

BID.T 7835



	<b>UNIVERSITAT DE VALÈNCIA</b> <b>REGISTRE GENERAL</b> OFICINA AUXILIAR NÚM. 9
<b>23 MAR 2012</b>	
ENTRADA Nº <u>26994</u> .....	
HORA .....	
SALIDA Nº .....	

**DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA**  
**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

**TESIS DOCTORAL**

---

**EFFECTO DEL EJERCICIO FÍSICO CRÓNICO SOBRE  
LAS CARACTERÍSTICAS DE LA FIBRILACIÓN  
VENTRICULAR, LA REFRACTARIEDAD Y EL PROCESO  
DE ACTIVACIÓN MIOCÁRDICA DURANTE LA  
ARRITMIA, EN EL CORAZÓN NORMALMENTE  
OXIGENADO Y TRAS ISQUEMIA REGIONAL AGUDA**

**PRESENTADO POR: Beatriz Díaz Díaz**

**DIRIGIDO POR: Prof. Dr. D. Luis Such Belenguer**  
**Prof. Dr. D. Luis Such Miquel**

Valencia, 2012

UMI Number: U607600

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U607600

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.  
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against  
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC  
789 East Eisenhower Parkway  
P.O. Box 1346  
Ann Arbor, MI 48106-1346



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

### Acta de lectura de tesi doctoral

#### ESTUDIANT/A

Nom i cognoms: Beatriz Díaz Díaz

L

Núm. de registre: 5779

Títol del treball: Efecto del ejercicio físico crónico sobre las características de la fibrilación ventricular, la refractariedad y el proceso de activación miocárdica durante la arritmia en el corazón normalmente oxigenado y tras isquemia regional aguda.

Departament/Institut: Fisiologia

Director/a: Luis Such Belenguer

Luis Such Miquel

#### TRIBUNAL

President/a: Antonio M. Albornoz

1r. Vocal: Silvia Llorca Folgado

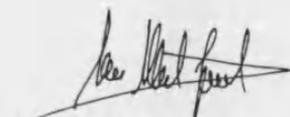
2n. Vocal: F. Javier Salazar Spasico

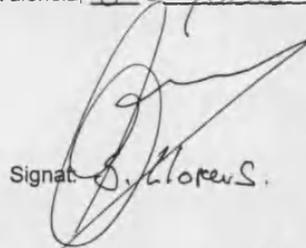
3r. Vocal: Alvaro Tomas Tejada

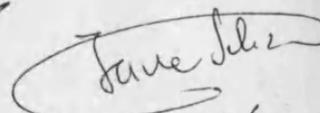
Secretari/a: Celedonio Igual Cuenca

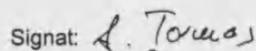
QUALIFICACIÓ: Excesivamente "ambiciosa"

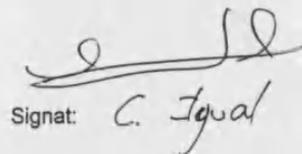
València, 8 de junio de 2012.

  
Signat: A. Albornoz

  
Signat: S. Llorca

  
Signat: F. Salazar

  
Signat: A. Tomas

  
Signat: C. Igual





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

**CERTIFICAN:** Que el trabajo experimental que lleva por título "EFECTO DEL EJERCICIO FÍSICO CRÓNICO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR, LA REFRACTARIEDAD Y EL PROCESO DE ACTIVACIÓN MIOCÁRDICA DURANTE LA ARRITMIA, EN EL CORAZÓN NORMALMENTE OXIGENADO Y TRAS ISQUEMIA REGIONAL AGUDA", presentado por BEATRIZ DÍAZ DÍAZ para optar al Grado de Doctor, ha sido realizado 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 22 de marzo de 2012.



Fdo.: Luis Such Belenguer.



Fdo.: Luis Such Miquel.

b 2199397x  
i 23262059

CB 0002203630



Esta tesis doctoral ha sido realizada con la ayuda concedida por MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN, con número de referencia DEP2006-56208-C03-01, SAF2007-62412 y UV-2007-0227-AE (esta última otorgada por la Universitat de València en su programa de Acciones Especiales) de las que ha sido Investigador Principal el Prof. Dr. D. LUIS SUCH BELENGUER.



*A todos los que han estado conmigo todo este tiempo, y así, directa o indirectamente, me han ayudado en este trabajo:*

*A mis directores y al grupo de investigación  
A mis amigos  
A mi familia*

*A todos ustedes, por ayudarme a crecer*

*Gracias*



### Abreviaturas

AV	—	Auriculoventricular.
BZ	—	<i>Border zone</i> .
DPA	—	Duración del potencial de acción.
FV	—	Fibrilación ventricular.
PA	—	Potencial de acción.
PR	—	Periodo refractario.
PRA	—	Periodo refractario absoluto.
PRE	—	Periodo refractario efectivo.
PRR	—	Periodo refractario relativo.
PRT	—	Periodo refractario total.
PRF	—	Periodo refractario funcional.
PSN	—	Periodo de supernormalidad.
TRT	—	Tiempo de recuperación total.

### Canales iónicos

$I_{Ca}$	—	Corriente de entrada lenta de $Ca^{2+}$ .
$I_{CaL}$	—	Corriente de $Ca^{2+}$ de larga duración.
$I_{CaT}$	—	Corriente de $Ca^{2+}$ transitoria.
$I_K$	—	Corriente de $K^+$ .
$I_{KAA}$	—	Corriente de $K^+$ sensible a la acetilcolina.
$I_{KATP}$	—	Corriente de $K^+$ regulada por ATP.
$I_{Na}$	—	Corriente rápida de entrada de $Na^+$ .



*Índice*

---

---

---

# Índice

*Índice*

---

---

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Objetivos.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Justificación de los objetivos.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2.1. Generalidades sobre los efectos biológicos de la isquemia miocárdica aguda.....</b>	<b>3</b>
1.2.1.1. Consecuencias bioquímicas de la isquemia.....	3
1.2.1.2. Modificaciones de las concentraciones de iones: Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> y H <sup>+</sup> .....	6
1.2.1.3. Modificaciones electrofisiológicas.....	10
<b>1.2.2. Estudio especial de los efectos de la isquemia sobre las propiedades electrofisiológicas miocárdicas a nivel de órgano aislado.....</b>	<b>14</b>
1.2.2.1. Sobre refractariedad.....	14
1.2.2.2. Sobre la velocidad de conducción miocárdica.....	19
1.2.2.3. Sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio.....	22
1.2.2.4. Sobre el proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular inducida.....	25
<b>1.2.3. Efectos producidos por el ejercicio físico crónico sobre algunas de las alteraciones producidas por la isquemia miocárdica aguda.....</b>	<b>27</b>
1.2.3.1. Generalidades acerca de los efectos del ejercicio físico crónico sobre los diferentes aparatos y sistemas del organismo.....	27
1.2.3.1.1. Efectos cardiovasculares: generalidades.....	31
1.2.3.1.2. Efectos del ejercicio físico sobre la refractariedad.....	35

1.2.3.1.3. Efecto del ejercicio físico sobre la velocidad de conducción.....	38
1.2.3.1.4. Efecto del ejercicio físico sobre la heterogeneidad electrofisiológica.....	41
1.2.3.1.5. Efecto del ejercicio físico sobre el proceso de activación eléctrica del miocardio.....	43
1.2.3.2. Modificaciones de las propiedades anteriormente citadas producidas por la isquemia: Efectos del ejercicio físico crónico.....	44
<b>1.2.4. Consideraciones sobre el uso del análisis de la fibrilación ventricular para el estudio de las variaciones de las propiedades electrofisiológicas del miocardio.....</b>	<b>46</b>
1.2.4.1. Generalidades sobre la fibrilación ventricular.....	46
1.2.4.2. Métodos de análisis de la fibrilación ventricular. Consideraciones especiales sobre el análisis de la FV en el dominio del tiempo y su utilidad para el estudio del proceso de activación eléctrica del miocardio durante la arritmia.....	50
<b>1.2.5. Consideraciones finales: Resumen de la justificación de los objetivos. Hipótesis de trabajo.....</b>	<b>52</b>
<b>1.2.6. Plan de trabajo.....</b>	<b>53</b>



<b>CAPÍTULO 3. RESULTADOS.....</b>	<b>85</b>
3.1. Periodo refractario funcional durante la FV (PRFFV).....	87
3.2. Parámetros resultantes del análisis de la FV en el dominio del tiempo.....	89
3.2.1. Intervalos VV.....	89
3.3. Complejidad total de la activación miocárdica ventricular.....	92
3.3.1. Valores previos a la oclusión coronaria.....	92
3.3.2. Valores posteriores a la oclusión coronaria.....	93
3.4. Grados específicos de complejidad.....	94
3.5. Análisis individualizado de la incidencia relativa de los diferentes grados de complejidad del proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular.....	96
<b>CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>101</b>
4.1. Sobre la metodología usada.....	104
4.2. Comentarios sobre los resultados.....	110
4.3. Consideraciones finales respecto a los resultados obtenidos: Importancia del estudio.....	117
<b>CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>123</b>
<b>CAPÍTULO 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>127</b>

# **CAPÍTULO 1**

---

---

## **Introducción**

## *Introducción*

---

## **1.1. OBJETIVOS.**

Investigar en un modelo de corazón aislado de conejo, el efecto de la realización regular de ejercicio físico sobre la refractariedad miocárdica ventricular durante la fibrilación ventricular (FV), las características de la FV en el dominio del tiempo y sobre el proceso de activación miocárdica durante la FV. Asimismo se pretende investigar las modificaciones que la oclusión arterial coronaria aguda ejerce sobre las modificaciones por el entrenamiento sobre los anteriores parámetros y/o propiedades miocárdicas.

## **1.2. JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS.**

### **1.2.1. Generalidades sobre los efectos biológicos de la isquemia miocárdica aguda.**

Realizaremos a continuación una visión general de las consecuencias de la isquemia tanto a nivel bioquímico como a nivel de las corrientes iónicas a través de la membrana al cardiomiocito, también sobre las concentraciones de los diversos iones para finalmente hacer alusión a los trastornos electrofisiológicos a nivel de las arritmias cardíacas, siguiendo una revisión al respecto realizada por Carmeliet (1999).

#### **1.2.1.1. Consecuencias bioquímicas de la isquemia.**

Entre los efectos bioquímicos destaca la caída de la concentración de ATP y el incremento de la concentración de ADP. Hay que decir que la cuantía del "turnover" de fosfato de alta energía es de 31 a 40 moles / gramo de tejido húmedo / minuto por lo que teniendo en cuenta que el almacenamiento es de alrededor de 15 moles / gramo de tejido húmedo, el tiempo límite para la privación es tan sólo de 15 a 30 segundos (Griese *et al.*, 1988). La disminución del ATP se debe a la disminución del oxígeno en el citosol de tal

## Introducción

---

modo que se produce una detención del transporte electrónico y del proceso de extrusión de protones desde el interior de la mitocondria.

A pesar de lo anterior, es posible seguir manteniendo una eficiente cantidad de ATP en situación de privación de oxígeno porque se dan las siguientes circunstancias: 1. El propio fallo de la contracción debido a la isquemia provoca una disminución de las demandas energéticas muy rápidamente durante los primeros 30 segundos. 2. Se produce formación de ATP gracias a la fosfocreatina, quien fosforiliza al ADP a través de la reacción catalizada por la creatinfosfoquinasa (CPK); 3. Hay producción de ATP a expensas de la glucólisis anaerobia que en situación de isquemia cobra especial importancia muy especialmente 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\_(desde las terminaciones nerviosas, se produce una liberación masiva de catecolaminas que estimulan la actividad glucolítica y producción de lactato). 4. Hay un incremento de la glucógenolisis que proporcionará glucosa ya que la fosforilasa a se transforma en fosforilasa b (forma activa) lo cual es facilitado por el incremento de AMP (adenosinmonofosfato),  $P_i$  (fosfato inorgánico), calcio y AMP 3',5' cíclico. Y finalmente el transporte de glucosa a través de la membrana celular está aumentado. Estas situaciones permiten mantener una concentración de ATP bastante constante durante los primeros minutos de isquemia.

No obstante a pesar del efecto beneficioso que puede significar la puesta en marcha de la glucólisis anaeróbica, ésta produce un gran incremento del lactato a expensas del piruvato ya que éste último no puede oxidarse aeróbicamente y la lactatodeshidrogenasa conjuntamente con el NADH reduce al piruvato para, como acabamos de decir, transformarlo en lactato. La formación de lactato y el acúmulo del mismo implica un incremento en la producción de  $H^+$ , siendo esta disminución del pH debida a la activación de la glucólisis la que acabará frenando dicha ruta metabólica y por lo tanto reduciendo drásticamente la producción de ATP. La caída del ATP junto con el

incremento del ADP acaba teniendo consecuencias deletéreas sobre los transportadores que requieren ATP.

Un cambio adicional que se produce como consecuencia de que la energía libre de la hidrólisis del ATP excede a la energía almacenada en el gradiente electroquímico de protones puede haber una hidrólisis neta de ATP y la ATP sintasa actúa como una ATP hidrolasa utilizándose la energía para reponer el gradiente eléctrico en la mitocondria (Di Lisa *et al.*, 1995).

Otra alteración que acaba produciéndose en la mitocondria es la despolarización de su membrana, aunque 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. Cuando este último proceso se bloquea se produce una importante depleción de ATP y un incremento de la concentración intracelular de calcio. Por otra parte, la caída del ATP por debajo de ciertos niveles y 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 en el sentido de dejar salir una serie de sustancias desde el interior de la misma, siendo este poro activado en la membrana interna de la mitocondria. Al fin, todas estas circunstancias (bloqueo en el metabolismo oxidativo, disminución del cociente ATP/ADP, etc) acaban produciendo consecuencias como son alteraciones del metabolismo lipídico, producción de estrés oxidativo, liberación de catecolaminas, alteraciones de las concentraciones iónicas, etc. Los poros que se abren atravesando la membrana interna mitocondrial crean una situación similar a la que crean los agentes desacopladores de la fosforilación oxidativa. En condiciones de normal oxigenación, con concentración normal de oxígeno y ATP estos poros de transición o megacanales están inactivos, mientras que se activan en la isquemia, situación en la que la situación bioquímica se invierte en lo que al calcio y al ATP se refiere. 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.

### 1.2.1.2. Modificaciones de las concentraciones de iones: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y H<sup>+</sup>.

El intercambiador Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> se encarga del mantenimiento del equilibrio dinámico existente entre la concentración de potasio intracelular (mayor) y extracelular (menor) en condiciones aeróbicas. El  $\Delta G$  del intercambiador de Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> que normalmente es de 61.5 kJ/mol, durante la isquemia puede caer a valores tan bajos como 49 o menos (Cross *et al.*, 1996). El equilibrio dinámico se pierde, aumentando el potasio extracelular, durante la isquemia. Se produce una rápida acumulación de K<sup>+</sup> en el espacio extracelular tras 20 segundos de la oclusión de la arteria coronaria. Ésta acumulación de K<sup>+</sup> alcanza una meseta pasados 3-10 minutos.

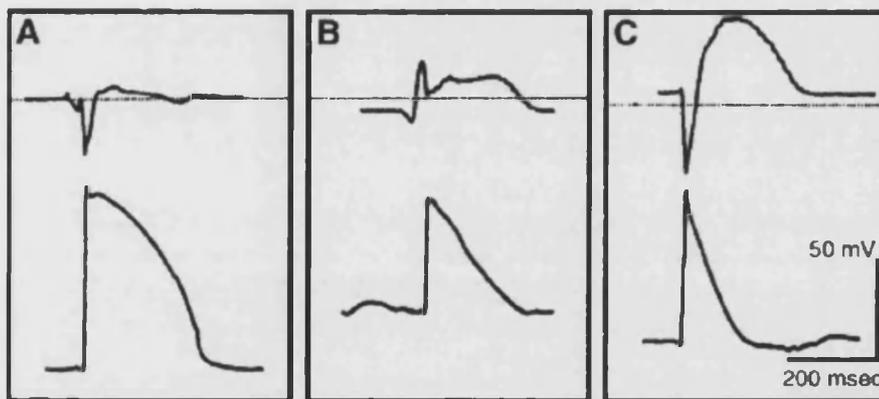
En el centro del infarto, los cambios en la concentración de potasio son más pronunciados. Asimismo, estas concentraciones son más bajas en la región subendocárdica que en la subepicárdica.

Los niveles de K<sup>+</sup> vuelven a aumentar tras 20-30 minutos de isquemia. En esta ocasión se acompañan de cambios estructurales y mecánicos en las fibras miocárdicas.

La salida de K<sup>+</sup> durante 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<sup>+</sup> a través del intercambiador de K<sup>+</sup> y la contracción del espacio celular por aumento de la osmolaridad intracelular.

Las concentraciones elevadas de  $K^+$  producen, tanto un aumento en la conductancia de alguno de los canales de  $K^+$  como, indirectamente, una inactivación de los canales de  $Na^+$  y la despolarización celular, reduciendo la amplitud y duración del potencial de acción. Esto finalmente conduce a la pérdida de la excitabilidad celular y al bloqueo de la conducción.

En situación de isquemia las corrientes de potasio activadas por ligando  $IK_{ATP}$  y  $IK_{AA}$  llegan a ser primordiales y otras corrientes de potasio son inhibidas.



**Figura 1.1.** A-C: Electrocardiogramas y potencial de acción 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 potencial de acción 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).

La concentración intracelular de sodio es menor que la concentración extracelular en condiciones fisiológicas. El intercambiador  $Na^+-K^+$  participa activamente para el mantenimiento de estas concentraciones. El sodio intracelular se incrementa de 10 mM a 20 mM durante la isquemia celular.

La entrada de sodio al espacio intracelular durante la isquemia aguda se explica mediante dos mecanismos: la disminución de la actividad del

## *Introducción*

---

intercambiador  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , inhibida por la depleción de ATP y la acumulación de radicales intracelulares, y el aumento de la corriente de entrada del ión al espacio intracelular, a través del intercambiador de  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  y de los canales voltaje dependientes de  $\text{Na}^+$ . La recuperación del canal de  $\text{Na}^+$  desde el periodo de inactivación es normalmente muy rápida. Tras largas 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 intercambiador y de los canales voltaje dependientes de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  se produce como efecto del incremento de la concentración de  $\text{Na}^+$  intracelular. Estos efectos conducen a la hiperpolarización y acortamiento del potencial de acción tras la reperfusión.

La concentración de calcio intracelular varía en función del compartimento celular (citosol, mitocondria y retículo sarcoplásmico) y de las fases del ciclo cardíaco, en condiciones aeróbicas. Se produce un aumento importante del calcio citosólico durante la isquemia, 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. En el citosol celular los cambios producidos en la concentración de calcio 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 del intercambiador  $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPasa}$ , 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  $[Ca^{2+}]$  y cuando se instaura la agresión isquémica se produce una disrupción del citoesqueleto con el consiguiente apiñamiento de los canales que favorece la inactivación. Las sustancias químicas que estabilizan el citoesqueleto eliminan la inactivación que producen las sustancias que lo alteran y mejoran la reapertura de los canales de  $Ca^{2+}$ .

El aumento del calcio citosólico se explica por varios mecanismos: la disfunción del intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$ , que reduce la salida de  $Ca^{2+}$  al espacio extracelular; la disminución de la entrada de  $Ca^{2+}$  al retículo sarcoplásmico; y la función de intercambiadores tales como  $Ca^{2+}/Na^+$ , que actuando en su forma reversa, producen el aumento de entrada de calcio desde exterior.

Al incrementarse el calcio citosólico, se activan múltiples y diferentes canales, transportadores y enzimas. El resultado de esta activación conduce finalmente a arritmias letales.

A través de la modulación de diversos canales ( $I_{Ca-L}$ , corrientes  $I_f$ ,  $I_{to}$ ,  $I_K$ ), la estimulación de los receptores  $\beta$  produce el incremento del calcio intracelular y la hiperpolarización celular (por activación del intercambiador  $Na^+-K^+$ ). Los efectos de la acumulación de  $Ca^{2+}$  y  $K^+$  intracelular producen una aceleración de la conducción aurículo ventricular y un acortamiento del periodo refractario. Esto se puede resumir en que la estimulación de los receptores  $\beta$  induce a la taquicardia y acortamiento del intervalo QT.

A través de la modulación del intercambiador  $Na^+-K^+$  y de los canales de  $K^+$ , la estimulación de los receptores  $\alpha$  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.

Sin embargo, se produce también una liberación de adenosina y acetilcolina por estimulación de reflejos vagales durante la isquemia. En general, los efectos producidos por estas sustancias al estimular los receptores muscarínicos y purinérgicos respectivamente son opuestos a los producidos por la estimulación  $\beta$ -adrenérgica.

Los receptores muscarínicos son activados por la adenosina. El receptor cardíaco muscarínico dominante es el llamado M2. Su densidad es entre 2 y 5 veces mayor en las aurículas que en los ventrículos. Estos receptores se ligan directamente a la  $I_K$ , facilitando la salida de  $K^+$  y repolarizando la célula.

Los receptores denominados purinérgicos son activados por la acetilcolina. El receptor cardíaco purinérgico dominante es el llamado A1. Su densidad es mayor en el nodo sino-auricular, en el nodo aurículo-ventricular y en las aurículas. Este receptor se liga al canal de potasio  $I_K$  facilitando la salida de potasio, acortando el potencial de acción y permitiendo la hiperpolarización.

#### **1.2.1.3. Modificaciones electrofisiológicas.**

En la isquemia aguda se provoca una caída del potencial de reposo de unos -85 mV a -60 mV, un acortamiento de la duración del potencial de acción y una prolongación del periodo refractario efectivo. Estos factores se traducen en un aumento inicial de la excitabilidad celular que disminuye pasados unos 2-3 minutos. Sin embargo, estos cambios no son uniformes y son evolutivos.

Podemos observar que, desde el punto de vista electrocardiográfico, se producen cambios secundarios a los cambios eléctricos a nivel celular como son los producidos en los intervalos QT y ST, así como la inversión de la onda T.

Debido fundamentalmente a las corrientes de salida de potasio y cloro por activación de los canales  $I_{KATP}$  e  $I_{Ca-L}$  respectivamente, se produce el acortamiento de la duración del potencial de acción. Estos dos canales son activados en condiciones de hipoxia para el caso de  $I_{KATP}$ , 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 (*border zone*, BZ)-, 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 duración del potencial de acción.

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, tiene lugar la prolongación del periodo refractario efectivo.

Tanto el periodo refractario efectivo como la duración del potencial de acción están acortados en la zona límite. Es también la corriente de lesión entre la zona isquémica y la no isquémica el mecanismo que explica este fenómeno. No obstante, en la distribución de la duración de periodo refractario efectivo (PRE) existe una heterogeneidad. Esto facilita el fenómeno de la reentrada y por ello las arritmias por reentrada. La dispersión de la duración del PRE se amplía por la activación adrenérgica secundaria a la isquemia aguda.

## *Introducción*

---

La génesis de las arritmias cardiacas durante la isquemia se explica mediante tres mecanismos básicos: el automatismo, actividad desencadenada y la reentrada.

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. La corriente  $I_f$  es la principal corriente iónica que explica este mecanismo.

La actividad desencadenada se refiere a las arritmias derivadas de la generación de un impulso que depende de un postpotencial. Los postpotenciales son oscilaciones del nivel de membrana que siguen a un potencial previo, de ahí su denominación de desencadenados. Los postpotenciales que se producen durante la repolarización precoz, en las fases 2 y 3, se conocen como postpotenciales precoces; y los que se producen durante la fase 4 se conocen como postpotenciales tardíos. Ambos tipos de postpotenciales pueden activar una corriente de entrada si son suficientemente intensos. Esto produciría una respuesta propagada que dará lugar a una arritmia, si es repetida.

Cuando la concentración de calcio intracelular está elevada tienen lugar los postpotenciales tardíos. Los condicionantes necesarios para la generación de estos postpotenciales tardíos serían, la sobrecarga celular de calcio secundaria a la isquemia o la reperfusión así como la disfunción del intercambiador  $Na^+-K^+$ . Dependerá del número de ciclos previos y de su frecuencia la amplitud que tengan los postpotenciales tardíos y su posibilidad de generar respuestas propagadas. A frecuencias rápidas de estimulación se desencadenan estos postpotenciales.

Por aumento de las corrientes de entrada de sodio o calcio, por la disminución de las corrientes de salida de potasio o ambas a la vez ocurren los postpotenciales precoces. Su aparición se favorece por la prolongación del potencial de acción (QT largo). Por lo tanto, la bradicardia es un factor predisponente para este mecanismo arritmico. Una taquicardia ventricular (TV) generalmente no sostenida que puede degenerar en fibrilación ventricular se conoce como *torsades de pointes*, la arritmia clínica producida por postpotenciales precoces.

La dispersión de los periodos refractarios, más acusada en la zona de transición o límite, y el enlentecimiento de la conducción son dos condicionantes necesarios para que se produzca el fenómeno de reentrada y son debidos fundamentalmente a la lenta recuperación de los canales de sodio y aumento de la resistencia longitudinal.

Asimismo, las arritmias se clasifican en función del mecanismo de producción y del momento de aparición -durante la isquemia o la reperfusión- (Edward Carmeliet, 1999). De este modo, se separan los mecanismos de las arritmias ventriculares en función de su naturaleza y el momento de aparición. Se consideran dos mecanismos para explicar las arritmias precoces durante la isquemia y tras la reperfusión. Las arritmias precoces durante la isquemia se explican por el fenómeno de la reentrada con un estímulo inicial originado en la zona límite. En cuanto al mecanismo arritmico tras la reperfusión, generalmente se trata de arritmias benignas y no se considera el fenómeno de la reentrada.

**1.2.2. Estudio especial de los efectos de la isquemia sobre las propiedades electrofisiológicas miocárdicas a nivel de órgano aislado.**

**1.2.2.1. Sobre refractariedad.**

Aspectos básicos.

La excitabilidad del miocardio varía a lo largo del potencial de acción (PA), distinguiéndose varios periodos de tiempo con diferente excitabilidad (Hoffmann, 1969, citado por West, 1998):

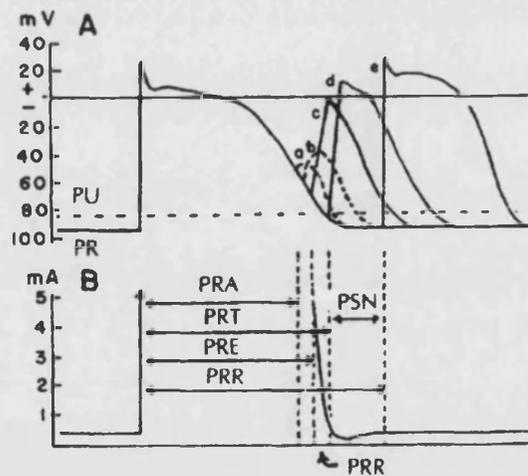
El periodo refractario absoluto (PRA), durante el cual la membrana no puede ser reexcitada por un estímulo externo, con independencia del nivel de estímulo aplicado. El estímulo no es capaz de producir una respuesta propagada, sino tampoco local. El PRA no puede determinarse con exactitud en las redes de células, a causa de los diferentes tiempos de recuperación de las diversas células en la red.

El periodo refractario efectivo (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 periodo refractario efectivo, la membrana puede responder, pero no puede generarse un PA propagado que transporte el impulso a través de toda la red celular.

Periodo refractario relativo (PRR) durante el cual puede generarse un potencial de acción propagado pero con un estímulo despolarizante que es mayor de lo normal; es decir, el mínimo estímulo despolarizante que pueda iniciar un PA propagado.

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 periodo supernormal: es el mínimo estímulo despolarizante que pueda iniciar un PA propagado.

El tiempo de recuperación total está constituido por el periodo desde el comienzo del PA hasta el final del periodo supernormal.



**Figura 1.2.** A. PA de membrana normal y respuestas a una serie de estímulos aplicados durante y el final de la repolarización y después de él. B. Duraciones aproximadas del periodo refractario absoluto (PRA), periodo refractario total (PRT), periodo refractario efectivo (PRE), tiempo de recuperación total (TRT), periodo supernormal (PSN) y periodo refractario relativo (PRR). (Tomado de West, 1998).

