

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

EFFECTOS DEL EJERCICIO FÍSICO CRÓNICO SOBRE LA  
REFRACTARIEDAD MIOCÁRDICA VENTRICULAR, LA  
VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN Y EL PATRÓN  
FIBRILATORIO VENTRICULAR INTRÍNSECOS, TRAS LA  
OCLUSIÓN ARTERIAL CORONARIA AGUDA: UN  
ESTUDIO EXPERIMENTAL

LEONOR ORTS CANDELA

UNIVERSITAT DE VALENCIA  
Servei de Publicacions  
2007

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 26 de Octubre de 2006 davant un tribunal format per:

- D. José Antonio Ruipérez Abizanda
- D. Martín Aldasoro Celaya
- D. Álvaro Tormos Ferrando
- D. José Millet Roig
- D. Francisco Javier Chorro Gascó

Va ser dirigida per:

D. Luis Such Belenguer

D. Antonio M. Alberola Aguilar

©Copyright: Servei de Publicacions  
Leonor Orts Candela

---

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-6686-8

Edita: Universitat de València  
Servei de Publicacions  
C/ Artes Gráficas, 13 bajo  
46010 València  
Spain  
Telèfon: 963864115

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
Departament de Fisiologia



Efectos del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad miocárdica ventricular, la velocidad de conducción y el patrón fibrilatorio ventricular intrínsecos, tras la oclusión arterial coronaria aguda: un estudio experimental.

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR:  
Leonor Orts Candela.

DIRIGIDA POR:  
Dr. D. Luis Such Belenguer.  
Valencia, 2006.

**Luis Such Belenguer**, Profesor Titular del Departamento de Fisiología de la Universidad de Valencia,

**CERTIFICA:** Que la Tesis Doctoral que lleva por título: “Efectos del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad miocárdica ventricular, la velocidad de conducción y el patrón fibrilatorio ventricular intrínsecos, tras la oclusión arterial coronaria aguda: un estudio experimental”, presentada por Leonor Orts Candela, para optar al Grado de Doctor, ha sido realizada bajo su dirección en el Departament de Fisiologia de la Universitat de València.

Y para que así conste a todos los efectos oportunos, firma la presente en Valencia, a 24 de mayo del 2006.

Fdo: Luis Such Belenguer

Este trabajo ha sido subvencionado por la ayuda a la Investigación de la Universitat de València, y en parte por una ayuda otorgada por el Ministerio de Ciencia y Tecnología para la realización del proyecto BFI2002-02077.

A Carlos, a mis padres.

“La sabiduría suprema es tener sueños  
bastantes grandes para no perderlos  
de vista mientras se persiguen”.

William Faulkner.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera mostrar todo mi agradecimiento, en unas pocas líneas, a todas aquellas personas que han sido claves en la realización de este trabajo, sin su colaboración, esto nunca hubiera llegado a término.

En primer lugar, destacar al profesor Luis Such, por abrirme las puertas del complicado mundo de la investigación, tengo que agradecerle la confianza depositada en mí desde el primer instante en el que entré a formar parte de su equipo. Es una persona que me ha enseñado a crecer profesionalmente, no sólo en el mundo de la investigación, sino también en mi labor clínica diaria y, lo que es más importante, en el terreno personal.

Al profesor Antonio Alberola, tengo que agradecerle el que me haya tratado y aceptado siempre como a un miembro más de su grupo, apoyando en todo momento las decisiones de mi director.

Del profesor Javier Chorro, no puedo tener más que palabras de admiración, quiero destacar su humildad y tengo que decir que ha sido un honor trabajar con él.



A continuación, quiero hacer referencia a mis compañeros de grupo. A “mis sobrinos” Isabel, Laura, Luis y Paqui, agradecerles su constante aliento y apoyo en todo momento, han sido fundamentales. Gracias también a Rita y Angels, como miembros del grupo.

Cabe destacar que ha sido importante en este trabajo la buena sintonía que existe entre todo el personal que trabaja en el Departamento de Fisiología. Gracias a mis profesores “vecinos” Martín Aldasoro, Pepe Vila, Antonio Iradi y Argimiro por sus constantes ánimos.

En cuanto a las personas que comparten mi trabajo clínico diario, quiero agradecer a mis compañeros de residencia del Hospital de Requena y a mis actuales compañeros del Centro de Salud de Paterna, su paciencia y comprensión en el desarrollo de este trabajo.

A continuación, quiero hacer mención a mi familia, en primer lugar a mis padres y hermano, por darme la oportunidad de estudiar y, muy especialmente a mi madre, si he llegado hasta aquí ha sido gracias a su sacrificio y ejemplo.

Por último, quiero agradecerle a Carlos su apoyo incondicional, a pesar de las adversidades.

## SIGLAS Y ABREVIATURAS

CV	–	Coeficiente de variación
FD Máxima	–	Frecuencia dominante máxima
FD media	–	Frecuencia dominante media
FD mínima	–	Frecuencia dominante mínima
FV	–	Fibrilación ventricular
$I_{Ca}$	–	Corriente de entrada de calcio
$I_{Ca-L}$	–	Corriente de entrada de calcio lenta
$I_{Ca-T}$	–	Corriente de entrada de calcio transitoria
$I_{Cl}$	–	Corriente de cloro
$I_f$	–	Corriente de entrada de $Na^+$ y $K^+$ o “corriente marcapasos”
$I_k$ o $I_{kv}$	–	Corriente de rectificación tardía de potasio
$I_{K(Ach)}$	–	Corriente activada por el receptor muscarínico M2
$I_{K(ATP)}$	–	Corriente de potasio dependiente de ATP
$I_{K1}$ o $I_{Kir}$	–	Corriente de rectificación interna de potasio
$I_{Na}$	–	Corriente de entrada rápida de sodio
$I_{sus}$ o $I_{late}$	–	Corriente repolarizante de potasio de inactivación lenta o sostenida
$I_{to}$	–	Corriente transitoria de salida de potasio
LO	–	Longitud de onda
NSA	–	Nodo sinoauricular
PA	–	Potencial de acción

PRE	–	Período refractario efectivo
PREV	–	Período refractario efectivo ventricular
PRFV	–	Período refractario funcional ventricular
S <sub>1</sub>	–	Artefacto del último estímulo del tren
S <sub>2</sub>	–	Artefacto del extraestímulo
VC	–	Velocidad de conducción
V <sub>1</sub>	–	Último electrograma ventricular correspondiente al tren fijo
V <sub>2</sub>	–	Electrograma ventricular correspondiente al extraestímulo
V-V	–	Intervalo entre dos electrogramas ventriculares consecutivos

## ÍNDICE

### *Capítulo 1.- Introducción*

1.1. Planteamiento del problema.....	17
1.1.1. Objetivos.....	17
1.1.2. Justificación de los objetivos.....	19
1.1.2.1. Aspectos generales relativos a las dificultades que entraña el uso de antiarrítmicos en la profilaxis de la muerte súbita.....	19
1.1.2.1.1. Aspectos electrofisiológicos básicos.....	19
1.1.2.1.1.1. Canales y corrientes implicadas en el mantenimiento del potencial de reposo y del potencial de acción del cardiomiocito.....	19
1.1.2.1.1.2. Modificaciones en isquemia aguda..	28
1.1.2.1.2. Aspectos generales sobre los fármacos antiarrítmicos.....	31

1.1.2.2. Alternativas planteadas al uso de la terapia farmacológica antiarrítmica convencional.....	35
1.1.2.2.1. Modificaciones sobre la actividad del sistema nervioso autónomo.....	35
1.1.2.2.2. Realización de ejercicio físico crónico aerobio.....	41
1.1.2.2.3. Estado actual acerca del conocimiento de los mecanismos básicos sobre los que se asientan los efectos protectores del ejercicio físico.....	30
1.1.2.2.4. Modificaciones electrofisiológicas intrínsecas por el entrenamiento. Estudio especial de la refractariedad.....	46
1.1.2.3. Consideraciones sobre los criterios para el análisis de la fibrilación ventricular. Estudios en el dominio de la frecuencia.....	49

1.1.3. Resumen de la justificación de los objetivos (hipótesis de trabajo).....	58
---	----

1.2. Plan de trabajo.....	62
---------------------------	----

## **Capítulo 2.- Material y métodos**

2.1. Material.....	65
--------------------	----

2.1.1. Animales de experimentación.....	65
---	----

2.1.2. Reactivos.....	65
-----------------------	----

2.1.3. Aparatos.....	66
----------------------	----

2.2. Métodos.....	71
-------------------	----

2.2.1. Protocolo de entrenamiento.....	71
--	----

2.2.2. Preparación experimental y perfusión.....	72
--	----

2.2.3. Electrodo: ubicación y características.....	74
--	----

2.2.4. <i>Software</i> .....	75
------------------------------	----

2.2.5. Determinación de umbrales de estimulación.....	77
---	----

2.2.6. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la refractariedad miocárdica.....	77
2.2.7. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la velocidad de conducción y de la longitud de onda.....	79
2.2.8. Determinación de los parámetros representativos de las características de la fibrilación ventricular (análisis espectral).....	80
2.2.9. Protocolo experimental.....	84
2.3. Grupos de estudio.....	88
2.4. Legislación.....	88
2.5. Análisis estadístico.....	88

### ***Capítulo 3.- Resultados***

3.1. Respecto a la refractariedad.....	91
3.2. Respecto a la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.....	95
3.2.1. Frecuencia dominante media.....	95
3.2.2. Frecuencia dominante mínima.....	98

3.2.3. Frecuencia dominante máxima.....	100
3.3. Respecto al coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.....	101
3.4. Respecto a la velocidad de conducción.....	103
3.5. Respecto a la longitud de onda.....	104
3.6. Respecto a la inducibilidad de la fibrilación ventricular.....	106

#### ***Capítulo 4.- Discusión***

4.1. Consideraciones generales.....	111
4.2. Consideraciones relativas a los métodos empleados.....	112
4.3. Respecto a los resultados obtenidos.....	114
4.3.1. Respecto a la refractariedad ventricular.....	114
4.3.2. Respecto a la velocidad de conducción y a la longitud de onda del proceso de activación.....	123
4.3.3. Respecto a la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.....	125
4.3.4. Respecto al coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.....	129



4.3.5. Respecto a la inducibilidad de la fibrilación ventricular  
mediante extraestímulos..... 132

***Capítulo 5.- Conclusiones***

5. Conclusiones .....136

***Capítulo 6.- Referencias bibliográficas***

6. Referencias bibliográficas .....140

# *Capítulo 1*

---

## **Introducción**

# **1. Introducción.**

## **1.1. Planteamiento del problema.**

### **1.1.1. Objetivos.**

Se pretende investigar el efecto del ejercicio físico crónico sobre las modificaciones intrínsecas inducidas por la oclusión arterial coronaria aguda sobre:

- a) la refractariedad miocárdica ventricular.
- b) la velocidad de conducción (VC) miocárdica ventricular.
- c) la longitud de onda (LO) del proceso de activación eléctrica miocárdica ventricular.
- d) la frecuencia de activación durante la fibrilación ventricular (FV), como un parámetro electrofisiológico adicional, estrechamente ligado a la refractariedad miocárdica.
- e) la heterogeneidad y el daño electrofisiológico miocárdico, a través del análisis del coeficiente de variación (CV) de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular, obtenida en múltiples

puntos del epicardio ventricular, y de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.

- f) la inducibilidad de la fibrilación ventricular, mediante la aplicación de extraestímulos.

El interés de los presentes objetivos está en: **a)** por una parte, asentar el principio de que el ejercicio físico produce modificaciones electrofisiológicas intrínsecas, lo que ha sido previamente comenzado a investigar por nosotros para el caso del automatismo sinusal, la conducción auriculoventricular, la refractariedad miocárdica, la longitud de onda del proceso de activación eléctrica miocárdica ventricular y el patrón fibrilatorio ventricular, y **b)** conocer las posibles modificaciones beneficiosas que puede ejercer el entrenamiento sobre los anteriores parámetros, que se hallan relacionados con la aparición de arritmias por re-entrada y con la estabilización de las mismas, en el miocardio sometido a isquemia regional por oclusión arterial coronaria.

## **1.1.2. Justificación de los objetivos.**

### **1.1.2.1. Aspectos generales relativos a las dificultades que entraña el uso de antiarrítmicos en la profilaxis de la muerte súbita.**

#### **1.1.2.1.1. Aspectos electrofisiológicos básicos.**

##### **1.1.2.1.1.1. Canales y corrientes implicados en el mantenimiento del potencial de reposo y del potencial de acción del cardiomiocito.**

En la membrana celular de los cardiomiocitos existen canales que vehiculan corrientes de entrada y de salida de iones, que describiremos a continuación:

#### **A) CORRIENTES DE ENTRADA A LAS CÉLULAS MIOCÁRDICAS.**

- Corriente de entrada rápida de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ): se produce a través de un canal de  $\text{Na}^+$  voltaje dependiente. Esta corriente produce una rápida despolarización de la célula y

es responsable del inicio del potencial de acción (PA) de las células auriculares, ventriculares y del sistema His-Purkinje. Este canal no se encuentra en las células del nodo sinoauricular (NSA) y del nodo auriculoventricular (NAV).

- Corriente de respaldo de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na-b}}$ ): corriente hipotética a través de un canal independiente de voltaje, que estaría presente en las células del NSA.
- Corriente de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L (larga duración) ( $I_{\text{Ca-L}}$ ): a través de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L, produce despolarización y propagación del impulso a través del NSA y NAV, contribuyendo a la meseta del potencial de acción en las células auriculares, ventriculares y del sistema His-Purkinje.
- Corriente de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo T (transitoria) ( $I_{\text{Ca-T}}$ ): a través de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo T, contribuye a la última etapa de la fase 4 del potencial de acción en las células del NSA y en las del sistema de His-Purkinje.
- Corriente de entrada transportada por de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  ( $I_f$ ). Presente en la despolarización diastólica durante la fase 4 del potencial de acción en células del NSA, NAV y sistema His-Purkinje. Es una “corriente marcapasos”.

- Corriente de entrada de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{NS}}$ ): se activa por la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el retículo sarcoplásmico en algunos casos.

## B) CORRIENTES DE SALIDA DE LAS CÉLULAS MIOCÁRDICAS.

- Corriente de rectificación interna ( $I_{\text{K1}}$  o  $I_{\text{Kir}}$ ): mantiene el potencial de membrana cerca del potencial de reposo en las células auriculares, ventriculares, del NAV y del sistema His-Purkinje.
- Corriente de rectificación tardía ( $I_{\text{k}}$  o  $I_{\text{kv}}$ ): de cinética lenta y máxima responsable de la repolarización. Tiene 2 fases  $\text{K}_r$  (rápida) y  $\text{K}_s$  (lenta).
- Corriente de salida de  $\text{K}^+$  ( $I_{\text{to}}$ ): se activa únicamente tras la despolarización y sólo está presente en células subepicárdicas.
- Corriente activada por el receptor muscarínico  $\text{M}_2$  ( $I_{\text{K(Ach)}}$ ): hiperpolariza las células del NSA y NAV.
- Corriente de  $\text{K}^+$  dependiente de adenosín trifosfato (ATP) ( $I_{\text{K(ATP)}}$ ): activada en situaciones de hipoxia, acorta los

períodos refractarios durante la isquemia (Ferrero et al., 1996).

- Corriente de Cl ( $I_{cl}$ ): activada por el AMPc (AMP cíclico), acorta la duración del potencial de acción durante la activación adrenérgica.

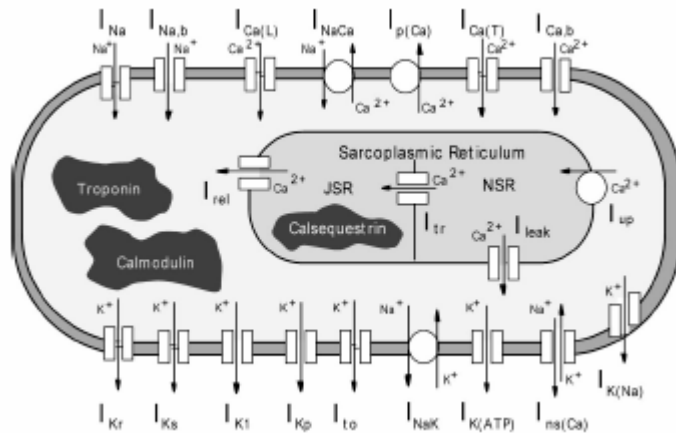
### C) BOMBAS E INTERCAMBIADORES IÓNICOS.

- a) Bomba  $Na^+/K^+$ : dependiente de ATP, expulsa tres  $Na^+$  por cada 2  $K^+$  que introduce.
- b) Bomba de  $Ca^{2+}$ : dependiente de ATP, expulsa  $Ca^{2+}$ .
- c) Transportadores: son proteínas de membrana que intercambian iones. Cabe citar los intercambiadores  $Na^+/Ca^{2+}$ ,  $Na^+/H^+$ ,  $Na^+/K^+/Cl^-$  y  $Cl^-/HCO_3^-$ .

En la *Figura 1.1* observamos los diversos tipos de corrientes y sistemas de transporte que tienen lugar en el cardiomiocito ventricular, y que se hallan implicados en los procesos electrofisiológicos celulares básicos, esto es, tanto en el establecimiento del potencial de reposo, como en el



desencadenamiento de la despolarización de la membrana celular, y en la repolarización de la misma durante el potencial de acción.



*Figura 1.1* Diagrama de un modelo de célula ventricular. Tomado de Luo-Rudy (Kléber & Rudy, 2004).

En el caso del potencial de membrana en reposo del cardiomiocito la corriente  $I_{K_1}$ , llamada también “rectificador anómalo”, que no es “corriente marcapasos”, es la que regula y establece el nivel del potencial. Esta corriente también contribuye a la fase de repolarización rápida en la fase final del potencial de acción del cardiomiocito ventricular. Además, como se estudia clásicamente en fisiología, también la bomba de sodio-potasio contribuye al

mantenimiento del potencial de reposo en su valor final gracias a sus efectos electrogénicos netos.

En el cardiomiocito ventricular se distinguen las siguientes fases en el potencial de acción:

a) Fase de despolarización rápida: corresponde a la despolarización rápida de la célula, el potencial pasa de un valor electronegativo del reposo celular hasta el valor (+ 20 Mv). Se debe predominantemente a la activación de la corriente rápida de entrada de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ). Esta fase también se denomina *fase 0*.

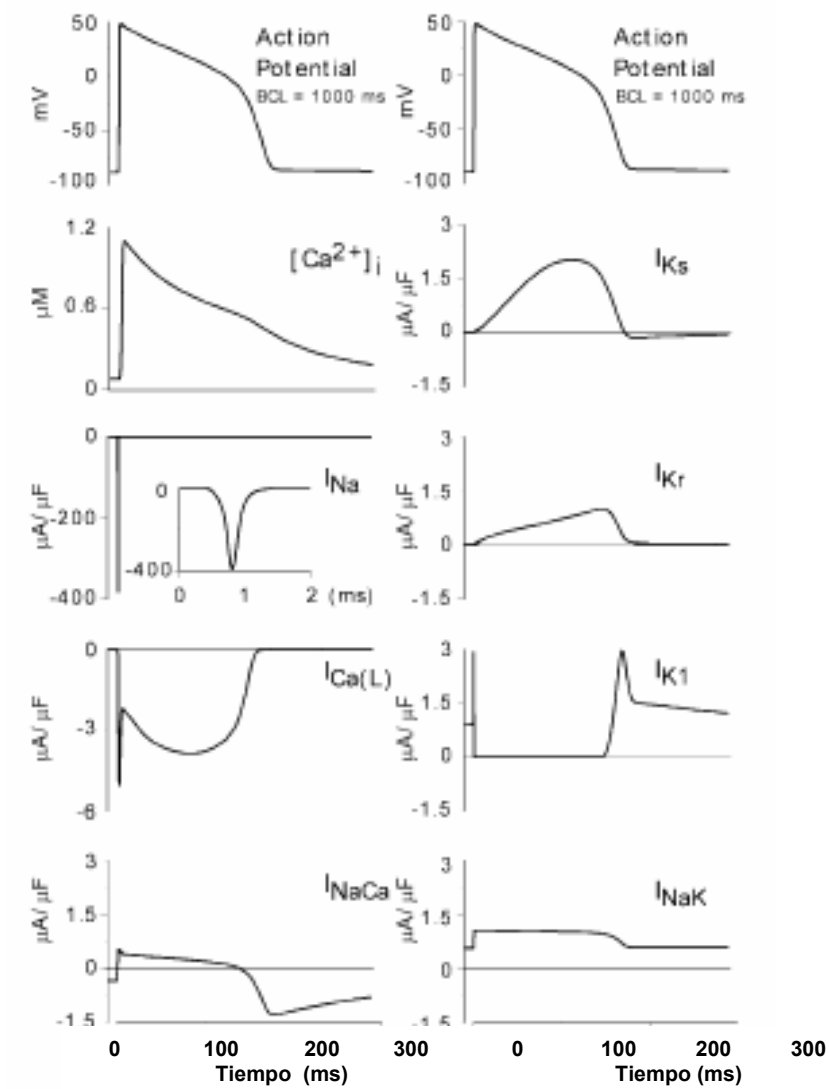
b) Fase de meseta del potencial de acción: el potencial se mantiene constante. Se debe fundamentalmente a la corriente de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de los canales L ( $I_{\text{Ca-L}}$ ). Esta fase también se denomina *fase 2*.

c) Fase de repolarización: aumenta la velocidad de repolarización hasta que el potencial de membrana alcanza el valor propio del potencial de reposo. Se debe a la inactivación de la  $I_{\text{Ca}}$ , a la máxima activación de las corrientes de salida de  $\text{K}^+$  de rectificación tardía ( $I_{\text{Kr}}$  e  $I_{\text{Ks}}$ ) y a la activación de la corriente de rectificación interna ( $I_{\text{K1}}$ ) en la fase final. También participa en el PA la activación del intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , que inicialmente produce una extracción de tres  $\text{Na}^+$  e

introducción de un  $\text{Ca}^{2+}$ , posteriormente se invierte su acción y ejerce un efecto electrogénico que prolonga algo la duración del PA al final del "plateau" o meseta, ya que en este caso extrae un  $\text{Ca}^{2+}$  por cada tres  $\text{Na}^+$  que introduce. Esta fase también es denominada *fase 3*.

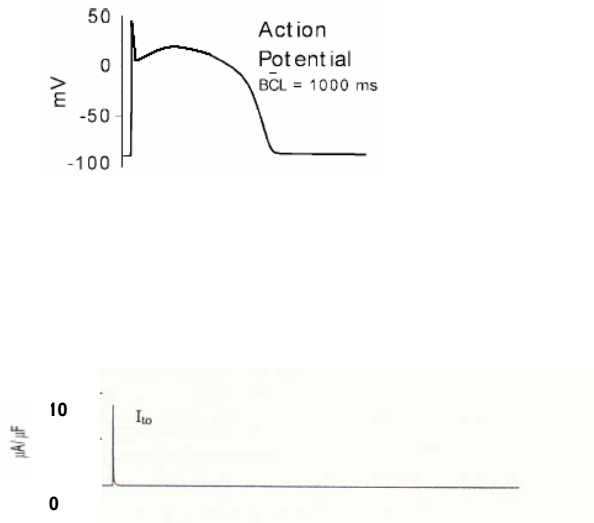
d) Fase de reposo: finalmente se alcanza el valor electronegativo del potencial de reposo de una manera estable (a diferencia de lo que ocurre en las células marcapasos), y durante un corto tiempo hasta que se produce la siguiente despolarización del PA. Esta es la llamada *fase 4*.

Los fenómenos electrofisiológicos descritos corresponden a los potenciales de acción de las células subendocárdicas del miocardio. Se muestra una representación del potencial de acción en una célula subendocárdica ventricular (*Figura 1.2*), así como las diferentes corrientes iónicas en el desarrollo de cada una de las fases.



