en ritmo sinusal constituyeron el grupo control (todos de raza Beagle). Cuatro perros estimulados fueron pre-tratados 2 días antes del estudio y durante todo el tiempo de estimulación con 2 mg/Kg/día de irbesartán. Determinamos el periodo refractario efectivo auricular (PREA) en situación basal y a los 3 días, momento en el que se obtuvieron muestras de tejido auricular para examen histológico. Cuantificamos el porcentaje

de miolisis de la pared auricular y los cambios a nivel estructural y ultraestructural mediante microscopía óptica y electrónica.

**Resultados:** Se observó que los animales no tratados y estimulados 3 días redujeron significativamente el PREA con respecto a los controles (80±30 ms vs 137±12 ms). Sin embargo los perros tratados con irbesartán presentaban un PREA similar a los controles. Además el irbesartán atenuó los cambios estructurales de la pared auricular inducidos por la estimulación y redujo el porcentaje de miocitos severamente dañados (21,0±2,4% vs 16,6±1,2%  $p<0,05$ ).

**Conclusiones:** Nuestro estudio demuestra que el irbesartán atenúa los cambios estructurales y eléctricos del miocardio auricular asociados a las fases iniciales del remodelado auricular de la FA. El uso de antagonistas de los receptores AT-1 de la angiotensina puede ser eficaz para prevenir las recurrencias en pacientes con FA.

Correspondencia: Dr. José Angel Cabrera.  
Servicio de Cardiología, Hospital Quirón-Madrid. Diego de Velázquez, nº 1. 28223. Pozuelo de Alarcón. Madrid Tel: 902151016. Fax: 915183232, jacabrera.mad@quiron.es; jac11339@yahoo.co.uk; dasaqui55@yahoo.com Tel: 915441636; Fax: 915499402

**Palabras clave:** Remodelado eléctrico, Remodelado estructural, Fibrilación auricular, Angiotensina II, irbesartán

## Early structural changes associated with electrical remodeling of atrial fibrillation in a canine model of sustained high frequencies atrial pacing. Protective effect of irbesartan

### Abstract

**Introduction and objectives:** Recent studies in animal models have shown that angiotensin II antagonists prevent the electric remodeling in atrial fibrillation (AF). The structural changes of the atrial wall in the early stages of atrial electric remodeling and the impact of irbesartan, an antagonist of the AT-1 angiotensin II receptor on these changes have not been systematically analyzed.

**Methods:** Continuous atrial stimulation at 400 bpm was performed for 3 days in 8 dogs. Another 4 dogs in sinus rhythm constituted the control group. All of the dogs were Beagles. Four of the stimulated dogs were pre-treated two days before and during all of the stimulation period with 2 mg/kg/day of irbesartan. The effective atrial refractory period (EARP) was determined basally and on day 3, when atrial tissue samples were obtained for histological examination. We quantified the percentage of myolysis of the atrial wall, as well as structural and ultrastructural changes using optic and electronic microscopy.

**Results:** It was stated that non-treated animals stimulated for 3 days showed a significant reduction in EARP in relation to the controls ( $80 \pm 30$  ms vs  $137 \pm 12$  ms). However, dogs treated with irbesartan showed an EARP similar to controls. Besides, irbesartan attenuated the structural changes of the atrial wall induced by stimulation, and reduced the percentage of severely damaged myocytes ( $21,0 \pm 2,4\%$  vs  $16,6 \pm 1,2\%$ ,  $p < 0,05$ ).

**Conclusions:** Our study shows that irbesartan attenuates structural and electric changes in atrial myocardium associated to the initial stages of atrial remodeling in AF. The use of AT-1 receptor antagonists can be effective to prevent recurrences in patients with AF.

**Key words:** electric remodeling, structural remodeling, atrial fibrillation, Angiotensin II, irbesartán

## INTRODUCCIÓN

La fibrilación auricular (FA) es la más común de las arritmias sostenidas desarrolladas por el corazón humano. Se han identificado múltiples mecanismos etiopatogénicos, lo que ha determinado una variedad de tratamientos farmacológicos e intervencionistas para el control de esta arritmia<sup>1-7</sup>. Estudios experimentales en modelos animales de inducción de FA manifiestan cambios iónicos, electrofisiológicos y finalmente estructurales, que contribuyen a autoperpetuar la propia FA.<sup>8-10</sup> Las alteraciones de los canales iónicos, y de la electrofisiología e histología auricular asociadas a la persistencia de la FA se ha denominado “remodelado auricular”<sup>11-15</sup>. El sistema renina-angiotensina, juega un papel importante en la regulación del crecimiento del miocito cardiaco y en la síntesis de colágeno por los fibroblastos del miocardio auricular<sup>16-21</sup>. La angiotensina II y sus receptores han sido involucrados en los mecanismos de remodelado eléctrico y estructural asociados a la FA<sup>16,18,20</sup>. Estudios clínicos y experimentales han sugerido el uso de antagonistas de los receptores AT1 de la angiotensina II para impedir o retrasar la recurrencia de la FA en diversos escenarios clínicos<sup>2-4,22</sup>. En modelos experimentales de remodelado eléctrico auricular mediante estimulación a altas frecuencias han demostrado que la administración de fármacos inhibidores de los receptores tipo 1 de la angiotensina II (AT-1) previenen el acortamiento del periodo refractario efectivo auricular (PREA) y en consecuencia su remodelado eléctrico en sus fases precoces<sup>17,20,21</sup>. Sin embargo, no se conoce sus efectos en la estructura del miocardio auricular asociado al remodelado eléctrico en estos modelos experimentales. El irbesartán es un fármaco antagonista de los receptores AT-1 de la angiotensina II y previene las recurrencias tras la cardioversión eléctrica de pacientes con FA persistente<sup>22</sup>. Los efectos de este fármaco en el remodelado eléctrico y estructural del miocardio auricular, no han sido sistemáticamente analizados.

