

VNIVERSITAT Ò DE VALÈNCIA



Departament de Fisiologia

**ESTUDIO DE LOS EFECTOS DEL ENTRENAMIENTO
FÍSICO SOBRE ALGUNAS PROPIEDADES
ELECTROFISIOLÓGICAS MIOCÁRDICAS
VENTRICULARES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA
FIBRILACIÓN VENTRICULAR INDUCIDA. UNA
INVESTIGACIÓN EN CORAZÓN AISLADO DE CONEJO**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

D. GERMÁN PARRA GIRALDO

Dirigida por:

Prof. Dr. D. LUIS SUCH BELENGUER

Prof. Dr. D. LUIS SUCH MIQUEL

Valencia, 2012

D. Luis Such Belenguer, Doctor por la Universitat de València y Catedrático del Departament de Fisiologia de la Universitat de València y **D. Luis Such Miquel**, Doctor por la Universitat de València y Profesor Contratado Doctor del Departament de Fisioteràpia de la Universitat de València,

CERTIFICAN: Que la Tesis Doctoral que lleva por título “ESTUDIO DE LOS EFECTOS DEL ENTRENAMIENTO FÍSICO SOBRE ALGUNAS PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS MIOCÁRDICAS VENTRICULARES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR INDUCIDA. UNA INVESTIGACIÓN EN CORAZÓN AISLADO DE CONEJO.”, presentada por **Germán Parra Giraldo** 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, firmamos la presente en Valencia, a 12 de marzo de 2012.

Fdo.: **D. Luis Such Belenguer.**

Fdo.: **D. Luis Such Miquel.**

Esta tesis doctoral ha sido realizada con la ayuda concedida por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, para la realización de los proyectos de investigación: “Efectos electrofisiológicos del ejercicio físico crónico sobre la excitabilidad intrínseca miocárdica ventricular, y sobre sus modificaciones por disminución de la perfusión miocárdica regional aguda” (DEP 2006-56208-C03-01); y “Efecto del entrenamiento sobre la longitud de onda del proceso de activación ventricular, la frecuencia e inducibilidad de la fibrilación ventricular y la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio” (SAF2007-62412), de las que ha sido Investigador Principal el Prof. Dr. D. Luis Such Belenguer.

AGRADECIMIENTOS

Quiero aprovechar este espacio para dejar plasmado mis agradecimientos muy profundos y sinceros a todas aquellas personas que de una forma directa e indirecta han aportado dedicación, esfuerzo, comprensión, motivación y estímulo para llevar a término este gran desafío que queda representado en esta Tesis Doctoral.

A Jaime, porque una conversación casual se convirtió en la chispa que necesitaba para decidir presentarme al doctorado.

A Luis, porque su pasión por la docencia y la investigación me contagió desde el principio para intentar seguir su camino. Además, ha sido mi mentor y casi “un padre” en las actividades diarias realizadas. A él le debo lo que soy en este mundo de la investigación y es un modelo de persona: humana, honesta y servicial.

A Antonio, porque siempre ha estado allí cuando lo he necesitado y siempre ha sabido darme ese puntito de confianza, muchas veces necesitado.

A Luis SM, porque con nuestros diálogos he conseguido entender los parapetos de la investigación y las cargas emocionales que conlleva.

A Javier, porque en su discreción ha estado siempre disponible para ofrecernos toda su ayuda.

A Manolo, porque ha sabido entender con paciencia mis problemas, inquietudes y frustraciones. Compañero de batalla.

A Laia, porque con ella he aprendido a poner el punto de sensibilidad en la faena diaria y entender que también hay vida fuera del ámbito laboral.

A los profesores y profesoras de la Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València, que de una manera u otra me han aportado su conocimiento, experiencia y en muchos casos me han hecho sentir perteneciente a una gran familia.

A las secretarias del Departamento de Fisiología: Mari, Elena, Eva. Siempre disponibles para prestar la ayuda y gestión requerida.

A las veterinarias de la Unidad Central de Investigación del INCLIVA, Ana e Inma, porque han sido un apoyo para la gestión y manejo de los animales

A los técnicos del animalario Luisa, Quique y Rafa y a Mari Carmen; y en especial a Pily y a Carmiña. A todos y todas, que han pasado por allí.

A los chicos y chicas que han venido incorporándose al Grupo de Electrofisiología Cardíaca, porque gracias a ellos he podido aligerar un poco la faena diaria obligatoria de mi puesto de técnico investigador y han sabido

comprender mi estrés y mal genio. Isabel, Paqui, Laura, Angels, Bea, Rita, Alberto, Diana, Mariano, Carlos, Nathalia, Irene, Jaume, Manu, Frank, Catia y Laura.

A los compañeros del Departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia, Álvaro, Toni, Pepe, Edu y Xavi.

A mi familia, porque desde la distancia han sufrido y entendido mi ausencia como un paso más para mi realización profesional.

A ella, porque estuvo allí.

Y a ti cariño, porque el destino ha querido que te hicieras partícipe de este logro y espero con muchísima ilusión que podamos seguir compartiendo juntos muchos más por el resto de nuestras vidas.

A todas aquellas personas que por algún motivo haya pasado por alto y que han aportado su granito de arena para la realización de este proyecto.

...A TODOS, MUCHAS GRACIAS.

SIGLAS Y ABREVIATURAS

AV	—	Auriculoventricular.
DPA	—	Duración del potencial de acción.
FA	—	Fibrilación auricular.
FD	—	Frecuencia dominante de la señal fibrilatoria.
FDM	—	Frecuencia dominante media de la señal fibrilatoria.
FV	—	Fibrilación ventricular.
LO	—	Longitud de onda.
OAC	—	Oclusión arterial coronaria.
PA	—	Potencial de acción.
PR	—	Periodo refractario
PRE	—	Periodo refractario efectivo.
PREV	—	Periodo refractario efectivo ventricular.
PRFV	—	Periodo refractario funcional ventricular.

PRFFV	—	Periodo refractario funcional durante la fibrilación ventricular.
TEEV	—	Test del extraestímulo ventricular.
TV	—	Taquicardia ventricular.
VC	—	Velocidad de conducción.

Canales iónicos que vehiculan corriente

I_{Ca}	—	de corriente de entrada lenta de Ca^{2+} .
I_{CaL}	—	de corriente de Ca^{2+} de larga duración.
I_{CaT}	—	de corriente de Ca^{2+} transitoria.
I_K	—	de corriente rectificadora retardada de K^+ .
I_{KATP}	—	de corriente de K^+ regulada por ATP.
I_{KAA}	—	de corriente de K^+ activada por ácido araquidónico.

I_{KUr}	—	de corriente rectificadora tardía o ultrarrápida.
I_{K1}	—	de corriente rectificadora de entrada o anómala.
I_{Na}	—	de corriente rápida de entrada de Na^+ .
$I_{sus} (I_{late})$	—	de corriente repolarizante de K^+ de inactivación lenta.
I_{to}	—	de corriente transitoria de salida de K^+ .

ÍNDICE

	pág.
I. INTRODUCCIÓN	3
1.1. OBJETIVOS.....	3
1.2. JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	4
1.2.1. Efectos del ejercicio físico crónico	4
1.2.1.1. Generalidades acerca de los efectos del ejercicio físico crónico sobre los diferentes aparatos y sistemas del organismo	4
1.2.1.2. Efectos cardiovasculares	14

1.2.1.2.1.	Efectos cardiovasculares generales del entrenamiento.....	14
1.2.1.2.2.	Automatismo y conducción auriculoventricular.....	26
1.2.1.2.3.	Refractariedad	43
1.2.1.2.4.	Velocidad de conducción	65
1.2.1.2.5.	Heterogeneidad y estabilidad electrofisiológica	80
1.2.2.	Generalidades sobre los efectos biológicos de la isquemia miocárdica aguda.....	83

1.2.5. Consideraciones sobre el uso del análisis espectral de la fibrilación ventricular para el estudio de las variaciones de las propiedades electrofisiológicas del miocardio.....127

1.2.5.1. Generalidades sobre la fibrilación ventricular127

1.2.5.2. Métodos de análisis de la fibrilación ventricular135

1.2.5.3. Frecuencia Dominante. Correspondencia de este parámetro con las propiedades electrofisiológicas miocárdicas y utilidad del mismo148

1.3. CONSIDERACIONES FINALES: RESUMEN DE LA JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	152
1.4. PLAN DE TRABAJO	154
II. MATERIAL Y MÉTODOS	159
2.1. MATERIAL.....	159
2.1.1. Animales de experimentación: características.....	159
2.1.2. Reactivos	160
2.1.3. Aparatos	160

2.2. MÉTODOS	170
2.2.1. Protocolo de entrenamiento físico	170
2.2.2. Preparación experimental	174
2.2.3. Protocolo electrofisiológico	179
2.2.4. Protocolo de desfibrilación	181
2.2.5. Parámetros estudiados y determinación de los mismos	183
2.2.6. Grupos de estudio.....	205
2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	206
2.4. LEGISLACIÓN	207

III. RESULTADOS	211
3.1. PARÁMETROS DE ENTRENAMIENTO	211
3.1.1. Determinaciones <i>in vivo</i> : Lactato venoso	211
3.1.2. Determinaciones <i>in vitro</i> : Longitud del ciclo sinusal basal	212
3.2. REFRACTARIEDAD	213
3.2.1. Periodos refractarios determinados con el test del extraestímulo	213
3.2.2. Periodos refractarios funcionales ventriculares determinados durante la FV inducida y sin interrumpir la perfusión	219

3.3. VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN	221
3.4. LONGITUD DE ONDA DEL PROCESO DE ACTIVACIÓN	222
3.5. FRECUENCIA DOMINANTE DE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR.....	224
3.5.1. Pre-oclusión.....	224
3.5.2. Post-oclusión	225
3.6. COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LA FRECUENCIA DOMINANTE DE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR	229
3.6.1. Pre-oclusión.....	229
3.6.2. Post-oclusión	230

3.7. ENERGÍA MÍNIMA NECESARIA A APLICAR
MEDIANTE DESFIBRILADOR CON EL FIN DE
INTERRUMPIR EL PROCESO FIBRILATORIO232

3.8. FIBRILACIÓN AL PRIMER INTENTO233

3.9. PESO Y FLUJO CORONARIO DE LOS
CORAZONES.....234

IV. DISCUSIÓN 239

4.1. CONSIDERACIONES DE CARÁCTER
METODOLÓGICO.....240

4.2. CONSIDERACIONES RESPECTO A LOS
RESULTADOS OBTENIDOS.....253

4.2.1. Respecto a las concentraciones venosas de lactato y al automatismo sinusal como parámetros de entrenamiento	254
4.2.2. Respecto a la refractariedad en circunstancias de normal perfusión	259
4.2.3. Respecto a la refractariedad en circunstancias de isquemia regional aguda	267
4.2.4. Respecto a los periodos refractarios funcionales ventriculares durante la FV (PRFFV) en el corazón normalmente perfundido.....	270
4.2.5. Respecto a los periodos refractarios funcionales ventriculares durante la FV tras isquemia regional aguda.....	271

4.2.6. Respecto a la VC en el corazón normalmente perfundido.....	273
4.2.7. Respecto a la VC en el corazón tras isquemia regional aguda.....	274
4.2.8. Respecto a la LO del proceso de activación previamente a la oclusión arterial coronaria.....	276
4.2.9. Respecto a la LO en el corazón tras isquemia regional aguda.....	279
4.10. Respecto a la FD de la FV previamente a la oclusión coronaria.....	280
4.11. Respecto a la FD de la FV tras la oclusión arterial coronaria.....	283

4.12. Respecto al CV de la FV, como parámetro de heterogeneidad, previamente a la oclusión coronaria.....	286
4.13. Respecto al CV de la FV como parámetro de heterogeneidad, tras la oclusión coronaria.....	288
4.15. Respecto a la facilidad para inducir la FV y a la energía mínima necesaria para interrumpir el proceso fibrilatorio en el miocardio isquémico	292
4.3. CONSIDERACIONES FINALES RESPECTO A LOS RESULTADOS OBTENIDOS	295
4.4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	296

V. CONCLUSIONES	305
------------------------	------------

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	311
---------------------------------------	------------

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Efectos cardiacos generales orientativos del entrenamiento.....	21
Tabla 1.2. Repuesta cardiovascular al ejercicio en un sujeto entrenado y en otro no entrenado.....	22
Tabla 1.3. Algunas diferencias cardiovasculares de personas que practican algún deporte frente a los sedentarios.....	22
Tabla 1.4. Diámetro de las fibras y velocidad de conducción en el corazón humano.....	73
Tabla 2.1. Composición nutricional del pienso alimentario.....	174

Tabla 3.1. Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la concentración de lactato en sangre venosa212

Tabla 3.2. Media y desviación estándar de los valores de la refractariedad ventricular en diferentes trenes de estimulación previos a la OAC215

Tabla 3.3. Media y desviación estándar de los valores de la refractariedad ventricular en diferentes trenes de estimulación previos (Pre) y después de 20 minutos (20' post) a la OAC217

Tabla 3.4. Media y desviación estándar de la velocidad de conducción (VC) y de la longitud de onda (LO) del proceso de activación del miocardio, previo (pre) y posterior (post) a la OAC.....223

Tabla 3.5. Media y desviación estándar de la frecuencia dominante (FD) de la fibrilación ventricular (FV) inmediatamente después de desencadenada la FV (previo a la OAC) y en varios tiempos después de ésta.....225

Tabla 3.6. Media y desviación estándar de la frecuencia dominante (FD) de la fibrilación ventricular (FV), previas a la OAC (basal) y durante varios tiempos después de la OAC (post)227

Tabla 3.7. Media y desviación estándar de la frecuencia dominante (FD) de la FV, previas a la OAC (basal) y durante varios tiempos después de ésta (post)228

Tabla 3.8. Media y desviación estándar del coeficiente de variación (CV) de la frecuencia

dominante (FD) de la fibrilación ventricular (FV) inmediatamente después de desencadenada la FV (previo a la OAC) y en varios tiempos después de ésta, en corazones aislados de conejos en grupo control y entrenado.....230

Tabla 3.9. Media y desviación estándar del coeficiente de variación (CV) de la frecuencia dominante (FD) de la fibrilación ventricular (FV) previamente a la OAC (basal) y durante varios tiempos después de la OAC (post)231

Tabla 3.10. Media y desviación estándar del peso y flujo coronario (normalizado por el peso) de los corazones235

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1.** PA de membrana normal y respuestas a una serie de estímulos aplicados durante y al final de la repolarización y después de él y duraciones aproximadas de los periodos refractarios.....46
- Figura 1.2.** Distribución de las cargas intracelulares durante la propagación de un PA, desde la despolarización (fuente) al resto de la célula (sumidero)75
- Figura 1.3.** Modelo de re-entrada anatómica determinada presentado por Mines, 1913.....78
- Figura 1.4.** Electrocardiogramas y potencial de acción grabado en un corazón de cerdo al principio

de un periodo isquémico, tras 12 minutos de
isquemia y en reperusión.92

Figura 2.1. Tapiz rodante y unidad de control161

Figura 2.2. Equipo de medición de lactato
Accutrend[®] Lactate161

Figura 2.3. Estimulador Grass S88[®]162

Figura 2.4. Electrodo múltiple de registro164

Figura 2.5. Sistema de cartografía MAPTECH[®]165

Figura 2.6. Programa Pacemap[®]166

Figura 2.7. Programa MatLab[®]167

Figura 2.8. Esquema de una preparación de corazón aislado de conejo.	168
Figura 2.9. Equipo desfibrilador y ubicación de las palas	170
Figura 2.10. Animal dentro del aparato con cinta rodante	171
Figura 2.11. Distintos momentos de la preparación experimental	176
Figura 2.12. Ubicación de los electrodos.....	179
Figura 2.13. Representación grafica del test del extraestímulo ventricular	185

Figura 2.14. Mediadores de la reacción cromática para la determinación de la concentración de lactato con el equipo de medición Accutrend [®] Lactate	191
Figura 2.15. Temporización de las determinaciones de lactato.....	193
Figura 2.16. Determinación de la frecuencia cardíaca, mediante la medida de la LCSB entre dos electrogramas ventriculares (V-V).....	194
Figura 2.17. Periodo refractario efectivo ventricular y funcional ventricular.	196
Figura 2.18. Calculo del percentil 5 de un histograma de los intervalos V-V para la determinación del PRFFV.	197

Figura 2.19. Mapas de activación.....	199
Figura 2.20. Espectro de frecuencias representado frente a la amplitud del trazado de FV y registro de la FV analizado	203
Figura 3.1. Efecto del entrenamiento físico sobre la LCSB (intervalos V-V) <i>in vitro</i>	213
Figura 3.2. Período refractario efectivo ventricular previamente a la OAC.	215
Figura 3.3. Período refractario funcional ventricular previamente a la OAC.	216
Figura 3.4. Período refractario efectivo ventricular posterior a la OAC determinado con diferentes trenes de estimulación.	218

Figura 3.5. Período refractario funcional ventricular posterior a la OAC y determinado en diferentes trenes de estimulación.218

Figura 3.6. Periodos refractarios funcionales ventriculares determinados durante la FV inducida, antes y después de la OAC.....220

Figura 3.7. Media y desviación estándar de la VC previa y posterior a la OAC.223

Figura 3.8. Media y desviación estándar de la LO previa y posterior a la OAC.224

Figura 3.9. FDM en diferentes tiempos y posterior a la OAC.....227

Figura 3.10. CV de la FDM en diferentes tiempos después de instaurada la FV y previamente a la OAC..229

Figura 3.11. Energía mínima necesaria para interrumpir el proceso fibrilatorio en los primeros momentos de instaurada la FV y en los primeros instantes después de la OAC.....233

Figura 3.12. Número de corazones que fibrilaron al primer intento tras inducir la FV programada.234

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVOS

Investigar en un modelo de corazón aislado de conejo, el efecto de la realización regular de ejercicio físico sobre las modificaciones que la oclusión arterial coronaria (OAC) aguda ejerce sobre las propiedades miocárdicas ventriculares relacionadas con la mayor o menor facilidad para la instauración de arritmias por re-entrada, esto es, la refractariedad, la velocidad de conducción (VC), la longitud de onda (LO), la frecuencia dominante y la heterogeneidad electrofisiológica. Asimismo, constituye objetivo de la investigación, determinar en situación de normoxia, el número de corazones que mediante el primer intento de inducción fibrilatoria, se logra desencadenar dicha arritmia, y realizar el análisis cuantitativo de la energía necesaria para

revertir el proceso fibrilatorio en los corazones aislados sometidos a OAC y procedentes de animales sometidos a un protocolo de ejercicio físico.

1.2. JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO

1.2.1. Efectos del ejercicio físico crónico

1.2.1.1. Generalidades acerca de los efectos del ejercicio físico crónico sobre los diferentes aparatos y sistemas del organismo.

La realización regular de ejercicio físico implica a diferentes áreas y procesos: máxima captación de oxígeno, funciones hemodinámicas centrales, función del sistema nervioso autónomo, función muscular y vascular

periférica, y capacidad para la ejecución del ejercicio físico submáximo. Todas estas adaptaciones constituyen una situación o estado de entrenamiento, el cual permite al individuo realizar ejercicio a un mayor pico de trabajo de carga con menores frecuencias cardiacas a cualquier nivel submáximo de ejercicio (Fletcher *et al.*, 2001). Se trata tanto de cambios de carácter bioquímico, como de funciones fisiológicas que implican a los diversos órganos y sistemas funcionales de entre las que revisten especial importancia las adaptaciones cardiovasculares. De entre los cambios bioquímicos cabe destacar: a) mayor capacidad de soporte frente a concentraciones de lactato en sangre, incrementadas durante ejercicios máximos (Jacobs, 1987), por la realización del entrenamiento anaeróbico; b) aumento de la reserva de los sustratos anaerobios e incremento del dispositivo enzimático que opera sobre ellos (Houston, 1977); c) menor uso del glucógeno y del cúmulo de lactato muscular y sanguíneo

en ejercicios submáximos, lo que supone un aumento del umbral anaeróbico; d) aumento del tamaño y de la cantidad de mitocondrias (Barnard, 1970 y Kiessling, 1971), cambios cualitativos en las propiedades intrínsecas de éstas, después del entrenamiento la sensibilidad de la mitocondria al ADP está disminuida mientras que el efecto de la creatina sobre la respiración está aumentada (Tonkonogi & Sahlin, 2002), lo que conlleva un mejor control de la producción energética aeróbica y por lo tanto mayor capacidad para la fosforilación oxidativa (Holloszy & Coyle, 1984); e) Incremento en las concentraciones de fosfágenos y ATP, y de la mioglobina (Pattengale & Holloszy, 1967); f) mayor facilidad para la movilización y uso de ácidos grasos (Riviere, 1989); g) aumento de la capacidad para hacer glucólisis aerobia; h) modificación del porcentaje de un determinado tipo de fibra muscular (que supone un determinado tipo de metabolismo) con respecto a otro; i) reducción de la grasa corporal y

aumento de la masa proteica muscular, con pérdida de peso (Zuti & Golding, 1976); j) incremento en la captación y unión del Ca^{2+} debido al entrenamiento, así como un aumento en la actividad del retículo, explicado por una relajación más rápida de los corazones (Penpargkul *et al.*, 1970, tomado de Schaible & Scheuer, 1985). En general, en el proceso de adaptación al ejercicio físico o entrenamiento y en el de desadaptación o desentrenamiento, se produce desplazamiento de equilibrio entre procesos de síntesis y de ruptura a nivel molecular, y en la actualidad, constituye un objetivo prioritario descubrir las rutas de señalización que regulan este balance (Åstrand *et al.*, 2003).

De entre los cambios respiratorios, encontramos: a) aumenta el consumo máximo de oxígeno (que es el pico máximo de captación de oxígeno originado por el ejercicio muscular, y puede calcularse mediante el

producto del gasto cardiaco por la diferencia arteriovenosa de oxígeno) durante el ejercicio, así como la eliminación de anhídrido carbónico por unidad de aire espirado y por minuto (Selkurt, 1984); b) aumento del volumen minuto a expensas del volumen corriente, como expone Selkurt (1984): "La frecuencia ventilatoria se acelera en relación lineal con la ventilación pulmonar, pero los atletas respiran menos veces para conseguir la misma ventilación por minuto". Esta diferencia podría atribuirse a dos factores: el atleta puede tener por una parte vías aéreas superiores más grandes, con la consiguiente menor resistencia al flujo aéreo y mayor desplazamiento volumétrico con cada respiración, y por otra parte mayor distensibilidad torácica y pulmonar, de modo que su volumen pulmonar cambia más por cada cambio unitario de la presión intrapulmonar (Barnard, 1970); c) aumento de la capacidad de difusión de los gases en el sector alvéolo-capilar, lo que parece estar

relacionado más bien con una superficie alvéolo-capilar más extensa y, a su vez, una mayor capacidad de difusión (Bouchard, 1992).

Los cambios en la composición de la sangre, como es el caso del volumen plasmático, permitirán una mejor nutrición tisular y una eficaz termorregulación (Covertino, 1982). El incremento del hematocrito tras el ejercicio es menor en el entrenado. El ligero aumento del número de eritrocitos parece ser debido a un incremento de la actividad eritropoyética (Bouchard, 1992). En la persona entrenada no se produce la ligera anemia que ocurre tras la realización de un ejercicio físico duradero e intenso, y probablemente debida a la fuerte hematocateresis no contrarrestada rápidamente, como pasa en los entrenados (González, 1992).

Especialmente importantes son los cambios que afectan a la fisiología del Sistema Nervioso tales como a) una disminución del tono de la división simpática con niveles sanguíneos y/o urinarios de catecolaminas más bajos en reposo (Hartley *et al.*, 1972, citados por Fletcher *et al.*, 2001; Bowers *et al.*, 1995; Hespel *et al.*, 1988; Kjaer *et al.*, 1986); b) aumento de la sensibilidad a las catecolaminas. Molé, 1978 (tomado de Schaible & Scheuer, 1985), relata que en sujetos entrenados, la sensibilidad a las mismas está aumentada. Ello puede ser debido a un incremento del estado inotrópico, ya que encontró un aumento en la velocidad de contracción relacionado con la administración de isoproterenol.

Clásicamente ha sido atribuido al ejercicio físico regular un incremento del tono parasimpático (Scheuer & Tipton, 1977). Con posterioridad, diversos autores han asentado las afirmaciones publicadas por

Scheuer & Tipton. Todos los cambios del tono simpático se acompañan además de un incremento del tono parasimpático.

Dixon *et al.*, 1992 (citado por Yamamoto *et al.*, 2001) observaron un mayor control vagal cardiaco y un menor control simpático cardiaco en atletas de resistencia que en controles sedentarios.

Billman & Kukielka (2006), estudiando en perros los efectos del entrenamiento sobre la variabilidad de la frecuencia cardiaca y la susceptibilidad de padecer muerte súbita, observaron que el entrenamiento incrementó la actividad vagal cardiaca. Estos mismos autores, en un trabajo posterior (2007) sobre el efecto del entrenamiento en el establecimiento y en la recuperación de la frecuencia cardiaca como respuesta a un ejercicio submáximo en perros susceptibles a fibrilación ventricular

(FV), volvieron a objetivar que el entrenamiento producía un aumento en los índices de la actividad vagal cardiaca.

Seals & Chase (1989) estudiando la influencia del entrenamiento sobre la variabilidad de la frecuencia cardiaca y el control barorreflejo circulatorio en hombres observaron que el entrenamiento de resistencia y extenuante producía pequeñas reducciones de la frecuencia cardiaca en reposo y que podía incrementar el tono cardiaco vagal en reposo.

Bedford & Tipton (1987) concluyeron en un estudio realizado en ratas que el control barorreflejo de la presión arterial era atenuado por efecto del entrenamiento.

Finalmente y de un modo también resumido cabe hacer mención a algunos aspectos relacionados con

el sistema endocrino. En primer lugar diremos que las modificaciones endocrinas por el entrenamiento, se producen cuando los entrenamientos han sido de larga duración (años), lo que no ocurre cuando el entrenamiento se ha producido en cortos períodos de tiempo (Åstrand *et al.*, 2003). Por otra parte es importante señalar también que: a) se producen cambios en la sensibilidad a las diferentes hormonas por parte de las células sobre las que actúan, como consecuencia del entrenamiento (Åstrand *et al.*, 2003) como es el caso paradigmático de la insulina y sus receptores en tejido adiposo y muscular (James *et al.*, 1985); b) respecto a la hormona del crecimiento (GH), parece ser que un año de entrenamiento amplifica la liberación pulsátil de GH en reposo, a diferencia del entrenamiento de resistencia breve, que no es acompañado por incrementos de dicha hormona (Eliakim *et al.*, 1988); c) “el entrenamiento físico, practicado de forma habitual y con fines deportivos,

produce profundos efectos sobre el sistema hormonal de las mujeres y efectos transitorios sobre la capacidad de reproducción femenina” (González, 1992), habiéndose detectado “oligomenorrea, amenorrea y retraso en la menarquia en atletas entrenadas y habituadas al entrenamiento físico. Se ha constatado, además, una relación entre la modalidad deportiva, el grado e intensidad del entrenamiento realizado y el trastorno menstrual” (González, 1992).

Respecto a las modificaciones cardiovasculares por el ejercicio físico regular las vamos a desligar de este apartado para, en el siguiente, hacer una consideración especial de las mismas.

1.2.1.2. Efectos cardiovasculares.

1.2.1.2.1. Efectos cardiovasculares generales del entrenamiento.

Al igual que ocurre con otros tejidos también el músculo cardiaco es sensible a cambios, resultado de adaptaciones, producidos por la realización regular de ejercicio físico.

Es posible el aumento del gasto cardiaco a expensas de un aumento en el gasto sistólico, en la persona entrenada, más que a un incremento de la frecuencia cardiaca, ya que la frecuencia cardiaca máxima normalmente no aumenta en las personas sanas (Hartley *et al.*, 1969). No obstante, Schaible & Scheuer (1985), no relacionaron el aumento del $VO_2\text{max}$ solamente a adaptaciones cardiovasculares, sino también

a un aumento en la capacidad respiratoria celular, es decir, a la capacidad mitocondrial.

A nivel cardiovascular, una adaptación central es el mayor gasto cardiaco que se puede lograr con un ejercicio máximo, a diferencia de los valores submáximos que no suelen cambiar (Saltin *et al.*, 1968, citado por Fletcher *et al.*, 2001), como en cambio sí lo hace la frecuencia cardiaca submáxima por el entrenamiento, acompañada esta modificación de cambios concomitantes del volumen sistólico.

La disminución de la frecuencia cardiaca submáxima se acompaña generalmente de un aumento concomitante del volumen sistólico. Aunque los mecanismos de estos cambios no son conocidos, Fletcher *et al.* (2001) plantearon la posibilidad de que los cambios sobre la función del corazón como bomba puedan ser debidos a un aumento de la contractilidad.

Otra modificación fue estudiada por Schaible & Scheuer (1985), que atribuyeron el aumento del volumen sistólico al mecanismo de la Ley de Frank-Starling, ya que ha sido relatado que la realización de ejercicio físico produce un aumento de las cámaras cardíacas, lo que conlleva un incremento de la capacidad para recibir mayor cantidad de sangre, es decir, un incremento en el retorno venoso. Ese aumento del retorno venoso va seguido de un incremento de la expulsión.

Pelliccia *et al.* (1991) relataron que el aumento del volumen sistólico producido por el entrenamiento de resistencia, se halla relacionado con el agrandamiento del tamaño de la cámara cardíaca y con el mayor llenado de la misma por la sangre.

Otro mecanismo que se ha tratado de implicar en el aumento del volumen sistólico y que hemos acabado

de comentar, es el aumento del estado inotrópico del corazón en los individuos entrenados. Pero la evidencia de un aumento de la contractilidad en sujetos entrenados durante el ejercicio es algo contradictoria. Los estudios de Stein *et al.*, 1978 y Anholm *et al.*, 1982 (tomado de Schaible & Scheuer, 1985), mostraron un incremento en el acortamiento miocárdico en sujetos entrenados durante el ejercicio que puede haberse producido bajo condiciones de reposo. En 1982, un estudio de Bar-Shlomo y colaboradores, (Bar-Shlomo *et al.*, 1982, tomado de Schaible & Scheuer, 1985), no mostró diferencias en este acortamiento en reposo durante el ejercicio. Rerych, 1978, (tomado de Schaible & Scheuer, 1985) relató una disminución del acortamiento en sujetos entrenados, en reposo, pero no mostraron diferencias durante el ejercicio. Curiosamente, los estudios de Paulsen *et al.*, 1981 y Anholm *et al.*, 1982 (citados por Schaible & Scheuer, 1985) demostraron, respectivamente,

un decremento en reposo o incremento durante la actividad en los valores de la velocidad de acortamiento.

El entrenamiento produce cambios en las dimensiones cardiacas. Así, Schaible & Scheuer (1985), relataron que en atletas de resistencia se produjo un aumento del tamaño miocárdico junto con ciertos cambios electrocardiográficos y fonocardiográficos, de donde deriva el concepto del “síndrome del corazón del atleta”. Estos cambios pueden ocurrir en cuestión de algunas semanas (Saltin *et al.*, 1968), pero el mantenimiento del aumento del tamaño cardiaco incluso después de cierto tiempo de relativa inactividad, requiere haberse entrenado intensivamente durante varios años, tal y como señaló en una revisión al respecto Blomqvist & Saltin (1983). Según algunos autores, el entrenamiento de resistencia, ocasiona un aumento del volumen telediastólico sin cambios en el grosor de la pared ventricular, la cual sí

aumentó de grosor con la realización de ejercicios isométricos, sin variaciones en el volumen ventricular izquierdo, como relataron Blomqvist & Saltin (1983). En posteriores estudios se relató que la realización de ejercicios, tanto de tipo dinámico como isométrico, produjo un aumento de la masa total ventricular izquierda; pero el aumento de la masa normalizada respecto al peso corporal total o al peso magro total, solamente se produjo en los entrenamientos de resistencia (Blomqvist & Saltin, 1983). En estudios experimentales, se ha visto que al parecer hay una relación de proporcionalidad directa entre la magnitud de la hipertrofia y la duración del programa de entrenamiento, y de proporcionalidad inversa con la edad (Blomqvist & Saltin, 1983). No están claros los mecanismos de producción de la hipertrofia en los atletas de resistencia, postulándose distintas causas como son: el aumento de la carga, el aumento del volumen, el

aumento de la presión, o la prolongada estimulación por catecolaminas (Opie, 1998).

En las tablas 1.1., 1.2. y 1.3. se muestran algunas de las diferencias que acabamos de citar, entre los sujetos entrenados y no entrenados, extraídas de distintos autores.

	NO ENTRENADOS		ENTRENADOS	
	Reposo	Ejercicio	Reposo	Ejercicio
FRECUENCIA (latido/min)	72	180	40	180
VOLUMEN SISTÓLICO (ml)	70	100	140	190
GASTO CARDIACO (l/min)	5	18	5,6	35
VOLUMEN TELE DIASTÓLICO (ml)	145	160	200	220
VOLUMEN TELE SISTÓLICO (ml)	75	60	60	30
TIEMPO DE DIÁSTOLE (s)	0,53	0,13	1,1	0,08
TIEMPO DE SÍSTOLE (s)	0,3	0,2	0,4	0,2

Tabla 1.1. Efectos cardiacos generales orientativos del entrenamiento (tomado de Moffat y Mottram, 1987).

	SEDENTARIOS		ENTRENADOS	
	Reposo	Ejercicio	Reposo	Ejercicio
FRECUENCIA (latido/min)	82	200	58	192
VOLUMEN SISTÓLICO (l)	0,075	0,112	0,105	0,126
CONSUMO OXÍGENO (ml/min)	300	3,100	300	3,440
DIF. (A-V) O ₂ (ml)	48,8	138	49,3	140,5

Tabla 1.2. Respuesta cardiovascular al ejercicio en un sujeto entrenado y en otro no entrenado (López-Chicharro & Fernández, 2001).

	SEDENTARIOS		ENTRENADOS	
	Reposo	Ejercicio	Reposo	Ejercicio
VOLUMEN SISTÓLICO (ml)	75	110	105	162
FC (latido/min)	75	195	50	185
GASTO CARDIACO (l/min)	5,5	23	---	30
CAPACIDAD DE DIFUSIÓN DEL O ₂ (ml/min)	23	48	---	72
CONSUMO MÁXIMO DE O ₂ (ml/min)	---	3600	---	4000

Tabla 1.3. Algunas diferencias cardiovasculares de personas que practican algún deporte frente a los sedentarios, tanto en reposo como durante el esfuerzo. Tomado de Guyton & Hall (2006)

Respecto a la circulación coronaria, se ha descrito un aumento en el diámetro de la luz arterial en las arterias coronarias principales (Currens & White, 1961) en atletas de resistencia; asimismo y a nivel experimental, se ha encontrado también un aumento del lecho vascular coronario (Tepperman & Pearlman, 1961). Para algunos autores, el incremento en la vascularidad coronaria va paralelo al incremento de la masa miocárdica (Schaible & Scheuer, 1981, citados por Blomqvist & Saltin, 1983); mientras que para otros autores, hay aumento de la vascularidad incluso en ausencia de incrementos en la masa miocárdica (Blomqvist & Saltin, 1983).

Resultados experimentales indican que el entrenamiento físico aerobio induce un incremento tanto en el flujo sanguíneo y capacidad de intercambio capilar así como en la capacidad de difusión coronaria (Laughlin, 1994). En los animales entrenados, el producto

permeabilidad por superficie capilar y el flujo sanguíneo son más altos a una determinada presión de perfusión porque la resistencia vascular coronaria es menor, lo cual puede ser debido a modificaciones en la estructura vascular coronaria, a un control modificado de la resistencia vascular coronaria o a una combinación de ambos (Laughlin, 1994). Ha sido descrito que hay angiogénesis coronaria así como crecimiento de vasos en longitud y/o diámetro producido por el entrenamiento (Laughlin, 1994). Algunos autores plantean que el entrenamiento podría inducir modificaciones en la función vasomotora intrínseca del árbol arterial coronario, a través de modificaciones mediadas por el endotelio y modificaciones en el músculo liso vascular. Respecto a la circulación coronaria colateral, el entrenamiento no parece ejercer ninguna influencia en corazones normales. La práctica de ejercicio puede producir aumento en la vasodilatación dependiente de endotelio en la

microcirculación coronaria; estos efectos parecen resultar de la expresión incrementada de óxido nítrico sintasa a nivel vascular. De cualquier modo, hay evidencias que avalan la existencia de vasodilatación dependiente de endotelio en arterias coronarias de conductancia como un componente de la respuesta de la circulación coronaria al ejercicio (Laughlin, 1994).

Respecto a las modificaciones en la presión arterial por el entrenamiento, están ligadas a la edad, al nivel de aptitud física y al hecho de que la persona sea previamente normotensa o hipertensa. Si la presión arterial es fisiológica previamente a la iniciación del entrenamiento, si su grado de aptitud física es el normal y la edad no excede de aproximadamente treinta años, la presión arterial no se verá modificada. Sin embargo, se conseguirán descensos tensionales en reposo en personas previamente hipertensas, más cercanas a los

cuarenta años y a lo que llamamos tercera edad con un grado de aptitud física más bien deficiente (Bouchard, 1992). No obstante hay que decir, que si bien algunos autores no han hallado un efecto reductor de la presión arterial en normotensos (Frick *et al.*, 1963), otros autores sugieren un moderado descenso de la presión arterial, por el ejercicio crónico (Martin *et al.*, 1990).

1.2.1.2.2. Automatismo y conducción auriculoventricular (AV).

En este apartado abordaremos unos aspectos generales referentes a los mecanismos implicados en el automatismo nodal y la conducción AV (Opie, 2004), para en apartados posteriores referirnos a la refractariedad miocárdica y a la VC del impulso eléctrico a través de este tejido para posteriormente analizar los conocimientos

actuales acerca del efecto del ejercicio físico crónico sobre estos parámetros. Así mismo, y también en posteriores apartados analizaremos aspectos básicos relacionados con las modificaciones de la heterogeneidad y la estabilidad electrofisiológica miocárdica, por el ejercicio.

La despolarización diastólica (proceso de despolarización espontánea) durante la fase 4 del potencial de acción (PA), es la característica fundamental de las células del nódulo sinusal o sinoauricular. Las llamadas corrientes de entrada de calcio: la transitoria I_{Ca-T} y la de larga duración I_{Ca-L} son, en parte, responsables, de este potencial de marcapaso.

Cuando el potencial de membrana en reposo alcanza aproximadamente -40 mV, se dispara el PA, cuya pendiente de ascenso es claramente más lenta que la de

las células miocárdicas de trabajo debido a que en este caso no hay corrientes de entrada rápidas de sodio. En la fase de ascenso del PA participan las corrientes de entrada de calcio I_{Ca-L} , también se produce entrada lenta de sodio.

El PA, tanto de las células del nodo sinusal como el de las del nodo AV no presenta meseta ya que la repolarización se produce por un inicio rápido de la corriente rectificadora retardada de potasio (I_K) que es la principal corriente de potasio de las células marcapasos (Irasawa *et al.*, 1993, tomado de Opie, 2004). Estas células carecen del rectificador anómalo (I_{K1}). La caída en la intensidad de la corriente I_K es responsable de la primera fase de la despolarización diastólica de las células de los nodos sinusal y AV (Hagiwara *et al.*, 1988, tomado de Opie *et al.*, 2004). Adicionalmente a las anteriores corrientes que tienen efecto despolarizante,

existen otras como es la corriente marcapaso (I_f), probablemente vehiculada por iones de Na^+ y que se activa con la hiperpolarización de la membrana celular, es decir, con un valor más electronegativo de potencial de membrana. Esta corriente es activada por la acción del sistema nervioso simpático.

Respecto a las bases electrofisiológicas de la conducción AV a nivel del nodo, que es la estructura que más dificultad presenta al paso del impulso hacia los ventrículos, hay que decir de una manera resumida, que en esencia, tanto las corrientes despolarizantes como las repolarizantes son muy similares a las que operan en el nodo sinusal.

Tanto el nodo sinusal como el nodo AV están inervados por fibras adrenérgicas y colinérgicas. La estimulación β -adrenérgica actuando a través de la

formación de adenosín monofosfato 3'-5'cíclico (AMPC) aumenta la probabilidad de apertura de la corriente I_f y la corriente de entrada de calcio I_{Ca-L} , lo cual causa un incremento de la pendiente de despolarización diastólica y como consecuencia un aumento en la frecuencia de disparo del nodo sinusal. Lo contrario acontece con la estimulación vagal. Al parecer el óxido nítrico media estos efectos colinérgicos sobre el nodo sinusal. La estimulación simpática actúa también hiperpolarizando a las células del nodo sinusal y facilitando así la activación de la corriente I_f . Con elevadas concentraciones de acetilcolina se activa el canal de potasio regulado por dicho neurotransmisor produciéndose fuga de potasio hacia el líquido extracelular e hiperpolarizándose las células nodales. (Opie, 2004)

La práctica regular de ejercicio físico de resistencia produce cambios en varios parámetros

cardiovasculares en reposo, siendo especialmente significativos los cambios sobre el automatismo y la conducción. Una característica clásicamente descrita del efecto del entrenamiento aeróbico sobre las adaptaciones cardiovasculares es la disminución de la frecuencia cardíaca en reposo y durante ejercicios submáximos a valores francamente inferiores a los que exhiben los individuos sedentarios (Blumenthal *et al.*, 1990).