**Figura 1.2** Corrientes, intercambiadores y concentraciones principales que actúan durante el potencial de acción de una célula subendocárdica ventricular. Tomado de Rudy (Kléber & Rudy, 2004).

e) Fase de repolarización rápida: se produce la inactivación de la  $I_{Na}$ , y se activa la corriente de salida de  $K^+$  ( $I_{to}$ ), esta última dependiente del tiempo y del voltaje. Es la llamada *fase 1* del potencial de acción.



*Fig.1.3* Corriente transitoria de potasio en el potencial de acción de una célula subepicárdica ventricular. Parte superior modificada de Rudy (Kléber & Rudy, 2004). Parte inferior tomada de Jalife et al. (1999).

### **1.1.2.1.1.2. Modificaciones en isquemia aguda.**

#### **a) Alteraciones en el metabolismo celular.**

La falta de oxígeno durante la isquemia produce una reducción del metabolismo oxidativo y esto favorece la glucólisis anaerobia, con el consiguiente acúmulo intracelular de lactato e hidrogeniones, lo que a su vez genera una reducción en el pH intracelular de hasta una unidad en los primeros 10 minutos (Kirkels et al., 1989). También disminuye la concentración de ATP intracelular, aumentando la concentración de adenosín di-fosfato (ADP). En el metabolismo lipídico la falta de oxígeno impide la oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria con el consiguiente acúmulo de acil-CoA en el citosol, molécula con efecto “detergente” que altera la membrana con su consiguiente efecto arritmogénico.

Desde el punto de vista iónico, se produce un aumento en la concentración de  $K^+$  extracelular ( $[K^+]_o$ ) (Harris, 1966), hecho claramente arritmogénico. A los 5 minutos de isquemia, la  $[K^+]_o$  prácticamente se duplica (Kléber, 1984), estabilizándose en torno a 10-12 mmol/L, para seguir aumentando unos minutos más tarde. La razón de este aumento en la  $[K^+]_o$  es motivo de gran controversia. En primer lugar, la falta de “lavado”, producida por la reducción en la corriente sanguínea, tiene un papel clave en este fenómeno (Yan et

al., 1993). En segundo lugar, es conocido que durante la isquemia existe un flujo neto de salida de  $K^+$  al exterior de la célula, pero el mecanismo que subyace a dicho flujo no está aclarado (Billman, 1994). Para algunos autores, se debería a un aumento de la permeabilidad al  $K^+$  de la membrana celular afectada por la isquemia; para otros, la reducción en la actividad de la bomba de  $Na^+/K^+$ , dependiente de ATP (Allen & Orchard, 1987), tendría un papel fundamental; y para otros autores, se debería a un aumento de la  $I_{K(ATP)}$  producida por una activación de los canales  $K^+$  dependientes de ATP (Noma, 1983; Nichols & Lederer, 1991), o al intercambio de  $K^+$  por otros aniones que se acumulan en la célula por el efecto de la isquemia como el lactato (Kléber, 1984).

Por el contrario, en los primeros 10 minutos de isquemia se observa un aumento en la concentración intracelular de  $Na^+$ , motivo por el cual disminuye la actividad de la bomba  $Na^+/Ca^{2+}$  mecanismo, entre otros, que eleva los niveles de  $Ca^{2+}$  intracelular. Este ión activa enzimas como las fosfolipasas, que producen un acúmulo de sustancias como la lisofosfatidilcolina que, probablemente por su carácter anfifílico, tiene efectos arritmogénicos (Opie, 1984).

La concentración intracelular de  $Mg^{2+}$  también aumenta durante la isquemia (Kirkels et al., 1989), hecho que parece estar en relación directa a la reducción del nivel de ATP.

## **b) Alteraciones en el potencial de acción y su propagación.**

### **Implicaciones en la arritmogénesis.**

La isquemia, por su efecto despolarizante sobre la membrana celular (debido fundamentalmente al aumento en la  $[K^+]_o$ ) (Kleber, 1984), eleva el potencial de reposo a valores menos negativos. En los primeros minutos de isquemia se produce una disminución en la duración del potencial de acción y, como consecuencia, una reducción en el período refractario, probablemente relacionado con el aumento de la  $I_{K(ATP)}$  (Nichols & Lederer, 1991). Por otro lado, la amplitud máxima del potencial de acción y la máxima pendiente de subida se ven reducidas, hecho que reduce la velocidad de conducción. Estos fenómenos descritos influyen en la arritmogénia de la fase aguda de la isquemia. La reducción de los períodos refractarios y su dispersión espacial en isquemia (Han & Moe, 1963), junto al enlentecimiento de la velocidad de conducción (producida por la despolarización diastólica de la célula secundaria al aumento de la  $[K^+]_o$ ), produce una reducción, a su vez, en la longitud de onda, hecho que favorece la aparición de re-entradas.



### 1.1.2.1.2. Aspectos generales sobre los fármacos antiarrítmicos.

La clasificación más aceptada y vigente es la clasificación de Vaughan Williams (Vaughan Williams et al., 1970), que divide a los fármacos antiarrítmicos según su mecanismo de acción en cuatro grupos:

#### a) **Fármacos antiarrítmicos del grupo I.**

Bloquean el canal de  $\text{Na}^+$  voltaje-dependiente, con lo que deprimen la  $I_{\text{Na}}$  a nivel auricular y ventricular. Reducen, por tanto, la velocidad de despolarización de la fase 0 y, por consiguiente, la VC y la excitabilidad (Tamargo & Valenzuela, 1992). De acuerdo con la cinética de bloqueo (velocidad de asociación-disociación) del canal de  $\text{Na}^+$ , los fármacos de este grupo se subdividen en tres subgrupos:

- Fármacos Ia (cinética intermedia): quinidina, procainamida, disopiramida.
- Fármacos Ib (cinética rápida): lidocaina, mexiletina, tocainida.
- Fármacos Ic (cinética lenta): flecainida, propafenona, encainida.

**b) Fármacos antiarrítmicos del grupo II.**

Producen un bloqueo competitivo y reversible sobre los receptores  $\beta$ -adrenérgicos cardiacos. En consecuencia, reducen la frecuencia sinusal y suprimen los marcapasos ectópicos y el automatismo anormal inducido tras la liberación de catecolaminas. Igualmente deprimen la VC y prolongan el período refractario efectivo (PRE) del NAV, prolongando los intervalos P-R y A-H. Su efecto sobre la VC y la conducción intraauricular e intraventricular es discreta, por lo que no modifican el intervalo H-V. Sin embargo, en el miocardio isquémico deprimen la VC y aumentan el umbral de fibrilación ventricular. En este grupo se incluyen todos los fármacos betabloqueantes como el propranolol, el atenolol, el bisoprolol y el metoprolol, entre muchos otros.

**c) Fármacos antiarrítmicos del grupo III.**

Bloquean los canales de  $K^+$  responsables de la corriente de rectificación tardía de  $K^+$  ( $I_k$ ), por lo que prolongan la duración del potencial de acción y los períodos refractarios (lo que implica un alargamiento del intervalo Q-T del electrocardiograma), aumentando la longitud de onda del proceso de activación. Sus efectos sobre las velocidades de conducción son escasos. El principal representante de

este grupo es la amiodarona, derivado yodado benzofuránico que no sólo bloquea la  $I_k$ , sino que además exhibe afinidad por el estado inactivo del canal de  $Na^+$ , propiedades antagonistas del  $Ca^{2+}$  y, a altas dosis, bloquea de forma no competitiva los receptores  $\alpha$  y  $\beta$ -adrenérgicos. Otros fármacos pertenecientes a este grupo son el sotalol, el dofetilide y el ibutilide.

**d) Fármacos antiarrítmicos del grupo IV.**

Bloquean la entrada de  $Ca^{2+}$  a través de los canales tipo L. Los principales fármacos de este grupo son el verapamilo y el diltiazem. Su efecto se produce fundamentalmente sobre estructuras cuyos potenciales de acción son dependientes del  $Ca^{2+}$ , como en el NSA y el NAV, produciendo depresión de la frecuencia sinusal y de los marcapasos de la unión auriculoventricular.

Diversos estudios han demostrado que las taquiarritmias son responsables de la mayor parte de las muertes súbitas, siendo la fibrilación ventricular la arritmia responsable del 75% de las muertes súbitas de origen cardíaco (para revisión ver Billman, 2002).

Aún en la actualidad, no está totalmente asentado el papel beneficioso de los antiarrítmicos, ya que la administración de alguno

de ellos incluso parece ser más contraproducente que la ausencia de su administración, lo que a continuación comentaremos someramente.

La flecainida, la encainida y la moricizina son antiarrítmicos del grupo I, que se han asociado con un incremento de la muerte súbita cardíaca a pesar de su efecto antiarrítmico, según resultados del Cardiac Arrhythmia Supresión Trials (Echt et al., 1991, CAST, 1989 y 1992).

En el caso de la encainida, esta incrementa el riesgo de muerte súbita cardíaca por causa de arritmias. La amiodarona y el sotalol, que alargan la refractariedad (Singh, 1993) y que pasan por ser antiarrítmicos de menor riesgo y de bastante probada efectividad, no están totalmente exentos de efectos deletéreos.

Precisamente la existencia de serios efectos adversos e interacciones farmacológicas fue lo que en gran parte incentivó la investigación de nuevos antiarrítmicos, tales como el dofetilide, ibutilide, sematilide, clofilium, tedisamil, etc. (Scholz, 1996).

Asimismo, Anderson y Prystowsky (1999) encontraron que el sotalol exhibía efectos colaterales y la mayor parte estaban relacionados con el  $\beta$ -bloqueo y con el riesgo de aparición de *torsade de pointes*.

Brendorp et al. (2002) relataron que la amiodarona y el sotalol, además de las propiedades antiarrítmicas propias de los antiarrítmicos del grupo III, tienen serios efectos adversos proarrítmicos, especialmente la *torsade de pointes*.

### **1.1.2.2. Alternativas planteadas al uso de la terapia farmacológica antiarrítmica convencional.**

#### **1.1.2.2.1. Modificaciones sobre la actividad del sistema nervioso autónomo.**

La relación entre el aumento de la actividad simpática y la presentación de arritmias que amenazan la vida ha sido claramente demostrada por diversos autores (Schwartz & Stone, 1982).

Asimismo, ha sido demostrado que las maniobras que disminuyen la actividad simpática ejercen un efecto protector contra las arritmias, y similarmente estudios clínicos y experimentales parecen apuntar a una mayor facilidad para la aparición de muerte súbita cuando disminuye el tono parasimpático (Billman, 1990).

Por otra parte, ha sido demostrado experimentalmente que el tono vagal y los reflejos vagales ejercen un efecto protector contra la

muerte súbita (De Ferrari et al., 1991), y que la estimulación vagal previene la incidencia de fibrilación ventricular en perros portadores de infarto de miocardio cicatrizado (Vanoli et al., 1991). Trabajos adicionales de investigación también han demostrado que aumentando la actividad vagal mediante diferentes procedimientos se ejerce un efecto antiarrítmico (De Ferrari et al., 1993).

Mitrani y Zipes (1994) han planteado que un balance autonómico modificado puede, de alguna manera, mediar el incremento de incidencia de muerte súbita tras un infarto de miocardio.

No obstante, a pesar de las observaciones que acabamos de exponer, el papel del sistema nervioso parasimpático sobre el miocardio ventricular ha sido objeto de debate durante mucho tiempo.

Diversos autores otorgan poca relevancia al control parasimpático vagal de los ventrículos (Randall et al., 1991), en contraste con más recientes investigaciones de las que parece desprenderse una participación parasimpática en la función ventricular. Sobre esta posible participación realizaremos los pertinentes comentarios a continuación.

Efectivamente, si bien la importancia de la influencia parasimpática sobre los nodos sinoauricular y auriculoventricular está

bien establecida desde hace años (Tcheng, 1951, James & Spence, 1966, Levy & Zieske, 1969, Spear & Moore, 1973, Schmid et al., 1978), los efectos parasimpáticos sobre las propiedades electrofisiológicas ventriculares han sido también reconocidos como importantes desde el punto de vista fisiológico, desde hace poco más de dos décadas (para revisión ver referencia de Rardon & Bayley, 1983).

Asimismo, la importancia del tono parasimpático de reposo sobre la refractariedad ventricular ha sido planteada desde hace relativamente poco tiempo (Prytowsky et al., 1981). Farges et al. (1977) relataron que la acetilcolina acortó el período refractario de las fibras musculares auriculares, pero no modificó la refractariedad en el tejido miocárdico ventricular, solamente una disminución paralela del período refractario auricular y ventricular se produjo con la administración de isoproterenol. Morady et al. (1988), en un trabajo realizado en humanos, observaron que la administración de atropina acortaba el período refractario efectivo y funcional ventricular, cuando se había bloqueado el sistema adrenérgico con propranolol, y también tras la administración de diferentes dosis de isoproterenol, siendo mayor el alargamiento de la refractariedad cuanto mayor era la dosis de isoproterenol, con lo que estos autores concluyeron que el tono colinérgico alarga el período refractario ventricular, pero en ausencia de una actividad simpática de fondo, y que este

alargamiento puede ser acentuado durante la estimulación  $\beta$ -adrenérgica.

A diferencia de los estudios realizados alrededor de mediados y en la segunda y tercera décadas del siglo XX, de los que parecía desprenderse la ausencia de inervación parasimpática en los ventrículos de mamíferos, estudios más recientes sugieren la presencia de fibras nerviosas parasimpáticas más allá del nodo auriculoventricular, como refirieron Rardon y Bayley (1983). En una revisión realizada por estos autores hace algo más de dos décadas, se puso de manifiesto que hacía relativamente poco tiempo que se le reconocía al sistema nervioso parasimpático un papel fisiológicamente importante sobre la función ventricular, y que podía también influir significativamente sobre las condiciones fisiopatológicas responsables de la iniciación y/o de la finalización de ciertas arritmias ventriculares. La importancia del tono parasimpático en reposo sobre la función ventricular solamente fue postulada alrededor de los inicios de la década de los años 70 (Jose & Taylor, 1969, citados por Rardon & Bayley, 1983).

Si bien los estudios histológicos realizados en las primeras décadas del siglo XX apuntaban hacia una ausencia de inervación parasimpática en el ventrículo de los mamíferos, trabajos más recientes apuntan hacia otra dirección. Así, desde hace pocos años, han sido hallados en la superficie ventricular del corazón de diversas



especies de mamíferos, incluido el ser humano, ganglios en la superficie ventricular (Armour et al., 1997 y Pauza et al., 2000) considerados predominantemente parasimpáticos y sobre los que existe una importante incertidumbre; de hecho se están realizando importantes investigaciones al respecto en la actualidad (Johnson et al., 2004).

Aunque se sabe desde hace tiempo que las eferencias vagales hacia el corazón inervan los ganglios parasimpáticos localizados en las aurículas de una manera importante, generalmente se ha creído que el control parasimpático no se extendía a los ventrículos o tenía una mínima relevancia fisiológica (Randall et al., 1991, citados por Johnson et al., 2004). Sin embargo, y pese a las anteriores controversias, la distribución de nervios postganglionares parasimpáticos a muchas regiones del corazón, incluyendo a ambos ventrículos, ha sido ampliamente inferida sobre la base de estudios fisiológicos (para revisión ver cita de Johnson et al., 2004). Efectivamente, el tono vagal aumentado incrementa el umbral de la fibrilación ventricular y reduce los efectos arritmogénicos de la actividad simpática.

Sobre la base de los datos fisiológicos se puede predecir, de alguna manera, que neuronas del ganglio craneoventricular deben proyectarse al ventrículo izquierdo y no a otras regiones del corazón, tal y como señalan Johnson et al., 2004. Según se deduce de las

investigaciones realizadas por estos autores, aunque los efectos fisiológicos mediados por el ganglio craneoventricular son selectivos, la fuente de eferencias vagales al ventrículo izquierdo no puede ser exclusivamente limitada al ganglio craneoventricular. Más aún, dos ganglios intraventriculares también median significativamente el control vagal de las funciones ventriculares izquierdas, que son el hallado en el *septum* interventricular y un segundo ganglio ventricular izquierdo.

Hamra y McNeil (1997) hallaron en el miocardio ventricular aislado (finas rodajas de subendocardio ventricular) de perros sometidos a ejercicio físico crónico, y sedentarios, que la administración de acetilcolina sola no modificó la duración del potencial de acción al 50% y al 90% de la repolarización, a diferencia del isoproterenol que aceleró la repolarización, lo que fue antagonizado por la administración de acetilcolina. Según estos autores, el ejercicio diario crónico no influye sobre las interacciones adrenérgicas/colinérgicas a nivel celular.

Warner y Zipes (1994) relataron una prolongación de la refractariedad ventricular como consecuencia del aumento del tono vagal. Un efecto relacionado con la anterior observación fue descrito por Vanoli et al., 1991, quienes atribuyeron un aumento en el umbral de fibrilación ventricular como un efecto del tono vagal aumentado.

Jinbo et al. (1998) observaron que, en pacientes con taquicardia supraventricular sintomática sometidos a ablación por radiofrecuencia, el incremento en contracciones prematuras ventriculares en la lesión cercana al sistema de conducción fue inhibida mediante la actividad tónica parasimpática aumentada, ya que las fibras nerviosas parasimpáticas y sus correspondientes receptores se hallaban distribuidos en estas zonas de lesión.

#### **1.1.2.2.2. Realización de ejercicio físico crónico aerobio.**

Como contraste a las consideraciones anteriores acerca del efecto deletéreo de ciertos fármacos antiarrítmicos, se ha planteado por diversos autores la realización de ejercicio físico aeróbico como mecanismo protector frente a ciertas arritmias.

Del mismo modo que hay trabajos de investigación de carácter clínico, en los que se demuestra el efecto protector de la práctica de ejercicio físico regular sobre la aparición de arritmias, también han sido realizados trabajos experimentales que apuntan en la misma dirección (Billman et al., 1984). Estos trabajos demostraron que la práctica diaria de ejercicio físico podía prevenir la fibrilación ventricular inducida por isquemia aguda en perros portadores de infarto de miocardio cicatrizado.

Otros autores demostraron, en perros normales y en perros hechos diabéticos sometidos a entrenamiento, un aumento en el umbral fibrilatorio (Bakth et al., 1986).

En otros estudios sobre pacientes con una historia previa de infarto de miocardio, y que siguieron un programa de rehabilitación con ejercicio físico, se encontraron reducciones significativas en la incidencia de muerte súbita (Berlin & Colditz, 1990).

Otros investigadores hallaron una mayor dificultad para producir fibrilación ventricular inducida por la isquemia en perros que habían seguido protocolos de ejercicio físico, en contraste con los animales control (Hull et al., 1994). Asimismo, las investigaciones anteriores también mostraron un aumento del umbral fibrilatorio cuando la fibrilación ventricular se quiso inducir eléctricamente en los animales que habían realizado ejercicio físico diariamente.

Así, Bartels et al. (1997) encontraron que la incidencia de muerte súbita de origen cardíaco era mayor en individuos con menor nivel de actividad física regular, que en aquellos sujetos en los que el nivel de actividad física regular era mayor. Otras observaciones demuestran una menor incidencia de muerte súbita en pacientes con un buen nivel de "forma" física (Ekelund et al., 1988), o que tenían un gasto energético alto por las características de su trabajo físico. Paffenbarger y Hale (1975) y Hertzeanu et al. (1993) encontraron, en

pacientes que habían sufrido un infarto de miocardio y que presentaban fracciones de eyección bajas, una reducción en la severidad y en la frecuencia de las arritmias, tras ser sometidos a un programa de ejercicio físico crónico.

Existen investigaciones que han demostrado que el ejercicio físico parece proteger frente a la muerte súbita de origen cardiaco (para revisión ver referencia de Billman, 2002).

#### **1.1.2.2.3. Estado actual acerca del conocimiento de los mecanismos básicos sobre los que se asientan los efectos protectores del ejercicio físico.**

La razón por la cual el ejercicio físico ha ejercido efectos protectores sobre la aparición de arritmias parece asentarse, en opinión de muchos autores, en el hecho de que el entrenamiento puede modificar el equilibrio existente entre los componentes simpático y parasimpático del sistema nervioso vegetativo (Blomqvist & Saltin, 1983), produciéndose un incremento de la actividad parasimpática, como clásicamente amplias evidencias han venido a demostrarlo (para revisión ver Blomqvist & Saltin, 1983 y Scheuer & Tipton, 1997), lo que se manifiesta por una depresión del automatismo sinusal y, por tanto, de la frecuencia cardiaca.

No obstante, interpretar los mecanismos por los que se le atribuye al ejercicio físico un papel protector frente a las arritmias a través de su acción sobre el tono vagal es, a nuestro entender, algo complejo a la vista de las controversias existentes sobre la inervación y el control colinérgico del miocardio ventricular y que también ha sido comentada en líneas anteriores. Efectivamente, mientras que para algunos autores (Morady et al., 1988), el aumento de la actividad parasimpática parece aumentar la refractariedad ventricular (lo que se interpreta como un mecanismo protector frente a cierto tipo de arritmias ventriculares), para otros autores (Farges et al., 1977), el aumento de la actividad colinérgica no ejerce ningún efecto sobre la refractariedad ventricular, o solamente la modifica bajo ciertas condiciones, o quizás, como ocurre para los estudios que se han realizado sobre el potencial de acción, podría depender de la especie estudiada. Efectivamente, en el caso del perro, la acetilcolina no modifica el potencial de acción en opinión de unos autores, lo acorta en opinión de otros, mientras que en el caso de la oveja, la acetilcolina prolonga el potencial de acción (para revisión ver Rardon & Bayley, 1983).

Existen otros factores que están implicados en el efecto protector del ejercicio físico. Está bien establecido que el ejercicio físico habitual mejora los factores de riesgo cardiovasculares, tales como la obesidad (Wood et al., 1991), la diabetes mellitus tipo 2 y la hipertensión arterial (Kokkinos et al., 1995). Esta última es el mayor

factor de riesgo de enfermedad cardiovascular. Se ha demostrado una reducción significativa en la presión arterial diastólica y una regresión de la hipertrofia ventricular en un estudio realizado en varones tras realizar ejercicio aeróbico intenso (Kokkinos et al., 1995). Algunos de los efectos protectores del ejercicio físico son aumentar la perfusión miocárdica, incrementar la actividad de la enzima fibrinolítica y alterar el perfil lipídico (Wood et al., 1991), mediante el aumento de las lipoproteínas de alta densidad y la disminución de las lipoproteínas de baja densidad. En los últimos años se habla del conjunto de factores de riesgo cardiovascular englobados en el llamado *Síndrome X* o *Síndrome metabólico*, caracterizado por hipertensión arterial, resistencia a insulina/diabetes, hiperinsulinismo, obesidad de distribución central y dislipemia. En la revisión realizada por Carroll y Dudfield (2004) se puede comprobar la influencia del ejercicio en la mejora de la resistencia a la insulina y en la tolerancia a la glucosa en obesos, retrasando así el *debut* de la diabetes mellitus. Por todas las anteriores consideraciones, es el ejercicio físico un pilar básico en el tratamiento del *Síndrome metabólico*.

#### **1.1.2.2.4. Modificaciones electrofisiológicas intrínsecas por el entrenamiento. Estudio especial de la refractariedad.**

Como hemos comenzado a comentar en líneas anteriores, en recientes trabajos de investigación realizados por nuestro grupo de trabajo se estudió el efecto de un protocolo de entrenamiento mediante ejercicio físico en conejos, igual al usado para la realización de la presente tesis doctoral. En estos trabajos de investigación han sido analizados los efectos del entrenamiento sobre la refractariedad auricular, ventricular y del sistema de conducción auriculoventricular, así como sobre la velocidad de conducción miocárdica ventricular y la longitud de onda del proceso de activación miocárdica ventricular (producto: período refractario efectivo ventricular x velocidad de conducción).