En el presente trabajo se han examinado en un modelo canino de estimulación auricular sostenida a altas frecuencias: 1º) Las alteraciones estructurales precoces asociadas al remodelado eléctrico auricular, 2º) El impacto del tratamiento con irbesartán sobre los hallazgos eléctricos y estructurales del miocardio auricular.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### MODELO EXPERIMENTAL DE REMODELADO AURICULAR

Se estudiaron un total de 12 perros adultos raza Beagle divididos en los siguientes grupos: control (n=4), estimulado (n=4), tratados con Irbesartán (n=4). Cuatro perros estimulados fueron pre-tratados con 2 mg/Kg/día de irbesartán 48 horas antes del estudio electrofisiológico y mantenidos durante todo el tiempo de estimulación auricular. Los pesos de los animales oscilaron entre los 15 y 20 kg. El día del estudio, en todos los perros se realizó inducción anestésica con xilacina y pentotal, intubación orotraqueal y ventilación mecánica y mantenimiento de la anestesia con halotano. Mediante disección de la vena yugular interna se introdujo un cable de marcapaso (Medtronic, target tip.5028-50 con conexión bipolar) situado en el apéndice auricular derecho con control fluoroscópico. Adicionalmente mediante disección de la vena femoral interna se introdujo un catéter bipolar 5F en la aurícula derecha alta para registro del electrograma auricular que fue retirado tras el estudio. En todos los perros del grupo estimulado el cable de marcapaso se conectó a un generador (Medtronic.Preval SSI886) implantado subcutáneamente en el cuello, estimulando a una frecuencia fija de 400 lpm durante 3 días. Realizamos estudio electrofisiológico en todos los perros en situación basal y a los 3 días del primer estudio.

La estimulación programada se realizó con estimulador Medtronic 5328 con pulsos eléctricos de 2 ms de amplitud doble al umbral de captura. En todos los animales se determinó el PREA en situación basal y a los 3 días del primer estudio, con la técnica del extraestímulo único usando un tren de 8 estímulos con ciclos básicos de 400, 300 y 200 ms. Los intervalos de

acoplamiento del extraestímulo se hicieron decrecientes en pasos de 10 ms. Determinamos el PREA en cada ciclo básico en tres ocasiones. Posteriormente se sacrificaron los animales para la extracción de bloques de tejido auricular. Se obtuvieron muestras a nivel del apéndice auricular derecho (a más de 1 cm de distancia de la zona de fijación del cable de marcapaso), en el septo interatrial y en el área inferobasal de la aurícula derecha. Adicionalmente se obtuvieron muestras del apéndice auricular izquierda. Las piezas fueron congeladas en nitrógeno líquido para estudio bioquímico, incluidas en formol para examen histológico convencional a microscopía óptica y fijadas en glutaraldehído para microscopía electrónica de transmisión.

### EXAMEN HISTOLÓGICO

Para microscopía óptica de cada muestra de tejido se obtuvieron bloques que fueron procesados e incluidos en parafina y seccionados a un espesor de 7-10µm. Las secciones fueron teñidas con diferentes técnicas convencionales (trícromo de Masson) e inmunohistoquímicas (desmina, D33. Laboratorios Dako. Dinamarca). Utilizamos un programa computerizado de análisis de imagen (SigmaScan/Image Pro 5.0; Jandel Scientific, San Rafael, California, USA) para estudio morfométrico de la pared auricular a partir de las secciones histológicas en las que los miocitos seleccionados estaban seccionados transversalmente y a un aumento de objetivo de x63. Mediante este sistema cuantificamos en 100 miocitos distintos: 1) el número de miocitos importantemente afectados (>25% del miocito afecto de miolisis), y 2) el diámetro máximo transverso de los miocitos, con el objeto de valorar la hipertrofia de los mismos.

Para microscopía electrónica de transmisión los fragmentos de pared auricular se procesaron y se seccionaron en un ultramicrotomo LKB III. Las secciones se montaron en rejillas y se observaron en un microscopio Jeol JEM 1010, examinando de forma detallada la organización subcelular y

extracelular de la pared auricular valorando específicamente: 1) estructura de la sarcómera, 2) membrana y núcleo de los miocitos, 3) forma y tamaño de las crestas mitocondriales y mitocondrias, 3) retículo sarcoplásmico de los miocitos, 4) membrana basal de los miocitos, 5) discos intercalares y 6) presencia de colágeno intersticial.