## Introducción

---

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 velocidad de conducción 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 son:

El PRA: no se dispone de más corrientes activas de entrada para conseguir despolarizar la membrana. Los canales de  $\text{Na}^+$  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: no existe prácticamente movimiento de entrada de  $\text{Na}^+$  (Jalife *et al.*, 1999).

El PRR cuando el potencial de membrana se sitúa a 60 a 70 mV y entonces puede producirse un PA propagado. La tasa de movimiento de entrada de  $\text{Na}^+$  es tan lenta que es necesaria una intensidad de corriente mucho mayor para que el movimiento de entrada de  $\text{Na}^+$  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  $\text{K}^+$  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  $\text{Na}^+$  (Mountcastle, 1974).

El periodo de supernormalidad: suficientes canales de  $\text{Na}^+$  son reactivados y el umbral para la activación está suficientemente cercano al normal (Jalife *et al.*, 1999).

Estudios previos sobre el efecto de la isquemia sobre la refractariedad ventricular.

El periodo refractario (PR) y la duración del potencial de acción (DPA) están íntimamente ligados en el músculo ventricular no isquémico. Después de un minuto de isquemia, la correlación entre el PR y la DPA se pierde en corazones humanos. Debido a la difusión de iones en la zona fronteriza de la isquemia, se observó que los PR eran más cortos en una parte intermedia de la zona fronteriza que en la zona normal, mientras que hacia la región isquémica central se alargaban considerablemente (Zipes & Jalife 2006).

Como relatan Sutton *et al* (2000), autores a los que seguimos en el abordaje de este apartado, encontraron que el periodo refractario efectivo (PRE) se alargó durante un corto periodo de isquemia global en el corazón humano, tanto usando estímulos de alta como de baja intensidad, asimismo relataron que en otros trabajos de investigación han sido encontrados resultados diversos, tanto alargamiento como acortamiento de la refractariedad. En su opinión la diferencia de resultados podría depender de variaciones en la metodología empleada. En el trabajo de Sutton al respecto, el PRE se aproximó a la duración del potencial de acción monofásico, y hubo una buena correlación entre ambos. No obstante durante la isquemia, se acortó la duración del potencial de acción monofásico, mientras el PRE se incrementó, produciéndose una refractariedad tras la repolarización desde los instantes más prematuros de la isquemia.

Algunos autores obtuvieron que la isquemia provocó un alargamiento de la refractariedad (Elharrar, 1977, Horacek, 1984 y Capucci, 1995, citados por Sutton *et al*, 2000).

Por el contrario, otros autores (Elharrar, 1977, Kuppersmith 1975, Ramanathan 1977, Batsford 1978, Stewart 1980, Kimura 1986 y Wolk 1998, citados por Sutton *et al.*, 2000) hallaron un acortamiento de los periodos refractarios.

Probablemente los diferentes resultados están en relación con las diferentes metodologías empleadas para medir los periodos refractarios. Así, el alargamiento o el acortamiento del PRE en algunos casos dependió de la intensidad del estímulo. Cuando se incrementó la intensidad del mismo debido a un aumento del umbral producido por la isquemia pudo ocurrir que una alta intensidad de estimulación pudo excitar inadvertidamente a una zona distante del miocardio cuyo periodo refractario era más corto y la excitabilidad por lo tanto estuviera aumentada (para revisión ver Sutton *et al.*, 2000).

Un fenómeno que se observa en la isquemia es la refractariedad post-repolarización. En estos casos, completada la repolarización, sigue estando refractario el miocardio ventricular y probablemente se debe a los efectos combinados de la falta de aporte de oxígeno y el acúmulo extracelular de potasio. Los cambios observados en la duración del potencial de acción monofásico y en la refractariedad en humanos en respuesta a la isquemia, muestran un curso temporal más rápido que en los observados en experimentación animal (Coronel *et al.*, 1997, citado por Sutton *et al.*, 2000).

En el estudio de Sutton se practicó una isquemia global (ausencia total de perfusión), lo cual es diferente a producir una isquemia con bajo flujo de perfusión o a una isquemia regional en la que se produce, en la zona isquémica central, un resultado similar (en cuanto al periodo refractario se refiere) al ocurrido cuando se produce una isquemia global.

Al parecer los resultados de Sutton y colaboradores parecieron indicar que mientras la relación existente entre la duración del potencial de acción y el periodo refractario efectivo podría persistir durante la isquemia temprana en regiones periféricas de la zona isquémica y el periodo refractario efectivo

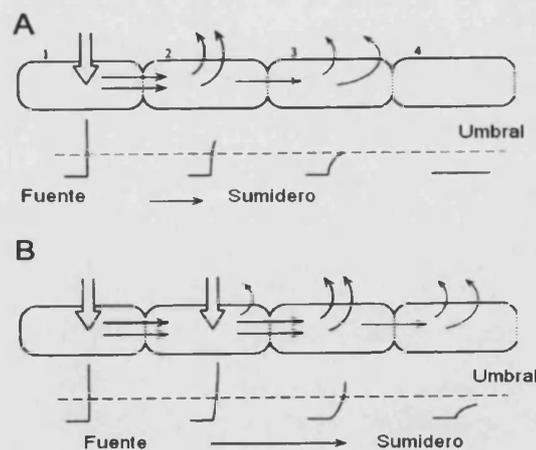
podría ser prolongado mas allá de la repolarización, en las zonas más centrales del miocardio sometido a oclusión coronaria aguda.

### 1.2.2.2. Sobre la velocidad de conducción miocárdica.

#### Aspectos básicos.

Vamos a tratar del proceso de conducción del impulso eléctrico por el miocárdico ventricular y las bases que puedan explicar cómo actúen los factores implicados en la mayor o menor velocidad de propagación del impulso.

Cuando se aplica un impulso despolarizante a un extremo de un conjunto de células dispuestas linealmente, generando un potencial de acción en ese sitio (fuente de corriente), se crea un gradiente de potencial entre la célula en la que se ha generado la despolarización propia del potencial de acción y las células más distantes (Figura 1.3.). La corriente eléctrica se mueve a lo largo de este gradiente.



**Figura 1.3.** 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 corriente despolarizante se convierte en una fuente de carga eléctrica dirigida hacia las células más distales, (sumidero de corriente). La llegada de corriente a éstas las despolariza. Para las células situadas más distalmente respecto a la fuente, el potencial electrotónico producido se halla por debajo del umbral. La cuantía del potencial umbral disminuye exponencialmente con la distancia a la que se hallan las células más distantes. No obstante, en las células adyacentes, la despolarización provoca corriente suficientemente fuerte para llevar esa célula a su potencial umbral. El inicio de un potencial de acción en estas células genera una nueva corriente de flujo "más allá", y así sucesivamente se va propagando el potencial de acción (Jalife *et al.*, 2009). Una buena parte de la corriente se utiliza para despolarizar las células "más abajo", habiendo un "efecto de carga" impuesto por las células más abajo de las que se están activando, lo cual dificulta la despolarización de las células más cercanas a las células ya despolarizadas.

El potencial de membrana en reposo está determinado por la corriente de salida de potasio, por lo tanto, cuando una célula se despolariza, el potencial de membrana se aleja del potencial de equilibrio para el potasio ( $E_K$ ). Sin embargo, sus canales de potasio permanecen permeables y por tanto se produce un flujo de salida de potasio. La corriente repolarizante se opone a la influencia de la corriente despolarizante, por lo que, en el caso del potencial de acción propagado, hay corrientes de entrada y salida en movimiento, al mismo tiempo, en diferentes puntos de la fibra. Así como en el sitio de la excitación hay una entrada de cargas positivas, en los distales las cargas abandonan la fibra, a través de una corriente repolarizante. La corriente "fuente" no es un elemento puramente pasivo en el circuito de propagación, sino que desempeña un papel activo importante, ya que de forma dinámica se opone a la despolarización de la fibra. (Jalife *et al.*, 2009).

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  $\text{Na}^+$ , a diferencia del tejido nodal en el que tal corriente la produce el movimiento de  $\text{Ca}^{2+}$ . 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 velocidad de conducción, 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 fuente, para despolarizar a las células adyacentes (Jalife, 1999).

#### Estudios previos de la isquemia sobre la velocidad de conducción miocárdica ventricular.

Se sabe clásicamente que la velocidad de conducción disminuye con el proceso isquémico y múltiples revisiones ya clásicas también recogen esta observación (Carmeliet, 1999). La velocidad de conducción se halla deprimida en circunstancias de incremento de la concentración extracelular de potasio, como ocurre en la isquemia, especialmente durante el periodo refractario relativo. Desde los primeros instantes de la isquemia, el aumento de la concentración extracelular de potasio causa inactivación de los canales rápidos de sodio y por tanto una depresión en la corriente generada durante el trazado ascendente del potencial de acción, con lo que disminuye la resistencia de la membrana y disminuye la eficacia estimuladora de la corriente de sodio, todo lo cual lleva a una caída de la velocidad de conducción del potencial de acción (Carmeliet, 1999).

Harper *et al* (1993) demostraron, en el corazón porcino aislado, que el componente dependiente de frecuencia en el estado estacionario, responsable del enlentecimiento de la conducción intraventricular inducido por la isquemia aguda, ocurre en el aumento de potasio, en ausencia de un componente dependiente de frecuencia.

El incremento de la concentración extracelular de potasio por eflujo del mismo desde los tejidos isquémicos produce una reducción en la duración del potencial de acción, lo que puede producir anomalías en la conducción del impulso (Billman, 2008).

Recientemente y mediante sistema de mapeo óptico de la actividad eléctrica del corazón, Yang *et al* (2007) detectaron cambios progresivos en los efectos electrofisiológicos producidos por la isquemia, encontrando lo que ya más clásicamente y con medios más "rudimentarios" se sabía, en el sentido de una reducción en la duración del potencial de acción de la pendiente de ascenso del mismo, la refractariedad post-repolarización y un claro enlentecimiento de la velocidad de conducción, lo que concordaba con sus resultados obtenidos mediante simulaciones por ordenador.

La isquemia también puede originar el bloqueo unidireccional de la conducción, que puede ser la causa de inicio de la reentrada.

### **1.2.2.3. Sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio.**

#### Aspectos básicos.

El tejido cardiaco no es un sincitio eléctrico homogéneo y contiene muchas discontinuidades estructurales y heterogeneidades tanto de las propiedades de la membrana celular como de los componentes estructurales (i.e. distribución de las *gap junctions*) (para revisión ver cita de Kléber y Rudy, 2004). Estos autores enfatizaron que los elementos que contribuyen a la heterogeneidad presentan una mayor importancia en un sustrato remodelado por condiciones patológicas y son los principales determinantes de la formación

de bloqueos de conducción, de la dispersión espacial de la repolarización, etc., factores estos implicados directamente en el establecimiento y perpetuación de las arritmias reentrantes.

A la heterogeneidad eléctrica se atribuye un papel fundamental en la aparición y perpetuación de las arritmias por re-entrada (para revisión ver cita de Jalife, 2000). Han y Moe (1964) citados por Jalife (2000), establecieron la importancia de la heterogeneidad en el período refractario para la inducción de fibrilación ventricular. Se había demostrado anteriormente que la fibrilación auricular podía persistir con una serie de características (p.ej.: autosostenida e independiente de su agente productor), pero únicamente si existía una inhomogeneidad en la repolarización (Moe y Abildskov, 1959). 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, como hemos dicho en el párrafo anterior, 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.

Estudios previos sobre el efecto de la isquemia sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio.

Es ya clásicamente sabido que la interrupción del flujo sanguíneo miocárdico produce cambios (para revisión ver Carmeliet, 1999) como son la disminución de la electronegatividad intracelular (despolarización), incremento de la concentración extracelular de potasio, reducción de la amplitud del potencial de acción, y si bien inicialmente aumenta la excitabilidad, este último acontecimiento contribuye a disminuir la excitabilidad y por tanto retrasa la velocidad de conducción y asimismo el tiempo de activación ventricular.

Asimismo si bien inicialmente se alarga la duración del potencial de acción, con el tiempo se produce un acortamiento en la duración del mismo.

Pues bien, los cambios anteriormente mencionados no ocurren homogéneamente en el miocardio ventricular, ocasionándose una heterogeneidad que es especialmente acusada en la zona intermedia entre el miocardio sano y la zona isquémica más dañada.

Además de las consideraciones precedentes, ha sido demostrada experimentalmente la existencia de una diferente respuesta del epicardio ventricular respecto al endocardio. En concreto, en felinos se ha evidenciado una mayor sensibilidad a la isquemia del epicardio ventricular (Gilmour y Zipes, 1980, Kimura *et al.*, 1986, 1990, 1991, Taggart *et al.*, 1988, Kimura *et al.*, 1990, Furukawa, 1991, citados por Antzelevitch *et al.*, 1991). Estudios de isquemia *in vivo* han mostrado que si bien la conducción en el epicardio se halla deteriorada y fraccionada, no ocurre igual en el tejido sub-endocárdico, que presenta una conducción más conservada (Boineau y Cox, 1973, Scherlag *et al.*, 1974, Williams *et al.*, 1974, Elharrar *et al.*, 1977, Ruffy *et al.*, 1979, citados por Antzelevitch *et al.*, 1991).

La isquemia produce una sensibilidad no homogénea entre las células endocárdicas y epicárdicas en cuanto a la activación del canal de potasio dependiente de ATP, de tal modo que la diferencia entre endocardio y epicardio estriba en que pequeñas reducciones en la concentración de ATP eran suficientes para activar el correspondiente canal de potasio (Furukawa *et al.*, 1991, citado por Billman 2008), quien como resultado de su activación generará heterogeneidad en una serie cambios: concentración extracelular de potasio, refractariedad, duración del potencial de acción (Zipes y Wellens, 1998; Kimura *et al.*, 1986; Furukawa *et al.*, 1991, citados por Billman, 2002). Precisamente la heterogeneidad en los periodos refractarios dan origen a procesos re-entrantes y a arritmias tan graves como la propia fibrilación ventricular.

Precisamente la heterogeneidad que produce la isquemia en términos de dispersión del periodo refractario 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 reentrada transparietal. Al inicio de la taquicardia ventricular contribuyen, tanto las diferencias en el flujo sanguíneo coronario entre las regiones isquémicas y las sanas, como las respuestas celulares heterogéneas a la isquemia.

#### **1.2.2.4. Sobre el proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular inducida.**

Las alteraciones en el patrón de activación miocárdica durante el proceso de la fibrilación ventricular pueden estar ligadas a modificaciones electrofisiológicas que afectan a la duración del potencial de acción, al potencial de acción monofásico y a la refractariedad como el acortamiento de la duración del potencial de acción monofásico (para revisión ver Chorro *et al.*, 2000). La isquemia, como hemos visto en los apartados anteriores modifica en diferentes formas las propiedades y/o parámetros fisiológicos que acabamos de mencionar y que condicionan el proceso de activación miocárdica, y es efectivamente, a través de tales modificaciones cómo la isquemia aguda del miocardio implica una alteración de los patrones de activación durante la fibrilación ventricular.

En condiciones normales, un único impulso generado en el nodo sinusal se propaga dando lugar a una onda de activación que viajando a hacia las aurículas y los ventrículos los despolariza dejando atrás tejido inexcitable. Esta onda se extingue en el momento que alcanza el músculo cardíaco de trabajo y por tanto encontrándose rodeada de un tejido inexcitable que se halla aún en estado refractario. No obstante, si el proceso de activación persiste sin extinguirse en una zona del corazón, y a lo largo de este tiempo el tejido vecino recupera su excitabilidad el mismo impulso puede volver a "re-excitar" localmente o en su totalidad al corazón. Diversos tipos de manipulaciones, como es el caso del estiramiento local del miocardio ventricular generan

modificaciones del patrón fibrilatorio ventricular y paralelamente un aumento de la complejidad de la activación durante la FV.

Bradley *et al.* (2011) en un estudio realizado en pacientes sometidos a cirugía cardíaca y a los que se les indujo FV, se investigó el efecto de la inevitable isquemia global seguida de reperfusión, sobre la complejidad de los patrones de activación eléctrica del miocardio ventricular, que esta aumentaba y que no era revertida con la consiguiente restitución del flujo sanguíneo coronario, pese a la restitución de la frecuencia de activación durante la FV.

Massé *et al.* (2009) estudiaron ocho corazones humanos perfundidos según la técnica de Langendorff perfundidos que fueron explantados de pacientes con miocardiopatía y que se sometieron a trasplante; corazones a los que se les provocó fibrilación ventricular. Estos autores observaron que la isquemia miocárdica global lleva a la progresivos cambios espacio-temporales en el patrón de activación eléctrica del epicardio y el endocardio; y que probablemente son la resultante de una complicada interacción entre la velocidad de conducción, excitabilidad, refractariedad, y longitud de onda. Se observó un retraso en la frecuencia de activación local y gradiente en las frecuencias de activación entre el endocardio y el epicardio. Hubo diferencias concomitantes entre el epicardio y el endocardio con respecto a ruptura de ondas, con mayor ocurrencia de las mismas en el epicardio, durante la isquemia. Estos cambios revirtieron tras una corta reperfusión.

### **1.2.3. Efectos producidos por el ejercicio físico crónico sobre algunas de las alteraciones producidas por la isquemia miocárdica aguda.**

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

La práctica de ejercicio físico regular afecta a muy diversos órganos o sistemas, así como a funciones: Sistema nervioso autónomo, tejido muscular, aparato circulatorio (corazón y vasos), y sus funciones hemodinámicas centrales, y vasculares periféricas, máxima captación de oxígeno, y capacidad para la ejecución del ejercicio físico submáximo. Todo ello es lo que comúnmente aceptamos que constituyen la situación o estado de entrenamiento, que permite al individuo realizar ejercicio de intensidad progresivamente mayor con menores frecuencias cardíacas a cualquier nivel submáximo de ejercicio de las que se hubieran alcanzado en una situación de "no entrenado" (Fletcher *et al.*, 2001). Todo ello implica 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.

Cabe citar como importantes modificaciones de carácter bioquímicas:

a) en el caso de la realización del entrenamiento anaeróbico, una mayor capacidad de soporte frente a concentraciones de lactato en sangre, incrementadas durante ejercicios máximos (Jacobs, 1987); b) aumento de la reserva de los sustratos anaerobios y del dispositivo enzimático que opera sobre ellos (Houston, 1977); c) menor uso del glucógeno y del acúmulo 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, (Tonkonogi y Sahlin, 2002) manifiestan que después del entrenamiento la sensibilidad de la mitocondria al ADP está

## Introducción

---

disminuida mientras que el efecto de la creatina sobre la respiración está aumentada, lo que conlleva un mejor control de la producción energética aeróbica y por lo tanto mayor capacidad para la fosforilación oxidativa (Holloszy y Coyle, 1984); e) incremento en las concentraciones de fosfágenos y ATP, y de la mioglobina (Pattengale y 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 tipo de metabolismo) con respecto a otro tipo; i) reducción de la grasa corporal y aumento de la masa proteica muscular, con pérdida de peso (Zuti y Golding, 1976); j) incremento en la captación y unión del  $\text{Ca}^{2+}$  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 y Scheuer, 1985).

En general, como enfatizan Åstrand *et al.*, (2003) 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.

Cabe citar como modificaciones respiratorias importantes, las siguientes: a) aumento del 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).

Las adaptaciones hematológicas, como ocurre con el volumen plasmático, redundarán en un mejor trofismo tisular y una más adecuada termorregulación (Covertino, 1982). El incremento del hematocrito tras el ejercicio es menor en el entrenado. El ligero aumento cuantitativo de los hematés probablemente sea la consecuencia de 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).

Cabe destacar de una manera muy especial a los procesos de adaptación que tienen lugar en el 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); y b) respecto a la sensibilidad a las catecolaminas, Molé, 1978 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985), relata que en sujetos entrenados, la sensibilidad a las mismas está aumentada, lo que puede deberse a un incremento del estado inotrópico, ya que encontró un aumento en la velocidad de contracción relacionado con la administración de simpaticomiméticos.

Scheuer y Tipton, (1977) relataron un aumento del tono vagal parasimpático como consecuencia de la realización regular de ejercicio físico. Los propios cambios del tono simpático se acompañan además de un incremento del tono parasimpático. Dixon *et al.*, 1992 (citado por Kenta 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 y 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, volvieron a objetivar que el entrenamiento producía un aumento en los índices de la actividad vagal cardiaca. Seals y 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 y Tipton (1987) concluyeron en un estudio realizado en ratas que el control barorreflejo de la presión arterial era atenuado por efecto del entrenamiento.

Respecto a las adaptaciones concernientes al sistema endocrino, matizaremos en primer lugar que estas se producen con la realización de ejercicio físico de larga duración, de años, y no 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, 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.*,1998); 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”.

A continuación trataremos por separado y de modo especial a las modificaciones cardiovasculares que se producen como consecuencia de la realización de ejercicio físico crónico.

#### **1.2.3.1.1. Efectos cardiovasculares: generalidades.**

Es de todos conocido que una de las manifestaciones más evidentes que se producen cuando una persona realiza ejercicio físico durante periodos de tiempo relativamente breves, es la que se da tanto en corazón (en la frecuencia cardiaca), como en el sistema vascular (a nivel de la presión arterial.

Se puede aumentar el volumen minuto o gasto cardiaco a expensas de un aumento en el gasto sistólico, en la persona entrenada, más que a expensas de un incremento de la frecuencia cardiaca, ya que la frecuencia cardiaca máxima normalmente no aumenta en las personas sanas (Hartley *et al.*, 1969). Sin embargo algunos autores no relacionaron el aumento del  $VO_{2max}$  solamente a adaptaciones cardiovasculares, sino también a un aumento en la capacidad respiratoria celular, es decir, a la capacidad mitocondrial (Schaible y Scheuer 1985).

El aumento del volumen minuto cardiaco es una manifestación de la adaptación cardiovascular que es posible conseguir 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.

Respecto al incremento del gasto sistólico por el entrenamiento, Schaible y Scheuer (1985), lo atribuyeron al mecanismo de la regulación intrínseca heterométrica o Ley de Frank-Starling, ya que ha sido publicado que la realización de ejercicio físico produce un aumento de las cámaras cardiacas, y por tanto un aumento del estiramiento en la telediástole o precarga debido a un incremento de la capacidad para acoger un más elevado retorno venoso, y todo ello determinará un aumento de la eyección ventricular durante la sístole. 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 cardiaca y con el mayor llenado de la misma por la sangre. También el aumento del estado inotrópico o contractilidad (velocidad de acortamiento para carga cero), es otro mecanismo que se ha tratado de implicar en el aumento del volumen sistólico, aunque la evidencia de un aumento del estado inotrópico en sujetos entrenados durante el ejercicio es algo contradictoria. Los estudios de Stein *et al.*, 1978 y Anholm *et al.*, 1982 (tomado de Schaible y 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 y Scheuer, 1985), no mostró diferencias en este acortamiento en reposo durante el ejercicio. Rerych, 1978, (tomado de Schaible y 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 y Scheuer, 1985) demostraron, respectivamente, un decremento en reposo o incremento durante la actividad en los valores de la velocidad de acortamiento.

Son evidentes los cambios morfológicos que produce el entrenamiento aumento del tamaño miocárdico (Schaible y Scheuer, 1985), junto con ciertos cambios en el electrocardiograma y en el fonocardiograma. Estos cambios pueden ocurrir en semanas (Saltin *et al.*, 1968), pero el mantenimiento del aumento del tamaño cardíaco incluso después de cierto tiempo de relativa inactividad, requiere haberse entrenado intensivamente durante varios años (Blomqvist y 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 y Saltin (1983). La realización de ejercicios, tanto de tipo dinámico como isométrico, produce 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 y 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 y 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 lo concerniente también a las adaptaciones cardiovasculares relativas a la circulación coronaria, se ha descrito un aumento en el diámetro

de la luz arterial en las arterias coronarias principales (Currens y White, 1961) en atletas de resistencia; lo que se corresponde con investigaciones realizadas en animales de experimentación (Tepperman y Pearlman, 1961). El aumento en la vascularidad coronaria se ha planteado que discurre paralelamente al aumento del tejido miocárdico (Schaible y Scheuer, 1981, citados por Blomqvist y Saltin, 1983); lo que difiere a lo indicado por otros autores (Blomqvist y Saltin, 1983) quienes han reportado que se produce un aumento de la vascularización coronaria aún sin aumentos en la masa miocárdica.

El ejercicio físico crónico aerobio puede producir un aumento tanto en el flujo sanguíneo y capacidad de intercambio capilar así como en la capacidad de difusión coronaria tal y como ha sido observado en animales (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 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).

¿Qué efectos produce el ejercicio físico regular sobre la presión arterial?. Parece ser que se hallan condicionadas por la edad, el nivel de aptitud física y el hecho de que la persona sea normotensa o se halle aquejada de hipertensión arterial. Si el sujeto no es hipertenso previamente a la ejecución de un programa de ejercicio físico regular, 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).

#### **1.2.3.1.2. Efectos del ejercicio físico sobre la refractariedad.**

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

En general no hay mucha información sobre el efecto del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad intrínseca ventricular. Such *et al.*, 2002, observaron tras la aplicación de un protocolo de ejercicio físico sobre *treadmill* observaron que el período refractario funcional ventricular fue mayor en los animales entrenados.

Estudios posteriores han reforzado los resultados respecto al efecto del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad intrínseca usando protocolos de entrenamiento similares a los usados en el estudio que acabamos de citar. Pudiéndose evidenciar un aumento del período refractario 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. También 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 y Saltin, 1983), de que la acetilcolina acorta el período refractario efectivo auricular (Farges *et al.*, 1977) y, por tanto, ello supone un efecto opuesto al observado por nosotros en corazón aislado. 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.

Más recientemente estudios realizados por nuestro grupo usando protocolos de menor intensidad que los usados en alguno de los estudios que

acabamos de citar (Such *et al.*, 2002 y López *et al.*, 2005b), demostraron un aumento del periodo refractario efectivo y funcional tras la aplicación de un protocolo de carrera en cinta rodante, de menor intensidad (Such *et al.*, 2008), y en el estudio más reciente un incremento del periodo refractario funcional, usando el mismo protocolo de entrenamiento (Zarzoso *et al.*, 2011).

Otros autores han realizado investigaciones similares, analizando el efecto del entrenamiento sobre la duración del potencial de acción (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 duración del potencial de acción en las células subendocárdicas (Natali *et al.*, 2002).

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

Brorson *et al.* (1976), investigando en humanos los efectos del entrenamiento sobre el potencial de acción monofásico y la refractariedad auricular, observaron un aumento de la duración del potencial de acción 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 duración del potencial de acción 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 un aumento en la duración del PA en el grupo entrenado, explicado con los mismos mecanismos.

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 y Serratosa, 1998), 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 y Serratosa, 1999).

#### **1.2.3.1.3. Efecto del ejercicio físico sobre la velocidad de conducción.**

El ejercicio físico a través de la activación simpática que implica, produce (Opie, 2004): 1. Desviación del foco marcapasos desde las células P dominantes del nodo sino auricular a las células transicionales, que tienen un potencial de membrana más electronegativo. A este potencial electronegativo se activa la corriente despolarizante de las células del nodo sinusal  $I_f$ , activándose así la función marcapasos del citado nodo; 2. Aumento de la corriente de entrada de  $Ca$ ,  $I_{Ca-L}$  también despolarizante y que aumenta la pendiente de despolarización diastólica y por tanto la actividad marcapaso; y 3.

Aumento de la corriente de salida  $I_k$ . Comoquiera que en el nodo aurículo-ventricular operan corrientes iónicas similares, la activación simpática producirá asimismo efectos similares lo que conlleva a un incremento de la pendiente de despolarización diastólica, y por tanto, a un aumento de la velocidad de conducción.