Para la mayoría de autores, la disminución de la frecuencia cardíaca es la consecuencia de una modificación del equilibrio entre la acción del sistema nervioso simpático y del sistema nervioso parasimpático sobre el corazón. Blomqvist & Saltin (1983) exponen que el entrenamiento puede modificar el equilibrio existente entre los componentes simpático y parasimpático del sistema nervioso vegetativo, produciéndose un incremento de la actividad parasimpática, como

clásicamente amplias evidencias han venido a demostrar (Scheuer & Tipton, 1997), lo que se manifiesta por una depresión del automatismo sinusal y por tanto de la frecuencia cardíaca. El entrenamiento ejerce unos efectos similares al bloqueo β -adrenérgico (Brundin *et al*, 1976).

En alguno de estos trabajos se publicó que tanto la frecuencia cardíaca máxima, como media y mínima, de deportistas jóvenes de alto nivel eran significativamente menores que la de los controles (Palatini *et al.*, 1985, Viitasalo *et al.*, 1982, revisados por Boraita & Serratosa, 1998).

Así, Bedford & Tipton (1987) observaron en un estudio sobre el control barorreflejo de la presión arterial, llevado a cabo en dos grupos de ratas, unas sometidas a entrenamiento, y otro grupo no entrenado, que el control barorreflejo de la frecuencia cardíaca se ve atenuado por

el ejercicio físico, lo cual aboga en favor de que las modificaciones de la frecuencia cardíaca por el entrenamiento se relacionan con modificaciones del sistema nervioso vegetativo.

En un estudio llevado a cabo por Seals & Chase (1989), en humanos sometidos a ejercicio físico, se analizó la variabilidad de la frecuencia cardíaca como índice de tono vagal cardíaco, y se encontró que en los humanos sometidos a entrenamiento se producía un incremento del tono vagal, así como pequeñas reducciones en la frecuencia cardíaca en reposo.

Furlan *et al.* (1993) realizaron un estudio en personas jóvenes sanas, con el fin de investigar los efectos precoces y tardíos del ejercicio y del entrenamiento sobre los mecanismos nerviosos que controlan la frecuencia cardíaca. Estos autores realizaron

un estudio sobre un grupo de adultos control (no entrenados), y lo compararon con un grupo de atletas durante un período de reposo (desentrenados), y con un tercer grupo de atletas durante su plan de entrenamiento. Las medidas realizadas fueron la variabilidad de la frecuencia cardíaca, los movimientos respiratorios y la presión arterial. Se realizó un análisis espectral de la variabilidad de los intervalos V-V y de la actividad respiratoria con el objetivo de observar los componentes frecuenciales ligados a la actividad parasimpática y aquellos dependientes de la actividad simpática. Estos autores observaron que había una bradicardia ligada al componente parasimpático que coexistía con signos de actividad simpática aumentada en los atletas en período de entrenamiento.

En otro estudio con similares objetivos llevado a cabo por Shi *et al.* (1995), en humanos sometidos a

bloqueos farmacológicos del sistema nervioso simpático con metoprolol y del parasimpático con atropina, antes y después de ser sometidos a entrenamiento físico, observaron que no se producían modificaciones de la frecuencia cardíaca cuando se bloqueaba el sistema nervioso simpático y parasimpático.

De Schryver *et al.* (1975), llevaron a cabo un estudio comparando las concentraciones de acetilcolina en el miocardio de un grupo de ratas sometidas a ejercicio físico, frente a un grupo control, encontrando que el entrenamiento produce un aumento del contenido total de las concentraciones de acetilcolina en el corazón, por lo que postularon que ello podría reflejar un incremento en la actividad nerviosa parasimpática sobre el corazón. No obstante estos autores plantean como materia de controversia si el sistema simpático o parasimpático

influyen fundamentalmente sobre la actividad del corazón en animales ejercitados crónicamente.

En cuanto a los efectos intrínsecos, Northcote *et al.* (1989) afirmaron que la bradicardia, más que una modificación adaptativa, podría ser una condición semejante a la enfermedad del nodo sinusal inducida por el ejercicio.

Anteriormente, Katona *et al.* (1982) llevaron a cabo una investigación sobre atletas, para estudiar los efectos tanto del sistema simpático como parasimpático sobre la frecuencia cardíaca en reposo. En dicha investigación administró propranolol y atropina al grupo de atletas y también al grupo control de personas no entrenadas. El resultado de dicha investigación fue que la frecuencia cardíaca de los atletas tenía un valor significativamente menor que la de los componentes del

grupo control, tras el bloqueo autonómico, por lo que concluyeron que la disminución de la frecuencia cardíaca en humanos entrenados se debe a mecanismos intrínsecos y no al aumento del tono parasimpático.

De la misma manera, Lewis *et al.* (1980) estudiaron en ciclistas el componente no autonómico de la bradicardia, en reposo y durante el ejercicio máximo y submáximo después de un entrenamiento de resistencia a largo plazo, y cuya frecuencia cardíaca compararon con la de sujetos no entrenados. Asimismo, compararon la frecuencia cardíaca de los deportistas antes de someterse a un bloqueo autonómico farmacológico y después del bloqueo. En este estudio concluyeron que en los humanos sometidos a ejercicio físico de larga evolución, se evidenciaba un importante componente no autonómico de la bradicardia tanto en reposo como tras el ejercicio.

Stein *et al.* (2002) realizaron una investigación acerca de las adaptaciones electrofisiológicas intrínsecas del nodo sinusal en atletas bien entrenados a los que se les bloqueó los receptores tanto β -adrenérgicos, como colinérgicos, esto es, se les practicó una denervación autónoma farmacológica. Los atletas presentaron unos parámetros de cronotropismo o automatismo sinusal (longitud del ciclo sinusal y tiempo de recuperación del nodo sinusal) más largos que los sujetos control.

No obstante, algunos autores no encontraron modificaciones de la frecuencia cardíaca en reposo después de un ejercicio crónico en preparaciones aisladas; así, Tipton *et al.* (1977) llevaron a cabo una serie de experimentos en un sistema de corazón aislado tipo Langendorff, en corazones de ratas sometidas a ejercicio físico, con el fin de estudiar la bradicardia producida por el entrenamiento, aunque los resultados no pudieron

demostrar la influencia del ejercicio físico sobre la frecuencia cardíaca.

Nuestro grupo investigador en trabajos previos encontró que probablemente existen mecanismos miocárdicos de carácter intrínseco que pueden intervenir también, al menos en parte, en la aparición de una depresión del cronotropismo sinusal.

Así, Such *et al.* (2002) en un estudio experimental con conejos sometidos a un protocolo de entrenamiento hallaron que en el corazón aislado, y por tanto no sometido a influencias nerviosas extrínsecas y/o humorales, la longitud del ciclo sinusal básico (inversa de la frecuencia cardíaca) era mayor que en los corazones aislados de los conejos control no sometidos a entrenamiento.

En relación con la conducción AV, se ha manifestado que la coexistencia del bloqueo AV tipo I en atletas, con la disminución de la frecuencia cardíaca, apoya que este bloqueo es inducido por el entrenamiento (Bjørnstad *et al.*, 1993). El hecho de que la resolución de los bloqueos auriculoventriculares, que aparecen también en atletas (Bjørnstad *et al.*, 1994), pueda ocurrir durante el ejercicio, permite atribuir la depresión de la conducción AV por el entrenamiento, a un aumento del tono vagal (Northcote *et al.*, 1989), ya que cuando se realiza el ejercicio, disminuye la acción del parasimpático y aumenta la del simpático.

No sólo el cronotropismo está deprimido como consecuencia del entrenamiento, sino también el dromotropismo, lo que se manifiesta en la conducción AV. Varios estudios han comprobado la contribución del sistema nervioso autónomo y de mecanismos miocárdicos

sobre los cambios electrofisiológicos observados en humanos y en animales de laboratorio entrenados.

A nivel intrínseco y con respecto a las modificaciones en la conducción en atletas debidas al entrenamiento, algunos estudios encontraron bloqueos auriculoventriculares de primer grado, y en menor extensión de segundo grado (Talan *et al.*, 1982, Viitasalo *et al.*, 1982 y Viitasalo *et al.*, 1984).

Stein *et al.* (2002), citados previamente, también estudiaron en atletas bien entrenados los efectos del entrenamiento sobre la conducción AV no mediados por el sistema nervioso autónomo. Estos autores encontraron que tanto la longitud del ciclo de Wenckebach como la longitud del intervalo A-V eran más largos en los atletas que en los sujetos control.

Algunos autores apoyan la idea de que el bloqueo AV en atletas en general puede ser causado por mecanismos no nerviosos, y por tanto del propio corazón, como es el caso de un daño miocárdico (Reindell, 1960), o como Bjørnstad *et al.* (1993) que señalaron una hipertrofia ventricular izquierda, ya que estos últimos autores encontraron una incidencia aumentada de bloqueos AV en sujetos con la mencionada hipertrofia (Bjørnstad *et al.*, 1993 bis).

Such *et al.*, 2002 postularon que el ejercicio físico crónico produce una depresión de la conducción del nodo AV, que se manifestó en una más larga longitud del ciclo de Wenckebach en animales entrenados que en los controles. También se observó una tendencia a la disminución de la conducción ventrículo-auricular retrógrada en los animales entrenados.

1.2.1.2.3. Refractoriedad.

Abordaremos de forma general algunos aspectos referentes a los mecanismos implicados en la refractoriedad miocárdica del impulso eléctrico a través del tejido miocárdico y analizaremos posteriormente los estudios actuales acerca del efecto del ejercicio físico crónico sobre este parámetro.

A lo largo del PA, la excitabilidad del miocardio varía, distinguiéndose varios periodos de tiempo con diferente excitabilidad (Hoffmann, 1969, citado por West, 1998).

El periodo refractario absoluto (PRA) puede determinarse en la célula aislada y constituye el periodo durante el cual la membrana no puede ser reexcitada por un estímulo externo, con independencia del nivel de carga

eléctrica aplicado. Por tanto, el estímulo no es capaz de producir una respuesta no solamente no propagada, sino tampoco local. En las redes de células, el PRA no puede determinarse con exactitud a causa de los diferentes tiempos de recuperación de las diversas células en la red y por lo general, se determina el periodo refractario efectivo (PRE) para estas redes celulares.

El PRE de una célula o red celular constituye el periodo durante el cual sólo puede producirse una respuesta local por un estímulo despolarizante más grande de lo normal. Así, durante el PRE, la membrana puede responder, pero no puede generarse un PA propagado que transporte el impulso a través de toda la red celular.

El periodo refractario relativo (PRR) comienza al final del PRE y constituye el intervalo de tiempo tardío

en el PA durante el cual puede generarse un PA propagado pero con un estímulo despolarizante que es mayor de lo normal; es decir, el mínimo estímulo despolarizante que pueda iniciar un PA propagado.

El periodo supernormal (PSN) es un corto intervalo durante el cual la célula es más excitable de lo normal; es decir, el mínimo estímulo despolarizante que pueda iniciar un PA propagado. Bajo circunstancias normales, la recuperación de la excitabilidad después de un PA sigue una ligera fase exponencial. Sin embargo, en fibras de Purkinje y bajo ciertas condiciones en músculo cardiaco de trabajo, hay un periodo breve de tiempo, al final de la repolarización, en el cual las células son realmente más excitables que en reposo.

El tiempo de recuperación total (TRT) constituye el periodo desde el comienzo del PA hasta el final del periodo supernormal.

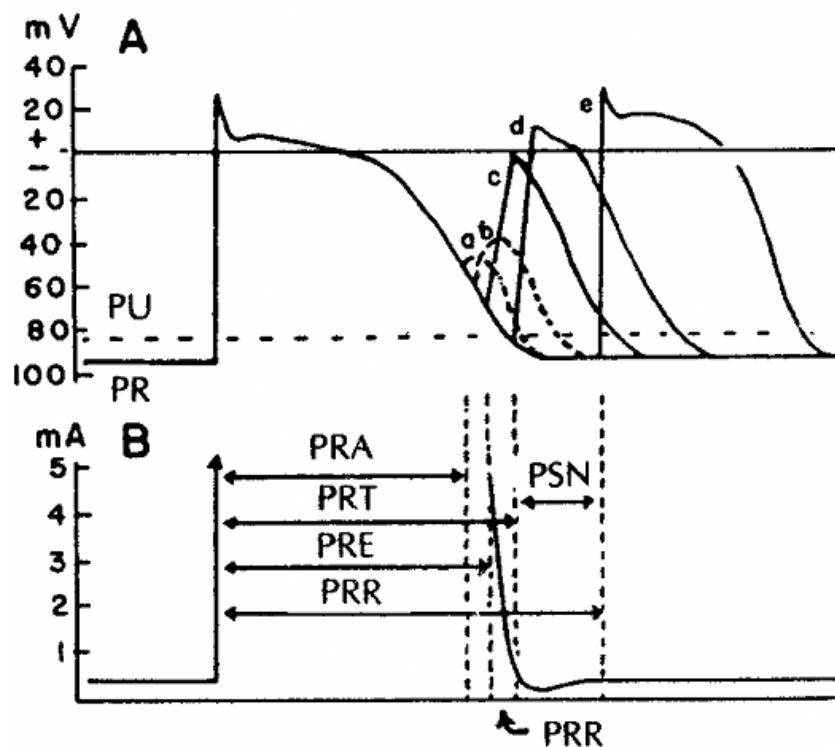


Figura 1.1. A. PA de membrana normal y respuestas a una serie de estímulos aplicados durante y al final de la repolarización y después de él. B. Duraciones aproximadas del PRA, PRT, PRE, TRT, PSN y PRR. (Tomado de West, 1998).

En las células ventriculares, que en general conducen con rapidez, la recuperación de la excitabilidad o refractariedad, es principalmente dependiente del

voltaje, mientras que en las células de respuesta lenta, en general asociadas con una VC lenta, la recuperación es sobre todo dependiente del tiempo. De este modo, en las células del tipo de respuesta lenta, la repolarización de la célula hacia su potencial en reposo no coincide necesariamente con la recuperación de la excitabilidad. (West, 1998).

Los mecanismos iónicos en los que se basan los periodos refractarios se describen a continuación.

El PRA ocurre porque, una vez el PA se ha producido, no se dispone de más corrientes activas de entrada para conseguir despolarizar la membrana. Los canales de Na^+ comienzan a inactivarse, a no conducir, durante la despolarización. Desde la inactivación, se requiere un periodo de recuperación para que estos

canales puedan comenzar a conducir de nuevo (Jalife *et al.*, 1999).

El PRE, como ya se ha dicho, se extiende desde el comienzo de la despolarización hasta que la membrana se ha repolarizado a un nivel de -50 mV y ocurre porque no existe prácticamente movimiento de entrada de Na^+ (Jalife *et al.*, 1999).

El PRR se produce al avanzar la repolarización, cuando el potencial de membrana aumenta de 60 a 70 mV y entonces puede producirse un PA propagado. A este nivel de potencial de membrana, la tasa de movimiento de entrada de Na^+ es tan lenta que es necesaria una intensidad de corriente mucho mayor para que el movimiento de entrada de Na^+ alcance la suficiente rapidez para generar el PA, que será pequeño y lento, característico del bajo nivel de potencial de membrana

que lo origina. Además, existe un movimiento de salida de iones de K^+ a través de la membrana durante la repolarización, el cual tiende a contrarrestar los efectos de la estimulación catódica y de la corriente de entrada de Na^+ (Mountcastle, 1977).

El periodo de supernormalidad (PSN) ocurre, en parte, porque el potencial de membrana vuelve hacia los niveles de reposo, en el tiempo en el que suficientes canales de Na^+ son reactivados y el umbral para la activación está suficientemente cercano al normal (Jalife *et al.*, 1999).

El papel del sistema nervioso autónomo, concretamente 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 significativa en la función ventricular.

Efectivamente, si bien la importancia de la influencia parasimpática sobre los nodos SA y AV 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 décadas (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 β -adrenérgica.

A diferencia de los estudios realizados alrededor de la segunda, tercera décadas y mediados 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 AV, como refirieron Rardon & 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, tomado de 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, tomado de 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 (Johnson *et al.*, 2004). Efectivamente, el tono vagal aumentado incrementa el umbral de la FV 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 & 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 (DPA) 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 & 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 FV 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.

Con respecto al efecto del entrenamiento físico sobre la refractariedad intrínseca se dispone de poca información. Such *et al.*, 2002, observaron que el efecto de un protocolo de entrenamiento mediante ejercicio físico en conejos, con una intensidad mayor a la usada para la realización de la presente tesis doctoral, si bien la refractariedad, tanto del sistema de conducción como la del miocardio ventricular de trabajo, mostró una tendencia a aumentar, los cambios detectados no fueron estadísticamente significativos; solamente el período refractario funcional ventricular fue mayor en los animales entrenados.

Posteriormente, aunque ya se había sugerido de una manera poco concluyente, como acabamos de citar, que los efectos del entrenamiento sobre la refractariedad ventricular estaban asentados sobre mecanismos de carácter intrínseco (Such *et al.*, 2002), se pudo evidenciar el aumento del período refractario efectivo y funcional ventricular mediante la aplicación del test del extraestímulo, cuando se utilizaban trenes de longitud del ciclo cercanos a 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 siguió manifestándose una tendencia al aumento de dicho parámetro.

Estas últimas investigaciones parecen apuntar a 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 (Blomqvist & Saltin, 1983), de que la acetilcolina acorta el período refractario efectivo auricular (Farges *et al.*, 1977). Es decir, que por una parte se desarrolla un mecanismo dependiente del corazón sometido a control neurohumoral claramente proarrítmico y, parece ser, que también se desarrolla otro de tipo intrínseco con efecto antiarrítmico.

Otros autores realizaron una investigación del efecto del entrenamiento sobre la duración del PA en ratas entrenadas en la cual hallaron un aumento de la duración del PA en los cardiomiocitos procedentes del subepicardio de las ratas entrenadas, y no encontraron ninguna modificación sobre la DPA en las células subendocárdicas (Natali *et al.*, 2002).

No disponemos de información respecto al efecto del entrenamiento sobre la refractariedad auricular intrínseca, aunque por contraste sí se conoce el efecto sobre la refractariedad ligada al control nervioso autónomo. El hecho conocido de que el ejercicio físico aumente el tono vagal, y de que la acetilcolina disminuya el período refractario efectivo auricular (Farges *et al.*, 1977) nos inclina a otorgar una disminución de la refractariedad por el ejercicio físico en el corazón *in situ*. Contrastan con lo que acabamos de decir respecto al

efecto del entrenamiento sobre el período refractario auricular, los resultados obtenidos por Mezzani *et al.* (1990) en un estudio realizado a dos grupos de pacientes con Wolf-Parkinson-White. En el grupo de pacientes entrenados se observó un período refractario auricular tanto efectivo como funcional más largo que en los sujetos control. Estos autores también observaron que tanto la longitud del ciclo basal, como el período refractario efectivo del sistema de conducción anterógrado y ventriculoauricular fueron más largos en los sujetos entrenados.

Estudios realizados en humanos acerca de las adaptaciones electrofisiológicas al ejercicio físico del nodo AV y del nodo sinusal, como se ha mencionado en un apartado anterior, refieren que atletas sometidos a bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo, también presentaron una modificación de la refractariedad

intrínseca en el sistema de conducción AV respecto a los sujetos control, también sometidos a bloqueo del sistema nervioso autónomo. Efectivamente, el período refractario efectivo del nodo AV era mayor en los atletas en situación basal (Stein *et al.*, 2002).

Respecto a la DPA, existen diferentes trabajos que estudian las posibles modificaciones producidas por el entrenamiento sobre determinados procesos electrofisiológicos relacionados con la refractariedad miocárdica.

Así, Brorson *et al.* (1976), investigando en humanos los efectos del entrenamiento sobre el PA monofásico y la refractariedad auricular, observaron un aumento de la DPA en el grupo entrenado, atribuyéndolo a un aumento en la concentración intracelular de potasio. Otros autores como Tibbits *et al.* (1981), estudiando los

efectos del entrenamiento sobre el acoplamiento excitación-contracción, encontraron también un aumento en la DPA en el grupo entrenado, que dichos autores atribuyeron a un aumento en la entrada de calcio. Del mismo modo, Gwathmey *et al.* (1990) investigando en ratas el efecto combinado del entrenamiento y del envejecimiento sobre algunos parámetros fisiológicos, observaron una disminución de la amplitud del PA y aumento de la DPA en el grupo entrenado, explicado con los mismos mecanismos.

Respecto a este fenómeno de excitación-contracción, Wei *et al.* (1984), observaron en ratas de distinta edad una contracción cardíaca más larga, un mayor y prolongado grado de despolarización y un incremento en los niveles de calcio intracelular en el grupo de mayor edad.

Pensamos que quizá el aumento de la refractariedad producido por la realización de ejercicio físico aerobio sea lo que subyace a la baja incidencia de taquiarritmias en deportistas señalada por diferentes autores (Boraita & Serratosa, 1999), siendo la incidencia de extrasistolia, tanto supraventricular como ventricular, inferior a la que se da en la población juvenil en general; aunque en opinión de estos últimos autores el predominio vagal no solamente estaría implicado en la inhibición de los marcapasos fisiológicos sino también de los focos ectópicos. No obstante, estos autores sugieren también un efecto del entrenamiento sobre la estabilidad eléctrica tanto de aurículas como de ventrículos para explicar la baja incidencia de taquiarritmias, además de “considerar la posible existencia de un proceso de selección natural que impida que los deportistas que las presenten lleguen a la élite por ser excluidos en épocas tempranas de la competición” (Boraita & Serratosa, 1989).

1.2.1.2.4. Velocidad de conducción (VC).

Una característica del nodo sinusal es que permite una propagación de la actividad eléctrica muy lenta, del orden de 0,05 m/s, que parece estar relacionada con los potenciales de reposo bajos y con el lento ascenso de los potenciales de acción de esta zona (Hoffmann & Cranefield, 1960, tomado de Mountcastle, 1977).

Este impulso aumenta la velocidad cuando atraviesa los tejidos que unen al nodo sinusal con la musculatura auricular y, a partir de aquí, es cuando se difunde la onda excitatoria muy rápidamente por la musculatura, a velocidad constante de 1 m/s. La excitación se propaga en forma radial y fue comparada por Lewis, en 1925 (tomado de Mountcastle, 1977), a la de un “líquido colocado en una superficie plana”.

No se ha hecho una descripción histológica de ninguno de los tejidos de conducción que están especializados en la aurícula, como ocurre con la red de Purkinje del ventrículo, pero los datos electrofisiológicos sugieren que podrían haber unas vías preferentes para la conducción de impulsos en las aurículas del perro y conejo (Paes *et al.*, 1961 y Paes *et al.*, 1959, tomado de Mountcastle, 1977) ya que se han registrado potenciales de acción tipo Purkinje en fibras unitarias del haz anular del seno (Paes *et al.*, 1961, tomado de Mountcastle, 1977) que rodea a las venas cavas donde se unen la pared venosa con el músculo auricular. Es de este haz de donde desciende una rama directamente a la zona del seno coronario próximo al nodo AV.

Se ha postulado que hay tres vías internodales por donde pasa el impulso cardiaco a través de la aurícula y que en éstas, las células que encontramos son

histológicamente similares a las del sistema de Purkinje. Estas células son más resistentes a una concentración extracelular de K^+ aumentada (Opie, 1998).

El modelo de activación auricular ha sido estudiado mediante isócronas (Scher & Spah, 1979) cuyo modelo de movimiento muestra cómo se propaga el impulso. Algunos estudios muestran que funcionalmente no hay vías auriculares especializadas. Además, el sistema de conducción del septo atrial propaga impulsos desde el nodo sinusal al nodo AV y sus células tienen propiedades funcionales especializadas, con lo que no se encuentran necesariamente en las tres vías internodales.

La conducción a través del nodo AV tiene lugar de la siguiente forma: cuando el impulso llega a las fibras miocárdicas que unen las aurículas y los ventrículos, tiene lugar una pausa en la propagación de la excitación hacia

los ventrículos que es la que permite, fundamentalmente, que la sístole auricular finalice antes de que se inicie la excitación ventricular (Opie, 1998).

Sobre la localización y el mecanismo por el cual se produce esa pausa en la propagación del impulso a través de la región AV se ha discutido mucho, pero sólo se tienen pruebas experimentales indirectas (Mountcastle, 1977). Se llevaron a cabo unos estudios preliminares de la siguiente forma: seccionando o comprimiendo diferentes partes del nodo y observando cuál era la porción más importante para que se pudiese mantener la conducción normal a los ventrículos. Fue así como se demostró que este retraso ocurría preferentemente en la zona auricular del nodo (Erlanger, 1912, Eyster & Meek, 1916 y Hering, 1910, tomado de Mountcastle, 1977).

Los potenciales de membrana se registraron en fibras unitarias de la aurícula, y al mismo tiempo en el nodo AV y el haz de His en corazones de conejos y perros (Hoffman & Cranefield, 1960, Horrman & Suckling, 1953, y Sano *et al.*, 1960, tomado de Mountcastle, 1977).

La mayor parte del retraso en la conducción AV parece ocurrir en el margen auricular del nodo, a una distancia de un milímetro. Cuando se hacen registros simultáneos de los PA con tres microelectrodos, uno en una fibra auricular, otro en la parte superior del nodo AV y el tercero en el haz de His del corazón aislado del conejo, se observa que el tiempo de conducción de la aurícula al nodo AV puede alcanzar valores tan bajos, comparados con otras zonas miocárdicas, como 0,05 m/s.

Anteriormente se había explicado el retraso de la conducción a través del nodo AV, suponiendo que

había vías largas del nodo donde la VC era normal o el PR intranodal era prolongado; sin embargo las pruebas mencionadas anteriormente mostraron que las vías de conducción tenían una longitud normal, pero era la velocidad de ésta mucho menor en la zona entre la aurícula y el nodo AV.

Si se hacía un registro del PA con un microelectrodo en la parte superior del nodo AV, se veía que era poco viable ya que la DPA de las fibras de unión no era mucho mayor que el de las fibras musculares comunes de la aurícula. Fueron Hoffman & Cranefield, 1960 (tomado de Mountcastle, 1977), los que propusieron una tercera posibilidad para el retraso de la conducción en el nodo. Éstos postularon que el impulso se conduce con decremento y a baja velocidad a través de la región limítrofe entre la aurícula y el nodo y definen la conducción decremental de la siguiente forma: “Es un tipo

de conducción en el que las propiedades de la fibra cambian a lo largo de su longitud, de tal manera que el PA se hace gradualmente menos eficaz como estímulo para la porción no excitada de la fibra”.

También fueron Hoffmann & Cranefield (1960) los que observaron que la amplitud y la velocidad de despolarización del PA disminuían conforme se alejaba de la aurícula, debido a que la eficacia del PA como estímulo para el tejido adyacente dependía de su magnitud y de la velocidad de su ascenso (Weidmann, 1956, tomado de Mountcastle, 1977); de esta forma, esta disminución podía causar decremento en la conducción.

Las propiedades en las que podría ser diferente una fibra respecto a otra en la unión de la aurícula con el nodo, se podrían considerar alteraciones en la persistencia o en la capacidad de la membrana, la

magnitud del potencial de reposo y el diámetro y configuración de las fibras. El potencial de reposo de las fibras, en el límite aurículo-nodal y en la parte superior del nodo AV, es menor que el de las fibras musculares de la aurícula y el ventrículo (Hoffman & Cranefield, 1960, tomado de Mountcastle, 1977).

El diámetro de las fibras miocárdicas que se encuentran en la zona auricular del nodo es menor que el de las fibras auriculares y existen muchas interconexiones entre las fibras limítrofes (Tawara, 1906, tomado de Mountcastle, 1977). En la región inferior del nodo AV y en el haz de His, el diámetro de las fibras musculares aumenta gradualmente conforme se reduce la ramificación de estas fibras.

En la tabla 1.4. podemos observar los diferentes diámetros de las fibras y la VC en los diferentes

tejidos cardiacos tanto específicos de la conducción nerviosa como de los diferentes tipos de miocardiocitos. Por eso, la conducción lenta y decremental del impulso a través de la región superior del nodo podría estar relacionada con el pequeño tamaño y la ramificación profusa de las fibras en esta área.

Sitio	Diámetro de la fibra (mm)	Velocidad de conducción (m/s)
Nódulo sinusal	2 - 7	
Aurícula	3 - 17	0,8 - 1
Fibras AV (aprox. 5 mm)	3 - 11	0,05
Rama Haz de His	9 - 18	2
Miocardio ventricular	10 - 12	
Subendocardio		1
Subepicardio		0,4 - 1

Tabla 1.4. Diámetro de las fibras y velocidad de conducción (VC) en el corazón humano, de Butereisen (1970), tomado de West (1998).

Respecto a la célula miocárdica ventricular, cuando se despolariza, se establece un gradiente entre esa célula y la vecina inmediata (Jalife *et al.*, 1999). Así, la corriente generada por el PA en la primera célula actúa

como una corriente excitatoria para las células colindantes. El PA llega a ser la “fuente” de corriente y el potencial de membrana intracelular en reposo (de la célula vecina) constituye el “sumidero”. La corriente despolarizante generada por el PA se propaga electrotónicamente como un circuito de corriente local. Para las células que están lejos de la fuente, el potencial electrotónico está por debajo del umbral y su amplitud decae exponencialmente con la distancia. Sin embargo, para la segunda célula la corriente fuente causa una despolarización suficiente para conducir a esta célula, a su potencial umbral. El inicio de este PA genera un nuevo influjo de corriente de entrada que acaba afectando al conjunto. Esta segunda célula favorece una fuente de corriente para esas células que están a lo largo del trayecto y el proceso se repite por sí mismo, viajando el PA a lo largo de la fibra (figura. 1.2).

De una manera opuesta al caso de un miocito solo, donde toda la corriente que entra al circuito descarga ese condensador celular, en el caso de la fibra constituida por una secuencia celular, solamente una fracción de la corriente despolariza cada célula.

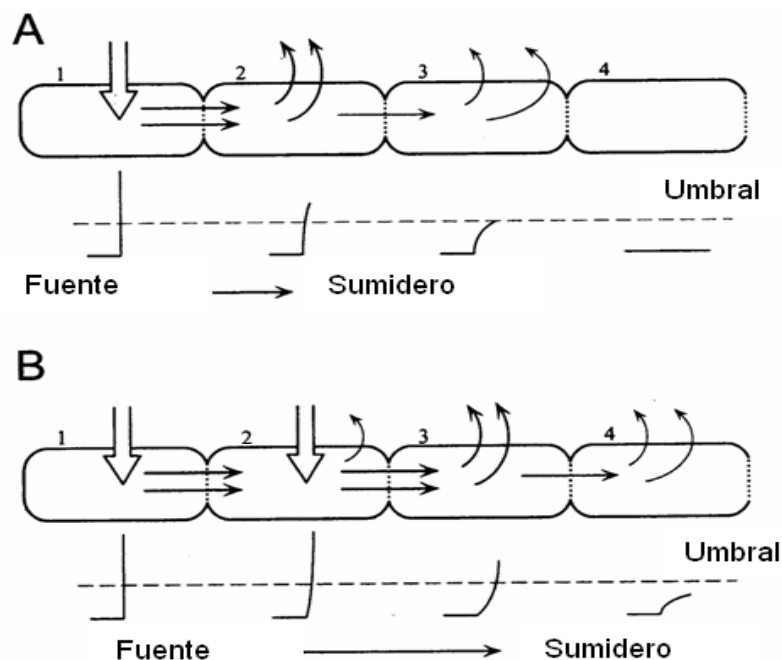


Figura 1.2. Distribución de las cargas intracelulares durante la propagación de un PA, desde la despolarización (fuente) al resto de la célula (sumidero). A: la fuente está localizada en la célula 1; B: el sumidero se extiende a la célula 2. Modificado de Jalife *et al.* (1999).

La velocidad de propagación del impulso eléctrico, en los miocitos ventriculares, va a estar relacionada de una manera muy estrecha con la corriente

de entrada despolarizante (fase 0 del PA) de Na^+ , a diferencia del tejido nodal en el que tal corriente la produce el movimiento de Ca^{2+} . De hecho y como es sabido, los antiarrítmicos de la clase I actúan sobre la fase 0 del PA, disminuyendo la corriente de entrada de sodio, y por tanto, la VC, como ocurre al administrar sustancias tales como la quinidina, procainamida o disopiramida, encainida, flecainida, etc.

La velocidad de la propagación del impulso eléctrico también puede modificarse en función de la mayor o menor densidad de comunicaciones intercelulares. Así, por ejemplo, en situaciones en las que se produce un incremento en la concentración de protones, como es el caso de la isquemia miocárdica, pueden causar cierre de los canales de las comunicaciones llamadas *Gap Junctions*, y por tanto disminuir el movimiento de cargas eléctricas desde la

fuelle, para despolarizar a las células adyacentes (Jalife, 1999).

Longitud de onda (LO) del proceso de activación eléctrica del miocardio:

Como sabemos desde los estudios de Mines en 1913 (citado por Kléber & Rudy, 2003), uno de los requerimientos básicos para la iniciación de la excitación reentrante, que como es bien sabido es el mecanismo básico de un gran número de arritmias: era la existencia de un bloqueo unidireccional de conducción. Pero además Mines se dio cuenta de que la iniciación y el mantenimiento de la re-entrada era dependiente tanto de la VC como del PR. Por tanto, en la medida en que la extensión de la zona refractaria que sigue a la onda de excitación, la llamada LO del proceso de excitación era menor que la longitud total de la vía anatómica re-

entrante, una zona de tejido excitable (el llamado *gap* excitable) existía entre la cola de la onda precedente y la cabeza de la siguiente (Kléber & Rudy, 2003). Por tanto es precisa la existencia de un “hueco” excitable para que se mantengan estables los movimientos circulares y lo hagan a una frecuencia constante durante horas. En el caso de que la LO sea mayor que la longitud del circuito anatómico, la extinción de la onda será lo que tenga lugar como resultado de dicha situación (Kléber & Rudy, 2003).

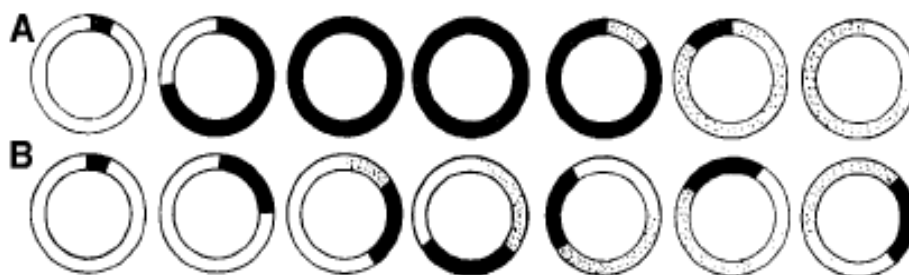


Figura 1.3. Modelo de re-entrada anatómica determinada presentado por Mines, 1913 (tomado de Kléber & Rudy, 2004). Excitado, el tejido refractario está marcado en negro; el tejido refractario relativo está marcado por puntos. Los anillos blancos son totalmente excitables. A: el bloqueo unidireccional produce excitación que se propaga solamente en el sentido horario. Cuando la longitud de onda (LO) de excitación es más larga que la longitud del anillo, el frente de onda colisiona con su propia cola refractaria y llegará a extinguirse. B: la LO es más corta y el tejido está excitable en el punto en que la onda se origina cuando la onda original ha viajado a lo largo del círculo completo; esto posibilita que la re-entrada pueda ocurrir.

En cuanto a las modificaciones por el ejercicio físico, en lo que respecta a la VC, si bien los conocimientos de que disponemos son harto conocidos cuando referimos este parámetro a la realización del ejercicio físico agudo, nosotros no hemos hallado ningún trabajo de investigación en el que se hiciera referencia a la modificación intrínseca de este parámetro por el entrenamiento.

Según López *et al.* (2005b), que estudiaron el efecto de un protocolo de entrenamiento, también de una intensidad mayor al de la presente tesis, mediante ejercicio físico en tapiz rodante en conejos, sobre la VC miocárdica ventricular y la LO del proceso de activación miocárdica ventricular encontraron una tendencia al aumento en la LO, mientras que la VC no se modificó.

Como acabamos de ver en las líneas precedentes, no parece totalmente dilucidada la cuestión relativa a si las modificaciones electrofisiológicas producidas por el entrenamiento se deben a mecanismos ligados exclusivamente a modificaciones en el tono del sistema nervioso autónomo, exclusivamente a mecanismos intrínsecos o a la coexistencia de ambos tipos de mecanismos.

1.2.1.2.5. Heterogeneidad y estabilidad electrofisiológica.

Se atribuye 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 & 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 FV. Ya previamente, Moe & Abildskov (1959) demostraron que la fibrilación auricular (FA) 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 papel de la heterogeneidad en la aparición de fenómenos ligados a la FV ha sido relatado por Kléber & 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 PA re-entrante, 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 cardíaco (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”.

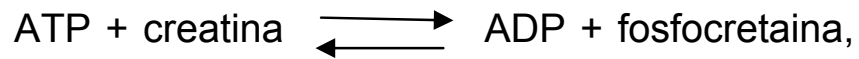
1.2.2. Generalidades sobre los efectos biológicos de la isquemia miocárdica aguda.

Aunque ya comienza a tener la consideración de clásica, nos parece que la revisión de Carmeliet (1999) respecto a los efectos biológicos de la isquemia miocárdica se constituye como una amplia y completa descripción de las consecuencias de la privación de aporte sanguíneo al tejido miocárdico a nivel bioquímico-metabólico, de redistribución de iones inorgánicos, y electrofisiológico.

1.2.2.1. Efectos bioquímicos de la isquemia.

Es clásicamente conocida la deprivación energética como consecuencia de mayor relevancia e implicaciones. El análisis de las concentraciones de moléculas de alto nivel energético como el adenosín trifosfato revela una caída dramática a los pocos segundos de iniciada la agresión isquémica. En un intervalo de tiempo tan reducido como es de quince a treinta segundos (Griese *et al.*, 1988). Pese a ello no cae absolutamente la concentración de sustratos de alto valor energético ya que el propio proceso isquémico en una primera fase, aún no de isquemia propiamente dicha, se acompaña de un fallo contráctil, con lo que de disminución de los requerimientos energéticos se refiere se origina. Además en una primera fase, la fosfocretina disponible

sigue siendo una vía de reposición de ATP, a expensas de las tan conocidas reacciones en equilibrio:



catalizadas por la creatínfosfoquinasa (CPK).

Finalmente la contribución de la glucólisis anaerobia con una modesta pero efectiva producción de ATP, contribuye asimismo al mantenimiento de la viabilidad celular durante un cierto intervalo de tiempo y al relativo mantenimiento de cierta concentración de ATP; en especial por la activación de las enzimas fosfofructoquinasa, piruvatoquinasa y la primera enzima de la glucólisis que transforma a la glucosa en glucosa-6-fosfato, esto es la hexoquinasa. Téngase en cuenta la liberación de noradrenalina por parte de las terminaciones nerviosas simpáticas que se da en la isquemia, y el efecto de estos neurotransmisores sobre la captación y utilización de glucosa. A lo anterior cabría añadir el

incremento de la glucógenolisis, dada la activación de la enzima glucogenolítica fosforilasa, que proporcionará glucosa.

Ahora bien la glucólisis anaerobia implica la formación de una importante cantidad de ácido láctico, dada la inhibición de la enzima piruvato deshidrogenasa, lo que impedirá la continuación de la glucólisis en el interior de la mitocondria, con la producción de acetil coenzima A y su metabolización en el ciclo de Krebs. Lo anterior derivará en un acúmulo de ácido láctico y por tanto de la producción de H^+ . La disminución del pH acabará por limitar e inhibir la propia glucólisis y abolir por tanto la producción de ATP a cuenta de esta ruta metabólica, con lo que de fatales consecuencias tendrá sobre los sistemas de transporte activo. La consecuencia de que la energía libre de la hidrólisis del ATP exceda a la energía almacenada en el gradiente electroquímico de

protones puede originar una hidrólisis neta de ATP, actuando la ATP sintasa como una hidrolasa, utilizándose la energía para reponer el gradiente eléctrico en la mitocondria (Di Lisa *et al.*, 1995).

La despolarización de la membrana mitocondrial es otra consecuencia de la falta de ATP. Esto no ocurre de modo inmediato y ligado a la interrupción del flujo de electrones sino ligeramente más tarde ya que todavía se produce ATP a expensas de la glucólisis. La depleción de ATP lleva a un incremento de la concentración intracelular de calcio. El incremento de la concentración de protones, calcio, fosfato y acil-carnitinas de cadena larga acaba originando la activación del llamado poro de transición o megacanal por el cual la mitocondria llega a ser anormalmente permeable. Los poros que se abren atravesando la membrana interna

mitocondrial crean una situación similar a la que crean los desacopladores de la fosforilación oxidativa.

En una situación de normoxia, con concentración normal de oxígeno y ATP, estos megacanales están inactivos, y se activan en la isquemia,

Estas consecuencias serán en gran medida la base sobre la que se asientan las modificaciones electrofisiológicas propias de la isquemia, alguna de las cuales son las que presentamos en el presente trabajo de investigación.

1.2.2.2. Alteraciones en la redistribución de los iones sodio, potasio, calcio y de los protones.

El gradiente electroquímico de la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$, extrayendo sodio fuera de la célula y metiendo potasio en el interior de la misma, y que normalmente es de 61,5 kJ/mol, durante la isquemia puede caer a valores tan bajos como 49 o menos (Cascio WE., 2001, citado por Zaitsev *et al.*, 2003), perdiéndose el equilibrio dinámico e incrementándose la concentración de potasio extracelular, lo cual es claramente arritmogénico. Se produce una rápida acumulación de K^+ en el espacio extracelular tras 20 segundos de la oclusión arterial coronaria, alcanzándose una meseta, entre los tres y los diez minutos de isquemia.