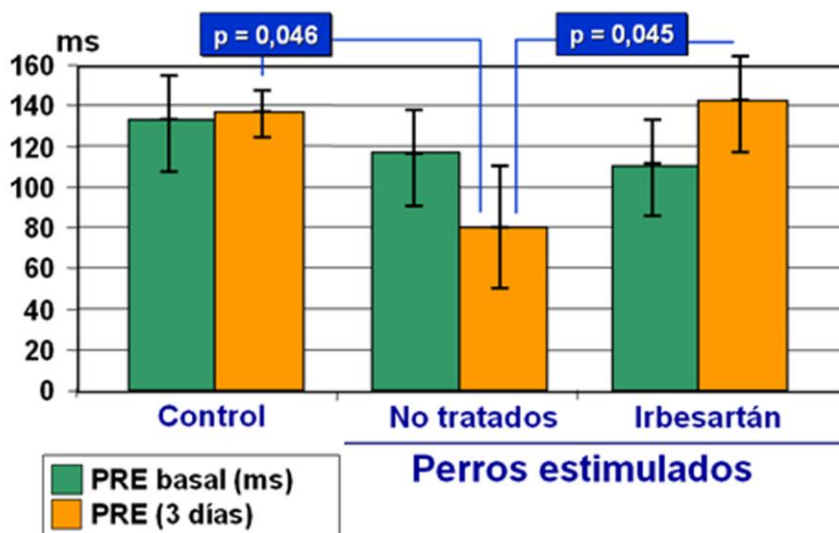
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para la comparación de variables continuas se empleó la prueba de la t de Student, pareada o no pareada, según los casos, el test de Mann-Whitney, o el análisis de varianza con pruebas de comparación múltiple. Se exige un valor de  $p < 0,05$  para considerar diferencias estadísticamente significativas.

**RESULTADOS**

**REMODELADO ELÉCTRICO DE LA AURÍCULA**

Los perros sometidos a estimulación auricular continua presentaron en el estudio electrofisiológico realizado a los 3 días, un PRE significativamente más corto ( $137 \pm 12$  ms vs  $80 \pm 30$  ms ;  $p = 0,046$ ) que el grupo control, expresión del remodelado eléctrico auricular. (Tabla 1). Sin embargo, los perros estimulados y tratados con irbesartán presentaban un PRE similar a los controles ( $141 \pm 22$  ms) (Tabla 1).

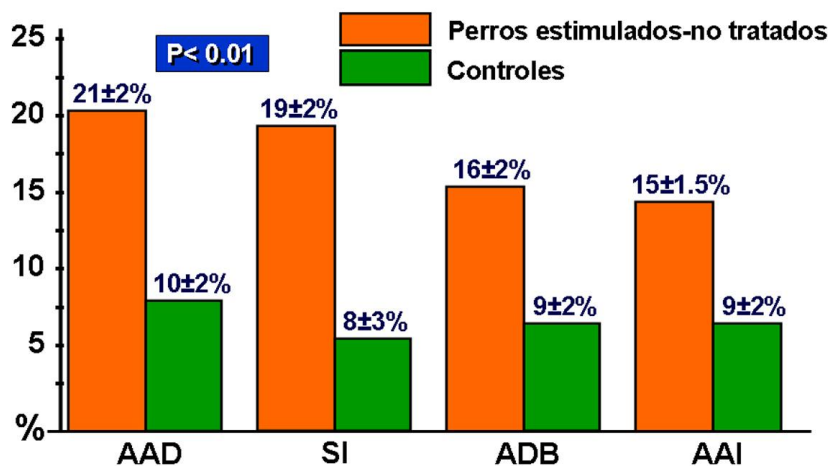


**Tabla 1:** Periodos refractario efectivo auricular (PRE) en milisegundos (ms) en situación basal y a los 3 días de del primer estudio en los tres grupos de animales. Los perros estimulados y no tratados presentan un descenso significativo del PRE auricular expresión del remodelado eléctrico auricular. Sin embargo los perros estimulados y tratados con Irbesartán presentaban un PRE auricular cuantificado a los tres días de la estimulación similar a los perros del grupo control

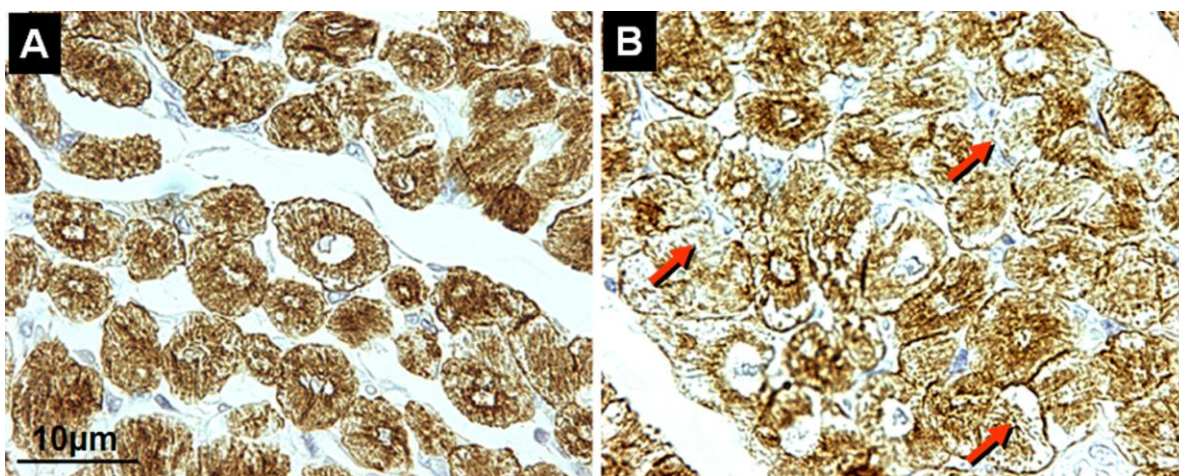
**REMODELADO ESTRUCTURAL DEL MIOCARDIO AURICULAR**