Dichas investigaciones parecen poner de manifiesto que el entrenamiento produce modificaciones de carácter intrínseco de algunos de los parámetros que acabamos de mencionar. Así, el período refractario efectivo auricular aumentó significativamente usando diferentes longitudes de tren base de estimulación. Aunque con algunas longitudes de tren base de estimulación no se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas, en general, los valores de los períodos refractarios fueron mayores en los animales entrenados que en los controles (López et al., 2005a). Estos efectos



contrastan con los producidos *in vivo* como consecuencia del entrenamiento. Nos referimos al hecho de que el entrenamiento aumenta el tono vagal (para revisión ver Blomqvist & Saltin, 1983), de que la acetilcolina acorta el período refractario efectivo auricular (Farges et al., 1977) y, por tanto, ello supone un efecto opuesto al observado por nosotros en corazón aislado. Es decir, que por una parte se desarrolla un mecanismo dependiente del corazón sometido a control neuro-humoral claramente pro-arrítmico y, parece ser, que también se desarrolla otro de tipo intrínseco con efecto antiarrítmico.

Previamente a los estudios anteriormente mencionados, nuestro grupo de trabajo ya había hallado, aunque de una manera poco concluyente, efectos del entrenamiento sobre la refractariedad ventricular asentados sobre mecanismos de carácter intrínseco (Such et al., 2002 y 2003). El aumento del período refractario efectivo y funcional ventricular se pudo evidenciar mediante la aplicación del test del extraestímulo, pero no con todas las longitudes de tren base de estimulación; no obstante, aumentó de un modo claro y significativo usando trenes de longitud del ciclo relacionados con la longitud del ciclo sinusal básico (López et al., 2005b). Incluso usando otros trenes de estimulación, si bien no hubo modificaciones estadísticamente significativas de la refractariedad, sí hubo una tendencia al aumento de dicho parámetro.

Natali et al. (2002) hallaron, en ratas entrenadas con un sistema que les permitía realizar ejercicio físico a voluntad, una prolongación de la duración del potencial de acción de los cardiomiocitos epicárdicos ventriculares de los animales entrenados, en comparación con los controles.

Stein et al. (2002), en un estudio realizado en humanos acerca de las adaptaciones electrofisiológicas del nodo auriculoventricular y del nodo sinusal al ejercicio físico encontraron que, los atletas sometidos a bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo, también presentaron una modificación de la refractariedad intrínseca en el sistema de conducción auriculoventricular respecto a los sujetos control, también sometidos a bloqueo del sistema nervioso autónomo. Efectivamente, el período refractario efectivo del nodo auriculoventricular era mayor en los atletas en situación basal.

### **1.1.2.3. Consideraciones sobre los criterios para el análisis de la fibrilación ventricular. Estudios en el dominio de la frecuencia.**

Como se ha apuntado en el apartado de Objetivos, hemos pretendido realizar el estudio de algunas características de la fibrilación ventricular inducida mediante estimulación a frecuencias crecientes (en el corazón normalmente oxigenado), y mediante la aplicación de extraestímulos (en el corazón sometido a isquemia regional). El análisis de las características de la fibrilación ventricular cobra un especial interés cuando alguna de dichas características se puede relacionar con algunos aspectos ligados a la facilidad para la aparición de dicha arritmia, y a la perpetuación de la misma en diferentes circunstancias.

Según se desprende de investigaciones previas, existe una relación entre alguna de las características de la fibrilación ventricular y la mejor o peor situación en la que quedaría el corazón tras la desaparición de la misma, en aquellos casos en los que se instaura dicha arritmia de un modo súbito. Expondremos brevemente a continuación las observaciones realizadas por diferentes autores que correlacionan algunas características de la fibrilación ventricular con la mayor o menor malignidad de la misma.

Así, Strohmenher et al. (1997) realizaron una investigación con el propósito de analizar, si en pacientes con fibrilación ventricular extrahospitalaria la frecuencia de esta arritmia y la amplitud de la misma eran predictivas de cardioversión exitosa, y hallaron que el mayor voltaje de la fibrilación ventricular se correlacionó con unas mejores posibilidades de cardioversión; mientras que la fibrilación “fina” fue más rebelde al tratamiento. Asimismo, se correlacionó bien con el éxito de la cardioversión la frecuencia dominante de la fibrilación, hallada mediante la aplicación de la transformada rápida de Fourier. Es decir, las posibilidades de éxito se vieron con valores de frecuencia dominante más altos, que aquellos obtenidos en la fibrilación cuyo tratamiento no fue exitoso. Otro parámetro también analizado fue la frecuencia mediana con la cual se obtuvo una buena correlación con el buen resultado de la desfibrilación. Para estos autores, la isquemia progresiva debida a parada cardiaca resulta en una depleción de fosfágenos (Neumar et al., 1990) y un deterioro de la excitabilidad celular (Zipes, 1975), así como una sobrecarga celular de calcio (Clusin et al., 1984), lo cual declina la frecuencia de la fibrilación ventricular e incrementa la probabilidad de disociación electromecánica que sigue a la desfibrilación (Martin et al., 1986, Hillsley et al., 1994).

Marn-Pernat et al. (2001) trataron también de encontrar un índice pronóstico para predecir el éxito en la aplicación de choques eléctricos, con la finalidad de restaurar el ritmo del corazón al que

tiene con la normal perfusión; estos autores validaron un algoritmo para predecir la probabilidad de que un choque eléctrico pudiera restaurar un ritmo de perfusión en el modelo experimental usado por los mismos, y midieron el área bajo la curva correspondiente al trazado fibrilatorio a partir de la amplitud y de la frecuencia obtenidos a partir del análisis espectral de la señal, obteniendo así el índice AMSA (*amplitude spectrum area*) =  $SA_i \times F_i$ , donde  $A_i$  es la amplitud de la frecuencia (F) i-ésima. No solamente hubo una buena correlación entre este índice y el buen resultado de la desfibrilación, en el sentido de que AMSA permitió orientar hacia el tiempo óptimo de la desfibrilación, sino que también encontraron una buena correlación con otros parámetros predictivos, como fueron la frecuencia mediana y la amplitud media de la fibrilación, siendo estos dos últimos menos discriminativos para la predicción de choques con éxito y sin éxito.

Como es sabido, la FV es una arritmia letal cuya aparición implica la pérdida de la contracción efectiva del corazón, la anulación del gasto cardíaco y la muerte súbita del paciente (Rodríguez & Viñolas, 1999; Sanjuán et al., 1994; Aguinaga et al., 1998; Madrid et al., 1996). Los avances en el conocimiento de los mecanismos básicos que determinan su inicio, su perpetuación o su cese son necesarios para intentar progresar en la prevención de la FV, o en los procedimientos encaminados a interrumpirla eficazmente.

El análisis de la activación ventricular durante la FV es complejo, debido a las características de la arritmia y a las limitaciones de las técnicas utilizadas para su estudio, que ha sido abordado utilizando métodos y técnicas diversas (Moe, 1962; Abildskov, 1994; Allessie et al., 1996; Carlisle et al., 1990; Stewart et al., 1996; Chorro et al., 1996; Chorro et al., 1998; Lee et al., 1996; Cha et al., 1994; Rogers et al., 1999; Gray et al., 1995; Kwan et al., 1998; Gray et al., 1998; Chorro et al., 2000), entre los que se encuentran el análisis de las características del ECG, registros endocárdicos intracelulares o de los potenciales de acción monofásicos, el análisis de las características espectrales de las señales fibrilatorias, los estudios basados en técnicas cartográficas y la utilización de simulaciones mediante ordenador.

La cartografía epicárdica de la activación ventricular empleando electrodos múltiples con los que se registran potenciales extracelulares (Lee et al., 1996; Cha et al., 1994; Rogers et al., 1999; Dillon et al., 1988; Brugada et al., 1990), o sistemas ópticos basados en la utilización de marcadores sensibles a los cambios de voltaje, y en los que las variaciones en la fluorescencia de la señal indican los cambios del potencial transmembrana de grupos de células próximas entre sí (Davidenko et al., 1992; Pertsov et al., 1993; Cabo et al., 1994; Witkowski et al., 1998; Gray 1999; Efimov et al., 1999; Zhou & Ideker, 1995), han aportado información sobre las características de la activación miocárdica durante las arritmias ventriculares, y han

supuesto el soporte metodológico de diversos trabajos sobre la FV, en los que se han objetivado los patrones de activación y la existencia de activación re-entrante, tanto en el inicio de la arritmia, como durante la evolución de la misma (Lee et al., 1996; Cha et al., 1994; Rogers et al., 1999; Kwan et al., 1998, Chorro et al., 2000, Witkowski et al., 1998, Weiss et al., 1999), siendo más limitada la información disponible sobre su cese mediante procedimientos distintos a la desfibrilación eléctrica (Cha et al., 1994).

Los métodos basados en el análisis del dominio de la frecuencia, tales como los análisis de la potencia espectral y del espectro de coherencia, examinan la distribución de la energía de los electrogramas como una función de la frecuencia (Ropella, 2001). Para el análisis espectral puede ser usado un método matemático, como es el de la transformación rápida de Fourier; el análisis de Fourier es un método no paramétrico que descompone las señales en una suma de componentes sinusoidales.

La utilización de técnicas situadas en el dominio de la frecuencia ha ampliado la capacidad de análisis de las ondas fibrilatorias obtenidas con el ECG de superficie, o mediante electrodos epi o endocárdicos. En el espectro de frecuencias los componentes principales de las señales fibrilatorias se agrupan en bandas alrededor de valores definidos, que se pueden identificar con facilidad y permiten caracterizar mejor las fases evolutivas de la arritmia. Como

ha sido comentado en líneas anteriores, la información proporcionada por las técnicas espectrales y la obtenida mediante la determinación de parámetros en el dominio del tiempo, como la mediana de los intervalos V-V durante la fibrilación ventricular, son instrumentos útiles para caracterizar las acciones de diversas situaciones, como la que es objeto del presente trabajo.

Varias son las características del poder espectral que han sido analizadas en la fibrilación ventricular, con el fin de establecer su carácter predictivo en relación con las consecuencias de la misma tras la desfibrilación. Así, como relatan Gazmuri et al. (2001) en una revisión al respecto, han sido analizadas: 1) la frecuencia mediana, que es la frecuencia que bisecciona el espectro de potencia (Strohmenger et al., 1997) (Brown et al., 1991, citados por Gazmuri et al., 2001); 2) la frecuencia límite, que es la frecuencia por debajo de la cual reside el 95% del área del espectro de potencia (Strohmenger et al., 1997, citado por Gazmuri et al., 2001); 3) el llamado índice AMSA (amplitud del área del espectro), que se obtiene integrando el área bajo la amplitud del espectro de frecuencia dentro de un ancho de banda que elimina ciertos artefactos, como es el caso del ruido ambiental (Marn-Pernat et al., 2001); 4) la frecuencia dominante, que corresponde al máximo espectro de potencia (Strohmenger et al., 1997, citado por Gazmuri et al., 2001). En el presente trabajo se pretende usar este último parámetro para la valoración de la fibrilación ventricular.



Otras técnicas de estudio de la fibrilación ventricular han sido las basadas en el análisis de las características del electrocardiograma. Así, Moe et al. (1941) analizaron la variación en la amplitud de las ondas del ECG, caracterizando así la evolución del patrón fibrilatorio desde su inicio. Sobre estos criterios se ha distinguido la fibrilación “fina” de la “grosera”, con el fin de establecer situaciones diferentes en la evolución de la fibrilación ventricular, conceptos éstos (los de “fina” y “grosera”) cuya utilidad ha sido objeto de polémica. Jones y Klein (1984) describieron la coexistencia de ambas morfologías al inicio de la fibrilación ventricular, mientras que a los 15 minutos predominaba un patrón de fibrilación “fina”. Esto estaría relacionado con la degeneración de la excitabilidad celular inducida metabólicamente. Para otros autores (Weaver et al., 1985), la amplitud de la fibrilación se relaciona estrechamente con el éxito tras la cardioversión, así una fibrilación “fina” indicaría una demora en el inicio del tratamiento.

También han sido utilizados métodos de estudio que se han basado en el análisis de los potenciales de acción monofásicos, y/o incluso en el del registro intracelular de potenciales de acción mediante el uso de microelectrodos. Estos últimos métodos han sido de gran utilidad para aportar información adicional sobre la fibrilación ventricular, la cual origina modificaciones en el potencial de acción,

como la disminución del tiempo de repolarización (Swartz et al., 1993).

Otros estudios se han basado en técnicas cartográficas que permiten la obtención de información, tanto espacial como temporal, sobre la activación miocárdica durante las arritmias ventriculares. Mediante este método se identifican los momentos de activación en diferentes lugares explorados, pudiéndose construir líneas isócronas; también se pueden construir mapas isopotenciales, esto es, que muestran las zonas con idéntica amplitud de los voltajes en un momento determinado y, por tanto, las variaciones de los mismos a lo largo del tiempo. Estos procedimientos suponen el registro de electrogramas obtenidos con electrodos múltiples epicárdicos, endocárdicos y/o intramiocárdicos, habiendo sido usados por múltiples autores como son Ideker et al. (1977), Rogers et al. (1999), Dillon et al. (1988), Brugada et al. (1990), Rankovic et al. (1999), autores estos citados por Cánoves (2001).

Se ha observado también que, si no se interrumpe la perfusión coronaria, se mantienen tanto la frecuencia dominante del espectro (Chorro et al., 1988, Martín et al., 1984 y 1986), como la capacidad de obtener una desfibrilación efectiva sin disociación electromecánica (Martín et al., 1984 y 1986). En modelos de corazón aislado, en los que se mantiene la perfusión coronaria, se ha comprobado que el espectro de frecuencias de las señales fibrilatorias permanece estable

durante períodos de 5 minutos (Chorro et al., 1998). Lo mismo sucede en modelos caninos *in situ* (Martín et al., 1986), en los que la perfusión coronaria se mantiene con circulación extracorpórea.

Por otra parte, la utilización de modelos experimentales en los que se mantiene la perfusión coronaria durante la fibrilación ventricular permite mantener un estado metabólico adecuado durante el desarrollo de la arritmia, y excluir esta variable a la hora de analizar, tanto las características del patrón fibrilatorio, como los efectos de diversos fármacos o maniobras sobre el mismo (Dorian & Newman, 1997, Chorro et al., 1998, Eggenreich et al., 1996, Burton & Cobbe, 1998).

En la presente tesis doctoral se plantea, como uno de los objetivos, analizar la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular en corazones, tanto en situación de perfusión coronaria normal, como tras isquemia miocárdica regional. En el primer caso, el análisis de la frecuencia dominante constituye una característica electrofisiológica más que se relaciona estrechamente con otras, como son la refractariedad y la longitud de onda del proceso de activación y, en el segundo caso, como acabamos de ver, es un parámetro útil como característica propia de la fibrilación ventricular, que se puede relacionar con el grado de deterioro miocárdico y con la mayor o menor probabilidad de éxito tras la cardioversión.

### **1.1.3. Resumen de la justificación de los objetivos (hipótesis de trabajo).**

Independientemente del posible efecto del ejercicio físico a través de su acción sobre el sistema nervioso parasimpático que, como acabamos de ver es objeto de debate, nuestro planteamiento es, si además de modificar el equilibrio existente entre los componentes simpático y parasimpático del sistema nervioso vegetativo, el ejercicio físico puede modificar directamente alguna de las características electrofisiológicas intrínsecas directamente relacionadas con la producción de arritmias por re-entrada, como la fibrilación ventricular, y si dicha modificación se manifiesta asimismo tras la oclusión arterial coronaria. Recientemente hemos realizado unas investigaciones cuyos primeros resultados han sido ya publicados (Such et al., 2002), y que gracias a una ayuda otorgada por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (BF12002-02077) hemos podido continuar, en los que se demuestra que el ejercicio físico crónico incrementa, en el corazón aislado y por tanto no sometido a influencias nerviosas y/o humorales, la refractariedad ventricular intrínseca y la longitud de onda del proceso de activación miocárdica. Como es sabido, los parámetros anteriormente citados se hallan en relación inversa con las arritmias re-entrantes, de tal manera que el

incremento de cualquiera de los dos (sin decremento del otro) constituiría una protección frente a las arritmias citadas.

La presente investigación se plantea sobre la base de que el ejercicio podría modificar la respuesta electrofisiológica a la oclusión arterial coronaria, como así ha ocurrido en el corazón aislado y normalmente perfundido. En el caso de que se produjeran resultados similares en el período de isquemia coronaria, cabría esperar un efecto beneficioso sobre el miocardio, lo que tal vez disminuiría algo que también es objeto de la presente tesis, y que es la mayor o menor facilidad para inducir la fibrilación ventricular mediante la aplicación de extraestímulos. De hecho, en un trabajo experimental recientemente efectuado por nosotros, se demuestra una menor facilidad para inducir la fibrilación ventricular mediante la aplicación de extraestímulos, en aquellos corazones a los que se les administró un fármaco que mantuvo la refractariedad ventricular tras la oclusión coronaria en valores más cercanos a los previos a la ligadura, a diferencia de los no tratados en los que disminuyó claramente el período refractario y disminuyó significativamente la refractariedad ventricular (Such et al., 2004).

Dadas pues las anteriores consideraciones, de las que queremos destacar la existencia de efectos colaterales de muchos de los fármacos antiarrítmicos, así como la protección solamente parcial exhibida por incluso los fármacos más eficaces, tal y como señala

Billman en una reciente revisión al respecto (Billman, 2002), deben ser investigadas intervenciones no farmacológicas, como es el ejercicio físico aeróbico, con el fin de establecer su posible papel como opción terapéutica.

Así pues, el trabajo que se pretende realizar a la vista de los anteriores resultados y observaciones, es investigar los efectos del ejercicio físico crónico sobre los parámetros electrofisiológicos intrínsecos ligados a la presentación de taquiarritmias ventriculares, que suelen producir muerte súbita, y sobre las modificaciones que la oclusión arterial coronaria aguda produce en los parámetros electrofisiológicos intrínsecos anteriormente mencionados. Asimismo, se pretende investigar el efecto del entrenamiento sobre la inducibilidad de la fibrilación ventricular antes y después de la oclusión coronaria, mediante la aplicación de extraestímulos, y sobre el patrón de la fibrilación ventricular, alguna de cuyas características se hallan relacionadas con el deterioro metabólico del miocardio isquémico, con el éxito de la resucitación y el buen pronóstico de la misma, tras un episodio de fibrilación ventricular (Strohmenher et al., 1997).

Otro objetivo que queremos abordar es el análisis de alguna de las características intrínsecas de la fibrilación ventricular inducida en condiciones de normal perfusión coronaria, como las frecuencias dominantes media, máxima y mínima y el coeficiente de variación de

la frecuencia dominante, así como las modificaciones de las mismas durante la oclusión arterial coronaria, y cómo la realización regular de ejercicio físico modifica las características de la fibrilación en las situaciones mencionadas. La frecuencia dominante de la fibrilación ventricular, inducida por estimulación a frecuencias crecientes en el corazón aislado normalmente nutrido es muy útil, ya que se trata de una característica de la arritmia muy valiosa, pues se halla estrechamente relacionada con la refractariedad ventricular, con la longitud de onda del proceso de activación, con la frecuencia de la fibrilación y con la autolimitación de la arritmia en las condiciones experimentales de normal perfusión (normoxia) a las que acabamos de aludir. El análisis del coeficiente de variación de la frecuencia dominante, obtenido en múltiples puntos del miocardio ventricular, representa una herramienta para analizar el grado de heterogeneidad electrofisiológica producida por la oclusión arterial coronaria, y sus modificaciones por la realización de ejercicio físico crónico.

## 1.2. Plan de trabajo.

Para cumplimentar los objetivos planteados, realizaremos el siguiente plan de trabajo:

- a) Entrenaremos a un grupo de conejos en tapiz rodante, siguiendo un protocolo determinado.
- b) Mantendremos estabulados, sin realizar ejercicio, a otro grupo de conejos, el mismo tiempo que dura el período de entrenamiento en el grupo de animales entrenados.
- c) Tras el período de entrenamiento y/o estabulación, procederemos a aislar los corazones de ambos grupos de conejos.
- d) Realizaremos el estudio de los siguientes parámetros electrofisiológicos, previamente a la oclusión arterial coronaria, y tras la oclusión: períodos refractarios efectivo y funcional ventricular, inducibilidad de la fibrilación ventricular mediante la aplicación del test del extraestímulo con uno, dos y tres extraestímulos acoplados, frecuencia dominante media, máxima y mínima, y coeficiente de variación de la frecuencia



dominante de la fibrilación ventricular, producida por estimulación ventricular a frecuencias crecientes. Otros parámetros estudiados han sido: la velocidad de conducción miocárdica ventricular y la longitud de onda del proceso de activación eléctrica miocárdica ventricular, antes de la oclusión coronaria y tras la oclusión coronaria.

e) Finalmente, procederemos a comparar entre ambos grupos (control y entrenado) los resultados obtenidos, aplicando los tests estadísticos correspondientes, y extraeremos las correspondientes conclusiones.

# *Capítulo 2*

---

## **Material y métodos**

## **2. Material y métodos.**

### **2.1. Material.**

#### **2.1.1. Animales de experimentación.**

El estudio se realizó en corazones aislados de conejos machos de  $2.5 \pm 0.4$  Kg de peso medio, previo al inicio del protocolo de entrenamiento y/o estabulación, de la raza Nueva Zelanda, alimentados *ad libitum*.

#### **2.1.2. Reactivos.**

- $\text{CaCl}_2$  (Panreac<sup>®</sup> Química S.A.).
- $\text{MgCl}_2$  (Panreac<sup>®</sup> Química S.A.).
- ClK (Panreac<sup>®</sup> Química S.A.).
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Panreac<sup>®</sup> Química S.A.).
- Glucosa (Panreac<sup>®</sup> Química S.A.).
- $\text{NaHCO}_3$  (Panreac<sup>®</sup> Química S.A.).
- NaCl (Panreac<sup>®</sup> Química S.A.).
- Ketamina (Ketolar<sup>®</sup> Parke-Davis).
- Heparina sódica al 5% (Rovi<sup>®</sup>).

### 2.1.3. Aparatos.

- a) Balanza Precisa (Precisa Balances<sup>®</sup>) y balanza Soehnle<sup>®</sup>.
- b) Tapiz rodante (treadmill) Panlab<sup>®</sup> S.L. (*Figura 2.1*).



*Figura 2.1* Tapiz rodante.

- c) Sistemas de estimulación:
  - Electrodo**s** bipolares de estimulación (de acero inoxidable, diámetro = 0.125 mm, distancia interelectrodo = 1 mm).
  - Estimulador Grass<sup>®</sup> S88 (Grass Instruments, Inc., Quincy, MA, U.S.A.), provisto de una unidad de aislamiento de estímulo (SIU5), que permite emitir pulsos rectangulares de corriente con una duración de 2 ms, en el que

podemos controlar voltaje/intensidad del estímulo y tiempo de duración del estímulo (*Figura 2.2*).



*Figura 2.2* Estimulador GRASS®.

- Sistema computarizado conectado al estimulador para estimulación programada.

d) Sistemas de registro:

- Electrodo bipolar con diámetro de 0.5 mm y una separación inter-electrodo de 1 mm, para el registro del auriculograma.
- Electrodo múltiple para registro de los electrogramas ventriculares, compuesto de 256 electrodos unipolares de acero inoxidable, de un diámetro 0.125 mm, y una distancia interelectrodo de 1 mm (*Figura 2.3*).



*Figura 2.3* Electrodo múltiple de registro.

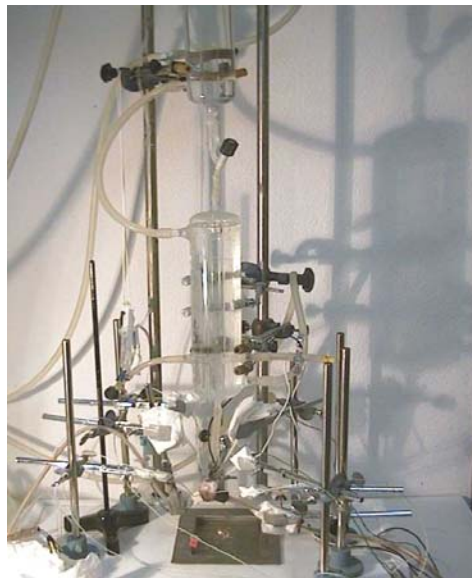
- Sistema de cartografía de actividad eléctrica cardiaca (MAPTECH<sup>®</sup>, Waalre, Holanda), que fue utilizado para la obtención de los registros electrocardiográficos (*Figura 2.4*).