El efecto del ejercicio físico crónico, a través de la activación parasimpática que implica origina (Opie, 2004): Por una parte mecanismos ligados a proteínas G y a AMPc y a la apertura de los canales de  $K^+$ , originan un cierre de los canales de calcio que enlentecerá la pendiente de despolarización del nodo AV y por tanto la velocidad de conducción a través del mismo. Por otra parte la formación de NO por la estimulación de los nervios parasimpáticos cardiacos, origina también el cierre de los canales de calcio y consecuentemente el enlentecimiento del impulso a través del nodo AV. De hecho estudios previos han mostrado una depresión en la conducción AV en atletas, evidenciada por un bloqueo aurículo-ventricular de primer grado y en menor medida, de segundo grado. (Talan et. al, 1982; Viitasalo *et al*, 1982 y Viitasalo *et al* 1984).

En lo que respecta al sistema de His-Purkinje la activación simpática incrementa la automaticidad y aumenta la velocidad de conducción, por lo que indirectamente y a través de la acción del sistema nervioso simpático debido al ejercicio, este ejercerá los mismos efectos citado sobre las células del sistema de conducción His-Purkinje. En cuanto a la estimulación parasimpática, ejerce escaso efecto sobre dicho sistema (para revisión ver Westfall y Westfall, 2007).

Respecto a la modificación de la velocidad de conducción en el miocardio ventricular, es muy escasa la información de que se dispone respecto a ese aspecto, cabe considerar algunos efectos del ejercicio físico sobre la velocidad de conducción a través de la activación adrenérgica que

supone la respuesta aguda al ejercicio. Como ha sido apuntado en líneas anteriores, uno de los factores ligados a la propagación del impulso eléctrico es la amplitud del potencial de acción que depende de la magnitud de la corriente rápida de entrada de  $\text{Na}^+$  al cardiomiocito y de su papel como origen de fuente de corriente. En este sentido existen controversias respecto a la estimulación adrenérgica sobre las corrientes de  $\text{Na}^+$  ya que si bien hay estudios en los que se le atribuyen a la estimulación  $\beta$ -adrenérgica efectos asimismo estimuladores de las corrientes de  $\text{Na}^+$ , otros estudios han hallado efectos inhibidores. (Para revisión ver Li y Chiamvimonvat, 2009).

Matsuda *et al.* (1992) usando técnicas de fijación de voltaje en célula entera mostraron que el agonista adrenérgico isoproterenol, incrementaba la corriente  $I_{\text{Na}}$  a través de una vía independiente del AMP cíclico. Estos autores sugirieron que a través de una vía doble directa e indirecta ligadas a proteínas G reguladoras se producía un incremento de la  $I_{\text{Na}}$  cardíaca en el corazón de conejo. Aunque fue publicado que el isoproterenol disminuyó el componente rápido inicial de la velocidad de ascenso del potencial de acción en el miocardio ventricular despolarizado de cobaya, posteriormente se observó un incremento en  $I_{\text{Na}}$  en miocitos cardíacos de cobaya. (Para revisión ver Matsuda *et al.*, 1992).

Las observaciones anteriormente comentadas sirven de base para poder deducir los mecanismos que operan sobre la velocidad de conducción miocárdica durante la realización de ejercicio físico. Estos mecanismos pueden explicar el incremento que se produce por efecto de los neurotransmisores adrenérgicos, sobre la velocidad de conducción en territorios cardíacos como el miocardio de trabajo auricular y ventricular (Tse *et al.*, 1976 citado por Rardon y Bailey, 1983; Pinto, 1989; Ganong, 2001 y Hall, 2011).

Respecto a los efectos del entrenamiento sobre la velocidad de conducción en un corazón aislado y por tanto no sometido a la influencia central del sistema nervioso autónomo tanto simpático como parasimpático, y tampoco sometido a la influencia de los diversos componentes que se hallan en la sangre que irriga el miocardio (v.g.: hormonas) disponemos de poca información al respecto.

No obstante lo que acabamos de apuntar, han sido realizadas algunas observaciones previas, por nuestro grupo de trabajo, en las que parece que el ejercicio físico crónico pueda de alguna manera ejercer algún efecto sobre la velocidad de conducción en el miocardio ventricular. (Such-Miquel *et al*; 2011). Estas observaciones que acabamos de citar contrastan con las primeras analizadas por nosotros en las que no encontramos diferencias entre grupos (control y entrenado) cuando sometimos a los animales a protocolos de ejercicio de mayor intensidad que el utilizado por nosotros en el presente trabajo (López, 2008) o con protocolos similares al nuestro. (Pelechano, 2007).

#### **1.2.3.1.4. Efecto del ejercicio físico sobre la heterogeneidad electrofisiológica.**

Aunque existen trabajos de investigación en los que se ha investigado el efecto del ejercicio físico sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio que origina la oclusión arterial coronaria aguda (Hajnal *et al.*, 2005), curiosamente parece disponerse de menor información sobre los efectos del entrenamiento sobre el parámetro citado pero en condiciones normóxicas. No obstante disponemos de algunos datos obtenidos por nuestro grupo investigador. Pelechano *et al.* (2007) usando como parámetro marcador de heterogeneidad electrofisiológica, el coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular inducida sin interrumpir la perfusión. Esta es una medida de la dispersión, por el miocardio ventricular, del valor de la frecuencia dominante de la FV. En opinión de algunos autores (Chorro *et al.*, 2000), indirectamente es una medida relacionada con la refractariedad y por

## *Introducción*

---

tanto de alguna manera representa la dispersión de la refractariedad; con lo cual efectivamente se tiene una información de la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio.

Aunque nosotros no disponemos de más información respecto al efecto del ejercicio físico sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio en circunstancias de normal perfusión o de perfusión en condiciones normóxicas, sí que de una manera indirecta podemos hacer alusión a otros trabajos de investigación que parecen indicar de una manera indirecta que el entrenamiento disminuye la heterogeneidad. En este sentido hay que decir que Zaitsev et al. (2000) relataron, tras realizar experimentos realizados en corazón aislado de oveja a los que se les provocó fibrilación ventricular, que el coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la FV se correlacionaba directamente con la frecuencia dominante de la fibrilación, de tal modo que a una frecuencia dominante mayor le correspondía un mayor coeficiente de variación y por tanto ello indicaba una mayor heterogeneidad. Sobre la base de este interesante resultado podemos suponer razonablemente que otros trabajos, en los que se ha investigado el efecto del ejercicio físico crónico sobre la frecuencia dominante de la fibrilación, nos dan una información indirecta y adicional a las primeras observaciones comentadas en este apartado. Así, Such et al. (2008) relataron una disminución de la frecuencia dominante de la fibrilación en animales sometidos al mismo protocolo de entrenamiento que el usado en la presente tesis. Zarzoso et al. (2011) han relatado un disminución de la frecuencia dominante de la FV en los animales entrenados, también con el mismo protocolo de ejercicio en cinta rodante.

Parece que, a la vista de las anteriores observaciones, que el ejercicio físico crónico disminuye la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio. Esto coincide además con muy recientes observaciones realizadas en nuestro laboratorio aún no publicadas.

#### **1.2.3.1.5. Efecto del ejercicio físico sobre el proceso de activación eléctrica del miocardio.**

Acabamos de ver que el ejercicio físico puede actuar sobre una serie de propiedades y/o parámetros como son la refractariedad, velocidad de conducción y heterogeneidad electrofisiológica del miocardio, que condicionan el proceso de activación miocárdica durante la FV (Chorro *et al.*, 2000).

En el modelo de fibrilación ventricular sin interrumpir la perfusión, como es que se ha usado en la presente tesis, el análisis del proceso de activación durante la arritmia, es un valioso instrumento que nos permite obtener información acerca de la suma de mecanismos que pueden operar sobre la mayor o menor complejidad de la activación miocárdica y que orientan acerca de la mayor o menor estabilidad eléctrica que puede derivarse de un tipo de intervención sobre el corazón, ya sea lesiva, de tipo farmacológico, físico y/o mecánico, derivada de un proceso de adaptación a una nueva situación fisiológica como es el ejercicio físico regular. Esta última situación es la que se ha pretendido investigar, de una forma muy especial en este trabajo de investigación.

Poco o nada podemos indicar en el apartado presente en lo que respecta al efecto del entrenamiento sobre el proceso de activación del miocardio durante la fibrilación ventricular. La información que puede deducirse sobre los efectos del ejercicio a nivel de los parámetros que pueden modificar el mencionado proceso, es indirecta y en cierto modo especulativa. Precisamente por todas estas razones nuestra atención se ha centrado sobre este tema, en condiciones de perfusión normóxica en un corazón aislado y en el mismo corazón sometido a isquemia regional aguda.

### **1.2.3.2. Modificaciones de las propiedades anteriormente citadas producidas por la isquemia: Efectos del ejercicio físico crónico.**

Se ha investigado el efecto del ejercicio físico crónico sobre las consecuencias de la isquemia sobre alguno de los parámetros electrofisiológicos citados a lo largo de esta introducción.

En lo que respecta a cómo el entrenamiento físico de resistencia modifica los efectos deletéreos de la isquemia regional aguda, Such-Miquel *et al.* (2007), en un modelo de corazón aislado de conejo entrenado por el mismo procedimiento que el usado en la presente tesis, hallaron que la frecuencia dominante de la FV se mantiene mejor tras la oclusión arterial coronaria en animales entrenados que en los no sometidos a entrenamiento. La frecuencia dominante de la FV es un parámetro que se correlaciona con la refractariedad, en opinión de algunos autores (Chorro *et al.*, 2000). La caída de la frecuencia dominante de la FV tras la oclusión coronaria aguda, es interpretada como un efecto deletéreo. Por tanto cabe suponer que el incremento de la refractariedad que ocurre tras la oclusión coronaria (evidenciado indirectamente por el decremento de la frecuencia dominante de la fibrilación), que en esta situación hay que interpretarlo como un efecto de deterioro miocárdico, fue prevenido en los animales sometidos a protocolo de ejercicio. Zarzoso *et al.* (2009), en conejos, obtuvieron similares resultados y con la misma metodología experimental que los anteriores autores.

Más recientemente, Such *et al.* (2011) han publicado que el entrenamiento en conejos, aumenta el periodo refractario funcional medido durante la fibrilación ventricular, y que la oclusión arterial coronaria incrementa la refractariedad, tanto en animales entrenados como no entrenados, siendo significativamente mayor el alargamiento de la refractariedad funcional en los controles, lo que ha sido interpretado por dichos autores como que el

entrenamiento aumenta la refractariedad, lo que se halla en consonancia con investigaciones previas (Such *et al.*, 2002 y 2008). Por otra parte el alargamiento del periodo refractario funcional tras la oclusión arterial coronaria aguda, se interpreta como un efecto deletéreo, y que es claramente menor en los conejos que se sometieron a un protocolo de ejercicio físico crónico.

También el efecto de la isquemia aguda sobre la velocidad de conducción miocárdica ventricular puede ser modificado por el ejercicio físico crónico. Parra *et al.* (2010) observaron una tendencia a disminuir el efecto retardador de la velocidad de conducción ejercido por la isquemia aguda experimental, en conejos sometidos al mismo protocolo de entrenamiento que el seguido aquí. Si bien el efecto del entrenamiento no llegó a ser significativo, sí tendió, como hemos apuntado, a serlo e influyó sobre el producto de este parámetro por el periodo refractario funcional, es decir lo que llamamos la longitud de onda del proceso de activación miocárdica. Como es sabido, este producto está directamente relacionado con la aparición de fenómenos re-entrantes, y por tanto con la propia fibrilación ventricular.

Respecto al efecto del ejercicio físico sobre la modificación de la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio que produce la isquemia, encontramos las siguientes observaciones: Hajnal *et al.* (2005) utilizaron un electrodo compuesto con el fin de evaluar los cambios en el grado de homogeneidad de la activación eléctrica en el miocardio isquémico de los perros entrenados físicamente. Estos autores encontraron que la falta de homogeneidad de la conducción, aumentó notablemente durante la isquemia, y era mucho menos evidente en los perros que se habían entrenado con anterioridad. Este efecto protector cuando se abolió al inhibir a la sintasa de óxido nítrico, con lo que sugirieron la participación del óxido nítrico en el mejor mantenimiento de la mejor homogeneidad tras la isquemia regional aguda.

En nuestro modelo de corazón aislado de conejo sometido a isquemia regional aguda, Parra *et al* (2009) encontraron que la heterogeneización electrofisiológica del miocardio tras la oclusión arterial coronaria, aunque ligeramente, fue menor en el caso de los conejos entrenados que en los control.

Respecto al efecto del ejercicio físico crónico sobre el proceso de activación eléctrica del miocardio tras la isquemia regional aguda, aunque de modo indirecto podemos hacer una aproximación, dadas las modificaciones que ejerce el efecto del entrenamiento sobre los efectos de la isquemia aguda a nivel de la refractariedad, velocidad de conducción y heterogeneidad miocárdica, no disponemos de información al respecto. Precisamente y como en apartados anteriores hemos apuntado, esta ha sido la razón fundamental que ha justificado la realización del presente trabajo de investigación.

#### **1.2.4. Consideraciones sobre el uso del análisis de la fibrilación ventricular para el estudio de las variaciones de las propiedades electrofisiológicas del miocardio.**

##### **1.2.4.1. Generalidades sobre la fibrilación ventricular.**

Se trata de una actividad eléctrica desordenada que se traduce mecánicamente en una contracción ventricular rápida y descoordinada, que genera un bombeo muy reducido o ninguno de sangre, lo que lleva a la muerte (Jalife 2006). Electrocardiográficamente se caracteriza por la presencia de ondas irregulares y de contorno y amplitud variables. No hay complejos QRS, segmentos ST ni ondas T diferenciados y de pequeña amplitud en el caso de la FV prolongada. Estas ondas de pequeña amplitud que en ocasiones se confunden con una asistolia, identifican un mal pronóstico de los pacientes (Braunwald, 2006). La FV es precedida con frecuencia por un episodio de

taquicardia ventricular. La forma de provocar el cese de la FV es la desfibrilación mediante choques eléctricos.

Las estrategias para el tratamiento de la FV, la prevención y el tratamiento, pasan por conocer los mecanismos de inicio de la arritmia. El fenómeno de reentrada es básico y explica el mecanismo electrofisiológico de gran parte de las taquiarritmias ventriculares. Andreas Vesalio 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) citado por 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's (1984 y 1987) citados por Jalife (2000) 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. 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. Estas aportaciones han sido más recientemente confirmadas por diversos autores (Alessie et al., 1973, 1976, 1977 y Smeets, 1986, citados por Kleber y Rudy, 2004).

Mines (1913 y 1914, citado por Kléber y 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 reentrada en corazones portadores de vías

## *Introducción*

---

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 reentrada era dependiente de la velocidad de conducción y del periodo refractario.

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

¿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 hay una actividad absolutamente desorganizada durante la fibrilación ventricular 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 y 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* (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 fibrilación auricular, 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 y Gray, (1996) y Jalife et al.,(1998) citados por Jalife (2000).

La fibrilación ventricular, habitualmente provocada por una forma compleja de reentrada, puede producirse cuando múltiples frentes de onda reentrantes se desplazan simultáneamente, colisionando, emergiendo y ramificándose a lo largo de rutas constantemente cambiantes (Zipes & Jalife 2006). Los rotors representan un mecanismo arrítmico demostrado inicialmente en modelos computacionales y el mecanismo que explique la FV. Los rotors no son estables y se encuadran en las reentradas aleatorias.

**1.2.4.2. Métodos de análisis de la fibrilación ventricular. Consideraciones especiales sobre el análisis de la FV en el dominio del tiempo y su utilidad para el estudio del proceso de activación eléctrica del miocardio durante la arritmia.**

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, el cual ha sido abordado utilizando métodos y técnicas diversas 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 utilización de técnicas situadas en el dominio de la frecuencia ha ampliado la capacidad de análisis de las ondas fibrilatorias obtenidas con el ECG de superficie o mediante electrodos 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 VV durante la FV proporciona información superponible (Chorro FJ et al., 2000) y son instrumentos útiles para caracterizar las acciones de fármacos u otros procedimientos terapéuticos.

En lo que respecta al análisis de la FV en el dominio del tiempo, esto es, la determinación de los intervalos entre electrogramas que expresan la activación eléctrica durante la fibrilación ventricular y que requieren de los diversos tipos de marcado de las señales, adquiere especial relevancia cuando se aborda la necesidad de construir mapas de activación que reflejan de manera lo más fiel posible la realidad electrofisiológica del corazón, lo que se

constituye en el objetivo fundamental de la presente tesis. Pero además también es útil para la determinación del periodo refractario durante la fibrilación ventricular. A diferencia del test del extraestímulo ventricular, que también nos permite la determinación de la refractariedad, la determinación de este parámetro durante la FV constituye una estimación bastante real de la refractariedad en una situación que excluye una estimulación externa al propio corazón, como es el caso del test del extraestímulo. La determinación del periodo refractario durante la FV 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.

El estudio del proceso de la activación eléctrica del corazón durante la FV, reviste especial interés no solamente desde el punto de vista fisiopatológico sino también por lo que supone de aproximación indirecta al conocimiento de ciertas propiedades electrofisiológicas del miocardio. Las alteraciones en el patrón de activación miocárdica durante el proceso de la fibrilación ventricular pueden estar ligadas a modificaciones electrofisiológicas que afectan a la duración del potencial de acción, al potencial de acción monofásico y a la refractariedad.

Por una parte la perpetuación de los procesos fibrilatorios se ha relacionado con la existencia de un número suficiente de frentes de onda reentrantes simultáneos que hacen posible que el proceso fibrilatorio no se extinga espontáneamente. Si disminuye este número aumentaría la probabilidad de cese y esta disminución puede originarse aumentando del tamaño de los circuitos reentrantes. El tamaño de estos circuitos se ha relacionado con la longitud de onda del proceso de activación (período refractario x velocidad de conducción), con la duración de la ventana de excitabilidad y con la curvatura de los procesos de activación. Otros factores como la excitabilidad de las células miocárdicas determinan también el número de frentes de onda simultáneos. En relación con esta hipótesis, la reducción del número de frentes de onda daría lugar a la interrupción de la FV. Por otra parte

otras hipótesis relacionan el inicio de la FV con la existencia de ondas espirales de excitación y su desestabilización conduciría al proceso fibrilatorio.

Entre la tecnología desarrollada para su estudio, los sistemas de cartografía con electrodos múltiples, han supuesto el soporte metodológico de numerosos trabajos sobre la fibrilación ventricular en busca de mecanismos en los que se sustenta la arritmia y es indispensable que para continuar profundizando sobre dichos mecanismos se desarrollen nuevos y mejores sistemas de análisis de la señal fibrilatoria basados en mapeo cardíaco, que permitan no sólo realizar el estudio de una manera “automática” sino también rápida y eficaz.

#### **1.2.5. Consideraciones finales: Resumen de la justificación de los objetivos. Hipótesis de trabajo.**

Teniendo en cuenta que:

1) la isquemia aguda del miocardio ventricular produce modificaciones sobre propiedades y o parámetros electrofisiológicos, como son la refractariedad, velocidad de conducción heterogeneidad, proceso de la activación miocárdica durante la fibrilación ventricular; 2) que la realización de ejercicio físico crónico ha podido modificar en un sentido protector o beneficioso, alguna de los efectos inducidos por la isquemia que acabamos de comentar; 3) que hay muy poca información sobre el efecto del ejercicio crónico sobre las modificaciones que origina la isquemia regional aguda sobre alguno de los parámetros citados, y muy en especial sobre el proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular; y 4) la importancia que puede tener el conocimiento de este último proceso en el contexto de las preguntas planteadas acerca de los mecanismos básicos por los cuales el ejercicio físico regular ejerce un efecto protector frente a la muerte súbita, nos ha parecido de interés investigar el efecto de la aplicación de un protocolo de ejercicio físico

crónico en conejos, sobre las modificaciones que produce la isquemia regional aguda, en el corazón aislado del citado animal, a nivel de la refractariedad miocárdica ventricular, las características de la fibrilación ventricular en el dominio del tiempo y el proceso de la activación eléctrica del miocardio ventricular, partiendo de la siguiente hipótesis de trabajo:

El ejercicio físico crónico: 1) aumenta la refractariedad miocárdica ventricular y disminuye el incremento adicional de la misma que se produce como consecuencia del deterioro miocárdico debido a la agresión isquémica; 2) modifica las características de la FV en el dominio del tiempo y disminuye las manifestaciones que se derivan del efecto deletéreo de la isquemia regional aguda; y 3) disminuye la complejidad de la activación miocárdica en el corazón normalmente oxigenado y disminuye asimismo la complejidad de la activación ventricular tras la oclusión coronaria aguda.

#### **1.2.6. Plan de trabajo.**

Para cubrir los objetivos expuestos diseñamos el siguiente plan de trabajo:

- 1) Entrenar a un grupo de conejos en cinta rodante según un protocolo previamente establecido.
- 2) Estabular a un grupo de conejos, al que no se le entrenará, un período de tiempo igual al de entrenamiento.
- 3) Finalizado el período de entrenamiento y/o de estabulación, se procederá al sacrificio de los animales para la extracción y posterior aislamiento del corazón.
- 4) En el corazón aislado se inducirá fibrilación ventricular, sin interrumpir la perfusión se determinará: el periodo refractario funcional durante la fibrilación ventricular durante la fibrilación ventricular inducidos, parámetros de la fibrilación analizados

en el dominio del tiempo (media, desviación estándar, mediana, valores máximo y mínimo de los intervalos VV).

- 5) Tras proceder a la oclusión coronaria aguda, determinar los parámetros mencionados en el apartado anterior.
- 6) Aplicar los correspondientes tests de inferencia estadística para conocer la significación correspondiente a los parámetros investigados y extraer las conclusiones más adecuadas.

## **CAPÍTULO 2**

---

---

### **Material y métodos**

## *Material y Métodos*

---

## 2.1. Material.

### 2.1.1. Animales de experimentación.

El estudio se realizó en corazones aislados de conejos machos de  $1.9 \pm 0.4$  Kg de peso de la raza Nueva Zelanda, alimentados *ad libitum*.

### 2.1.2. Reactivos.

Los reactivos utilizados en cada uno de los experimentos fueron los siguientes:

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

### 2.1.3. Aparatos.

Los aparatos utilizados fueron:

#### a) Sistema de estimulación:

- Electrodo bipolares de estimulación (de acero inoxidable, diámetro = 0.125mm, distancia interelectrodo = 1mm).

- Estimulador Grass S88 (Grass Instruments<sup>®</sup>, Inc., Quincy, MA, USA), que permite emitir pulsos de corriente, en el que podemos controlar voltaje/intensidad y tiempo de duración del estímulo (Fig. 2.1.)
- Sistema computarizado conectado al estimulador para estimulación programada.



Figura 2.1. Estimulador Grass

**b) Sistema de registro:**

- Electrodo bipolares de registro (de acero inoxidable, diámetro = 0.125mm, distancia interelectrodo = 1mm).
- Placa con 256 electrodos unipolares de acero inoxidable. El electrodo indiferente consiste en una placa de Ag/AgCl ubicada sobre la arteria aorta.
- Se utilizó además para la obtención de registros un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca (MAPTECH<sup>®</sup>, Waalre, Holanda) (Fig. 2.2)



**Figura 2.2.** Sistema de adquisición **MapTech**. Caja de amplificadores y digitalización con los conectores de los electrodos (izquierda) y “software” **PaceMap**® de representación y análisis (derecha).

### c) “Software”:

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

Una vez almacenados en el PC los registros temporales seleccionados, es posible su visualización por grupos de canales y la realización de diversas operaciones relacionadas con la cartografía de la actividad eléctrica cardíaca o “mapeo” cardíaco.

**PaceMap**®: “Software” del sistema de “mapeo” cardíaco MapTech (año 2002). Fue utilizado para la adquisición y registro de las señales y, debido a una limitación en los cálculos estadísticos, se programó una aplicación en MatLab® para poder visualizar los histogramas de los intervalos VV de la FV y calcular los parámetros estadísticos, a partir de un fichero ASCII de marcas exportadas. También se utilizó para medir la refractariedad miocárdica y la velocidad de conducción a partir de los mapas de activación temporal epicárdica.

**MedMap**: Se trata de una aplicación desarrollada en MatLab en 2001, con una funcionalidad ampliada en algunos aspectos con respecto al “software” anterior. Captura los archivos de señales y es capaz de analizar las señales en

el dominio del tiempo y de la frecuencia. En MedMap se pueden crear mapas de isócronas y también de isofrecuencias (activación frecuencial).

**d) Sistema de perfusión del corazón:**

- Bomba peristáltica (Cole- Parmer Instrument<sup>®</sup> co.).
- Bomba circulante de termostatación (Neslab Instruments<sup>®</sup>, inc.).
- Sistema de soporte metabólico tipo Langendorff (Fig 2.3.).

El objetivo básico del método Langendorff es proveer al corazón aislado del oxígeno y los metabolitos necesarios por medio de una cánula insertada en la aorta ascendente. El líquido nutricio es impulsado a través de la aorta en el sentido contrario al de la circulación sanguínea. Esta perfusión retrógrada de la aorta cierra las válvulas aórticas y fuerza la circulación del fluido por las arterias coronarias durante el período diastólico, como ocurre en el ciclo cardíaco normal. El líquido continúa entonces a través del sistema coronario y tras irrigar a los tejidos cardíacos, sale por ostium del seno coronario en la aurícula derecha. El flujo coronario necesario depende del tamaño del corazón y se encuentra entorno a 30 ml por minuto en corazones aislados de conejo adulto. Con esta técnica, las cámaras izquierdas del corazón permanecen esencialmente sin líquido, y los ventrículos se contraen contra la presión atmosférica de su interior.

El sistema está formado por diversos tubos y cámaras de vidrio, por los que circula el líquido de perfusión antes de llegar a la cánula de inyección (figura 4). Este líquido ha sido impulsado desde un depósito exterior (en el cual se realiza la oxigenación) hasta la parte más elevada por medio de una bomba peristáltica, habiendo pasado previamente por un filtro y un depósito de calentamiento. La presión de perfusión ha sido controlada manualmente mediante un manómetro integrado en el sistema.



Figura 2.3. Sistema de perfusión Langendorff.

e) Tapiz rodante (*treadmill*): Panlab® S.L.

f) Balanza Precisa (Precisa Balances) y balanza Soehnle®.

## 2.2. Métodos.

### 2.2.1. Entrenamiento de los animales.

El entrenamiento de los conejos se realizó sobre tapiz rodante. Se entrenaron durante 6 semanas, cinco días a la semana. El animal corrió durante 4 minutos a una velocidad de 20 m/min. Se dejó un minuto de reposo antes de que fuera realizada la segunda serie. Y así sucesivamente hasta completar un total de 6 series. Antes de cada periodo de entrenamiento se sometió a los conejos a un tiempo de familiarización de una semana con la cinta rodante.

En todo momento, el entrenamiento de los conejos fue supervisado por colaboradores que se encargaron del entrenamiento del animal y controlaron la correcta realización del ejercicio sobre la cinta rodante. Cuando se inició el periodo de entrenamiento, los conejos que no corrieron adecuadamente durante cinco sesiones consecutivas, se excluyeron del estudio. Se entrenó a 2

conejos durante este tiempo y al final del periodo de entrenamiento se les sacrificó para realizar el estudio electrofisiológico.

Durante el tiempo de entrenamiento de seis semanas más la semana de familiarización de los conejos entrenados con la cinta rodante, el grupo control (los conejos no entrenados) permaneció estabulado en las jaulas.

## **2.2.2. Estudio electrofisiológico.**

### **2.2.2.1. Preparación experimental.**

Tras la heparinización (0.5 ml) y anestesia intravenosa de los conejos (1 ml Ketolar®) a través de la vena marginal de la oreja, se sacrificaron mediante dislocación cervical. Después de una toracotomía mediosternal y una pericardiotomía, se extrajo el corazón rápidamente, seccionándolo por su pedículo vascular, y se sumergió en una solución de Tyrode fría (8°C), para posterior preparación. Después de seccionar la arteria pulmonar y posteriormente disecar y seccionar la arteria aorta ascendente, se conectó al sistema de Langendorff, mediante hilo de seda de 1-2 mm de diámetro, perfundiendo al corazón con la solución de Tyrode a  $37 \pm 5^\circ\text{C}$ , y que contiene:

22g Glucosa, 21g  $\text{NaHCO}_3$ , 76g  $\text{NaCl}$ , 100 ml de solución de  $\text{CaCl}_2/\text{MgCl}$ , 100 ml de solución de ClK y 100 ml de solución de  $\text{NaPO}_4\text{H}_2$  todo esto en 10 litros de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.