Tras veinte a treinta minutos de isquemia los niveles de K^+ vuelven a aumentar y se acompañan de cambios morfofuncionales y mecánicos del cardiomiocito. El escape al medio extracelular de K^+ en la isquemia aguda se podría explicar resumidamente en tres mecanismos: el aumento de la conductancia iónica por despolarización celular, la disminución del flujo activo de K^+ a través de la bomba K^+ y la contracción del espacio celular por aumento de la osmolaridad intracelular. Las corrientes de potasio dependientes de ligando $I_{K_{ATP}}$ e $I_{K_{AA}}$ llegan a ser de muy especial relevancia.

Efectivamente la activación de la corriente de potasio $I_{K_{ATP}}$ en situaciones como la isquemia se acompaña de una marcada dispersión de la repolarización y de la refractariedad dentro del miocardio, siendo esta una condición básica sobre la que, como es clásicamente conocido, se desarrollan arritmias (Di Diego &

Antzelevitch, 1993 y Billman, 2008). Si bien es cierto que la activación del canal que vehicula la corriente citada es importante para la prolongación de la vida celular y preservación funcional, no lo es menos que la activación de este canal produce, como acabamos de comentar, un acortamiento de la refractariedad y del potencial de acción, lo que si se produce inhomogéneamente podrá promover la propia FV.

El incremento en los niveles de potasio extracelular produce, un efecto despolarizante, indirectamente, una inactivación de los canales de Na^+ y la despolarización celular, reduciendo la amplitud y duración del PA y por tanto una disminución de la excitabilidad y el bloqueo de la conducción.

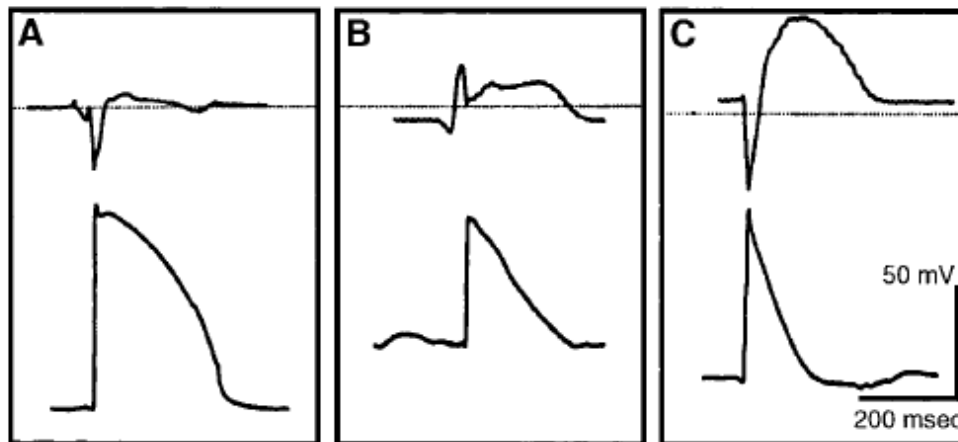


Figura 1.4: Electrocardiogramas y PA grabado en un corazón de cerdo al principio de un periodo isquémico (A), tras 12 minutos de isquemia (B), y en reperfusión (C). El potencial cero para electrogramas se indica por una línea de puntos. Nótese el decremento en el PA en la reperfusión, asociado con un pico de la onda T y un cambio del nivel TQ en una dirección positiva. Estos cambios están acompañados por una caída de la $[K^+]_o$ bajo control. (Adaptado de Carmeliet, 1999).

El sodio intracelular aumenta de 10 mM a 20 mM durante la isquemia celular. ¿cómo se produce el incremento intracelular de sodio?. Por una parte por la disminución de la actividad del sistema de intercambio Na^+-K^+ , inhibida por la disminución de la concentración de ATP y la acumulación de radicales libres intracelulares, y por otra parte por efecto de la activación del intercambiador de Na^+-H^+ y de los canales voltaje

dependientes de Na^+ . La activación del último intercambiador citado se debe a que como consecuencia del metabolismo anaerobio de la glucosa se produce ácido láctico y por tanto un aumento en la concentración de hidrogeniones; son estos últimos los que activan al sistema de intercambio Na^+-H^+ . La recuperación del canal de Na^+ desde el periodo de inactivación es normalmente muy rápida. Tras duraderas despolarizaciones, como es el caso de la isquemia, la recuperación puede llegar a ser muy lenta; es la inactivación lenta, proceso muy importante para entender algunos cambios que ocurren durante la isquemia. La activación del contratransportador de Na^+-K^+ y de los canales voltaje dependientes de Na^+ y K^+ se produce como efecto del incremento de la concentración de Na^+ intracelular. Estos efectos conducen a la hiperpolarización y acortamiento del PA tras la reperusión.

Respecto a la concentración intracelular de calcio, esta varía según compartimento celular que consideremos y según las fases del ciclo cardiaco, en condiciones aeróbicas. Durante la isquemia se produce un aumento importante del calcio citosólico, pero la salida de calcio es heterogénea en función de la fase del ciclo celular. En la sístole ventricular se produce un rápido aumento de la concentración a los pocos minutos de iniciada la isquemia celular, sin embargo en la diástole no se produce este incremento hasta pasados unos 10-20 minutos. Los cambios producidos en la concentración de calcio en el citosol celular son paralelos a los producidos en la mitocondria celular. Los cambios producidos en el retículo sarcoplásmico no han sido medidos directamente pero es de suponer que, como consecuencia de la salida masiva y la inhibición de la actividad de la bomba Ca^{++} -ATPasa, se produzca una disminución de los depósitos de calcio sarcoplásmicos.

El citoesqueleto juega un papel importante manteniendo los canales separados, unos de otros, limitando el incremento local en la concentración de Ca^{++} y cuando se instaura la agresión isquémica se produce una disrupción del citoesqueleto con el consiguiente apiñamiento de los canales, lo que favorece la inactivación.

La disfunción del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, que reduce la salida de Ca^{++} al espacio extracelular; la disminución de la entrada de Ca^{++} al retículo sarcoplásmico; y la función de intercambiadores tales como $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$, que producen el aumento de entrada de calcio desde exterior, explicarían el aumento del calcio citosólico se explica por varios mecanismos:

El incremento del calcio citosólico en la isquemia produce efectos claramente deletéreos,

especialmente en la reperfusión post-isquémica, como son la activación de fosfolipasas que transforman a la fosfatidil etanolamina en lisofosfatidil etanolamina, de proteasas citosólicas. Los primeros enzimas, a través de la formación de las sustancias citadas, originan la desestructuración de la membrana celular; y los segundos contribuyen a la destrucción del citoesqueleto. También se activan múltiples y diferentes canales, sistemas de transporte. Todo ello se traduce en la creación de un “caldo de cultivo” para la instauración, mantenimiento y cese de arritmias que amenazan la vida, como la propia fibrilación ventricular.

La estimulación de los receptores β produce el incremento del calcio intracelular y la hiperpolarización celular (por activación de la bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$) lo que acaba originando una aceleración de la conducción AV y un acortamiento del intervalo PR del ECG. La estimulación

de los receptores β induce taquicardia y acortamiento del intervalo QT.

La estimulación de los receptores α , a través de la modulación de la bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ y de los canales de K^+ , producen una disminución de la fase 4 de las células automáticas y un alargamiento de la repolarización celular y del QT. La estimulación de estos receptores puede inducir arritmias por postpotenciales o por automatismo anormal.

Durante la isquemia hay liberación de adenosina y activación de reflejos vagales. Esta adenosina proviene de la degradación del ATP a ADP y a AMP, siendo este último transformado en fosfato inorgánico y adenosina, por la acción de una ectonucleotidasa. La acetilcolina se fijará a los receptores muscarínicos M_2 (estos receptores se vinculan

directamente a la I_K , facilitando la salida de K^+ y repolarizando la célula) y la adenosina a los receptores purinérgicos A_1 . En general, los efectos producidos por estas sustancias al estimular los receptores muscarínicos y purinérgicos respectivamente son opuestos a los producidos por la estimulación β -adrenérgica.

Los receptores denominados purinérgicos son activados por la adenosina. Este receptor se liga al canal de potasio I_K facilitando la salida de potasio, acortando la duración del potencial de acción y originando así un aumento de la electronegatividad intracelular.

1.2.2.3. Modificaciones electrofisiológicas

El aumento inicial de la excitabilidad celular que disminuye pasados unos 2 a 3 minutos y que se produce en la isquemia aguda se debe fundamentalmente a una

caída del potencial de reposo de unos -85 mV a -60 mV, un acortamiento en la duración del potencial de acción y un aumento en la duración del periodo refractario efectivo.

Electrocardiográficamente se producen modificaciones secundarias a los cambios eléctricos a nivel celular: duración del intervalo QT y ST, inversión de la onda T, etc.

El acortamiento en la duración del potencial de acción es debido fundamentalmente a las corrientes de salida de potasio y cloruro. Estos dos canales son activados en condiciones de hipoxia para el caso de $I_{K_{ATP}}$, y por la activación de los receptores adrenérgicos para el caso de los canales I_{Ca-L} , es decir, no se activan en condiciones fisiológicas. En la zona que separa la zona isquémica de la no isquémica (zona límite o “*border zone*”), es una “corriente de lesión” (la generada por la

diferencia de potencial de reposo entre la zona isquémica y la no isquémica) la que produce el acortamiento de la DPA.

Pese a que disminuye la duración del potencial de acción, se produce una prolongación del periodo refractario efectivo, debido al enlentecimiento en la recuperación de la inactivación de los canales de sodio, y también al bloqueo de los canales de sodio por los metabolitos secundarios al metabolismo anaeróbico.

En el tejido limitante situado entre la zona isquémica más dañada y el tejido miocárdico sano, tanto el PRE como la DPA están acortados. Es también la corriente de lesión entre la zona isquémica y la no isquémica el mecanismo que explica este fenómeno. La modificación en la duración del potencial de acción no es homogénea sino que varía en según qué zonas; hay lo

que llamamos una dispersión y por tanto heterogeneidad, proceso este que facilita la instauración de arritmias por re-entrada. Este último fenómeno se facilita aún más por la activación alfa adrenérgica que se produce en la isquemia aguda del miocardio.

Respecto a las arritmias en la isquemia cabe comentar que los cambios en la actividad del marcapasos son fundamentalmente debidos a estímulos hormonales y neurogénicos. Un automatismo fuera del nódulo sinusal se puede dar por: a) activación de las corrientes I_f en muchas células auriculares y ventriculares; b) ocurrencia de las postdespolarizaciones tempranas y tardías como consecuencia de la sobrecarga celular de calcio, de la secreción de catecolaminas y por un exceso de estiramiento en la zona limítrofe entre la zona más dañada por la isquemia y la zona sana. Durante la isquemia, la estimulación adrenérgica y las alteraciones

electrolíticas (hiperpotasemia e hipercalcemia) hacen que se produzcan cambios en los marcapasos subsidiarios, incrementando la despolarización diastólica de estas células con automatismo. Estas células se convierten en marcapasos dominantes y son la causa de ritmos cardiacos acelerados.

Las re-entradas que originan arritmias tienen su base, presente en la isquemia, en una heterogeneidad en los periodos refractarios a lo largo y ancho del miocardio, asi como en el enlentecimiento de la velocidad de conducción, causada a su vez por un enlentecimiento en la recuperación de la inactivación del canal de sodio, y un incremento longitudinal de la resistencia.

1.2.3. Estudio especial de los efectos de la isquemia sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio

La isquemia puede originar el bloqueo unidireccional de la conducción, que puede ser la causa de inicio de la re-entrada. Asimismo, la isquemia potencia la dispersión del PR y es una de las principales causas de arritmias ventriculares. Entre los 10 y 15 minutos iniciales de la isquemia se producen la mayoría de las arritmias derivadas de la misma, que están provocadas por activaciones focales y re-entrada transparietal. Al inicio de la taquicardia ventricular (TV) contribuyen, tanto las diferencias en el flujo sanguíneo coronario entre las regiones isquémicas y las sanas, como las respuestas celulares heterogéneas a la isquemia. Las apariciones de TV disminuyen reduciendo la dispersión de la repolarización. En este sentido, Zhang *et al.*, (2000) y

Coronel *et al.*, (2002) (citados por Luqman *et al.*, 2007) destacan que la mayoría de los desencadenantes de la FV producida por la isquemia tienen lugar en la zona fronteriza de la región isquémica. Esta zona se ha mostrado como el lugar predominante en el que ocurre la fragmentación de las ondas hasta los 15 minutos tras el inicio del episodio isquémico. Sin embargo, en la zona central de la región isquémica no se da el citado fenómeno de la fragmentación, por lo que la isquemia regional representa impactos tanto pro-fibrilatorio en la zona fronteriza como anti-fibrilatorio en la zona central que ocurren al mismo tiempo. (Ophthof *et al.*, 1993, citado por Luqman *et al.*, 2007; Zaitsev *et al.*, 2003).

El PR y la DPA están íntimamente ligados en el músculo ventricular no isquémico. Sin embargo, después de un minuto de isquemia, la correlación entre el PR y la DPA se pierde en corazones humanos (Sutton *et al.*,

2000). Se observó que los PR eran más cortos en una parte intermedia de la zona limítrofe que en la zona normal, mientras que hacia la región isquémica central se alargaban considerablemente, este fenómeno es debido a una difusión de iones en la zona limítrofe de la isquemia (Zipes & Jalife 2006). Esta heterogeneidad facilita el fenómeno de la re-entrada y las consecuentes arritmias por re-entrada.

1.2.4. El ejercicio físico crónico aeróbico como maniobra protectora cardiovascular no farmacológica.

Una de las principales causas de muerte en el mundo occidental industrializado es la muerte súbita de origen cardiaco, la cual es producida en la mayor parte de casos por la FV.

Como contraste a las consideraciones 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. De hecho 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).

Trabajos a nivel experimental han demostrado el efecto protector de la práctica de ejercicio físico regular sobre la aparición de arritmias. Así, Billman *et al.* (1984) fueron los primeros en presentar evidencia experimental de que 6 semanas de ejercicio diario podían prevenir la aparición de arritmias inducidas por OAC en perros portadores de infarto de miocardio cicatrizado experimental.

Bakth *et al.* (1986) demostraron, en perros normales y en perros a los que se les había inducido diabetes, sometidos a entrenamiento, un aumento en el umbral fibrilatorio.

Otros investigadores hallaron una mayor dificultad para producir FV 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 FV se quiso inducir eléctricamente en los animales que habían realizado ejercicio físico diariamente.

Demirel *et al* (2001), Examinaron los efectos del ejercicio a corto plazo (3 y 5 días) y del estrés calórico sobre la respuesta miocárdica durante la isquemia y reperfusión *in vivo* en ratas hembras, indicando que el

ejercicio mejora el rendimiento miocárdico contráctil y que esta protección miocárdica inducida por el ejercicio está asociada con un aumento de la HSP72 miocárdica y de las defensas antioxidantes cardíacas (incrementos de los niveles de glutatión y de la actividad de la SOD manganeso).

Harris & Starnes (2001), estudiaron los efectos de la temperatura corporal durante el entrenamiento físico en las adaptaciones miocárdicas. Para ello utilizaron ratas macho, que entrenaron durante 3, 6 y 9 semanas en un cuarto a 23°C. Concluyeron que el ejercicio resulta en cambios dinámicos de las proteínas cardioprotectoras, lo cual está influido por la temperatura base (“core”). Además esta cardioprotección parece ser debida al incremento de la HSP70.

Ramires & Ji (2001), examinaron los efectos del suplemento oral reducido del glutatión (GSH) en conjunto con el entrenamiento de resistencia en la función contráctil, en la defensa antioxidante y en el daño oxidativo, como respuesta a la isquemia y reperfusión en corazones de rata, mostrando un incremento del contenido de GSH miocárdica y de la capacidad de defensa oxidativa, protegiendo de tal modo el corazón intacto contra daño oxidativo y el retraso funcional causados por la isquemia y reperfusión.

Yamashita *et al.* (2001), se plantearon como objetivo, determinar si el ejercicio era capaz de proteger al miocardio contra un infarto experimental y explorar la implicación de la proteincinasa-C en el desarrollo de cualquier protección observada, en corazones aislados de ratas. Concluyeron que el ejercicio moderado indujo protección contra el infarto del miocardio 24 horas

después y que la activación de la de proteín cinasa-C durante el ejercicio parece ser un mediador importante de la señal en esta respuesta protectora.

Brandt *et al.* (2001), en un estudio realizado en perros, concluyeron que los animales entrenados presentaban una disminución de la disfunción isquémica miocárdica logrando, por tanto, una mejora de la función contráctil miocárdica.

Babai *et al.* (2002) realizaron investigaciones en perros sometidos a protocolos de ejercicio físico submáximo, a los que toracotomizados y anestesiados, les sometieron a OAC observando una menor incidencia de arritmias letales y una menor heterogeneidad electrofisiológica del miocardio.

Hoshida *et al.* (2002), estudiando el efecto en ratas de diversas manipulaciones, como el ejercicio físico, encontraron que aquellos que realizaron ejercicio físico presentaban cardioprotección persistente frente al daño que provoca el fenómeno de isquemia y reperfusión.

Brown *et al.* (2003), Se plantearon si el ejercicio físico regular preservaba el flujo coronario y reducía el tamaño del infarto después de una isquemia y reperfusión en corazones de ratas. Indicando como conclusión que el ejercicio físico de largo plazo conlleva a una disminución del infarto y mejora el mantenimiento del flujo coronario y la función mecánica después de una isquemia y reperfusión.

Lennon *et al.* (2004), estudiaron la pérdida de la cardioprotección inducida por ejercicio después de la cesación del mismo (1, 3, 9 o 18 días) en ratas;

concluyendo que la HSP72 y la catalasa no son esenciales para la protección inducida por ejercicio durante el “atontamiento” (*stunning*) miocárdico y por lo tanto otras moléculas citoprotectoras son responsables de la protección proporcionada durante la isquemia y reperfusión.

Hajnal *et al.* (2005) con el objeto de investigar el posible papel del óxido nítrico en la protección miocárdica exhibida por el ejercicio físico en perros, observaron una menor incidencia de FV tras la OAC aguda junto a una menor heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular tras la aplicación de un protocolo de ejercicio.

Brown *et al.* (2005), analizaron los efectos cardioprotectores del ejercicio a corto plazo (1 o 5 días) contra el daño de la isquemia y reperfusión miocárdicas

en ratas de ambos sexos. Mostraron que las diferencias inducidas por el ejercicio y dependientes del sexo en la susceptibilidad del corazón al daño por isquemia y reperfusión no está asociado con la mejora del flujo coronario o hiperemia postisquémica; que el incremento de la expresión de la proteína Superóxido Dismutasa manganeso (MnSOD) no es necesariamente para la protección inducida por el ejercicio contra el infarto y que un posible mecanismo para las reducciones del tamaño del infarto dependientes del sexo y mediadas por el ejercicio involucran un incremento en la expresión de la proteína de los canales K_{ATP} sarcolémicos cardiacos.

Hwang *et al.* (2005), estudiaron los efectos del entrenamiento físico aeróbico en la función contráctil de la trabécula miocárdica después de una isquemia y reperfusión en ratas. Observando, que el miocardio entrenado parece tener una mayor habilidad para la

generación de fuerza máxima que puede, al menos parcialmente, compensar la función contráctil disminuida como consecuencia del breve periodo de isquemia.

Marcil *et al.* (2005), plantearon que el entrenamiento físico altera la susceptibilidad del poro de transición permeable (PTP) inducido por Ca^{2+} , en mitocondrias de corazón aislado de ratas; sugiriendo a vista de los resultados, la existencia de un regulador específico de sustrato del PTP y de que el ejercicio regular provoca una sensibilidad reducida a la apertura del PTP inducida por Ca^{2+} en presencia de sustratos del complejo II.

Collins *et al.* (2005), con el fin de investigar si el efecto cardioprotector del ejercicio físico se hallaba ligado a cambios en las proteínas reguladoras del calcio, sometieron a ratas a OAC aguda durante un breve

intervalo de tiempo para determinar el umbral de aparición de arritmias ventriculares y encontraron que los animales sometidos a ejercicio físico presentaban una menor incidencia de arritmias ventriculares.

Collins & Dicarlo (2005) investigando el efecto del ejercicio físico agudo aislado sobre el umbral para la instauración de arritmias ventriculares y el papel que podía jugar el sistema receptor de adenosina intrínseco encontraron que la realización de dicho ejercicio elevó el umbral de aparición de dichas arritmias.

Lujan *et al.* (2006) publicaron que ratas corredoras con alta capacidad aeróbica en las que se investigó la susceptibilidad a las arritmias producidas tras un tiempo breve de OAC seguida de reperfusión, exhibieron una menor incidencia de taquiarritmias ventriculares en relación con las ratas con baja capacidad

aeróbica. Esa disminución se asoció con un descenso en las necesidades metabólicas durante la isquemia así como con un control autonómico más amplio de la frecuencia cardíaca.

Billman & Kukielka (2007) observaron que el entrenamiento de resistencia durante 10 semanas en perros susceptibles de FV, favorecía una mejor adaptación de la frecuencia cardíaca al iniciar el ejercicio y a una rápida recuperación de la frecuencia cardíaca basal de los animales entrenados tras la finalización de ejercicios submáximos, gracias a una mejor regulación autonómica cardíaca de los animales entrenados con respecto a los controles.

Thorp *et al.* (2007), estudiaron si el entrenamiento físico mejoraba la tolerancia miocárdica a la isquemia en ratas macho, analizando la función

mecánica ventricular izquierda y comparando los valores de la HSP70. Otras medidas calculadas fueron la MnSOD y la eNOS. Los resultados mostraron que el ejercicio físico repetitivo es mucho más beneficioso en los machos que en las hembras, debido a un mejoramiento en la función miocárdica, tras una lesión de isquemia y reperfusión .

Del mismo modo que hay trabajos de investigación de carácter experimental 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 clínicos que apuntan en la misma dirección. Así, Bartels *et al.* (1997), encontraron que la incidencia de muerte súbita de origen cardiaco 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 & Hale (1975) y Hertzzeanu *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.

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).

Wannamethee & Shaper (2001), en una revisión de carácter epidemiológico relataron que el ejercicio físico es un factor crítico y/o fundamental tanto en la prevención primaria como secundaria de enfermedad cardíaca coronaria. En tal revisión se expuso la relación lineal (hasta cierto nivel de actividad) dosis-respuesta entre la actividad física y la patología coronaria.

Ueno & Moritani (2003). Estudiaron los efectos de un programa de entrenamiento físico de largo periodo en la regulación sanguínea y la variabilidad de la frecuencia cardíaca durante la variación ortostática en reposo en hombres mayores y sanos. Hallaron diferencias en favor del grupo de los entrenados y sugirieron que esa modulación autonómica cardíaca aumentada refleja una mejor sensibilidad parasimpática en los individuos entrenados, concluyendo que el entrenamiento a largo plazo pudiera considerarse como posible factor

cardioprotector que pudiera disminuir la susceptibilidad a la FV, así como ayudar a la presión sanguínea arterial en el inicio de la maniobra ortostática en hombres mayores.

Böhm *et al.* (2008) en una revisión acerca del tratamiento habitual para la protección cardiovascular y las aportaciones terapéuticas que también son necesarias, además de relatar que la actividad física moderada mejora la función endotelial y la reparación vascular, relataron que en el amplio estudio internacional “INTERHEART” se mostró entre los factores que claramente predisponen a enfermedad cardiovascular se encontraba la ausencia de actividad física y que este con otros factores podían ser responsables de alrededor del 90% de riesgo de infarto de miocardio (Yusuf *et al.*, 2004)

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 PA, podría depender de la especie estudiada. Efectivamente, en el caso del perro, la acetilcolina no modifica el PA en opinión de unos autores, lo acorta en opinión de otros, mientras que en el caso de la oveja, la acetilcolina prolonga el PA (para revisión ver Rardon & Bayley, 1983).

Existen otros factores que parecen estar 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). 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 metabólico*, caracterizado por hipertensión arterial, resistencia a insulina/diabetes, hiperinsulinismo, obesidad de distribución central y dislipemia.

Pese a los posibles mecanismos citados como protectores frente a factores que pueden acabar desencadenando, de una manera directa o indirecta la muerte súbita, en opinión de un gran número de autores, los mecanismos por los cuales el ejercicio físico ejerce un efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares no están claros (Wannamethee & Shaper 2001, Billman, 2002, Böhm *et al.*, 2008).

Es de importancia considerable, que el ejercicio físico crónico hace al miocardio menos susceptible a los efectos deletéreos de los episodios isquémicos agudos y puede prevenir o revertir varios de los déficits funcionales cardíacos producidos por la hipertensión crónica, la edad avanzada y el infarto de miocardio (Moore *et al.*, 1995).

La actividad física regular también reduce la incidencia de arritmias cardíacas en individuos con

patología cardíaca. Por ejemplo, la actividad física regular mejoró la función cardíaca y redujo la frecuencia de arritmias en individuos con insuficiencia cardíaca congestiva (Kiilavuori *et al.*, 1995). La frecuencia y severidad de las arritmias cardíacas disminuyó también tras un programa de entrenamiento para individuos que habían padecido infarto agudo de miocardio (Hertzeanu *et al.*, 1993).

La última comunicación científica de la *American Heart Association* sobre el ejercicio y el fallo cardíaco (Piña *et al.*, 2003), permite ver la importancia que éste puede desempeñar en la prevención y rehabilitación de personas con dicha patología. Se plantea como reflexión, que este informe sirva para estimular el uso apropiado del entrenamiento físico en los pacientes con fallo cardíaco cuando así se prescriba y alentar a más estudios en aquellas áreas en las que se carezca de

datos suficientes, como por ejemplo: Si “¿El entrenamiento físico disminuye la incidencia de la muerte súbita y las arritmias ventriculares?”.

Recogiendo el planteamiento y las sugerencias que Hamer & Stamatakis (2008) hacen en torno a las perspectivas futuras de los estudios de la actividad física en relación con la enfermedad cardiovascular. “...la investigación futura es necesaria en áreas críticas para ampliar nuestro conocimiento sobre los efectos cardioprotectores de la actividad física. Los futuros avances en la medición de la actividad física también proporcionarán a los investigadores estimaciones más precisas sobre la cantidad e intensidad en cada población que puedan ayudar a resolver los problemas aún sin dilucidar”

1.2.5. Consideraciones sobre el uso del análisis espectral de la FV para el estudio de las variaciones de las propiedades electrofisiológicas del miocardio.

1.2.5.1. Generalidades sobre la FV.

Como hemos descrito en el apartado anterior, la FV es un proceso caracterizado por una actividad eléctrica desordenada que ocasiona una contracción ventricular rápida y descoordinada, lo que se traduce en un bombeo muy reducido o ninguno de sangre, lo que suele llevar al colapso y a la muerte; el trazado electrocardiográfico se caracteriza por ondas irregulares en morfología, voltaje y frecuencia (Jalife 2006).

Andreas Vesalius comparó a los movimientos que ocurrían en los corazones disecados de los animales,

que presuntamente estaban fibrilando, a un movimiento como de gusano, tal y como podemos leer en el libro *De Humani Corporis Fabrica* (1543). En 1874 podemos leer la denominación de movimiento fibrilar en un artículo publicado por Vulpiano (Jalife, 2000). El primer registro electrocardiográfico de la FV en el ser humano lo publicó Hoffman en 1912 (Jalife, 2000).

Un importante aspecto relativo a la capacidad para el mantenimiento de la FV una vez instaurada fue la hipótesis de la “masa crítica”, enunciada por Garrey (1914) en parte sobre las observaciones de McWilliam (1884 y 1887) que fue objeto de estudio tempranamente. En esta hipótesis se plantea que la dificultad para inducir FV y para la recuperación espontánea una vez inducida la arritmia es mayor cuanto menor es la magnitud del miocardio. Garrey cuantificó la magnitud de la masa crítica para el caso de los corazones de tortugas y

mamíferos. Por debajo de un determinado número de centímetros cuadrados no era posible el mantenimiento de la FV y por arriba de esta superficie era posible el mantenimiento de la misma en una forma de movimiento circular de la onda de excitación. Fue el pionero en el planteamiento de que sin haber ningún obstáculo anatómico se pudieran establecer circuitos de re-entrada a la manera de vórtices alrededor de una región estimulada; planteamiento que si bien fue subestimada posteriormente, ha sido más recientemente confirmada por diversos autores. Allesie, cuatro décadas más tarde, aportó datos a favor del tipo de re-entrada propuesto por Garrey, una vez desarrolladas las técnicas de mapeo electrográfico con multielectrodos (Allesie *et al.*, 1973, 1976, 1977 y Smeets, 1986, citados por Kléber & Rudy, 2004).

El movimiento circular en tejidos excitables fue demostrado por primera vez por Mayer (1908 y 1916, citado por Kléber & Rudy, 2004) en anillos de tejido de la *subumbrella* de la especie *Sycho medusa cassiopea*.

Mines (1913 y 1914, citado por Kléber & Rudy, 2004) reprodujo los experimentos de Mayer en preparaciones anulares de aurícula y ventrículo de diversos animales. Este autor propuso que las taquiarritmias de los seres humanos se asentaban en movimientos circulares y predijo la aparición de excitación por mecanismos de re-entrada en corazones portadores de vías auriculoventriculares accesorias, como confirmó con posterioridad. Asimismo planteó la existencia de un bloqueo unidireccional como factor necesario para la iniciación del proceso reentrante y también se dio cuenta de que la iniciación y el mantenimiento de la re-entrada era dependiente de la VC y del PR.

Lewis (1915, citado por Jalife, 2000) defendió también el mecanismo de la re-entrada. Todas estas aportaciones asentaron los cimientos de nuestra actual forma de entender los mecanismos y la dinámica de la FV.

Etapas de la FV.

1) Ondulatoria (dura entre 1 y 2 segundos) de frecuencia de activación ventricular tan rápida como de 10 Hz; 2) Incoordinación convulsiva (15 a 40 segundos) de frecuencia de activación ventricular tan rápida como de 10 Hz; 3) Incoordinación temblorosa (2 a 3 minutos) de frecuencia de activación decreciente al igual que ocurre con la siguiente etapa, en la progresión de la isquemia; y 4) Fibrilación atónica (se desarrolla después de 2 a 5 minutos de iniciada la FV). Estas fases las diferenció Wiggers en 1930 (Jalife, 2000) tras producir FV en perros mediante estímulo eléctrico y de realizar registro

cinematográfico de la arritmia, y en su opinión tanto la formación de circuitos limitados como la re-entrada ocurre a lo largo de la evolución de las fases citadas. De especial relevancia fue la reflexión de dicho autor que plantea que “en la medida que las excitaciones reentrantes viajan sobre una abultada masa de músculo ventricular, no se debe pensar en términos de anillos o circuitos bidimensionales, sino más bien de frentes de onda masivos propagándose en tres dimensiones” (Jalife, 2000)

¿Qué tipo de actividad es la que mantiene a la FV? La hipótesis de Moe (1962) plantea la existencia de múltiples ondas pequeñas que se producen simultáneamente y son independientes, desplazándose por trayectos al azar y que van cambiando. La propuesta de que la fibrilación se debe a un mecanismo distinto al de la taquicardia y de que había una actividad absolutamente desorganizada durante la FV fue hecha por este autor. La

idea de que la FV era el resultado de una serie de frentes de onda en continuo cambio de dirección y número fue imaginada por este autor. Moe & Abildskov en 1959 (Jalife, 2000) probaron que esta arritmia, independientemente de la causa que la originara, podía auto sostenerse y mantenerse en un estado estable, para lo que se requería la existencia de repolarizaciones no homogéneas en el tejido miocárdico. Asimismo, se demostró que la heterogeneidad de los periodos refractarios miocárdicos, además de la anteriormente mencionada heterogeneidad en la repolarización, era un factor de gran importancia para la inducción de fibrilación. La posibilidad de que la actividad reentrante permaneciera periódica y no degenerara en fibrilación se demostró que no tenía lugar en ausencia de heterogeneidad en los periodos refractarios.

La hipótesis de *wavelets* (u ondas de pequeño tamaño) tuvo que esperar alrededor de veinte años para encontrar un soporte experimental una vez desarrolladas las técnicas de mapeo electrográfico de alta resolución (Allessie *et al*, 1985, citado por Jalife, 2000). La hipótesis de *wavelets*, si bien la planteó Moe para el caso de la FA, ha aparecido en diversas publicaciones que se asume dicha hipótesis para el mecanismo de la FV.

Actualmente, se plantea si las múltiples *wavelets* son en realidad el resultado de la actividad mantenida de fuentes de actividad reentrante producidas por uno o pocos circuitos y que activan a muy alta frecuencia al miocardio ventricular. Esta idea contrasta con la hipótesis más clásica según la cual, el mantenimiento de la fibrilación en tres dimensiones en los ventrículos implica a un gran número de *wavelets* de activación errantes, cuyos trayectos habitualmente

cambian al azar de un ciclo al siguiente, si bien en el proceso de la iniciación de la arritmia puede jugar un papel importante la activación focal. Respecto a la investigaciones que plantean la existencia de una o pocas fuentes de actividad reentrante cabe citar a Gray *et al.*, 1995, Jalife & Gray, 1996, Gray & Jalife, 1998.

1.2.5.2. Métodos de análisis de la FV.

El análisis de las características de la FV 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 FV 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 FV con la mayor o menor malignidad de la misma.

Strohmenher *et al.* (1997) realizaron una investigación con el propósito de analizar si en pacientes con FV 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 FV se correlacionó con unas mejores posibilidades de cardioversión; mientras que la fibrilación “fina” fue más rebelde al tratamiento. Asimismo, tuvo una buena correlación con el éxito de la cardioversión la frecuencia dominante (FD) de la señal fibrilatoria, hallada mediante la aplicación de la transformada rápida de Fourier. Es decir,

las posibilidades de éxito se vieron con valores de FD 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 *et al.*, 1975), así como una sobrecarga celular de calcio (Clusin *et al.*, 1984), lo cual, declina la frecuencia de la FV 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*) = $\sum A_i \times F_i$, donde A_i es la amplitud a la frecuencia i -ésima F_i . No solamente hubo una buena correlación entre este índice y el buen resultado de la desfibrilación en el sentido de que la 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.

Por otra parte, la utilización de modelos experimentales en los que se mantiene la perfusión coronaria durante la FV permite mantener un estado metabólico adecuado durante el desarrollo de la arritmia, y excluir esta variable a la hora de analizar la FV. 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 *et al.*, 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 reentrante 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 del poder 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 electrocardiograma (ECG) de superficie o mediante electrodos epicárdicos 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. 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 FV, proporciona información superponible (Chorro *et al.*, 2000) y son instrumentos útiles para caracterizar las acciones de fármacos u otros procedimientos terapéuticos.

Varias son las características del poder espectral que han sido analizadas en la FV 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 (Strohmenher *et al.*, 1997 y Brown *et al.*, 1991, 1993, 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 FD, 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 FV.

Otras técnicas de estudio de la FV 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 FV, conceptos éstos (los de “fina” y “grosera”) cuya utilidad ha sido objeto de polémica. Jones & Klein (1984) describieron la coexistencia de ambas morfologías al inicio de la FV, 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 FV, la cual origina modificaciones en el PA, 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

FD 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). Por otra parte, la utilización de modelos experimentales en los que se mantiene la perfusión coronaria durante la FV, 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 *et al.*, 1997, Chorro *et al.*, 1998, Eggenreich *et al.*, 1996, Burton & Cobbe, 1998).

1.2.5.3. Frecuencia dominante. Correspondencia de este parámetro con las propiedades electrofisiológicas miocárdicas y utilidad del mismo

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 *et al.*, 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.

Zaitsev *et al.* (2003) relataron que el análisis de la FV mediante la transformada de Fourier proporciona un

estudio objetivo, preciso y completo de la FD. Según estos autores, la frecuencia de la FV es un estimador de la longitud del ciclo y de la rapidez de la FV.

En la presente tesis doctoral, se plantea como uno de los objetivos analizar la FD de la FV inducida, tras la realización de ejercicio físico crónico, ya que la FD es una propiedad que se correlaciona bien con otra propiedad relacionada con la aparición de arritmias por re-entrada y con la perpetuación de las mismas, como es la refractariedad miocárdica.

Los mecanismos de la desfibrilación (los que están directamente ligados al objetivo del presente trabajo) continúan siendo objeto de debate en la actualidad, a pesar del gran número de trabajos de investigación realizados hasta el momento (Chen *et al.*

1998, Dillon *et al.* 1988, Efimov *et al.* 1998, Chattipakorn *et al.* 2001).

En opinión de algunos autores, la facilidad para desfibrilar guarda relación con la capacidad que tienen los choques eléctricos para prolongar la repolarización, sincronizarla y disminuir la dispersión de la misma (Dillon 1992, Knisley *et al.* 1992), aunque hay estudios en los que, utilizando una serie de parámetros de heterogeneidad como es la dispersión del tiempo transcurrido desde la aplicación del choque hasta el 90% de la repolarización del potencial de acción inmediato en el post-choque, no encontraron relación entre el éxito o el fracaso de la desfibrilación y dicha heterogeneidad (Chattipakorn *et al.* 2001).

La dispersión de la duración del potencial de acción transmural, que resulta de las variaciones de las

propiedades iónicas celulares, se sabe que modula el sustrato arritmogénico (Antzelevitch y Fisch 2001 citados por Maharaj *et al.* 2008) y podría jugar un papel en el resultado de la terapia antiarrítmica.

Asimismo, ha sido publicado que el límite superior de vulnerabilidad, definido como la más alta intensidad de choque por encima de la cual no puede ser inducida ninguna arritmia, está relacionado con la dispersión de la repolarización post-choque, facilitándose la instauración de procesos reentrantes (Maharaj *et al.* 2008).

Si asociamos estas consideraciones con los efectos que el ejercicio físico crónico parece exhibir sobre la heterogeneidad electrofisiológica miocárdica y también sobre la refractariedad miocárdica, parece razonable

plantear la hipótesis de trabajo que desarrollamos en el siguiente apartado.

Es por ello que, nuestros resultados sobre la determinación de la energía necesaria para desfibrilar podrían estar relacionados, en parte, con los efectos beneficiosos del ejercicio físico sobre la heterogeneidad del miocardio, que se muestran en este estudio.

1.3. CONSIDERACIONES FINALES: RESUMEN DE LA JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS. HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Una vez hechas las anteriores consideraciones, a modo de resumen y teniendo en cuenta que: 1) el análisis de la variación de la FD de la FV en múltiples puntos del miocardio permite estudiar la heterogeneidad

electrofisiológica miocárdica; 2) la importancia que tiene el aumento de la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular en la instauración de arritmias por re-entrada; 3) la OAC provoca un incremento de la heterogeneidad miocárdica; 4) el ejercicio físico se postula como una maniobra de protección miocárdica no farmacológica frente a la muerte súbita, y 5) los mecanismos sobre los que se asienta el citado efecto protector permanecen por dilucidar, nos ha parecido de interés realizar la presente tesis doctoral sobre la hipótesis de trabajo que a continuación detallamos.

Hipótesis de trabajo: El ejercicio físico crónico ejerce los siguientes efectos: 1) En el corazón de conejo, aislado y perfundido, aumenta la refractariedad, disminuye la frecuencia de la fibrilación ventricular inducida, disminuye la heterogeneidad electrofisiológica y ejerce propiedades antifibrilatorias manifestadas por una

dificultad para que en él se induzca dicha arritmia; y 2) En el corazón, aislado y perfundido, sometido a isquemia regional aguda, mantiene mejor las características espectrales de la FV, atenúa la heterogeneidad electrofisiológica y ejerce propiedades antibrillatorias manifestadas por disminuir la energía necesaria para desfibrilar, mediante la aplicación de choques eléctricos de ondas bifásicas.

1.4. PLAN DE TRABAJO.

Con la finalidad de alcanzar los objetivos expuestos previamente, hemos diseñado el siguiente plan de trabajo:

- 1) Someter a un grupo de conejos a entrenamiento en cinta rodante siguiendo un protocolo previamente

establecido, y a otro grupo de conejos a estabulación durante un período de tiempo igual al de entrenamiento.

- 2) Finalizado el período de entrenamiento y/o de estabulación (durante el que se habrán analizado parámetros relacionados con el entrenamiento), se procederá al sacrificio de los animales para la extracción y posterior aislamiento del corazón.
- 3) En el corazón aislado y perfundido se determinarán los siguientes parámetros:

La longitud del ciclo sinusal básico, los períodos refractarios efectivo y funcional ventriculares determinados en ritmo sinusal, la VC ventricular, los períodos refractarios determinados durante la FV inducida, el análisis espectral de la fibrilación

inducida para la determinación de la frecuencia dominante media, y a través del análisis de ésta última determinar la heterogeneidad electrofisiológica miocárdica ventricular. Todos estos parámetros se determinarán en condiciones de normal perfusión y tras la OAC.

- 4) En el corazón aislado y perfundido fibrilando se cuantificará la energía necesaria a aplicar mediante un desfibrilador para revertir el proceso.
- 5) Aplicar los correspondientes test de inferencia estadística para conocer la significación correspondiente a los parámetros investigados y extraer las conclusiones más adecuadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. MATERIAL.