*Figura 2.4* Sistema de cartografía MAPTECH<sup>®</sup>.

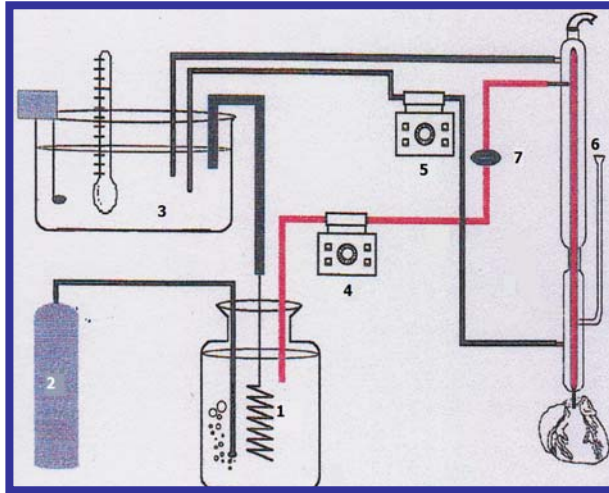
e) Sistemas de perfusión del corazón:

- Sistema de soporte metabólico tipo Langendorff (*Figura 2.6*).



*Fig 2.6* Sistema de perfusión Langendorff.

- Bomba peristáltica (Cole- Parmer<sup>®</sup> Instrument co.).
- Bomba circulante de termostatación (Neslab<sup>®</sup> Instruments, inc) (*Figura 2.7*).



*Figura 2.7* Esquema de una preparación de corazón aislado de conejo, en la que se indica la ubicación del líquido nutritivo (Tyrode) en un recipiente (1) conectado a un depósito de carbógeno (2), con baño para termostatar el líquido nutritivo (3), y bombas de perfusión (4 y 5), sistema de registro de la presión de perfusión (6), filtros (7), conducción de Tyrode (en rojo), y del líquido termostatizante (en líneas negras gruesas). (Tomado de Llavador E. Tesis doctoral, 2001).



## **2.2. Métodos.**

### **2.2.1. Protocolo de entrenamiento.**

Los conejos fueron entrenados en cinta rodante durante 6 semanas (5 días por semana). Cada día se realizaba 1 sesión compuesta por 6 períodos. El protocolo de entrenamiento se completó con 30 sesiones. En cada sesión, correspondiente al grupo entrenado, el animal corrió a  $0.33 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ , durante cada uno de los seis períodos que la componen, y cada período (con una duración de 4 minutos cada uno) se separó del anterior por un minuto de reposo. Previamente a la iniciación de las sesiones de entrenamiento, los conejos fueron sometidos a un período previo de 4 a 5 sesiones (semana de familiarización).

La correcta realización del ejercicio sobre la cinta rodante fue constantemente supervisada por dos colaboradores, cada uno de los cuales se encargó del entrenamiento de un conejo. Los conejos, que una vez iniciado el período de entrenamiento no corrieron adecuadamente durante cinco sesiones consecutivas, fueron excluidos del presente estudio. Se entrenó a 2 conejos simultáneamente durante el tiempo citado, al final del cual se les sacrificó para realizar el estudio electrofisiológico.

Los conejos no entrenados (grupo control) permanecieron en las respectivas jaulas durante el mismo tiempo total del entrenamiento, esto es seis semanas, más la semana que entraña la familiarización de los conejos entrenados con la cinta, esto es un total de siete semanas.

### **2.2.2. Preparación experimental y perfusión.**

Tras la heparinización con 0.2 ml de heparina Rovi<sup>®</sup> al 5%, y anestesia intravenosa de los conejos con 25 mg/kg de ketamina Ketolar<sup>®</sup> a través de la vena marginal de la oreja, estos se sacrificaron mediante dislocación cervical. Después de una toracotomía mediosternal y una pericardiotomía, se extrajo el corazón rápidamente, seccionándolo por su pedículo vascular, y se sumergió en una solución de Tyrode fría (8° C), para posterior preparación.

Después de seccionar la arteria pulmonar y posteriormente diseccionar y seccionar también la arteria aorta ascendente, se conectó a un sistema de Langendorff, mediante hilo de seda de 1-2 mm de diámetro, perfundiéndolo retrógradamente al corazón con la solución de Tyrode a  $37 \pm 5^{\circ}\text{C}$ , y que contiene en concentraciones (mM): NaCl 130, KCl 4.7,  $\text{CaCl}_2$  2.2,  $\text{MgCl}_2$  0.6,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.2,  $\text{NaHCO}_3$  24.2 y glucosa 12. El pH se mantuvo a 7.4 por equilibrio. La oxigenación del

mismo se efectuó con una mezcla del 95% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub> (carbógeno). La presión de perfusión inicial se fijó en 60 mm Hg (*Figura 2.6*).

Una vez ubicado el corazón en el sistema, se eliminaron los restos de los demás tejidos (pulmón, tráquea etc.) y, mediante una pequeña sección en la aurícula izquierda, se procedió al corte de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral, con el fin de hacerla insuficiente y permitir el escape, en su caso, del líquido por la aurícula izquierda, evitando así posibles acumulaciones de Tyrode en el ventrículo izquierdo, en el caso de que la válvula aórtica mostrara cierta incompetencia.

Mediante el sistema de perfusión de Langendorff llegan al corazón aislado el oxígeno y los metabolitos necesarios, a través de la aorta ascendente. Se trata de una perfusión retrógrada hacia las arterias coronarias durante la diástole. El líquido de perfusión, antes de llegar a la aorta, es impulsado desde un depósito exterior (donde se oxigena) hasta la parte más elevada por medio de una bomba peristáltica, previo paso por un filtro y un depósito de calentamiento. La presión de perfusión puede controlarse manualmente a través de un manómetro integrado al sistema (*Figura 2.6*).

### **2.2.3. Electrodo: ubicación y características.**

Se situó un electrodo bipolar sobre la aurícula derecha, para registro electrocardiográfico auricular. De igual modo, otros dos electrodos bipolares se ubicaron en el ventrículo izquierdo, uno para estimulación y otro para el registro de los electrogramas ventriculares. El electrodo se ubicó sobre el ventrículo izquierdo, y consistió en una placa (electrodo múltiple) con 256 electrodos unipolares, ubicando el electrodo indiferente sobre la arteria aorta. Las señales correspondientes a los electrogramas se adquirieron y digitalizaron mediante un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca de 256 canales (ganancia 50-300, ancho de banda 1-400 Hz, y frecuencia de muestreo por canal de 1 KHz, resolución 12 Bits), almacenándose en soporte magnético para su posterior análisis. Los electrodos de estimulación se conectaron a un estimulador Grass® S88 provisto de una unidad de aislamiento de estímulos. Los estímulos fueron rectangulares con una duración de 2 ms e intensidad doble del umbral diastólico. Los registros ventriculares para el análisis de la fibrilación ventricular se obtuvieron con un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca (MAPTECH®) (*Figura 2.8*).

#### **2.2.4. Software.**

En la fase de adquisición de las señales eléctricas durante los experimentos, y en el posterior procesado y análisis de los datos obtenidos, se utilizó el entorno de trabajo y programación MatLab® y el *software* que se describe a continuación.

- Pacemap®, utilizado para la adquisición y registro de las señales eléctricas y posterior análisis. Este *software* almacena los electrogramas en el disco duro del ordenador, siendo la extracción de los episodios significativos una tarea mucho más sencilla y rápida.

En PaceMap®, debido a una limitación en los cálculos estadísticos, se utilizó una aplicación en MatLab® para poder visualizar los histogramas de los intervalos V-V de la FV y calcular los parámetros estadísticos, a partir de un fichero ASCII de marcas exportadas (*Figura 2.8*). También se utilizó para medir la refractariedad miocárdica y la velocidad de conducción, a partir de los mapas de activación temporal epicárdica.



Figura 2.8 Sistema de adquisición *MapTech*<sup>®</sup>. Caja de amplificadores y digitalización con los conectores de los electrodos (izquierda) y software *PaceMap*<sup>®</sup> de representación y análisis (derecha).

- *MedMap*<sup>®</sup>, desarrollado bajo entorno *MatLab*<sup>®</sup> en 2001 por nuestro grupo de investigación y el laboratorio de fisiología, utilizado fundamentalmente para la comprobación y validación de mapas y espectros de frecuencia de las señales de FV. Mediante ligeras modificaciones y ampliaciones del código fuente de este programa se realizaron algunas correcciones y mejoras. Se le dotó de la capacidad de importar los archivos de señales binarios generados por el nuevo software *PaceMap*<sup>®</sup>, se automatizó el cálculo de las frecuencias dominantes de los espectros y se optimizó el cálculo estadístico por matrices de electrodos.

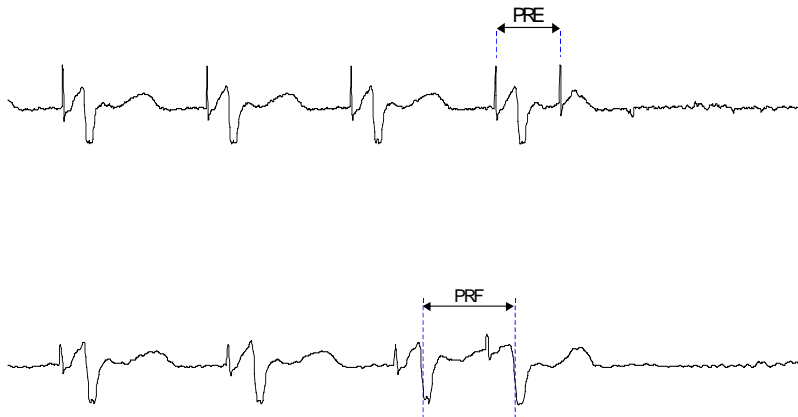
### **2.2.5. Determinación de umbrales de estimulación.**

Antes de comenzar el protocolo electrofisiológico que más tarde describiremos, se midió el umbral de estimulación del corazón con el estimulador Grass<sup>®</sup>. Con una frecuencia de estimulación constante a 4-5 pulsos por segundo y una duración del estímulo, también constante, de 2 milisegundos, se fue disminuyendo progresivamente la intensidad de estimulación hasta alcanzar el umbral. El protocolo se realizó estimulando con una intensidad doble del umbral diastólico.

### **2.2.6. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la refractariedad miocárdica.**

**Refractariedad ventricular:** Se realizó mediante el test del extraestímulo ventricular; es decir, estimulamos al ventrículo mediante trenes de 10 estímulos, seguidos de un extraestímulo. Este extraestímulo se va acercando en intervalos de 10 milisegundos al último estímulo del tren, hasta que, el ventriculograma correspondiente al último estímulo del tren, no va seguido del ventriculograma correspondiente al extraestímulo ( $V_1$  sin  $V_2$ );  $V_1$  es el último electrograma del tren fijo y  $V_2$  el electrograma ventricular correspondiente al extraestímulo. El **período refractario efectivo ventricular (PREV)** es el máximo intervalo de acoplamiento del

extraestímulo ventricular ( $S_1$ - $S_2$ ) sin captura ventricular ( $S_2$  sin  $V_2$ );  $S_1$  es el artefacto del último estímulo del tren y  $S_2$  es el artefacto del extraestímulo. El **período refractario funcional ventricular (PRFV)** es el mínimo intervalo entre el electrograma ventricular producido por el extraestímulo del último tren base ventricular, y el desencadenado con el extraestímulo (mínimo  $V_1$ - $V_2$ ).



*Figura.2.9* Período Refractario Efectivo (PRE) y Funcional (PRF).



### **2.2.7. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la velocidad de conducción y de la longitud de onda.**

La velocidad de conducción fue determinada durante el  $V_1$ - $V_2$  alcanzado con la aplicación del tren anterior al tren cuyo extraestímulo ya no produjo respuesta ventricular, analizando un mapa de activación eléctrica miocárdica por cada caso. Para ello, se construyeron las isócronas del proceso de activación ventricular producido, y se estimó la velocidad de conducción dividiendo una distancia fija (5 mm) por el tiempo entre las activaciones de dos electrodos situados a esta distancia en la dirección de la velocidad máxima de la propagación de la onda de despolarización. Expresa la rapidez con la que se propaga la onda de activación a lo largo del tejido.

$$VC = \frac{d_{ab}}{t_r}$$

La longitud de onda se define como la distancia recorrida por la onda de despolarización durante un tiempo igual a la duración del período refractario. Es el resultado del producto del período refractario

efectivo ventricular por la velocidad de conducción, determinados ambos para el mismo ciclo básico.

$$\lambda_o = PREV \times VC$$

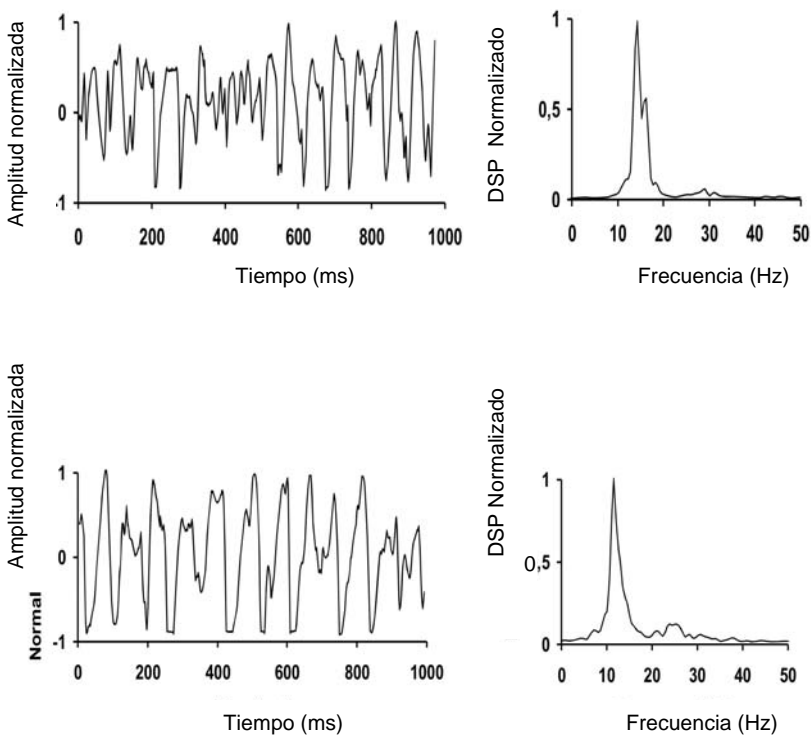
### **2.2.8. Determinación de los parámetros representativos de las características de la fibrilación ventricular (análisis espectral).**

Después de finalizar el protocolo electrofisiológico anteriormente citado, se indujo la fibrilación ventricular mediante estimulación a frecuencias crecientes desde 4 a 20 Hz, manteniendo la perfusión coronaria durante la arritmia. Para la estimulación a frecuencias crecientes se usó una intensidad de estimulación 40% superior al doble del umbral, que es la intensidad usada para el estudio de la refractariedad, y se fue incrementando lentamente la frecuencia, 0.1 Hz cada 3 sg, hasta inducir la FV o perder la captura ventricular. Si no se desencadenaba la arritmia, el procedimiento se repetía las veces necesarias hasta conseguirlo. La FV se define como la arritmia caracterizada por la activación rápida e irregular del miocardio ventricular con intervalos medios entre las activaciones sucesivas en un mismo electrodo inferiores a 100 ms, y en la que el análisis de los mapas de activación epicárdicos demuestra patrones

de activación persistentemente variables durante el desarrollo de la arritmia. Los registros de la FV se obtuvieron con un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardiaca (MAPTECH). Los electrogramas se amplificaron con una ganancia de 50 a 300, se filtraron eliminando las frecuencias situadas fuera de la banda comprendida entre 1 y 400 Hz, y se multiplexaron. La frecuencia de muestreo en cada canal fue de 1 KHz. Los registros obtenidos a lo largo de cada experimento se almacenaron en soporte magnético para su análisis posterior.

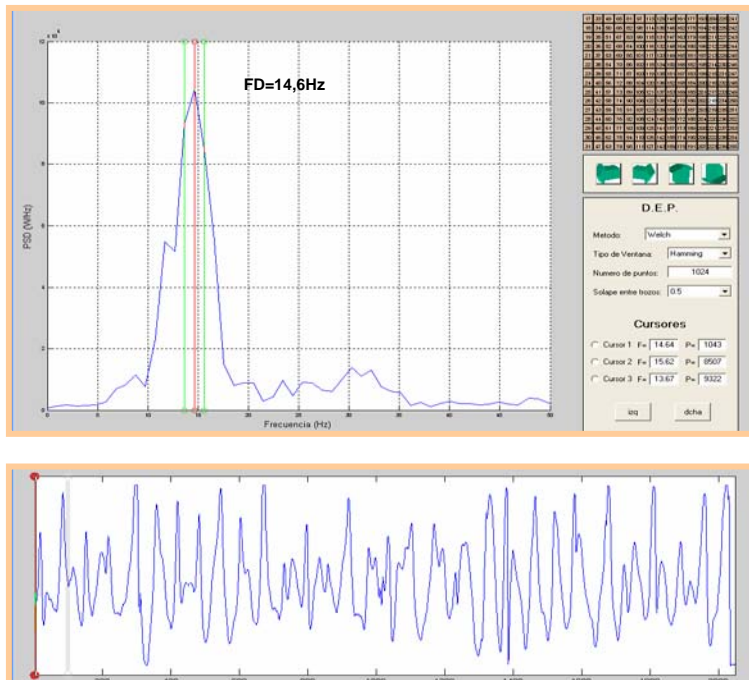
La frecuencia dominante de la señal fibrilatoria se puede definir como la frecuencia a la que la distribución espectral de potencia de la señal presenta el máximo de amplitud (Dominant Frequency o Peak Frequency (Ropella, 2001)). Para el análisis de la frecuencia dominante de la señal fibrilatoria se utilizaron métodos espectrales (método de Welch), con el que se obtuvo el espectro de frecuencias de las señales registradas durante la FV. En los segmentos de cuatro segundos seleccionados previamente (2048 puntos, muestreo a 1 KHz) se determinó la frecuencia dominante del espectro y la energía contenida en el segmento del periodograma correspondiente a la frecuencia dominante  $\pm 1$  Hz. También se calcularon los valores de frecuencia dominante mínima y máxima en cada zona. El proceso de datos se efectuó utilizando programación Matlab en una plataforma Hewlett-Packard 712/80. Como acabamos de mencionar, para obtener la potencia espectral de las señales fibrilatorias se usó el

método de Welch. En la *Figura 2.10* podemos ver representado un fragmento de la fibrilación ventricular junto con el espectro de frecuencias que la componen.



*Figura 2.10* Densidad espectral de potencia (derecha) y registros de FV obtenidos (izquierda) durante 1 sg, 5 minutos después de iniciado el proceso fibrilatorio, y con el electrodo múltiple epicárdico ubicado en el miocardio ventricular, en una situación control (arriba) y en un corazón entrenado (abajo). Las frecuencias dominantes fueron 14.8 y 11.9 Hz respectivamente.

Por tanto, para el análisis espectral se usó un método matemático no paramétrico, que descompone las señales en una suma de componentes sinusoidales, como es el de la transformación rápida de Fourier, con una ventana de Hamming (*Figura 2.11*), calculando el espectro cada cuatro segundos y con una frecuencia de muestreo de 1 KHz.



*Figura 2.11* Registro de la señal fibrilatoria en uno de los electrodos y su análisis, aplicando la transformada de Fourier.

### **2.2.9. Protocolo experimental.**

Tras ubicar el corazón en el sistema de Langendorff y realizar un estudio electrofisiológico previo sobre refractariedad miocárdica, no incluido en la presente tesis, y tras situar los electrodos correspondientes, tal y conforme hemos descrito más arriba, y pasado un tiempo de estabilización de la preparación de 20 minutos, se procedió a la realización del siguiente protocolo:

1. Registro electrocardiográfico basal, para la determinación de la frecuencia cardiaca.
2. Test del extraestímulo ventricular con un extraestímulo, para el estudio de la refractariedad y de la velocidad de conducción.
3. Test del extraestímulo ventricular con introducción de dos extraestímulos (uno de acoplamiento fijo, con intervalo de acoplamiento ligeramente menor que el período refractario determinado con el test señalado en el apartado anterior (3), y otro posterior de acoplamiento variable, que sirve además para determinar el período refractario que tendremos como referencia para la aplicación de un tercer

extraestímulo, según mencionamos en el siguiente apartado.

4. Test del extraestímulo ventricular con introducción de tres extraestímulos (dos de acoplamiento fijo y un tercero de acoplamiento variable).

El test del extraestímulo se aplicó con una longitud del ciclo base de estimulación de 250 ms y, a continuación, se aplicó un nuevo test del extraestímulo con una longitud del ciclo base de estimulación de 150 ms.

Las maniobras 3 y 4 se realizaron con la finalidad de tratar de inducir la fibrilación ventricular.

5. Inducción de la fibrilación ventricular, mediante estimulación ventricular a frecuencias crecientes, en el caso de que no hubiera fibrilado con los tests del extraestímulo correspondientes a las maniobras anteriores.
6. Desfibrilación, tras 5 minutos de fibrilación.
7. Tras un período de estabilización de 15 minutos, se procedió a realizar un registro electrocardiográfico y, posteriormente, a ocluir la arteria coronaria circunfleja,

aproximadamente en una zona situada a mitad de su recorrido epicárdico. La oclusión arterial coronaria se realizó pasando una aguja de sutura (1/2 x 17 mm) con hilo de poliéster (2-0) a través del miocardio adyacente a la arteria a ocluir. Al hilo de sutura se le incorporó un ocluser, el cual se utilizó para interrumpir el flujo coronario. La efectividad de la oclusión se comprobó mediante la observación del incremento de la presión registrada en la raíz aórtica, mediante el manómetro de agua conectado lateralmente al sistema de Langendorff, así como por el desnivel del segmento ST observado en los diferentes electrogramas ventriculares epicárdicos.

8. Aplicación de los tests del extraestímulo con uno, dos y tres extraestímulos, tal y como se ha descrito anteriormente. Estos tests tuvieron como objetivo tratar de inducir la fibrilación ventricular y se aplicaron a los 5, 15 y entre 30 y 35 minutos después de la oclusión coronaria. Los tests con aplicación de un solo extraestímulo se usaron también para determinar los períodos refractarios efectivo y funcional.



Si tras la aplicación de uno de los test del extraestímulo citados, y una vez ocluida la arteria coronaria, fibrilaba el ventrículo, se dejaba fibrilando hasta los 35 minutos de la ligadura coronaria. En el caso de que no fibrilara el ventrículo por la aplicación de los tests del extraestímulo, se inducía la fibrilación ventricular mediante estimulación a frecuencias crecientes, 35 minutos después de la oclusión coronaria, practicándose registro durante 5 minutos.

El protocolo anterior se aplicó, tanto a los animales entrenados, como a los no entrenados. La aplicación sucesiva de los tests del extraestímulo tiene como objeto ver la evolución de la refractariedad a lo largo del tiempo de oclusión, analizar la facilidad para inducir la fibrilación mediante la aplicación de los tests y analizar la fibrilación ventricular, bien sea inducida por la aplicación de los tests, o la provocada a los 35 minutos de ocluir la arteria coronaria, mediante la aplicación de frecuencias crecientes.

### **2.3. Grupos de estudio.**

Se dividió a los conejos en dos grupos: Control, compuesto por un total de doce conejos no entrenados; y un grupo entrenado, compuesto asimismo por un total de catorce conejos, que fueron sometidos al protocolo de entrenamiento.