Las soluciones madre se compusieron de: 37,4g  $\text{NaPO}_2\text{H}_2$  en 2 litros de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, 84g ClK en 2 litros de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, 63,6g  $\text{CaCl}_2$  (o 84,25g si es cloruro de calcio dihidratado) y 22,8g  $\text{MgCl}_2$  en 2 litros de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.

El pH se mantuvo a 7.4 por equilibrio. La oxigenación del mismo se efectuó con una mezcla del 95% de  $\text{O}_2$  y 5% de  $\text{CO}_2$  (carbógeno). La presión de perfusión inicial se fijó en 60 mmHg.

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

Los electrodos se dispusieron del siguiente modo. Se ubicó un electrodo bipolar, revestido de plata, con una distancia interelectrodo de un milímetro para el registro del electrograma auricular, y otro electrodo en el ventrículo izquierdo para estimular. El registro ventricular se realizó por medio de un electrodo múltiple con 256 electrodos unipolares de acero inoxidable (diámetro del electrodo = 0.125 mm, distancia interelectrodo = 1 mm) colocados en la superficie epicárdica de la pared lateral del ventrículo izquierdo. El electrodo indiferente fue una placa de plata de 4x6 mm localizada sobre la aorta canulada. La grabación de los registros fue obtenida con un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardiaca (MAPTECH®). Los electrogramas se amplificaron con una ganancia de 50 a 300, con un ancho de banda de entre 1-400 Hz, filtrado y multiplexado. La frecuencia de muestreo en cada canal fue de 1 kHz. Los estímulos eléctricos se aplicaron con un estimulador Grass S-88 (Grass Instruments®, Inc., Quincy, MA, USA) fijados a dos unidades de aislamiento de estímulos (SIU).

#### **2.2.2.2. Parámetros a estudiar: definición y determinaciones.**

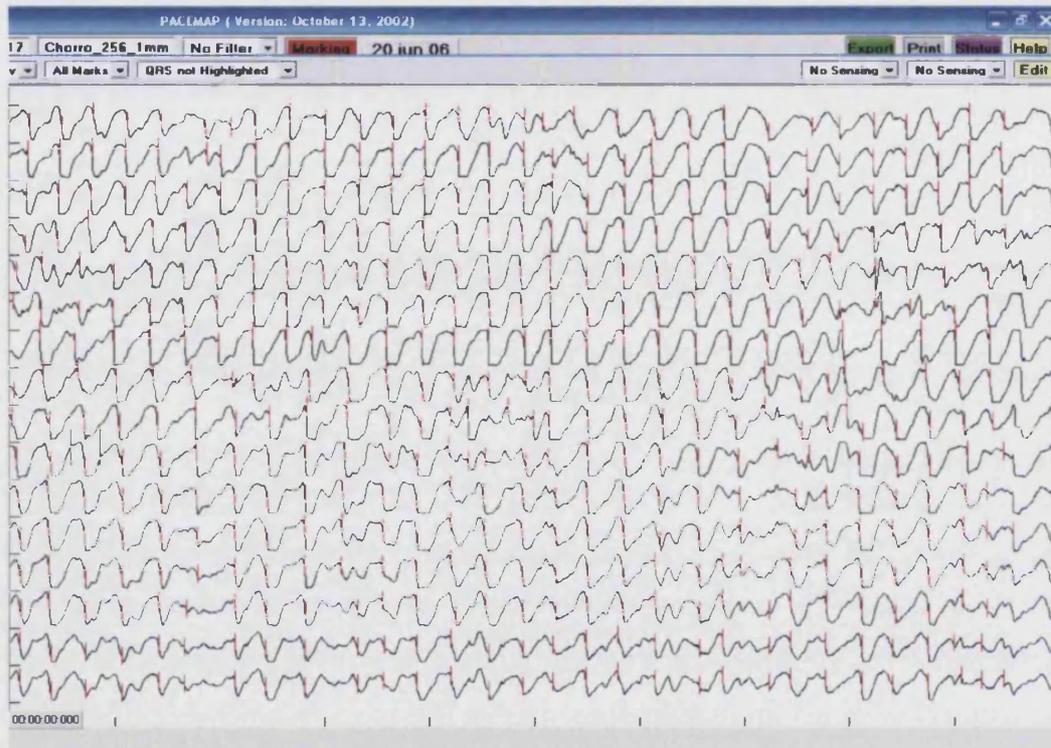
##### **2.2.2.2.1. Periodo refractario funcional determinado durante la fibrilación ventricular.**

Tras el marcado de los electrogramas en todos los electrodos de la placa multi-electrodo (Fig. 2.4.A), la determinación del periodo refractario funcional ventricular durante la FV inducida se obtiene mediante la

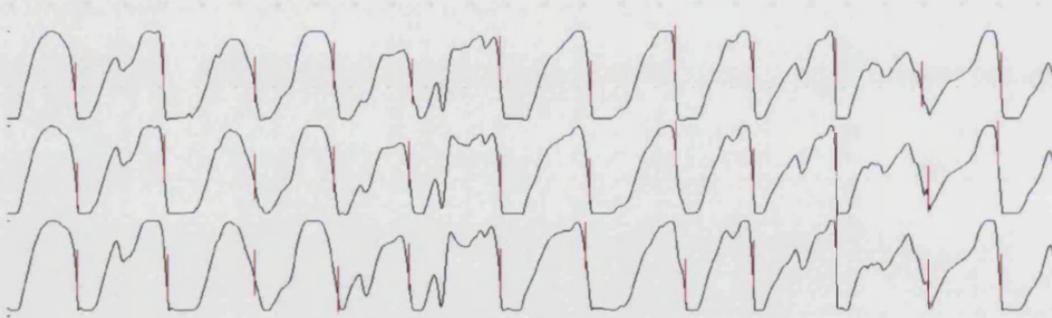
## Material y Métodos

determinación del percentil 5 de un histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000 ciclos en cada caso (Fig. 2.5.).

**A**



**B**



**Figura 2.4. A.** Marcado semiautomático de los instantes de activación en el programa PaceMap<sup>®</sup>. Se muestran 8 de los electrogramas de la zona modificada (1 segundo en pantalla). **B:** La marca se sitúa en la máxima pendiente dentro de la ventana w1-w2. Se indican los intervalos VV.

Este método de determinación 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 test del extraestímulo, 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 “marcapaseo” alguno.

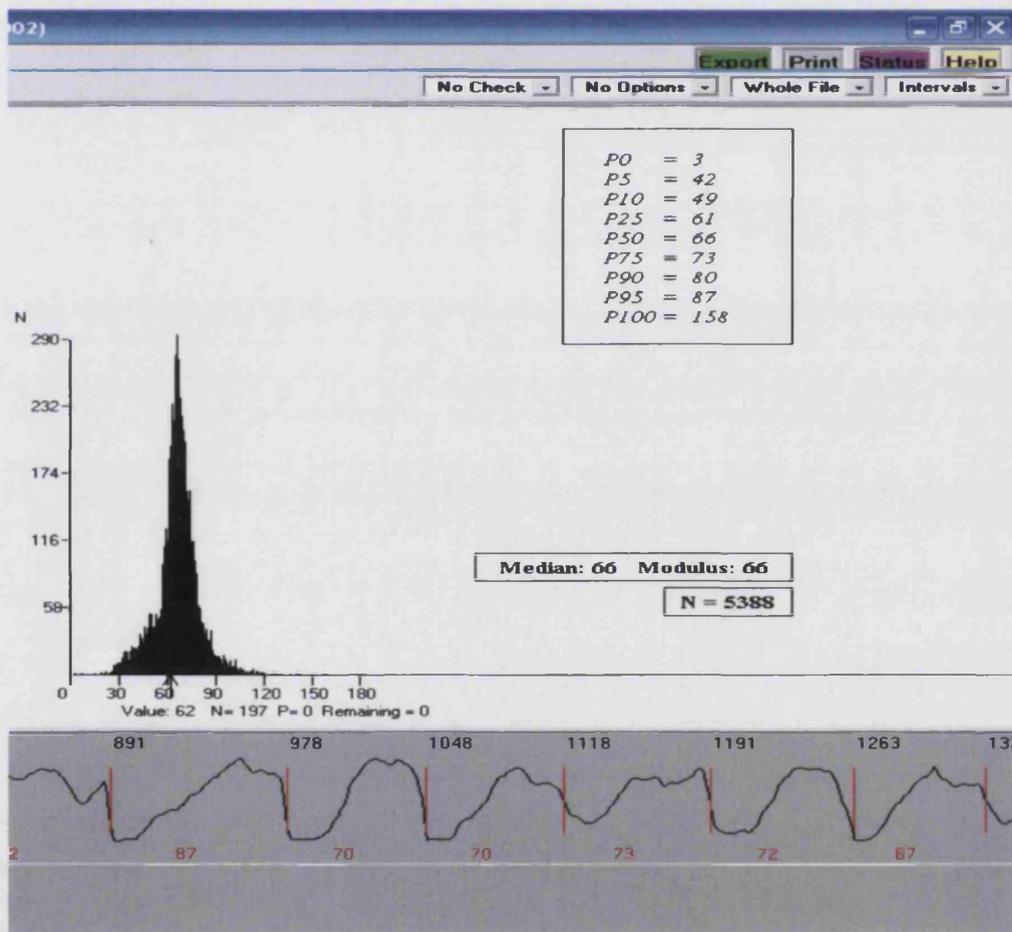


Figura 2.5. Histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000 ciclos.

#### **2.2.2.2.2. Parámetros de la fibrilación analizados en el dominio del tiempo.**

A partir de los intervalos VV, es decir, los intervalos de tiempo entre dos activaciones (despolarizaciones) locales consecutivas (Fig 2.4.B), se construyeron los histogramas correspondientes, que fueron determinados a partir de los registros obtenidos con los 256 electrodos unipolares del electrodo múltiple, durante períodos de tiempo de un segundo analizados, inmediatamente antes de la oclusión e inmediatamente después de realizar la misma.

#### **2.2.2.2.3. Mapas de activación durante la fibrilación ventricular.**

##### **2.2.2.2.3.1. Primera etapa. Determinación de los intervalos VV.**

Para determinar los intervalos entre activaciones ventriculares consecutivas se deben seguir los siguientes pasos:

##### **1. Elección de señales adecuadas para el proceso de marcado.**

Debemos proceder a aplicar las marcas sobre los electrogramas en registros de buena calidad, que son la mayor parte, con mucho de los que se obtienen con los 240 electrodos útiles de la placa multi-electrodo. En el caso de que las señales eléctricas obtenidas con el concurso del multielectrodo, los amplificadores del Map Tech<sup>®</sup> y mediante el uso del programa PaceMap<sup>®</sup>, fueran “malas”, esto es, que incorporaran trazados correspondientes a artefactos generados por diversos tipos de manipulaciones y/o circunstancias, o bien que fueran de una muy baja amplitud al compararlas con el resto de los registros, o finalmente, no presentaran las características morfológicas adecuadas para identificar lo que se entiende por trazado propio de la activación eléctrica del miocardio ventricular que se halla por debajo del

electrodo, con pendiente de despolarización y amplitud adecuadas: en este caso de obtención de señales "malas", estas se desestimaron.

### 2. Selección de un intervalo de tiempo.

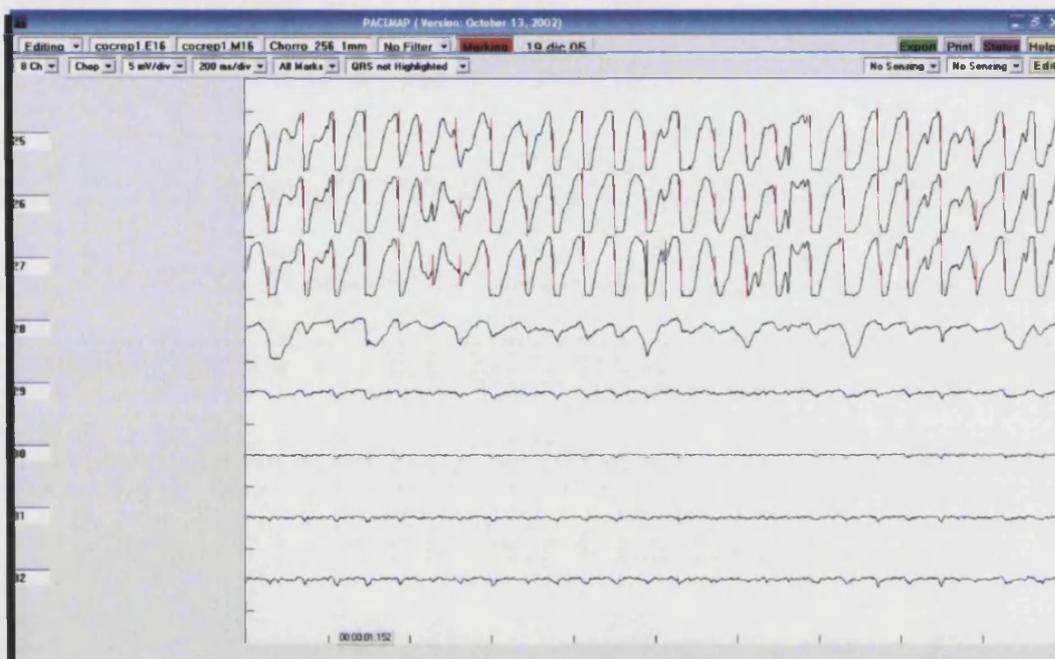
El análisis de la FV en el dominio del tiempo, que nos permitirá tener información de la media de los intervalos VV, el percentil cinco de dichos intervalos, etc, se hace en el momento del experimento establecido en el protocolo, pero seleccionando un intervalo de 1 o 2 segundos. Generalmente hemos seleccionado un intervalo.

### 3. Proceder al marcado de la señal electrográfica en todos y cada uno de los electrodos.

Operamos del siguiente modo: El marcado de las señales electrográficas se realizará de forma semiautomática, mediante la identificación por parte del programa de la máxima pendiente negativa del trazado. No obstante el lugar de ubicación de la ventana del cursor es escogido por nosotros mediante la observación de los electrogramas. En los trazados con potenciales múltiples se asigna el instante de activación a la deflexión con máxima pendiente negativa, situando manualmente la ventana de marcado sobre el complejo de activación. Después de conocer entonces toda la complejidad que lleva el análisis de los mapas de activación, se hace necesario el desarrollo de la más correcta metodología en cada una de las fases encaminadas a la construcción de los mapas de activación eléctrica cardiaca.

En concreto, y en lo tocante al presente trabajo de investigación, reviste especial atención, dentro del análisis de la FV en el dominio del tiempo, el proceso de marcado manual de la señal fibrilatoria. En tal sentido vamos a comentar en las líneas que siguen, los dos factores más importantes que pueden influir en el proceso de marcado: Hay que precisar que no todos los electrogramas de los diferentes electrodos se consideran útiles para el marcado ya que algunos de ellos son estimados como "malas" señales (Fig. 2.6.). Probablemente la causa de las malas señales está ligada a que el

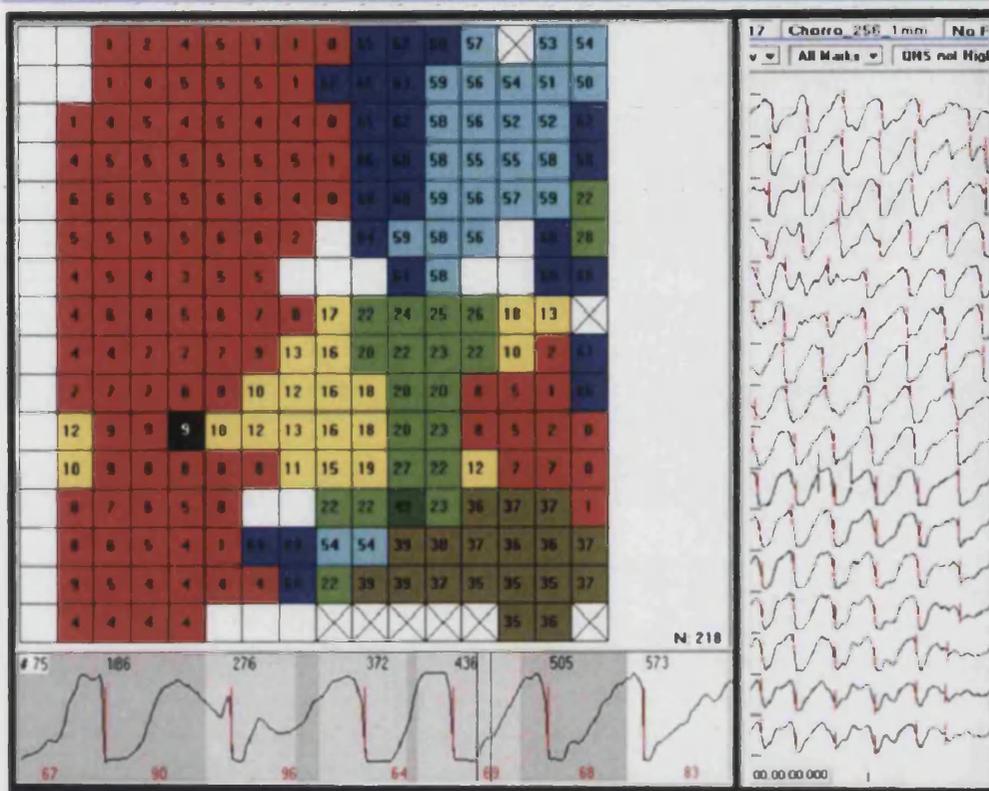
correspondiente electrodo no contacta adecuadamente con el epicardio ventricular.



**Figura 2.6.** Ejemplo de marcado de la señal electrográfica en diferentes electrodos y de electrodos que registran "muy malas" señales que se eliminan (las señales correspondientes a los 6 registros inferiores).

#### **2.2.2.2.3.2. Segunda etapa. Determinación de los tiempos de activación.**

Una vez finalizado el proceso de marcado, se pasará a la determinación del tiempo en que se ha activado el tejido miocárdico subyacente a cada uno de los electrodos de la placa multielectrodo empleada para este tipo de estudios. El uso del PaceMap<sup>®</sup> nos permite visualizar en una codificación en color y una visualización numérica, en la matriz correspondiente, cada uno de los tiempos de activación anteriormente mencionados. Veremos los diferentes tiempos de activación respecto al del electrodo que más prematuramente recoge la señal.



**Figura 2.7.** Mapa de activación creado a partir del marcado de los electrogramas.

Es la visualización en la pantalla de los tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, lo que permite la identificación del proceso de activación. De esta manera se pueden identificar las diferentes formas de activación como son: frentes únicos (Fig. 2.8.), frentes dobles (Fig. 2.9.), triples, múltiples (Fig. 2.10), colisiones entre frentes (Fig. 2.11.), afloramientos desde el subepicardio (Fig. 2.12.), torsiones (Fig. 2.13.) y reentradas (Fig. 2.14.).

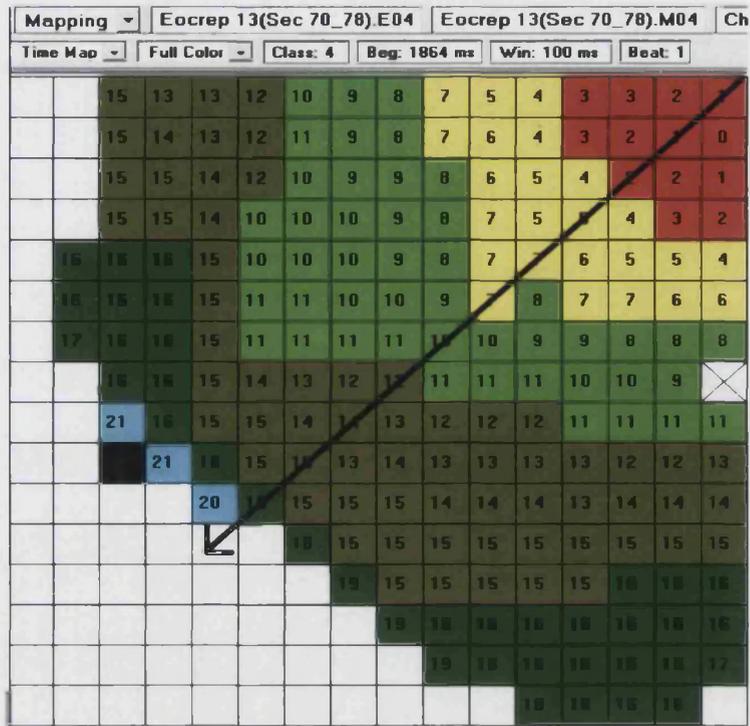


Figura 2.8. Matriz con tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, que permite la identificación de un frente único.

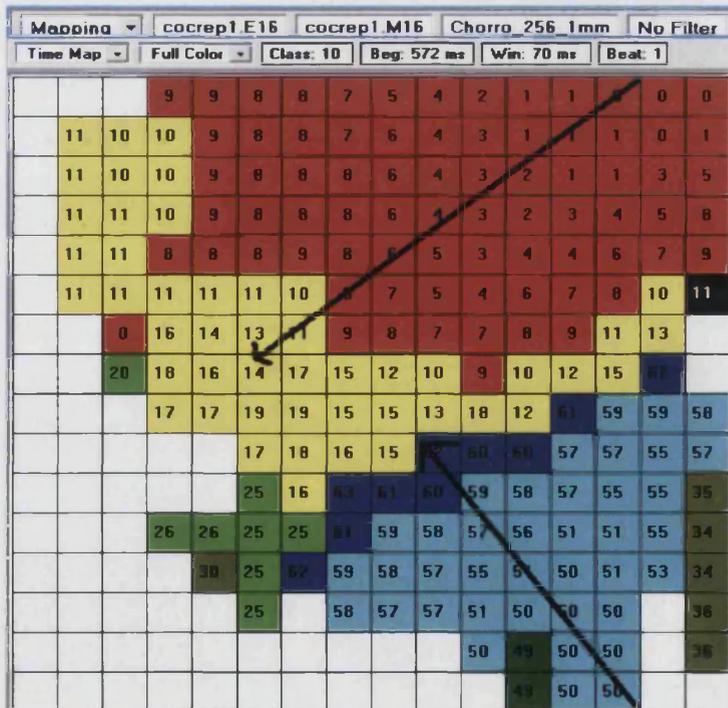


Figura 2.9. Matriz con tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, que permite la identificación de dos frentes.

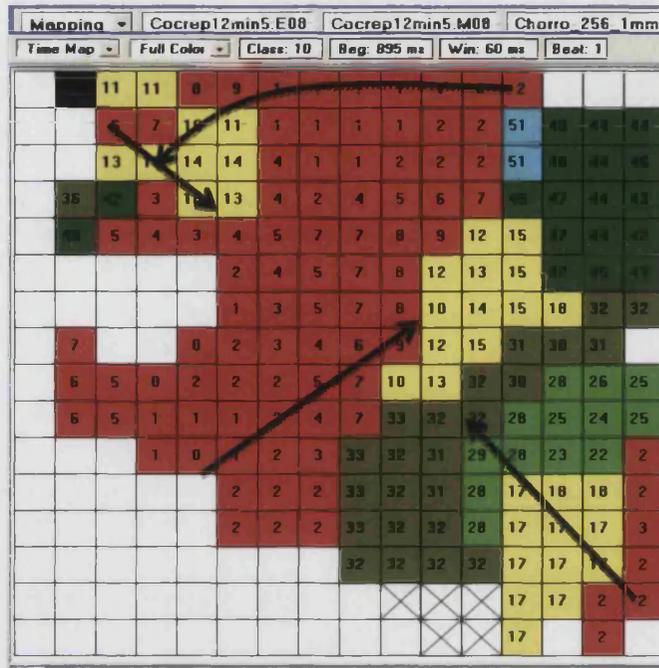


Figura 2.10. Matriz con tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, que permite la identificación de frentes múltiples.

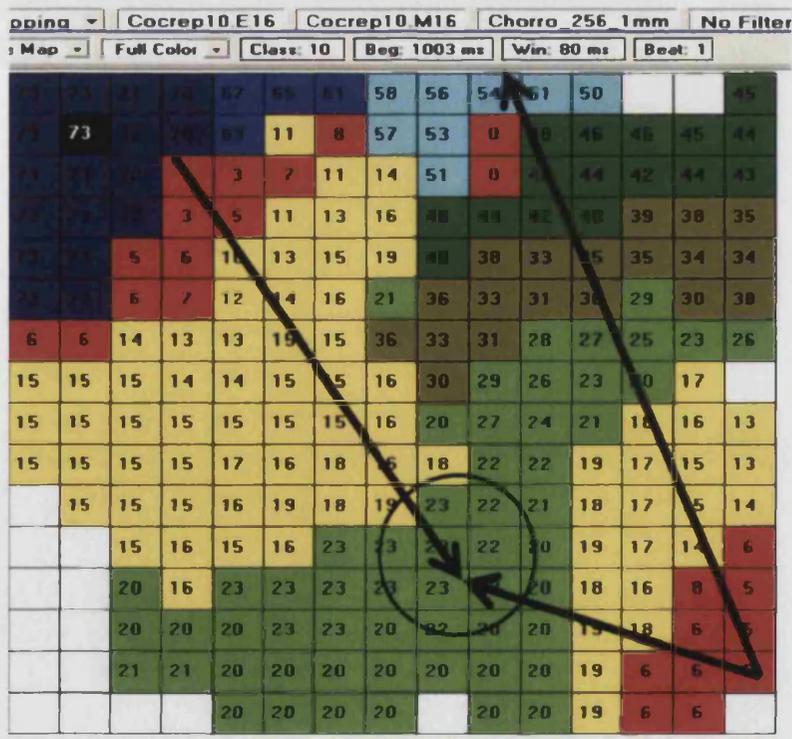


Figura 2.11. Matriz con tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, que permite la identificación de colisiones entre frentes.

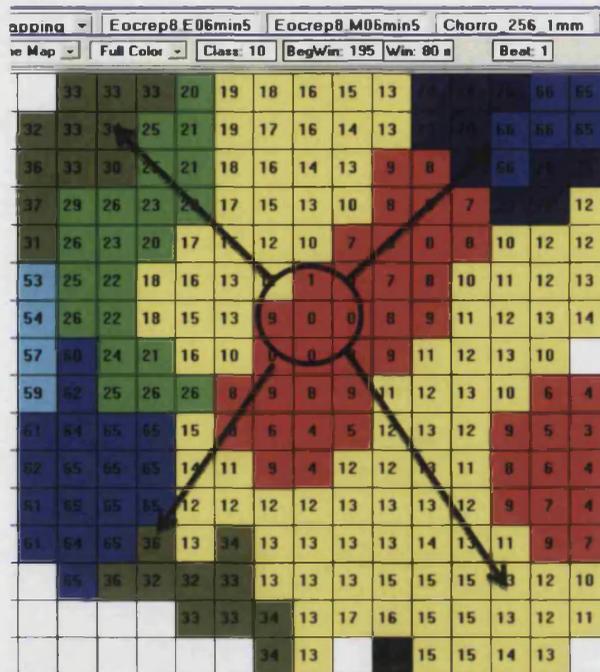


Figura 2.12. Matriz con tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, que permite la identificación de un afloramiento.

