



6005-245. SISTEMA DE CARTOGRAFIADO ÓPTICO PARA REGISTRO SIMULTÁNEO DE POTENCIALES TRANSMEMBRANA Y TRANSITORIOS DE CALCIO EN CORAZONES GRANDES MEDIANTE UNA ÚNICA CÁMARA CCD

Carolina Curiel-Llamazares¹, Jorge G. Quintanilla¹, Javier Moreno¹, Felipe Alonso-Atienza², José Luis Rojo-Álvarez², Roberto Molina-Morúa¹, Carlos Macaya³ y Julián Pérez-Villacastín¹ del ¹Optical Mapping Laboratory, Unidad de Arritmias, Instituto Cardiovascular, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, ²Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid y ³Servicio de Cardiología, Instituto Cardiovascular, Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Resumen

Introducción: El cartografiado óptico (CO) es muy útil para el estudio de las arritmias. Los sistemas clásicos permiten el registro individual de potenciales transmembrana (V_m) o transitorios de calcio (Ca_iT) con un único fotodetector, o su registro simultáneo con 2 fotodetectores y un complejo sistema óptico auxiliar. Nuestro objetivo fue comprobar la viabilidad de un sistema de CO para registrar simultáneamente V_m y Ca_iT en corazones grandes, utilizando una única cámara CCD gracias a los cortos tiempos de conmutación alcanzables con la tecnología de iluminación LED.

Métodos: Se utilizaron 4 cerdos (25-30 kg). Se aislaron los corazones y se perfundieron en un sistema Langendorff con Tyrode o sangre oxigenada a 37 °C. Se cargó el tinte sensible a V_m (di-4-ANBDQPPQ, optimizado para perfusión con sangre) y el sensible a Ca_iT (Rhod-2) que fueron excitados alternadamente con iluminación LED de longitudes de onda 650 ± 20 nm y 520 ± 20 nm con una potencia máxima de 20 W. Se utilizó un único filtro multibanda 585 ± 20 nm (Ca_iT) y > 700 nm (V_m) para la recolección de la fluorescencia emitida por el corazón. Las películas fueron adquiridas mediante una sola cámara CCD (64×64 píxeles) a diferentes tasas de muestreo (300, 600 y 900 frames por segundo). La cámara CCD se sincronizó con las fuentes LED mediante un circuito diseñado a medida, de tal manera que cada vez que la cámara adquiría un frame, la iluminación conmutaba.

Resultados: La tabla muestra la calidad ($\%F/F$) de las señales registradas con las diferentes combinaciones de parámetros posibles.

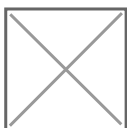


Figura. Esquema del sistema de cartografiado óptico cardiaco diseñado e implementado. Se indican las bandas de paso de los filtros ópticos utilizados.

Fluorescencia relativa ($\%F/F$) de los tintes para perfusiones con Tyrode o sangre, con distintas dosis de tinte y a distintas tasas de muestreo. Mayores valores de $\%F/F$ significan una señal de mayor calidad.

Tinte	Señal	Perfusión	Dosis	fps	?F/F	Pm
di-4-ANBDQPQ	Vm	Tyrode	300 ?l (24,4 mg/ml)	300/600/900	12,3%/7,4%/6%	No
di-4-ANBDQPQ	Vm	Sangre	300 ?l (24,4 mg/ml)	300/600/900	4,7%/3,9%/2%	No
Rhod-2	CaiT	Tyrode	2 mg	300/600	1,5%/0,7%	Sí
Rhod-2	CaiT	Tyrode	4 mg	300/600	1,9%/1,3%	Sí
Rhod-2	CaiT	Sangre	4 mg	300/600	1%/0,7%	Sí

fps: frames por segundo. Pmáx: necesidad de utilizar la potencia máxima suministrada por los LEDs.

Conclusiones: El presente trabajo demuestra la viabilidad de un sistema de CO cardiaco en corazón grande para el registro simultáneo de Vm y CaiT con una única cámara CCD, iluminación LED y un sistema de conmutación a medida. El sistema puede ser utilizado con Tyrode para obtener señales de alta calidad, pero con el inconveniente de la edematización de la pieza. Puesto que se utiliza para Vm un tinte que emite en el infrarrojo cercano (menos atenuado ópticamente por la hemoglobina), el sistema permite trabajar con perfusión de sangre en lugar de Tyrode, limitando significativamente la edematización, aunque los bajos niveles de CaiT con sangre suponen un claro inconveniente. La utilización de mayores potencias LED para excitar el Rhod-2 y el uso de una cámara con mayor sensibilidad mejorarían las prestaciones del sistema.