2.1.1. Animales de experimentación:

Características

Se efectuó el estudio en 50 conejos machos de raza *White New Zealand (Oryctolagus cuniculus)*, de peso medio previo al inicio del protocolo de entrenamiento y/o estabulación de $2,18 \pm 0,16$ kg, con 61 días de edad y alimentados *ad libitum*. Se inició con un total de 68 animales, los cuales fueron adquiridos en la Granja San Bernardo S.L. (Navarra-ESPAÑA), empresa registrada como centro de cría y suministrador de animales de laboratorio.

2.1.2. Reactivos.

- Solución de Tyrode: compuesto por CaCl_2 , MgCl_2 , KCl , NaH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl y glucosa de Panreac[®] Química S.A.
- Ketamina (Ketolar[®] Parke-Davis).
- Heparina sódica al 5% (Rovi[®]).
- Tiras reactivas BM-Lactate (Accutrend[®] Lactate) de Roche
- Povidona iodada al 10% (Betamadrileño, S.L.)

2.1.3. Aparatos.

- Balanza de precisión (Precisa Balances[®]) y balanza Soehnle[®].
- Tapiz rodante (ergómetro LE8700) de Panlab[®] S.L.



Figura 2.1. Tapiz rodante y unidad de control.

- Analizador de tiras para la determinación de lactato (Accutrend[®] Lactate) de Roche.



Figura 2.2. Equipo de medición de lactato Accutrend[®] Lactate.

- Sistema de estimulación:
 - Electrodo**s** bipolares de estimulación de acero inoxidable con un diámetro de 0,125 mm y distancia entre electrodos de 1 mm.
 - Estimulador Grass S88[®] (Grass Instruments[®], Inc., Quincy, M.A., U.S.A.) provisto de una unidad de aislamiento de estímulo (SIU5). El estimulador permite emitir pulsos rectangulares de corriente. Permite controlar parámetros tales como frecuencia de estimulación, intensidad de estímulo, tiempo de duración del estímulo, emisión de un extraestímulo, etc (figura 2.3.).



Figura 2.3. Estimulador Grass S88[®].

- Sistema informático conectado al estimulador para el control del mismo, para la emisión de pulsos de corriente de forma programada. Este sistema fue diseñado y construido por el departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia.
- Sistema de registro:
 - Electrodo bipolar de plata con diámetro de 0,5 mm y una separación entre los electrodos de 1 mm, para el registro del auriculograma.
 - Electrodo múltiple de registro para electrogramas ventriculares, compuesto de 256 electrodos unipolares de acero inoxidable, de un diámetro 0,125 mm, y una distancia entre electrodos de 1 mm (figura 2.4.).

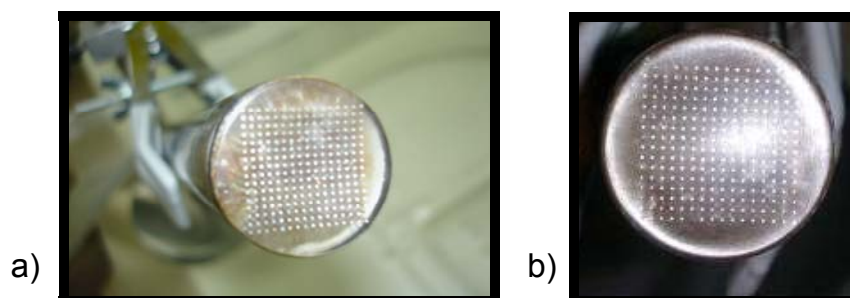


Figura 2.4. Electrodo múltiple de registro (a) y detalle (b).

- Sistema de cartografía epicárdica de la actividad eléctrica (MAPTECH[®], Waalre, Holanda), para la adquisición y digitalización de las señales correspondientes a los electrogramas ventriculares y auriculares. Los electrogramas se amplificaron con una ganancia de 100 a 300, se filtraron eliminando las frecuencias situadas fuera de la banda comprendida entre 1-400 Hz y se multiplexaron. La frecuencia de muestreo en cada canal fue de 1 kHz, con una resolución de 12 bits. Los registros obtenidos a lo largo del experimento fueron almacenados en soporte digital para su análisis posterior (figura 2.5.).



Figura 2.5. Sistema de cartografía MAPTECH®.

- Programas informáticos:
 - Pacemap®, utilizado para la captura y análisis de los electrogramas. Este programa almacena los registros en el sistema de memoria del ordenador, permitiendo la extracción de los episodios requeridos para posterior análisis (figura 2.6.).
 - MatLab® 7.5, en el que se programaron diversas aplicaciones para poder visualizar los trazados de los intervalos V-V de la fibrilación ventricular (FV) y calcular los estadísticos, a partir de un fichero ASCII de marcas exportadas.

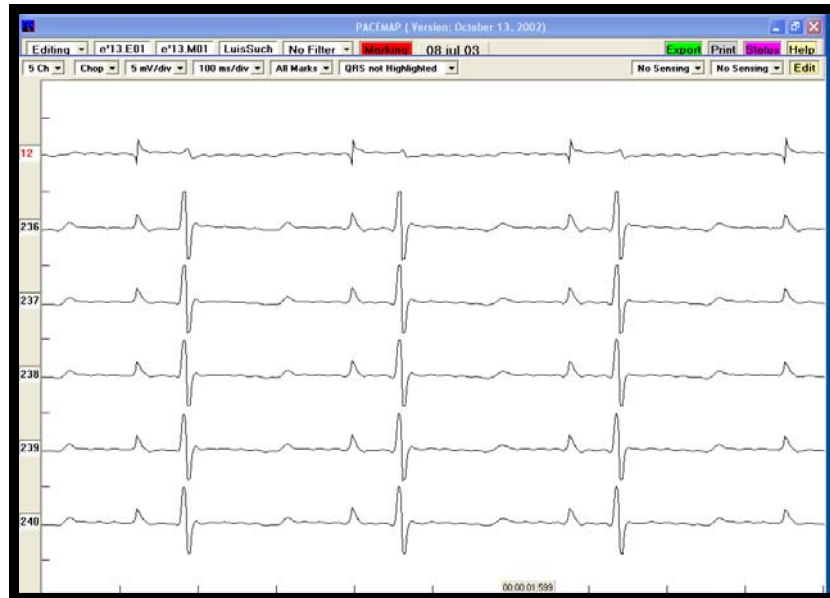


Figura 2.6. Programa Pacemap[®], utilizado para la adquisición y registro de las señales eléctricas y posterior análisis.

- MedMap[®] 2.1, desarrollado bajo entorno MatLab[®], utilizado fundamentalmente para la comprobación y validación de mapas y espectros de frecuencia de las señales de FV. Mediante ligeras modificaciones y ampliaciones de este programa se realizaron algunas correcciones y mejoras. Se le dotó de la capacidad de importar los archivos de señales generados por el programa PaceMap[®], se automatizó el cálculo de las frecuencias dominantes de los espectros y se

optimizó el cálculo estadístico por matrices de electrodos (figura 2.7.).

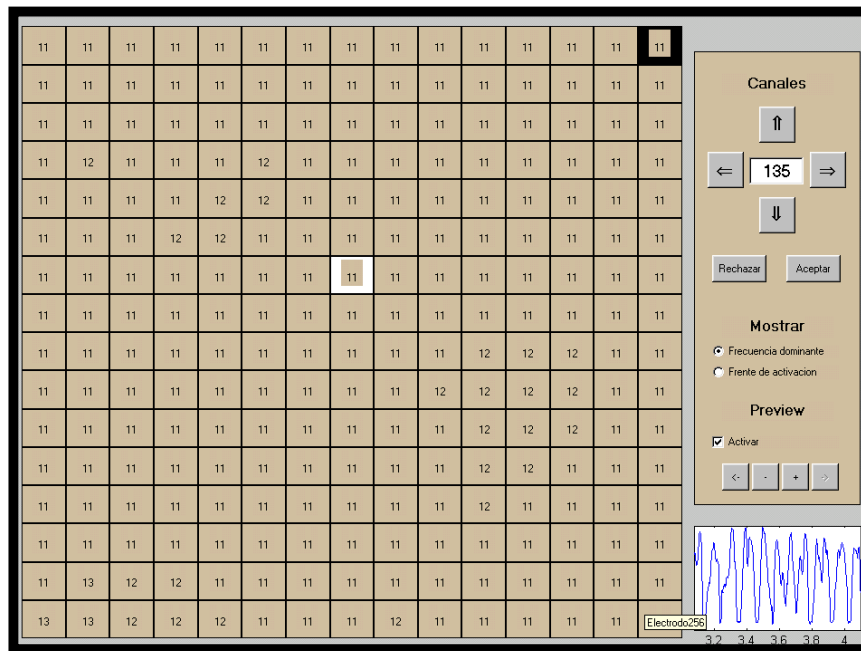


Figura 2.7. Programa MatLab[®], utilizado fundamentalmente para la comprobación y validación de mapas y espectros de frecuencia de las señales de FV.

- SPSS[®] 17, utilizado para la gestión y el análisis estadístico de los resultados obtenidos.
- Microsoft[®] Office[®] 2007, que ha sido nuestro paquete informático para la redacción de la presente tesis.
- Sistema de perfusión del corazón (figura 2.8):

- Sistema de soporte metabólico tipo Langendorff.
- Bomba peristáltica (Cole-Parmer[®] Instrument co.).
- Bomba circulante de termostatación (Neslab[®] Instrument, inc.).

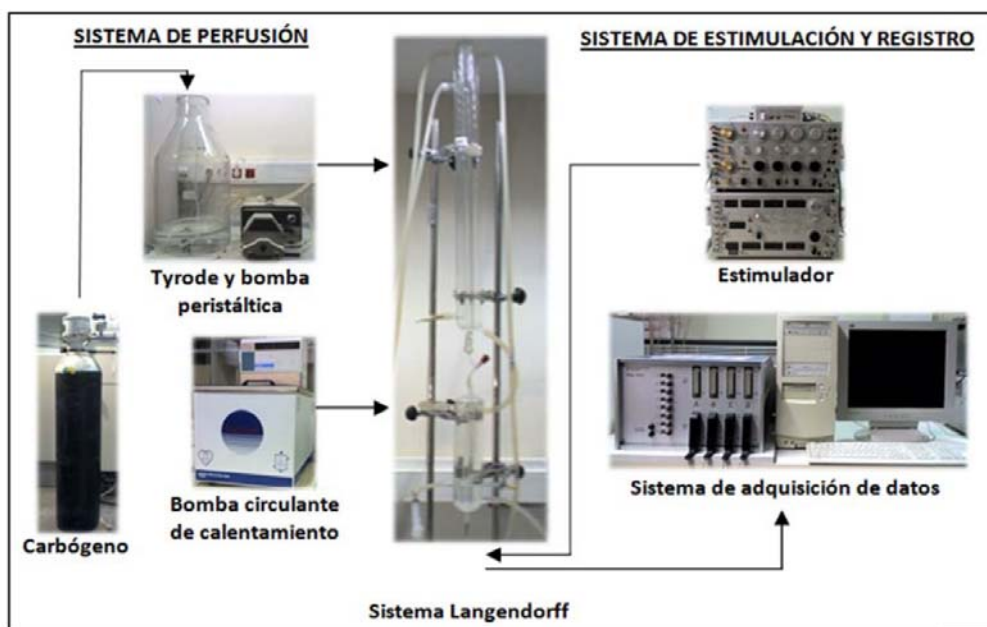


Figura 2.8. Esquema de una preparación de corazón aislado de conejo. El líquido nutritivo (Tyrode) se almacena en un recipiente conectado a una bala de carbógeno y es bombeado al sistema gracias a una bomba peristáltica. El líquido nutritivo se calienta hasta llegar al corazón gracias a la acción de una bomba que mantiene agua destilada a 40°C circulando en el sistema. La estimulación se realiza directamente sobre el corazón mediante una serie de electrodos conectados al estimulador y los registros son recogidos y almacenados por un sistema de adquisición de datos. (Tomado de Zarzoso M, 2011).

- Desfibrilador (figura 2.9.): el equipo utilizado para este estudio, fue diseñado *ad hoc* por el grupo de investigación Bio-ITACA de la Universidad Politécnica de Valencia. Su resolución es de 0,01 J de energía y nos permitió aplicar descargas de ondas bifásicas (inversión de polaridad en el 80% del ciclo) con una energía ajustable entre 0,05 J y 2,99 J. El control de la energía transferida se realiza automáticamente por medio de un microcontrolador que ajusta el tiempo de descarga del condensador para una diferencia de potencial fija de 100 V. La energía se aplicó al corazón mediante dos palas circulares de metal de 20 mm de diámetro, ubicadas siempre en el mismo lugar del corazón aislado, como se observa en la figura 2.9.
- b.

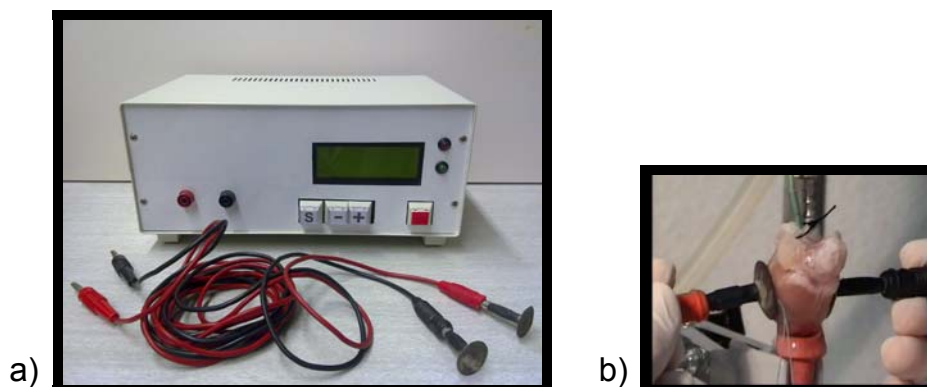


Figura 2.9. Equipo desfibrilador (a) y ubicación de las palas (b)

2.2. MÉTODOS.

2.2.1. Protocolo de entrenamiento físico.

Los conejos fueron entrenados en cinta rodante durante 6 semanas. El protocolo de entrenamiento consistió en 30 sesiones (5 días a la semana). Cada sesión se compuso a su vez de 6 series de carrera continua, en cada una de las cuales el animal corrió a una velocidad de $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, ($0,33 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ o $1,2 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$), durante 4 minutos. El intervalo de descanso entre las series fue de

un minuto. Previamente a la iniciación de las sesiones de entrenamiento, los conejos fueron sometidos a un período de 4 sesiones de familiarización con la cinta rodante (figura 2.10.).



Figura 2.10. Animal dentro del aparato con cinta rodante

La correcta realización del ejercicio sobre la cinta rodante fue regularmente supervisada. Los conejos que una vez iniciado el período de entrenamiento no corrieron adecuadamente durante cinco sesiones consecutivas, fueron excluidos del presente estudio.

Finalizado el protocolo de entrenamiento se procedió a sacrificar a los animales para realizar el estudio electrofisiológico.

Los conejos que no fueron sometidos al protocolo de entrenamiento (grupo control) permanecieron en jaulas idénticas durante el mismo tiempo que estuvieron los conejos sometidos al protocolo de entrenamiento, esto es, seis semanas, más la semana que entraña la familiarización de los conejos con la cinta.

Las condiciones en las que permanecieron estabulados los conejos también fueron controladas, con un período de luz artificial de 12 horas y otras 12 de oscuridad. La temperatura de la habitación se mantuvo entre los 21 y 23° C, siendo la humedad relativa del 31%. Cada conejo estuvo en una jaula individual de dimensiones reglamentarias y se utilizó viruta de nogal

Lignocel UBK 1500/3000 para mantenerlos en las condiciones de limpieza más adecuadas.

Todos los animales estudiados fueron alimentados con pienso (GLOBAL DIET 2030 Complete feed for RABBITS HARLAN) y agua *ad libitum*, registrándose diariamente el peso y la cantidad ingeridos como medida de control del estado de salud de los animales. En la tabla 2.1. se detalla la composición del pienso utilizado.

<u>INGREDIENTES:</u>	<u>ADICIÓN POR kg:</u>
Harina de alfalfa deshidratada	VITAMINAS:
Salvado de trigo	Vitamina A.....15000 U.I.
Trigo	Vitamina D ₃1500 U.I.
Hojuelas de Avena	Vitamina E (α-tocoferol).....81 mg
Harina de soja tostada	Vitamina K ₃ (menadiona sodio bisulfito).....50 mg
Dextrosa	Vitamina B ₁9,8 mg
Fosfato bicálcico	Vitamina B ₂12 mg
Cloruro de sodio	Vitamina B ₆11,5 mg
Carbonato de calcio	Vitamina B ₁₂0,08 mg
Aceite de soja	Niacina.....27 mg
L-Lisina	Ácido d-pantoténico.....21 mg
D, L-Metionina	Ácido fólico.....2,9 mg
Piedra caliza (Carbonato de calcio)	Biotina.....0,23 mg
	Colina.....600 mg
<u>ANÁLISIS:</u>	MINERALES:
Agua (humedad)..12,00 %	Hierro (Sulfato ferroso heptahidratado).....50 mg
Proteína.....16,50 %	Manganeso (Sulfato de manganeso monohidratado).....44 mg
Grasa.....3,50 %	Zinc (Sulfato de zinc monohidratado).....30 mg
Fibra.....15,50 %	Cobre (Sulfato de cobre pentahidratado).....7 mg
Ceniza.....8,50 %	Cobalto (Carbonato básico de cobalto monohidratado)..0,5 mg
	Yodo (Yodato de calcio anhidro).....6,2 mg
	Cromo (Sulfato crómico).....0,5 mg

Tabla 2.1. Composición nutricional del pienso alimentario DIET 2030 Complete feed (Harlan Interfauna Ibérica S.A.)

2.2.2. Preparación experimental

La descripción de la preparación experimental puede verse gráficamente en la figura 2.11. Tras la heparinización (800 UI de heparina sódica al 5%, de Rovi[®]) e inyección intravenosa de ketamina (12,5 mg/kg, de Ketolar[®] de Parke-Davis) a los conejos, en la vena

marginal de la oreja (A), se sacrificaron mediante contusión cervical (B). Después de una toracotomía mediosternal y una pericardiotomía (C), se extrajo el corazón rápidamente, seccionándolo por su pedículo vascular, y se sumergió en una solución de Tyrode a baja temperatura (1-5 °C), para su posterior manipulación (D). Tras seccionar la arteria pulmonar y a continuación diseccionar la arteria aorta ascendente, se conectó al sistema de Langendorff (E), donde se fijó mediante un hilo de seda de 1-2 mm de diámetro, perfundiendo retrógradamente la aorta con la solución de Tyrode a 37°C (F). La solución de Tyrode contiene en concentración mM: NaCl 130; KCl 4,7; CaCl₂ 2,2; MgCl₂ 0,6; NaH₂PO₄ 1,2; NaHCO₃ 24,2 y glucosa 12. El pH se mantuvo a 7,4. La oxigenación y soporte de pH de la solución de Tyrode se efectuó con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂). La presión de perfusión inicial se fijó en 60 mmHg.

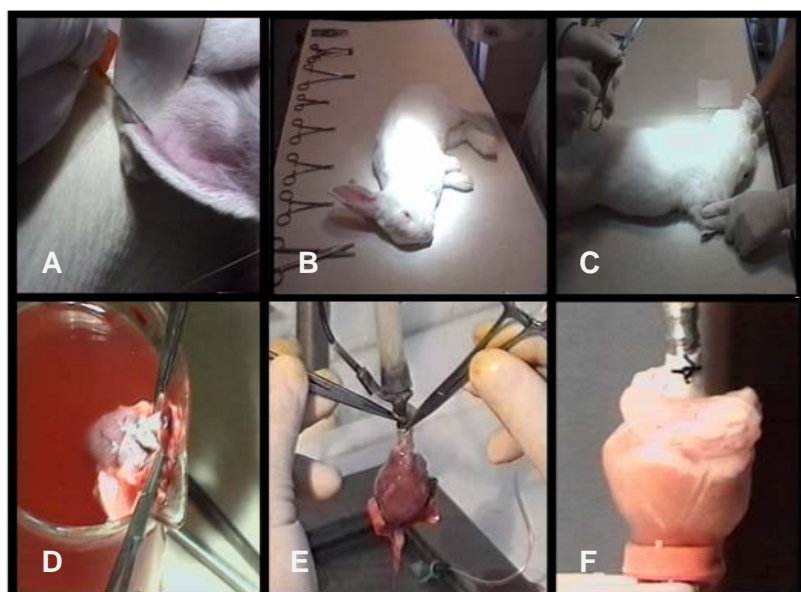


Figura 2.11. Distintos momentos de la preparación experimental.

Una vez ubicado el corazón en el sistema de Langendorff, se eliminaron restos de tejidos (pulmón, tráquea, etc.) y mediante una pequeña sección en la aurícula izquierda, se procedió a la realización de una pequeña apertura en la orejuela de la aurícula izquierda para poder cortar las cuerdas tendinosas de la válvula mitral, con el fin de hacerla insuficiente y permitir el escape, en su caso, de líquido por la aurícula izquierda, evitando así posibles acumulaciones de Tyrode en el

ventrículo izquierdo, en caso de que la válvula aórtica mostrara cierta insuficiencia.

El sistema de perfusión tipo Langendorff, que hemos mostrado anteriormente en la figura 2.8., permite la llegada al corazón del oxígeno, del dióxido de carbono y de los nutrientes necesarios para una función adecuada a través de la aorta ascendente. Se trata de una perfusión normógrada hacia el sistema de vasos coronarios.

El líquido de perfusión es impulsado desde un depósito exterior donde se oxigena hasta la parte más elevada del sistema de Langendorff por medio de una bomba peristáltica, previo paso por un filtro. Una vez en el sistema, el líquido va calentándose progresivamente hasta alcanzar una temperatura de 37°C en la raíz de la aorta.

Finalmente, y antes de la colocación de los electrodos, se circundó la arteria coronaria circunfleja con seda trenzada 2-0 (TC-12 / CT 20 mm 1/2) gammaestéril® de Laboratorio Aragón, s.a.

Los electrodos se dispusieron del siguiente modo (figura 2.12.): se ubicaron dos electrodos bipolares, revestidos de plata, uno para el registro del electrograma auricular y otro en el ventrículo izquierdo para su estimulación eléctrica. El registro de la actividad eléctrica ventricular se realizó por medio de un electrodo múltiple con 256 electrodos unipolares de acero inoxidable. El electrodo múltiple fue colocado en la superficie epicárdica de la pared lateral del ventrículo izquierdo (en la zona más prominente). El electrodo indiferente se ubicó sobre la aorta canulada. La grabación de los registros fue obtenida con un sistema de cartografía de la actividad eléctrica

cardiaca (MapTech[®]), como se ha comentado anteriormente.

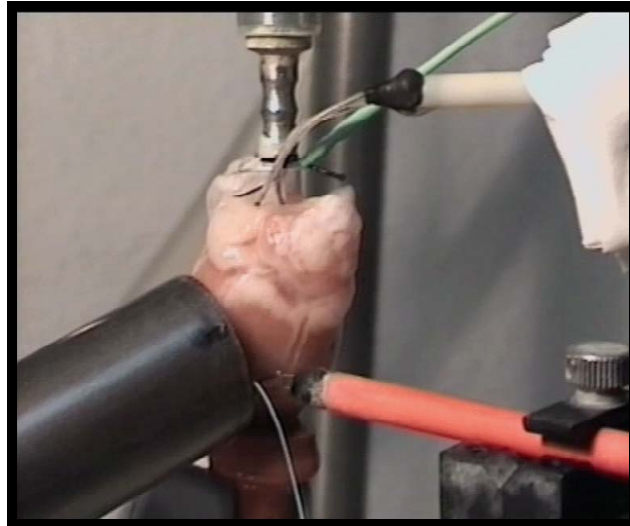


Figura 2.12. Ubicación de los electrodos.

2.2.3. Protocolo electrofisiológico

Tras ubicar el corazón en el sistema de Langendorff y situar los electrodos correspondientes, y pasado un tiempo de estabilización de la preparación de 15 minutos, se procedió a la realización del siguiente protocolo:

- 1) Recogida y medida del flujo coronario.
- 2) Registro electrográfico basal, durante 10 s, para la determinación de la frecuencia cardiaca.
- 3) Determinación del umbral de excitación ventricular.
- 4) Test del extraestímulo ventricular (TEEV) con 4 trenes base de estimulación: a) del 10% menor de la longitud del ciclo sinusal basal (LCSB), b) 250 ms, c) 200 ms y d) 150 ms, para el estudio de la refractariedad ventricular.
- 5) Inducción de la FV mediante estimulación ventricular programada a frecuencias crecientes.
- 6) Después de 5 minutos de FV y durante la misma, se procedió a ocluir la arteria coronaria con la seda trenzada ubicada a través del miocardio adyacente a la arteria a ocluir. 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 obtenidos en los registros. Se grabó los primeros 90 segundos continuamente y 10 segundos cada 30 segundos, hasta 10 minutos.

2.2.4. Protocolo de desfibrilación

En un grupo adicional de conejos (n=18) y con el fin de valorar la energía necesaria para desfibrilar a los corazones durante isquemia regional aguda, se realizó el siguiente protocolo:

- 1) Medición del flujo y registro basal.
- 2) Determinación de umbrales y determinación de la refractariedad con un único TEEV al 10% de la LCSB.

- 3) Inducción de la FV a frecuencias crecientes con pulsos rectangulares de corriente de 2 ms de duración y 4 veces la intensidad del umbral diastólico.
- 4) Fibrilación durante 3 minutos, dentro de los cuales se grabó 10 s antes de la oclusión.
- 5) Oclusión de la arteria coronaria circunfleja
- 6) Grabación de los 15 primeros segundos de fibrilación después de la oclusión de la arteria coronaria circunfleja.
- 7) Determinación del umbral de desfibrilación (UD) con una energía base de 0,05 J con incrementos en cada intento de 0,01 J de energía hasta conseguir una desfibrilación estable del corazón.
- 8) Medición del flujo coronario y registro basal
- 9) Determinación de umbrales y nueva determinación de la refractariedad con el TEEV al 10% de la LCSB.

2.2.5. Parámetros estudiados y determinación de los mismos.

2.2.5.1. Definición de los parámetros:

a) Parámetros utilizados para el control y tipificación del entrenamiento:

Concentración de lactato: milimoles de lactato por litro de sangre, medido en una muestra sanguínea procedente de la vena marginal de la oreja.

Frecuencia cardíaca (*in vitro*): número de despolarizaciones ventriculares espontáneas por minuto y obtenida como la función inversa del ciclo sinusal espontáneo (el cual es medido directamente sobre el trazado electrocardiográfico entre una despolarización ventricular espontánea y la siguiente y expresado en ms).

b) Parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la refractariedad miocárdica:

Antes de la definición de los parámetros electrofisiológicos relativos a la refractariedad miocárdica utilizados en nuestro estudio, ilustramos parcialmente en la figura 2.13. y de forma genérica, el tren del extraestímulo ventricular.

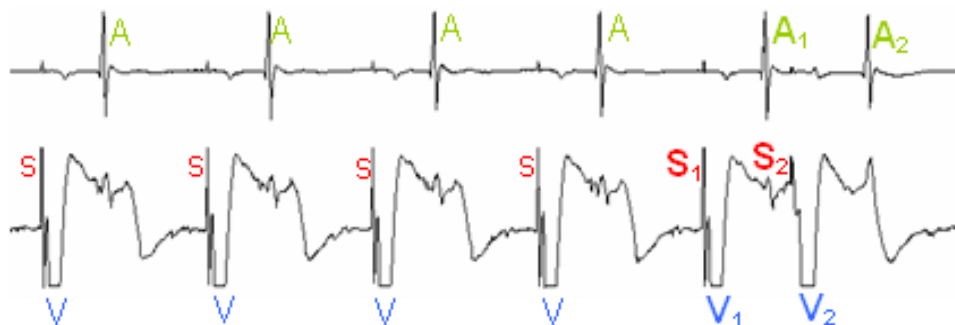


Figura 2.13. Representación gráfica del test del extraestímulo ventricular (TEEV) en la que se observa los siguientes elementos: artefacto del estímulo del tren (S); electrograma auricular (A); electrograma ventricular (V); artefacto del último estímulo del tren (S₁); electrograma ventricular generado por el último estímulo del tren (V₁); electrograma auricular generado por la despolarización ventricular V₁ en conducción retrógrada (A₁); artefacto del extraestímulo (S₂); electrograma ventricular generado por el extraestímulo (V₂); electrograma auricular generado por la despolarización ventricular V₂ en conducción retrógrada (A₂);

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).

Periodo refractario funcional ventricular

(PRFV): es el mínimo intervalo entre el electrograma ventricular producido por el último estímulo del tren base ventricular, y el desencadenado con el extraestímulo (mínimo intervalo V_1 - V_2).

Periodo refractario funcional durante la FV

(PRFFV): estimado como el percentil 5 de un histograma de todos los intervalos V-V durante la FV inducida.

c) Parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la conducción ventricular.

Velocidad de conducción (VC): es la distancia recorrida por la onda de despolarización a lo largo del miocardio ventricular (expresada en centímetros) durante un segundo.

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

donde VC es la velocidad de conducción, d_{ab} es la distancia entre a y b (electrodos elegidos para cuantificar la distancia) y t_r es el tiempo que tarda la onda en recorrer dicho trayecto.

Longitud de onda (LO): es el producto del PRFV (determinado en nuestro caso mediante el TEEV

al 10% de la LCSB), por la VC. Se define como la distancia recorrida por la onda de despolarización durante la duración de su período refractario (PR).

$$LO = PRFV \cdot VC$$

d) Parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la frecuencia de la FV:

Frecuencia dominante (FD): entendemos por FD de la FV, la frecuencia a la que la distribución espectral de potencia de la señal presenta la máxima amplitud (Ropella, 2001).

Frecuencia dominante media (FDM): es la media aritmética de las frecuencias dominantes registradas en todos los electrodos en un tiempo determinado de la FV.

e) Parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la heterogeneidad electrofisiológica de la FV:

Coeficiente de variación (CV): nos permite obtener una medida de la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular. Se ha calculado como el cociente de la desviación estándar sobre la FDM, multiplicado todo por 100.

f) Parámetros utilizados para la valoración de la energía mínima necesaria para interrumpir la FV:

Umbral desfibrilatorio (UD): energía mínima necesaria aplicada mediante el desfibrilador de doble pala, con el fin de interrumpir el proceso fibrilatorio.

2.2.5.2. Determinación de los parámetros:

a) Determinación de los parámetros utilizados para el control y tipificación del entrenamiento:

Concentración venosa de lactato:

Durante el tiempo que duró el protocolo de entrenamiento se sometió a los conejos entrenados a diferentes controles sanguíneos para la determinación de la concentración de lactato plasmático, con el fin de analizar la evolución del mismo durante las sesiones de entrenamiento y así poder aproximarnos al tipo de entrenamiento.

Con este objetivo se utilizó el equipo de medición Accutrend[®] Lactate y sus tiras reactivas para las determinaciones de la concentración de lactato plasmático

de una muestra de sangre venosa, que se extrajo por punción de la vena marginal de la oreja del conejo.

Al aplicar la sangre en la tira reactiva se desarrolla una reacción química con modificación cromática de la zona reactiva que es registrada por el equipo de medición y se le asigna un resultado comparándola con el valor de la tira control o código, introducida previamente en el equipo.

El lactato es determinado a través de la reacción cromática de un mediador de L-lactato: oxígeno 2-oxidoreductasa (descarboxilante) y medido por fotometría de reflexión a una longitud de onda de 657 nm (figura 2.14.).

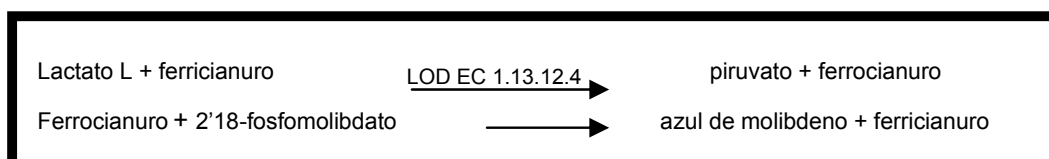


Figura 2.14. Mediadores de la reacción cromática para la determinación de la concentración de lactato con el equipo de medición Accutrend® Lactate

La extracción de sangre de la vena marginal de la oreja se realizó de forma estandarizada: después de introducir a los animales en el inmovilizador, se procedió a desinfectar la cara externa de una de las orejas del conejo con una solución de povidona yodada al 10% y se procedió a la punción de la vena marginal de la oreja del conejo con una microlanceta (0,8x40mm), se esperó unos segundos y tras desechar la primera gota de sangre, se dejó que la segunda gota tomara contacto con la zona reactiva de la tira de medida. Posteriormente se introdujo la tira en el equipo de medición, el cual pasados unos segundos mostraba el resultado de la concentración de lactato plasmático en la pantalla digital.

Se realizaron 4 determinaciones por sesión de entrenamiento: una, antes de empezar la sesión de carrera continua (en reposo); una, transcurrida la primera serie de carrera de la sesión de entrenamiento; una, transcurrida la tercera serie de la sesión y finalmente, otra, tras la sexta serie de carrera de la sesión de entrenamiento (figura 2.15.).

Los controles de lactato se realizaron en la primera sesión de entrenamiento de la primera semana del protocolo, en la primera sesión de la cuarta semana del protocolo de entrenamiento y finalmente en la última sesión de la sexta semana de entrenamiento, con lo que pudimos conocer los niveles de lactato en sangre antes, durante y al final del proceso (figura 2.15.).



Figura 2.15. Temporización de las determinaciones de lactato.

Frecuencia cardíaca (*in vitro*): se ha expresado como la función inversa de la LCSB.

Analizamos la longitud del ciclo sinusal basal mediante la medida del intervalo V-V, midiendo el tiempo entre dos despolarizaciones espontáneas ventriculares del registro basal. Hemos preferido usar el intervalo V-V para la determinación de la longitud del ciclo sinusal, ya que las despolarizaciones ventriculares son de mayor voltaje que las auriculares y que el tiempo entre dos despolarizaciones auriculares espontáneas consecutivas

y entre sus respectivas despolarizaciones ventriculares, es idéntico (figura 2.16.).

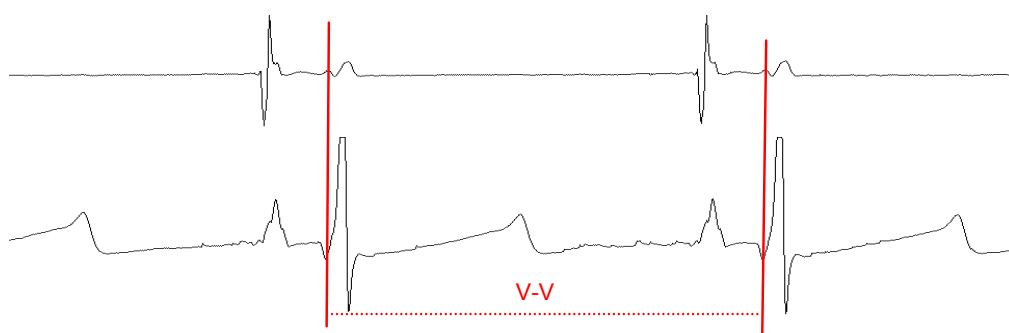


Figura 2.16. Determinación de la frecuencia cardíaca, mediante la medida de la LCSB entre dos electrogramas ventriculares (V-V).

b) Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la refractariedad miocárdica:

La determinación de parámetros en los que se requiere el uso de estimulación eléctrica nos lleva a exponer la explicación de algunos aspectos relacionados con la misma. En primer lugar hay que decir que los estímulos fueron de una intensidad doble (para la determinación del PRFV y del PREV) triple o cuádruple

(para la inducción de la FV) del umbral diastólico. La determinación del umbral diastólico se realizó del siguiente modo: con el estimulador *Grass* y con una frecuencia de estimulación constante de 4 pulsos por segundo y una duración del estímulo, también constante, de 2 ms, se disminuyó progresivamente la intensidad de estimulación, desde un valor superior al que claramente producía respuesta cardíaca mantenida a la estimulación (aprox. 40 mA), hasta alcanzar la mínima intensidad del estímulo capaz de producir una respuesta excitatoria (aprox. 12-25 mA), esto es, el umbral diastólico.

Refractariedad ventricular: se determina mediante el TEEV ventricular. Estimulamos al ventrículo mediante trenes de 10 estímulos (tren base), seguidos de un extraestímulo. Este extraestímulo, se va acercando en intervalos de 5 ms, al último estímulo del tren base, con lo que se consigue determinar el PREV y el PRFV (figura

2.17.), según hemos definido anteriormente. Las longitudes de los ciclos base de estimulación fueron de un 10% inferior a la longitud de ciclo espontánea, de 250, de 200 y de 150 ms.

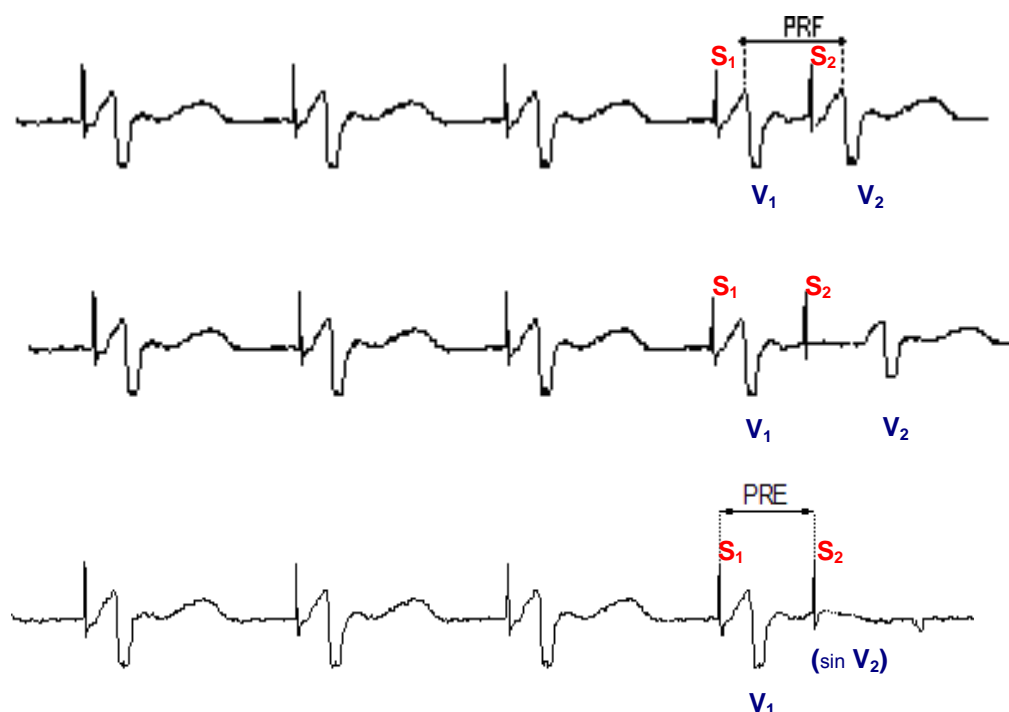


Figura 2.17. Período refractario efectivo ventricular (PRE) y funcional ventricular (PRF). S_1 : artefacto del último estímulo del tren. V_1 : electrograma ventricular generado por el último estímulo del tren. S_2 : artefacto del extraestímulo. V_2 : electrograma ventricular generado por el extraestímulo.

El período refractario funcional durante la fibrilación ventricular (PRFFV) se determinó y calculó mediante el análisis del percentil 5 de un histograma de los intervalos V-V (entre ventriculogramas) obtenido entre 4000 y 6000 ciclos en cada caso (figura 2.18.).

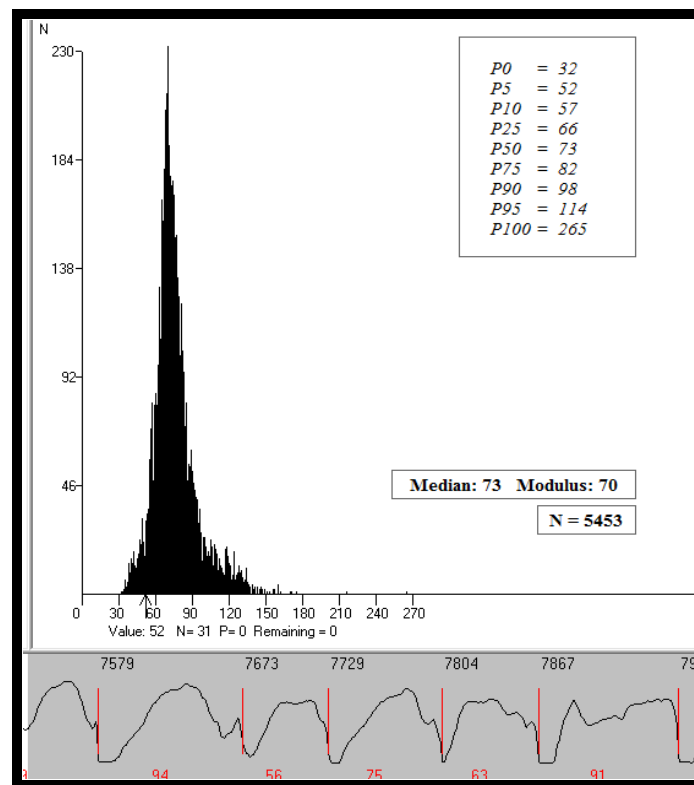


Figura 2.18. Cálculo del percentil 5 de un histograma de los intervalos V-V, para la determinación del PRFFV.

c) Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la conducción ventricular:

El tren del extraestímulo ventricular también fue utilizado para la medida de la velocidad de conducción (VC) ventricular. Más concretamente, la medida de la VC se llevó a cabo en el V₁-V₂ del último tren de estimulación cuyo extraestímulo produjo respuesta ventricular. En este tren, establecemos una ventana fija que abarcaba la despolarización ventricular producida por el extraestímulo y se procedió al marcado semiautomático de la misma. El programa utilizado, Pacemap[®], produjo una codificación en colores de los tiempos resultantes, obteniendo un mapa de activación fijo (figura 2.19.) de la propagación del impulso por el miocardio ventricular pudiendo así construir las isócronas del proceso de activación ventricular producido.