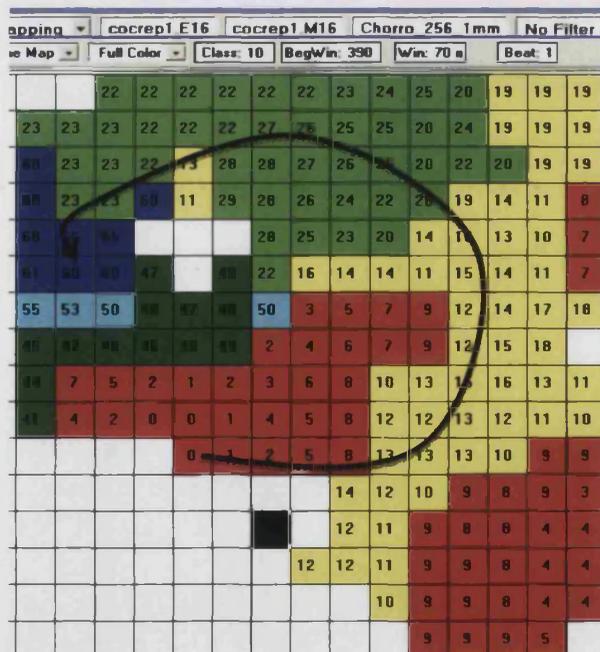


Figura 2.13. Matriz con tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, que permite la identificación de una torsión.

En el caso de las reentradas (Fig. 2.14.) además de las consideraciones que acabamos de hacer, operaremos del siguiente modo: en primer lugar se establece que hay una reentrada cuando el frente de activación tras describir una trayectoria circular o elíptica, vuelve a activar la zona de inicio del frente. Para identificar la presencia de una reentrada se desplaza la ventana del cursor unos milisegundos previos a los que se analizan y algunos milisegundos posteriores para confirmar que la activación corresponde efectivamente a un proceso reentrante. En el caso de que no finalizara el proceso de activación en el lugar de inicio del mismo y tras seguir la trayectoria antes mencionada, hablamos de torsión.

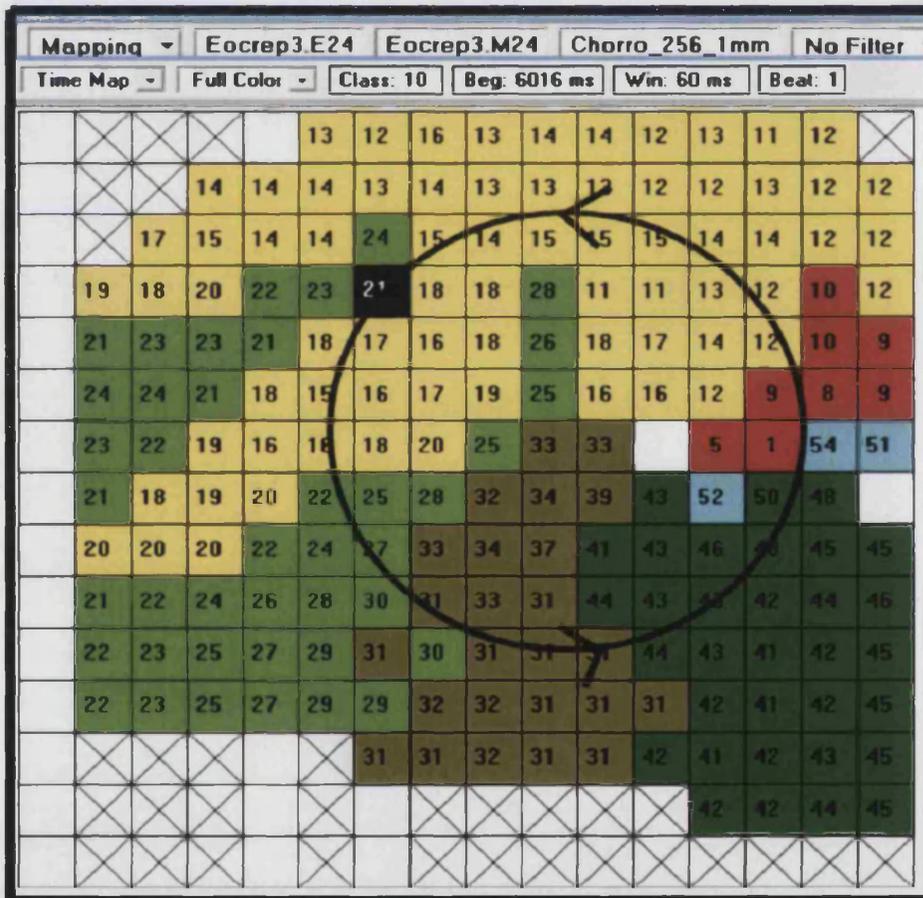


Figura 2.14. Matriz con tiempos de activación detectados por cada electrodo, codificados también en color, que permite la identificación de una reentrada.

En el caso del afloramiento, que en el mapa de activación se muestra como una zona de activación “aislada”, que parece no ser consecuencia de ninguna despolarización periférica circundante puede ser producida por un

estímulo proveniente de zonas subepicárdicas. Se debe observar si no hay algún frente de onda circundante a la zona que pudiera provocar una despolarización secundaria de dichas células. Si no se observa ninguna relación con las activaciones de las zonas periféricas podemos confirmar claramente que se trata de un afloramiento.

Por otro lado es posible encontrar en estos mapas de activación la presencia de colisiones de frentes de onda, ya sea de dos frentes o más y que estos se resten o se sumen espacialmente al encontrarse entre sí durante algún punto de su trayectoria. Para esto debemos observar que pasa con un frente de onda escogido aleatoriamente y seguir su trayectoria en la ventana del mapa de activación. Si se observa en el registro la presencia de 2 o más frentes de onda que no describen del todo trayectorias independientes entre sí sino que en algún punto sus recorridos se encuentran uno frente al otro por desplazarse en la misma dirección pero en sentido se habla de un choque de frentes de onda. Este choque puede producirse frontal o lateralmente. Hablamos de choque o colisión frontal si ambos frentes se encuentran en su trayectoria uno frente al otro. La colisión lateral sería en el caso de que dos frentes de onda viajen en la misma dirección uno al lado del otro y que en el tiempo se fusionen por su cercanía entre sí.

Igualmente en los registros se puede hallar una torsión de un frente de onda. Se trata de un frente simple o único que realiza un giro o curva en sentido circular o elíptico pero que no termina por completar dicho recorrido por lo que simula una especie de "reentrada incompleta".

#### **2.2.2.3.3. Tercera etapa. Construcción de los mapas de activación.**

Se deben analizar los mismos registros de FV correspondientes a los segmentos de un tiempo determinado (en general, uno o dos segundos) obtenidos en los momentos del experimento que resulten de mayor interés. Téngase en cuenta que la FV en el modelo utilizado habitualmente por nosotros, impide el deterioro metabólico al mantener la perfusión coronaria, por

lo que la FV es bastante estable durante el tiempo en el que se ha mantenido la arritmia (Chorro et al. 1996). Los segmentos que se analizan se dividen en ventanas de tiempo (60 ms) consecutivas (entre una y otra alrededor de 100 ms. En cada ventana se identifican los patrones de activación construyendo las isócronas, que se han trazado semiautomáticamente y utilizando la codificación en color de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo.

En los mapas de activados es posible estudiar la existencia, colisiones, reentradas completas, patrones de afloramiento y líneas de bloqueo de conducción. Las líneas de bloqueo de conducción se definen como las zonas en las que la velocidad de conducción estimada ha sido inferior a 5 cm/s, delimitando áreas con distinta dirección del proceso de activación. Por otro lado, para identificar la activación reentrante, se utiliza como guía la visualización en la pantalla de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo codificados en color, desplazando sucesivamente el intervalo de tiempo analizado en escalones de 10 ms.

Si mediante este procedimiento se identifica un frente de ondas, que tras describir una trayectoria circular o elíptica vuelve a activar una zona previamente activada por él mismo, entonces se delimita la zona central de la reentrada, utilizando como referencia la parte interna del frente de ondas, es decir, la zona central de la reentrada que corresponde al espacio comprendido entre los electrodos más cercanos activados en direcciones opuestas durante la trayectoria circular del frente de ondas. Se puede cuantificar el número de giros consecutivos del proceso de activación, y solamente se considera como activación reentrante a aquella en la que se produce al menos un giro completo, es decir, aquellos casos en los que el proceso de activación vuelve a activar la zona previamente activada por el mismo frente (reentrada completa).

En aquellos mapas en los que se detecte un patrón de reentrada completa se pueden determinar los siguientes parámetros:

a) Número de giros del frente de activación alrededor del arco de bloqueo funcional hasta que se extingue el movimiento circular. Para cuantificar este

parámetro se divide cada giro en cuatro cuadrantes dando el valor de 0,25 a cada cuadrante.

b) Área mínima del electrodo abarcada por el frente de activación en su movimiento circular.

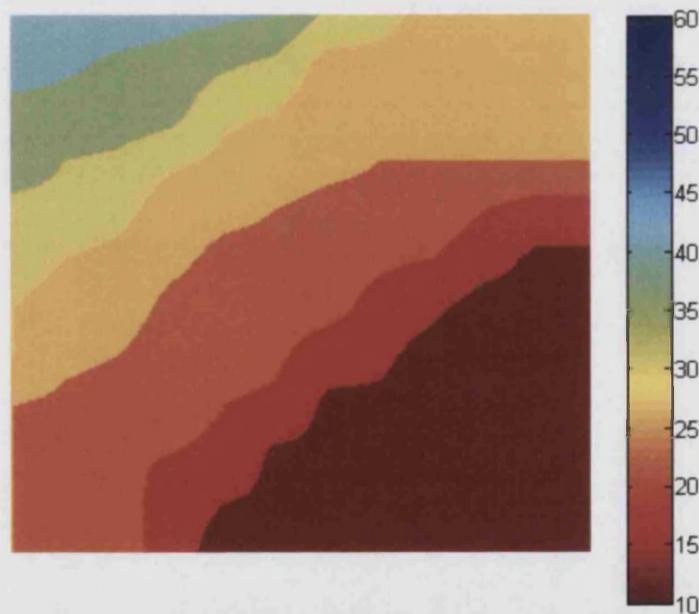
Se han analizado los mismos registros de FV correspondientes a los segmentos de un segundo obtenidos a los cinco minutos del inicio de la FV, e inmediatamente después de la oclusión, teniendo presente que la FV en el modelo utilizado, en el que se impide el deterioro metabólico al mantener la perfusión coronaria, es estable durante el tiempo en el que se ha mantenido la arritmia (Chorro *et al.* 1996). El segmento analizado se ha dividido en ventanas de tiempo consecutivas con una duración de 60 ms, y en cada ventana se han identificado los patrones de activación construyendo las isócronas, que se han trazado semiautomáticamente y utilizando la codificación en color de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo. En los mapas de activación se ha estudiado la existencia de frentes individuales, en colisión o sin ella colisiones, reentradas completas y patrones de afloramiento.

Se han definido como zonas de bloqueo a aquellas en las que la velocidad de conducción estimada ha sido inferior a 5 cm/seg, delimitando áreas con distinta dirección del proceso de activación. Para identificar la activación reentrante se ha utilizado como guía la visualización en la pantalla de los tiempos de activación correspondientes a cada electrodo codificados en color, desplazando sucesivamente el intervalo de tiempo analizado en escalones de 10 ms.

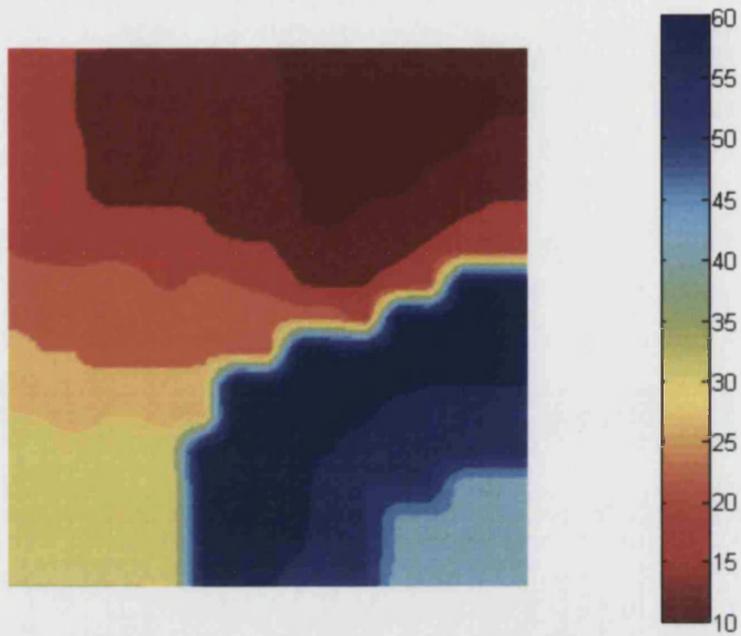
Cuando mediante este procedimiento se identificaba un frente de ondas, que tras describir una trayectoria circular o elíptica volvía a activar la zona previamente activada por él mismo, entonces se delimitaba la zona central de la reentrada utilizando como referencia la parte interna del frente de onda, es decir, la zona central de la reentrada correspondía al espacio comprendido entre los electrodos más cercanos activados en direcciones opuestas durante la trayectoria circular del frente de ondas. Se ha cuantificado el número de giros consecutivos del proceso de activación, y solamente se ha

considerado como activación reentrante a aquella en la que se producía al menos un giro completo, es decir, aquellos casos en los que el proceso de activación volvía a activar la zona previamente activada por el mismo frente (reentrada completa).

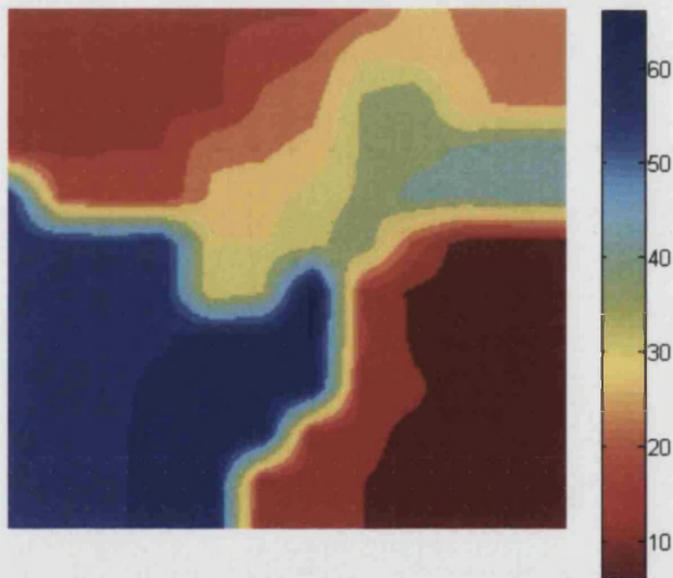
En las figuras que siguen se representa la fase final de exhibición de mapas para lo que se ha tenido que operar del siguiente modo: Se ha interpolado a partir de los valores temporales presentados en los mapas precedentes, mediante una matriz tridimensional en la que las dos dimensiones horizontal y vertical (x e y) son la posición de cada electrodo y la tercera dimensión representa el valor temporal de ese electrodo. Finalmente se ha procedido a un suavizado de los bordes mediante proceso manual.



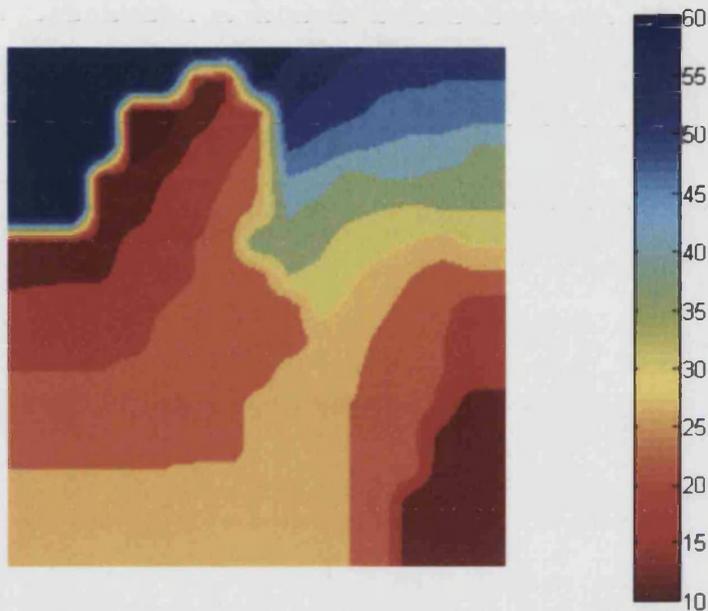
**Figura 2.15.** Imagen de mapa correspondiente a frente único. A la derecha se muestra una escala de tiempo (en ms) codificada en color.



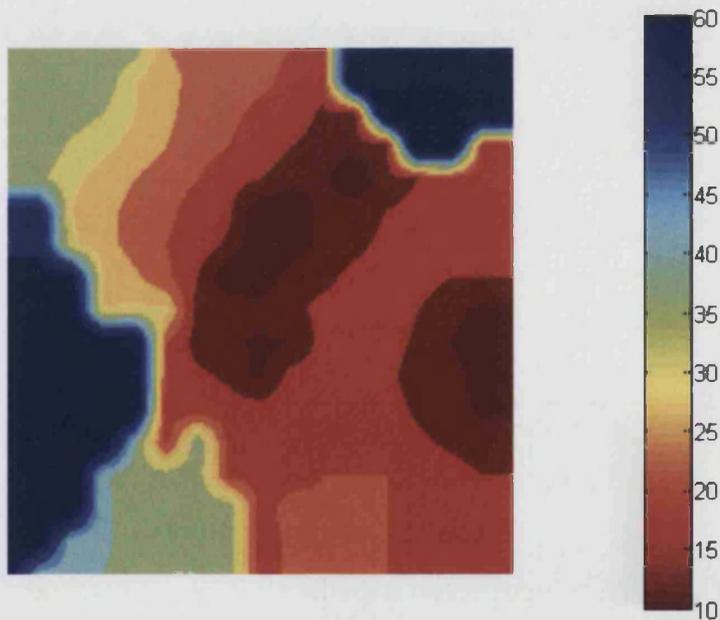
**Figura 2.16.** Imagen de mapa correspondiente a dos frentes. A la derecha se muestra una escala de tiempo (en ms) codificada en color.



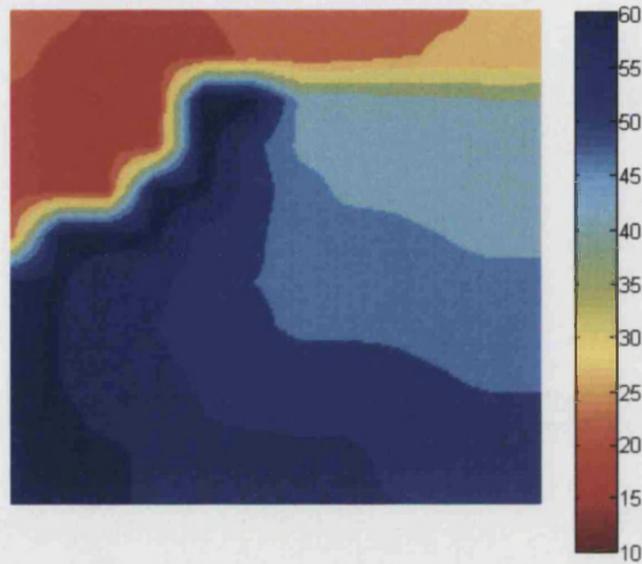
**Figura 2.17.** Imagen de mapa correspondiente a frente múltiple. A la derecha se muestra una escala de tiempo (en ms) codificada en color.



**Figura 2.18.** Imagen de mapa correspondiente a colisión. A la derecha se muestra una escala de tiempo (en ms) codificada en color.



**Figura 2.19.** Imagen de mapa correspondiente a afloramiento. A la derecha se muestra una escala de tiempo (en ms) codificada en color.



**Figura 2.20.** Imagen de mapa correspondiente a reentrada. A la derecha se muestra una escala de tiempo (en ms) codificada en color.

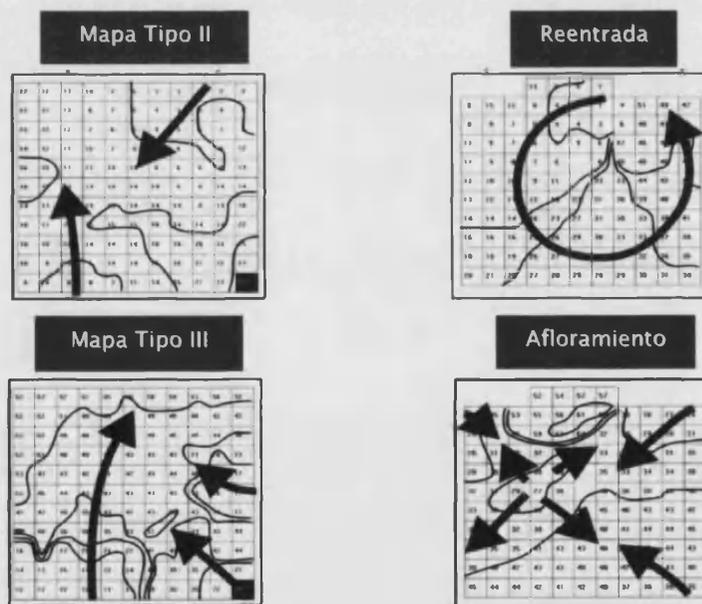
Cada uno de los 11 mapas correspondientes a cada ventana analizada, ha sido clasificado en categorías basadas en la complejidad de los mismos y siguiendo otro esquema similar al descrito por Konings *et al.* 1994, en el análisis de los mapas de activación durante la fibrilación auricular, como se ha comentado anteriormente. Asimismo, en cada mapa se analizó si se detectaban patrones de activación correspondientes a afloramientos y a reentrada completa. En estos últimos, se cuantificó el número de giros consecutivos, dividiendo cada giro completo en cuatro cuadrantes.

En el presente estudio hemos seguido una clasificación de los grados de complejidad elaborada por nosotros. Hemos clasificado la complejidad en grados: 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7. Cuando en la ventana de 60 ms analizada por nosotros aparecía una única forma de activación (un frente único, o reentrada, o afloramiento) se le daba el valor uno, si dos formas de activación, se le otorgaba el valor dos y así sucesivamente.

Se calculó la suma de los números de complejidad que se detectaron en cada una de las once ventanas de 60 ms que se analizaron. También se

determinó el valor medio del número de eventos de las diferentes complejidades que aparecieron. Asimismo consideramos una descripción del porcentaje de tipos de activación por grado de complejidad, de todos y cada uno de los casos, y se hizo una mención particular de las reentradas.

Existe un esquema clásico de clasificación de mapas de activación (Konings *et al.* 1994) que no es la que hemos seguido en el presente estudio, pero sí ha sido usada por nosotros en otras investigaciones y que ha supuesto dividirlos en tres grupos, como sigue (Figura 2.21): Tipo I = Mapas de activación con un frente de ondas simple propagándose uniformemente sin retraso significativo de la conducción, Tipo II = Mapas de activación con dos frentes de ondas, o un frente de ondas con áreas de retraso o bloqueo de la conducción, y Tipo III = Mapas de activación con tres o más frentes de ondas asociados con áreas de conducción lenta y de bloqueo de la conducción. Asimismo en cada mapa se analizó si se detectaban patrones de activación correspondientes a afloramientos y a reentrada completa.



**Figura 2.21:** Ejemplos de mapas de activación tipo II, III, reentrada y afloramiento, obtenidos durante la fibrilación ventricular (tomado de Trapero 2000).

### **2.2.2.3. Protocolo experimental.**

Tras ubicar el corazón en el sistema de Langendorff y situar los electrodos correspondientes, tal y conforme hemos descrito anteriormente, y pasado un tiempo de estabilización de la preparación, de 20 minutos, se procede a la realización del siguiente protocolo:

1. Registro electrográfico basal, para la determinación de la frecuencia cardiaca espontánea.
2. Test del extraestímulo ventricular para el estudio de la refractariedad y de la velocidad de conducción ventricular.
3. Aplicación de estímulos crecientes hasta conseguir la FV para el análisis de la misma y determinar sobre ella la refractariedad, las características de la arritmia y la complejidad de la activación eléctrica.
4. Oclusión de la arteria coronaria circunfleja izquierda para reproducir la situación de isquemia y estudiar los parámetros citados en el punto anterior en esta situación de isquemia regional. La oclusión arterial se realizó del siguiente modo. Tras ubicar el corazón en el sistema de perfusión y proceder al limpiado de residuos, se trató de visualizar la arteria coronaria circunfleja. Una vez identificada se pasó una aguja con hilo de sutura por transfixión debajo de dicha arteria, a mitad de su recorrido epicárdico. Se dejó el hilo preparado para el momento de la oclusión. Llegado el momento se procedió a la ligadura. Su efectividad se comprobó mediante la observación de un incremento en la presión determinada en la raíz aórtica, manifestada por una subida del nivel de Tyrode en la columna de líquido situada en el "manómetro de agua" que forma parte del propio sistema de perfusión. El posterior y final registro electrográfico basal y su observación y análisis nos confirmó la existencia de isquemia regional tras la oclusión de la arteria coronaria circunfleja.

### 2.3. Análisis estadístico.

Para la comparación del periodo refractario funcional durante la fibrilación ventricular (PRFFV) entre el grupo control y el entrenado, previamente a la oclusión coronaria, se utilizó el test "t" de Student para muestras no apareadas. El mismo test se usó para la comparación del PRFFV, tras la oclusión coronaria, entre grupos, una vez determinada estadísticamente la ausencia de "interacción". El mismo proceder se ha seguido para la comparación de los otros parámetros resultantes del análisis de la FV en el dominio del tiempo.

Para la comparación entre grupos de la "complejidad total" de los mapas de activación eléctrica durante la FV, previamente a la oclusión arterial coronaria, se ha usado un test "t" de Student no apareado; y para la comparación entre grupos, tras la oclusión coronaria se aplicó un análisis de la varianza de dos factores, repetido en el factor "oclusión".

Para la comparación de parámetros anteriores, antes de la oclusión frente a su valor después de la oclusión, dentro de cada grupo se ha usado un test "t" de Student apareado.

Finalmente, para la comparación de grados concretos de complejidad entre grupos, se ha usado un test "t" de Student no apareado.

Para la gestión de datos y el análisis estadístico de los resultados se ha utilizado el *software* de cálculo Microsoft® Excel 2003 y el paquete estadístico SPSS® 15.0.1 (noviembre de 2006).

#### **2.4. Legislación.**

Las condiciones de estabulación y los procedimientos experimentales usados en la presente tesis doctoral se realizaron de acuerdo con lo que se ha establecido por la Unión Europea en materia de uso de animales con finalidad investigadora (2003/65/CE) promulgado en el Real Decreto 1201/2005 de 10 de octubre sobre protección de animales de experimentación y otros fines investigadores (B.O.E. 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 para la realización de esta tesis doctoral.