### **2.4. Legislación.**

Todos los estudios fueron realizados de acuerdo con lo establecido en la Convención Europea de Estrasburgo, el 18 de marzo de 1986 (B.O.E. 10 de febrero de 1990).

### **2.5. Análisis estadístico.**

Para la comparación, entre los grupos entrenado y control, de los períodos refractarios efectivo y funcional ventricular, de la velocidad de conducción, de la longitud de onda del proceso de activación, de la frecuencia dominante media, máxima y mínima y del coeficiente de variación de la frecuencia dominante, se utilizó el test de la *t* de *Student* (con 2 colas) para muestras no apareadas.

Se usó el test de la  $t$  de *Student* (con 2 colas) para muestras apareadas, con el fin de comparar frente a situación basal los siguientes parámetros: los períodos refractarios efectivo y funcional ventricular, la velocidad de conducción, la longitud de onda y la frecuencia dominante de la FV media, máxima y mínima y el coeficiente de variación de la frecuencia dominante, en diferentes momentos del experimento.

Finalmente, para realizar la inferencia estadística sobre la inducibilidad de la fibrilación ventricular, se utilizó el test de  $\chi^2$  (Chi cuadrado). La significación estadística fue aceptada cuando  $p < 0.05$ .

## *Capítulo 3*

---

### **Resultados**

### **3. Resultados.**

#### **3.1. Respecto a la refractariedad.**

El período refractario efectivo ventricular (PREV), determinado con una longitud del ciclo base de estimulación de 150 ms, fue mayor en el grupo entrenado que en el control, antes de la oclusión coronaria. En cuanto al período refractario funcional ventricular (PRFV), determinado con el mismo ciclo base de estimulación (150 ms), también fue mayor en el grupo entrenado que en el control, antes de la oclusión coronaria (*Tablas 3.1 y 3.2 y Figuras 3.2 y 3.4*). En lo que respecta a los períodos refractarios efectivo y funcional ventricular, determinados con una longitud del ciclo base de estimulación de 250 ms, las ligeras diferencias observadas entre los grupos entrenado y control no fueron estadísticamente significativas.

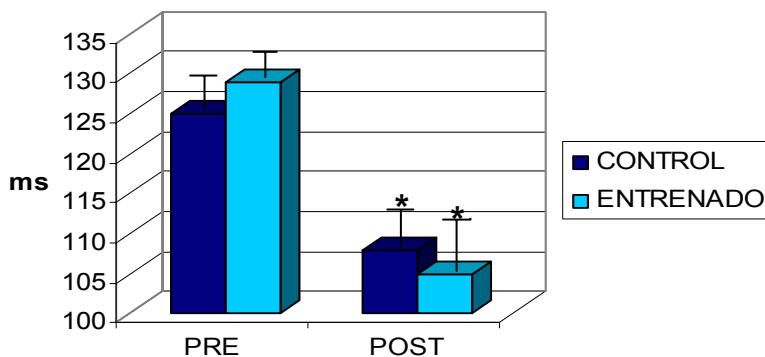
El período refractario efectivo ventricular, determinado con una longitud del ciclo base de estimulación de 250 ms, disminuyó tras la oclusión arterial coronaria, tanto en el grupo control, como en el grupo entrenado (*Tabla 3.1 y Figura 3.1*). Respecto al período refractario funcional ventricular, determinado con el mismo ciclo base de estimulación (250 ms), disminuyó en el grupo entrenado tras la oclusión coronaria. En los controles la disminución observada en el PRFV no fue estadísticamente significativa (*Tabla 3.2 y Figura 3.3*).

## PREV

	<u>250</u>		<u>150</u>	
	Pre	5' Post	Pre	5' Post
<b>Control</b>	125±14 (11)	108±13 * (8)	101±12 (12)	100±13 (6)
<b>Entrenado</b>	129±12 (14)	105±18 * (12)	109±9 † (14)	93±17 * (8)

*Tabla 3.1* Media y desviación estándar de los valores correspondientes al **PREV**, expresados en ms, determinados con dos longitudes de ciclo base de estimulación (**250** y **150** ms), en los grupos control y entrenado. **Pre**: preoclusión. **5' Post**: 5 minutos postoclusión. \*p<0.05 respecto al valor previo a la oclusión y †p<0.05 respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. Número de experimentos entre paréntesis.

### PREV 250



*Figura 3.1* PREV, expresado en ms, determinado con una longitud de ciclo base de estimulación de 250 ms, en los grupos control y entrenado. PRE: antes de la oclusión coronaria. POST: tras la oclusión coronaria. \*p<0.05 respecto al valor previo a la oclusión. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

### PREV 150

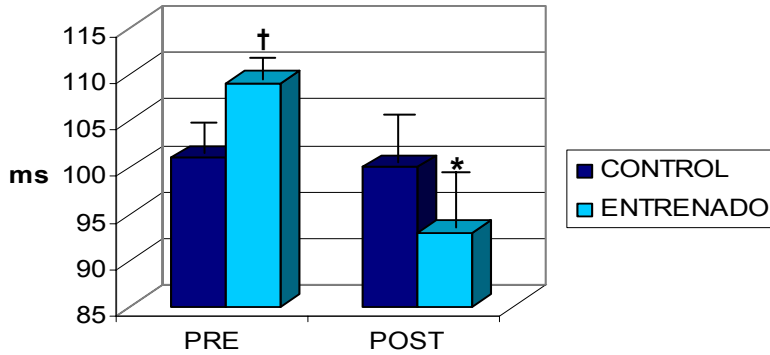


Figura 3.2 PREV, expresado en ms, determinado con una longitud de ciclo base de estimulación de 150 ms, en los grupos control y entrenado. PRE: antes de la oclusión coronaria. POST: tras la oclusión coronaria. \* $p < 0.05$  respecto al valor previo a la oclusión y <sup>†</sup> $p < 0.05$  respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

### PRFV

	<u>250</u>		<u>150</u>	
	Pre	5' Post	Pre	5' Post
<b>Control</b>	136±11 (10)	129±16 (8)	117±8 (12)	114±10 (6)
<b>Entrenado</b>	143±9 (14)	125±17 <sup>*</sup> (12)	123±7 <sup>†</sup> (14)	112±10 <sup>*</sup> (8)

Tabla 3.2 Media y desviación estándar de los valores correspondientes **PRFV**, expresados en ms, determinados con dos longitudes de ciclo base de estimulación (**250** y **150** ms), en los grupos control y entrenado. **Pre**: preoclusión. **5' Post**: 5 minutos postoclusión. \* $p < 0.05$  respecto al valor previo a la oclusión y <sup>†</sup> $p < 0.05$  respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. Número de experimentos entre paréntesis.

### PRFV 250

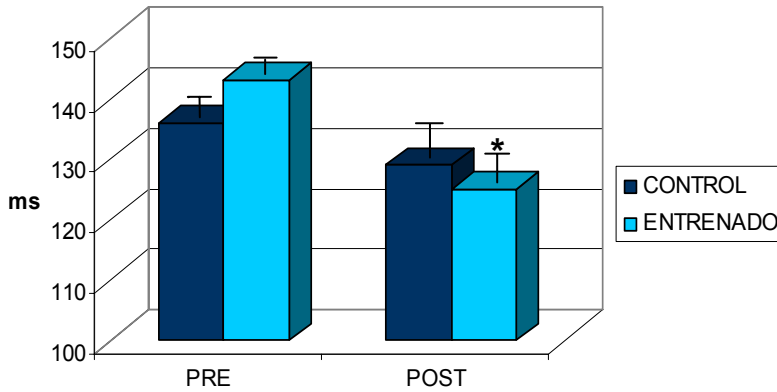


Figura 3.3 PRFV, expresado en ms, determinado con una longitud de ciclo base de estimulación de 250 ms, en los grupos control y entrenado. PRE: antes de la oclusión coronaria. POST: tras la oclusión coronaria. \* $p < 0.05$  respecto al valor previo a la oclusión. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

### PRFV 150

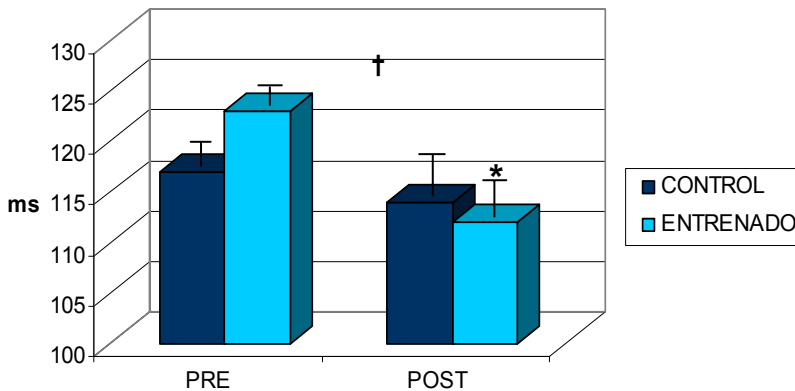


Figura 3.4 PRFV, expresado en ms, determinado con una longitud de ciclo base de estimulación de 150 ms, en los grupos control y entrenado. PRE: antes de la oclusión coronaria. POST: tras la oclusión coronaria \* $p < 0.05$  respecto al valor previo a la oclusión y † $p < 0.05$  respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.



## **3.2. Respecto a la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.**

### **3.2.1. Frecuencia dominante media.**

Previamente a la oclusión arterial coronaria, y un minuto después de desencadenada la FV, el valor de la frecuencia dominante media (FD media) fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) en el grupo entrenado que en el control ( $15.7 \pm 2$ ;  $n=13$ , vs  $18.2 \pm 3$ ;  $n=11$ ). Las diferencias entre el grupo control y el grupo entrenado fueron disminuyendo y perdiendo la significación estadística durante el transcurso de los cinco primeros minutos después de iniciada la fibrilación ventricular, previamente a la oclusión coronaria, para, concluido este tiempo, exhibir los mismos valores (*Tabla 3.3* y *Figura 3.5*). Durante el transcurso de los cinco primeros minutos de fibrilación, algunos corazones desfibrilaron, lo que explica que el número de casos sea diferente al principio que al final.

En la *Tabla 3.3* se representan los valores de la FD media, previamente a la oclusión coronaria, y en diferentes tiempos tras la oclusión arterial coronaria. Los momentos escogidos para establecer las comparaciones anteriormente mencionadas han sido:

1.- Basal: correspondiente a cinco minutos después de inducida la fibrilación ventricular, previamente a la oclusión arterial coronaria.

2.- Post-oclusión 1: correspondiente a 5 minutos después de inducida la fibrilación mediante extraestímulos, tras la oclusión coronaria (corresponde a un tiempo de entre 6-10 minutos de oclusión coronaria).

3.- Post-oclusión 2: corresponde al registro realizado entre los 35 y 40 minutos tras la oclusión arterial coronaria. En los casos en los que no se pudo inducir la fibrilación ventricular mediante extraestímulos, o, si una vez inducida desfibrilaba el corazón, se inducía la fibrilación por estimulación a frecuencias crecientes, 35 minutos después de la oclusión coronaria.

Al comparar el valor de la FD media basal frente a los diferentes momentos post-oclusión 1 y 2, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni en el grupo control, ni en el grupo entrenado (*Tabla 3.3 y Figura 3.5*).

## FRECUENCIA DOMINANTE MEDIA

	Basal	Post-oclusión 1	Post-oclusión 2
<b>Control</b>	14,8±1,7 (11)	14,9±2,7 (7)	14,4±3,6 (9)
<b>Entrenado</b>	14,6±1,4 (10)	14,7±1,7 (8)	15,9±4,7 (13)

Tabla 3.3 Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la FD media, expresados en Hz, en situación basal, en post-oclusión 1 y en post-oclusión 2, en los grupos control y entrenado. Número de experimentos entre paréntesis.

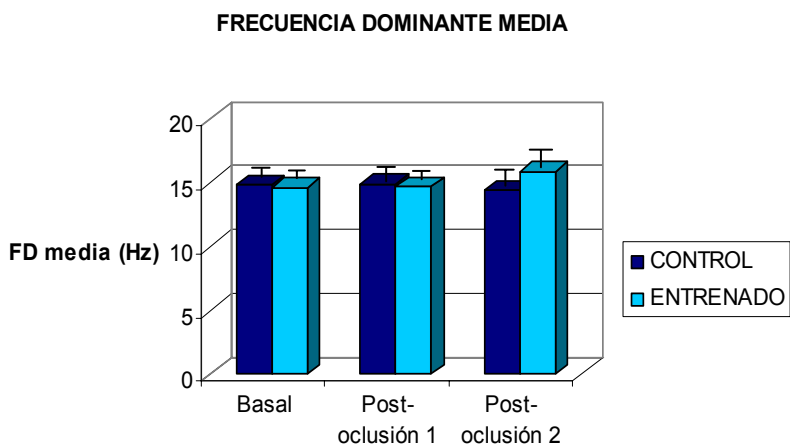


Figura 3.5 Valores de FD media, expresados en Hz, en situación basal, en post-oclusión 1 y en post-oclusión 2, en los grupos control y entrenado. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

### **3.2.2. Frecuencia dominante mínima.**

Cuando comparamos el valor de frecuencia dominante mínima (FD mínima) en situación basal con su valor en el momento post-oclusión 1, en el grupo control se observó una disminución de los valores con una  $p=0.06$ . Al comparar el valor de la FD mínima en situación basal con el momento post-oclusión 2, se observó una disminución estadísticamente significativa ( $p<0.02$ ), mientras que se mantuvo sin modificaciones significativas en el grupo entrenado (*Tabla 3.4 y Figura 3.6*).

Finalmente, al comparar los valores de la frecuencia dominante mínima entre grupos control y entrenado en los mismos momentos del experimento, observamos un valor de dicho parámetro significativamente mayor en los entrenados que en los controles, en el momento post-oclusión 2 (*Tabla 3.4 y Figura 3.6*).

## FRECUENCIA DOMINANTE MÍNIMA

	Basal	Post-oclusión 1	Post-oclusión 2
<b>Control</b>	9,9±3,1 (11)	5,7±2,5 <sup>∞</sup> (7)	5,4±1,5 <sup>*</sup> (9)
<b>Entrenado</b>	11,4±1,1 (10)	9±3,1 (8)	9,4±6 <sup>†</sup> (13)

Tabla 3.4 Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la FD mínima, expresados en Hz, en situación basal, en post-oclusión 1 y en post-oclusión 2, en el grupo control y entrenado. \*p<0.05 respecto a situación basal, <sup>∞</sup>p=0.06 respecto a situación basal y <sup>†</sup>p<0.05 comparando los grupos control y entrenado en el mismo momento (post-oclusión 2). Número de experimentos entre paréntesis.

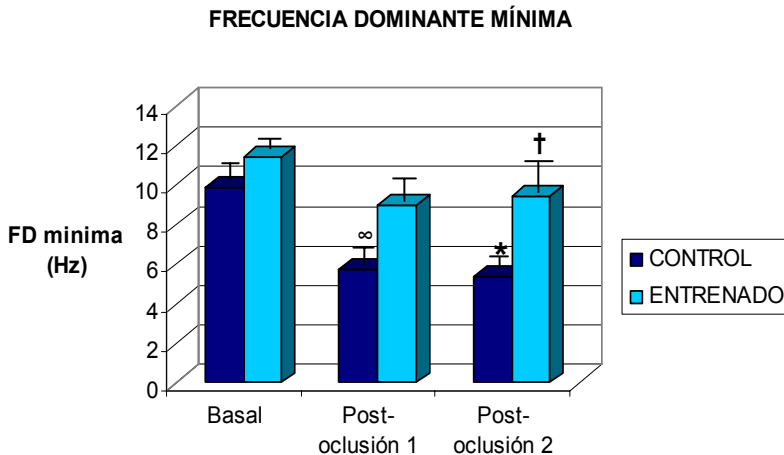


Figura 3.6 Valores de FD mínima, expresados en Hz, en situación basal, en post-oclusión 1 y en post-oclusión 2, en los grupos control y entrenado. \*p<0.05 respecto a situación basal, <sup>∞</sup>p=0.06 respecto a situación basal y <sup>†</sup>p<0.05 respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

### 3.2.3. Frecuencia dominante máxima.

El valor de la frecuencia dominante máxima (FD Máxima) aumentó en el grupo control al comparar su valor en situación basal con el valor en el momento post-oclusión 1 con una  $p=0.06$  (Tabla 3.5 y Figura 3.7).

En el grupo entrenado no se produjeron diferencias estadísticamente significativas al realizar las correspondientes comparaciones en diferentes momentos y tampoco hubo diferencias al comparar ambos grupos, control y entrenado, en diferentes momentos.

#### FRECUENCIA DOMINANTE MÁXIMA

	Basal	Post-oclusión 1	Post-oclusión 2
<b>Control</b>	18,7±4,1 (11)	23,7±7,6 <sup>∞</sup> (7)	21±5,3 (9)
<b>Entrenado</b>	19,3±6,6 (10)	22,5±5,1 (8)	20,9±5,6 (13)

Tabla 3.5 Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la FD Máxima, expresados en Hz, en situación basal, en post-oclusión 1 y en post-oclusión 2, en los grupos control y entrenado. <sup>∞</sup> $p=0.06$  respecto a situación basal. Número de experimentos entre paréntesis.

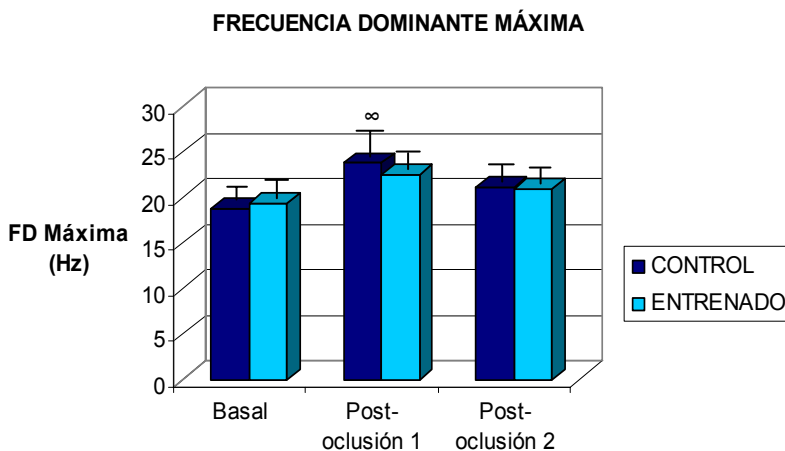


Figura 3.7 Valores de FD Máxima, expresados en Hz, en situación basal, en post-oculación 1 y en post-oculación 2, en los grupos control y entrenado.  $\infty$ p=0.06 respecto a situación basal. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

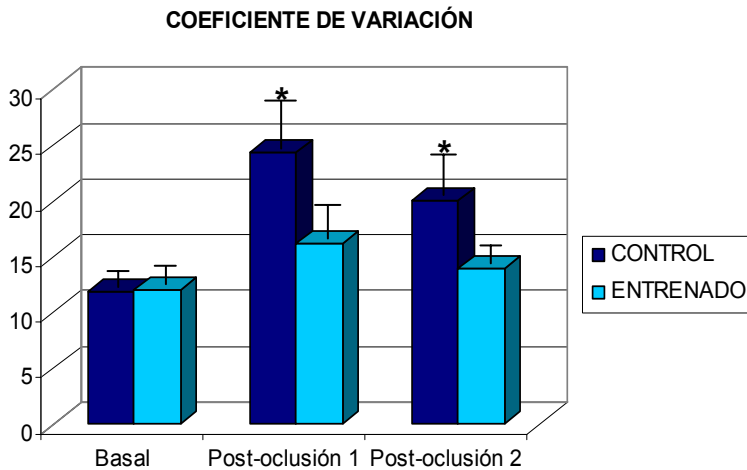
### 3.3. Respecto al coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.

El coeficiente de variación (CV) aumentó significativamente en el grupo control al realizar las comparaciones entre los valores en situación basal con los valores en situación post-oculación 1, con una  $p < 0.05$  y al comparar la situación basal con post-oculación 2, con una  $p < 0.04$  (Tabla 3.6 y Figura 3.8). A diferencia de lo ocurrido en el grupo control, en el grupo entrenado no hubo variaciones significativas en el coeficiente de variación al efectuar las comparaciones, tal y como hicimos para el grupo control (Tabla 3.6 y Figura 3.8).

## COEFICIENTE DE VARIACIÓN

	Basal	Post-oclusión 1	Post-oclusión 2
<b>Control</b>	11,9±5,4 (11)	24,4±11,7 *	20±11,5 *
<b>Entrenado</b>	12±5 (10)	16,2±9,1 (8)	14±6,6 (13)

*Tabla 3.6* Media y desviación estándar de los valores correspondientes al CV de la frecuencia dominante de la FV en situación basal, en post-oclusión 1 y en post-oclusión 2, en los grupos control y entrenado. \*p<0.05 respecto a situación basal. Número de experimentos entre paréntesis.



*Figura 3.8* Valores del CV de la frecuencia dominante de la FV, en situación basal, en post-oclusión 1 y en post-oclusión 2, en los grupos control y entrenado. \*p<0.05 respecto a situación basal. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.



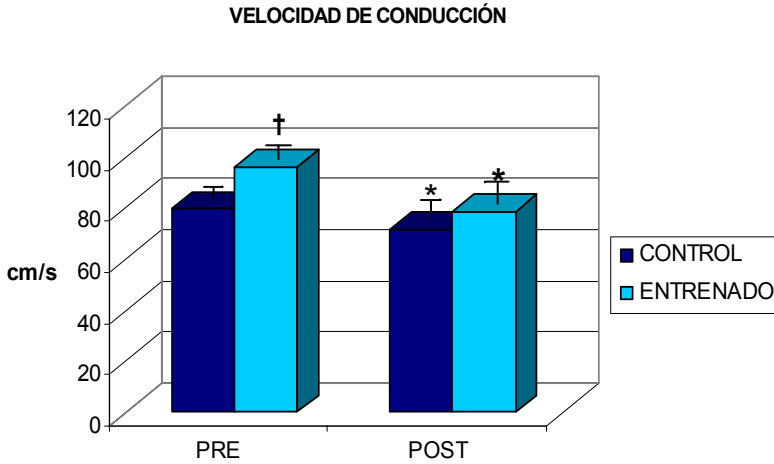
### 3.4. Respecto a la velocidad de conducción.

Los valores de velocidad de conducción (VC), obtenidos antes de la oclusión coronaria, fueron significativamente mayores en el grupo entrenado, con respecto a los valores en el grupo control. En ambos grupos, control y entrenado, se produjo una caída significativa de las cifras de la velocidad de conducción al compararlas antes y después de la oclusión arterial coronaria. Al comparar los valores entre el grupo entrenado y control, después de la oclusión arterial coronaria, pese a que el valor de la velocidad de conducción fue mayor en el grupo entrenado respecto al control, las diferencias no alcanzaron significación estadística (*Tabla 3.7 y Figura 3.9*).

#### VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN

	Pre	Post
<b>Control</b>	80,1±13,8 (10)	72±15 * (8)
<b>Entrenado</b>	96,6±19,1 <sup>†</sup> (14)	78,8±27,8 * (12)

*Tabla 3.7* Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la VC, expresados en cm/s, en los grupos control y entrenado, previamente a la oclusión coronaria (**Pre**) y tras la oclusión coronaria (**Post**) \*p<0.05 respecto al valor previo a la oclusión y <sup>†</sup>p<0.05 respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. Número de experimentos entre paréntesis.