En dichos mapas, se ha calculado la VC, dividiendo la distancia que separa a dos electrodos por la diferencia de tiempo en la detección de la activación eléctrica ventricular por esos mismos electrodos y situados en una dirección perpendicular a las isócronas. Como los frentes de onda pueden viajar de manera no paralela a la superficie epicárdica, la VC real pudiera ser más lenta que el valor medido. Este posible error lo redujimos utilizando solamente aquellos mapas en los que la entrada y salida del frente de onda se identificaron en los bordes de los mapas de activación.

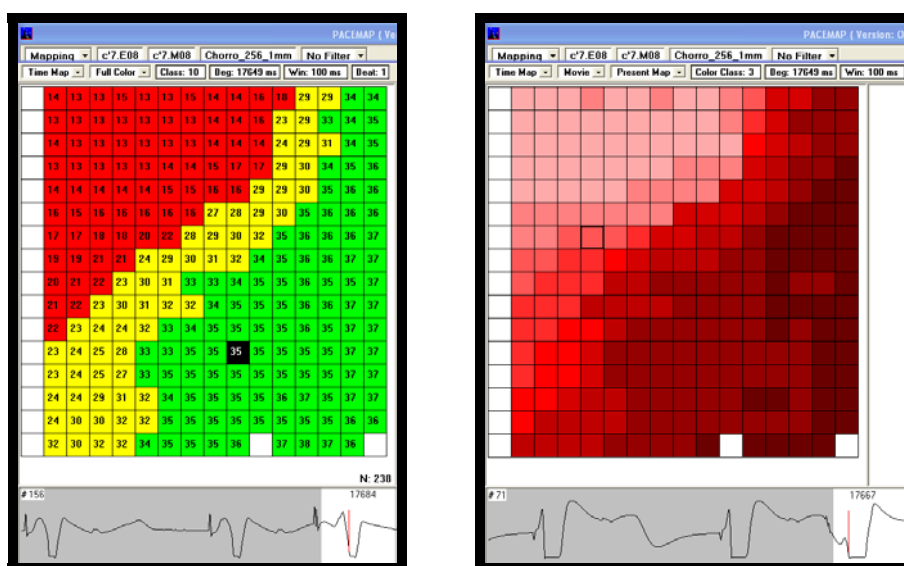


Figura 2.19. Mapas de activación.

En lo que respecta a alguno de los métodos usados para el análisis de los diferentes parámetros electrofisiológicos cabe comentar alguno de los mismos. La determinación del PRFFV mediante la determinación del percentil 5 de un histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000 ciclos en cada caso, además del método habitual que es el TEEV, creemos que nos permite una estimación bastante real de la refractariedad en una situación que excluye una estimulación externa al propio corazón, como es el caso del TEEV, que informa de la capacidad del tejido miocárdico ventricular para permitir el paso de frentes de activación sucesivos en tanto el tejido no se halla en periodo refractario. Este método fue evaluado junto con otros 4 métodos por Duytschaever *et al.* (2001) y comparados con el método más clásico y asentado, así como comprobada la coincidencia de resultados con el uso de dicho método y los demás, apuntándose como

ventaja el hecho de que este método no requiere como hemos señalado, estimulación ventricular externa.

Calculamos, por otra parte, la LO del proceso de activación ventricular, que como previamente hemos indicado en el apartado de definiciones, es el producto del PRFV por la VC.

d) Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la frecuencia de la FV:

Frecuencia dominante: se estimuló el ventrículo izquierdo a frecuencias crecientes a partir de 4 Hz, con un incremento de 0,1 Hz cada 3s hasta desencadenar la FV, manteniendo la perfusión coronaria. La estimulación fue cesada en el momento en que visualizamos la instauración de la FV.

Posteriormente, analizamos la FDM de las señales de FV registradas con todos los electrodos unipolares localizados en el ventrículo mediante el método de Welch, que se basa en los estudios clásicos de Fourier sobre los armónicos constituyentes de una onda compuesta (figura 2.20.).

El análisis espectral de la FV se realizó hasta el minuto 5 tras la inducción de la FV. Este análisis se efectuó utilizando bloques de datos de 2048 puntos, aplicando la ventana de Hamming. Se obtuvo para cada bloque la FD, es decir, la frecuencia correspondiente con el espectro máximo y la energía contenida en el segmento del periodograma correspondiente a $FD \pm 1$ Hz. La densidad del espectro de potencia se calcula con el cuadrado de la amplitud de la señal, expresado en unidades arbitrarias. El procesamiento de datos fue efectuado mediante el programa informático Matlab[®] 7.5.

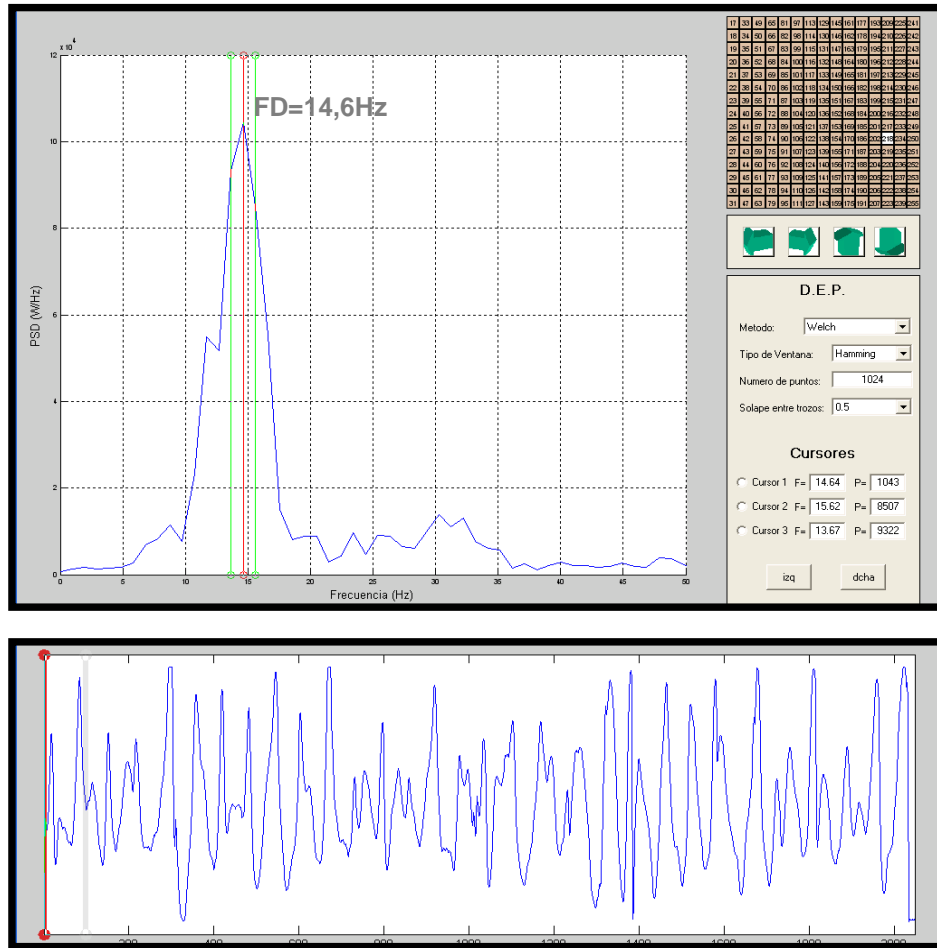


Figura 2.20. Espectro de frecuencias representado frente a la amplitud del trazado de FV (superior); en ordenadas se representa la densidad espectral de potencia y en abscisas los valores de FD. Registro de la FV analizado (inferior).

e) Determinación de los parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la heterogeneidad electrofisiológica de la FV:

Coeficiente de variación (CV): calculado como el cociente de la desviación estándar sobre la FDM, multiplicado todo por 100.

f) Determinación del parámetro utilizado para la valoración de la energía mínima necesaria para interrumpir la FV:

Umbral desfibrilatorio (UD): con un valor máximo de voltaje de carga para el condensador (responsable de la descarga o choque eléctrico) de 100 V se procedió a realizar los correspondientes choques eléctricos desde 0,05 J e incrementos de 0,01 J. Cuando

se logró la desfibrilación, se anotaron los datos de la pantalla del desfibrilador.

2.2.6. Grupos de estudio.

Para la realización de esta Tesis Doctoral se han realizado cuatro grupos de conejos.

Para el estudio de los periodos refractarios, la velocidad de conducción, la longitud de onda, la frecuencia dominante y el coeficiente de variación, se utilizaron 17 animales control y 15 animales a los que se les aplicó el protocolo de entrenamiento.

Para el estudio de la energía mínima necesaria para interrumpir el proceso fibrilatorio en conejos sometidos a isquemia local aguda coronaria, se utilizaron 10 animales controles y 8 entrenados.

Lo que suma un total de 50 animales válidos como anteriormente se ha mencionado.

En total, 4 grupos experimentales: dos grupos de animales no sometidos al protocolo de entrenamiento (grupos control) y dos grupos entrenados.

2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el análisis de los datos se utilizaron diversos tests estadísticos.

- 1) Para la comparación de la frecuencia cardíaca, la velocidad de conducción, la longitud de onda y de la energía mínima necesaria para interrumpir el proceso fibrilatorio, entre el grupo entrenado y el control, se utilizó el test de la *t* de *Student*.

- 2) Para comparar la concentración de lactato en sangre, los periodos refractarios, la frecuencia dominante media y el coeficiente de variación de la frecuencia dominante, se usó un ANOVA de dos factores repetidos en un factor.

Las diferencias se consideraron significativas cuando $p \leq 0,05$.

Para la realización de los análisis estadísticos se usó el paquete estadístico SPSS® 17.

2.4. LEGISLACIÓN.

Todos los estudios fueron realizados de acuerdo con lo establecido en la Convención Europea de Estrasburgo, Directiva 86/609/CEE del Consejo, de 24 de

noviembre de 1986 respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, y ratificada por el REAL DECRETO 1201-2005, de 10 de octubre (BOE núm. 252, de 21 de octubre de 2005).

El comité ético del Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental de la Universitat de València aprobó todos los procedimientos utilizados en el presente estudio.

RESULTADOS

III. RESULTADOS.

3.1. PARÁMETROS DE ENTRENAMIENTO.

3.1.1. Determinaciones *in vivo*: Lactato venoso.

En la tabla 3.1. mostramos la media y desviación estándar de los valores correspondientes a la concentración de lactato en sangre venosa, expresada en mmol/l. Tal y como describimos en más detalle en el capítulo de métodos, las determinaciones se hicieron, en el grupo entrenado, durante el proceso de realización de las series de carrera en el *treadmill*, como sigue: previamente a la iniciación de la primera serie e inmediatamente después de la 1^a, 3^a y 4^a serie de carrera. El estudio del lactato venoso se realizó, como acabamos de describir, al inicio de la primera y cuarta semana de entrenamiento y al final de la sexta semana. * $p < 0,05$

respecto al valor previo a la ejecución de la primera serie de carrera y $\dagger p < 0,05$ respecto a la misma serie de carrera de la primera semana de entrenamiento.

	Reposo	1ª serie	3ª serie	6ª serie
Semana 1	3,66±2,80 (13)	8,10±2,94* (13)	7,11±3,37* (13)	5,28±2,91* (13)
Semana 4	4,35±2,20 (11)	5,88±2,06* \dagger (11)	5,08±2,09* \dagger (11)	4,36±2,23 \dagger (11)
Semana 6	4,27±2,14 \dagger (10)	6,21±2,85* \dagger (10)	5,64±3,37 (10)	4,39±2,61 (10)

Tabla 3.1. Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la concentración de lactato en sangre venosa, expresada en mmol/L, y en diferentes momentos de la aplicación del protocolo de entrenamiento. * $p < 0,05$ respecto al valor de reposo y $\dagger p < 0,05$ respecto a la primera semana de entrenamiento. Número de experimentos entre paréntesis. Más explicación en el texto.

3.1.2. Determinaciones *in vitro*: Longitud del ciclo sinusal basal (LCSB)

Tal y como se representa en la figura 3.1 la LCSB (intervalo V-V) obtenida en los corazones de

conejos entrenados, fue mayor que los del grupo de conejos control (316 ± 64 ms; $n = 15$ vs 276 ± 38 ms; $n = 17$).

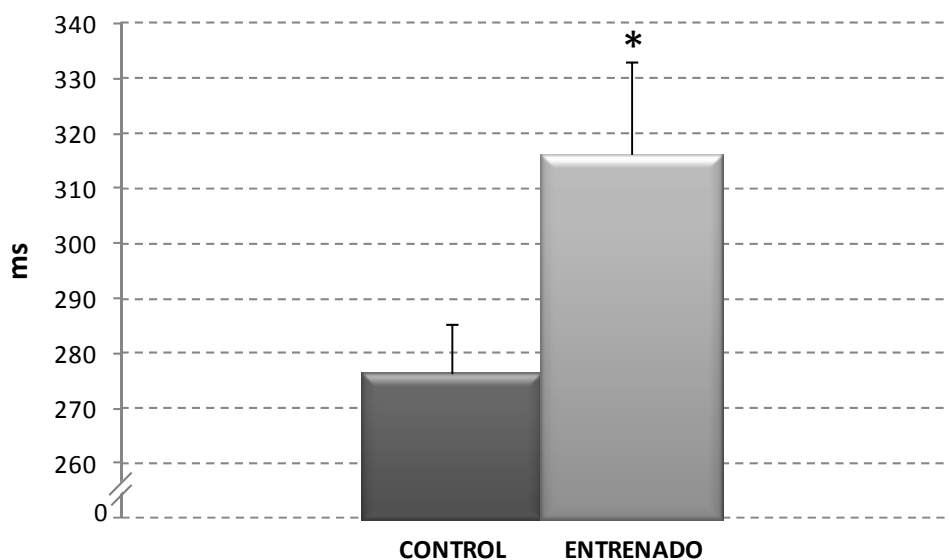


Figura 3.1. Efecto del entrenamiento físico sobre la LCSB (intervalos V-V) *in vitro*. Valores expresados en ms. * $p < 0,05$. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

3.2. REFRACTARIEDAD.

3.2.1. Periodos refractarios determinados con el test del extraestímulo ventricular (TEEV).

Al comparar, previamente a la oclusión arterial coronaria (OAC), el periodo refractario efectivo ventricular (PREV) de los corazones del grupo control con los del grupo entrenado, si bien las diferencias no alcanzaron el grado de significación establecido por nosotros, el PREV del grupo entrenado tendió a ser mayor ($p=0,053$) que el del grupo control. Respecto al periodo refractario funcional ventricular (PRFV), de un modo similar a lo que ocurrió con el periodo refractario efectivo, este parámetro tendió a ser mayor en el grupo entrenado que en el control ($p=0,076$), si bien las diferencias no alcanzaron el grado de significación establecido por nosotros. Los valores quedan expuestos en la tabla 3.2. y figuras 3.2. y 3.3.

	PREV			PRFV		
	10% LCSB	250	200	10% LCSB	250	200
Control	135±11 (14)	133±12 (14)	121±10 (14)	143±11 (14)	141±8 (14)	131±8 (14)
Entrenado	143*±14 (12)	140*±15 (12)	135*±15 (12)	150 [†] ±12 (11)	147 [†] ±13 (11)	141 [†] ±15 (11)

Tabla 3.2. Media y desviación estándar de los valores de la refractariedad ventricular en diferentes trenes de estimulación previos a la OAC. Los valores se expresan en ms. Número de experimentos entre paréntesis. *p=0,053 y [†]p=0,76; entrenado vs control.

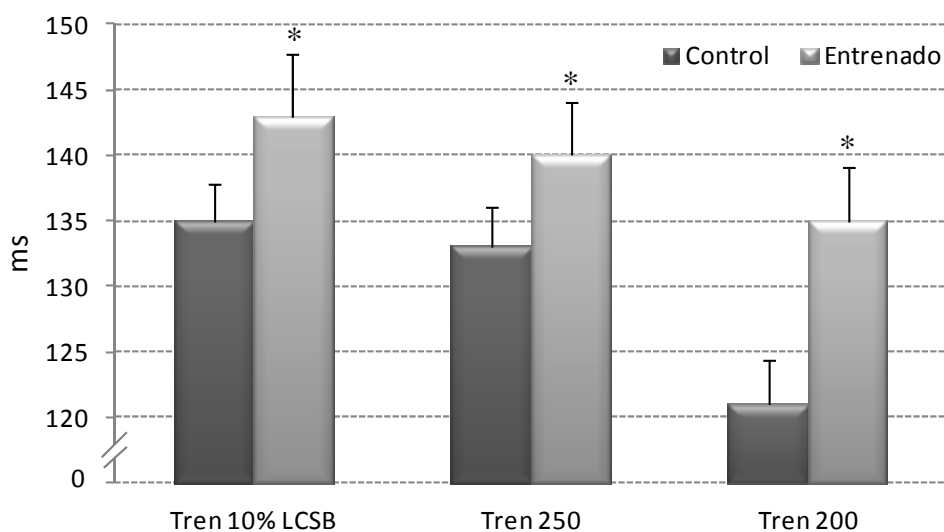


Figura 3.2. PREV previamente a la OAC. Valores expresados en ms. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar. *p=0,053.

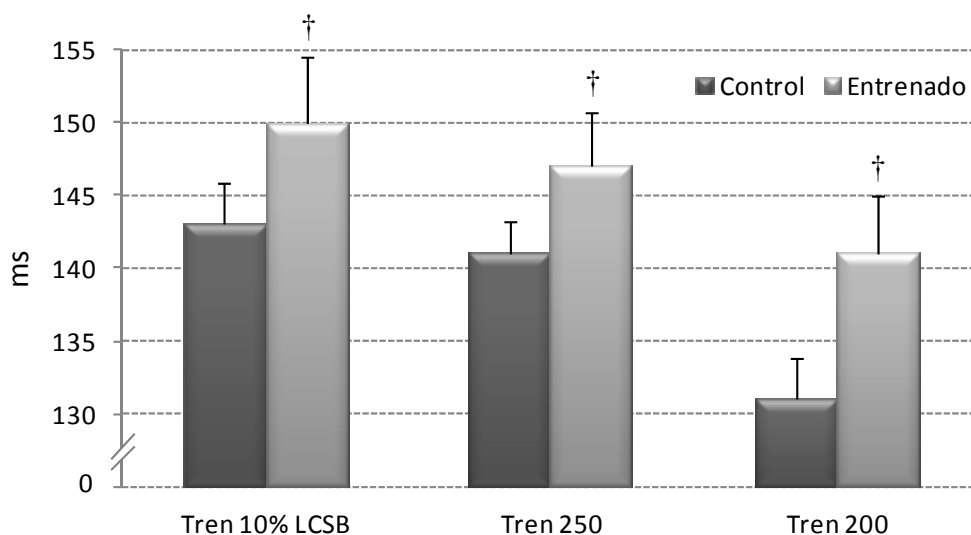


Figura 3.3. PRFV previamente a la OAC. Valores expresados en ms. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar. † $p=0,76$

En el grupo control y tras la OAC (20 minutos), no hubo diferencias significativas en cuanto al periodo refractario efectivo al comparar el valor medio del mismo, con el obtenido antes de la OAC. En el grupo entrenado tampoco hubo diferencias significativas en cuanto al periodo refractario efectivo al comparar el valor medio del mismo, con el obtenido antes de la OAC. Respecto al periodo refractario funcional, al comparar los valores antes y después de la OAC los resultados fueron similares

a los obtenidos con el periodo refractario efectivo; es decir, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Los valores numéricos quedan expuestos en la tabla 3.3. y figuras 3.4. y 3.5.

	PREV				PRFV			
	Control		Entrenado		Control		Entrenado	
	250	150	250	150	250	150	250	150
Basal	132±10 (9)	113±13 (9)	142±16 (8)	121±15 (8)	142±7 (9)	124±7 (9)	149±15 (7)	128±12 (7)
20' post	126±12 (9)	108±19 (9)	128±12 (8)	116±11 (8)	137±9 (9)	118±10 (9)	135±11 (7)	125±9 (7)

Tabla 3.3. Media y desviación estándar de los valores de la refractariedad ventricular en diferentes trenes de estimulación previos a la OAC (Pre) y después de 20 minutos de OAC (20' post). Los valores están expresados en ms. El número de experimentos se encuentra entre paréntesis.

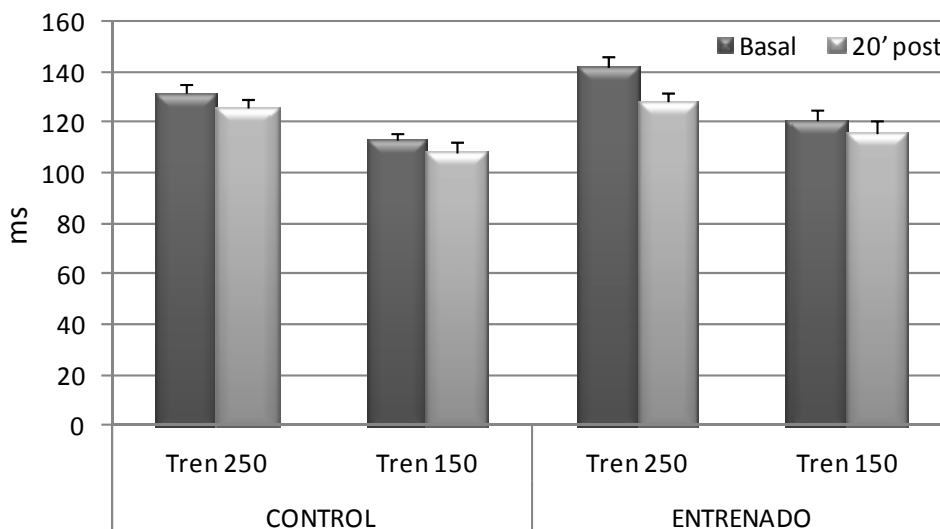


Figura 3.4. PREV posterior a la OAC determinado con diferentes trenes de estimulación. Valores expresados en ms. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

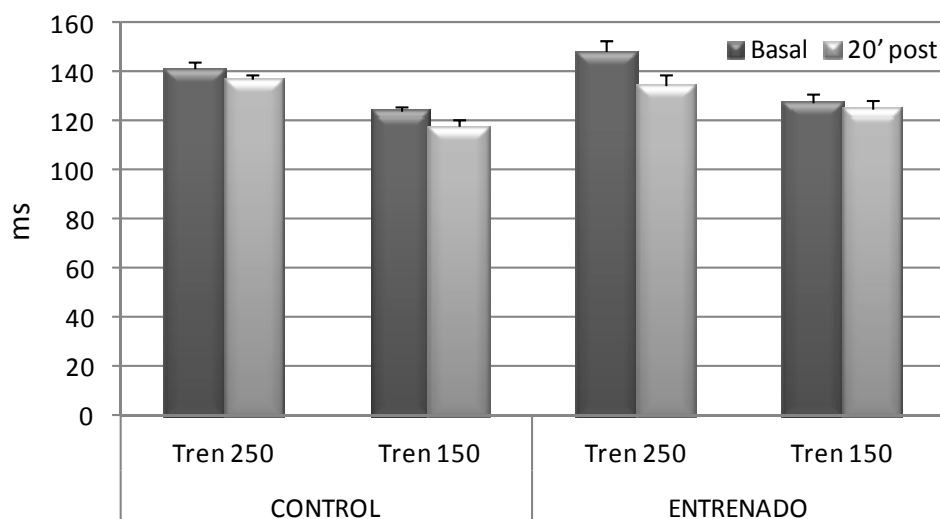


Figura 3.5. PRFV posterior a la OAC y determinado en diferentes trenes de estimulación. Valores expresados en ms. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

3.2.2. Periodos refractarios funcionales ventriculares determinados durante FV inducida y sin interrumpir la perfusión.

Como explicamos en la metodología procedimos también a la determinación de la refractariedad durante la FV ya que es más representativa, a nuestro entender, de una gran zona ventricular y no solamente del punto de aplicación del electrodo de estimulación (como pasa para la determinación del periodo refractario efectivo, con el test del extra-estímulo). Encontramos que el periodo refractario funcional durante la FV (PRFFV) -previamente a la OAC- fue más largo en los corazones de animales entrenados que en los controles ($48,6 \pm 5,3$ vs $39,8 \pm 6,5$ ms, respectivamente; $n = 10$). Ambos valores medios aumentaron tras la OAC en la zona de mayor deterioro ($61,3 \pm 8,7$ y $72,1 \pm 16,3$ ms, respectivamente), no

habiendo diferencias significativas entre estos dos últimos valores. No obstante el incremento del PRFFV en los controles fue mayor que en los entrenados como lo demuestra la comparación entre las diferencias de los PRFFV (previa y posteriormente a la OAC) de los entrenados frente a los controles ($12,7 \pm 14,6$ vs $32,3 \pm 17,3$ ms; n=10). Ver Figura 3.6.

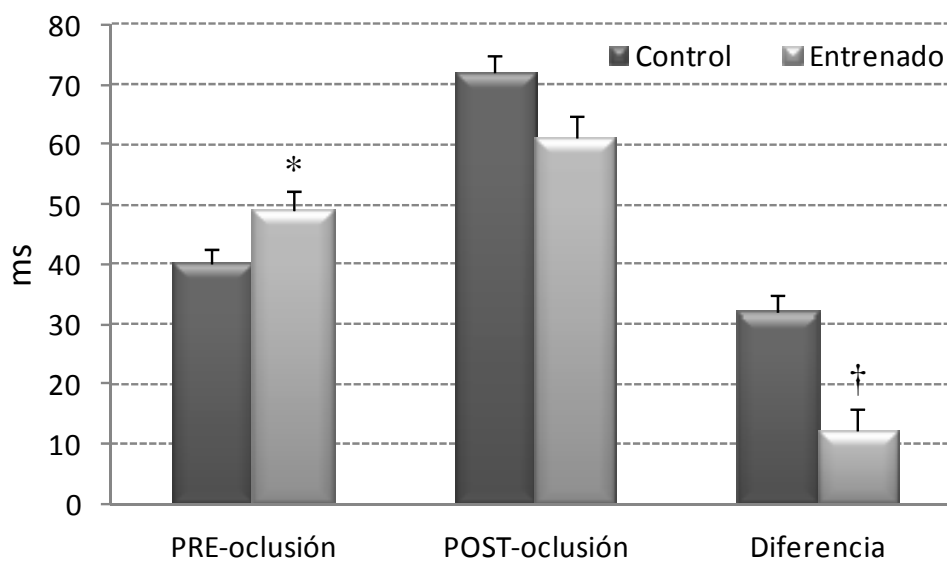


Figura 3.6. Periodos refractarios funcionales ventriculares determinados durante la FV inducida, antes y después de la OAC. Valores expresados en ms. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar. * $p < 0,05$ y † $p < 0,05$ vs control.

3.3. VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN (VC).

La VC disminuyó en ambos grupos tras ocluir la arteria coronaria, al compararla frente a su valor previo a la oclusión. La VC del proceso de activación eléctrica del miocardio ventricular, previamente a la OAC no exhibió diferencias significativas al comparar el grupo control con el entrenado, siendo los valores para uno y otro grupo: 70 ± 8 cm/s ($n = 18$) y 70 ± 10 cm/s ($n = 15$), respectivamente. Respecto al valor de la VC tras la OAC, el valor de dicho parámetro tendió a ser mayor ($p=0,07$) en el grupo entrenado que en el grupo control ($52,93 \pm 14,89$ cm/s; $n=11$ y $44,41 \pm 11,52$ cm/s; $n=11$, respectivamente). Ver tabla 3.4. y figura 3.7.

3.4. LONGITUD DE ONDA (LO) DEL PROCESO DE ACTIVACIÓN.

Al comparar la LO previamente a la oclusión coronaria frente al valor posterior a la misma, encontramos diferencias significativas, disminuyendo este parámetro al ocluir la coronaria, en ambos grupos. Previamente a la OAC no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas al comparar ambos grupos, entrenado y control, siendo los valores para uno y otro grupo: $9,8 \pm 1,2$ cm (grupo control; $n = 18$) y $10,4 \pm 2,2$ cm (grupo entrenado; $n = 15$). Tras la OAC la LO fue mayor en el grupo entrenado que en el control ($7,28^* \pm 2,18$ cm; $n=15$ y $5,96 \pm 1,36$ cm; $n=18$, respectivamente). Tabla 3.4 y figura 3.8.

	PRE		POST	
	VC	LO	VC	LO
Control	70,04 ± 8,18 (18)	9,82 ± 1,24 (18)	44,41 [#] ± 11,52 (11)	5,96 [#] ± 1,36 (11)
Entrenado	70,19 ± 10,45 (15)	10,40 ± 2,22 (15)	52,93 ^{#†} ± 14,89 (11)	7,28 ^{#*} ± 2,18 (11)

Tabla 3.4. Media y desviación estándar de la velocidad de conducción (VC) y de la longitud de onda (LO) del proceso de activación del miocardio, previo (pre) y posterior (post) a la OAC. El número de experimentos se encuentra entre paréntesis. Diferencia * $p < 0,05$ y $†p = 0,07$ vs control; $‡p < 0,05$ vs PRE.

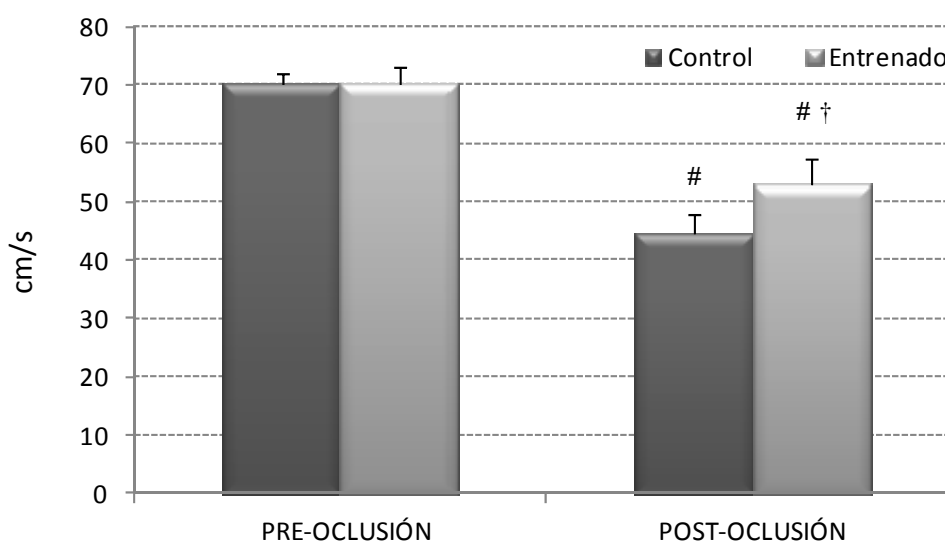


Figura 3.7. Media y desviación estándar de la VC previa y posterior a la OAC. $†p = 0,07$ vs control y $‡p < 0,05$ vs PRE. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

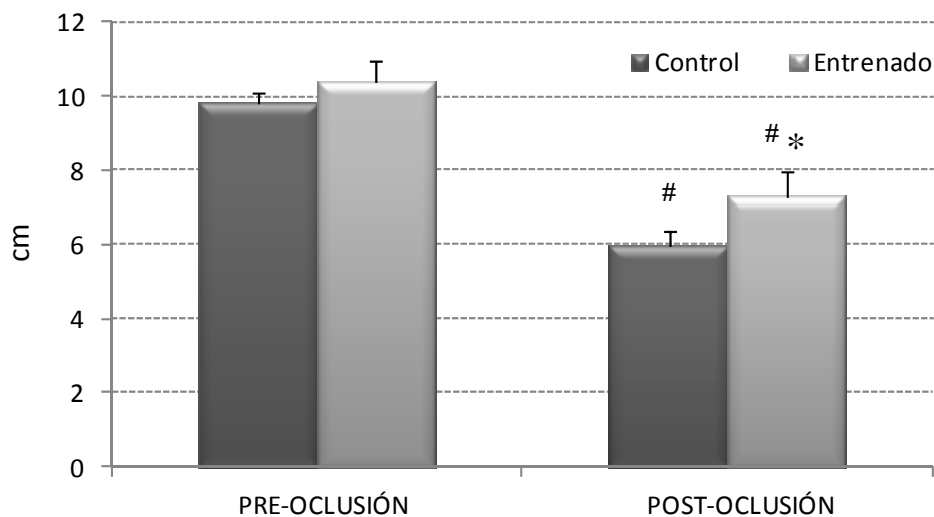


Figura 3.8. Media y desviación estándar de la LO previa y posterior a la OAC. * $p < 0,05$ vs control y # $p < 0,05$ vs PRE. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

3.5. FRECUENCIA DOMINANTE (FD) DE LA FV.

3.5.1. Pre-oclusión:

En cuanto a la FD en condiciones de normal perfusión (previamente a la OAC aguda), no hubo diferencias significativas entre el valor de la FD de la FV al

comparar entre sí los grupos control y entrenado. Los valores se muestran en la tabla 3.5.

Diferentes tiempos tras la instauración de la FV							
Control (11)	0 s	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s	120 s
	16,64	16,20	15,93	15,66	15,56	15,65	15,05
	± 1,97	± 2,16	± 2,51	± 2,86	± 3,23	± 3,93	± 3,06
	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s	
	15,16	14,62	14,81	15,03	14,81	14,58	
	± 3,63	± 2,50	± 3,67	± 3,95	± 3,87	± 2,7	
Entrenado (8)	0 s	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s	120 s
	18,03	17,78	14,00	17,24	16,96	16,51	16,10
	± 2,33	± 2,83	± 0,9	± 2,58	± 2,77	± 2,59	± 2,47
	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s	
	16,03	15,81	15,41	15,41	15,28	14,93	
	± 2,59	± 2,50	± 2,49	± 2,19	± 1,95	± 1,61	

Tabla 3.5. Media y desviación estándar de FD de la FV, inmediatamente después de desencadenada la FV (previo a la OAC) y en varios tiempos después de ésta. Los valores están expresados en Hz. El número de experimentos se encuentra entre paréntesis.

3.5.2. Post-oclusión:

En lo que respecta a la FD tras la OAC circunfleja a mitad de su recorrido epicárdico y tras

comparar el valor de la FDM (expresada en hertzios) obtenido inmediatamente antes de la OAC, respecto al valor obtenido en diferentes tiempos correspondientes a la fase más prematura posteriormente a la misma, se hallaron diferencias significativas, produciéndose una disminución del mencionado parámetro en los tiempos que se indican en la tabla 3.6 que sigue. No obstante, en el grupo entrenado la FD no experimentó ningún cambio significativo al comparar el valor de la misma, inmediatamente antes de la ligadura coronaria, con los valores obtenidos tras la OAC. Estos resultados se expresan en la tabla 3.6. y figura 3.9.

FD basal y diferentes tiempos después de la OAC					
Control (13)	Basal	0 s	15 s	30 s	45 s
	14,44	14,40	13,43 [†]	12,80*	12,50*
	± 2,62	± 2,15	± 2,20	± 2,2	± 2,09
	60 s	90 s	120 s	150 s	180 s
	12,34*	12,28*	12,04*	12,02 ^{††}	12,44
	± 2,1	± 2,12	± 2,0	± 2,15	± 2,13
Entrenado (10)	Basal	0 s	15 s	30 s	45 s
	14,74	13,90	13,54	13,13	12,93
	± 1,59	± 0,93	± 0,91	± 1,09	± 1,29
	60 s	90 s	120 s	150 s	180 s
	12,91	12,69	13,02	13,59	13,79
	± 1,50	± 1,85	± 2,27	± 2,19	± 2,17

Tabla 3.6. Media y desviación estándar de la FD de FV, previas a la OAC (basal) y durante varios tiempos después de la OAC (post). Los valores están expresados en Hz. El número de experimentos se ha puesto entre paréntesis. * $p < 0,05$, [†] $p = 0,06$, ^{††} $p = 0,09$ versus el valor basal.

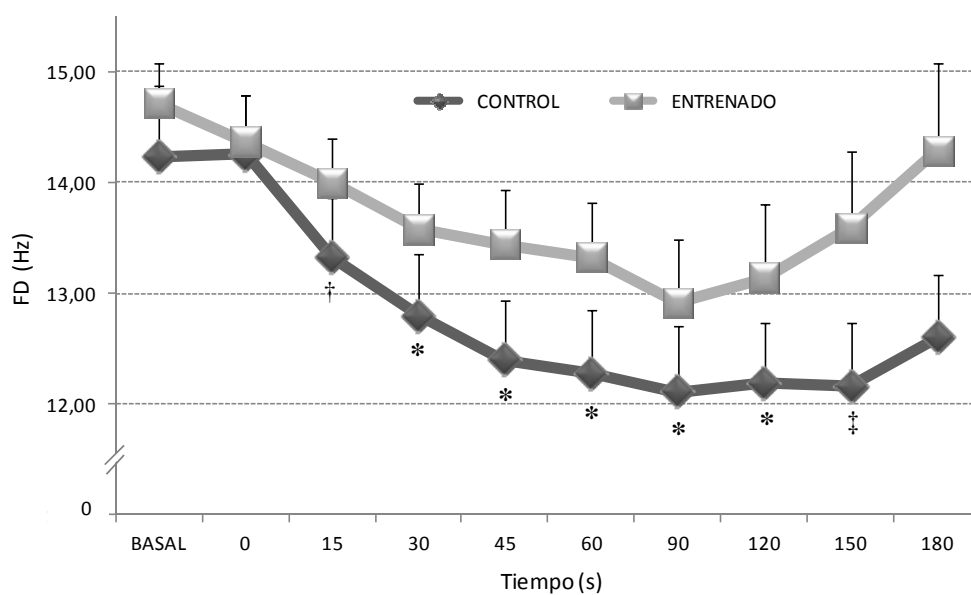


Figura 3.9. FDM en diferentes tiempos y posterior a la OAC. * $p < 0,05$, [†] $p = 0,06$, ^{††} $p = 0,09$ vs basal.

Cuando el análisis se hizo más allá de la fase más prematura citada (ver tabla 3.7), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Tampoco hubo diferencias al comparar los valores del grupo control con los del entrenado.

FD basal y diferentes tiempos después de la OAC							
Control (11)	Basal	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s	120 s
	14,34	13,30	12,82	12,48	12,37	12,32	12,98
	± 2,85	± 2,34	± 2,39	± 2,27	± 2,37	± 2,32	± 2,25
	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s	
	11,88	12,12	12,42	12,88	13,08	13,62	
	± 2,30	± 2,16	± 1,93	± 2,00	± 2,08	± 2,02	
Entrenado (8)	Basal	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s	120 s
	14,76	13,72	13,12	12,84	12,90	12,63	12,99
	± 1,65	± 0,76	± 1,09	± 1,44	± 1,71	± 0,09	± 2,57
	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s	
	13,43	13,75	13,86	14,27	14,28	15,05	
	± 2,33	± 2,45	± 2,65	± 3,23	± 2,86	± 2,89	

Tabla 3.7. Media y desviación estándar de la FD de la FV, previas a la OAC (basal) y durante varios tiempos después de ésta (post). Los valores están expresados en Hz. El número de experimentos se ha puesto entre paréntesis.

3.6. COEFICIENTE DE VARIACIÓN (CV) DE LA FD DE LA FV.

3.6.1. Pre-oclusión:

El CV de la FD de la FV fue menor en el grupo entrenado que en el control antes de la OAC (figura 3.10 y tabla 3.8).

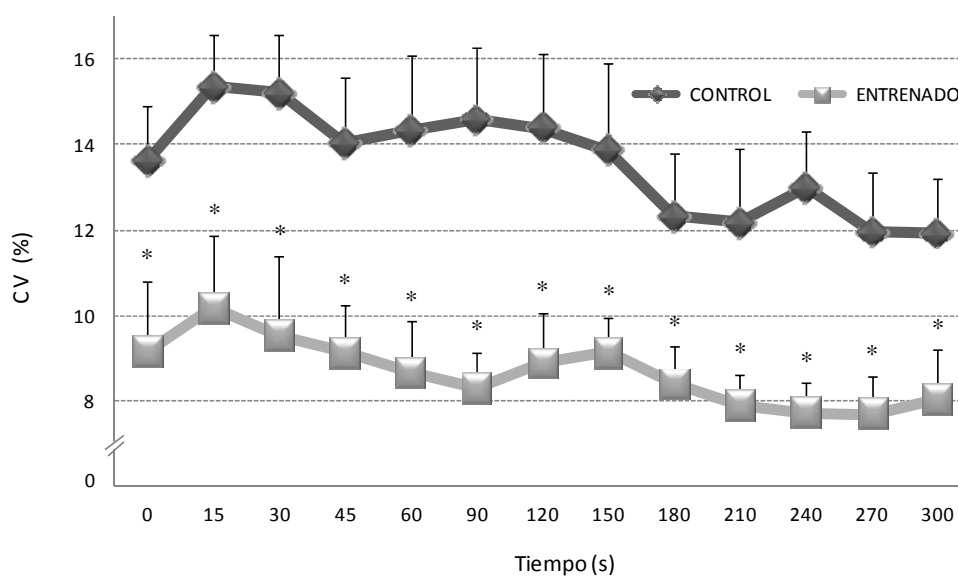


Figura 3.10. CV de la FDM en diferentes tiempos después de instaurada la FV y previamente a la OAC. * $p = 0,02$, vs control.