## **CAPÍTULO 3**

---

---

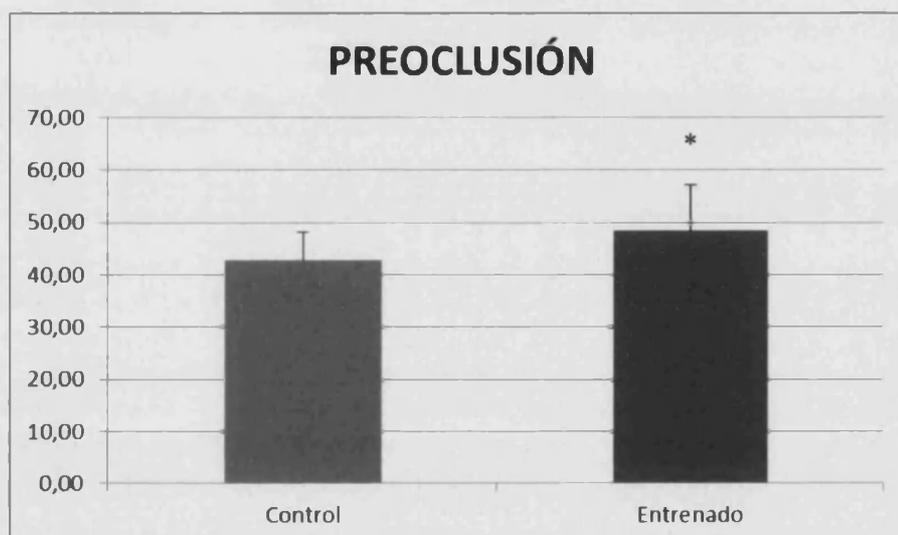
### **Resultados**

## *Resultados*

---

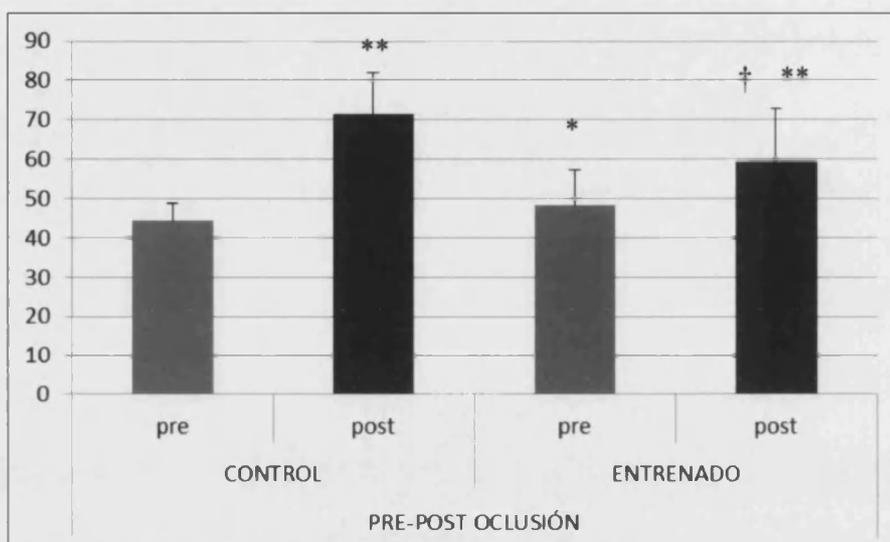
### 3.1. Periodo refractario funcional durante la FV (PRFFV)

Previamente a la oclusión arterial coronaria, esto es, en circunstancias de perfusión normalmente oxigenada encontramos que este parámetro fue mayor en los animales entrenados que en los que forman el grupo control ( $48,42 \pm 8,73$  ms,  $n=12$ , vs  $42,92 \pm 5,2$  ms,  $n=13$ ). Ver figura 3.1.



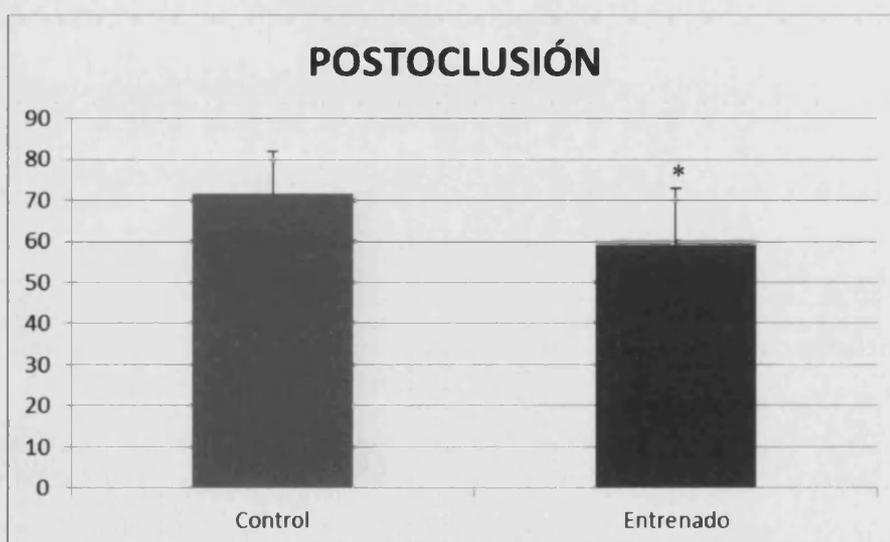
**Figura 3.1.** Media y desviación estándar del periodo refractario funcional durante la fibrilación ventricular en el grupo control y en el grupo entrenado antes de la oclusión; \*  $p < 0,05$  respecto a control.

Respecto a los valores del PRFFV tras la oclusión coronaria, encontramos que en el grupo control el valor del periodo refractario aumentó tras la oclusión coronaria ( $44,40 \pm 4,35$  ms, vs  $71,6 \pm 10,42$  ms,  $n = 10$ ). Asimismo en el grupo entrenado, este parámetro también aumentó significativamente tras la oclusión arterial ( $48,27 \pm 9,14$  ms, vs  $59,27 \pm 13,61$  ms,  $n = 11$ ). Ver figura 3.2.



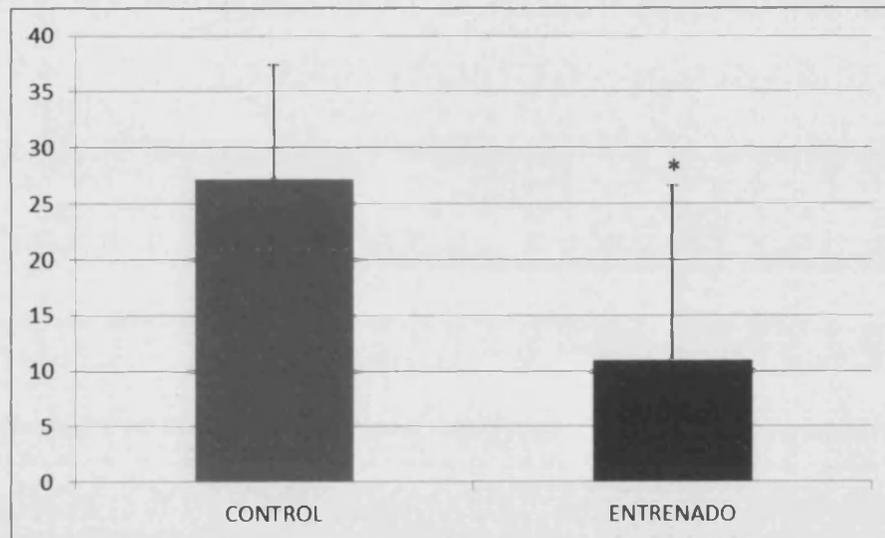
**Figura 3.2.** Media y desviación estándar del periodo refractario funcional (en ms) durante la fibrilación ventricular en el grupo control y en el grupo entrenado antes de la oclusión (pre) y tras la misma (post). \*  $p < 0,05$  respecto a control pre; \*\*  $p < 0,05$  respecto a al valor previo a la ligadura en cada grupo; †  $p < 0,05$  respecto a control post.

Al comparar entre los grupos control y entrenado, los valores de PRFFV tras la oclusión coronaria, hallamos que el valor de este parámetro fue mayor en el grupo control que en el entrenado ( $71,6 \pm 10,42$  ms,  $n=12$ , vs  $59,27 \pm 13,61$  ms,  $n = 11$ ). Ver figura 3.3.



**Figura 3.3.** Media y desviación estándar del periodo refractario funcional durante la Fibrilación Ventricular en el grupo control y en el grupo entrenado tras la oclusión. \*  $p < 0,05$  respecto a control.

Finalmente, si comparamos las diferencias de los valores del PRFFV, después de la oclusión coronaria frente al valor previo a la misma, entre los grupos control y entrenado, hallamos que dicha diferencia fue mayor en el grupo control que en el entrenado ( $27,20 \pm 10,19$  ms,  $n=10$ , vs  $11 \pm 15,66$  ms,  $n = 11$ ). Ver figura 3.4.

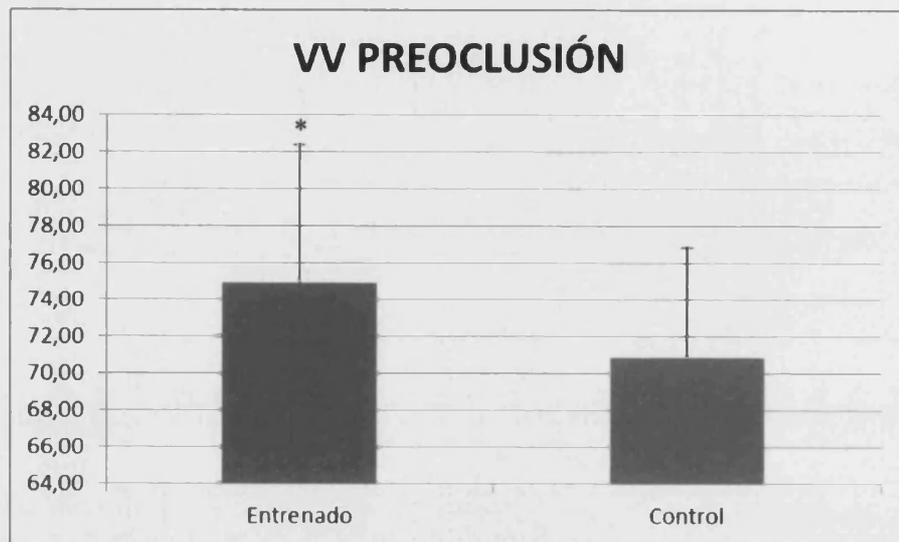


**Figura 3.4.** Media y desviación estándar de la diferencia del periodo refractario funcional durante la fibrilación ventricular, después de la oclusión coronaria frente al valor previo a la misma, en el grupo control y en el grupo entrenado. \*  $p < 0,05$  respecto a control.

### 3.2. Parámetros resultantes del análisis de la FV en el dominio del tiempo

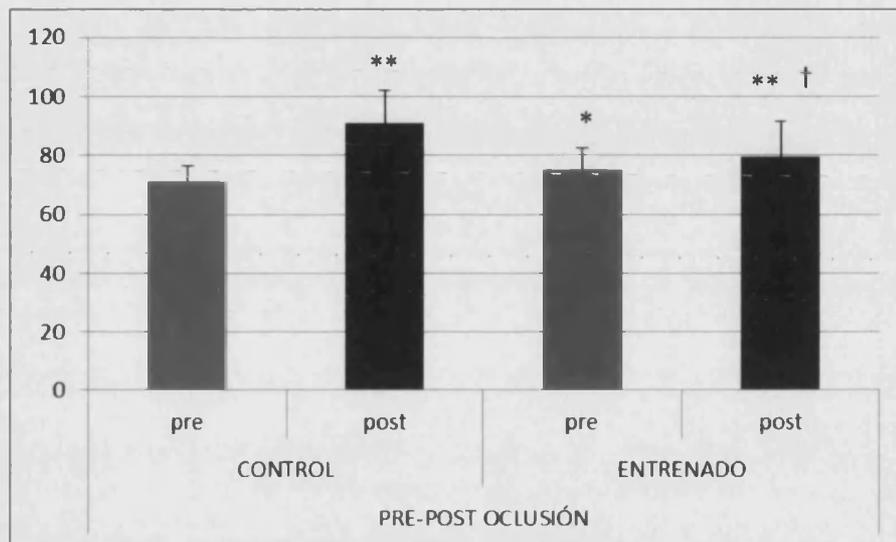
#### 3.2.1. Intervalos VV

Previamente a la oclusión arterial coronaria, encontramos que los intervalos VV si bien no fueron significativamente diferentes, sí se observó que tendieron ( $p = 0,07$ ) a ser mayores en los animales entrenados que en los controles ( $74,96 \pm 7,41$  ms,  $n=12$ , vs  $70,92 \pm 5,91$  ms,  $n=14$ ). Ver figura 3.5.



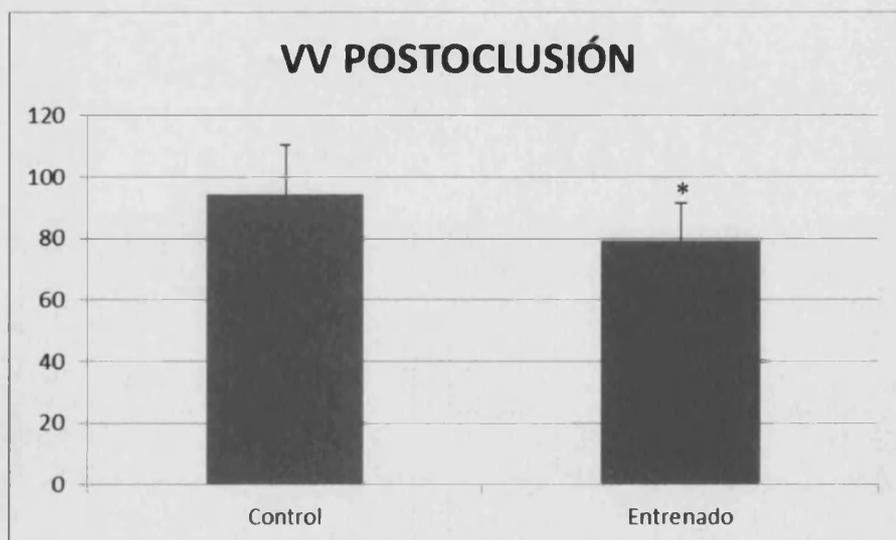
**Figura 3.5.** Media y desviación estándar de los intervalos VV durante la fibrilación ventricular, previamente a la oclusión coronaria en el grupo control y en el grupo entrenado. \* p = 0,07 respecto a control.

Respecto a los valores de los intervalos VV tras la oclusión coronaria, en el grupo control el valor de dicho parámetro aumentó tras la oclusión coronaria ( $91,02 \pm 11$  ms, vs  $71,04 \pm 5,6$  ms, n = 12). Sin embargo no hubo diferencias en el grupo entrenado de este parámetro tras la oclusión coronaria al compararlo con el valor previo a la ligadura ( $79,412 \pm 12,03$  ms, vs  $74,96 \pm 7,41$  ms, n = 11). Ver figura 3.6.



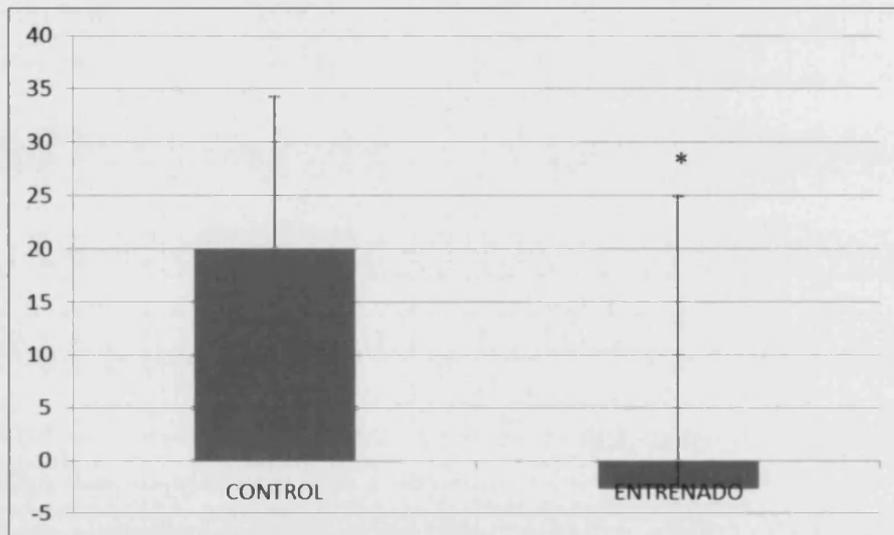
**Figura 3.6.** Media y desviación estándar del intervalo VV durante la fibrilación ventricular en el grupo control y en el grupo entrenado antes de la oclusión (pre) y tras la misma (post). \* $p < 0,05$  respecto a control pre; \*\*  $p < 0,05$  respecto a al valor previo a la ligadura en cada grupo; †  $p < 0,05$  respecto a control post.

Al comparar entre los grupos control y entrenado, los valores los intervalos VV tras la oclusión coronaria, hallamos que el valor de este parámetro fue mayor en el grupo control que en el entrenado ( $94,18 \pm 16,14$  ms,  $n=13$ , vs  $79,41 \pm 12,03$  ms,  $n = 11$ ). Ver figura 3.7.



**Figura 3.7.** Media y desviación estándar de los intervalos VV durante la fibrilación ventricular, tras la oclusión coronaria en el grupo control y en el grupo entrenado. \* $p < 0,05$  respecto a control.

Finalmente, si comparamos las diferencias de los valores de los intervalos VV, después de la oclusión coronaria frente al valor previo a la misma, entre los grupos control y entrenado, hallamos que dicha diferencia fue mayor en el grupo control que en el entrenado ( $19,98 \pm 14,28$ ,  $n=10$ , vs  $-2,64 \pm 27,60$  ms,  $n = 11$ ). Ver figura 3.8.

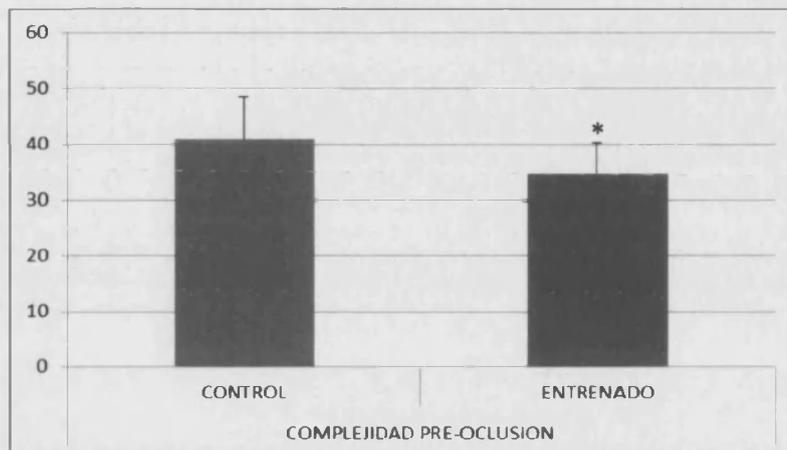


**Figura 3.8.** Media y desviación estándar de la diferencia del intervalo VV durante la fibrilación ventricular, después de la oclusión coronaria frente al valor previo a la misma, en el grupo control y en el grupo entrenado. \* $p < 0,05$  respecto a control.

### 3.3. Complejidad total de la activación miocárdica ventricular

#### 3.3.1. Valores previos a la oclusión coronaria

La complejidad total fue mayor en el grupo control que en el entrenado ( $40,92 \pm 7,51$ ,  $n = 13$ , vs.  $34,67 \pm 5,69$ ,  $n = 12$ ). Ver figura 3.9.

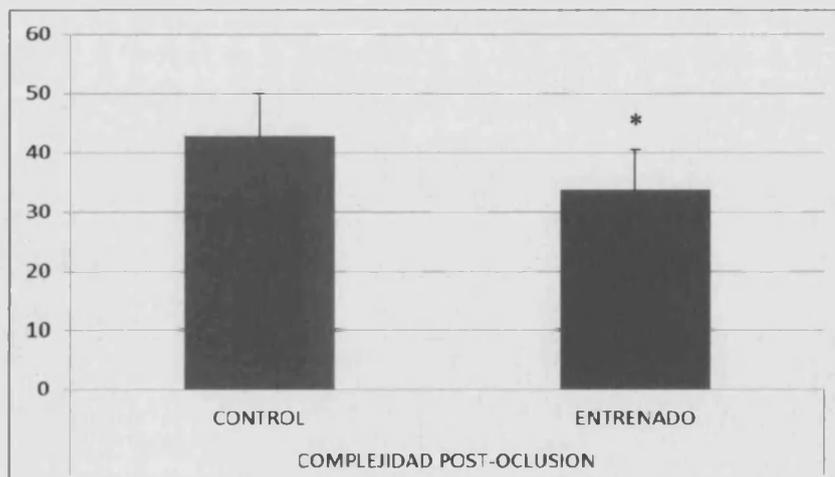


**Figura 3.9.** Media y desviación estándar de la complejidad total de la activación eléctrica miocárdica durante la fibrilación ventricular, previa a la oclusión coronaria en el grupo control y en el grupo entrenado. \* $p < 0,05$  respecto a control.

### 3.3.2. Valores posteriores a la oclusión coronaria

Al comparar los valores de complejidad total, tras la oclusión arterial coronaria, frente al valor previo a la oclusión, tanto en el grupo control, como en el entrenado, no encontramos diferencias estadísticamente significativas.

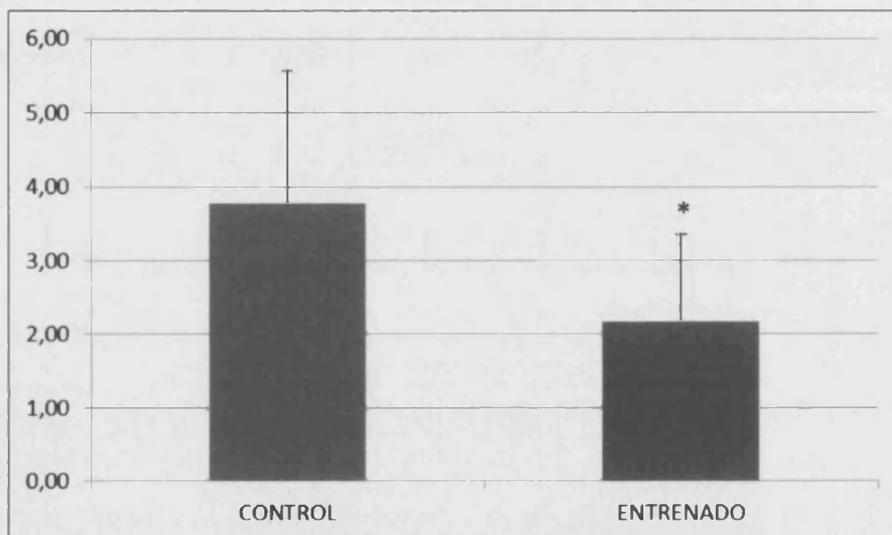
Cuando la comparación la hicimos entre el grupo entrenado frente al control, encontramos que el grado de complejidad fue menor en el entrenado que en el control ( $33,55 \pm 6,92$ ,  $n = 11$ , vs.  $42,80 \pm 7,33$ ,  $n = 10$ ). Ver figura 3.10.



**Figura 3.10.** Media y desviación estándar de la complejidad total de la activación eléctrica miocárdica durante la Fibrilación Ventricular, después de la oclusión coronaria en el grupo control y en el grupo entrenado. \* $p < 0,05$  respecto a control.

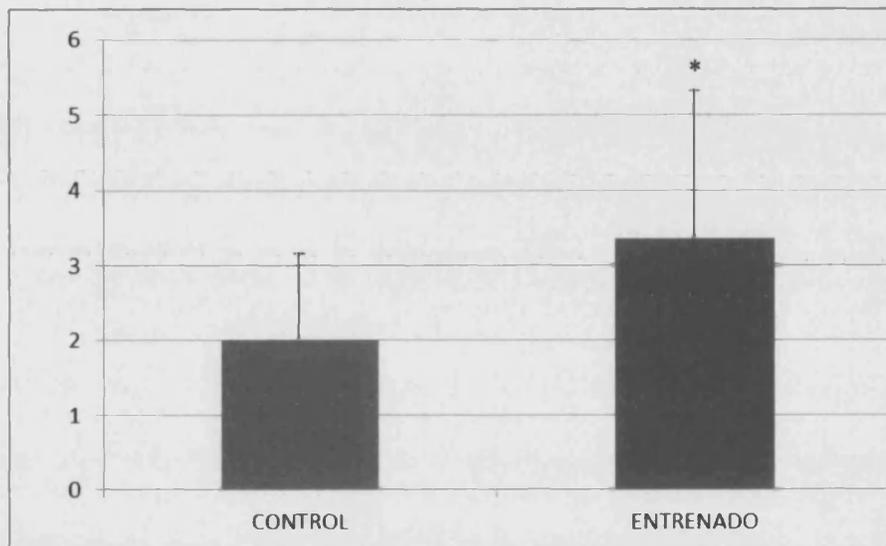
### 3.4. Grados específicos de complejidad.

Al comparar los niveles concretos de complejidad entre los grupos entrenado y control, previamente a la oclusión coronaria, encontramos diferencias en el nivel de alta complejidad 4 (Fig. 3.11.), siendo el valor medio mayor en el grupo control que en el entrenado ( $3,77 \pm 1,79$ ,  $n=13$  vs  $2,18 \pm 1,17$ ,  $n=13$ ).

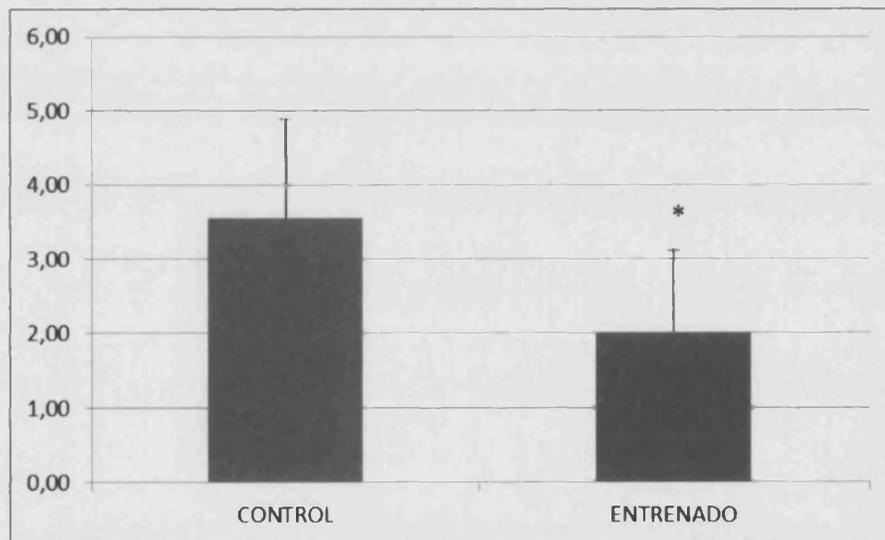


**Figura 3.11.** Media y desviación estándar de la complejidad del nivel 4 de la activación eléctrica miocárdica durante la fibrilación ventricular, previamente a la oclusión coronaria en el grupo control y en el grupo entrenado. \* $p < 0,05$  respecto a control.

Al comparar los niveles concretos de complejidad entre los grupos entrenado y control, tras la oclusión coronaria, encontramos diferencias en el nivel de menor complejidad 2 (Fig. 3.12.), siendo el valor medio menor en el grupo control que en el entrenado ( $2 \pm 1,15$ ,  $n = 10$  vs  $3,36 \pm 1,96$ ,  $n = 11$ ). También encontramos diferencias en el nivel de mayor complejidad 4 (Fig. 3.13.) siendo, en este caso, el valor medio mayor en el grupo control que en el entrenado ( $3,56 \pm 1,33$ ,  $n = 10$  vs  $2 \pm 1,12$ ,  $n = 11$ ).