El examen histológico no evidenció alteraciones significativas del miocardio auricular en los perros del grupo control, los cuales presentaban miolisis que oscilaba entre el  $8 \pm 3\%$  de los miocitos a nivel del septo interatrial,  $10 \pm 2\%$  a nivel del apéndice auricular derecho, y  $9 \pm 2\%$  en el apéndice auricular izquierdo (Tabla 2). En los perros sometidos a estimulación auricular continua durante 3 días el examen histológico demostró alteraciones significativas del miocardio

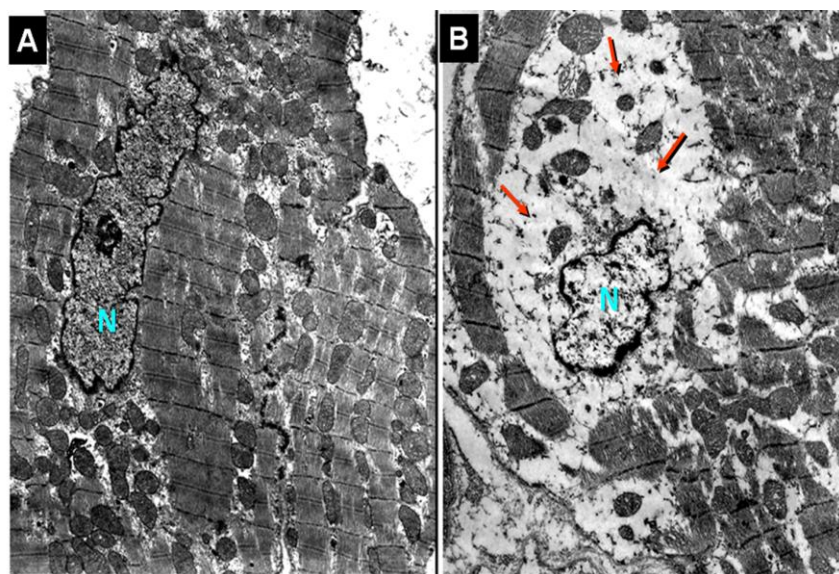
auricular a nivel estructural y ultraestructural (Tabla 2. Figs. 1-3) caracterizados por 1) afectación del aparato miofibrilar con pérdida del material contráctil, 2) cambios en el tamaño y forma de las mitocondrias con hipertrofia de las crestas mitocondriales, 3) desplazamiento del material cromático nuclear del miocito. No hallamos evidencias de hipertrofia de los miocitos auriculares o incremento en el contenido de tejido conectivo intramiocárdico en ninguno de los grupos de perros estudiados. En los perros sometidos a



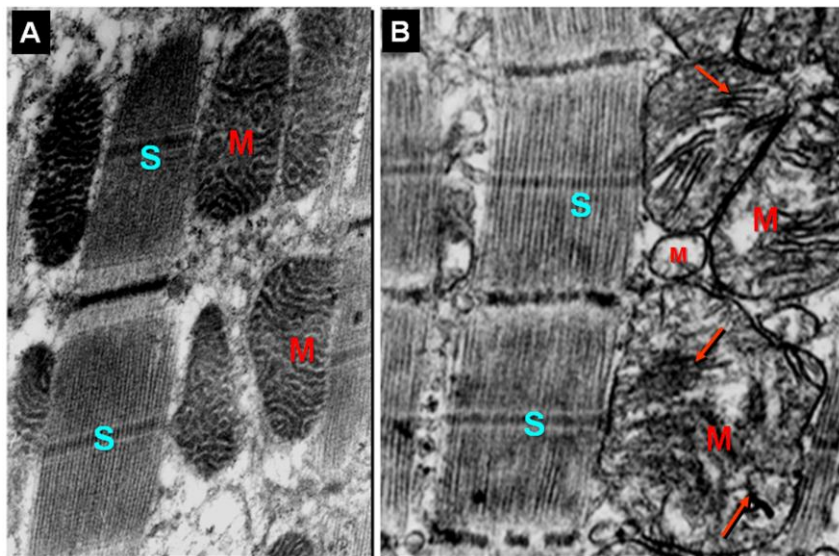
**Tabla 2:** Representación gráfica del grado de miolisis en las diferentes localizaciones de la pared auricular. La cifra indica el porcentaje de miocitos con más del 25% de sus miofibrillas afectas (miolisis severa). En todos los casos existe significación estadística entre los perros control y los estimulados. AAD: apéndice auricular derecho, SI: septo interatrial, ADB: aurícula derecha baja, AAI: apéndice auricular izquierdo.



**Figura 1:** Secciones histológicas del apéndice auricular derecho teñidas con desmina. A: Perro del grupo control en el que se observa escasa miolisis. B: Perro del grupo estimulado en el que la miolisis es mucho más evidente.