Diferentes tiempos tras la instauración de la FV							
Control (11)	0 s	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s	120 s
	13,62	15,36	15,20	14,03	14,33	14,59	14,38
	± 4,30	± 4,03	± 4,48	± 5,05	± 5,85	± 5,62	± 5,82
	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s	
	13,86	12,34	12,17	12,98	11,95	11,93	
	± 6,79	± 4,81	± 5,75	± 4,38	± 4,65	± 4,24	
Entrenado (10)	0 s	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s	120 s
	9,17*	10,18*	9,54*	9,16*	8,67*	8,29*	8,90*
	± 5,16	± 5,35	± 5,80	± 3,38	± 3,76	± 2,71	± 3,72
	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s	
	9,14*	8,42*	7,89*	7,73*	7,69*	8,05*	
	± 2,60	± 2,72	± 2,34	± 2,20	± 2,80	± 3,63	

Tabla 3.8. Media y desviación estándar del CV de la FD de la FV, inmediatamente después de desencadenada la FV (previo a la OAC) y en varios tiempos después de ésta. El número de experimentos se encuentra entre paréntesis. *p = 0,02 vs control.

3.6.2. Post-oclusión:

Al comparar el valor del CV de la FD de la FV obtenido inmediatamente antes de la OAC (basal), respecto al valor obtenido en diferentes tiempos posteriormente a la misma, en el grupo control, se hallaron diferencias significativas, produciéndose un

aumento del mencionado parámetro en los tiempos post-oclusión coronaria que se indican en la tabla 3.9. No hubo diferencias significativas, en el caso del grupo entrenado, en el valor del CV de la FD media de la FV, al comparar dicho valor previamente a la OAC con los valores posteriores a la oclusión.

CV basal y diferentes tiempos después de la OAC							
Control (11)	Basal	0 s	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s
	10,01	13,56	15,09	15,43	17,22	17,55	20,69 [†]
	± 3,47	± 5,37	± 2,66	± 3,55	± 5,03	± 5,86	± 6,47
	120 s	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s
	25,03*	25,02*	25,34	27,33*	25,12*	24,72*	21,28
	± 8,05	± 8,38	± 10,45	± 10,38	± 9,45	± 9,74	± 10,20
	Basal	0 s	15 s	30 s	45 s	60 s	90 s
	9,37	11,06	11,98	13,90	14,82	16,87	22,70
± 4,28	± 2,75	± 3,17	± 4,97	± 4,11	± 5,94	± 9,61	
Entrenado (8)	120 s	150 s	180 s	210 s	240 s	270 s	300 s
22,93	22,46	24,11	23,46	23,16	24,41	21,75	
± 10,41	± 11,19	± 12,59	± 11,76	± 12,23	± 10,88	± 10,83	

Tabla 3.9. Media y desviación estándar del CV de la FD de la FV, previamente a la OAC (basal) y durante varios tiempos después de la OAC (post). El número de experimentos se encuentra entre paréntesis. * $p < 0,05$ [†] $p = 0,07$ versus el valor basal.

3.7. ENERGÍA MÍNIMA NECESARIA A APLICAR MEDIANTE DESFIBRILADOR CON EL FIN DE INTERRUMPIR EL PROCESO FIBRILATORIO.

Tras la OAC, la energía mínima necesaria para desfibrilar de una manera estable al ventrículo fue menor ($p = 0,051$) en los corazones de los animales entrenados ($0,11 \pm 0,03$ julios; $n = 6$), que en los corazones de los animales control ($0,15 \pm 0,06$ julios; $n = 7$), al hacer la comparación solamente en este momento del experimento. Los valores de energía necesarios para desfibrilar al corazón previamente a la OAC, han sido expuestos en un trabajo previo. No obstante y a título de información diremos que la energía mínima necesaria para desfibrilar de una manera estable al ventrículo, a los pocos segundos de desencadenar la FV fue menor ($p = 0,053$) en los corazones de los animales entrenados ($0,12$

$\pm 0,03$ julios; $n = 8$), que en los corazones de los animales control ($0,15 \pm 0,05$ julios; $n = 9$). Ver figura 3.11.

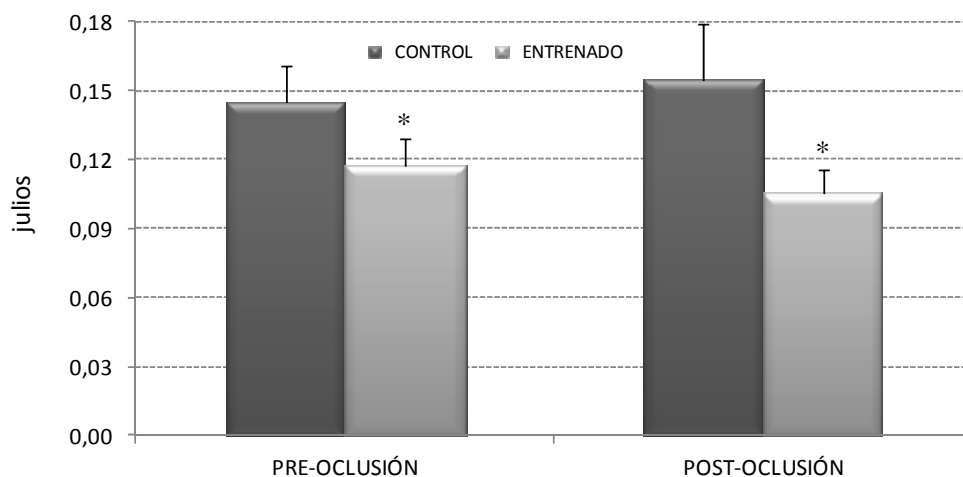


Figura 3.11. Energía mínima necesaria para interrumpir el proceso fibrilatorio en los primeros momentos de instaurada la FV y en los primeros instantes después de la OAC. $*p < 0,05$ vs control. Los valores de dispersión corresponden al error estándar.

3.8. FIBRILACIÓN AL PRIMER INTENTO.

El número de corazones que fibrilaron tras inducir la fibrilación de forma automática fue mayor en el grupo control (7 casos, $n=16$) en comparación al grupo entrenado (1 caso, $n=14$). Ver figura 3.12.

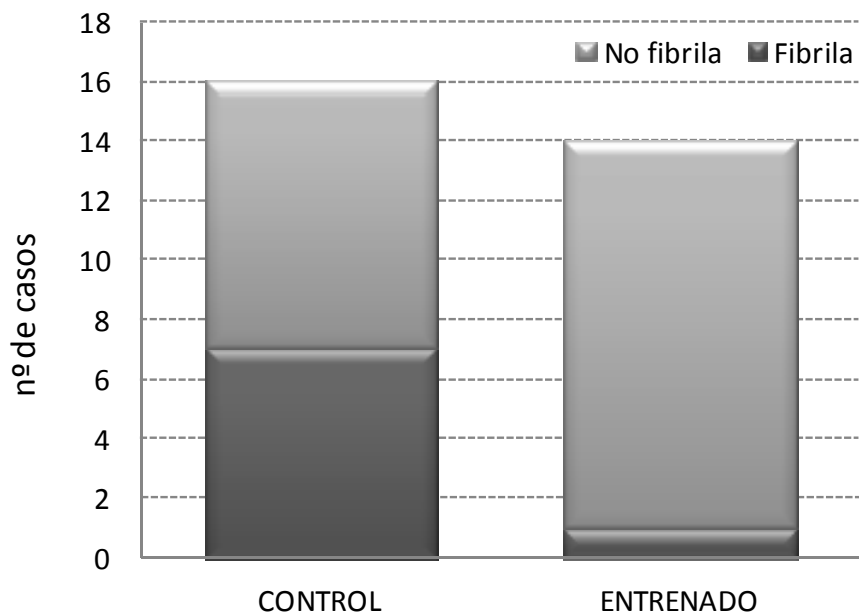


Figura 3.12. Número de corazones que fibrilaron al primer intento tras inducir la FV programada. $p < 0,05$

3.9. PESO Y FLUJO CORONARIO DE LOS CORAZONES.

En la tabla 3.10. se muestra los valores correspondientes al peso del corazón y de flujo coronario obtenidos al final del experimento. No se encontraron diferencias en cuanto al flujo coronario normalizado por el peso de los corazones entre el grupo control y entrenado.

En lo referente al peso de los corazones, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

	PESO CORAZÓN (g)	FLUJO CORONARIO (ml·min ⁻¹ ·g ⁻¹)
Control	14,09 ± 2,10 (25)	3,38 ± 1,03 (21)
Entrenado	13,16 ± 1,93 (21)	3,56 ± 1,12 (21)

Tabla 3.10. Media y desviación estándar del peso y flujo coronario (normalizado por el peso) de los corazones. El número de experimentos entre paréntesis.

DISCUSIÓN

IV. DISCUSIÓN.

Hemos investigado las modificaciones electrofisiológicas producidas por el ejercicio físico crónico a nivel de automatismo sinusal, refractariedad ventricular, velocidad de conducción (VC) ventricular, longitud de onda (LO) del proceso de activación eléctrica del ventrículo, frecuencia de la fibrilación ventricular inducida, heterogeneidad electrofisiológica del miocardio, facilidad para la inducción de la FV, y energía necesaria para revertir el proceso fibrilatorio hacia un ritmo cardiaco sinusal. El estudio se ha realizado en corazón aislado de conejo sometido a un protocolo de ejercicio.

Previamente a la realización de los correspondientes comentarios relativos a los resultados, haremos unas consideraciones de tipo metodológico, para posteriormente proceder al análisis de los resultados

obtenidos y del significado de los mismos, las limitaciones del estudio y las perspectivas de futuro.

4.1. CONSIDERACIONES DE CARÁCTER METODOLÓGICO.

.
Si bien las ratas de laboratorio son los animales más frecuentemente utilizados en experimentos de condicionamiento cardiaco, en el presente trabajo experimental hemos usado conejos, no ya porque el pequeño tamaño cardiaco de las ratas va en perjuicio de una instrumentalización prolongada y ello dificulta realizar estudios longitudinales (Schaible & Scheuer, 1985) sino por otras muchas razones que exponemos a continuación.

El conejo de laboratorio ha sido utilizado a nivel experimental por muchos autores al considerársele un

modelo ideal para estudiar los efectos del entrenamiento físico sobre diferentes variables cardiovasculares (DiCarlo & Bishop, 1990, Such *et al.*, 2002, Such *et al.*, 2008).

Estos autores han evidenciado que a semejanza de los seres humanos en general, el conejo de laboratorio usado por nosotros, es un animal sedentario y ello permite, con protocolos de ejercicio adecuados, obtener con relativa facilidad alguna de las respuestas características del entrenamiento físico.

Por otra parte la necesidad de estudiar las características de la fibrilación ventricular (FV) nos lleva también a considerar al conejo como un animal muy adecuado, ya que su corazón es susceptible de fibrilar, mediante métodos de electroestimulación, de modo fácil. Coker SJ (1989), validó el modelo como una herramienta alternativa para el estudio de arritmias producidas como

consecuencia de la isquemia y reperfusión. La distribución de la arteria coronaria es bastante similar entre los diversos corazones de conejos y dispone de una mayor masa muscular que la de otros animales de laboratorio, como la rata o el ratón, y una menor frecuencia cardiaca que dichos animales. También el corazón de conejo presenta una mayor duración del potencial de acción y probablemente una menor uniformidad en cuanto a la repolarización en diferentes puntos del miocardio en un instante determinado, es decir, una mayor dispersión de la repolarización que permite la más fácil inducción de la FV, que es en este sentido diferente al corazón de los animales más pequeños citados anteriormente. Además una vez instaurada la FV, esta se mantiene más fácilmente que en los ratones y ratas (Wit & Janse, 1993). Billman (2002) en una revisión acerca de los efectos protectores del ejercicio físico aeróbico crónico frente a la muerte súbita cardiaca hace mención al interés de usar

especies con una mayor masa cardiaca y una frecuencia cardiaca menor, que los exhibidos por las ratas y ratones para estudiar los mecanismos responsables de la FV y que Panfilov (2006) por otra parte manifiesta el interés de usar corazones de conejos debido a que el tamaño efectivo es similar al del humano

Los estudios de electrofisiología celular en cardiomiocitos, con el fin de analizar los diferentes tipos de corrientes iónicas que participan en el potencial de acción (PA), requieren asimismo un modelo que se parezca al cardiomiocito humano, y este es el caso de las células miocárdicas de conejo, en las que están presentes todas las corrientes iónicas principales que participan en el PA, si bien la cinética de estas corrientes y algunos otros aspectos cuantitativos exhiben ciertas diferencias. Los resultados de los estudios electrofisiológicos celulares en corazón de conejo tienen bastantes garantías de poder

ser trasladados al caso del ser humano, aunque con ciertas limitaciones como es el caso de la heterogeneidad transmural del PA (Stengl, 2010).

Respecto a la preparación usada, con el fin de excluir influencias nerviosas extrínsecas y/o humorales sobre los resultados, se ha utilizado un modelo de corazón aislado tipo Langendorff, que ha sido usada comúnmente para el estudio de efectos electrofisiológicos (Chorro *et al.*, 1997, 1999, 2000, Such *et al.*, 2002, Chorro *et al.*, 2005).

En cuanto el modelo de corazón aislado, cabe decir, que animales como el perro, necesitan sangre para la perfusión del corazón, que es un medio “complicado” de perfusión, si bien pueden ser instrumentalizados para realizar estudios longitudinales, a diferencia de los pequeños animales en los que dichos estudios, y por las

razones que acabamos de apuntar, son más difíciles, como ya clásicamente señalaron Schaible & Scheuer (1985).

De otro modo el modelo de corazón aislado de conejo, solamente requiere para su perfusión, líquidos de fácil disponibilidad y preparación como es la solución de Tyrode, lo que representa una ventaja, además de la fácil manipulación, que si bien no lo es como en el caso del corazón de perro, si lo es en comparación con los animales pequeños.

Con la intención de asegurar que las diferencias observadas entre los grupos no pudieran atribuirse a modificaciones en el trabajo cardiaco, decidimos utilizar para la presente investigación una preparación tipo Langendorff, sin poscarga, y con una ligerísima precarga. Como sabemos tanto la precarga

como la poscarga (y especialmente esta última) aumentan el consumo de oxígeno por el corazón al aumentar la tensión miocárdica, que es uno de los tres factores más importantes que determinan el consumo de oxígeno por el corazón (Guyton & Hall, 2006).

En relación con los métodos usados para el análisis de los parámetros electrofisiológicos, consideramos pertinente comentar alguno de estos. En primer lugar, haremos algunas consideraciones respecto a un método de determinación de la refractariedad ventricular como es el de determinarla durante el proceso fibrilatorio; es lo que llamamos periodo refractario funcional ventricular de la FV (PRFFV) inducida. A diferencia del test del extraestímulo ventricular (TEEV), nos permite una estimación bastante real de la refractariedad en una situación que excluye una estimulación externa al propio corazón, como es el caso

del TEEV. La determinación del PRFFV nos informa de la capacidad del tejido miocárdico ventricular para permitir el paso de frentes de activación sucesivos en tanto el tejido no se halla en periodo refractario. Este parámetro, tal y como hemos indicado en el capítulo de material y métodos, fue determinado mediante el percentil 5 de un histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000 ciclos en cada caso. Duytschaever *et al.* (2001) apunta como ventaja el hecho de que este método no requiere de la estimulación externa al propio corazón anteriormente mencionada.

En segundo lugar, comentaremos algunos aspectos relacionados con la determinación de la frecuencia dominante (FD) de la FV, que es la frecuencia que tiene el componente armónico del trazado fibrilatorio que exhibe mayor amplitud, como previamente se ha comentado, y que se ha obtenido mediante el análisis

espectral aplicado por nosotros. Este método, que nos permite examinar la energía de la señal como una función de la frecuencia, ha sido aplicado en diferentes estudios electrofisiológicos cardíacos. (Chorro *et al.*, 2000, Ropella, 2001) y nos ha sido de gran utilidad por las razones que a continuación comentamos:

Zaitsev *et al.* (2003), reportó que la FD disminuye en isquemia y que la isquemia progresiva en pacientes debida a un paro cardíaco producido por fibrilación ventricular resulta en un declive de la frecuencia de la fibrilación, y como ha sido demostrado por diferentes autores la situación de isquemia conlleva una depresión de los depósitos de fosfatos de alta energía (Neumar *et al.*, 1990), además de alteraciones en el potencial de membrana y en los niveles intracelulares de Ca^{++} (para revisión ver Strohmenger *et al.*, 1997). Contrariamente estos últimos autores relatan que una

mejora de la perfusión miocárdica durante una reanimación cardiopulmonar se relaciona con un incremento de la frecuencia de la FV y una mayor probabilidad de éxito en la desfibrilación. Es por ello que se puede obtener una información, aunque indirecta, de los efectos deletéreos de la isquemia, a través del análisis de la FD de la FV.

El análisis de la FD nos permite disponer de un instrumento para analizar la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular, ya que como podemos determinar el valor del citado parámetro en más de doscientos puntos diferentes del miocardio, en cada experimento, podemos ver el grado de dispersión geográfica de dicho valor a través del cálculo del coeficiente de variación de la FD (CV). Más adelante haremos énfasis en algunos otros aspectos por los que el

análisis de la FD de la FV es de gran utilidad en estudios electrofisiológicos.

Finalmente en lo que respecta al estudio relativo al efecto del ejercicio físico crónico sobre la energía necesaria para revertir el proceso fibrilatorio durante la isquemia regional aguda, nos parece apropiado hacer algunos comentarios respecto al material y al método diseñado por nosotros. Decimos al material diseñado por nosotros porque efectivamente, ha sido confeccionado y construido para el presente estudio un desfibrilador adecuado. Tal y como ha sido señalado por nuestro grupo de trabajo (Roses, 2010) los desfibriladores comercialmente disponibles, proporcionan energías mínimas muy superiores a la del umbral desfibrilatorio, ya sea en su versión como desfibrilador externo (energías extremadamente elevadas para el caso que nos ocupa) como para el desfibrilador implantable, y era necesario

para llevar a cabo los experimentos propios de nuestra investigación, disponer de un equipo desfibrilador que se adaptara a los requerimientos de la preparación experimental del modelo de corazón aislado de conejo. En concreto el desfibrilador fue diseñado *ad hoc* por el grupo de investigación Bio-ÍTACA de la Universidad Politécnica de Valencia. El desfibrilador dispone de forma de onda de choque seleccionable: monofásica, bifásica o bifásica pulsada.

Este desfibrilador, como los demás, es un instrumento electrónico de uso médico, diseñado por proporcionar una descarga eléctrica (choque o choque en la variante inglesa) capaz de revertir un estado de fibrilación (en nuestro caso ventricular) y conseguir que el corazón recupere un ritmo sinusal. Esta descarga eléctrica diferencia nuestro desfibrilador, el cual debe

adaptarse a las exigencias de carga y forma de onda que podamos requerir.

Los desfibriladores con forma de onda exponencial decreciente truncada monofásica (o monofásica), proporcionan una descarga con un flujo de corriente en una sola dirección (de un electrodo o pala al otro). Los desfibriladores con forma de onda exponencial decreciente truncada bifásica (o bifásica) incorporan un flujo de corriente en dos direcciones, en el que la corriente eléctrica primera fluye en una dirección por después revertir en la dirección contraria.

La principal ventaja que presenta la forma de onda bifásica con respecto a la monofásica es que el pico de corriente que se requiere para la desfibrilación con éxito se estima que es un 40% menor en el primer caso y por tanto el riesgo de daño celular miocárdico es menor.

Estudios en animales y humanos, demuestran que el uso de una forma de onda bifásica requiere menos energía para desfibrilar ofreciendo un mayor margen de seguridad frente al de una forma de onda monofásica (Rho *et al.*, 2003). El desfibrilador usado por nosotros tiene una escala o rango que permite una identificación más precisa de la energía necesaria para desfibrilar, pudiendo conseguirse así un ajuste más adecuado, o en otras palabras cuantificar con una buena resolución los umbrales desfibrilatorios, lo que es de gran importancia teniendo en cuenta las características de esta investigación.

4.2. CONSIDERACIONES RESPECTO A LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

4.2.1. Respecto a las concentraciones venosas de lactato y al automatismo sinusal como parámetros de entrenamiento.

El presente trabajo hace alusión a los efectos electrofisiológicos del entrenamiento físico. Es por ello que debe establecerse algún criterio para validar que el protocolo de ejercicio aplicado por nosotros ha producido una respuesta cardiovascular propia del entrenamiento.

En lo que respecta a los resultados de la evolución de las concentraciones de lactato en sangre venosa a lo largo de las series, en cada sesión y a lo largo de las sesiones, en el proceso total de la aplicación del protocolo, obtuvimos, como queda expuesto en el apartado de resultados, manifestaciones propias de una evolución hacia una adaptación cardiovascular progresiva.

Los incrementos de lactato debidos a la ejecución de las series de carrera fueron atenuándose a medida que discurrió el tiempo de entrenamiento. Es de sobra conocido que el acúmulo de lactato en sangre, en las personas no entrenadas, sin patologías, se produce alrededor del 60% del consumo máximo de oxígeno y con el entrenamiento de resistencia puede llegar hasta el 80% del consumo máximo de oxígeno (McArdle *et al.*, 2004).

Nuestras afirmaciones al respecto de que se consigue un estado de entrenamiento y que se llega a la adaptación cardiovascular con el desarrollo del protocolo en el tiempo están en concordancia con lo clásicamente conocido sobre el efecto del entrenamiento a nivel de la deuda de oxígeno.

El entrenamiento produce cambios en la musculatura esquelética que afectan a la dotación

mitocondrial (que aumenta) así como a la cuantía de los enzimas ligados a la producción de ATP en la cadena respiratoria. A nivel cardiovascular produce un aumento de la capilaridad con una mejor distribución de la sangre en los músculos. Todo lo anterior origina una extracción más completa de oxígeno, con lo que disminuye la producción de ácido láctico para un trabajo de una intensidad determinada (Ganong, 2006). Es por ello, en consecuencia, que inferimos la bondad del método usado por nosotros para conseguir una adaptación aerobia.

De igual modo el mayor valor de la longitud del ciclo sinusal que exhibieron los corazones de los animales entrenados, es un hallazgo que se corresponde con trabajos previos realizados por nosotros (Such *et al.*, 2008). En estos trabajos validamos la importancia de la longitud del ciclo sinusal en el corazón aislado como parámetro de entrenamiento, ya que se correspondió con

los datos electrocardiográficas determinados “in vivo”, también analizados por nosotros. Es decir, una menor frecuencia cardíaca para el caso de los entrenados. Como es harto conocido esta es una de las manifestaciones cardiovasculares más clásicamente y mejor conocidas del efecto del entrenamiento (Bramwell & Ellis, 1929).

Aunque no ha sido planteado como punto prioritario en la presente tesis, el estudio de las variaciones del automatismo sinusal, ya que ha sido previamente analizado por nosotros, y ha sido planteado su análisis como parámetro de entrenamiento, sí queremos hacer algunas consideraciones sobre los resultados: aunque el efecto del ejercicio físico crónico sobre el automatismo o cronotropismo sinusal intrínseco ha sido objeto previo de estudio por otros autores y por nuestro grupo investigador, los resultados que presentamos contribuyen a reforzar la idea de que el

entrenamiento provoca cambios intrínsecos de dicha propiedad, puesto que aparecen en un corazón no sometido a influencias vegetativas centrales. Tampoco en el presente modelo, el corazón se halla influido por sustancias presentes en la sangre y con acción sobre el corazón.

Los cambios observados en la longitud del ciclo sinusal están en consonancia con anteriores estudios experimentales en los que se observaron efectos del entrenamiento tanto en ratas (Nylander *et al.*, 1982) como en perros (Ordway *et al.*, 1982). No obstante hay autores que no encontraron cambios significativos en la frecuencia cardíaca en corazones aislados de animales entrenados (Tipton *et al.*, 1977). Como ya hemos hecho constar en las revisiones expuestas en trabajos de investigación previos, la bradicardia intrínseca de los sujetos entrenados ha sido relacionada con una variación del

tamaño del corazón y con el estiramiento tónico del marcapasos sinoauricular, (Lewis *et al.*, 1980). Una modificación en el metabolismo de los miocitos cardiacos que resultara en una más eficiente utilización y generación de la energía, ha sido sugerida como una causa de la bradicardia intrínseca (Katona *et al.*, 1982).

4.2.2. Respecto a la refractariedad en circunstancias de normal perfusión.

Ya ha sido mostrado que el periodo refractario funcional durante la FV fue mayor en los animales entrenados, y que el periodo refractario funcional ventricular (PRFV), determinado con el TEEV tendió a ser mayor ($p=0,053$) en los animales entrenados.

Los citados resultados si bien no son exactamente iguales que los previamente obtenidos por

nosotros, usando protocolos de entrenamiento similares y también de mayor intensidad (Such *et al.*, 2002 y 2008), si “apuntan” en la misma dirección.

Otros autores han obtenido resultados similares analizando el efecto del ejercicio físico crónico sobre la DPA, que en condiciones de normal perfusión se correlaciona bien con la refractariedad (Sutton *et al.*, 2000). Así, Tibbits *et al.* (1981), Gwathmey *et al.* (1990), Jew *et al.* (2001), Natali *et al.* (2002), analizando la DPA de los cardiomiocitos ventriculares y sus modificaciones por la realización de ejercicio físico, encontraron un incremento en la duración del mismo en los cardiomiocitos de los animales entrenados.

Aunque nosotros no hemos investigado las razones por las cuales la aplicación del protocolo de entrenamiento ha aumentado el periodo refractario

respecto a los controles, probablemente estos mecanismos se hallan en consonancia con las observaciones experimentales realizadas por otros autores y que a continuación exponemos.

Jew *et al.* (2001) encontraron, en cardiomiocitos aislados de ventrículo izquierdo de ratas sometidas a ejercicio físico, utilizando la técnica de *patch-clamp*, que el entrenamiento físico produce: una reducción en la densidad de las corrientes repolarizantes de potasio de inactivación lenta o sostenida, a las que ellos y otros autores (Himmel *et al.*, 1999) denominaron corriente repolarizante de inactivación lenta, I_{sus} (I_{late}); y un incremento en la rapidez a la que se consigue el pico de la corriente I_{to} (corriente de salida de K^+ transitoria), que como es sabido, es responsable del inicio de la repolarización rápida del cardiomiocito y un tenue pero significativo incremento en la densidad de corrientes I_{to} en

los cardiomiocitos aislados del ventrículo izquierdo de rata. A la corriente rectificadora ultrarrápida tardía de potasio (I_{kur}), que es el componente de activación más rápido de las corrientes rectificadoras de potasio se la ha llamado también estado sostenido I_{sus} se caracteriza por una activación rápida, inactivación parcial lenta y sensibilidad a ciertas sustancias como la 4-aminopiridina. Si bien no está presente en el ventrículo humano, si se halla en otras especies de mamíferos, jugando un papel importante en la repolarización de los potenciales de acción (para revisión ver referencia Sanguinetti y Tristani-Firouzi, 2006). Para Jew *et al* (2001) también el entrenamiento físico además de que pareció afectar a la amplitud del pico y la forma de la fase de repolarización temprana del PA registrado en miocitos aislados de cultivos, el entrenamiento también redujo la densidad de corriente I_{sus} , y si bien estos autores no encontraron ninguna modificación, en los experimentos antes

mencionados, de la DPA, nosotros pensamos en la posibilidad de que al actuar sobre los canales que vehicular la corriente I_{sus} , y modificar la forma del potencial de acción, esto pudiera repercutir en la modificación de la refractariedad observada por nosotros. Hay que decir, no obstante, que no hubo.

Estudios llevados a cabo por otros autores muestran un incremento de la DPA por el entrenamiento. Así Tibbits *et al.*, 1981, analizando la influencia del ejercicio sobre el acoplamiento excitación-contracción en miocardio de ratas, encontraron un aumento en la DPA, sin hallar diferencias en el potencial de membrana de reposo. También Gwathmey *et al.*, 1990, estudiando los efectos del acondicionamiento físico en el acoplamiento excitación-contracción de ratas envejecidas, observaron un aumento de la DPA transmembrana. Finalmente Natali *et al.*, 2002, estudiando los efectos regionales del ejercicio

voluntario sobre las propiedades mecánicas y eléctricas de cardiomiocitos de ratas, hallaron un alargamiento de la DPA en los cardiomiocitos sub-epicardicos, reduciendo el gradiente transmural en la DPA. No obstante ninguno de estos autores determinaron qué corrientes subyacen al alargamiento de la DPA por el entrenamiento.

Cabría también la posibilidad de que el entrenamiento físico pudiera modificar la actividad del intercambiador $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ que como es sabido tiene propiedades electrogénicas y podría variar la DPA. En este sentido, Mace *et al.*, 2003, realizaron un estudio en cardiomiocitos aislados de ratas viejas en las que se investigó el efecto del ejercicio físico crónico sobre la duración del potencial de acción, no hallándose diferencias por el entrenamiento.

Mokelke *et al.*, 1997, para investigar la participación de otros mecanismos iónicos en las modificaciones electrofisiológicas causadas por el entrenamiento físico, estudiaron en corazones de ratas sometidas a un protocolo de entrenamiento de resistencia sobre cinta rodante, la acción de las corrientes de calcio que como sabemos contribuyen a formar la meseta del PA en los cardiomiocitos ventriculares y se trata de una corriente de entrada de calcio lenta (I_{Ca}), que transcurre por los canales tipo L de Ca^{2+} , dependientes voltaje. El trabajo lo diseñaron a partir de las teorías que apuntan a que los canales de calcio ya mencionados, podían sufrir adaptaciones electrofisiológicas y mecánicas (Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, y Moore *et al.*, 1993). Estos autores no encontraron que la inactivación y la recuperación de la I_{Ca} del conjunto celular fueran modificadas por el entrenamiento, lo que descartaba la hipótesis de que las adaptaciones inducidas por el

entrenamiento pudieran apoyarse en modificaciones de la función y el número de canales de calcio tipo L.

Como es conocido, la refractariedad miocárdica es una propiedad, junto con la VC, que determina la LO del proceso de activación miocárdico, que es un factor relacionado con la aparición y estabilización de arritmias reentrantes respecto al tiempo (Wijffels *et al.*, 1995). En este sentido, el incremento de los períodos refractarios debido al entrenamiento físico es un efecto protector frente a las alteraciones eléctricas, y en nuestra opinión, podría participar como un mecanismo básico para que la realización de ejercicio físico aerobio ejerciera un efecto protector frente a las citadas arritmias que producen la muerte súbita, y es, esto último, por lo que se ha propuesto como intervención frente a las arritmias, de carácter no farmacológico (Billman, 2002).

4.2.3. Respecto a la refractariedad en circunstancias de isquemia regional aguda.

Hemos visto en el capítulo de resultados que el periodo refractario efectivo y funcional ventricular, determinados mediante el TEEV tras la oclusión arterial coronaria (OAC), no se modificó significativamente.

Las diferentes publicaciones sobre los cambios inducidos por la isquemia en la refractariedad, son muy diversos. Se ha descrito, respecto al efecto de la isquemia sobre la refractariedad, un acortamiento, un alargamiento, un alargamiento seguido por acortamiento o un acortamiento seguido por alargamiento (para revisión ver Sutton *et al.*, 2000).

Estudios como los de Elharrar *et al.*, 1977; Horacek *et al.*, 1984 y Capucci *et al.*, 1995, manifiestan un

alargamiento de la refractariedad en la isquemia, a diferencia de otros grupos que relatan un acortamiento de la misma (Han & Moe, 1964, Elharrar *et al.*, 1977, Wolk *et al.*, 1998 (para revisión ver Sutton *et al.*, 2000).

Los aspectos metodológicos parecen ser los responsables de estas diferencias, y factores como la intensidad del estímulo aplicado, el tipo de isquemia producido (global o regional), la ubicación del sitio de estimulación respecto a la zona limítrofe, etc podrían jugar un papel importante en su determinación.

Según Penny, 1984, Janse *et al.*, 1985, Capucci *et al.*, 1995 (citados por Sutton *et al.*, 2000), durante la isquemia regional puede suceder que una alta intensidad de estimulación consiga excitar de modo desapercibido una zona alejada del miocardio y en donde el periodo refractario es más corto, con lo que se puede

obtener, valga la repetición, un acortamiento del período refractario.

Como acabamos de indicar en líneas anteriores, en el presente trabajo de investigación el periodo refractario efectivo y funcional aunque no se modificó de forma estadísticamente significativa, tras la OAC. Nosotros atribuimos a razones metodológicas el hecho de no haber encontrados diferencias significativas. Decimos esto porque el electrodo de estimulación que se utilizó para determinar este parámetro a través del TEEV, trató de ubicarse periféricamente a la zona afectada por la oclusión; pero esta ubicación no siempre coincidió con un territorio enclavado en la llamada zona “límitrofe” del miocardio isquémico, alejado de la zona central del área isquémica más dañada, y en donde presumiblemente se acorta el período refractario. La imposibilidad de ubicar el electrodo de estimulación, en algunos casos, en la zona

comprometida por la isquemia, por hallarse esta cubierta por el multielectrodo de registro, no permitió una determinación del periodo refractario de la zona “intermedia” isquémica, en estos casos.

4.2.4. Respecto a los PRFFV en el corazón normalmente perfundido.

El periodo refractario funcional medido durante la FV ha sido mayor en los animales entrenados. Este resultado está en consonancia con el resultado comentado en el apartado anterior aunque es claramente más concluyente. Como hemos indicado en el apartado relativo a los comentarios sobre nuestra metodología, la determinación del periodo refractario ventricular durante la FV, es un método que exhibe la ventaja de no necesitar de estimulación externa, y por tanto responder a una situación, a nuestro parecer, más fisiológica. Y sobre todo

que permite el análisis más real de la refractariedad global de la zona miocárdica explorada.

4.2.5. Respecto a los PRFFV tras isquemia regional aguda.

Tras la OAC la determinación del periodo refractario funcional se ha hecho en la zona de miocardio más dañada. El grado de daño lo hemos relacionado con los electrogramas de la FV y con los registros basales en ritmo sinusal. ¿Porqué operamos de este modo y no como lo hicimos al determinar la refractariedad durante la FV previamente a la OAC, en el sentido de que en este caso tuvimos en cuenta a toda la zona abarcada por el multielectrodo. La razón es que tras la oclusión, el multielectrodo registra electrogramas de zonas muy diferentes desde el punto de vista del trofismo miocárdico, a saber: miocardio “sano” (normalmente perfundido),

miocardio “border”, miocardio más dañado y finalmente zonas en las que se insinúa una onda Q, expresiva de infarto transmural.

Pues bien, en estas condiciones el periodo refractario funcional se alargó tanto en el grupo control como en el entrenado- No obstante el incremento del PRFFV en los controles fue mayor que en los entrenados como lo demuestra la comparación entre las diferencias de los PRFFV (previamente y posteriormente a la OAC) de los entrenados frente a los controles. Este apartado precisa de una matización, y es que el incremento del intervalo V-V de los electrogramas de la FV, tras la OAC, puede estar también en relación con la menor VC que se da tras la isquemia, y que en líneas posteriores serán comentados. Es por esta razón que los resultados de la refractariedad en el miocardio isquémico medidos durante la FV deben interpretarse con cautela.

4.2.6. Respecto a la VC en el corazón normalmente perfundido.

Tal y como se ha expuesto en el capítulo de resultados la VC miocárdica ventricular, fue de alrededor de 70 cm/s en el grupo control. Nuestros resultados coinciden con los de otros autores que usaron un modelo muy similar. Así, Caldwell *et al* (2007), estudiando la heterogeneidad de la FD de la FV durante isquemia global en corazones aislados de conejos, relataron valores similares a los obtenidos por nosotros, previamente a la OAC.

Los valores que se pueden obtener para la VC varían dependiendo de la frecuencia de estimulación que se aplica para investigar dicho parámetro; de tal modo que con longitudes de ciclo de estimulación mayores, se obtienen valores más elevados de VC. Es por eso que en

la literatura se han relatado velocidades de conducción ligeramente diferentes. De hecho, en otras investigaciones llevadas a cabo por nuestro propio grupo, se han obtenido valores menores pero con longitudes del ciclo de estimulación, también menores (Chorro *et al.*, 2005).

4.2.7. Respecto a la VC en el corazón tras isquemia regional aguda.

En el presente estudio se observó que tras la OAC aguda, la VC de los corazones del grupo entrenado tendió a ser mayor ($p = 0,07$) que en el grupo de conejos control, y asimismo se observó un descenso de este parámetro en ambos grupos frente a su situación previa de normoxia.

Otros autores encontraron resultados similares a los obtenidos por nosotros en el miocardio isquémico (Caldwell *et al.*, 2007).

Aunque nosotros no hemos investigado los mecanismos implicados en la disminución de la VC tras la isquemia, si expondremos a continuación los estudios realizados al respecto por otros autores. La disminución de la VC tras la instauración del proceso isquémico no solamente es debida al incremento extracelular de la concentración de potasio, sino también, y como se ha apuntado desde hace algún tiempo, es el resultado de una disminución de la corriente rápida de entrada de Na^{2+} (I_{Na}), debida a una más lenta recuperación de la compuerta de inactivación del Na^+ tras la despolarización de la membrana celular y en segundo lugar a una inactivación parcial de la corriente I_{Na} . (Kléber *et al.*, 1986; Yang *et al.*, 2007)

En lo que respecta a la comparación entre el grupo control y el entrenado, pese a que no fueron significativas las diferencias entre el grupo entrenado y el grupo control, tras la OAC, la tendencia a ser mayor la VC en el grupo entrenado que en el control, parece indicar que la realización de ejercicio físico crónico podría tener un efecto protector, a este nivel, en la medida que manteniéndose más alta la VC tras la agresión isquémica, se preserva mejor al miocardio frente a la instauración de fenómenos de re-entrada, que como sabemos dependen de variaciones en la VC, que siendo menor podría permitir el mantenimiento de la arritmia reentrante.

4.2.8. Respecto a la LO del proceso de activación previamente a la OAC.

Como sabemos la LO del proceso de activación es la longitud que recorre una onda re-entrante a lo largo

de un circuito anatómico durante el tiempo que el tejido en el que se inicia la re-entrada en volver a ser excitable, es decir, en que está en periodo refractario (García Civera *et al.*, 2007). Este parámetro se halla más estrechamente relacionado con las arritmias re-entrantes. La re-entrada continua requiere que la longitud anatómica del circuito de recorrido iguale o exceda la LO reentrante. Esta última es igual, como hemos apuntado anteriormente, a la media de VC del impulso multiplicada por el mayor período refractario de los elementos en el circuito. Hay que matizar que ambos valores pueden ser distintos en diferentes puntos a lo largo de la vía de re-entrada, y por lo tanto el valor de LO es un tanto artificial (para revisión ver Rubart & Zipes, 2008) Ya clásicamente, Mines (para revisión ver Kleber & Rudy, 2004) se percató de que la iniciación y el mantenimiento de la re-entrada era dependiente de los dos factores que determinan la LO del proceso de activación y en la medida que la LO era menor

que la longitud total del circuito reentrante definido anatómicamente habría una zona de tejido excitable entre la cola de una onda de activación precedente y el frente de otra onda inmediatamente posterior lo que condiciona movimientos circulares que podrían persistir durante horas a una frecuencia constante. Como vimos en Resultados, la pequeña diferencia observada entre los animales control y los entrenados no fue estadísticamente significativa. Pensamos que aunque el periodo refractario (que es uno de los factores del producto que indica la LO) tendió claramente a ser mayor en el grupo entrenado, el hecho de que el otro factor, la VC, no fuera diferente entre grupos, puede contribuir a explicar la ausencia de significación.

4.2.9. Respecto a la LO en el corazón tras isquemia regional aguda.

A diferencia de lo que aconteció previamente a la OAC, la LO del proceso de activación fue mayor en el grupo entrenado que en el control. Probablemente, la tendencia de los dos valores que intervienen en la determinación de la LO, a ser mayores en el grupo entrenado, ha dado lugar a un producto que si es significativamente mayor en los animales sometidos a entrenamiento.

Este resultado ha sido recientemente publicado por nosotros (Parra *et al.*, 2010) y es interpretado, a la luz de los conocimientos actuales, como un efecto beneficioso del ejercicio físico crónico frente a la instauración y mantenimiento de fenómenos re-entrantes.

El mejor mantenimiento de la VC en los animales entrenados reviste especial interés en el presente contexto. Los mecanismos básicos ligados a este último efecto probablemente se hallan ligados a un menor deterioro morfo funcional de la célula miocárdica del animal entrenado, sometida a la agresión isquémica y que indirectamente se evidencia en el apartado de resultados relativo al análisis de la FD de la FV, tras la OAC, que más adelante comentaremos.

4.10. Respecto a la FD de la FV previamente a la OAC.

La FD de la fibrilación es un parámetro que se ha relacionado inversamente con la refractariedad ventricular (Chorro *et al.*, 2000), con la desfibrilación exitosa, la recidiva fibrilatoria y de otras arritmias y el pronóstico de los pacientes afectados de esta arritmia

(Strohmenher *et al.*, 1997). Y coincide con el deterioro metabólico celular que se produce a consecuencia de la isquemia (Neumar *et al.*, 1990).