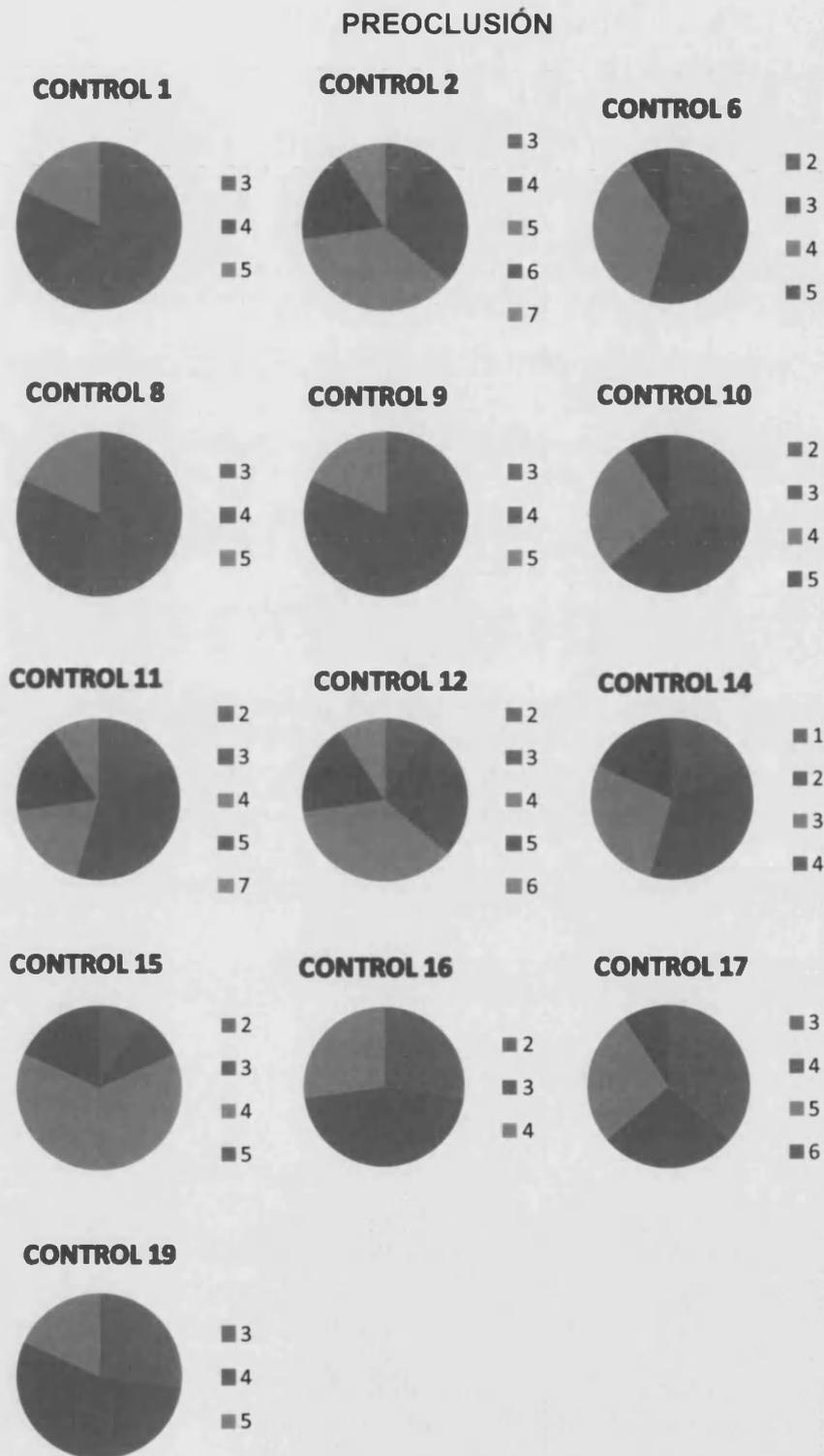
**Figura 3.12.** Media y desviación estándar de la complejidad del nivel 2 de la activación eléctrica miocárdica durante la fibrilación ventricular, tras la oclusión coronaria en el grupo control y en el grupo entrenado. \* $p < 0,05$  respecto a control.



**Figura 3.13.** Media y desviación estándar de la complejidad del nivel 4 de la activación eléctrica miocárdica durante la fibrilación ventricular, tras la oclusión coronaria en el grupo control y en el grupo entrenado. \* $p < 0,05$  respecto a control.

**3.5. Análisis individualizado de la incidencia relativa de los diferentes grados de complejidad del proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular.**

En las figuras 3.14, 3.15, 3.16 y 3.17 se hallan representados, caso por caso, los diferentes grados de complejidad del proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular correspondientes al grupo control previamente a la oclusión arterial coronaria aguda, posteriormente a la misma y al grupo entrenado previamente a la oclusión arterial coronaria y posteriormente a la misma, respectivamente.



**Figura 3.14.** Incidencia relativa de los diferentes grados de complejidad (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7) del proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular correspondientes al grupo control, previamente a la oclusión coronaria en cada uno de los sujetos.

PREOCCLUSIÓN



Figura 3.15. Incidencia relativa de los diferentes grados de complejidad (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7) del proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular correspondientes al grupo entrenado, previamente a la oclusión coronaria en cada uno de los sujetos.

POSTOCCLUSIÓN

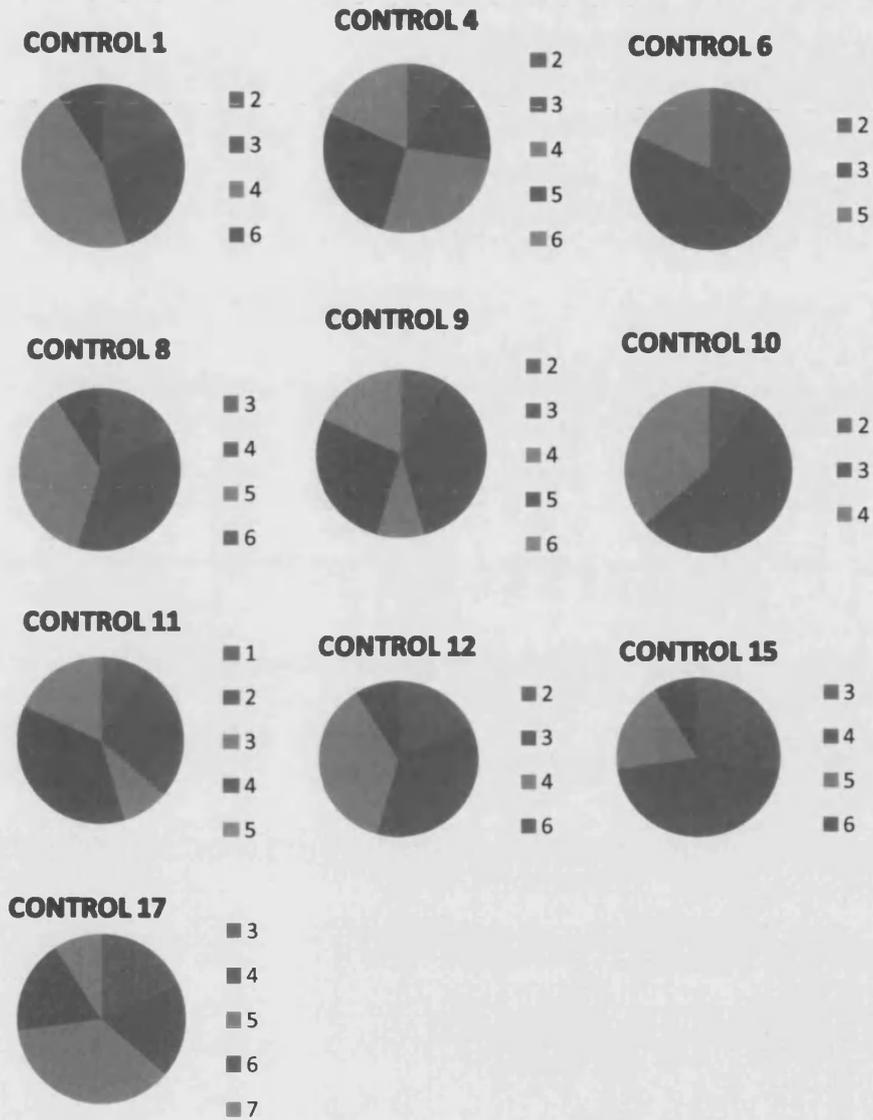


Figura 3.16. Incidencia relativa de los diferentes grados de complejidad (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7) del proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular correspondientes al grupo control, posteriormente a la oclusión coronaria en cada uno de los sujetos.

POSTOCLUSIÓN



Figura 3.17. Incidencia relativa de los diferentes grados de complejidad (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7) del proceso de activación miocárdica durante la fibrilación ventricular correspondientes al grupo entrenado, posteriormente a la oclusión coronaria en cada uno de los sujetos.

## **CAPÍTULO 4**

---

---

### **Discusión**

## *Discusión*

---

Se ha investigado en la tesis doctoral que presentamos, el efecto de la realización de un protocolo de ejercicio físico crónico sobre una serie de parámetros relacionados con la mayor o menor estabilidad eléctrica del miocardio. Este trabajo de investigación se realiza sobre la base de un interés doble. Por una parte lo consideramos interesante desde el punto de vista de la fisiología y fisiopatología básicas ya que se investigan unas modificaciones fisiológicas producidas por el ejercicio físico crónico, tanto en el corazón normalmente oxigenado como en el sometido a isquemia regional aguda. En segundo lugar lo consideramos de interés, en tanto y cuanto se implica dentro de las investigaciones encaminadas a explicar los mecanismos básicos implicados en el efecto protector que ejerce la realización de ejercicio físico regular sobre la muerte súbita de origen cardiaco, que como es sabido, en la mayor parte de los casos es desencadenada por la fibrilación ventricular (Billman 2002).

Los parámetros y/o propiedades investigadas tanto en los animales control como en los sometidos al protocolo de ejercicio de carrera sobre cinta sin fin, han sido: la refractariedad ventricular, los parámetros derivados del análisis en el dominio del tiempo de la fibrilación ventricular inducida sin interrumpir la perfusión global, (longitud de los intervalos VV, desviación estándar, mediana, valor máximo, mínimo, percentil 95 y 5, de los intervalos VV) y el proceso de activación miocárdica durante la arritmia.

Antes de proceder al comentario y discusión acerca de los resultados obtenidos, haremos unos comentarios previos de carácter metodológico respecto a: el animal de experimentación usado y el método seguido para la realización de ejercicio físico crónico.

#### **4.1. Sobre la metodología usada.**

##### Animal de experimentación.

Comoquiera que lo que hemos querido investigar en el presente trabajo, ha sido el efecto que puede tener, en una persona habitualmente sedentaria, el efecto de la realización de ejercicio de resistencia que modifique parámetros cardiovasculares y de otra índole, relacionados con la situación de entrenamiento, y tras un relativamente corto periodo de tiempo, hemos querido realizar los experimentos sobre una especie animal que exhibiera características de: ser sedentario y manifestar signos de entrenamiento con poco tiempo. Este es el caso del conejo de laboratorio. Este animal a diferencia del propio conejo silvestre y de otros animales de uso común en el laboratorio, es un animal más bien sedentario y sometido a pocas sesiones de ejercicio físico, incluso no de gran intensidad, presenta signos propios de entrenamiento. Así, a nivel cardiovascular, los corazones de los animales entrenados siguiendo nuestro protocolo, presentan longitudes de ciclo sinusal más bajas que los animales control; y además esta manifestación electrofisiológica la presentan tanto en el corazón "in situ" como en el corazón aislado; lo cual ha sido previamente relatado por nosotros (Such et al., 2002 y Such et al., 2008). Incluso a nivel bioquímico, la realización de nuestro protocolo de entrenamiento, exhibe también modificaciones, como son: 1. Que el incremento en la concentración de lactato en sangre venosa, producida por las series de carrera y que se mantiene hasta la última serie, al inicio del periodo de carreras sobre tapiz rodante, deja de mantenerse elevada, al finalizar dicho periodo de entrenamiento; y 2. En trabajos previos (Such et al., 2008) expusimos que la expresión de proteínas de choque térmico y de óxido nítrico sintasa inducible de miocardio fue mayor en animales entrenados como lo hicimos en el presente estudio, que en controles. Téngase en cuenta que para algunos autores el entrenamiento se asocia con un significativo incremento en los niveles relativos de las proteínas de choque térmico HSP40, HSP72 y HSP90 (Hamilton et al. 2001).

Así pues aquellos cambios de carácter bioquímico pudieron relacionarse con los cambios electrofisiológicos producidos por el entrenamiento y por ende, de alguna manera, los cambios que nosotros hemos hallado en esta tesis podemos también atribuirlos al proceso previo de entrenamiento.

Además de las ventajas que exhibe el uso del conejo de cara a su sensibilidad y respuesta a la realización de ejercicio físico crónico, su corazón exhibe una serie de ventajas adicionales nada desdeñables y que a continuación vamos a comentar.

Hemos de tener en cuenta que en esta investigación hemos desencadenado la fibrilación ventricular sin interrumpir la perfusión global, y con esta arritmia disponer de una herramienta de trabajo para obtener información sobre los parámetros electrofisiológicos objeto de estudio. Efectivamente, analizando la fibrilación ventricular hemos podido obtener información del periodo refractario funcional antes y después de la oclusión coronaria aguda, y las modificaciones producidas por el entrenamiento; así, también hemos obtenidos información sobre la FV en el dominio del tiempo, así como, y lo que es más importante, el proceso de activación del miocardio ventricular durante la arritmia. Pues bien, es muy importante disponer de un corazón al que se pueda inducir fácilmente fibrilación ventricular y que esta arritmia se mantenga. De hecho, de cara a investigar los mecanismos desencadenantes de la FV ha sido señalada la conveniencia de usar especies cuyo corazón tenga una masa relativamente grande, al tiempo que su frecuencia no sea muy elevada (para revisión ver Billman (2002)). Este es el caso de los conejos frente a las ratas y otros pequeños roedores, que como sabemos son ampliamente usados en el laboratorio de investigación, pero que además presentan el inconveniente de que su pequeño corazón no permite una instrumentalización prolongada, y por tanto diseñar estudios longitudinales (Schaible y Scheuer, 1985). En el caso del conejo de laboratorio, una vez instaurada la FV, esta se mantiene más fácilmente que en los ratones y ratas (Wit y Janse, 1993). Coker SJ (1989), validó el modelo como una herramienta

## *Discusión*

---

alternativa para el estudio de arritmias producidas como consecuencia de la isquemia y reperfusión.

### Preparación de corazón aislado.

Hemos usado una preparación de corazón de conejo aislado y perfundido tipo Langendorff. Esta es una muy clásica y conocida técnica que Oscar Langendorff describió 1895 (para revisión ver Riascos et al., 2004). Este método exhibe ventajas como son reproducibilidad y bajo costo, y permite estudiar el corazón en ausencia de factores reguladores extrínsecos (nerviosos centrales y/o humorales, y con él pueden realizarse fácilmente experimentos que requieran la instauración de isquemia (global y/o regional) y reperfusión. Como limitaciones presenta que reproduce una situación poco fisiológica, además de que salvo posteriores adaptaciones, en principio no tiene precarga ni poscarga. En nuestra investigación, la ausencia de carga es más bien una ventaja, ya que las diferencias que encontramos no son debidas a variaciones en la carga. Este modelo lo hemos usado comúnmente para el estudio de efectos electrofisiológicos de fármacos o de diversas manipulaciones como son estiramientos, lesiones por radiofrecuencia, variaciones térmicas, hipoxia global, ejercicio físico, etc. (Chorro et al., 1997, 1999, 2000, Such et al., 2002, Chorro et al., 2005). El hecho de que el corazón esté aislado y perfundido con Tyrode, permite asentar que las modificaciones que hemos obtenido son de carácter intrínseco y no mediadas por ningún factor propio de la sangre ni del sistema nervioso central.

### Metodología para la determinación de los parámetros electrofisiológicos citados.

Hemos visto que para la determinación de todos los parámetros objeto de estudio hemos provocado previamente la fibrilación ventricular sin interrumpir la perfusión global.

Esta forma de operar nos ha permitido la determinación del periodo refractario durante la arritmia, lo cual, a nuestro entender, presenta una serie

de ventajas. En primer lugar se determina un periodo refractario funcional muy representativo de todo el miocardio ventricular. Decimos esto porque, cuando determinamos el periodo refractario efectivo y funcional del miocardio mediante el test del extraestímulo, en realidad se determina el periodo refractario del miocardio que subyace al electrodo de estimulación, y en el momento que no hay respuesta ventricular tras la aplicación de un estímulo en el electrodo, decimos que hemos alcanzado el periodo refractario ventricular, aunque solamente sea del "punto" de aplicación del electrodo. Es decir, se obvian las pequeñas diferencias, que las hay, entre zonas del ventrículo.

Como hemos comentado en Métodos, nosotros hemos procedido a la determinación del periodo refractario funcional ventricular durante la FV inducida mediante la determinación del percentil 5 de un histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000 ciclos en cada caso. Ello es posible dado el elevado número de electrodos de registro ubicado sobre el epicardio del ventrículo izquierdo. Diversos autores han comprobado la bondad del método al compararlo con otros cuatro métodos (Duytschaever et al., 2001).

Por otra parte el método que hemos usado nos permite disponer de una estimación del periodo refractario funcional en todos y cada uno de los puntos del epicardio ventricular donde hay situado un electrodo de registro. Ello presenta a su vez, la posibilidad de determinar la dispersión de los periodos refractario, y por tanto de disponer de una información sobre la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio y de la mayor o menor facilidad de que se instaure un proceso reentrante como la propia FV.

Otra utilidad de trabajar con el corazón fibrilando, es la posibilidad de analizar la fibrilación ventricular, tanto en el dominio de la frecuencia, como en el dominio del tiempo. En el primer caso se puede proceder a analizar la frecuencia de la fibrilación a través de la transformada rápida de Fourier que permite la descomposición del trazado fibrilatorio en sus diversos armónicos, de los cuales el de mayor amplitud exhibe una frecuencia llamada frecuencia dominante. Podemos así, examinar la energía de la señal como función de la

frecuencia, lo cual ha sido usado por nosotros en diferentes estudios dentro de la electrofisiología cardíaca (Chorro *et al.* 2000, Ropella 2001).

El análisis de la FV en el dominio del tiempo ha sido la forma de analizar la FV utilizada por nosotros para la realización de la presente tesis doctoral. Mediante la misma hemos podido obtener una información de la longitud de los ciclos fibrilatorios (intervalos entre electrogramas) y una distribución de los mismos. Hemos podido determinar el valor medio, la mediana, el máximo valor, el mínimo, el percentil 95 y el percentil 5, que como antes hemos señalado es una buena estimación del periodo refractario funcional del ventrículo.

Finalmente, y lo que para nosotros ha sido especialmente importante, y objetivo prioritario: haber usado la fibrilación ventricular sin interrumpir la perfusión global como instrumento, nos ha permitido determinar el proceso de la activación ventricular durante la arritmia, lo que tiene de útil que las modificaciones del mapa de activación eléctrica se asientan sobre diversas propiedades y/o parámetros que pueden modificarse en un sentido o en otro y ello se objetiva en una mayor o menor complejidad en el proceso de activación. En lo que respecta a la metodología seguida para analizar el parámetro que para nosotros ha revestido mayor interés, esto es, la complejidad de la activación eléctrica del miocardio durante la fibrilación ventricular inducida sin interrumpir la perfusión global, consideramos especialmente necesario realizar algunos comentarios al respecto, ya que las alteraciones en el patrón de activación miocárdica durante el proceso de la fibrilación ventricular pueden estar ligadas a modificaciones que afectan a la duración del potencial de acción, del potencial de acción monofásico y a la refractariedad. Ha sido publicado previamente que los cambios en la propiedades electrofisiológicas del miocardio alteran el patrón fibrilatorio ventricular, por influencia de fármacos, isquemia o procesos de reperfusión post isquémica (Chorro *et al.* 2000).

La metodología usada para la determinación de la complejidad de la activación miocárdica ventricular ha requerido una serie de etapas, complejas,

alguna de ellas muy laboriosas y a veces tediosas. Ha requerido registros de buena calidad, lo cual no siempre ha podido ser en todos los electrodos, por diferentes razones (mal contacto, poca adaptación de la morfología cardiaca a la concavidad del electrodo, etc). Ha habido que recurrir a un proceso de marcado no automático, que además de haber requerido la supervisión de varios "expertos", ha requerido de repetidas revisiones, en especial para obviar en lo posible la subjetividad, que consideramos como una limitación del estudio. Téngase en cuenta que en cada fase del experimento que ha requerido marcado de señales, se ha procedido a la ubicación de más de cinco mil marcas, manualmente con método semiautomático. De hecho esta dificultad nos ha llevado a realizar una investigación, no incluida en la presente tesis, para el diseño de un detector de marcado que exhiba el más alto grado de fiabilidad (Gallego, 2011).

Realizadas las marcas, siguiendo el método descrito en el capítulo de "Material y método" se ha procedido al análisis de los mapas a través de la observación de los tiempos de activación del epicardio subyacente a cada uno de los electrodos. Ello ha requerido, como ocurrió con el marcado, de la supervisión de expertos y de considerar múltiples aspectos antes de definir un tipo de activación (re-entrada, colisión, afloramiento, etc), donde hasta cierto punto (menos que en el marcado), la subjetividad y la necesidad de una importante experiencia, constituyen en alguna medida, un factor a tener en cuenta en las limitaciones del estudio.

Finalmente, y dentro de este apartado, queremos hacer énfasis en que el desencadenamiento de la FV en el modelo experimental usado por nosotros, ha sido el utensilio necesario para obtener la información que pretendíamos obtener. La instauración de la FV en nuestro caso, no genera daño miocárdico alguno, ya que ello no implica alteración de la perfusión coronaria, salvo en el momento en el que generamos una isquemia regional aguda, pero que salvo el tejido afectado por la oclusión coronaria que inducimos, el resto del mismo no presenta daño alguno.

#### **4.2. Comentarios sobre los resultados.**

##### Respecto a la refractariedad.

Previamente a la oclusión arterial coronaria, tal y como hemos expuesto en el apartado de resultados, el periodo refractario funcional fue mayor en el grupo entrenado que en el grupo control. Este resultado es similar a los encontrados por nosotros en trabajos previos usando una diferente metodología de entrenamiento y de determinación del periodo refractario (Such et al., 2002) y usando la misma metodología de entrenamiento pero no para la determinación del periodo refractario funcional (Such et al., 2008).

Estos resultados también son similares a los obtenidos por otros autores que encontraron un aumento de la duración del potencial de acción en los animales entrenados (Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, Jew *et al.*, 2000, Natali *et al.* (2002). Como sabemos en condiciones de normal oxigenación del miocardio, hay una buena correlación entre el periodo refractario y la duración del potencial de acción (Sutton *et al.*, 2000) en el corazón humano bajo condiciones control.

Este resultado contribuye a confirmar que el ejercicio físico crónico alarga la refractariedad, y además que esta modificación se manifiesta en el corazón aislado, con lo cual podemos afirmar que es una modificación de carácter intrínseco, en la medida que ni el sistema nervioso central, ni los diversos tipos de sustancias que contiene la sangre, median la persistencia de esta modificación.

Interpretamos el incremento de la refractariedad como un resultado que puede contribuir a aportar un mecanismo adicional mediante el cual la realización de ejercicio físico crónico podría ejercer un efecto protector frente a la instauración de FV, principal factor desencadenante de muerte súbita cardiaca. Sabemos desde hace años que la magnitud de la longitud de onda del proceso de activación, producto de la velocidad de conducción y del periodo

refractorio funcional, se halla relacionada con la instauración de fenómenos de re-entrada (Wijffels *et al.*, 1995), como la propia fibrilación ventricular.

Las razones científicas por las cuales el ejercicio físico a incrementado el periodo refractorio funcional no han sido investigadas en el presente trabajo, si bien podemos recurrir a las investigaciones realizadas por otros autores que han encontrado una disminución de la densidad de corrientes repolarizantes de potasio de inactivación lenta o sostenida,  $I_{sus}$  o  $I_{late}$  (Jew *et al.*, 2001).

Aunque cabría la posibilidad de que el sistema de transporte de  $Na^+/Ca^{2+}$  del cardiomiocito pudiera plantearse como mecanismo activado por el ejercicio físico crónico (téngase en cuenta el carácter electrogénico de dicho sistema de transporte) y que actuaría alargando la duración del potencial de acción, los autores que investigaron tal posibilidad no encontraron que dicho sistema pudiera estar implicado (Mace *et al.*, 2003).

Tampoco la posibilidad de que esté incrementada la corriente de calcio hacia el interior del cardiomiocito, que se produce durante la meseta del potencial de acción y responsable de la misma, fue demostrada como factor sobre el que pudiera actuar el entrenamiento físico (Mokelke *et al.*, 1997).

En lo que respecta a los resultados tras la oclusión arterial coronaria, hemos visto que en ambos grupos, control y entrenado se produce un incremento del periodo refractorio funcional en la zona más deteriorada electrocardiográficamente. No obstante el incremento del periodo refractorio es mayor en los animales del grupo control, ya que vimos que al comparar la diferencia entre el periodo refractorio tras la oclusión coronaria y el previo a la misma, correspondiente al grupo control frente a la del grupo entrenado, tal diferencia fue mayor en los controles.

Nosotros atribuimos al mayor deterioro metabólico del grupo control, el mayor incremento de la refractariedad en la zona isquémica. Ha sido relatado que la refractariedad se correlaciona con la frecuencia dominante de la FV, que a su vez se corresponde con la frecuencia de la fibrilación. Decimos esto

## *Discusión*

---

porque el incremento de la refractariedad, que se corresponde con la frecuencia de la fibrilación y esta última con la longitud del ciclo entre los electrogramas de la FV, nos permite relacionar los resultados con un mayor o menor deterioro del miocardio, si nos atenemos a las observaciones realizadas por autores que relacionan la isquemia miocárdica con la frecuencia de la fibrilación. Un mayor daño isquémico se corresponde con una frecuencia dominante de la FV menor (Strohmeier et al., 1997). Vamos a profundizar a continuación este aspecto, al comentar los resultados relativos al análisis de la fibrilación en el dominio del tiempo.

### Respecto a las características de la FV en el dominio del tiempo.

El análisis de la fibrilación ventricular en el dominio del tiempo evidenció que previamente a la oclusión coronaria, los intervalos VV tendieron ( $p=0,07$ ) más largos en los animales entrenados que en los control. Esto se halla, de alguna manera, en consonancia con resultados previos realizados por nosotros, en los que la inversa de la longitud del ciclo o el periodo, es decir la frecuencia, fue menor en los animales entrenados (Such et al., 2008 y Zarzoso et al 2011). En los estudios que acabamos de mencionar se analizó la fibrilación ventricular en el dominio de la frecuencia a través de la aplicación de un método espectral, y lo que se investigó fue el efecto del ejercicio físico crónico sobre la frecuencia dominante de la fibrilación. No obstante la frecuencia dominante se corresponde bien con la propia frecuencia de la fibrilación. Es por esto que podemos equiparar nuestros resultados a los previos citados. En cierto modo esto también se halla en consonancia con los resultados obtenidos para el estudio de la refractariedad antes abordado.

En cuanto a los percentiles 5 y 95 de los intervalos VV, como ya vimos en resultados, estos fueron significativamente diferentes; mayores en el grupo entrenado que en el control. El significado de este resultado ha sido comentado líneas arriba, en relación con la refractariedad. Es lógico que tendiendo a ser mayor la longitud del ciclo en los entrenados, estos parámetros se modificaran. Asimismo las consideraciones a hacer son equiparables a las ya hechas para la refractariedad.

Y respecto al efecto de la oclusión coronaria sobre las características temporales de la FV, al igual que ocurrió con el periodo refractario, hubo un incremento significativo de los intervalos VV, en el grupo control, tal y como expusimos en resultados, que nosotros interpretamos como consecuencia del deterioro metabólico del miocardio. Como asimismo vimos en el correspondiente capítulo, los resultados de las diferencias entre el valor de los intervalos VV tras la oclusión coronaria y los previos a la misma, el valor de la diferencia fue mayor en los controles, lo que interpretamos como refuerzo de lo que acabamos de sugerir; que se trata de un efecto producido por la agresión isquémica aguda, y que frente a la misma, los corazones de los animales sometidos al protocolo de ejercicio, quedan preservados, o mejor preservados frente a las consecuencias de la privación regional del riego sanguíneo coronario. Estudios previos realizados por nosotros y en los que se analizó la variación de la frecuencia dominante de la fibrilación tras la oclusión coronaria, evidenciaron una caída de dicho parámetro tras la oclusión coronaria, que fue mayor en los corazones de los conejos no entrenados (Such-Miquel, 2007). El mantenimiento de la longitud del ciclo de la fibrilación ventricular, o su inversa, la frecuencia de la fibrilación ha sido interpretada como un efecto beneficioso. Como hemos comenzado a comentar en líneas anteriores, Strohmenger et al (1997) encontraron una correlación entre el valor de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular, que produce una isquemia global del miocardio) y el éxito de la desfibrilación y del posterior curso del paciente. El hecho de que la frecuencia de la FV sea un reflejo del flujo sanguíneo miocárdico durante la resucitación cardiopulmonar y del éxito de la cardioversión, nos lleva a considerar nuestros resultados al respecto de los cambios de la FV en el dominio del tiempo, como un efecto beneficioso. La parada cardiaca crea una situación de isquemia progresiva y por lo tanto una disminución de ATP y de fosfágenos, una alteración de la excitabilidad de la membrana, trastornos iónicos, como la sobrecarga intracelular de calcio (Neumar et., 1990). y a nivel electrocardiográfico ocurre una disminución de la frecuencia fibrilatoria, Contrariamente, mantener la perfusión miocárdica evita la caída de la frecuencia fibrilatoria y simultáneamente aumenta la probabilidad de una desfibrilación eficaz. Strohmenger et al. (1997), en concordancia con otros

## Discusión

---

autores, hallaron en pacientes una gran probabilidad de evolución favorable después de la desfibrilación cuando los valores de la frecuencia dominante y de la mediana se mantenían.