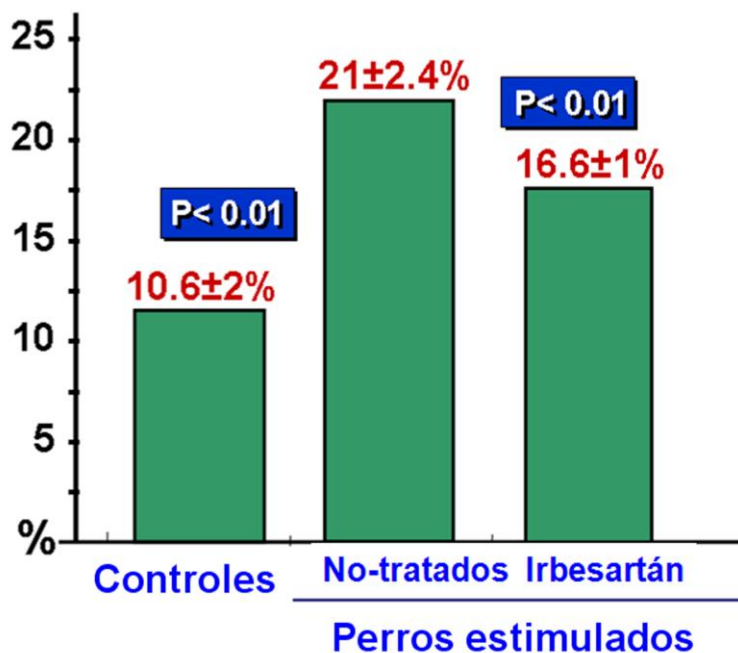
**Figura 2:** Micrografía electrónica de transmisión de la pared auricular. A: corresponde a un perro del grupo control. Obsérvase el menor grado de afectación (miolisis) de la pared auricular en comparación con el mayor grado de miolisis perinuclear, acúmulos de granos de glucógeno (flechas) y dispersión de la cromatina nuclear observada en un perro sometido a estimulación auricular continua durante 3 días (B). N: Núcleo del miocito. Magnificación A: x7500 B: x8000.



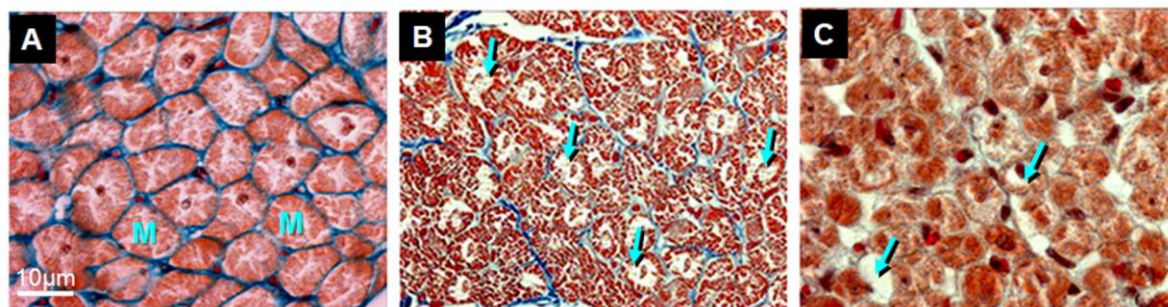
**Figura 3:** Micrografía electrónica de la pared auricular. A: corresponde a un perro del grupo control. Obsérvese la mitocondrias sin alteraciones estructurales. B: corresponde a un perro sometido a estimulación continua sin tratamiento durante durante 3 días. Las mitocondrias presentan diferentes tamaños y alteraciones estructurales con marcada dilatación y desorganización de las crestas mitocondriales (flechas). M: mitocondrias. Magnificación A: x17000 B: x17500.

estimulación auricular continua el análisis histológico cuantitativo mostró afectación severa (>25% del miocito afecto de miolisis) en el 21±2.4% de los miocitos auriculares del apéndice auricular derecho en contraste con el 10±2% de miocitos afectados en los perros del grupo control. Tal como se expone en la Tabla 2, el análisis cuantitativo del grado de afectación de lo miocitos fue significativamente mayor en los perros estimulados en las tres zonas del tejido auricular

derecho biopsiado y en el apéndice auricular izquierdo (9±2% vs 15±1,5 %). El tratamiento de los animales con irbesartán atenuó y redujo de forma significativa los cambios estructurales de la pared auricular inducidos por la estimulación auricular continua, de modo que disminuyó significativamente el porcentaje medio de miocitos severamente dañados en el apéndice auricular derecho (16,6±1,2%) e izquierdo (13,7±4,2%) ( $p<0,05$ ). (Tabla 3.Fig. 4)



**Tabla 3:** Representación gráfica de los grados de miolisis (estudio morfométrico del apéndice auricular derecho) en los tres grupos de perros (perros del grupo control, perros no tratados y estimulados y perros estimulados y tratados con Irbesartán). Obsérvese el mayor grado de miolisis en los perros estimulados y no tratados. Los perros tratados con irbesartán presentaban una disminución significativa del porcentaje de miocitos afectados.



**Figura 4:** Secciones histológicas de muestras del septum interatrial teñidas con tricrómico de Masson en los tres grupos de perros estudiados. A: perros del grupo control. B: perros no tratados y estimulados y C: perros estimulados y tratados con Irbesartán. Nótese la miolisis (flechas) en B y su menor afectación en C. M: Miocito

## DISCUSIÓN

### PRINCIPALES HALLAZGOS

El presente estudio realizado en un modelo experimental animal de remodelado auricular demuestra: a) La presencia de alteraciones significativas del miocardio auricular durante las fases iniciales del remodelado auricular secundario a la activación auricular rápida como sucede en la FA. Los perros sometidos a estimulación auricular continua durante 3 días mostraron una afectación severa (>25% del miocito afecto de miolisis) en el 21±2.4% vs 10±2% de los miocitos auriculares del apéndice auricular derecho en los animales del grupo control. Estos animales presentaron un remodelado eléctrico (en términos de disminución del PREA) y estructural (a nivel óptico y electrónico) del miocito, pero no incremento del tejido conectivo. b) El irbesartán atenúa de forma significativa los cambios estructurales y eléctricos del miocardio auricular derecho e izquierdo asociados a las fases iniciales del remodelado auricular de la FA.