En el presente trabajo experimental el entrenamiento físico no produjo diferencias significativas en cuanto a la frecuencia de la fibrilación, previamente a la OAC. Este resultado contrasta con los obtenidos a nivel del periodo refractario, ya que la frecuencia de la fibrilación no se ha modificado en la misma dirección que el periodo refractario. Contrasta también con resultados previos obtenidos por nosotros usando una metodología parecida y en los que en los animales entrenados se apreció una disminución aunque pequeña, significativa, de la FDM de la FV en conejos sometidos al mismo protocolo que el empleado aquí, (Such *et al.*, 2008), tras cinco minutos de iniciada la FV.

Desconocemos las razones por las que nuestros resultados no coinciden con los citados. Cabe pensar en posibles razones que puedan justificar nuestros resultados: por una parte el porcentaje de salida espontánea de la FV en los animales entrenados fue del 43%, frente a un 31% de los controles. La salida de la FV se da en corazones que exhiben bajas frecuencias. Alguno de estos corazones en los que el mantenimiento de la FV hasta el final del experimento (minuto 5 después de iniciada la FV) no fue posible, cabe pensar en la posibilidad de que en este tiempo hubieran exhibido frecuencias más bajas y siendo mayor el número de ellos en el grupo entrenado, podríamos haber hallado diferencias sensiblemente mayores (estimamos que pequeñas en cualquier caso) y que acercaran nuestros resultados a los obtenidos por nosotros mismos en los estudios anteriores, antes citados.

4.11. Respecto a la FD de la FV tras la OAC.

El mantenimiento de la FD de la FV tras OAC (en relación al valor inmediatamente previo a la oclusión o valor basal) en el grupo entrenado, indirectamente implica, a nuestro entender, un efecto beneficioso. Ha sido reportado previamente por otros autores, que la isquemia produce una disminución de la FD de la FV (Zaitsev *et al.* 2003). También se ha manifestado que la isquemia progresiva produce una disminución de la frecuencia de la fibrilación en aquellos pacientes que han sufrido paro cardiaco como consecuencia de una FV. Además, como consecuencia del mejoramiento de la perfusión miocárdica después de la resucitación cardiopulmonar y administración de vasopresores, en un incremento en la frecuencia de la FV y una mayor probabilidad de éxito del choque de descarga. (Strohmenger *et al.*, 1997). Acompañando estos efectos

electrofisiológicos, la isquemia también produce varios efectos metabólicos deletéreos, como son una rápida depleción de los fosfatos de alta energía del miocardio (Neumar *et al.* 1990) y otros en el potencial de membrana de la célula y la sobrecarga de los niveles de calcio celular (para revisión ver Strohmenger *et al.*, 1990). Como hemos mencionado en líneas anteriores, la FD de la FV se correlaciona inversamente con los períodos refractarios miocárdicos (Chorro *et al.*, 2000). Así, el hecho de que la FD de la FV se mantuviera en valores similares después de la OAC en el grupo entrenado, implica indirectamente que la refractariedad no se deprimió, como ha sido reportado por varios autores (Sutton *et al.*, 2000), mostrando que durante los primeros tres minutos de isquemia global, el período refractario efectivo alargado en respuesta tanto a una baja como alta fuerza de estimulación en pacientes con enfermedad coronaria. Por

tanto a la vista de estos resultados podríamos hablar de un efecto beneficioso adicional del ejercicio físico crónico.

El mantenimiento de la FD podría relacionarse, al menos en parte, con el efecto del ejercicio físico crónico sobre el estado metabólico del miocardio, que como mencionamos anteriormente se deteriora de forma paralela a la FD durante la progresión del daño isquémico. De hecho, es clásicamente conocido que corazones de animales entrenados exhibieron mayor reserva de glucógeno en reposo (para revisión ver Powers *et al.* 2008), y glicolisis anaeróbica, que comienza y se intensifica en la isquemia miocárdica, y ello contribuye como medio eficaz para mantener los niveles de ATP en las primeras fases de este proceso (Carmeliet 1999)

Además las posibilidades de cardioprotección propuestas incluyen un aumento de las proteínas de

estrés del retículo endoplásmico, incremento de la actividad de la 2-ciclooxigenasa, aumento de los niveles de HSP72 del miocardio, el aumento de canales mitoK_{ATP}, niveles elevados de canales sarcoK_{ATP}, y/o mejoras en las reservas antioxidantes cardíaca, si bien los dos últimos han sido considerados como posibles mecanismos protectores (para revisión ver Jew & Moore, 2002).

4.12. Respecto al CV de la FV, como parámetro de heterogeneidad, previamente a la OAC.

Hemos descrito previamente que el parámetro usado por nosotros para investigar los efectos del ejercicio físico crónico sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular ha sido la determinación, en cada experimento, del CV de la FV. En los animales del grupo control dicho coeficiente fue mayor que en los entrenados, lo cual indica que el entrenamiento

ha ejercido efectos sobre alguno de los factores que influyen sobre la mayor o menor heterogeneidad. Desconocemos los mecanismos básicos por los que el entrenamiento ha modificado esta propiedad, aunque cabe implicar a alguno de los investigados por otros autores y que más adelante comentamos. En cualquier caso interpretamos este efecto como beneficioso desde el punto de vista de la facilidad o dificultad para la instauración, mantenimiento y cese de las arritmias reentrantes. Efectivamente es clásicamente conocida la importancia de la heterogeneidad y del periodo refractario en la inducción de la fibrilación cardíaca (Han & Moe 1964).

Por tanto ofrecemos un dato que, a la luz de los conocimientos actuales sobre los mecanismos básicos por los que el ejercicio físico crónico ejerce un efecto

protector frente a la muerte súbita, es especialmente interesante a nuestro entender.

4.13. Respecto al CV de la FV como parámetro de heterogeneidad, tras la OAC.

La heterogeneidad miocárdica, tal y como vimos en el correspondiente apartado, aumentó tras la OAC en el grupo control. Sin embargo en los animales entrenados el miocardio ventricular se mantuvo en niveles de heterogeneidad similares al del ventrículo normalmente perfundido. Estas observaciones refuerzan las ya comentadas respecto al análisis de dicha propiedad previamente a la OAC. Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores que usaron una especie animal diferente (el perro) y una metodología también diferente para investigar la heterogeneidad electrofisiológica (Hajnal *et al.*, 2005). En lo que respecta

a estos resultados, es clásicamente conocida, (Han & Moe 1964) la importancia de la heterogeneidad y del periodo refractario, así como la dispersión de éste en la inducción de la fibrilación cardiaca. Por tanto, estos resultados son interpretados por nosotros como un efecto claramente beneficioso, ya que dificultarían la instauración, el mantenimiento y el cese de la FV en un corazón isquémico; al menos en la fase más aguda, que es el periodo más crítico.

Pensamos por tanto que con la obtención de los resultados expuestos en relación a la heterogeneidad electrofisiológica y asimismo también a los parámetros anteriormente investigados, tanto en situación de normal perfusión, como en situación de isquemia regional aguda, contribuimos a esclarecer las razones por las que el entrenamiento físico podría estar protegiendo directamente frente a la muerte súbita, haciendo al

miocardio menos sensible a la instauración de la FV tanto en el miocardio isquémico como en el no isquémico.

Otros autores han investigado alguno de los mecanismos básicos que podrían explicar la disminución de la heterogeneidad electrofisiológica, y que a continuación exponemos. Hajnal *et al.*, (2005) utilizaron un electrodo compuesto para observar cambios en la dispersión de la activación eléctrica en el miocardio isquémico en perros entrenados, encontraron que la inhomogeneidad en la conducción durante la isquemia, era menor en perros entrenados que en controles. Este “efecto protector del entrenamiento” fue abolido cuando se inhibió la óxido nítrico sintetasa, implicando así al óxido nítrico con el descenso de la heterogeneidad miocárdica.

Otro aspecto, que entramos a comentar algo más detalladamente, por cuanto nos hallamos investigándolo en la actualidad, podría estar relacionado con la corriente

de potasio $I_{K_{ATP}}$ que se activa durante situaciones como la isquemia y se acompaña de una marcada dispersión de la repolarización y de la refractariedad (Billman, 2008). Si bien es cierto que la activación del canal que vehicular la corriente citada es importante para la prolongación de la vida celular y preservación funcional, no lo es menos que la activación de este canal produce una marcada dispersión de la repolarización y del periodo refractario (Di Diego & Antzelevitch, 1993). Nosotros nos encontramos en situación de poder dar en breve una respuesta a este respecto, ya que hemos comenzado una serie de experimentos encaminados a dilucidar el papel del canal K_{ATP} de membrana celular en la heterogeneidad electrofisiológica y su implicación en el ejercicio físico. Existen trabajos de investigación en los que se ha observado que la inhibición farmacológica de los canales K_{ATP} de membrana celular empeora los efectos beneficiosos del ejercicio físico producidos por la isquemia

y posterior reperfusión (Brown *et al.*, 2005). Asimismo y en relación con el ejercicio físico, autores han publicado que el entrenamiento retrasa la expresión de los canales que vehiculan la corriente I_{KATP} en la hipoxia y disminuye la densidad de dicha corriente (Jew & Moore, 2002) sugiriendo por tanto un mecanismo básico para explicar la disminución de la heterogeneidad electrofisiológica en el miocardio isquémico, debida a la realización regular de ejercicio físico.

4.15. Respecto a la facilidad para inducir la FV y a la energía mínima necesaria para interrumpir el proceso fibrilatorio en el miocardio isquémico.

Hemos visto previamente que la dificultad para inducir FV ha sido mayor en los animales entrenados, considerando como dificultad la necesidad de recurrir a

más de un intento de estimulación ventricular a frecuencias crecientes para la inducción fibrilatoria. Este resultado parece hallarse ligado a los resultados obtenidos tanto sobre la refractariedad, como (y muy especialmente) sobre la heterogeneidad. Las consideraciones se pueden equiparar a las realizadas al interpretar los efectos sobre la heterogeneidad, antes comentados. A continuación comentaremos los resultados acerca de la energía mínima necesaria para interrumpir el proceso fibrilatorio, que en cierto modo se relacionan también con la facilidad para inducir FV.

Hemos necesitado una menor cantidad de energía para revertir el proceso fibrilatorio en los animales entrenados, tras la OAC. A pesar de la extensa investigación y del hecho que los mecanismos desfibrilatorios continúan siendo debatidos (Chen *et al.*, 1998; Dillon *et al.*, 1998; Efimov *et al.*, 1998; Chattipakorn

et al., 2001) y aunque ha sido publicado que el resultado de la desfibrilación no depende de la dispersión de la repolarización creada por el choque eléctrico (Chattipakorn *et al.*, 2001), otros estudios han propuesto que la desfibrilación exitosa está relacionada con la capacidad de la descarga para prolongar el sincronismo y disminuir la dispersión de la repolarización (Dillon 1992, Knisley *et al.*, 1992). Ha sido publicado recientemente, el papel de la heterogeneidad ventricular transmural en la vulnerabilidad cardíaca a las descargas eléctricas (Maharaj *et al.*, 2008). Por lo tanto nuestros resultados en la determinación de la energía necesaria para desfibrilar podría estar relacionados, en parte, con los efectos beneficiosos del ejercicio físico crónico sobre la heterogeneidad miocárdica los cuales han sido mostrados en el presente estudio.

4.3.- CONSIDERACIONES FINALES RESPECTO A LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

En conclusión, la realización de ejercicio físico crónico parece actuar sobre la refractariedad miocárdica ventricular intrínseca en el miocardio normalmente perfundido y asimismo parece modificar en la misma dirección la LO del proceso de activación eléctrica ventricular intrínseca en el miocardio sometido a isquemia aguda. Además el ejercicio físico parece operar sobre la heterogeneidad miocárdica en el miocardio ventricular normóxico, y mantener en mejores condiciones las características morfofuncionales y disminuir la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio sometido a isquemia regional aguda

Consideramos que el presente trabajo de investigación tiene especial interés desde el punto de

vista básico de la fisiología y fisiopatología, y en especial con la problemática ligada a la aparición de diversos tipos de arritmias cardiacas que se hallan implicadas en la mortalidad de origen cardiaco (Paffenbarger & Hale, 1975, Ekelund *et al.*, 1988; Blair *et al.*, 1996), como es la FV, causa principal de muerte súbita de origen cardiaco (Billman *et al.*, 2002) y su posible abordaje preventivo no farmacológico, a través de la realización de ejercicio físico aeróbico de resistencia..

4.4.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

No debemos finalizar esta discusión sin plantear algunas de las limitaciones metodológicas que nos hemos encontrado durante la realización del presente estudio.

Nuestro protocolo de entrenamiento, como se ha mostrado en los apartados correspondientes, ha producido una serie de adaptaciones características del entrenamiento de resistencia aeróbica. Sin embargo, se podría caracterizar con mayor precisión si la intensidad del mismo se refiriese en términos de VO_{2max} . No obstante, en la literatura actual existen pocos o ningún estudio que cuantifique mejor algún método de entrenamiento en este modelo animal, lo que deja una vía abierta para futuras investigaciones. Con este objetivo nuestro grupo investigador actualmente está en proceso de caracterizar el método de entrenamiento en términos de VO_{2max} .

Como ya hemos mencionado, el entrenamiento de resistencia aeróbica es sugerido como una maniobra antiarrítmica no farmacológica (Billman, 2002); y por consiguiente, evaluar el impacto de diferentes protocolos

de entrenamiento sobre las modificaciones de algunas características del corazón (estructurales, bioquímicas y electrofisiológicas), podría ofrecer una valiosa información sobre el proceso de adaptación al ejercicio físico y los mecanismos por los cuales puede ejercer su efecto protector frente a la aparición de arritmias letales; o conocer las razones por las cuales podría proporcionar un sustrato determinante para la aparición de las mismas (Benito *et al.*, 2011). Por lo tanto, con una mejor tipificación de los protocolos de entrenamiento se podría establecer los tipos de ejercicios físicos beneficiosos para la salud y a partir de qué momento estos podrían dejar de serlo.

En cuanto al material de registro utilizado, a pesar que consideramos que es mucho más adecuado que el empleado con estudios anteriores, debemos señalar que la adaptación entre el corazón y la concavidad del electrodo múltiple de registro, en algunos

corazones concretos no fue lo más deseable (se excluye un número importante de electrodos unipolares). Por ello, sería interesante desarrollar, en un futuro, un sistema de electrodos de registro más flexible y adaptable por completo a la anatomía de cada corazón, como por ejemplo una red (o camisa) de electrodos, aunque consideramos que su desarrollo sería técnicamente complejo. En estos momentos nuestro grupo de trabajo, en colaboración con el departamento de Electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia, está desarrollando un sistema de electrodos con la idea de, paulatinamente, minimizar esta limitación.

Asimismo, el estudio de la refractariedad podría mejorarse con la utilización de un electrodo formado por varios electrodos de estimulación y registro para poder así analizar la refractariedad de varias zonas diferentes, ya que con el método actual sólo puede obtenerse el valor de

la refractariedad de la zona en la que se realiza la estimulación eléctrica.

La placa multielectrodo usada se aplica sobre la superficie epicárdica del ventrículo izquierdo y por tanto los registros obtenidos proceden de la actividad eléctrica del miocardio subepicárdico, no dando por tanto una información tridimensional, sino meramente superficial. No obstante y dado que no hemos pretendido realizar mapas de activación en este trabajo de investigación, sino determinar la frecuencia de activación del miocárdico ventricular durante la fibrilación, no nos parece un inconveniente que pudiera repercutir de una manera importante. Cuando analizamos la frecuencia dominante en cada caso, en los diferentes puntos que permite la placa multielectrodo, no encontramos grandes diferencias en el valor de este parámetro.

Finalmente, respecto al sistema de perfusión de Langerdoff utilizado en el presente estudio experimental se debe comentar que, aunque es un buen modelo para reproducir con suficientes garantías las condiciones del corazón *in vivo* para su perfecto funcionamiento y estudio (como así lo evidencia toda la literatura existente), se podrían conseguir unas condiciones más similares a las fisiológicas que reconstruyeran con mayor exactitud las condiciones reales de trabajo del miocardio. Esto se podría conseguir con un sistema de perfusión de Langendorff, forzando al miocardio a realizar trabajo (*working heart*).

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES.

Hemos realizado un estudio acerca de los efectos del ejercicio físico crónico sobre las modificaciones intrínsecas de la refractariedad ventricular, la velocidad de conducción (VC) ventricular, la longitud de onda (LO) del proceso de activación miocárdica ventricular, la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular y las características de la fibrilación ventricular (FV) en el miocardio ventricular del corazón de conejo aislado y normalmente perfundido y tras isquemia regional aguda. Asimismo, hemos investigado la inducibilidad de la FV y la energía mínima necesaria para desfibrilar al corazón con isquemia regional aguda. Las conclusiones más relevantes que parece justificado extraer del estudio han sido:

El ejercicio físico crónico podría: En el miocardio normalmente perfundido: 1) Aumentar la refractariedad; 2) Disminuir la heterogeneidad electrofisiológica miocárdica ventricular; y 3) La vulnerabilidad a la FV.

En el miocardio sometido a isquemia regional aguda, el ejercicio físico crónico podría: 4) Proteger frente al deterioro morfofuncional debido a la isquemia (manteniendo los parámetros relacionados con la refractariedad miocárdica); 5) Disminuir la heterogeneidad electrofisiológica miocárdica ventricular; 6) Aumentar la LO del proceso de activación; y por lo tanto 7) crear mejores condiciones electrofisiológicas que facilitarían la reversión mediante choques eléctricos, del proceso fibrilatorio.

Todas las anteriores conclusiones podrían resumirse en una conclusión más global y es que 8) La realización de ejercicio físico crónico podría producir modificaciones electrofisiológicas de carácter protector, tanto en el miocardio ventricular normal, como en el sometido a isquemia regional aguda.

Adicionalmente, 9) Se contribuye a asentar que el ejercicio físico regular ejerce un efecto depresor sobre el cronotropismo sinusal intrínseco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Aguinaga, L., Mont, L., Anguera, I., Valentino, M., Matas, M., & Brugada, J. (1998). Patients with structural heart disease, syncope of unknown etiology and inducible ventricular arrhythmias treated with implantable defibrillators. [Pacientes con cardiopatía estructural, síncope de etiología desconocida y arritmias ventriculares inducibles tratados con desfibrilador implantable] *Revista Española de Cardiología*, 51(7), 566-571.
- Allessie, M. A., Bonke, F. I., & Schopman, F. J. (1973). Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. *Circulation Research*, 33(1), 54-62.
- Allessie, M. A., Bonke, F. I., & Schopman, F. J. (1976). Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. II. The role of nonuniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block, as studied with multiple microelectrodes. *Circulation Research*, 39(2), 168-177.
- Allessie, M. A., Bonke, F. I., & Schopman, F. J. (1977). Circus movement in rabbit atrial muscle as a

mechanism of tachycardia. III. The "leading circle" concept: A new model of circus movement in cardiac tissue without the involvement of an anatomical obstacle. *Circulation Research*, 41(1), 9-18.

Allessie, M. A., Konings, K., Kirchhof, C. J., & Wijffels, M. (1996). Electrophysiologic mechanisms of perpetuation of atrial fibrillation. *The American Journal of Cardiology*, 77(3), 10A-23A.

Allessie, M. A., Rensma, P. L., Lammers, W. J. E. P., & Bonke, F. I. M. (1985). A new index to quantify the vulnerability of the atria to fibrillation. *New Trends in Arrhythmias*, 1(3), 209-212.

Anderson, P. A., Rerych, S. K., Moore, T. E., & Jones, R. H. (1981). Accuracy of left ventricular end-diastolic dimension determinations obtained by radionuclide angiocardiology. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 22(6), 500-505.

Anholm, J. D., Foster, C., Carpenter, J., Pollock, M. L., Hellman, C. K., & Schmidt, D. H. (1982). Effect of habitual exercise on left ventricular response to exercise. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 52(6), 1648-1651.

- Armour, J. A., Murphy, D. A., Yuan, B. X., Macdonald, S., & Hopkins, D. A. (1997). Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system. *The Anatomical Record*, 247(2), 289-298.
- Astrand, P. (2003). *Textbook of work physiology: Physiological bases of exercise* (4th ed.). Champaign IL: Human Kinetics.
- Babai, L., Papp, J. G., Parratt, J. R., & Vegh, A. (2002). The antiarrhythmic effects of ischaemic preconditioning in anaesthetized dogs are prevented by atropine; role of changes in baroreceptor reflex sensitivity. *British Journal of Pharmacology*, 135(1), 55-64.
- Babai, L., Szigeti, Z., Parratt, J. R., & Vegh, A. (2002). Delayed cardioprotective effects of exercise in dogs are aminoguanidine sensitive: Possible involvement of nitric oxide. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 102(4), 435-445.
- Bakth, S., Arena, J., Lee, W., Torres, R., Haider, B., Patel, B. C., et al. (1986). Arrhythmia susceptibility and myocardial composition in diabetes. Influence of physical conditioning. *The Journal of Clinical Investigation*, 77(2), 382-395.

- Barnard, R. J., Edgerton, V. R., & Peter, J. B. (1970). Effect of exercise on skeletal muscle. I. Biochemical and histochemical properties. *Journal of Applied Physiology*, 28(6), 762-766.
- Bar-Shlomo, B. Z., Druck, M. N., Morch, J. E., Jablonsky, G., Hilton, J. D., Feiglin, D. H., et al. (1982). Left ventricular function in trained and untrained healthy subjects. *Circulation*, 65(3), 484-488.
- Bartels, R., Menges, M., & Thimme, W. (1997). Effect of physical activity on incidence of sudden cardiac death. Study of the berlin-reinickendorf and berlin-spandau population. [Der Einfluss von körperlicher Aktivität auf die Inzidenz des plötzlichen Herztodes. Untersuchung in der Bevölkerung von Berlin-Reinickendorf und Berlin-Spandau] *Medizinische Klinik (Munich, Germany: 1983)*, 92(6), 319-325.
- Bedford, T. G., & Tipton, C. M. (1987). Exercise training and the arterial baroreflex. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 63(5), 1926-1932.
- Benito, B., Gay-Jordi, G., Serrano-Mollar, A., Guasch, E., Shi, Y., Tardif, J. C., et al. (2011). Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training. *Circulation*, 123(1), 13-22.

- Berlin, J. A., & Colditz, G. A. (1990). A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *American Journal of Epidemiology*, 132(4), 612-628.
- Billman, G. E. (2002). Aerobic exercise conditioning: A nonpharmacological antiarrhythmic intervention. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 92(2), 446-454.
- Billman, G. E. (2008). The cardiac sarcolemmal ATP-sensitive potassium channel as a novel target for antiarrhythmic therapy. *Pharmacology and Therapeutics* 120, 54–70
- Billman, G. E. (2009). Cardiac autonomic neural remodeling and susceptibility to sudden cardiac death: Effect of endurance exercise training. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 297(4), H1171-93.
- Billman, G. E., & Kukielka, M. (2006). Effects of endurance exercise training on heart rate variability and susceptibility to sudden cardiac death: Protection is not due to enhanced cardiac vagal regulation. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 100(3), 896-906.

- Billman, G. E., & Kukielka, M. (2007). Effect of endurance exercise training on heart rate onset and heart rate recovery responses to submaximal exercise in animals susceptible to ventricular fibrillation. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 102(1), 231-240.
- Billman, G. E., Schwartz, P. J., & Stone, H. L. (1984). The effects of daily exercise on susceptibility to sudden cardiac death. *Circulation*, 69(6), 1182-1189.
- Bjornstad, H., Smith, G., Storstein, L., Meen, H. D., & Hals, O. (1993). Electrocardiographic and echocardiographic findings in top athletes, athletic students and sedentary controls. *Cardiology*, 82(1), 66-74.
- Bjornstad, H., Storstein, L., Dyre Meen, H., & Hals, O. (1993). Electrocardiographic findings of heart rate and conduction times in athletic students and sedentary control subjects. *Cardiology*, 83(4), 258-267.
- Bjornstad, H., Storstein, L., Meen, H. D., & Hals, O. (1993). Electrocardiographic findings of left, right and septal hypertrophy in athletic students and sedentary controls. *Cardiology*, 82(1), 56-65.
- Bjornstad, H., Storstein, L., Meen, H. D., & Hals, O. (1994). Ambulatory electrocardiographic findings in

- top athletes, athletic students and control subjects. *Cardiology*, 84(1), 42-50.
- Blair, S. N. (1996). The future of sports medicine. *British Journal of Sports Medicine*, 30(1), 2-3.
- Blair, S. N., Kohl, H. W., 3rd, Barlow, C. E., Paffenbarger, R. S., Jr, Gibbons, L. W., & Macera, C. A. (1995). Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 273(14), 1093-1098.
- Blomqvist, C. G., & Saltin, B. (1983). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annual Review of Physiology*, 45, 169-189.
- Blumenthal, J. A., Fredrikson, M., Kuhn, C. M., Ulmer, R. L., Walsh-Riddle, M., & Appelbaum, M. (1990). Aerobic exercise reduces levels of cardiovascular and sympathoadrenal responses to mental stress in subjects without prior evidence of myocardial ischemia. *The American Journal of Cardiology*, 65(1), 93-98.
- Böhm, M., Werner, C., Jakobsen, A., Heroys, J., Ralph, A., Rees, T., et al. (2008). Treating to protect: Current cardiovascular treatment approaches and remaining needs. *Medscape Journal of Medicine*, 10 Suppl, S3.

Boraita Pérez, A., & Serratosa Fernández, L. (1998). "The athlete's heart": Most common electrocardiographic findings. ["El corazón del deportista": hallazgos electrocardiográficos más frecuentes] *Revista Española de Cardiología*, 51(5), 356-368.

Boraita Pérez, A., & Serratosa Fernández, L. (1999). Sudden death (IV). Sudden death in the athlete. The minimal requirements before performing a competitive sport. [Muerte súbita (IV). Muerte súbita en el deportista. Requerimientos mínimos antes de realizar deporte de competición] *Revista Española de Cardiología*, 52(12), 1139-1145.

Bouchard, C., Tremblay, A., Nadeau, A., Dussault, J., Despres, J. P., Theriault, G., et al. (1990). Long-term exercise training with constant energy intake. 1. Effect on body composition and selected metabolic variables. *International Journal of Obesity*, 14(1), 57-73.

Bowers, R. W., & Fox, E. L. (1995). *Fisiología del deporte* (3ª ed.). Buenos Aires etc.: Editorial Médica Panamericana.

Bramwell, C., & Ellis, R. (1929). Clinical observations in olympic athletes. *European Journal of Applied*

Physiology and Occupational Physiology (Arbeitsphysiologie), 2, 51-60.

- Brandt, M. A., & Gwartz, P. A. (2001). Exercise training reduces ischemic myocardial dysfunction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(4), 556-563.
- Brorson, L., Conradson, T. B., Olsson, B., & Varnauskas, E. (1976). Right atrial monophasic action potential and effective refractory periods in relation to physical training and maximal heart rate. *Cardiovascular Research*, 10(2), 160-168.
- Brown, C. G., Dzwonczyk, R., & Martin, D. R. (1993). Physiologic measurement of the ventricular fibrillation ECG signal: Estimating the duration of ventricular fibrillation. *Annals of Emergency Medicine*, 22(1), 70-74.
- Brown, C. G., Griffith, R. F., Van Ligten, P., Hoekstra, J., Nejman, G., Mitchell, L., et al. (1991). Median frequency--a new parameter for predicting defibrillation success rate. *Annals of Emergency Medicine*, 20(7), 787-789.
- Brown, D. A., Lynch, J. M., Armstrong, C. J., Caruso, N. M., Ehlers, L. B., Johnson, M. S., et al. (2005). Susceptibility of the heart to ischaemia-reperfusion injury and exercise-induced cardioprotection are sex-

dependent in the rat. *The Journal of Physiology*, 564(Pt 2), 619-630.

Brugada, J., Boersma, L., Kirchhof, C., Brugada, P., Havenith, M., Wellens, H. J., et al. (1990). Double-wave reentry as a mechanism of acceleration of ventricular tachycardia. *Circulation*, 81(5), 1633-1643.

Brundin, T., Edhag, O., & Lundman, T. (1976). Effects remaining after withdrawal of long-term beta-receptor blockade. Reduced heart rate and altered haemodynamic response to acute propranolol administration. *British Heart Journal*, 38(10), 1065-1072.

Burton, F. L., & Cobbe, S. M. (1998). Effect of sustained stretch on dispersion of ventricular fibrillation intervals in normal rabbit hearts. *Cardiovascular Research*, 39(2), 351-359.

Cabo, C., Pertsov, A. M., Baxter, W. T., Davidenko, J. M., Gray, R. A., & Jalife, J. (1994). Wave-front curvature as a cause of slow conduction and block in isolated cardiac muscle. *Circulation Research*, 75(6), 1014-1028.

Caldwell, J., Burton, F. L., Smith, G. L., & Cobbe, S. M. (2007). Heterogeneity of ventricular fibrillation dominant frequency during global ischemia in isolated

rabbit hearts. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 18(8), 854-861.

Cánoves, J. (2001). Estudio experimental de la relación existente entre la longitud de onda del proceso de activación miocárdico y las características espectrales de la fibrilación ventricular. Universitat de València (estudi general). , 20-21.

Capucci, A., Coronel, R., Fabius, M., & Janse, M. J. (1985). Electrophysiologic mechanisms of ventricular arrhythmias in acute ischemia: Further observations. *New Trends in Arrhythmias*, 1(1), 41-56.

Carlisle, E. J., Allen, J. D., Kernohan, W. G., Anderson, J., & Adgey, A. A. (1990). Fourier analysis of ventricular fibrillation of varied aetiology. *European Heart Journal*, 11(2), 173-181.

Carlisle, E. J., Allen, J. D., Kernohan, W. G., Leahey, W., & Adgey, A. A. (1990). Pharmacological analysis of established ventricular fibrillation. *British Journal of Pharmacology*, 100(3), 530-534.

Carmeliet, E. (1999). Cardiac ionic currents and acute ischemia: From channels to arrhythmias. *Physiological Reviews*, 79(3), 917-1017.

- Cascio, W. E. (2001). Myocardial ischemia: What factors determine arrhythmogenesis? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 12(6), 726-729.
- Cha, Y. M., Birgersdotter-Green, U., Wolf, P. L., Peters, B. B., & Chen, P. S. (1994). The mechanism of termination of reentrant activity in ventricular fibrillation. *Circulation Research*, 74(3), 495-506.
- Chang, F., Gao, J., Tromba, C., Cohen, I., & DiFrancesco, D. (1990). Acetylcholine reverses effects of beta-agonists on pacemaker current in canine cardiac purkinje fibers but has no direct action. A difference between primary and secondary pacemakers. *Circulation Research*, 66(3), 633-636.
- Chattipakorn, N., Banville, I., Gray, R. A., & Ideker, R. E. (2001). Mechanism of ventricular defibrillation for near-defibrillation threshold shocks: A whole-heart optical mapping study in swine. *Circulation*, 104(11), 1313-1319.
- Chen, P. S., Swerdlow, C. D., Hwang, C., & Karagueuzian, H. S. (1998). Current concepts of ventricular defibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 9(5), 553-562.
- Chorro, F. J., Cánoves, J., Guerrero, J., Mainar, L., Sanchís, J., Such, L., et al. (2000). Alteration of

- ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol: An experimental study. *Circulation*, 101(13), 1606-1615.
- Chorro, F. J., Guerrero, J., Cánoves, J., Martínez-Sober, M., Mainar, L., Sanchís, J., et al. (1998). Quantification of the modifications in the dominant frequency of ventricular fibrillation under conditions of ischemia and reperfusion: An experimental study. *Pacing and Clinical Electrophysiology: PACE*, 21(9), 1716-1723.
- Chorro, F. J., Ruiz-Granell, R., Casadán, E., García-Civera, R., Such, L., & López-Merino, V. (1988). Mathematical descriptions of AV nodal function curves in dogs. *Pacing and Clinical Electrophysiology: PACE*, 11(6 Pt 1), 679-686.
- Chorro, F. J., Sánchez-Muñoz, J. J., Sanchís, J., Cortina, J., Bataller, M., Guerrero, J., et al. (1996). Modifications in the evolution of the dominant frequency in ventricular fibrillation induced by amiodarone, diltiazem, and flecainide. An experimental study. *Journal of Electrocardiology*, 29(4), 319-326.
- Chorro, F. J., Such-Belenguer, L., & López-Merino, V. (2009). Animal models of cardiovascular disease.

[Modelos animales de enfermedad cardiovascular]
Revista Española de Cardiología, 62(1), 69-84.

Chorro, F. J., Trapero, I., Guerrero, J., Such, L. M., Cánoves, J., Mainar, L., et al. (2005). Modification of ventricular fibrillation activation patterns induced by local stretching. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 16(10), 1087-1096.

Close, B., Banister, K., Baumans, V., Bernoth, E. M., Bromage, N., Bunyan, J., et al. (1996). Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Laboratory Animals*, 30(4), 293-316.

Close, B., Banister, K., Baumans, V., Bernoth, E. M., Bromage, N., Bunyan, J., et al. (1997). Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Laboratory Animals*, 31(1), 1-32.

Clusin, W. T., Buchbinder, M., Ellis, A. K., Kernoff, R. S., Giacomini, J. C., & Harrison, D. C. (1984). Reduction of ischemic depolarization by the calcium channel blocker diltiazem. Correlation with improvement of ventricular conduction and early arrhythmias in the dog. *Circulation Research*, 54(1), 10-20.

- Coker, S. J. (1989). Anesthetized rabbit as a model for ischemia- and reperfusion-induced arrhythmias: Effects of quinidine and bretylium. *Journal of Pharmacological Methods*, 21(4), 263-279.
- Collins, H. L., Loka, A. M., & DiCarlo, S. E. (2005). Daily exercise-induced cardioprotection is associated with changes in calcium regulatory proteins in hypertensive rats. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 288(2), H532-40.
- Convertino, V. A. (1983). Heart rate and sweat rate responses associated with exercise-induced hypervolemia. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 15(1), 77-82.
- Coronel, R., Wilms-Schopman, F. J., & deGroot, J. R. (2002). Origin of ischemia-induced phase 1b ventricular arrhythmias in pig hearts. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(1), 166-176.
- Currens, J. H., & White, P. D. (1961). Half a century of running. Clinical, physiologic and autopsy findings in the case of Clarence DeMar ("Mr. marathon"). *The New England Journal of Medicine*, 265, 988-993.
- Davidenko, J. M., Pertsov, A. V., Salomonsz, R., Baxter, W., & Jalife, J. (1992). Stationary and drifting spiral

- waves of excitation in isolated cardiac muscle. *Nature*, 355(6358), 349-351.
- De Schryver, C., & Mertens-Strythagen, J. (1975). Heart tissue acetylcholine in chronically exercised rats. *Experientia*, 31(3), 316-318.
- Demirel, H. A., Powers, S. K., Zergeroglu, M. A., Shanely, R. A., Hamilton, K., Coombes, J., et al. (2001). Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 91(5), 2205-2212.
- Di Diego, J. M., & Antzelevitch, C. (1993). Pinacidil-induced electrical heterogeneity and extrasystolic activity in canine ventricular tissues. Does activation of ATP-regulated potassium current promote phase 2 reentry? *Circulation*, 88(3), 1177-1189.
- DiCarlo, S. E., & Bishop, V. S. (1990). Exercise training enhances cardiac afferent inhibition of baroreflex function. *The American Journal of Physiology*, 258(1 Pt 2), H212-20.
- DiFrancesco, D. (1991). The contribution of the 'pacemaker' current (if) to generation of spontaneous activity in rabbit sino-atrial node myocytes. *The Journal of Physiology*, 434, 23-40.

- Difrancesco, D. (1991). Generation and control of cardiac pacing the pacemaker current. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 1(6), 250-255.
- DiFrancesco, D., & Tromba, C. (1987). Acetylcholine inhibits activation of the cardiac hyperpolarizing-activated current, *if*. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 410(1-2), 139-142.
- Dillon, S. M. (1992). Synchronized repolarization after defibrillation shocks. A possible component of the defibrillation process demonstrated by optical recordings in rabbit heart. *Circulation*, 85(5), 1865-1878.
- Dillon, S. M., Allesie, M. A., Ursell, P. C., & Wit, A. L. (1988). Influences of anisotropic tissue structure on reentrant circuits in the epicardial border zone of subacute canine infarcts. *Circulation Research*, 63(1), 182-206.
- Dorian, P., & Newman, D. (1997). Tedisamil increases coherence during ventricular fibrillation and decreases defibrillation energy requirements. *Cardiovascular Research*, 33(2), 485-494.
- Duytschaever, M., Mast, F., Killian, M., Blaauw, Y., Wijffels, M., & Allesie, M. (2001). Methods for determining the refractory period and excitable gap

during persistent atrial fibrillation in the goat. *Circulation*, 104(8), 957-962.

Efimov, I. R., Cheng, Y., Van Wagoner, D. R., Mazgalev, T., & Tchou, P. J. (1998). Virtual electrode-induced phase singularity: A basic mechanism of defibrillation failure. *Circulation Research*, 82(8), 918-925.

Efimov, I. R., Sidorov, V., Cheng, Y., & Wollenzier, B. (1999). Evidence of three-dimensional scroll waves with ribbon-shaped filament as a mechanism of ventricular tachycardia in the isolated rabbit heart. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 10(11), 1452-1462.

Eggenreich, U., Fleischmann, P. H., Stark, G., & Wach, P. (1996). Effects of propafenone on the median frequency of ventricular fibrillation in Langendorff perfused guinea-pig hearts. *Cardiovascular Research*, 31(6), 926-931.

Ekelund, L. G., Haskell, W. L., Johnson, J. L., Whaley, F. S., Criqui, M. H., & Sheps, D. S. (1988). Physical fitness as a predictor of cardiovascular mortality in asymptomatic north american men. The lipid research clinics mortality follow-up study. *The New England Journal of Medicine*, 319(21), 1379-1384.

- Elharrar, V., Foster, P. R., Jirak, T. L., Gaum, W. E., & Zipes, D. P. (1977). Alterations in canine myocardial excitability during ischemia. *Circulation Research*, 40(1), 98-105.
- Eliakim, A., Brasel, J. A., Mohan, S., Wong, W. L., & Cooper, D. M. (1998). Increased physical activity and the growth hormone-IGF-I axis in adolescent males. *The American Journal of Physiology*, 275(1 Pt 2), R308-14.
- Erlanger, J. (1912). Sinus stimulation as a factor in the resuscitation of the heart. *The Journal of Experimental Medicine*, 16(4), 452-469.
- Farges, J. P., Ollagnier, M., & Faucon, G. (1977). Influence of acetylcholine, isoproterenol, quinidine and ouabain on effective refractory periods of atrial and ventricular myocardium in the dog. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 227(2), 206-219.
- Fernández Castelo, S., & West, J. B. (1999). *Best y Taylor, bases fisiológicas de la práctica médica* (12^a, 5^a reimpr ed.). Buenos Aires etc.: Editorial Médica Panamericana.
- Fletcher, G. F., Balady, G., Blair, S. N., Blumenthal, J., Caspersen, C., Chaitman, B., et al. (1996). Statement

on exercise: Benefits and recommendations for physical activity programs for all americans. A statement for health professionals by the committee on exercise and cardiac rehabilitation of the council on clinical cardiology, American Heart Association. *Circulation*, 94(4), 857-862.

Fletcher, G. F., Balady, G. J., Amsterdam, E. A., Chaitman, B., Eckel, R., Fleg, J., et al. (2001). Exercise standards for testing and training: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, 104(14), 1694-1740.

Frick, M. H., Konttinen, A., & Sarajas, H. S. (1963). Effects of physical training on circulation at rest and during exercise. *The American Journal of Cardiology*, 12, 142-147.

Furlan, R., Pagani, M., & Malliani, A. (1993). Effects of exercise and training on control of heart rate. *Cardiovascular Research*, 27(12), 2286-2287.

Furlan, R., Piazza, S., Dell'Orto, S., Gentile, E., Cerutti, S., Pagani, M., et al. (1993). Early and late effects of exercise and athletic training on neural mechanisms controlling heart rate. *Cardiovascular Research*, 27(3), 482-488.

- Ganong, W. F., & Castellanos Urdaibay, M. A. (2006). *Fisiología médica* (20^a ed.). México: El Manual Moderno.
- García Civera, R., Ruiz Granell, R., & Morell, S. (2007). Arritmias: Concepto, mecanismos y aspectos generales. In F. J. Chorro, R. García Civera & V. López Merino (Eds.), *Cardiología clínica* (pp. 463-490). Valencia, España: PUV Publicacions.
- Garrey, W. E. (1914). The nature of fibrillary contraction of the heart. Its relation to tissue mass and form. *American Journal of Physiology -- Legacy Content*, 33(3), 397-414.
- Gazmuri, R. J., Ayoub, I. M., Hoffner, E., & Kolarova, J. D. (2001). Successful ventricular defibrillation by the selective sodium-hydrogen exchanger isoform-1 inhibitor cariporide. *Circulation*, 104(2), 234-239.
- González Gallego, J. (1992). *Fisiología de la actividad física y del deporte*. Madrid etc.: Interamericana.
- Gray, R. A. (1999). What exactly are optically recorded "action potentials"? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 10(11), 1463-1466.
- Gray, R. A., & Jalife, J. (1998). Effects of atrial defibrillation shocks on the ventricles in isolated sheep hearts. *Circulation*, 97(16), 1613-1622.