*Figura 3.9* Valores de VC, expresados en cm/s, en los grupos control y entrenado, previamente la oclusión coronaria (PRE) y tras la oclusión coronaria (POST). \* $p < 0.05$  respecto al valor previo a la oclusión y † $p < 0.05$  respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

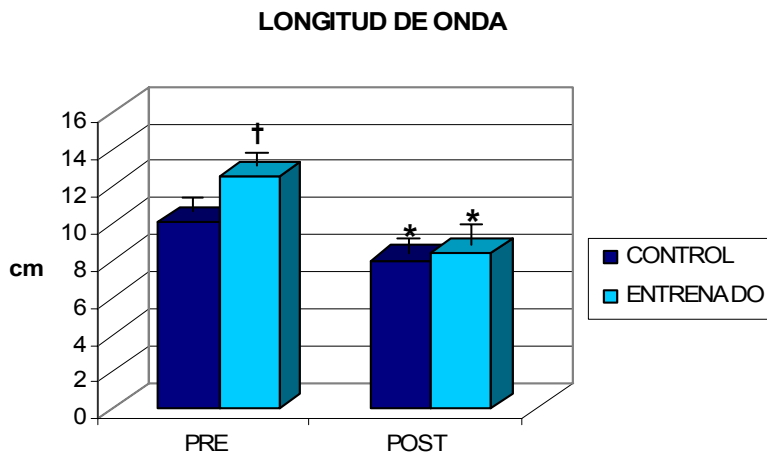
### 3.5. Respecto a la longitud de onda.

Los resultados correspondientes a la longitud de onda (LO) fueron similares a los obtenidos en la velocidad de conducción, en lo que a significación estadística se refiere. Se produjo una caída significativa en los valores al compararlos antes y después de la oclusión, tanto en el grupo entrenado, como en el grupo control. De la misma forma, al comparar los valores entre el grupo control y entrenado, antes de la oclusión, también encontramos una diferencia estadísticamente significativa, que no se mantuvo tras la ligadura arterial coronaria (*Tabla 3.8 y Figura 3.10*).

## LONGITUD DE ONDA

	Pre	Post
<b>Control</b>	10,1±1,7 (9)	8±2,1 * (8)
<b>Entrenado</b>	12,5±2,4 † (14)	8,4±3,4 * (12)

*Tabla 3.8* Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la LO, expresados en cm, en los grupos control y entrenado, previamente a la oclusión coronaria (**Pre**) y tras la oclusión coronaria (**Post**) \*p<0.05 respecto al valor previo a la oclusión y †p<0.05 respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. Número de experimentos entre paréntesis.



*Figura 3.10* Valores de LO, expresados en cm, en los grupos control y entrenado, previamente a la oclusión coronaria (Pre) y tras la oclusión coronaria (Post). \*p<0.05 respecto al valor previo a la oclusión y †p<0.05 respecto al grupo control en el mismo momento del experimento. El símbolo de dispersión representado corresponde al error estándar.

### **3.6. Respecto a la inducibilidad de la fibrilación ventricular.**

Como describimos previamente, para investigar la inducibilidad de la fibrilación ventricular e investigar las diferencias respecto a este parámetro entre los grupos experimentales, usamos dos tests del extraestímulo, uno con una longitud del ciclo base de estimulación de 250 ms y repetimos otro, con un ciclo base de estimulación de 150 ms. Cada test se aplicó primero con un extraestímulo, que también nos sirvió para determinar el período refractario, a continuación lo aplicamos con dos extraestímulos, el primero acoplado a un tiempo ligeramente superior al período refractario obtenido con el test anterior, y el segundo, con un intervalo de acoplamiento variable. Finalmente, se aplicaba un tercer test en el que el primer extraestímulo se aplicó como en el anterior test, y el segundo extraestímulo a un tiempo ligeramente superior al período refractario obtenido con el segundo test; en cuanto al tercer extraestímulo, se aplicó con un intervalo variable. Los tests se aplicaron en situación basal y a los 5, 15 y 35 minutos tras la oclusión arterial coronaria aguda.

En el grupo de conejos entrenados, la fibrilación ventricular fue inducida con los diferentes tests del extraestímulo en 8 de los 13

casos (62% del total). En el grupo de conejos controles, la fibrilación ventricular fue inducida en 9 de los 12 casos (75% del total) (*Tabla 3.9*).

Si analizamos la inducibilidad de la fibrilación ventricular cuando se aplica el test de extraestímulo con una longitud del ciclo base de estimulación de 250 ms, con un único extraestímulo, en el grupo entrenado fibriló un caso de un total de 13 (8%) y en el grupo control fibrilaron 3 casos de un total de 12 (25%) (*Tabla 3.10*).

			ISQUEMIA		FV TOTAL
	BASAL	MINUTO 5	MINUTO 15	MINUTO 35	(isquemia)
<b>CONTROL</b>	0%	7 de 12 (58%)	2 de 12 (17%)	0%	9 de 12 (75%)
<b>ENTRENADO</b>	0%	7 de 13 (54%)	1 de 13 (8%)	0%	8 de 13 (62%)

*Tabla 3.9* Porcentaje de inducciones de FV en situación basal y a los 5, 15 y 35 minutos de isquemia.

			<b>CONTROL</b>	<b>ENTRENADO</b>
<b>BASAL</b>		250.1	0	0
		250.2	0	0
		250.3	0	0
		150.1	0	0
		150.2	0	0
		150.3	0	0
<b>ISQUEMIA</b>	<b>MINUTO 5</b>	250.1	4	1
		250.2	1	3
		250.3	1	1
		150.1	0	0
		150.2	0	1
		150.3	1	1
	<b>MINUTO 15</b>	250.1	0	1
		250.2	1	0
		250.3	1	0
		150.1	0	0
		150.2	0	0
		150.3	0	0
	<b>MINUTO 35</b>	250.1	0	0
		250.2	0	0
		250.3	0	0
		150.1	0	0
		150.2	0	0
		150.3	0	0

*Tabla 3.10* Número total de episodios de FV en ambos grupos y en las diferentes condiciones: basal y a los 5, 15 y 35 minutos de isquemia, para cada uno de los ciclos base de estimulación.

Para realizar la inferencia estadística sobre la inducibilidad de la fibrilación ventricular se utilizó, tal y como se ha descrito en el capítulo de Métodos, el test de  $\chi^2$  (Chi cuadrado). No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos al aplicar cada uno de los test. Se puede hablar de una ligera tendencia mayor a la inducción de la fibrilación en el grupo control, con respecto al grupo entrenado, pero estos resultados deben interpretarse con cautela, siendo necesario la realización de un número más elevado de experimentos.

# *Capítulo 4*

---

## **Discusión**



## **4. Discusión.**

### **4.1. Consideraciones generales.**

En la presente tesis hemos investigado en corazones aislados de conejos, entrenados en cinta rodante siguiendo el protocolo descrito en el capítulo relativo a metodología, el efecto del entrenamiento sobre la refractariedad miocárdica ventricular, tanto en condiciones de normal oxigenación, como tras la oclusión arterial coronaria. Asimismo, han sido estudiadas la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular inducida mediante estimulación a frecuencias crecientes y mediante la aplicación de extraestímulos, así como la velocidad de conducción ventricular, en las condiciones anteriormente citadas. Finalmente, han sido estudiados dos parámetros adicionales estrechamente relacionados con el efecto protector del ejercicio físico crónico frente a las arritmias por re-entrada; por una parte, el coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la FV obtenida con cada uno de los electrodos de la placa multi-electrodo y, por otra parte, la facilidad para inducir fibrilación ventricular tras la aplicación de extraestímulos. El presente trabajo se ha realizado con el fin de evidenciar la existencia de las modificaciones citadas, y de que los mecanismos que subyacen son de carácter intrínseco, propios del corazón y, por tanto, no sometidos a control nervioso y/o humoral.

Como comentamos previamente en el capítulo de Objetivos, pensamos que nuestra investigación posee un interés científico básico y de probable aplicación en clínica humana a más largo plazo.

La relativamente escasa información existente sobre la participación de mecanismos intrínsecos en las modificaciones electrofisiológicas producidas por el entrenamiento explican el interés básico de esta investigación, y el interés en clínica humana deriva de los estudios realizados en la actualidad por diversos autores sobre el efecto que produce el ejercicio físico regular sobre la prevención, directa o indirectamente, de diversos tipos de arritmias cardíacas, que se hallan implicadas en la mortalidad de origen cardíaco (Paffenbarger & Hale, 1975, Ekelund et al., 1988, Blair et al., 1996), como es la fibrilación ventricular, implicada como causa principal de muerte súbita de origen cardíaco (Billman, 2002).

#### **4.2. Consideraciones relativas a los métodos empleados.**

Hemos usado una preparación de corazón aislado, con el fin de excluir influencias nerviosas y/o humorales sobre los resultados, y que ha sido usada comúnmente para el estudio de efectos electrofisiológicos directos o intrínsecos de fármacos o de diversas

manipulaciones como son estiramientos, lesiones por radiofrecuencia, variaciones térmicas, hipoxia global, ejercicio físico, etc. (Chorro et al., 1997, 1999, 2000, Such et al., 2002, Chorro et al., 2005).

El modelo de corazón aislado de conejo solamente requiere para su perfusión líquidos de fácil disponibilidad y preparación como es el Tyrode, lo que representa una ventaja si lo comparamos con el corazón de animales como el perro, que requiere sangre para su perfusión; además es de fácil manipulación, lo que le da también ventajas respecto al corazón de animales más pequeños como es el de rata o cobaya.

Para concluir, el hecho de que hayamos usado una preparación tipo Langendorff, sin poscarga y con una ligerísima precarga, y no sea, por tanto, una preparación de “working heart”, nos permite asegurar que las diferencias observadas entre los grupos no pueden atribuirse a diferencias en el trabajo cardíaco. La ligerísima precarga a la que hemos hecho mención se refiere al ventrículo derecho, debido al Tyrode que perfunde el árbol coronario y que retorna a través de la aurícula derecha a dicho ventrículo.

De entre los animales usados para este tipo de estudios, el conejo es un animal considerado por muchos autores idóneo para

estudios sobre efectos del entrenamiento, ya que el conejo de laboratorio es, a semejanza de los humanos en general, sedentario y con protocolos de ejercicio de intensidad, duración y frecuencia apropiadas, se obtiene una respuesta cardiovascular propia del entrenamiento muy fácilmente (DiCarlo & Bishop, 1990).

### **4.3. Respecto a los resultados obtenidos.**

#### **4.3.1. Respecto a la refractariedad ventricular.**

Como hemos podido ver en el capítulo de Resultados, la realización de ejercicio físico, siguiendo el protocolo diseñado por nosotros, ha producido un aumento del período refractario efectivo y funcional del ventrículo.

Estos resultados son similares a los obtenidos por nosotros en trabajos de investigación previos usando la misma metodología (Such et al., 2002). No obstante, los resultados aquí expuestos son más concluyentes, ya que en aquellos el número de datos fue menor, debido a limitaciones metodológicas relacionadas con el registro de los electrogramas, y además el número de experimentos fue claramente menor. En nuestros primeros experimentos no hallamos

diferencias significativas, en cuanto al período refractario efectivo se refiere, entre los corazones procedentes de animales entrenados y los controles; solamente pudimos observar, en cuanto a este parámetro se refiere, tendencias al aumento sin significación estadística. En el presente estudio, no solamente el número de valores de períodos refractarios efectivo y funcional ha sido superior, sino que además la metodología usada para el registro de electrogramas ha sido de mayor fidelidad.

Los presentes resultados nos permiten concluir, no solamente que la realización de ejercicio físico crónico aumenta la refractariedad ventricular, sino que además lo hace a través de mecanismos intrínsecos ligados al propio corazón, ya que nuestra preparación excluía influencias nerviosas y humorales.

Natali et al. (2002) estudiando los efectos del entrenamiento sobre el potencial de acción han obtenido, de alguna manera, resultados similares a los nuestros usando cardiomiocitos procedentes del epicardio ventricular de ratas sometidas a un modelo de entrenamiento mediante ejercicio físico voluntario. Estos autores hallaron una prolongación de la duración del potencial de acción de los cardiomiocitos procedentes de los animales entrenados respecto a los controles. Decimos que estos resultados son, de alguna manera,

similares a los nuestros porque, si bien estos autores no estudiaron los periodos refractarios sino la duración del potencial de acción en el músculo ventricular no isquémico, el período refractario está íntimamente ligado a la duración del potencial de acción (Wu et al., 2006).

Como antecedente del efecto del entrenamiento sobre la refractariedad intrínseca cardiaca encontramos el trabajo de Stein et al. (2002), quienes hallaron un incremento del período refractario efectivo del nodo auriculoventricular en humanos entrenados y sometidos a bloqueo del sistema nervioso autónomo, simpático y parasimpático, con el fin de analizar modificaciones intrínsecas.

Nosotros no hemos encontrado trabajos adicionales sobre los efectos del entrenamiento sobre la refractariedad miocárdica intrínseca, si bien sí se han realizado estudios *in vivo*.

Recientemente hemos publicado unos resultados sobre el aumento de la refractariedad ventricular, tanto efectiva como funcional, en corazones de animales entrenados (López et al., 2005b). Asimismo, también hemos observado un aumento de la refractariedad auricular intrínseca por el entrenamiento (Such et al., 2005).

Como contraste a lo que acabamos de comentar sobre los efectos del ejercicio físico sobre la refractariedad auricular intrínseca, sí que existen referencias previas al efecto del entrenamiento sobre la refractariedad auricular en el corazón *in situ*, aunque contradictorias. Así, Brorson et al. (1976) no encontraron modificaciones en el período refractario efectivo auricular en sujetos entrenados. A diferencia de estos autores, Mezzani et al. (1990), en sujetos que tenían una vía auriculoventricular accesoria y un Wolff-Parkinson-White, hallaron un aumento en el período refractario efectivo y funcional auricular en sujetos entrenados respecto a los no entrenados. Como sabemos el entrenamiento incrementa el tono vagal, y ha sido publicado que la estimulación vagal es más efectiva en provocar la fibrilación auricular que la estimulación simpática (Liu & Nattel, 1997), lo que probablemente se deba a una disminución de la refractariedad auricular por efecto de la acetilcolina (Farges et al., 1977).

Como ya ha sido comentado en la Introducción, Hamra y Mc Neil (1997) realizaron un estudio encaminado a investigar, en fragmentos aislados de corazón de perro sometido a entrenamiento físico, la variación del antagonismo acentuado (efectos antagónicos de la acetilcolina sobre la acción del isoproterenol a nivel de la duración del potencial de acción), y encontraron una ausencia de variaciones de dicho fenómeno en los animales entrenados respecto

a los controles. Es decir, si bien la acetilcolina antagonizó la aceleración de la repolarización producida por el isoproterenol en los fragmentos de corazón procedentes de animales sometidos a ejercicio físico crónico, este efecto no fue significativamente diferente en los animales no entrenados.

Si bien no hemos encontrado referencias respecto al efecto del ejercicio físico regular, tanto sobre la refractariedad miocárdica en el corazón *in situ*, como sobre el corazón aislado, tampoco las conclusiones acerca de los efectos del aumento del tono vagal (situación fisiológica a la que se llega por el entrenamiento) sobre la refractariedad ventricular son concluyentes, como también hemos apuntado previamente en el capítulo de Introducción, lo que nos impide deducir de modo indirecto el efecto del ejercicio físico sobre la refractariedad ventricular *in situ*.

Desconocemos los mecanismos básicos por los cuales los períodos refractarios fueron mayores en los animales entrenados. A pesar de ello, y sobre la base de experimentos realizados por otros investigadores, podemos implicar a nivel electrofisiológico celular a ciertas corrientes y/o transportes iónicos. Así, Jew et al. (2001) encontraron en cardiomiocitos aislados de ventrículo izquierdo de ratas sometidas a entrenamiento, y utilizando la técnica de “patch-clamp”, que el entrenamiento produjo: **a)** una reducción en la densidad de corrientes repolarizantes de potasio de inactivación lenta



o sostenida, a las que ellos y otros autores denominaron  $I_{\text{sus}}$  o  $I_{\text{late}}$  (Himmel et al., 1999), y **b)** al mismo tiempo, también encontraron un incremento en la rapidez a la cual se alcanza el pico de la corriente  $I_{\text{to}}$  que, como es sabido, es una corriente de salida de potasio transitoria responsable del inicio de la repolarización rápida del cardiomiocito, y un tenue, pero significativo, incremento en la densidad de corrientes  $I_{\text{to}}$  en los cardiomiocitos del ventrículo izquierdo de rata aislados. Para estos autores (Jew et al., 2001), el entrenamiento también pareció afectar a la amplitud del pico y a la forma de la fase de repolarización temprana del potencial de acción registrado en miocitos aislados de cultivos. No obstante, estos autores no determinaron cual de los componentes específicos de estas corrientes que contribuyen a  $I_{\text{sus}}$  o  $I_{\text{late}}$  e  $I_{\text{to}}$  son afectados por el entrenamiento, ni determinaron si las adaptaciones de las corrientes repolarizantes de potasio, voltaje dependientes, son regionalmente variables en el miocardio ventricular.

Las anteriores observaciones podrían contribuir a explicar las adaptaciones sobre el potencial de acción inducidas por el entrenamiento que, como ha sido previamente publicado, sufre un alargamiento (Tibbits et al., 1981, Gwathmey et al., 1990, Natali et al., 2002).

Por otro lado, Mokolke et al. (1997), con la finalidad de evidenciar la posible participación de otros mecanismos iónicos en las modificaciones electrofisiológicas por el entrenamiento, estudiaron en corazones de ratas sometidas a un entrenamiento de resistencia sobre cinta rodante, la influencia sobre las corrientes de calcio que operan durante la meseta del potencial de acción de los cardiomiocitos ventriculares. Se trata de la corriente de entrada de calcio lenta ( $I_{Ca-L}$ ), que requiere los canales de  $Ca^{2+}$  voltaje-dependientes tipo L. Dicho estudio lo plantearon sobre una hipótesis derivada de observaciones realizadas por otros autores, tanto de tipo electrofisiológico, como mecánico, que podrían ser explicadas por adaptaciones a nivel de los canales de calcio previamente mencionados (Tibbits et al., 1981, Gwathmey et al., 1990 y Moore et al., 1993). Estos autores (Mokolke et al., 1997) encontraron que el entrenamiento produjo un incremento en la capacitancia de la membrana de los miocitos ventriculares, lo que proveía un método para estimar el área de la membrana celular y, por tanto, el tamaño de las células. Los cambios en la capacitancia en las dimensiones celulares proveyeron evidencias de que los miocitos usados para determinar el efecto del entrenamiento sobre las características intrínsecas del conjunto de  $I_{Ca}$  celular habían respondido adaptativamente al entrenamiento. No obstante, estos autores encontraron que, ni la dependencia de voltaje de  $I_{Ca}$ , ni el pico de  $I_{Ca}$

producido durante los experimentos realizados con fijación de voltaje, fueron afectados por el entrenamiento. Tampoco hallaron evidencia de que la inactivación y la recuperación de  $I_{Ca}$  del conjunto celular fueron modificadas por el entrenamiento, todo lo cual descartaba la hipótesis de que las adaptaciones inducidas por el entrenamiento pudieran asentarse sobre la base de modificaciones en cuanto a la función y el número de los canales de calcio tipo L. Finalmente, estos autores dejaron abierto el planteamiento acerca de la posibilidad de que, en ausencia de adaptaciones intrínsecas en el número y función de los canales de calcio tipo L, los cambios por el entrenamiento en las corrientes repolarizantes de  $K^+$  podría producir cambios en la  $I_{Ca}$ .

Cabría también la posibilidad de que el entrenamiento pudiera modificar la actividad del intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$  que, como es sabido, tiene propiedades electrogénicas y podría variar la duración del potencial de acción. En este sentido Mace et al. (2003) realizaron un estudio en cardiomiocitos aislados de ratas, sobre la influencia de la edad y el entrenamiento en tapiz rodante sobre el intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$ , y encontraron que se incrementó la actividad de dicho intercambiador en el envejecimiento, así como la duración del potencial de acción medido al 75% y al 90% del valor de reposo desde el nivel máximo de potencial. Para estos autores, el incremento de la actividad del intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$  podría ser una posible

explicación de la prolongación del potencial de acción en la fase tardía en los animales viejos. No obstante, el entrenamiento no modificó los resultados anteriores. Estas consideraciones descartan la posibilidad de que, en nuestro caso, haya participado el sistema de transporte mencionado.

La oclusión arterial coronaria originó en ambos grupos de experimentos una caída significativa de la refractariedad ventricular (excepto para el caso de la refractariedad determinada con un tren base de estimulación de 150 ms).

Estudios previos han relatado, en la isquemia, un alargamiento de la refractariedad (Elharrar et al., 1977, Horacek et al., 1984, Capucci et al., 1995, citados por Sutton et al., 2000), o un acortamiento de la misma (Han y Moe, 1964, Elharrar et al., 1977, Wolk et al., 1998, citados por Sutton et al., 2000). Las diferencias parecen estar relacionadas con aspectos metodológicos y dependen de diversos factores como son la intensidad del estímulo citado, el tipo de isquemia producido (global o regional), la ubicación del sitio de estimulación respecto a la zona limítrofe, etc. En la isquemia regional una alta intensidad de estimulación puede excitar inadvertidamente una zona lejana de miocardio en donde el período refractario es más corto (Penny, 1984, Janse et al., 1985, Capucci et al., 1995, citados por Sutton et al., 2000). La caída en el valor del período refractario en los animales entrenados lleva los valores de este parámetro a los

mismos niveles que los de los animales control, con los que no existen diferencias significativas. Al parecer los efectos del entrenamiento sobre la refractariedad no consiguen mantenerse tras la agresión isquémica, lo que cabe interpretar como una ausencia de efecto beneficioso desde el punto de vista del papel de la refractariedad en la instauración de arritmias por re-entrada.

#### **4.3.2. Respecto a la velocidad de conducción y a la longitud de onda del proceso de activación.**

Como hemos visto en el capítulo de Resultados, la velocidad de conducción en los corazones procedentes de los animales entrenados es ligera pero significativamente mayor que en los controles, previamente a la oclusión arterial coronaria. Desconocemos las razones por las cuales encontramos este efecto.

Desde el punto de vista de los posibles efectos beneficiosos del ejercicio físico crónico, nosotros interpretamos estos resultados como tales, ya que representan una protección frente a las arritmias por re-entrada. Como es sabido, la re-entrada continua requiere, en el caso de las re-entradas por causa anatómica, que la longitud anatómica del circuito recorrido sea igual o mayor que la longitud de onda del

proceso de activación re-entrante. Como ha sido comentado más adelante, la longitud de onda del proceso de activación es igual a la velocidad de conducción media del impulso, multiplicada por el más largo período refractario de los elementos constituyentes del circuito (Zipes, 1992), hallándose por tanto estas dos propiedades electrofisiológicas directamente relacionadas con la aparición y con la estabilización de las arritmias por re-entrada (Wijfels et al., 1995).

No obstante, los anteriores resultados previos a la oclusión coronaria, la mayor velocidad de conducción ventricular en los entrenados, respecto a los controles, no fue estadísticamente significativa tras la oclusión arterial. En los corazones procedentes de ambos grupos de animales, control y entrenado, la ligadura coronaria se acompañó de una disminución de la velocidad de conducción, pero las diferencias que se marcaron en situación basal no se mantuvieron significativas tras la ligadura arterial coronaria.

Los cambios ocurridos con respecto a la longitud de onda del proceso de activación fueron similares a los de la velocidad de conducción, es decir, previamente a la oclusión coronaria la longitud de onda del proceso de activación fue mayor en los corazones de los animales entrenados; diferencia que no fue estadísticamente significativa después de la ligadura arterial. Al aumento de la longitud de onda ha contribuido fundamentalmente el aumento de la velocidad

de conducción y, en menor medida, el período refractario. Decimos esto último porque el período refractario que hemos usado para determinar la longitud de onda ha sido el obtenido mediante la aplicación del test del extraestímulo con una longitud del tren base de estimulación de 250 ms, y el período refractario determinado con esta longitud del ciclo base de estimulación fue ligeramente mayor, pero no significativamente, en el grupo entrenado que en el control, aunque como hemos visto en el capítulo de Resultados, la refractariedad sí que fue mayor en los animales entrenados que en los controles, cuando la longitud del ciclo base de estimulación al aplicar el test del extraestímulo fue de 150 ms.