Estos hallazgos, y destacamos el incremento significativo de miolisis observado en el apéndice auricular izquierdo de los perros estimulados en relación a los controles (15±1.5% vs 9±2%), lo que contribuye a descartar el efecto de daño mecánico del electrodo auricular (situado en el apéndice auricular derecho) sobre la pared miocárdica, podrían constituir la base para futuras investigaciones en el tratamiento y en la prevención del remodelado eléctrico y estructural de la FA.

### REMODELADO ELÉCTRICO Y MODELOS ANIMALES DE REMODELADO AURICULAR

En 1.959 se sugirió que la FA era debida a la existencia de múltiples frentes de onda facilitados por la existencia de una distribución no homogénea de los periodos refractarios y las velocidades de conducción auriculares, precisándose de una masa crítica de tejido miocárdico auricular y de un tono vagal aumentado para el mantenimiento de la arritmia<sup>23</sup>. Estudios más actuales en modelos animales de FA que emplean estimulación auricular a altas frecuencias han mostrado cambios eléctricos en términos de disminución del PREA, enlentecimiento de la conducción auricular e incremento de la heterogeneidad electrofisiológica<sup>8, 10,11</sup>. Este acortamiento del PREA (remodelado eléctrico) se produce pocas horas después del inicio de la estimulación auricular continua a altas frecuencias<sup>17,21</sup>. Nuestros hallazgos concuerdan con los estudios previos al observarse una disminución significativa del PREA en los perros sometidos a estimulación auricular continua a 400 lpm durante 3 días. En estos mismos modelos se han descrito también alteraciones iónicas consistentes en una reducción de las corrientes transitorias de salida de K, corrientes de salida de Na y corrientes de Ca (L-Type)<sup>12,13</sup>. Estos cambios serían responsables de un incremento en los niveles de calcio intracelular y una reducción en la intensidad de las corrientes de sodio, contribuyendo a la reducción del PREA.

## ALTERACIONES ESTRUCTURALES PRECOCES ASOCIADAS AL REMODELADO AURICULAR

En biopsias de pacientes con FA crónica se ha observado afectación de las sarcómeras con miólisis, hipertrofia de los miocitos, incremento de la matriz extracelular con fibrosis intersticial y sustitución de los sarcómeros por glucógeno<sup>14</sup>. La disfunción contráctil de pacientes con FA se ha asociado a la pérdida de sarcómeras y a las alteraciones en la concentración de  $Ca^{++}$ <sup>12,13, 24- 28</sup>. En modelos animales de inducción de FA crónica mediante estimulación auricular sostenida a altas frecuencias durante 9 a 23 semanas se ha descrito una afectación significativa de los miocitos con pérdida de miofibrillas y miólisis en el 24% de los miocitos del apéndice auricular derecho<sup>9</sup>, acumulo de glucógeno intracelular, dispersión de la cromatina nuclear, cambios en el tamaño y en la forma de las mitocondrias y fragmentación del retículo sarcoplásmico<sup>8,9,25,29,30</sup>. Los hallazgos de fibrosis intersticial parecen ser solo evidentes en los modelos animales de FA asociados a cardiopatía estructural<sup>19,29</sup>. Goette et al<sup>31</sup>, describieron alteraciones en las mitocondrias de la pared auricular de perros sometidos a estimulación auricular continua a 800 lpm durante 7 horas, sin afectación aparente del aparato miofibrilar. En nuestro modelo fueron observadas alteraciones estructurales similares a las descritas en modelos de estimulación auricular más prolongada. Sin embargo, en contraste a estos estudios, no fue observada hipertrofia de los miocitos ni fibrosis intersticial.

## PAPEL DEL IRBESARTÁN EN EL SUSTRATO ESTRUCTURAL DEL REMODELADO AURICULAR DE LA FA

El tratamiento del sustrato estructural de la FA ha abierto el interés en los mecanismos de actuación del sistema renina-angiotensina sobre el remodelado eléctrico y estructural de la pared auricular asociado a la FA. En perros sometidos a estimulación auricular a 800 lpm durante 180 minutos se ha demostrado que los fármacos inhibidores de los receptores AT1 y de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) previenen el remodelado eléctrico de la FA<sup>17</sup>. Biopsias del