- Gray, R. A., Jalife, J., Panfilov, A. V., Baxter, W. T., Cabo, C., Davidenko, J. M., et al. (1995). Mechanisms of cardiac fibrillation. *Science (New York, N.Y.)*, 270(5239), 1222-3; author reply 1224-5.
- Gray, R. A., Pertsov, A. M., & Jalife, J. (1998). Spatial and temporal organization during cardiac fibrillation. *Nature*, 392(6671), 75-78.
- Griese, M., Perlitz, V., Jungling, E., & Kammermeier, H. (1988). Myocardial performance and free energy of ATP-hydrolysis in isolated rat hearts during graded hypoxia, reoxygenation and high K^+ -perfusion. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 20(12), 1189-1201.
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). *Textbook of medical physiology* (11^a ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). *Tratado de fisiología médica* (11^a ed.). Madrid: Elsevier.
- Gwathmey, J. K., Slawsky, M. T., Perreault, C. L., Briggs, G. M., Morgan, J. P., & Wei, J. Y. (1990). Effect of exercise conditioning on excitation-contraction coupling in aged rats. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 69(4), 1366-1371.
- Hagiwara, N., Irisawa, H., & Kameyama, M. (1988). Contribution of two types of calcium currents to the

- pacemaker potentials of rabbit sino-atrial node cells. *The Journal of Physiology*, 395, 233-253.
- Hajnal, A., Nagy, O., Litvai, A., Papp, J., Parratt, J. R., & Vegh, A. (2005). Nitric oxide involvement in the delayed antiarrhythmic effect of treadmill exercise in dogs. *Life Sciences*, 77(16), 1960-1971.
- Hamer, M., Ingle, L., Carroll, S., & Stamatakis, E. (2011). Physical activity and cardiovascular mortality risk: Possible protective mechanisms? *Medicine and Science in Sports and Exercise*,
- Hamer, M., & Stamatakis, E. (2008). Physical activity and cardiovascular disease: Directions for future research. *The Open Sports Sciences Journal*, 1, 1 - 2.
- Hamra, M., & McNeil, R. S. (1997). Accentuated antagonism in canine subendocardium is not altered by chronic exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29(8), 1013-1020.
- Han, J., & Moe, G. K. (1964). Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle. *Circulation Research*, 14, 44-60.
- Harris, M. B., & Starnes, J. W. (2001). Effects of body temperature during exercise training on myocardial adaptations. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 280(5), H2271-80.

- Hartley, L. H., Grimby, G., Kilbom, A., Nilsson, N. J., Astrand, I., Bjure, J., et al. (1969). Physical training in sedentary middle-aged and older men. 3. Cardiac output and gas exchange asubmaximal and maximal exercise. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 24(4), 335-344.
- Hartley, L. H., Mason, J. W., Hogan, R. P., Jones, L. G., Kotchen, T. A., Mougey, E. H., et al. (1972). Multiple hormonal responses to prolonged exercise in relation to physical training. *Journal of Applied Physiology*, 33(5), 607-610.
- Hertzeanu, H. L., Shemesh, J., Aron, L. A., Aron, A. L., Peleg, E., Rosenthal, T., et al. (1993). Ventricular arrhythmias in rehabilitated and nonrehabilitated post-myocardial infarction patients with left ventricular dysfunction. *The American Journal of Cardiology*, 71(1), 24-27.
- Hespel, P., Lijnen, P., Van Hoof, R., Fagard, R., Goossens, W., Lissens, W., et al. (1988). Effects of physical endurance training on the plasma renin-angiotensin-aldosterone system in normal man. *The Journal of Endocrinology*, 116(3), 443-449.
- Hillsley, R. E., Wharton, J. M., Cates, A. W., Wolf, P. D., & Ideker, R. E. (1994). Why do some patients have high

- defibrillation thresholds at defibrillator implantation? Answers from basic research. *Pacing and Clinical Electrophysiology: PACE*, 17(2), 222-239.
- Himmel, H. M., Wettwer, E., Li, Q., & Ravens, U. (1999). Four different components contribute to outward current in rat ventricular myocytes. *The American Journal of Physiology*, 277(1 Pt 2), H107-18.
- Hoffmann, B., & Cranefield, P. (1960). *Electrophysiology of the heart*. New York: McGraw Hill.
- Holloszy, J. O., & Coyle, E. F. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 56(4), 831-838.
- Horacek, T., Neumann, M., von Mutius, S., Budden, M., & Meesmann, W. (1984). Nonhomogeneous electrophysiological changes and the bimodal distribution of early ventricular arrhythmias during acute coronary artery occlusion. *Basic Research in Cardiology*, 79(6), 649-667.
- Hoshida, S., Yamashita, N., Otsu, K., & Hori, M. (2002). The importance of manganese superoxide dismutase in delayed preconditioning: Involvement of reactive

- oxygen species and cytokines. *Cardiovascular Research*, 55(3), 495-505.
- Hoshida, S., Yamashita, N., Otsu, K., & Hori, M. (2002). Repeated physiologic stresses provide persistent cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of the American College of Cardiology*, 40(4), 826-831.
- Houston, M. E., & Thomson, J. A. (1977). The response of endurance-adapted adults to intense anaerobic training. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 36(3), 207-213.
- Hull, S. S., Jr, Vanoli, E., Adamson, P. B., Verrier, R. L., Foreman, R. D., & Schwartz, P. J. (1994). Exercise training confers anticipatory protection from sudden death during acute myocardial ischemia. *Circulation*, 89(2), 548-552.
- Hwang, H., Reiser, P. J., & Billman, G. E. (2005). Effects of exercise training on contractile function in myocardial trabeculae after ischemia-reperfusion. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 99(1), 230-236.
- Ideker, R. E., Bandura, J. P., Cox, J. W., Jr, Keller, F. W., Mirvis, D. M., & Brody, D. A. (1977). Path and significance of heart vector migration during QRS and

- ST-T complexes of ectopic beats in isolated perfused rabbit hearts. *Circulation Research*, 41(4), 558-564.
- Irisawa, H., Brown, H. F., & Giles, W. (1993). Cardiac pacemaking in the sinoatrial node. *Physiological Reviews*, 73(1), 197-227.
- Irisawa, H., Noma, A., & Matsuo, H. (1995). Electrogenesis of the pacemaker potencial as revealed by atrioventricular nodal experiments. In N. Speralakis (Ed.), *Physiology and pathophysiology of the heart* (3rd ed., pp. 137-151). Boston: Kluwer Academic.
- Jacobs, I., Esbjornsson, M., Sylven, C., Holm, I., & Jansson, E. (1987). Sprint training effects on muscle myoglobin, enzymes, fiber types, and blood lactate. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 19(4), 368-374.
- Jalife, J., Delmar, M., Anumonwo, J., & Berenfeld, O., Kalifa J. (2009). *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*. (Second edition). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Jalife, J., Delmar, M., Davidenko, J. M., & Anumonwo, J. (1999). *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*. New York: Futura publishing company.

- Jalife, J. (2000). Ventricular fibrillation: Mechanisms of initiation and maintenance. *Annual Review of Physiology*, 62, 25-50.
- Jalife, J. (2006). Time, space and frequency in ventricular fibrillation. [Tiempo, espacio y frecuencia en la fibrilación ventricular] *Revista Española de Cardiología*, 59(9), 859-861.
- Jalife, J., & Gray, R. (1996). Drifting vortices of electrical waves underlie ventricular fibrillation in the rabbit heart. *Acta Physiologica Scandinavica*, 157(2), 123-131.
- Jalife, J., Gray, R. A., Morley, G. E., & Davidenko, J. M. (1998). Self-organization and the dynamical nature of ventricular fibrillation. *Chaos (Woodbury, N.Y.)*, 8(1), 79-93.
- James, D. E., Kraegen, E. W., & Chisholm, D. J. (1985). Effects of exercise training on in vivo insulin action in individual tissues of the rat. *The Journal of Clinical Investigation*, 76(2), 657-666.
- James, T. N., & Spence, C. A. (1966). Distribution of cholinesterase within the sinus node and AV node of the human heart. *The Anatomical Record*, 155(2), 151-161.

- Janse, M. J., Capucci, A., Coronel, R., & Fabius, M. A. (1985). Variability of recovery of excitability in the normal canine and the ischaemic porcine heart. *European Heart Journal*, 6 Suppl D, 41-52.
- Jew, K. N., & Moore, R. L. (2001). Glibenclamide improves postischemic recovery of myocardial contractile function in trained and sedentary rats. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 91(4), 1545-1554.
- Jew, K. N., & Moore, R. L. (2002). Exercise training alters an anoxia-induced, glibenclamide-sensitive current in rat ventricular cardiocytes. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 92(4), 1473-1479.
- Jew, K. N., Olsson, M. C., Mokolke, E. A., Palmer, B. M., & Moore, R. L. (2001). Endurance training alters outward K⁺ current characteristics in rat cardiocytes. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 90(4), 1327-1333.
- Jinbo, Y., Kobayashi, Y., Miyata, A., Chiyoda, K., Nakagawa, H., Tanno, K., et al. (1998). Decreasing parasympathetic tone activity and proarrhythmic effect after radiofrequency catheter ablation--differences in ablation site. *Japanese Circulation Journal*, 62(10), 733-740.

- Johnson, T. A., Gray, A. L., Lauenstein, J. M., Newton, S. S., & Massari, V. J. (2004). Parasympathetic control of the heart. I. An interventriculo-septal ganglion is the major source of the vagal intracardiac innervation of the ventricles. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 96(6), 2265-2272.
- Jones, D. L., & Klein, G. J. (1984). Ventricular fibrillation: The importance of being coarse? *Journal of Electrocardiology*, 17(4), 393-399.
- Jose, A. D. (1966). Effect of combined sympathetic and parasympathetic blockade on heart rate and cardiac function in man. *The American Journal of Cardiology*, 18(3), 476-478.
- Jose, A. D., & Taylor, R. R. (1969). Autonomic blockade by propranolol and atropine to study intrinsic myocardial function in man. *The Journal of Clinical Investigation*, 48(11), 2019-2031.
- Katona, P. G., McLean, M., Dighton, D. H., & Guz, A. (1982). Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 52(6), 1652-1657.
- Kiessling, K. (1971). Effects of physical training on ultrastructural features in human skeletal muscle. In B.

- Saltin (Ed.), *Muscle metabolism during exercise*. New York.
- Kiilavuori, K., Toivonen, L., Naveri, H., & Leinonen, H. (1995). Reversal of autonomic derangements by physical training in chronic heart failure assessed by heart rate variability. *European Heart Journal*, *16*(4), 490-495.
- Kjaer, M., Farrell, P. A., Christensen, N. J., & Galbo, H. (1986). Increased epinephrine response and inaccurate glucoregulation in exercising athletes. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *61*(5), 1693-1700.
- Kleber, A. G., Janse, M. J., Wilms-Schopmann, F. J., Wilde, A. A., & Coronel, R. (1986). Changes in conduction velocity during acute ischemia in ventricular myocardium of the isolated porcine heart. *Circulation*, *73*(1), 189-198.
- Kleber, A. G., & Rudy, Y. (2004). Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiological Reviews*, *84*(2), 431-488.
- Knisley, S. B., Smith, W. M., & Ideker, R. E. (1992). Effect of field stimulation on cellular repolarization in rabbit myocardium. Implications for reentry induction. *Circulation Research*, *70*(4), 707-715.

- Kokkinos, P. F., Narayan, P., Colleran, J. A., Pittaras, A., Notargiacomo, A., Reda, D., et al. (1995). Effects of regular exercise on blood pressure and left ventricular hypertrophy in african-american men with severe hypertension. *The New England Journal of Medicine*, 333(22), 1462-1467.
- Kwan, Y. Y., Fan, W., Hough, D., Lee, J. J., Fishbein, M. C., Karagueuzian, H. S., et al. (1998). Effects of procainamide on wave-front dynamics during ventricular fibrillation in open-chest dogs. *Circulation*, 97(18), 1828-1836.
- Laughlin, M. H. (1994). Effects of exercise training on coronary circulation: Introduction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26(10), 1226-1229.
- Lee, J. J., Kamjoo, K., Hough, D., Hwang, C., Fan, W., Fishbein, M. C., et al. (1996). Reentrant wave fronts in wiggers' stage II ventricular fibrillation. Characteristics and mechanisms of termination and spontaneous regeneration. *Circulation Research*, 78(4), 660-675.
- Lennon, S. L., Quindry, J., Hamilton, K. L., French, J., Staib, J., Mehta, J. L., et al. (2004). Loss of exercise-induced cardioprotection after cessation of exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 96(4), 1299-1305.

- Lennon, S. L., Quindry, J. C., French, J. P., Kim, S., Mehta, J. L., & Powers, S. K. (2004). Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion. *Acta Physiologica Scandinavica*, 182(2), 161-169.
- Lennon, S. L., Quindry, J. C., Hamilton, K. L., French, J. P., Hughes, J., Mehta, J. L., et al. (2004). Elevated MnSOD is not required for exercise-induced cardioprotection against myocardial stunning. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 287(2), H975-80.
- Levy, M. N., & Zieske, H. (1969). Autonomic control of cardiac pacemaker activity and atrioventricular transmission. *Journal of Applied Physiology*, 27(4), 465-470.
- Lewis, T. (1925). *The mechanics and graphic registration of the heart beat*. London: Shaw and Sons.
- Lewis, S. F., Nylander, E., Gad, P., & Areskog, N. H. (1980). Non-autonomic component in bradycardia of endurance trained men at rest and during exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, 109(3), 297-305.
- López Chicharro, J., & Fernández Vaquero, A. (2001). *Fisiología del ejercicio* (2ª, 1ª reimpr ed.). Madrid etc.: Editorial Médica Panamericana.

- López, L., Benítez, J., Trapero, I., Chorro, F., Such, L., Gómez, M. C., et al. (2005). Effects of physical training on the intrinsic atrial refractoriness. *J Physiol Biochem*, 61(1), 295.
- López, L., Such, L., Trapero, I., Benítez, J., Alberola, A., Such, L., et al. (2005). Physical training produces intrinsic modifications on the electrophysiological properties of ventricular myocardium. An experimental study. *J Physiol Biochem*, 61(1), 102.
- Lujan, H. L., Britton, S. L., Koch, L. G., & DiCarlo, S. E. (2006). Reduced susceptibility to ventricular tachyarrhythmias in rats selectively bred for high aerobic capacity. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 291(6), H2933-41.
- Luqman, N., Sung, R. J., Wang, C. L., & Kuo, C. T. (2007). Myocardial ischemia and ventricular fibrillation: Pathophysiology and clinical implications. *International Journal of Cardiology*, 119(3), 283-290.
- Mace, L. C., Palmer, B. M., Brown, D. A., Jew, K. N., Lynch, J. M., Glunt, J. M., et al. (2003). Influence of age and run training on cardiac Na⁺/Ca²⁺ exchange. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 95(5), 1994-2003.

- Madrid, A. H., Cinca, J., & Moro, C. (1998). National registry of automatic implantable defibrillators in 1996. [Registro nacional de desfibriladores automáticos implantables en 1996] *Revista Española de Cardiología*, 51(5), 349-355.
- Maharaj, T., Blake, R., Trayanova, N., Gavaghan, D., & Rodríguez, B. (2008). The role of transmural ventricular heterogeneities in cardiac vulnerability to electric shocks. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 96(1-3), 321-338.
- Marcil, M., Karelis, A. D., Peronnet, F., & Gardiner, P. F. (2005). Glucose infusion attenuates fatigue without sparing glycogen in rat soleus muscle during prolonged electrical stimulation in situ. *European Journal of Applied Physiology*, 93(5-6), 569-574.
- Marn-Pernat, A., Weil, M. H., Tang, W., Pernat, A., & Bisera, J. (2001). Optimizing timing of ventricular defibrillation. *Critical Care Medicine*, 29(12), 2360-2365.
- Martín, G., Cosín, J., & Such, M. (1984). The evaluation of ECG power spectrum during ventricular fibrillation. *Eur. Heart J.*, 5, 356-363.
- Martín, G., Cosín, J., Such, M., Hernández, A., & Llamas, P. (1986). Relation between power spectrum time

- course during ventricular fibrillation and electromechanical dissociation. Effects of coronary perfusion and nifedipine. *European Heart Journal*, 7(7), 560-569.
- Martin, J. E., Dubbert, P. M., & Cushman, W. C. (1990). Controlled trial of aerobic exercise in hypertension. *Circulation*, 81(5), 1560-1567.
- Mayer, A. G. (1908). Rhythmical pulsation in scyphomedusae. II. *Papers from the marine biological laboratory at tortugas*. (pp. 115–131). Washington.
- Mayer, A. G. (1916). Nerve conduction, and other reactions in Cassiopeia. *American Journal of Physiology -- Legacy Content*, 39(4), 375-393.
- McArdle, W. D., Katch, F. I., & Katch, V. L. (2004). *Fundamentos de fisiología del ejercicio* (2a ed.). Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- McWilliam, J. A. (1887). Fibrillar contraction of the heart. *The Journal of Physiology*, 8(5), 296-310.
- McWilliam, R. C., & Stephenson, J. B. (1984). Atropine treatment of reflex anoxic seizures. *Archives of Disease in Childhood*, 59(5), 473-475.
- McWilliams, E. T., Buchalter, M. B., & O'Neill, C. A. (1984). An unusual form of pacemaker failure. *Pacing and Clinical Electrophysiology: PACE*, 7(4), 765-766.

- Mezzani, A., Giovannini, T., Michelucci, A., Padeletti, L., Resina, A., Cupelli, V., et al. (1990). Effects of training on the electrophysiologic properties of atrium and accessory pathway in athletes with Wolff-Parkinson-White syndrome. *Cardiology*, 77(4), 295-302.
- Mines, G. R. (1913). On dynamic equilibrium in the heart. *The Journal of Physiology*, 46(4-5), 349-383.
- Mines, G. R. (1914). On circulating excitations in heart muscles and their possible relation to tachycardia and fibrillation. *Trans R Soc Can IV*, 43–52.
- Moe, G. K. (1962). On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.*, 140, 183-188.
- Moe, G. K., & Mendez, C. (1962). Basis of pharmacotherapy of cardiac arrhythmias. *Modern Concepts of Cardiovascular Disease*, 31, 739-744.
- Moe, G. K., Harris, A. S., & Wiggers, C. J. (1941). Analysis of the initiation of fibrillation by electrographic studies. *American Journal of Physiology -- Legacy Content*, 134(3), 473-492.
- Moffat, D., & Mottram, R. (1987). *Anatomy and physiology for physiotherapist* (2nd ed.). Oxford: Blackwell Scientific Publications.

- Mokelke, E. A., Palmer, B. M., Cheung, J. Y., & Moore, R. L. (1997). Endurance training does not affect intrinsic calcium current characteristics in rat myocardium. *The American Journal of Physiology*, 273(3 Pt 2), H1193-7.
- Moore, R. L., & Korzick, D. H. (1995). Cellular adaptations of the myocardium to chronic exercise. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 37(6), 371-396.
- Moore, R. L., Musch, T. I., Yelamarty, R. V., Scaduto, R. C., Jr, Semanchick, A. M., Elensky, M., et al. (1993). Chronic exercise alters contractility and morphology of isolated rat cardiac myocytes. *The American Journal of Physiology*, 264(5 Pt 1), C1180-9.
- Morady, F., Kou, W. H., Nelson, S. D., de Buitelir, M., Schmaltz, S., Kadish, A. H., et al. (1988). Accentuated antagonism between beta-adrenergic and vagal effects on ventricular refractoriness in humans. *Circulation*, 77(2), 289-297.
- Mountcastle, V. B., Puche Álvarez, J., & Aréchiga Urtusuástigui, H. (1977). *Fisiología médica* (2a ed.). St. Louis MI: CV Mosby.
- Natali, A. J., Wilson, L. A., Peckham, M., Turner, D. L., Harrison, S. M., & White, E. (2002). Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and

- electrical properties of rat ventricular myocytes. *The Journal of Physiology*, 541(Pt 3), 863-875.
- Neumar, R. W., Brown, C. G., Robitaille, P. M., & Altschuld, R. A. (1990). Myocardial high energy phosphate metabolism during ventricular fibrillation with total circulatory arrest. *Resuscitation*, 19(3), 199-226.
- Northcote, R. J., Canning, G. P., & Ballantyne, D. (1989). Electrocardiographic findings in male veteran endurance athletes. *British Heart Journal*, 61(2), 155-160.
- Nylander, E., Sigvardsson, K., & Kilbom, A. (1982). Training-induced bradycardia and intrinsic heart rate in rats. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 48(2), 189-199.
- Opie, L. H. (1998). *The heart: Physiology, from cell to circulation* (3rd ed.). Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Opie, L. H. (2004). *Heart physiology, from cell to circulation*. New York: Lippincott-Raven.
- Opthof, T., Coronel, R., Vermeulen, J. T., Verberne, H. J., Van Capelle, F. J., & Janse, M. J. (1993). Dispersion of refractoriness in normal and ischaemic canine ventricle: Effects of sympathetic stimulation. *Cardiovascular Research*, 27(11), 1954-1960.

- Ordway, G. A., Charles, J. B., Randall, D. C., Billman, G. E., & Wekstein, D. R. (1982). Heart rate adaptation to exercise training in cardiac-denervated dogs. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 52(6), 1586-1590.
- Paffenbarger, R. S., & Hale, W. E. (1975). Work activity and coronary heart mortality. *The New England Journal of Medicine*, 292(11), 545-550.
- Palatini, P., Maraglino, G., Sperti, G., Calzavara, A., Libardoni, M., Pessina, A. C., et al. (1985). Prevalence and possible mechanisms of ventricular arrhythmias in athletes. *American Heart Journal*, 110(3), 560-567.
- Panfilov, A. V. (2006). Is heart size a factor in ventricular fibrillation? Or how close are rabbit and human hearts? *Heart Rhythm: The Official Journal of the Heart Rhythm Society*, 3(7), 862-864.
- Parra, G., Zarzoso, M., Such-Miquel, L., Brines, L., Alberola, A., Rams, C., et al. (2010). El ejercicio físico crónico aumenta la longitud de onda del proceso de activación ventricular en el miocardio isquémico. Estudio experimental. *Rev.Esp.Cardiol.*, 63(S3), 194.
- Pattengale, P. K., & Holloszy, J. O. (1967). Augmentation of skeletal muscle myoglobin by a program of

- treadmill running. *The American Journal of Physiology*, 213(3), 783-785.
- Paulsen, W., Boughner, D. R., Ko, P., Cunningham, D. A., & Persaud, J. A. (1981). Left ventricular function in marathon runners: Echocardiographic assessment. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 51(4), 881-886.
- Pauza, D. H., Skripka, V., Pauziene, N., & Stropus, R. (2000). Morphology, distribution, and variability of the epicardiac neural ganglionated subplexuses in the human heart. *The Anatomical Record*, 259(4), 353-382.
- Pelliccia, A., Maron, B. J., Spataro, A., Proschan, M. A., & Spirito, P. (1991). The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly trained elite athletes. *The New England Journal of Medicine*, 324(5), 295-301.
- Penny, W. J. (1984). The deleterious effects of myocardial catecholamines on cellular electrophysiology and arrhythmias during ischaemia and reperfusion. *European Heart Journal*, 5(12), 960-973.
- Penny, W. J., Culling, W., Lewis, M. J., & Sheridan, D. J. (1985). Antiarrhythmic and electrophysiological effects

of alpha adrenoceptor blockade during myocardial ischaemia and reperfusion in isolated guinea-pig heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 17(4), 399-409.

Pertsov, A. M., Davidenko, J. M., Salomonsz, R., Baxter, W. T., & Jalife, J. (1993). Spiral waves of excitation underlie reentrant activity in isolated cardiac muscle. *Circulation Research*, 72(3), 631-650.

Piña, I. L., Apstein, C. S., Balady, G. J., Belardinelli, R., Chaitman, B. R., Duscha, B. D., et al. (2003). Exercise and heart failure: A statement from the American Heart Association Committee on exercise, rehabilitation, and prevention. *Circulation*, 107(8), 1210-1225.

Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243-1276.

Prystowsky, E. N., Jackman, W. M., Rinkenberger, R. L., Heger, J. J., & Zipes, D. P. (1981). Effect of autonomic blockade on ventricular refractoriness and atrioventricular nodal conduction in humans. Evidence supporting a direct cholinergic action on ventricular

- muscle refractoriness. *Circulation Research*, 49(2), 511-518.
- Ramires, P. R., & Ji, L. L. (2001). Glutathione supplementation and training increases myocardial resistance to ischemia-reperfusion in vivo. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 281(2), H679-88.
- Randall, W. C., Randall, D. C., & Ardell, J. L. (1991). Autonomic regulation of myocardial contractility. In I. H. Zucker, & J. Gilmore (Eds.), *Reflex control of the circulation* (pp. 39-65). Boston, MA: CRC.
- Rankovic, V., Patel, N., Jain, S., Robinson, N., Goldberger, J., Horvath, G., et al. (1999). Characteristics of ischemic and peri-ischemic regions during ventricular fibrillation in the canine heart. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 10(8), 1090-1100.
- Rardon, D. P., & Bailey, J. C. (1983). Parasympathetic effects on electrophysiologic properties of cardiac ventricular tissue. *Journal of the American College of Cardiology*, 2(6), 1200-1209.
- Reindell, H., Roskamm, H., & Steim, H. (1960). The heart and blood circulation in athletes. *Die Medizinische Welt*, 31, 1557-1563.

- Rerych, S. K., Anderson, P. A. W., & Scholz, P. M. (1978). Accuracy of left ventricular end-diastolic volume determinations using first pass radionuclide technique. *Journal of Nuclear Medicine*, 19(6), 726.
- Rerych, S. K., Scholz, P. M., Newman, G. E., Sabiston, D. C., Jr, & Jones, R. H. (1978). Cardiac function at rest and during exercise in normals and in patients with coronary heart disease: Evaluation by radionuclide angiocardiology. *Annals of Surgery*, 187(5), 449-464.
- Rho, R. W., & Page, R. L. (2003). Biphasic versus monophasic shock waveform for conversion of atrial fibrillation. *Cardiac Electrophysiology Review*, 7(3), 290-291.
- Riviere, D., Crampes, F., Beauville, M., & Garrigues, M. (1989). Lipolytic response of fat cells to catecholamines in sedentary and exercise-trained women. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 66(1), 330-335.
- Robert L., H. (2007). Animal models of ventricular arrhythmias. *Pharmacology & Therapeutics*, 113(2), 276-295.
- Rodriguez Font, E., & Vinolas Prat, X. (1999). Sudden death (III). The causes of sudden death. Problems at

the time of establishing and classifying the types of death. [Muerte súbita (III). Causas de muerte súbita. Problemas a la hora de establecer y clasificar los tipos de muerte] *Revista Española de Cardiología*, 52(11), 1004-1014.

Rogers, J. M., Huang, J., Smith, W. M., & Ideker, R. E. (1999). Incidence, evolution and spatial distribution of functional reentry during ventricular fibrillation in pigs. *Circulation Research*, 84(8), 945-954.

Ropella, K. M. (2001). Frequency domain analysis of endocardial signals. *Annali Dell'Istituto Superiore di Sanita*, 37(3), 351-359.

Roses, E. (2010). *Estudi experimental dels efectes de l'entrenament físic sobre l'energia necessària per revertir la fibril·lació ventricular en model de conill aïllat* (Treball Final de Màster en Enginyeria Biomèdica ed.). Valencia, España:

Rubart, M., & Zipes, D. P. (2008). Genesis of cardiac arrhythmias: Electrophysiological considerations. In P. Libby, R. Bonow, D. Mann & D. P. Zipes (Eds.), *Braunwald's heart diseases. A textbook of cardiovascular medicine* (8th ed., pp. 727-762). Philadelphia: Sunders Elsevier.

- Saltin, B., Blomqvist, G., Mitchell, J. H., Johnson, R. L., Jr, Wildenthal, K., & Chapman, C. B. (1968). Response to exercise after bed rest and after training. *Circulation*, 38(5 Suppl), VII1-78.
- Sanguinetti, M. C., & Tristani-Firouzi, M. (2006). Apertura de los canales de K⁺ rectificadores tardíos cardíacos. In D. P. Zipes, & J. Jalife (Eds.), *Arritmias. Electrofisiología cardíaca*. (pp. 88-95) Marbán Libros SL.
- Sanjuán, R., Morell, S., Samper, J., García Civera, R., Ruiz, R., Muñoz, J., et al. (1994). The incidence and significance of late potentials in patients with aborted sudden death. [Incidencia y significado de los potenciales tardíos en pacientes con muerte súbita abortada] *Revista Española de Cardiología*, 47(3), 157-164.
- Sano, T., Ohtsuka, E., & Shimamoto, T. (1960). "Unidirectional" atrioventricular conduction studied by microelectrodes. *Circulation Research*, 8, 600-608.
- Schaible, T. F., & Scheuer, J. (1981). Cardiac function in hypertrophied hearts from chronically exercised female rats. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 50(6), 1140-1145.

- Schaible, T. F., & Scheuer, J. (1985). Cardiac adaptations to chronic exercise. *Progress in cardiovascular diseases*, 27(5), 297-324.
- Scher, A. M., & Spah, M. (1979). Cardiac depolarization and repolarization and the electrocardiogram. In R. Berne (Ed.), *Handbook of physiology. The cardiovascular system*. (pp. 357-392) Bethesda: American Physiological Society.
- Scheuer, J., & Tipton, C. M. (1977). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annual Review of Physiology*, 39, 221-251.
- Schmid, P. G., Greif, B. J., Lund, D. D., & Roskoski, R., Jr. (1978). Regional choline acetyltransferase activity in the guinea pig heart. *Circulation Research*, 42(5), 657-660.
- Seals, D. R., & Chase, P. B. (1989). Influence of physical training on heart rate variability and baroreflex circulatory control. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 66(4), 1886-1895.
- Selkurt, E. (1984). *Physiology* (5th ed.). Boston: Little, Brown and Company.
- Shi, X., Stevens, G. H., Foresman, B. H., Stern, S. A., & Raven, P. B. (1995). Autonomic nervous system control of the heart: Endurance exercise training.

Medicine and Science in Sports and Exercise, 27(10), 1406-1413.

Smeets, J. L., Allesie, M. A., Lammers, W. J., Bonke, F. I., & Hollen, J. (1986). The wavelength of the cardiac impulse and reentrant arrhythmias in isolated rabbit atrium. The role of heart rate, autonomic transmitters, temperature and potassium. *Circulation Research*, 58(1), 96-108.

Smeets, J. L., Allesie, M. A., Lammers, W. J., Bonke, F. I., & Hollen, J. (1986). The wavelength of the cardiac impulse and reentrant arrhythmias in isolated rabbit atrium. The role of heart rate, autonomic transmitters, temperature and potassium. *Circulation Research*, 58(1), 96-108.

Spear, J. F., & Moore, E. N. (1973). Influence of brief vagal and stellate nerve stimulation on pacemaker activity and conduction within the atrioventricular conduction system of the dog. *Circulation Research*, 32(1), 27-41.

Stein, R., Medeiros, C. M., Rosito, G. A., Zimmerman, L. I., & Ribeiro, J. P. (2002). Intrinsic sinus and atrioventricular node electrophysiologic adaptations in endurance athletes. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(6), 1033-1038.

- Stein, R., Moraes, R. S., Cavalcanti, A. V., Ferlin, E. L., Zimerman, L. I., & Ribeiro, J. P. (2000). Atrial automaticity and atrioventricular conduction in athletes: Contribution of autonomic regulation. *European Journal of Applied Physiology*, 82(1-2), 155-157.
- Stein, R. A., Michielli, D., Fox, E. L., & Krasnow, N. (1978). Continuous ventricular dimensions in man during supine exercise and recovery. An echocardiographic study. *The American Journal of Cardiology*, 41(4), 655-660.
- Stengl, M. (2010). Experimental models of spontaneous ventricular arrhythmias and of sudden cardiac death. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 59 Suppl 1, S25-31.
- Stewart, A. J., Allen, J. D., Devine, A. B., & Adgey, A. A. (1996). Effects of blockade of fast and slow inward current channels on ventricular fibrillation in the pig heart. *Heart (British Cardiac Society)*, 76(6), 513-519.
- Strohmenger, H. U., Lindner, K. H., & Brown, C. G. (1997). Analysis of the ventricular fibrillation ECG signal amplitude and frequency parameters as predictors of countershock success in humans. *Chest*, 111(3), 584-589.

- Such, L., Alberola, A., Orts, L., Such-Miquel, L., Pelechano, F., Trapero, I., et al. (2006). Effects of chronic physical exercise on dominant frequency of ventricular fibrillation heterogeneity produced by acute coronary artery occlusion. A study in isolated rabbit heart. *Eur.Heart J.*, 27, 99.
- Such, L., Alberola, A., Rodríguez, A., Sanmiguel, D., López, L., Palau, P., et al. (2003). Intrinsic modifications of ventricular refractoriness by chronic exercise: A study in insolated rabbit heart. *J Physiol*, 548
- Such, L., López, L., Benítez, J., Trapero, I., Chorro, F., Such, L., et al. (2005). Effects of physical training on the intrinsic atrial refractoriness. *J. Physiol. Biochem.*, 61, 295.
- Such, L., Alberola, A. M., Such-Miquel, L., López, L., Trapero, I., Pelechano, F., et al. (2008). Effects of chronic exercise on myocardial refractoriness: A study on isolated rabbit heart. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 193(4), 331-339.
- Such, L., Rodríguez, A., Alberola, A., López, L., Ruiz, R., Artal, L., et al. (2002). Intrinsic changes on automatism, conduction, and refractoriness by

- exercise in isolated rabbit heart. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 92(1), 225-229.
- Sutton, P. M., Taggart, P., Opthof, T., Coronel, R., Trimlett, R., Pugsley, W., et al. (2000). Repolarisation and refractoriness during early ischaemia in humans. *Heart (British Cardiac Society)*, 84(4), 365-369.
- Swartz, J. F., Jones, J. L., & Fletcher, R. D. (1993). Characterization of ventricular fibrillation based on monophasic action potential morphology in the human heart. *Circulation*, 87(6), 1907-1914.
- Talan, D. A., Bauernfeind, R. A., Ashley, W. W., Kanakis, C., Jr, & Rosen, K. M. (1982). Twenty-four hour continuous ECG recordings in long-distance runners. *Chest*, 82(1), 19-24.
- Tamiya, E., Ito, N., Kinugawa, K., & Hada, Y. (1992). Assessment of coronary artery bypass grafts by X-ray computed tomography with and without contrast enhancement. *Journal of Cardiology*, 22(4), 625-633.
- Tcheng, K. T. (1951). Innervation of the dog's heart. *American Heart Journal*, 41(4), 512-524.
- Tepperman, J., & Pearlman, D. (1961). Effects of exercise and anemia on coronary arteries of small animals as revealed by the corrosion-cast technique. *Circulation Research*, 9, 576-584.

- Thorp, D. B., Haist, J. V., Leppard, J., Milne, K. J., Karmazyn, M., & Noble, E. G. (2007). Exercise training improves myocardial tolerance to ischemia in male but not in female rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293(1), R363-71.
- Tibbits, G. F., Barnard, R. J., Baldwin, K. M., Cugalj, N., & Roberts, N. K. (1981). Influence of exercise on excitation-contraction coupling in rat myocardium. *The American Journal of Physiology*, 240(4), H472-80.
- Tipton, C. M., Matthes, R. D., Tchong, T. K., Dowell, R. T., & Vailas, A. C. (1977). The use of the Langendorff preparation to study the bradycardia of training. *Medicine and Science in Sports*, 9(4), 220-230.
- Tonkonogi, M., & Sahlin, K. (2002). Physical exercise and mitochondrial function in human skeletal muscle. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 30(3), 129-137.
- Ueno, L. M., & Moritani, T. (2003). Effects of long-term exercise training on cardiac autonomic nervous activities and baroreflex sensitivity. *European Journal of Applied Physiology*, 89(2), 109-114.
- Vanoli, E., De Ferrari, G. M., Stramba-Badiale, M., Hull, S. S., Jr, Foreman, R. D., & Schwartz, P. J. (1991).

- Vagal stimulation and prevention of sudden death in conscious dogs with a healed myocardial infarction. *Circulation Research*, 68(5), 1471-1481.
- Vesalius, A. (1543). *De humani corporis fabrica*
- Viitasalo, M. T., Kala, R., & Eisalo, A. (1982). Ambulatory electrocardiographic recording in endurance athletes. *British Heart Journal*, 47(3), 213-220.
- Viitasalo, M. T., Kala, R., & Eisalo, A. (1984). Ambulatory electrocardiographic findings in young athletes between 14 and 16 years of age. *European Heart Journal*, 5(1), 2-6.
- Wannamethee, S. G., & Shaper, A. G. (2001). Physical activity in the prevention of cardiovascular disease: An epidemiological perspective. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 31(2), 101-114.
- Wanzhen, Z., Glass, L., & Shrier, A. (1991). Evolution of rhythms during periodic stimulation of embryonic chick heart cell aggregates. *Circulation Research*, 69(4), 1022-1033.
- Warner, M. R., & Zipes, D. P. (1994). Vagal control of myocardial refractoriness. In M. N. Levy, & P. J. Schwartz (Eds.), *Vagal control of the heart: Experimental basis and clinical implications* (pp. 261-276). Armonk, NY: Futura.

- Weaver, W. D., Cobb, L. A., Dennis, D., Ray, R., Hallstrom, A. P., & Copass, M. K. (1985). Amplitude of ventricular fibrillation waveform and outcome after cardiac arrest. *Annals of Internal Medicine*, 102(1), 53-55.
- Wei, J. Y., Spurgeon, H. A., & Lakatta, E. G. (1984). Excitation-contraction in rat myocardium: Alterations with adult aging. *The American Journal of Physiology*, 246 (6 Pt 2), H784-91.
- Weidmann, S. M. (1956). Studies on the skeletal tissues. 4. The renewal of inorganic phosphate in bones of various species of small mammal as a function of time. *The Biochemical Journal*, 62(4), 593-601.
- Weiss, J. N., Garfinkel, A., Karagueuzian, H. S., Qu, Z., & Chen, P. S. (1999). Chaos and the transition to ventricular fibrillation: A new approach to antiarrhythmic drug evaluation. *Circulation*, 99(21), 2819-2826.
- Wiggers, C. J., Theisen, H., & Williams, H. A. (1930). Further observations on experimental aortic insufficiency: II. Cinematographic studies of changes in ventricular size and in left ventricular discharge. *The Journal of Clinical Investigation*, 9(2), 215-233.

- Wijffels, M. C., Kirchhof, C. J., Dorland, R., & Allessie, M. A. (1995). Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*, 92(7), 1954-1968.
- Wit, A. L., & Janse, M. J. *The ventricular arrhythmias of ischemia and infarction: Electrophysiological mechanisms* (1st edition.). Mount Kisco, NY: Blackwell Futura.
- Witkowski, F. X., Leon, L. J., Penkoske, P. A., Giles, W. R., Spano, M. L., Ditto, W. L., et al. (1998). Spatiotemporal evolution of ventricular fibrillation. *Nature*, 392(6671), 78-82.
- Wolk, R., Cobbe, S. M., Hicks, M. N., & Kane, K. A. (1998). Effects of lignocaine on dispersion of repolarisation and refractoriness in a working rabbit heart model of regional myocardial ischaemia. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 31(2), 253-261.
- Wood, P. D., Stefanick, M. L., Williams, P. T., & Haskell, W. L. (1991). 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(7), 461-466.
- Yamamoto, K., Miyachi, M., Saitoh, T., Yoshioka, A., & Onodera, S. (2001). Effects of endurance training on

- resting and post-exercise cardiac autonomic control. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(9), 1496-1502.
- Yamashita, N., Baxter, G. F., & Yellon, D. M. (2001). Exercise directly enhances myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion injury in the rat through a protein kinase C mediated mechanism. *Heart (British Cardiac Society)*, 85(3), 331-336.
- Yang, Z., Zhang, H., Kong, S., Yue, X. F., Jin, Y. B., Jin, J., et al. (2007). Study for relevance of the acute myocardial ischemia to arrhythmia by the optical mapping method. *Physiological Measurement*, 28(5), 481-488.
- Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., et al. (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet*, 364(9438), 937-952.
- Zaitsev, A. V., Guha, P. K., Sarmast, F., Kolli, A., Berenfeld, O., Pertsov, A. M., et al. (2003). Wavebreak formation during ventricular fibrillation in the isolated, regionally ischemic pig heart. *Circulation Research*, 92(5), 546-553.

- Zarzoso, M. (2011). Modificaciones del automatismo, conducción, refractariedad miocárdicas y del patrón fibrilatorio ventricular producidas por el ejercicio físico crónico: Influencia del sistema nervioso cardíaco. Universitat de València (estudi general).
- Zhang, S., Skinner, J. L., Sims, A. L., Rollins, D. L., Walcott, G. P., Smith, W. M., et al. (2000). Three-dimensional mapping of spontaneous ventricular arrhythmias in a canine thrombotic coronary occlusion model. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 11(7), 762-772.
- Zhou, X., Ideker, R. E., Blitchington, T. F., Smith, W. M., & Knisley, S. B. (1995). Optical transmembrane potential measurements during defibrillation- strength shocks in perfused rabbit hearts. *Circulation Research*, 77(3), 593-602.
- Zipes, D. P. (1975). Electrophysiological mechanisms involved in ventricular fibrillation. *Circulation*, 52(6 Suppl), III120-30.
- Zipes, D. P. (2006). *Arritmias: Electrofisiología cardíaca*. Madrid: Marbán.
- Zuti, W. B., & Golding, L. A. (1976). Comparing diet and exercise as weight reduction tools. *Phys Sports Med*, 4, 49-54.