#### **4.3.3. Respecto a la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.**

En el presente estudio también se han investigado los efectos directos del entrenamiento sobre algunas características de la fibrilación ventricular inducida, bien con estimulación ventricular a frecuencias crecientes, o mediante la aplicación de extraestímulos, y tanto en situación de normoxia, como tras la oclusión coronaria aguda. Como hemos comentado en el apartado de Métodos, hemos realizado un análisis espectral de la fibrilación ventricular, con el fin de

determinar la frecuencia dominante de la fibrilación y evaluar las modificaciones de dicho parámetro por el entrenamiento.

Distintos autores han aplicado el análisis de la frecuencia dominante como un parámetro electrofisiológico más (Chorro et al., 2000, Ropella, 2001). Por otra parte, como hemos mencionado previamente en el apartado de Introducción, en el caso de la fibrilación ventricular *in situ*, la frecuencia dominante y las frecuencias medianas son predictivas del éxito de los choques eléctricos en humanos. Así, Strohmenger et al. (1997), encontraron una correlación entre el valor de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular y el éxito de la desfibrilación, así como del posterior curso del paciente.

La densidad del espectro de potencia de la fibrilación ventricular permanece constante durante bastantes minutos, siempre que la perfusión coronaria se mantenga; ahora bien, la parada cardíaca crea una situación de isquemia progresiva y, por lo tanto, una disminución de ATP y de fosfágenos, una alteración de la excitabilidad de la membrana, trastornos iónicos como la sobrecarga intracelular de calcio y, a nivel electrocardiográfico, ocurre una disminución de la frecuencia fibrilatoria, todo lo cual se acompaña, asimismo, de una probabilidad aumentada de que, tras la cardioversión, se produzca una disociación electromecánica. Contrariamente, mantener la



perfusión miocárdica evita la caída de la frecuencia fibrilatoria y, simultáneamente, aumenta la probabilidad de una desfibrilación eficaz. Strohmenger et al. (1997), en concordancia con otros autores, hallaron en pacientes una gran probabilidad de evolución favorable después de la desfibrilación, cuando los valores de la frecuencia dominante y de la mediana se mantenían.

La frecuencia dominante de la fibrilación ventricular está relacionada con las propiedades electrofisiológicas miocárdicas, y de ahí que la ausencia de cambios en este parámetro es un buen marcador de la falta de modificaciones electrofisiológicas y, en nuestro modelo experimental, analizar la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular en circunstancias de normal perfusión miocárdica y su posible modificación por fármacos, es analizar una propiedad electrofisiológica más del miocardio ventricular estrechamente relacionada con la refractariedad (Chorro et al., 2000).

En nuestra investigación hemos encontrado, antes de ligar la arteria coronaria, una frecuencia dominante de la FV inducida mayor en los corazones de los conejos control, que la de los conejos entrenados, al inicio del desencadenamiento de la fibrilación, lo que si bien puede interpretarse como la manifestación de un miocardio menos excitable en el caso de los conejos entrenados (lo que estaría

en consonancia con los resultados obtenidos para la refractariedad), las diferencias mencionadas no se mantuvieron, tal y como hemos apuntado en el capítulo de Resultados. Por lo tanto, este parámetro medido a los cinco minutos de desencadenada la fibrilación ventricular no se corresponde con las diferencias obtenidas para la refractariedad ventricular. Tampoco este parámetro refleja ningún cambio entre grupos tras la oclusión coronaria, como tampoco se hallaron diferencias entre grupos previamente a la oclusión coronaria respecto a la frecuencia dominante máxima. Sin embargo, la frecuencia dominante mínima disminuyó en los controles tras la oclusión coronaria, y esto no ocurrió en los entrenados. Este último dato lo interpretamos como un efecto beneficioso. En efecto, tal y conforme hemos expresado en líneas anteriores, ha sido demostrado que el deterioro metabólico del miocardio durante la isquemia se ha correlacionado bien con la disminución concomitante de la frecuencia dominante mínima de la fibrilación ventricular, y no de la frecuencia dominante media.

La disminución de la frecuencia dominante en la zona isquémica de un miocardio sometido a oclusión coronaria ha sido observada por diversos autores. Así, Zaitsev et al. (2003), en corazones de cerdo sometidos a oclusión coronaria, encontraron una disminución de la media de las frecuencias dominantes de la FV en la

zona isquémica, un aumento en la zona “border” o limítrofe existente entre la sana y la isquémica y un mantenimiento de la misma en la zona no isquémica. Previamente, otros autores concluyeron una disminución de la frecuencia fibrilatoria en el miocardio isquémico (Rankovic et al., 1999).

Interpretamos estos resultados como un efecto beneficioso del entrenamiento, ya que parece interferir positivamente con el proceso de deterioro del miocardio tras la oclusión coronaria. No obstante, este resultado hay que interpretarlo con cautela y con las limitaciones que tiene, ya que nosotros hemos estudiado el grado de disminución de la frecuencia dominante, pero no hemos realizado un análisis de la extensión de las variaciones de la misma en el tejido miocárdico.

#### **4.3.4. Respecto al coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular.**

El coeficiente de variación de la frecuencia dominante lo investigamos, tal y como previamente hemos hecho constar, como una herramienta para valorar la heterogeneidad miocárdica. En el capítulo de Resultados se muestra que, tras la oclusión arterial coronaria, se presenta una heterogeneidad significativa en la

frecuencia dominante de la fibrilación ventricular en los corazones pertenecientes al grupo control, mientras que en el grupo entrenado no apareció tal heterogeneidad. Este resultado es una manifestación de la heterogeneidad electrofisiológica que el proceso isquémico produce sobre el miocardio ventricular afectado por dicho trastorno.

La heterogeneidad menos significativa en el valor de la frecuencia dominante del miocardio ventricular del grupo entrenado, tras la oclusión coronaria, lo interpretamos como un efecto beneficioso a la vista de los principios electrofisiológicos que atribuyen a la heterogeneidad eléctrica un papel fundamental en la aparición y perpetuación de las arritmias por re-entrada (para revisión ver cita de Jalife, 2000). Como se señala en la revisión de Jalife acabada de citar, son ya clásicas las investigaciones de Han y Moe (1964), en las que se efectuaron una serie de experimentos para comprobar los efectos de varios agentes farmacológicos sobre el período refractario del músculo ventricular, estableciendo la importancia de la heterogeneidad en el período refractario para la inducción de fibrilación ventricular. Ya previamente, Moe y Abildskov (1959) demostraron que la fibrilación auricular podía persistir con una serie de características (p.ej.: autosostenida e independiente de su agente productor), pero únicamente si existía una inhomogeneidad en la repolarización. Sabemos que el miocardio es un sincitio funcional,

pero no es absolutamente homogéneo desde el punto de vista electrofisiológico. Existe falta de continuidad y falta de homogeneidad en el mismo, tanto a nivel estructural, como desde el punto de vista de las propiedades eléctricas de la membrana, lo que se agrava ostensiblemente en situaciones patológicas, como es el caso de la isquemia. Este incremento de heterogeneidad es responsable de la aparición de bloqueos en la conducción, dispersión espacial de la repolarización etc. (Kléber & Rudy, 2004), lo que a su vez facilita la aparición del fenómeno de la re-entrada y las arritmias ligadas al mismo.

El efecto protector del ejercicio físico crónico sobre la heterogeneidad miocárdica producida por la oclusión arterial coronaria ha sido recientemente investigada por otros autores (Hajnal et al., 2005), que usaron como parámetro de inhomogeneidad el tiempo de activación eléctrica de distintos puntos del miocardio ventricular. Estos autores ya realizaron previas investigaciones en perros sometidos a determinados protocolos de ejercicio físico, a los que toracotomizados y anestesiados, les sometieron a oclusión coronaria observando una menor incidencia de arritmias letales (Babai et al., 2002) y una menor inhomogeneidad electrofisiológica.

El papel de la heterogeneidad en la aparición de fenómenos ligados a la FV ha sido relatado por Kléber y Rudy (2004) en una reciente revisión al respecto, una de cuyas conclusiones es que “la interacción entre la cabeza de un frente de onda y la cola del frente de onda precedente es un determinante importante del período de rotación de un potencial de acción re-entrante y de la estabilidad de la re-entrada y de la onda de excitación espiral. En principio, la inestabilidad de los rotores puede resultar únicamente como una consecuencia de esta interacción, en un medio completamente homogéneo y eléctricamente continuo. Sin embargo, la heterogeneidad, que es inherente al tejido cardiaco (expresión y función de los canales iónicos, conexiones intercelulares, estructura tisular), se acentúa durante la remodelación del tejido enfermo y esto es determinante para las ondas de re-entrada y sus propiedades dinámicas, con importantes consecuencias para las arritmias cardiacas”.

#### **4.3.5. Respecto a la inducibilidad de la fibrilación ventricular mediante extraestímulos.**

Si bien los resultados respecto a este aspecto no han arrojado significación estadística alguna, se puede hablar de una tendencia en

el caso del efecto de la aplicación de un extraestímulo. Es decir, en la fase más prematura de la oclusión coronaria, la aplicación de un extraestímulo tiende a revestir características de menor malignidad en el caso del corazón procedente de animales entrenados. Asimismo, si bien pese a que el número global de fibrilaciones inducidas fue menor, pero sin alcanzar significación estadística en el grupo de animales entrenados, esto también nos parece indicar una vez más una tendencia, que se halla presente de una manera constante en el análisis de otros parámetros de la presente tesis. Este resultado y el parámetro analizado nos obliga a ampliar, en sucesivas investigaciones, el número de experimentos.

En conclusión, la realización de ejercicio físico crónico aumenta la refractariedad miocárdica ventricular por mecanismos intrínsecos y, parece modificar en la misma dirección, la longitud de onda del proceso de activación eléctrica miocárdica ventricular intrínseca. Asimismo parece proteger, en cierta medida, al miocardio sometido a isquemia regional de los mecanismos ligados al deterioro metabólico, como así parece desprenderse del análisis de las variaciones de la frecuencia dominante, y también parece proteger frente a los mecanismos implicados en la génesis de arritmias por re-entrada, como es el caso de la que mayor malignidad reviste, esto es, la fibrilación ventricular. Pensamos en la necesidad de proseguir y

ampliar el número de experimentos con el fin de asentar más firmemente la existencia de mecanismos intrínsecos que modifiquen las propiedades electrofisiológicas del miocardio. Nuestros resultados plantean el interés de investigar los mecanismos básicos, a nivel celular, sobre los que se asientan las modificaciones intrínsecas encontradas por nosotros.



# *Capítulo 5*

---

## *Conclusiones*

## 5. Conclusiones.

Hemos realizado un estudio sobre los efectos del ejercicio físico crónico sobre las modificaciones intrínsecas de la refractariedad ventricular, la velocidad de conducción ventricular, la longitud de onda del proceso de activación miocárdica ventricular y las características de la fibrilación ventricular en el dominio de la frecuencia, en el miocardio ventricular del corazón de conejo aislado y nutrido, con un medio de perfusión normalmente oxigenado. Asimismo, hemos investigado en este modelo experimental los efectos que la oclusión arterial coronaria aguda ejerce sobre dichos parámetros, así como sobre el coeficiente de variación de la frecuencia dominante, como herramienta para el análisis de la heterogeneidad miocárdica y la inducibilidad de la fibrilación ventricular mediante la aplicación de extraestímulos. Las conclusiones más relevantes de dicho estudio han sido:

El ejercicio físico crónico en nuestro modelo experimental:

1. Aumenta la refractariedad ventricular, la velocidad de conducción y la longitud de onda del proceso de activación miocárdica ventricular, por mecanismos intrínsecos y, por tanto, no dependientes de factores nerviosos y/o humorales. Por tanto, el

ejercicio físico modifica favorablemente mecanismos antiarrítmicos intrínsecos.

2. No ha conseguido mantener las modificaciones sobre los anteriores parámetros, en el sentido que acabamos de apuntar, tras la oclusión arterial coronaria aguda.
3. Disminuye la heterogeneidad miocárdica ventricular producida por la oclusión arterial aguda, que es la base de la aparición de arritmias por re-entrada, ya que si bien el miocardio contiene discontinuidades estructurales y heterogeneidades, éstas llegan a ser más importantes en circunstancias fisiopatológicas como la isquemia, y son los mayores determinantes de bloqueos de conducción y de dispersión espacial de la repolarización.
4. Si bien no ha disminuido significativamente la inducibilidad de la fibrilación ventricular tras la oclusión coronaria, la tendencia a la disminución observada plantea el interés de proseguir la investigación de este parámetro.

5. Parece disminuir el daño metabólico producido por la oclusión coronaria, ya que disminuye la caída de la frecuencia dominante mínima de la fibrilación ventricular, parámetro este que está relacionado con el estado metabólico en la isquemia miocárdica.
  
6. Como conclusión final, podemos plantear la posibilidad de que el ejercicio físico regular exhiba efectos beneficiosos, a través de la modificación de algunas propiedades electrofisiológicas de carácter intrínseco y, por tanto, no dependientes de factores nerviosos y/o humorales, que probablemente dificulten la instauración de arritmias por re-entrada. Si bien el presente trabajo no es en absoluto concluyente, sí que apunta en la dirección que acabamos de comentar y, por tanto, nos plantea la necesidad de proseguir estas investigaciones.

## *Capítulo 6*

---

### **Referencias bibliográficas**

## 6. Referencias bibliográficas.

### **Abildskov, 1994**

Abildskov JA. Additions to the wavelet hypothesis of cardiac fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 5: 553-559, 1994.

### **Aguinaga et al., 1998**

Aguinaga L, Mont L, Anguera I, Valentino M, Matas M y Brugada J. Pacientes con cardiopatía estructural, síncope de etiología desconocida y arritmias ventriculares inducibles tratados con desfibrilador implantable. *Rev Esp Cardiol* 51: 566-571, 1998.

### **Allen & Orchard, 1987**

Allen DG and Orchard CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circ Res* 60: 153-168, 1987.

### **Allessie et al., 1996**

Allessie MA, Konings K, Kirchhof CJHJ and Wijffels M. Electrophysiologic mechanisms of perpetuation of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 77: 10A-23A, 1996.

**Anderson & Prystowsky, 1999**

Anderson JL and Prystowsky. Sotalol: An important new antiarrhythmic. *Am Heart J* 137(3):388-409, 1999.

**Armour et al., 1997**

Armour JA, Murphy DA, Yuan BX, Macdonald S, and Hopkins DA. Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system. *Anat Rec* 247: 289-298, 1997.

**Babai et al., 2002**

Babai L, Szigeti Zs, Parratt JR, and Vegh A. Delayed cardioprotective effects of exercise in dogs are aminoguanidine sensitive: possible involvement of nitric oxide. *Clinical Science* 102: 435-445, 2002.

**Bakth et al., 1986**

Bakth S, Arena J, Remy WL, Hider B, Patel BC, Lyons MM and Regan TJ. Arrhythmia susceptibility and myocardial composition in diabetes: influence of physical conditioning. *J Clin Invest* 77: 382-395, 1986.

**Bartels et al., 1997**

Bartels R, Menges M, and Thimme W. Der einfluß von körperlicher aktivitat auf die inzidenz des plotzlichen herstodes. *Med Klin* 92: 319-325, 1997.

**Berlin & Colditz, 1990**

Berlin JA and Colditz GA. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 1312: 612-628, 1990.

**Billman et al., 1984**

Billman GE, Schwartz PJ and Stone HL. The effects of daily exercise on susceptibility to sudden cardiac death. *Circulation* 69: 1182-1189, 1984.

**Billman, 1990**

Billman GE. The effect of carbachol and cyclic GMP on susceptibility to VF. *FASEB J* 4:1668-1673, 1990.



**Billman, 1994**

Billman GE. Role of the ATP sensitive potassium channel in extracellular potassium accumulation and cardiac arrhythmias during myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res* 28: 762-769, 1994.

**Billman, 2002**

Billman GE. Aerobic exercise conditioning: a nonpharmacological antiarrhythmic intervention. *J Appl Physiol* 92: 446-454, 2002.

**Blair et al., 1996**

Blair SN, Kampert JB, Kohl III HW, Barlow CE, Macera CA, Paffenbarger RS and Gibbons LW. Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular diseases and all-cause mortality in men and women. *JAMA* 276: 205-210, 1996.

**Blomqvist & Saltin, 1983**

Blomqvist CG and Saltin B. Cardiovascular adaptations to physical exercise. *Annu Rev Physiol* 45:169-189, 1983.

**Brendorp et al., 2002**

Brendorp B, Pedersen O, Torp-Pedersen C, Sahebzadah N, and Kober L. A benefit-risk assessment of class III antiarrhythmic agents. *Drug Saf* 25:847-65, 2002.

**Brorson et al., 1976**

Brorson L, Conrad Son TB, Olsson B and Varnauskas E. Right arterial monophasic action potential and effective refractory periods in relation to physical training and maximal heart rate. *Cardiovasc Res* 10: 160-168, 1976.

**Brown et al., 1991**

Brown CG, Griffith RF, Van Ligten P, Hoekstra J, Nejrnan G, Mitchell L, et al. Median frequency. A new parameter for predicting defibrillation success rate. *Ann Emerg Med* 20:787-789, 1991.

**Brugada et al., 1990**

Brugada J, Boersma L, Kirchhof C, Brugada P, Havenith M, Wellens HJJ, et al. Double-wave reentry as a mechanism of acceleration of ventricular tachycardia. *Circulation* 81: 1633-1643, 1990.

**Burton & Cobbe, 1998**

Burton FL and Cobbe SM. Effect of sustained stretch on dispersion of ventricular fibrillation intervals in normal rabbit hearts. *Cardiovasc Res* 39:351-359, 1998.

**Cabo et al., 1994**

Cabo C, Pertsov AM, Baxter WT, Davidenko JM, Gray RA, and Jalife J. Wave-front curvature as a cause of slow conduction and block in isolated cardiac muscle. *Circ Res* 75: 1014-1028, 1994.

**Cánoves, 2001**

Cánoves J. Estudio experimental de la relación existente entre la longitud de onda del proceso de activación miocárdico y las características espectrales de la fibrilación ventricular. Tesis doctoral 20-21, 2001.

**Capucci et al., 1995**

Capucci A, Coronel R, et al. Variability of recovery in the normal canine and the ischaemic porcine heart. *Eur Heart J* 6:41-52, 1995.

### **CAST 1989, 1992**

Cardiac Arrhythmias Suppression Trial (CAST) Investigators. *N Engl J Med* 321:406-12, 1989. Preliminary report: effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction.

Cardiac Arrhythmias Suppression Trial II (CAST) Investigators. Effect of antiarrhythmic agent moricizine on survival after myocardial infarction. *N Engl J Med* 327:227-33, 1992.

### **Carlisle et al., 1990**

Carlisle EJJ, Allen JD, Kernohan G, Leahey W, and Adgey AAJ. Pharmacological analysis of established ventricular fibrillation. *Br J Pharmacol* 100: 530-534, 1990.

### **Carrroll & Dudfield, 2004**

Carroll S and Dudfield M. What is the relationship between exercise and metabolic abnormalities?. A review of the metabolic syndrome. *Sports Med* 34(6):371-418, 2004.

**Cha et al., 1994**

Cha YM, Birgersdotter-Green U, Wolf PL, Peters BB, and Chen PS. The mechanism of termination of reentrant activity in ventricular fibrillation. *Circ Res* 74: 495-506, 1994.

**Chorro et al., 1988**

Chorro FJ, Ruiz-Granell R, Casadan E, Garcia-Civera R, Such L, and López-Merino V. Mathematical descriptions of AV nodal function curves in dogs. *Pacing Clin Electrophysiol* 11: 679-686, 1988.

**Chorro et al., 1996**

Chorro FJ, Sánchez-Muñoz JJ, Sanchis J, Cortina J, Bataller M, Guerrero J, Espi J, Ruipérez J, and López Merino V. Modifications in the evolution of the dominant frequency in ventricular fibrillation induced by amiodarone, diltiazem, and flecainide. *J Electrocardiol* 29: 319-326, 1996.

**Chorro et al., 1997**

Chorro FJ, Sanchis J, Such L, Garcia-Civera R, Llavador E, Llavador JJ, Monmeneu JV, and Lopez-Merino V. Are double potentials markers of a specific zone of the atrioventricular junction

in the isolated rabbit heart?. *Pacing Clin Electrophysiol* 20: 2385-93, 1997.

**Chorro et al., 1998**

Chorro FJ, Guerrero J, Cánoves J, Martínez-Sober M, Mainar L, Sanchis J, Calpe J, Llavador E, Espi J, and Lopez-Merino V. Quantification of the modifications in the dominant frequency of ventricular fibrillation under conditions of ischemia and reperfusion: An experimental study. *Pacing Clin Electrophysiol* 21: 1716-1723, 1998.

**Chorro et al., 1999**

Chorro FJ, Mainar L, Sanchis J, Cánoves J, Porres JC, Guerrero J, Millet J, Llavador E, Such LM, Egea S, Lopez-Merino V, and Such L. The activation patterns during atrial fibrillation in an experimental model. *Rev Esp Cardiol* 52: 327-38, 1999.

**Chorro et al., 2000**

Chorro FJ, Cánoves J, Mainar L, Sanchis J, Such L, and López Merino V. Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil and sotalol. An experimental study. *Circulation* 101: 1606-1615, 2000.

**Chorro et al., 2001**

Chorro FJ, Mainar L, Sanchis J, Canoves J, Llavador E, Such LM, Cerda M, López-Merino V, and Such L. Mapping of atrial activation patterns after inducing contiguous radiofrequency lesions: an experimental study. *Pacing Clin Electrophysiol* 24(2): 147-56, 2001.

**Chorro et al., 2005**

Chorro FJ, Trapero I, Guerrero J, Such LM, Canoves J, Mainar L, Ferrero A, Blasco E, Sanchis J, Millet J, Tormos A, Bodi V, and Alberola A. Modification of ventricular fibrillation activation patterns induced by local stretching. *J Cardiovasc Electrophysiol* 16:1087-96, 2005.

**Clusin et al., 1984**

Clusin WT, Buchbinder M, Ellis AK, Kernoff RS, Giacomini JC, and Harrison DC. Reduction of ischemic repolarization by the calcium channel blocker diltiazem. *Circ Res* 54: 10-20, 1984.

**Davidenko et al., 1992**

Davidenko JM, Pertsov AV, Salomonsz JR, Baxter W, and Jalife J. Stationary and drifting spiral waves of excitation in isolated cardiac muscle. *Nature* 355: 349-351, 1992.

**De Ferrari et al., 1991**

De Ferrari GM, Vanoli E, Stramba-Badiale M, Hull SS Jr, Foreman RD, and Schwartz PJ. Vagal reflexes and survival during acute myocardial ischemia in conscious dogs with healed myocardial infarction. *Am J Physiol* 261: H63-H69, 1991.

**De Ferrari et al., 1993**

De Ferrari GM, Salvati P, Grossoni M, Ukmar Vaga L, Patrono C, and Schwartz PJ. Pharmacologic modulation of the autonomic nervous system in the prevention of sudden cardiac death: a study with propanolol, methacholine and oxotremorine in conscious dogs with a healed myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 21: 283-290, 1993.



**DiCarlo & Bishop, 1990**

DiCarlo SE and Bishop VS. Exercise training enhances cardiac afferent inhibition of baroreflex function. *Am J Physiol* 258: 212-220, 1990.

**Dillon et al., 1988**

Dillon SM, Allesie MA, Ursell PC, and Wit AL. Influences of anisotropic tissue structure on reentrant circuits in the epicardial border zone of subacute canine infarcts. *Circ Res* 63: 182-206, 1988.

**Dorian & Newman, 1997**

Dorian P and Newman D. Tedisamil increases coherence during ventricular fibrillation, and decreases defibrillation energy requirements. *Cardiovasc Res* 33: 485-494, 1997.

**Echt et al., 1991**

Echt DS, Liebson PR, Mitchell LB, et al. Mortality and morbidity in patients receiving encainide, flecainide, or placebo. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial. *N Engl J Med* 324 (12): 781-88, 1991.