apéndice auricular en pacientes con FA crónica han mostrado, sin embargo, un incremento en los niveles de los receptores AT1 y un descenso en los receptores AT2 de la angiotensina<sup>22</sup>. Todos estos hallazgos, aunque contradictorios, sugieren que el sistema renina-angiotensina puede estar involucrado en los mecanismos de remodelado estructural asociado a la FA. En este sentido, se ha descrito recientemente, que el irbesartán prolonga el ritmo sinusal en pacientes con FA sometidos a cardioversión eléctrica<sup>22</sup>. Los hallazgos obtenidos en nuestro modelo experimental, evidenciando los efectos precoces del irbesartán sobre el remodelado eléctrico y estructural corroboran los hallazgos clínicos descritos. El papel que juega la angiotensina en la fibrosis ha sido previamente demostrado en el sistema cardiovascular<sup>15,16</sup>, y es probable que la instauración de fibrosis en el tejido auricular durante la FA esté en relación con los cambios en la concentración de angiotensina II y en sus receptores. En un modelo de FA crónica en perros sometidos a insuficiencia cardíaca congestiva mediante estimulación ventricular a altas frecuencias durante 5 semanas, se ha descrito un incremento en la concentración tisular de angiotensina II y sus receptores AT1 en el miocardio auricular<sup>19</sup>. En este modelo, el enalapril (IECA) reduce significativamente estos cambios y atenúa la fibrosis intersticial de la pared auricular asociada a la FA<sup>19</sup>. En perros estimulados durante cinco semanas a 400 lpm se ha demostrado que el tratamiento con candesartán otro fármacos antagonista de los receptores AT1 previene el remodelado eléctrico y reduce de forma significativa la fibrosis intersticial asociada a la misma ( $7\pm 2\%$  vs.  $16\pm 1\%$  en el apéndice auricular derecho,  $p < 0.001$ )<sup>20</sup>.

En nuestro modelo experimental no hallamos evidencias de fibrosis intersticial en ninguno de los grupos de perros estudiados. Se ha demostrado que el irbesartán produce una modulación directa de la función de los canales iónicos<sup>32</sup>. El Irbesartán bloquea los canales Kv4.3 y hKv1.5 a concentraciones terapéuticas, mientras que se necesitaron

concentraciones mucho más elevadas para bloquear a los canales HERG y KvLQT1+minK. Probablemente podrían los primeros traducirse en bloqueo de las corrientes  $I_{to}$  y  $I_{sus}$  y los siguientes en bloqueo de las corrientes  $I_{Kr}$  e  $I_{Ks}$  en los miocitos auriculares. Ambos efectos prolongarían la duración del potencial de acción y por lo tanto el periodo refractario. Es probable que una afectación directa de este fármaco sobre la electrofisiología celular podría explicar los efectos precoces sobre el remodelado auricular observado en nuestro modelo. Nuestros hallazgos sugieren que el irbesartán actúa de forma precoz atenuando la miolisis de la pared auricular, y que este efecto probablemente precedería a su efecto sobre el incremento de tejido conectivo, que es más característico de etapas más avanzadas del remodelado auricular. Es preciso por tanto nuevos estudios que determinen el grado de miolisis celular y fibrosis intersticial en las diversas etapas cronológicas del remodelado auricular y su respuesta a fármacos antagonistas de la angiotensina II.

### LIMITACIONES

La estimulación auricular se realizó en la orejuela derecha, y las muestras histológicas de dicha orejuela se obtuvieron a más de 1 cm de distancia de la zona de fijación del cable de marcapaso. Sin embargo, en el presente estudio no se ha realizado estimulación auricular izquierda, ni hemos obtenido registros electrofisiológicos en dicha aurícula. En este sentido no es posible objetivar correlación entre los hallazgos histológicos obtenidos como expresión del remodelado estructural en la aurícula izquierda con el remodelado eléctrico en dicha aurícula.

### CONCLUSIONES

Nuestro estudio ha mostrado que tras la estimulación sostenida durante 3 días a 400 lpm en un modelo canino se produce un acortamiento del PREA, lo que conlleva a un remodelado eléctrico. Este remodelado eléctrico se encuentra asociado a cambios estructurales y ultraestructurales precoces de la pared auricular

caracterizados esencialmente por miolisis o destrucción de las sarcómeras de los miocitos sin observar incremento del tejido conectivo intramiocárdico, lo cual podría producir inestabilidad en el miocardio auricular, y autoperpetuación de la arritmia. El tratamiento con Irbesartán, un fármaco antagonista de los receptores AT-1 de la angiotensina II atenúa los cambios estructurales y eléctricos del miocardio auricular asociados a las fases iniciales del remodelado auricular de la FA en nuestro modelo canino.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado en parte por el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (C.N.I.C.) 2008-11 (DSQ, VC, MM, y JAC), España.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Ehrlich JR, Hohnloser SH, Nattel S. Role of angiotensin system and effects of its inhibition in atrial fibrillation: clinical and experimental evidence. *Eur Heart J.* 2006;27:5
2. Gillis AM. Angiotensin-receptor blockers for prevention of atrial fibrillation -- a matter of timing or target? *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1669-1671.
3. Wachtell K, Lehto M, Gerds E, Olsen MH, Hornestam B, Dahlöf B, et al. Angiotensin-II receptor blockade reduces new-onset atrial fibrillation and subsequent stroke compared to atenolol: the Losartan Intervention For End Point Reduction in Hypertension (LIFE) study. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:712–719.
4. Healey JS, Baranchuk A, Crystal E, Morillo CA, Garfinkle M, Yusuf S, et al. Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1832–1839.
5. Ueng KC, Tsai TP, Yu WC, Tsai CF, Lin MC, Chan KC, et al. Use of enalapril to