**Efimov et al., 1999**

Efimov IR, Sidorov V, Cheng Y, and Wollenzier B. Evidence of three-dimensional scroll waves with ribbon-shaped filament as a mechanism of ventricular tachycardia in the isolated rabbit heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 10: 1452-1462, 1999.

**Eggenreich et al., 1996**

Eggenreich U, Fleischmann PH, Stark G, and Wach P. Effects of propafenone on the median frequency of ventricular fibrillation in Langenforff perfused guinea-pig hearts. *Cardiovasc Res* 31: 926-931, 1996.

**Ekelund et al., 1988**

Ekelund LG, Haskell WL, Jonson JL, Whaley FS, Criqui MH, and Sheps DS. Physical fitness as a predictor of cardiovascular mortality in asymptomatic North American men: the lipid research clinic mortality follow-up study. *N Engl J Med* 319: 1379-1384, 1988.

**Elharrar et al., 1977**

Elharrar V, Foster PR, Jirak TL et al. Alterations in canine myocardial excitability during ischemia. *Circ Res* 40:98-105, 1977.

**Farges et al., 1977**

Farges JP, Ollagnier M, and Faucon G. Influence of acetylcholine, isoproterenol, quinidine and ouabain on effective refractory periods of atrial and ventricular myocardium in the dog. *Arch Int Pharmacodyn* 277: 206-219, 1977.

**Ferrero et al., 1996**

Ferrero JM (Jr), Saiz J, Ferrero J, Roa L, and Thakor N. Simulation of action potential from metabolically impaired cardiac myocytes: role of ATP-sensitive K<sup>+</sup> current. *Circ Res* 79: 208-221, 1996.

**Gazmuri et al., 2001**

Gazmuri RS, Ayoub IM, and Shidrokt AS. Ventricular fibrillation waveform analysis for guiding the time for electrical defibrillation. *Crit Care Med* 29(12): 2395-2397, 2001.

**Gray et al., 1995**

Gray RA, Jalife J, Panfilov A, Baxter WT, Cabo C, Davidenko JM, et al. Mechanisms of cardiac fibrillation. *Science* 270: 1222-1223, 1995.

**Gray et al., 1998**

Gray RA, Pertsov AM, and Jalife J. Spatial and temporal organization during cardiac fibrillation. *Nature* 392: 75-78, 1998.

**Gray, 1999**

Gray RA. Why exactly are optically recorded "action potentials". *J Cardiovasc Electrophysiol* 10: 1452-62, 1999.

**Gwathmey et al., 1990**

Gwathmey JK, Slawsky MT, Perreault CL, Briggs GM, Morgan JP and Wei JY. Effect of exercise conditioning on excitation-contraction coupling in aged rats. *J Appl Physiol* 69: 1366-1371, 1990.

**Hajnal et al., 2006**

Hajnal A, Nagy O, Litvai A, Papp J, Parratt JR and Végh A. Nitric oxide involvement in the delayed antiarrhythmic effect of treadmill exercise in dogs. *Life Sciences* 77: 1960-1971, 2005.

**Hamra & McNeil, 1997**

Hamra M and McNeil RS. Accentuated antagonism in canine subendocardium is not altered by chronic exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 29: 1013-20, 1997.

**Han & Moe, 1963**

Han J and Moe GK. Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle. *Circ Res* 14: 4-60, 1963.

**Han & Moe, 1964**

Han J and Moe GK. Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle. *Cir Res* 14: 44-60, 1964.

**Harris, 1966**

Harris AS. Potassium and experimental coronary occlusion. *Am Heart J* 71: 797-802, 1966.

**Hertzeanu et al., 1993**

Hertzeanu HL, Shermesh J, and Aron LA. Ventricular arrhythmias in rehabilitated and nonrehabilitated postmyocardial infarction patients with left ventricular dysfunction. *Am J Cardiol* 71: 24-27, 1993.

**Hillsley et al., 1994**

Hillsley RE, Wharton JM, Cates AW, et al. Why do some patients have high defibrillation thresholds at defibrillation implantation? *PACE* 17: 222-39, 1994.

**Himmel et al., 1999**

Himmel H, Wettwer E, Li Q and Ravens U. Four different components contribute to outward current in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 277: H107- H118, 1999.

**Horacek et al., 1984**

Horacek T, Neumann M, Van Mutius S et al. Nonhomogeneous electrophysiological changes and the bimodal distribution of early ventricular arrhythmias during acute coronary occlusion. *Basic Res Cardiol* 79:649-67, 1984.

**Hull et al., 1994**

Hull SS Jr, Vanoli E, Adamson PB, Verrier RL, Foreman RD, and Schwartz PJ. Exercise training confers anticipatory protection from sudden death during acute myocardial ischemia. *Circulation* 89: 548-552, 1994.

**Ideker et al., 1977**

Ideker RE, Bandura JP, Cox JW Jr, Keller FW, Mirvis DM, and Brody DA. Path and significance of heart vector migration during QRS and ST-T complexes of ectopic beats in isolated perfused rabbit hearts. *Circ Res* 41(4): 558-64, 1977.

**Jalife, 2000**

Jalife J. Ventricular fibrillation: Mechanisms of initiation and maintenance. *Ann Rev Physiol* 62: 25-50, 2000.

**James & Spence, 1966**

James TN and Spence CA. Distribution of cholinesterase within the sinus node and AV node of the human heart. *Anat Rec* 155: 151-62, 1966.

**Janse et al., 1985**

Janse MJ, Capucci A, Coronel R, et al. Variability of recovery in the normal canine and the ischaemic porcine heart. *Eur Heart J* 6:41-52, 1985.

**Jew et al., 2001**

Jew KN, Charlotte M, Mokolke A, Palmer M and Moore L. Endurance training alters outward  $K^+$  current characteristics in rat cardiocytes. *J Appl Physiol* 90: 1327-1333, 2001.

**Jinbo et al., 1998**

Jinbo Y, Kobaashi Y, Miyata A, Chiyoda K, Nakagawa H, Tanno K, Kurano K, Kidushima S, Baba T, and Katagiri T. Decreasing parasympathetic tone activity and proarrhythmic effect alter radiofrequency catheter ablation, differences in ablation site. *Jpn Circ J* Oct 62(10): 733-40, 1998.

**Johnson et al., 2004**

Johnson TA, Gray AL, Lauenstein JM, Newton SS, and Massari VJ. Parasympathetic control of the heart. An interventriculo-septal ganglion is the major source of the vagal intracardiac innervation of the ventricles. *J Appl Physiol* 96: 2265-2272, 2004.

**Jones & Klein, 1984**

Jones DL and Klein GJ. Ventricular fibrillation: the importance of being coarse?. *J Electrocardiol* 7: 393-399, 1984.



**Jose & Taylor, 1969**

Jose AD and Taylor RR. Autonomic blockade by propranolol and atropine to study intrinsic myocardial function in man. *J Clin Invest* 48: 2019-31, 1969.

**Kirkels et al., 1989**

Kirkels J, Van Echteld C, and Ruigrok T. Intracellular magnesium during myocardial ischemia and reperfusion: possible consequences for postischaemic recovery. *J. Moll Cell Cardiol* 21: 1209-18, 1989.

**Kleber, 1984**

Kleber AG. Extracellular potassium accumulation in acute myocardial ischemia. *J Moll Cell Cardiol* 16: 389-394, 1984.

**Kléber & Rudy, 2004**

Kléber AG and Rudy Y. Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiol Rev* 84: 431-488, 2004.

**Kokkinos et al., 1995**

Kokkinos PF, Narayan P, Colleran JA, Pittaras A, Notargiacomo A, Reda D, and Papademetriou V. Effects of regular exercise on blood pressure and left ventricular hypertrophy in african-american men with severe hypertension. *The New England Journal Of Medicine* 30: 1462-1467, 1995.

**Kwan et al., 1998**

Kwan YY, Fan W, Hough D, Lee JJ, Fishbein MC, Karagueuzian HS, et al. Effects of procainamide on wave-front dynamics during ventricular fibrillation in open-chest dogs. *Circulation* 97: 1828-1836, 1998.

**Lee et al., 1996**

Lee JJ, Kamjoo K, Hough D, Hwang C, Fan W, Fishbein MC, et al. Reentrant wave fronts in Wiggers' stage II ventricular fibrillation. Characteristics and mechanisms of termination and spontaneous regeneration. *Circ Res* 78: 660-675, 1996.

**Levy & Zieske, 1969**

Levy MN and Zieske H. Autonomic control of cardiac pacemaker activity and atrioventricular transmission. *J Appl Physiol* 27: 465-70, 1969.

**Liu & Nattel, 1997**

Liu L and Nattel S. Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: role of refractoriness heterogeneity. *Am J Physiol* 273: H805-H816, 1997.

**López et al., 2005a**

López L, Benítez J, Trapero I, Chorro FJ, Such L, Gómez MC and Alberola A. Effects of physical training on the intrinsic atrial refractoriness. *J Physiol Biochem*, 61 (1), 295, 2005.

**López et al., 2005b**

López L, Such LM, Trapero I, Benítez J, Alberola A, Such L, San Valero E, and Chorro FJ. Physical training produces intrinsic modifications on the electrophysiological properties of ventricular myocardium. An experimental study. *J Physiol Biochem*, 61 (1), 102, 2005.

**Llavador, 2001**

Llavador E. Estudio experimental de la respuesta auricular ante ritmos ventriculares rápidos. Tesis doctoral, 57, 2001.

**Mace et al., 2003**

Mace LC, Palmer BM, Browm DA, Jew KN, Lynch JM, Glunt JM, Parsons TA, Cheung JY and Moore RL. Influence of age and run training on cardiac Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange. *J Appl Physiol* 95:1994-2003, 2003.

**Madrid et al., 1998**

Madrid AH, Cinca J, y Moro C. Registro nacional de desfibriladores automáticos implantables en 1996. *Rev Esp Cardiol* 51: 349-355, 1998.

**Marn-Pernat et al., 2001**

Marn-Pernat A, Weil MH, and Tang W. Optimizing timing of ventricular fibrillation. *Crit Care Med* 29: 2360-2365, 2001.

**Martín et al., 1984**

Martín G, Cosín J, and Such M. The evaluation of ECG power spectrum during ventricular fibrillation. *Eur Heart J* 5: 356-363, 1984.

**Martín et al., 1986**

Martín G, Cosín J, Such M, Hernández A, and Llamas P. Relation between power spectrum time course during ventricular fibrillation and electromechanical dissociation. Effects of coronary perfusion and nifedipine. *Eur Heart J* 560-569, 1986.

**Mezzani et al., 1990**

Mezzani A, Giovannini T, Michelucci A, Padeletti L, Resina A, Cupelli V and Musante R. Effects of training on the electrophysiologic properties of atrium and accessory pathway in athletes with Wolff-Parkinson-White syndrome. *Cardiology* 77(4): 295-302, 1990.

**Mitrani & Zipes, 1994**

Mitrani RD and Zipes DP. Clinical neucardiology: arrhythmias. In: Neurocardiology, edited by Armour JA and Ardell JL. New York: Oxford Univ. Press, p.365-396, 1994.

**Moe et al., 1941**

Moe GK, Harris S, and Wiggers CJ. Analysis of the initiation of fibrillation by electrocardiographic studies. *Am J Physiol* 134: 473-487, 1941.

**Moe & Abildskov, 1959**

Moe GK and Abildskov JA. Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J* 58: 59-70, 1959.

**Moe, 1962**

Moe GK. On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 140: 183-188, 1962.

**Mokelke et al., 1997**

Mokelke EA, Palmer BM, Cheung JY and Moore RL. Endurance training does not affect intrinsic calcium current characteristics in rat myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 273: H1193-H1197, 1997.

**Moore et al., 1993**

Moore RL, Musch TI, Yelamarty RV, Scaduto RC, Semanchick Jr. AM, Elensky M and Cheung JY. Chronic exercise alters contractility and morphology of isolated rat cardiac myocytes. *Am J Physiol* 264: C1180-C1189, 1993.

**Morady et al., 1988**

Morady F, Kou WH, Nelson SD, de Buitleur M, Schmaltz S, Kadish AH, Toivonen LK, and Kushner JA. Accentuated antagonism between beta-adrenergic and vagal effects on ventricular refractoriness in humans. *Circulation* 77: 289-97, 1988.

**Natali et al., 2002**

Natali AJ, Wilson LA, Peckham M, Turner DL, Harrison SM and White E. Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. *Journal of Physiology*, 541: 863-875, 2002.

**Neumar et al., 1990**

Neumar R, Brown CG, Robitaille PM, et al. Myocardial high energy phosphate metabolism during ventricular fibrillation with total circulatory arrest. *Resuscitation* 19: 199-226, 1990.

**Nichols & Lederer, 1991**

Nichols CG and Lederer WJ. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system. *Am J Physiol* 261: H1675-1686, 1991

**Noma, 1983**

Noma A. ATP-regulated K<sup>+</sup> channels in cardiac muscle. *Nature* 305: 147-148, 1983.

**Opie, 1984**

Opie L. Energy metabolism and ventricular function. In: Opie L. The heart: physiology, metabolism, pharmacology, therapy. Grune & Stratton. P 111-198. Orlando 1984.

**Paffenbarger & Hale, 1975**

Paffenbarger RS and Hale WE. Work activity and coronary heart mortality. *N Engl J Med* 292: 545-550, 1975.

**Palmer et al., 1999**

Palmer BM, Lynch JM, Snyder SM and Moore RL. Effects of chronic run training on Na<sup>+</sup>-dependent Ca<sup>2+</sup> efflux from rat left ventricular myocytes. *J Appl Physiol* 86: 584-591, 1999.

**Pauza et al., 2000**

Pauza DH, Skripa V, Pauziene N, and Stropus R. Morphology, distribution, and variability of the epicardiac neural ganglionated subplexuses in the human heart. *Anat Rec* 1;259(4): 353-82, 2000.



**Penny , 1984**

Penny WJ. The deleterious effects of myocardial catecholamines on cellular electrophysiology and arrhythmias during ischaemia and reperfusion. *Eur Heart* 55:960-73, 1984.

**Pertsov et al., 1993**

Pertsov AM, Davidenko JM, Salomonsz R, Baxter WT, and Jalife J. Spiral waves of excitation underlie reentrant activity in isolated cardiac muscle. *Circ Res* 72: 631-650,1993.

**Prystowsky et al., 1981**

Prystowsky JN, Jackman WM, Rickenberger RL, Heger JJ, and Zipes DP. Effect of autonomic blockade on ventricular refractoriness and atrioventricular nodal conduction in humans: evidence supporting a direct cholinergic action on ventricular muscle refractoriness. *Circ Res* 49: 511-18, 1981.

**Randall et al., 1991**

Randall WC, Randall DC, and Ardell JL. Autonomic regulation of myocardial contractility. In: Reflex Control of the Circulation, edited by Zucker IH and Gilmore JP. Boston, MA: CRC, p. 39-65, 1991.

**Rankovic et al., 1999**

Rankovic V, Patel N, Jain S, Robinson N, Goldberger J, Horvath G, and Kadish A. Characteristics of ischemic and peri-ischemic regions during ventricular fibrillation in the canine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 10 (8): 1090-100, 1999.

**Rardon & Bailey, 1983**

Rardon DP and Bailey JC. Parasympathetic effects on electrophysiologic properties of cardiac ventricular tissue. *JACC* 2(6): 1200-1209, 1983.

**Rodríguez & Viñolas, 1999**

Rodríguez Font E y Viñolas Prat X. Muerte súbita (III). Causas de muerte súbita. Problemas a la hora de establecer y clasificar los tipos de muerte. *Rev Esp Cardiol* 52: 1004-1014, 1999.

**Rogers et al., 1999**

Rogers JM, Huang J, Smith WM, and Ideker RE. Incidence, evolution, and spatial distribution of functional reentry during ventricular fibrillation in pigs. *Circ Res* 84: 945-954, 1999.

**Ropella, 2001**

Ropella KM. Frequency domain analysis of endocardial signals. *Ann. Ist. Super. Sanità* 3: 351-359, 2001.

**Sanjuán et al., 1994**

Sanjuán R, Morell S, Samper J, García-Civera R, Ruiz R, Muñoz J, et al. Incidencia y significado de los potenciales tardíos en pacientes con muerte súbita abortada. *Rev Esp Cardiol* 47: 157-164, 1994.

**Scheuer & Tipton, 1997**

Scheuer J and Tipton CM. Cardiovascular adaptations to physical training. *Ann Rev Physiol* 39: 221-251, 1997.

**Schmid et al., 1978**

Schmid PT, Grief BJ, Lund DD, and Roskoski R. Regional choline acetyltransferase activity in guinea pig heart. *Cir Res* 42: 657-60, 1978.

**Scholz, 1996**

Scholz H. Ventricular cardiac arrhythmias. New anti-arrhythmia agents *Z Kardiol* 85 Suppl 6: 91-6, 1996.

**Schwartz & Stone, 1982**

Schwartz PJ and Stone HL. The role of the autonomic nervous system in sudden coronary death. *Ann NY Acad Sci* 382: 162-181, 1982.

**Singh, 1993**

Singh B. N. Arrhythmia control by prolonging repolarization: the concept and its potential therapeutic impact. *European Heart Journal* 14:14-23, 1993.

**Spear & Moore, 1973**

Spear JF and Moore EN. Influence of brief vagal and stellate nerve stimulation on pacemaker activity and conduction within the atrioventricular conduction system of the dog. *Circ Res* 32: 27-41, 1973.

**Stein et al., 2002**

Stein R, Medeiros CM, Rosito GA, Zimmerman LI, and Ribeiro JP. Intrinsic sinus and atrioventricular node electrophysiologic adaptations in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol* 39: 1033-38, 2002.

**Stewart et al., 1996**

Stewart AJ, Allen JD, Devine AB, and Adgey AAJ. Effects of blockade of fast and slow inward current channels on ventricular fibrillation in the pig heart. *Heart* 76: 513-19, 1996.

**Strohmenher et al., 1997**

Strohmenher HU, Lindner KH, and Brown CG. Analysis of the ventricular fibrillation ECG signal amplitude and frequency parameters as predictors of countershock success in humans. *Chest* 111: 584-89, 1997.

**Such et al., 2002**

Such L, Rodriguez A, Alberola A , López L, Ruiz R, Artal L, Pons I, Pons ML, Garcia C, and Chorro FJ. Intrinsic changes on automatism, conduction, and refractoriness by exercise in insolated rabbit heart. *J Appl Physiol* 92: 225-229, 2002.

**Such et al., 2003**

Such L, Alberola A, Rodríguez A, Sanmiguel D, López L, Palau P, Vilariño B, Benavent J, Ramírez J, Pons R, García C and Chorro FJ. Intrinsic modifications of ventricular refractoriness by chronic exercise: a study in insolated rabbit heart. *J Physiol*, 548, 2003.

**Such et al., 2004**

Such LM, Trapero I, Alberola A, Cánoves J, Mainar L, Ferrero A, López L, Such L, Blasco E, y Chorro FJ. Efectos de la inhibición del sistema de intercambio  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  sobre la excitabilidad intrínseca del miocardio isquémico. *Latido* 2:107, 2004.

**Such et al., 2005**

Such LM, López L, Benítez J, Trapero I, Chorro FJ, Such L, Gómez MC and Alberola A. Effects of physical training on the intrinsic atrial refractoriness. *J Physiol Biochem* 61: 295, 2005.

**Sutton et al., 2000**

Sutton PMI, Taggart P, Opthof T, Coronel R, Trimlett R, Pugsley W and Kallis P. Repolarisation and refractoriness during early ischaemia in humans. *Heart* 84: 365-369, 2000.

**Swartz et al., 1993**

Swartz JF, Jones JL, and Fletcher RD. Characterization of ventricular fibrillation based on monophasic action potential morphology in the human heart. *Circulation* 87: 1907-14, 1993.

**Tamargo & Valenzuela, 1992**

Tamargo J y Valenzuela C. Fármacos antiarrítmicos. En: Flórez J, Farmacología humana 2ª ed, p 565-584, Ed. Masson-Salvat, Barcelona 1992.

**Tcheng, 1951**

Tcheng KT. Innervation of the dog's heart. *Am Heart J* 41:512-24, 1951.

**Tibbits et al., 1981**

Tibbits GF, Barnard RJ, Baldwin KM, Cugalj N and Roberts NK. Influence of exercise on excitation-contraction coupling in rat myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 240: H472-H480, 1981.

**Vanoli et al., 1991**

Vanoli E, De Ferrari GM, Stramba-Badiale M, Foreman RD, and Schwartz PJ. Vagal stimulation and prevention of sudden death in conscious dogs with a healed myocardial infarction. *Circ Res* 68: 1471-81, 1991.

### **Vaughan Williams, 1970**

Vaughan Williams EM. Classification of antiarrhythmic drugs. En: Sandone E, Flensted-Jensen E, Olesen KH editors. Symposium on cardiac arrhythmias. Stockholm, Sweden: Astra; 449-472, 1970.

### **Warner & Zipes, 1994**

Warner MR and Zipes DP. Vagal control of myocardial refractoriness. In: Vagal Control of the Heart: Experimental Basis and Clinical Implications, edited by Levy MN and Schwartz PJ. Armonk, NY: Futura p.261-276, 1994.

### **Weaver et al., 1985**

Weaver VY, Cobb LA, Dennis D, Roberta R, Alfred HP, and Copass CK. Amplitude of ventricular fibrillation waveform and outcome after cardiac arrest *Ann Intern Med* 102: 53-55, 1985.

### **Weiss et al., 1999**

Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Qu Z, and Chen PS. Chaos and the transition to ventricular fibrillation. A new approach to antiarrhythmic drug evaluation. *Circulation* 99: 2819-26, 1999.



**Wiffels et al., 1995**

Wiffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, and Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 92: 1954-1968, 1995.

**Witkowski et al., 1998**

Witkowski FX, Leon LJ, Penkoske PA, Giles WR, Spano ML, Ditto WL, et al. Spatiotemporal evolution of ventricular fibrillation. *Nature* 392: 78-82, 1998.

**Wolk et al., 1998**

Wolk R, Cobbe SM, Hicks MN, et al. Effects of lignocaine on dispersion of repolarisation and refractoriness in a working rabbit heart model of regional myocardial ischaemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 31:253-61, 1998.

**Wood et al., 1991**

Wood PD, Stefanick ML, Williams PT, and Haskell WL. The effects on plasma lipoproteins of a prudent weight-reducing diet, with or without exercise, in overweight men and women. *The New England Journal of Medicine* 325: 461-6, 1991.

**Wu et al., 2006**

Wu J, Wu J y Zipes D.P. Mecanismo de inicio de las taquiarritmias ventriculares. En Arritmias. Electrofisiología cardiaca. Zipes, D.P. y Jalife, J. eds. 4ª ed. Marbán Libros, S.L. Madrid. 2006.

**Yan et al., 1993**

Yan GX, Yamada KA, Kleber AG, Mc Howat J, and Corr PB. Dissociation between cellular  $K^+$  loss, in repolaritation time, and tissue ATP levels during myocardial hypoxia an ischemia. *Circ Res* 72: 560-570, 1993.

**Zaitsev et al., 2003**

Zaitsev A, Guha P, Sarmast F, Kolli A, Berenfeld O, Pertsov A, Groot J, Coronel R and Jalife J. Wavebreak formation during ventricular fibrillation in the isolated, regionally ischemic pig heart. *Circ Res* 92: 546-553, 2003.

**Zhou & Ideker, 1995**

Zhou X, Ideker RE, Blitchington TF, Smith WM, and Knisley SB. Optical transmembrane potential measurements during defibrillation-strength shocks in perfused rabbit hearts. *Circ Res* 77: 593-602, 1995.

**Zipes, 1975**

Zipes DP. Electrophysiological mechanisms involved in ventricular fibrillation. *Circulation* 52: 120-30, 1975.

**Zipes, 1992**

Zipes DP. Genesis of Cardiac Arrhythmias: Electrophysiological Considerations. En Braunwald, E. Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine. 4<sup>a</sup> ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1992.