DOI: 10.5031/v1i1.RIA1066

- facilitate sinus rhythm maintenance after external cardioversion of long-standing persistent atrial fibrillation. Results of a prospective and controlled study. *Eur Heart J* 2003; 24:2090–2098.
6. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 1998; 339: 659-66.
  7. Chen SA, Hsieh MH, Tai CT, Tsai CF, Prakash VS, Yu WC, et al. Initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating from the pulmonary veins: electrophysiological characteristics, pharmacologic responses and effects of radiofrequency ablation. *Circulation* 1999;100:1879-86.
  8. Morillo CA, Klein GK, Jone DL, Giraudon CM. Chronic rapid atrial pacing: structural, functional and electrophysiological characteristics of a new model of sustained atrial fibrillation. *Circulation*. 1995; 91: 1588-1595.
  9. Ausma J, Wijffels M, Thone F, Wouters L, Allesie M, Borgers M. Structural changes of atrial myocardium due to sustained atrial fibrillation in the goat. *Circulation*. 1997; 96(9):3157-63.
  10. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allesie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*. 1995; 92: 1954-1968.
  11. Fareh S, Villemaire C, Nattel S. Importance of refractoriness heterogeneity in the enhanced vulnerability to atrial fibrillation induction caused by tachycardia-induced atrial electrical remodeling. *Circulation* 1998;98(20):2202-9.
  12. Fareh S, Benardeau A, Thibault B, Nattel S. The T-type Ca(2+) channel blocker mibefradil prevents the development of a substrate for atrial fibrillation by tachycardia-induced atrial remodeling in dogs. *Circulation* 1999;100(21):2191-7.
  13. 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(4):512-25.
  14. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation*. 1997;96(4):1180-4.
  15. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 1991;83(6):1849-65.
  16. Tsutsumi Y, Matsubara H, Ohkubo N, Mori Y, Nozawa Y, Murasawa S, et al. Angiotensin II type 2 receptor is upregulated in human heart with interstitial fibrosis, and cardiac fibroblasts are the major cell type for its expression. *Circ Res* 1998;83(10):1035-46
  17. Nakashima H, Kumagai K, Urata H, Gondo N, Ideishi M, Arakawa K. Angiotensin II antagonist prevents electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation* 2000; 6;101:2612-7.
  18. Goette A, Arndt M, Rocken C, Spiess A, Staack T, Geller JC, et al. Regulation of angiotensin II receptor subtypes during atrial fibrillation in humans. *Circulation* 2000 ;101:2678-81.
  19. Li D, Shinagawa K, Pang L, Leung TK, Cardin S, Wang Z, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure. *Circulation* 2001;104:2608-14.
  20. Kumagai K, Nakashima H, Urata H, Gondo N, Arakawa K, Saku K. Effects of angiotensin II type 1 receptor antagonist on electrical and structural remodeling in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:2197–204
  21. Laszlo R, Eick C, Rueb N, Weretka S, Weig H-J, Schreieck J, et al. Inhibition of the renin-angiotensin system: effects on tachycardia-induced early electrical remodeling in rabbit atrium. *Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 2008; 9: 125 - 132.
  22. Madrid AH, Bueno MG, Rebollo JM, Marin I, Peña G, Bernal E, et al. Use of irbesartan to maintain sinus rhythm in

DOI: 10.5031/v1i1.RIA1066

- patients with long-lasting persistent atrial fibrillation: a prospective and randomized study. *Circulation* 2002;106(3):331-6.
23. Moe GK, Abildskov JA. Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J.* 1959;58: 59-70.
24. Tieleman RG, De Langen C, Van Gelder IC, de Kam PJ, Grandjean J, Bel KJ, et al. Verapamil reduces tachycardia-induced electrical remodeling of the atria. *Circulation.* 1997;95(7):1945-53.
25. Schoten U, Greiser M, Benke D, Buerkel K, Ehrenteidt B, Stellbrink C, et al. Atrial fibrillation-induced atrial contractile dysfunction: a tachycardiomyopathy of a different sort. *Cardiovasc Res* 2002; 53:192-201.
26. Schoten U, Ausma J, Stellbrink C, Sabatschus I, Vogel M, Frenchen D, et al. Cellular mechanisms of depressed atrial contractility in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation* 2001; 103:691-8.
27. Sun H, Gaspo R, Leblanc N, Nattel S. Cellular mechanisms of atrial contractile dysfunction caused by sustained atrial tachycardia. *Circulation* 1998 ;98: 719-27.
28. Leistad E, Christensen G, Ilebakk A. Atrial contractile performance alter cessation of atrial fibrillation. *Am J Physiol* 1993 264(1 Pt 2):H 104-109.
29. Ausma J, Wijffels M, van Eys G, Koide M, Ramaekers F, Allessie M, et al. Dedifferentiation of atrial cardiomyocytes as a result of chronic atrial fibrillation. *Am J Pathol* 1997;151(4):985-97
30. Everett TH 4th, Li H, Mangrum JM, McRury ID, Mitchell MA, Redick JA, et al. Electrical, morphological, and ultrastructural remodeling and reverse remodeling in a canine model of chronic atrial fibrillation. *Circulation* 2000;102(12):1454-60.
31. Goette A, Honeycutt C, Langberg JJ. Electrical remodelling in atrial fibrillation: Time course and mechanisms. *Circulation* 1996;94:2986-2974
32. Moreno I, Caballero R, Gonzalez T, Arias C, Valenzuela C, Iriepa I, et al. Effects of irbesartan on cloned potassium channels involved in human cardiac repolarization. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;304:862–873