En nuestro caso, repetimos, que si bien la FV ha sido analizada en el dominio del tiempo, el razonamiento que se deriva de nuestros resultados va en la misma dirección que el de los resultados de los de los anteriores autores, ya que son similares los parámetros analizados.

Respecto a la complejidad de la activación miocárdica durante la FV inducida sin interrumpir la perfusión global del corazón.

En lo que respecta a este parámetro, en Resultados se ofrecen datos que en conjunto y por separado evidencian que los corazones de los animales entrenados exhiben un nivel de complejidad menor en condiciones de perfusión normalmente oxigenada en todo el miocardio ventricular. No solamente el número de eventos ha sido menor en los diferentes casos dentro del grupo sometido al protocolo de ejercicio, sino que también la media de los niveles de mayor complejidad ha sido mayor también en el caso de los conejos entrenados.

En apartados y líneas anteriores hemos comentado que ha sido publicado que el entrenamiento alarga la duración del potencial de acción (Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, Jew *et al.*, 2000, Natali *et al.* (2002) y algunas propiedades electrofisiológicas del miocardio (Zaroso *et al.*, 2011). El entrenamiento aumenta el periodo refractario funcional intrínseco del miocardio ventricular (Such *et al.*, 2008) y disminuye la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio. Teniendo en cuenta que las propiedades que acabamos de comentar subyacen a la mayor o menor complejidad en el proceso de activación eléctrica del miocardio, es esperable, como así ha ocurrido en nuestro caso, que el entrenamiento físico haya modificado dicha complejidad.

Los resultados son similares a los obtenidos por diferentes autores, en los cuales, tras recurrir a otras maniobras que modifican la duración del potencial de acción, la refractariedad y la heterogeneidad electrofisiológica, incrementan la complejidad de la arritmia (para revisión ver Chorro et al., 2000). Nosotros hemos coincidido con estos resultados en experimentos previos en los cuales recurriendo al estiramiento local, analizamos la complejidad de la FV en un modelo similar de corazón aislado y perfundido, sin interrupción de la perfusión global. En estos experimentos el incremento de la complejidad de la activación miocárdica coincidió con una modificación simultánea de la refractariedad y de la heterogeneidad electrofisiológica.

Interpretamos la disminución de la complejidad de la activación en por la realización de ejercicio físico, como un efecto beneficioso que indica la posibilidad de incrementar la estabilidad eléctrica del miocardio ventricular a través de la realización del ejercicio físico crónico. Este efecto beneficioso se asienta en parte y se suma al del acontecido con la refractariedad y con los otros efectos derivados del análisis de la fibrilación en el dominio del tiempo.

El análisis cuantitativo de la complejidad durante la fibrilación ventricular tras producir isquemia regional aguda, no incrementó la complejidad de la activación de modo significativo ni en el grupo control ni en el entrenado. Solamente en algunos corazones del grupo control, el valor de la cuantía total de los eventos o tipos de activación fue claramente mayor tras la oclusión que previamente a la misma. Circunstancia que no se dio en ningún caso en el grupo entrenado.

Al comparar nuestros resultados con los obtenidos por otros autores, encontramos algunas discrepancias. Así, Massé et al. (2009) investigando en corazones humanos aislados, portadores de miopatía, encontraron que la isquemia global, en el corazón fibrilando, disminuía la frecuencia de activación (lo que está en consonancia con nuestra observación del alargamiento de los intervalos VV), y la organización espaciotemporal, mientras que aumentaba la ruptura de ondas, que solamente se restituía a valores basales, mediante la perfusión.

Bradley et al. (2011), investigando en corazones humanos fibrilando, sometidos a cirugía cardíaca, encontraron que si bien previamente a la isquemia global, la arritmia era mantenida por una mezcla desorganizada de frentes de onda grandes y pequeños, durante la isquemia global, al igual que ocurrió con las observaciones de los anteriores autores, la frecuencia dominante media de la FV disminuyó rápidamente, mientras que, contrariamente, el promedio de singularidades de fase epicárdicas aumentó, así como el número de frentes de onda.

Estos dos estudios que acabamos de citar son de los más recientes que indican un incremento de la complejidad de la activación tras la isquemia, y en este sentido, como antes hemos apuntado, contrastan en gran manera con los nuestros. Hemos comentado que en el grupo control hubo un incremento de la complejidad tras la oclusión coronaria, pero que no se dio en todos los casos. Pensamos que la diferencia puede depender de varios factores: En primer lugar, en nuestro estudio, hemos practicado una oclusión coronaria que origina un isquemia regional, y ligado a este primer factor, un segundo es que la zona investigada incluye miocardio afectado por la oclusión coronaria y miocardio ventricular no isquémico. También cabe tener en cuenta la posibilidad de que el tiempo de oclusión coronaria, en nuestro modelo experimental, no haya "situado" a los corazones usados en el presente estudio dentro de la llamada por algún autor, fase de aperiodicidad. Efectivamente Huizar et al. (2007), describieron tres fases en la dinámica de la FV local durante la isquemia: una forma relativamente periódica (durante el primer minuto de la FV), otra altamente periódica (posterior a la precedente) y una fase posterior, llamada aperiódica (de los 3 a los 10 minutos) caracterizada por una gran variabilidad de los potenciales de acción, alto nivel de ruptura de frentes y baja recurrencia de dirección de propagación.

En cuanto al efecto del ejercicio físico crónico sobre la complejidad de la activación miocárdica, hemos visto en el apartado de resultados que al igual que ocurrió previamente a la oclusión coronaria, la complejidad de la activación fue claramente menor en el corazón de los animales entrenados, que en los del

grupo control. Tampoco la oclusión arterial coronaria incrementó, en el grupo entrenado, la complejidad de la activación, al compararla con su valor previamente a la oclusión.

Al igual que hemos comentado anteriormente para el resultado obtenido previamente a la oclusión coronaria, el hecho de que la complejidad de la activación sea menor en el grupo entrenado que en el control, tras la oclusión coronaria, lo acogemos como un efecto beneficioso del entrenamiento, ya que traduce un efecto estabilizador de un miocardio que en la isquemia es, en general, más sensible a eventos pro-arritmogénicos, lo que en el miocardio de los conejos sometidos al protocolo de ejercicio probablemente se traduce en una mayor resistencia para tal tipo de eventos.

En conclusión, la realización de ejercicio físico crónico aumenta la refractariedad miocárdica ventricular intrínseca, tiende a disminuir la frecuencia de activación durante la FV (según se desprende del análisis de la arritmia en el dominio del tiempo) y algunas características adicionales de las características de la FV en el dominio del tiempo, y disminuye la complejidad de la activación eléctrica del miocardio ventricular. Todo lo anterior se produce en el corazón aislado y con perfusión normalmente oxigenada. El ejercicio físico ha atenuado el alargamiento anormal de la refractariedad miocárdica, tras isquemia regional aguda; ha atenuado también el enlentecimiento de la frecuencia de activación producido en tales circunstancias, y modificado en un sentido favorable las características de la FV en el dominio del tiempo, así como, y lo que ha sido más importante en el presente estudio, ha disminuido la complejidad del proceso de activación miocárdica durante la FV inducida.

#### **4.3. Consideraciones finales respecto a los resultados obtenidos: Importancia del estudio.**

Las taquiarritmias son causa de la mayor parte de las muertes súbitas. En concreto de entre las taquiarritmias es la fibrilación ventricular responsable del setenta y cinco por cien de las muertes. No obstante este problema sanitario, no está totalmente asentado el papel beneficioso de los antiarrítmicos

## *Discusión*

---

en la actualidad, ya que la administración de alguno de ellos incluso parece ser más contraproducente que la ausencia de su administración. Entre estos fármacos antiarrítmicos está la encainida, que incrementa el riesgo de muerte súbita cardíaca debido precisamente a la presentación de arritmias. No obstante y pese a que existen antiarrítmicos de menor riesgo y de bastante probada efectividad, como es el caso de la amiodarona y del sotalol que alargan la refractariedad (Singh, 1993), no están totalmente exentos de efectos deletéreos (Brendorp et al. 2002, Anderson y Prystowsky, 1999).

Frente a los anteriores hechos, han sido planteadas estrategias para combatir las arritmias. Entre las citadas estrategias se halla la planteada por diversos autores en relación a la realización de ejercicio físico aeróbico como mecanismo protector frente a ciertas arritmias. Este planteamiento se ha basado en estudios científicos que han demostrado que la realización de ejercicio físico parece proteger frente a la muerte súbita de origen cardíaco (ver referencia de Billman, 2002). Determinados autores encontraron que la incidencia de muerte súbita de origen cardíaco era menor en sujetos con mayor nivel de actividad física regular, que en aquellos sujetos en los que se el nivel de actividad física regular era menor (Bartels et al., 1997).

Observaciones adicionales objetivan una menor incidencia de muerte súbita en pacientes con un buen nivel de "forma" física (Ekelund et al., 1988) o con un gasto energético alto dadas las particularidades de su trabajo físico (Paffenbarger y Hall, 1975). Otros estudios han mostrado 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 (Hertzeanu et al., 1993). Berlin et al. (1990) relataron que pacientes con una historia previa de infarto de miocardio y que siguieron un programa de rehabilitación con ejercicio físico, presentaron una disminución significativa en la incidencia de muerte súbita.

No solamente han sido observados efectos protectores en trabajos clínicos sobre humanos, sino que también estudios experimentales han venido

a reforzar la idea del efecto protector frente a arritmias que amenazan la vida y que exhibe la realización de ejercicio físico. de arritmias, también han sido realizados trabajos experimentales que apuntan en la misma dirección. Así ha sido demostrado que la práctica diaria de ejercicio físico podía prevenir la fibrilación ventricular inducida por isquemia aguda en perros portadores de infarto de miocardio cicatrizado (Billman et al., 1984).

Autores diversos han demostrado el efecto protector del ejercicio en animales, tanto por una mayor dificultad para producir fibrilación ventricular inducida por la isquemia (Hull et al., 1994) con aumentos del umbral fibrilatorio; y asimismo incluso en situaciones patológicas provocadas como la diabetes, en perros, Bakth et al., (1986) mostraron un aumento en el umbral fibrilatorio.

Entre los mecanismos que parecen operar en el efecto protector del ejercicio físico está la propuesta por diversos autores que los ligan a un desplazamiento del equilibrio existente entre los componentes simpático y parasimpático del sistema nervioso vegetativo (Blomqvist y Saltin, 1983) a favor de un incremento de la actividad parasimpática, como clásicamente amplias evidencias han venido a demostrarlo (para revisión mirar Blomqvist y Saltin, 1983 y Scheuer y Tipton, 1997), lo que como conocemos se manifiesta por una depresión del cronotropismo del nodo sinusal.

Inversamente ha sido publicado que hay una relación entre al aumento de la actividad simpática y la presentación de arritmias que amenazan la vida ha sido claramente demostrada por diversos autores (Schwartz y Stone, 1990). Asimismo ha sido demostrado que las maniobras que disminuyen la actividad simpática ejercen un efecto protector contra las arritmias, y similarmente estudios clínicos y experimentales parecen apuntar a una mayor facilidad para la aparición de muerte súbita cuando disminuye el tono parasimpático (Billman, 1990).

Por otra parte ha sido demostrado experimentalmente que el tono vagal y los reflejos vagales ejercen un efecto protector contra la muerte súbita (De Ferrari et al., 1991) y que la estimulación vagal previene la incidencia de

fibrilación ventricular en perros portadores de infarto de miocardio cicatrizado (Vanoli et al., 1991).

Trabajos adicionales de investigación también han demostrado que aumentando la actividad vagal mediante diferentes procedimientos se ejerce un efecto antiarrítmico (De Ferrari et al., 1993).

En lo que respecta a las funciones de los ganglios cardiacos, considerados predominantemente parasimpáticos, existe una importante incertidumbre; de hecho se están realizando importantes investigaciones al respecto en la actualidad (Johnson et al., 2004).

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 que neuronas de un ganglio llamado cráneoventricular de la superficie anterior del ventrículo izquierdo ejerce efectos inotrópicos negativos sobre dicho ventrículo (Johnson et al., 2004).

En cualquier caso independientemente del posible efecto del ejercicio físico a través de su acción sobre el sistema nervioso parasimpático, que como acabamos de ver es objeto de debate, nuestro planteamiento es si, además de modificar el equilibrio existente entre los componentes simpático y parasimpático del sistema nervioso vegetativo, el ejercicio físico puede modificar alguna de las características electrofisiológicas intrínsecas directamente relacionadas con la producción de arritmias por reentrada, como la fibrilación ventricular y si dicha modificación se manifiesta asimismo tras la oclusión arterial coronaria.

En la actualidad ya han sido publicadas investigaciones realizadas por nuestro grupo en las que se demuestra que el ejercicio físico crónico incrementa, en el corazón aislado, y por tanto no sometido a influencias nerviosas y/o humorales, la refractariedad ventricular intrínseca y la longitud de onda del proceso de activación miocárdica (Such et al., 2002, 2003, Zarzoso et

al., 2011),. Paralelamente otros investigadores han obtenido resultados similares, analizando el potencial de acción de cardiomiocitos de ratas sometidas a realización de ejercicio físico, y en los que se produce un aumento de este parámetro en las células miocárdicas sub-epicárdicas (Natali et al., 2002). Como es sabido los parámetros anteriormente citados se hallan en relación inversa con las arritmias reentrantes, de tal manera que el incremento de cualquiera de los dos (sin decremento del otro) constituiría una protección frente a las arritmias citadas.

El presente estudio ofrece la posibilidad de tener en cuenta los parámetros y propiedades sobre los que ha operado el ejercicio físico, tanto en el corazón sometido a una perfusión normalmente oxigenada, como en el que se ha producido una isquemia regional aguda. Los efectos sobre refractariedad, las características de la fibrilación y en especial sobre el proceso de activación miocárdica, que se asienta sobre la modificación de múltiples parámetros, entre los que está la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio, constituyen un elemento a añadir y considerar, junto a otros ya más conocidos, a la hora de poder entender los efectos protectores de la realización de ejercicio físico crónico.

Los resultados nos afirman en la necesidad de proseguir y ampliar el número de experimentos con el fin de asentar más firmemente la existencia de mecanismos electrofisiológicos protectores, desarrollados por la realización regular de ejercicio físico aeróbico de resistencia, e investigar los mecanismos básicos, a nivel celular, sobre los que se asientan las modificaciones intrínsecas encontradas por nosotros.

## *Discusión*

---

## **CAPÍTULO 5**

---

### **Conclusiones**

## *Conclusiones*

---

Hemos realizado un estudio, en corazón aislado y perfundido de conejo acerca de los efectos del ejercicio físico crónico sobre las modificaciones intrínsecas de la refractariedad ventricular durante la fibrilación ventricular inducida, de las características de la arritmia en el dominio del tiempo, y de la complejidad de la activación eléctrica del miocardio ventricular, durante el proceso fibrilatorio. Asimismo han sido analizados las anteriores propiedades y/o parámetros tras la oclusión coronaria aguda.

Las conclusiones más relevantes del estudio han sido:

En el corazón aislado y normalmente oxigenado, la realización de ejercicio físico crónico:

1. Aumenta la refractariedad miocárdica ventricular intrínseca.
2. Modifica las características de la FV en el dominio del tiempo.
3. Disminuye la complejidad de la activación eléctrica del miocardio ventricular.

En el corazón sometido a isquemia regional aguda, la realización de ejercicio físico crónico:

4. Atenúa el alargamiento de la refractariedad ventricular, el cual interpretamos como signo de deterioro miocárdico.
5. Atenúa la modificación de las características de la FV en el dominio del tiempo, debidas a la lesión isquémica.
6. Disminuye la complejidad de la activación eléctrica del miocardio ventricular.

Como conclusión final podemos apuntar que las modificaciones electrofisiológicas intrínsecas producidas por el ejercicio físico regular observadas por nosotros, exhiben un carácter claramente beneficioso frente a la posibilidad de instauración de una fibrilación ventricular, principal causa de muerte súbita cardiaca. Esta conclusión puede contribuir a ofrecer un punto de

### *Conclusiones*

---

vista adicional que también sea tenido en cuenta a la hora de explicar porqué mecanismos el ejercicio físico crónico ejerce su efecto protector.

## **CAPÍTULO 6**

---

---

### **Referencias bibliográficas**

*Referencias bibliográficas*

---

*Referencias bibliográficas*

---

Allessie MA, Bonke FIM, and Schopman FJC. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. *Circ Res* 33: 54–62, 1973.

Allessie MA, Bonke FIM, and Schopman FJC. 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. *Circ Res* 39: 168–177, 1976.

Allessie MA, Bonke FIM, and Schopman FJC. 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. *Circ Res* 41: 9–18, 1977.

Allessie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, and Hollen J. Experimental evaluation of Moe’s multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. In: *Cardiac Arrhythmias*, edited by Zipes DP and Jalife J. New York: Grune & Stratton, p. 265–276, 1985.

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

Anholm J.D., Foster C., Carpenter J. Effect of habitual exercise on left ventricular response to exercise. *J Appl Physiol*, Jun;52(6):1648-51, 1982.

Antzelevitch, C., S. Sicouri, S. H. Litovsky, A. Lukas, S. C. Krishnan, J. M. Di Diego, G. A. Gintant, and D. W. Liu. Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial, and M cells. *Circ. Res.* 69: 1427–1449, 1991.

Åstrand PO, Rodahl K, Dahl HA and Stromme SB. Textbook of work physiology. Physiological bases of exercise. 4th ed. Human Kinetics. 2003.

*Referencias bibliográficas*

---

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

Bar-Shlomo B.Z., Druck M.N., Morch J.E. Left ventricular function in trained and untrained healthy subjects. *Circulation* 65:3 (484-488), 1982.

Barnard RJ. Effects of exercise of skeletal muscle: Biochemical and histochemical properties. *J Appl Physiol* 28: 762-767, 1970.

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

Batsford WPD, Cannon DS, Zaret BI. Relationship between ventricular refractoriness and regional myocardial blood flow after acute coronary occlusion. *Am J Cardiol* 41:1083-8, 1978.

Bedfortd TG, and Tipton CM. Exercise training y the arterial baroreflex. *J. Appl. Physiol.* 63 (5): 1926 - 1932, 1987.

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

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

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

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

Billman G.E., Kukielka M. 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* 100(3): 896-906, 2006.

Billman GE, Kúkielkà M. Effect of endurance exercise training on heart rate onset and heart rate recovery responses to submaximal exercise in animals susceptible to ventricular fibrillation. *J Appl Physiol*. Jan;102(1):231-40, 2007.

Billman GE. The cardiac sarcolemmal ATP-sensitive potassium channel as a novel target for anti-arrhythmic therapy. *Pharmacol Ther* 120:54-70, 2008.

Blomqvist CG and Saltin B. Cardiovascular adaptations to Physical training. *Ann Rev Physiol* 63: 1926-1932, 1983.

Boineau JP, Cox JL: Slow ventricular activation in acute myocardial infarction: A source of re-entrant premature ventricular contractions. *Circulation* 48:702-713, 1973.

Boraita A y Serratosa L. El corazón del deportista: hallazgos electrocardiográficos más frecuentes. *Rev ASP Cardiol* 51: 356-368, 1998.

Boraita Pérez A., Serratosa Fernández L. Sudden death (IV). Sudden death in the athlete. The minimal requirements before performing a competitive sport. *Rev esp cardiol* 52(12):1139-1145, 1999.

Bouchard C. Long-term exercise training with constant energy intake. Effects on body composition and selected metabolic variables. *Int J Obesity* 14: 57-61, 1992.

Bowers RW and Fox EL. *Fisiología del Deporte*. 3ª edición. Ed. Panamericana. Buenos Aires, 1995.

Bradley CP, Clayton RH, Nash MP, Mourad A, Hayward M, Paterson DJ, Taggart P Human ventricular fibrillation during global ischemia and

*Referencias bibliográficas*

---

reperfusion: paradoxical changes in activation rate and wavefront complexity. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 4:684-91, 2011.

Braundwald. 2006. *Tratado de Cardiología*, Ed. Elsevier, 7ª Edición, 2006.

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

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

Capucci A, Coronel R, Fabius M, et al. Electrophysiologic mechanisms of ventricular arrhythmias in acute ischemia. *New Trends Arrhythmias* 1:41-56, 1995.

Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev.* Jul;79(3):917-1017, 1999.

Chorro FJ, Cánoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Soria E, Such LM, Rosado A, Such L, López-Merino V. Opposite Effects of Myocardial Stretch and Verapamil on the Complexity of the Ventricular Fibrillatory Pattern: An Experimental Study. *PACE*, 23[Pt. I]:1594–1603, 2000.

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

Cobbe SM, Manley BS. Effects of elevated extracellular potassium concentrations on the class III antiarrhythmic action of sotalol. *Cardiovasc Res* 19:69-75, 1985.

*Referencias bibliográficas*

---

Cobbe SM, Manley BS, Alexopoulos D. The influence of acute myocardial ischaemia on the class III antiarrhythmic action of sotalol. *Cardiovasc Res* 19:661-7, 1985.

Coker SJ. Anesthetized rabbit as a model for Ischemia-and Reperfusion-induced Arrhythmias: Effects of Quinidine and Bretylium. *J Pharmacol Meth* 21: 263-279, 1989.

Coronel R, Fiolet JWT, Wilms-Schopman FJG, et al. Distribution of extracellular potassium and its relation to electrophysiologic changes during acute myocardial ischemia in the isolated perfused porcine heart. *Circulation* 77:1125-38, 1988.

Coronel R, Wilms-Schopman FJG, Opthof T, et al. Injury current and gradients of diastolic stimulation threshold, TQ potential, and extracellular potassium concentration during acute regional ischemia in the isolated perfused pig heart. *Circ Res* 68:1 241-9, 1991.

Coronel R, Opthof T, Taggart P, Tytgat J, Veldkamp M. Differential electrophysiology of repolarisation from clone to clinic. *Cardiovasc Res* 33:503-17, 1997.

Covertino VA. Heart rate and sweat rate responses associated with exercise-induced hypervolemia. *Med Sci Sports Exerc* 15: 77-84, 1982.

Cranefield P, Wit AL, Hoffman BF. Conduction of the cardiac impulse. Characteristics of very slow conduction. *J Gen Physiol* 59:227-46, 1972.

Cross, H. R., I. H. Opie, G. K. Radda, and K. Clarke. Is a high glycogen content beneficial or detrimental to the ischemic rat heart? A controversy resolved. *Circ. Res.* 78: 482-491, 1996.

Currens JH and White PD. Half a century of running. *N Engl J Med* 265: 988-993, 1961.

*Referencias bibliográficas*

---

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

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

Di Lisa, F., P. S. Blank, R. Colonna, G. Gambassi, H. S. Silverman, M. D. Stern, and R. G. Hansford. Mitochondrial membrane potential in single living adult rat cardiac myocytes exposed to anoxia or metabolic inhibition. *J. Physiol. (Lond.)* 486: 1–13, 1995.

Dixon EM, Kamath MV, McCartney N, Fallen EL. Neural regulation of heart rate variability in endurance athletes and sedentary controls. *Cardiovasc Res.* Jul;26(7):713-9, 1992.

Downar E, Janse MJ, Durrer D. The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation* 56:217-24, 1977.

Duytschaever M, Mast F, Killian M, Blaauw and, Wijffels M, Allessie M. Methods for determining the refractory period and excitable gap during persistent atrial fibrillation in the goat. *Circulation.* Aug 21;104(8):957-62, 2001.

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

*Referencias bibliográficas*

---

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

Eliakim A, Brasel JA, Mohan S, Wong WLT and Cooper DM. Increased physical activity and the growth hormone-IGF-I axis in adolescent males. *Am J Physiol* 275 (1 Pt 2): R308-314, 1998.

El Sherif N, Scherlag BJ, Lazzara R, et al. Pathophysiology of tachycardial and bradycardia dependent block in the canine proximal His-Purkinje system after acute myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 33:529-40, 1974.

Farges JP, Ollagnier M and Faucon G. Influence of acetylcholine, isoproterenol, quinidine and ouabain on effective refractory periods of atrial and ventricular myocardium in the dog. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 227: 206-219, 1977.

Fleet WF, Johnson TA, Graebner CA, et al. Effect of serial brief ischemic episodes on the extracellular K, pH, and activation in the pig. *Circulation* 72:922-32, 1986.

Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA, Chaitman B, Eckel R, Fleg J, Froelicher VF, Leon AS, Piña IL, Rodney R, Simons-Morton DG, Williams MA y Bazzarre T. Exercise Standards for Testing y Training. A Statement for Healthcare Professionals. *Circulation* 104: 1694-1740, 2001.

Frick MH, Kontinen A and Sarajas HS. Effects of physical training on circulation at rest and during exercise. *Am J Cardiol* 12: 142-147, 1963.

Furukawa T, Kimura S, Cuevas J, Furukawa N, Bassett AL, Myerburg RJ: Role of cardiac ATP-regulated potassium channels in differential responses of endocardial and epicardial cells to ischemia. *Circ Res* 68:1693-1702, 1991.

### *Referencias bibliográficas*

---

Gallego, N. Análisis de la detección y clasificación de ondas de activación local en electrogramas de fibrilación ventricular. Validación de un sistema de detección automático. Tesina de Fin de Máster del Máster Oficial Interuniversitario en Ingeniería Biomédica: Valencia, 2011.

Ganong WF. Review of Medical Physiology. Lange Medical Books/McGraw-Hill. 20th ed: New York, 2001.

Gettes LS, Reuter H. Slow recovery from inactivation of inward currents in mammalian myocardial fibres. *J Physiol (Lond)* 240:703-24, 1974.

Gilmour RF Jr, Zipes DP: Different electrophysiological responses of canine endocardium and epicardium to combined hyperkalemia, hypoxia, and acidosis. *Circ Res* 46: 814-825, 1980.

González, J. Fisiología de la actividad física y el deporte. Ed Interamericana Mc Graw Hill: Madrid, 1992.

Gray RA, Jalife J, Panfilov AV, Baxter WT, Cabo C, Davidenko JM, Pertsov AM. Mechanisms of cardiac fibrillation. *Science* 270:1222–25, 1995.

Griese, M., V. Perlitz, E. Jungling, and H. Kammermeier. Myocardial performance and free energy of ATP-hydrolysis in isolated rat hearts during graded hypoxia, reoxygenation and high  $K_e^+$  perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 20: 1189–1201, 1988.

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

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

Hall, J.E. Guyton & Hall. Tratado de Fisiología Médica. 12ª ed. Elsevier Saunders: Barcelona, 2011.

Hamilton, K.L., Powers, S.K., Sugiura, T., Kim, S., Lennon, S., Tumer, N. & Mehta, J.L. Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281,1346–1352, 2001.

Hamra M and McNeil R. Accentuated antagonism in canine subendocardium is not altered by chronic exercise. *Med Sci Sports Exerc* 29: 1013-1020, 1997.

Harper JR Jr, Johnson TA, Engle CL, Martin DG, Fleet W, Gettes LS. Effect of rate on changes in conduction velocity and extracellular potassium concentration during acute ischemia in the in situ pig heart. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 4:661-71, 1993.

Hartley LH, Grimby G, Kilbom A, Nilsson NJ, Astrand I, Bjure J, Ekblom B and Saltin B. Physical training in sedentary middle-aged and older men: cardiac output and gas exchange during submaximal and maximal exercise. *Scand J Clin Lab Invest* 24: 335-344, 1969.

Hartley LH, Mason JW, Hogan RP, et al. Multiple hormonal responses to prolonged exercise in relation to physical training. *J Appl Physiol.* 33:607–610, 1972.

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

Hespeel P, Lijnen P, VanHoof R, Fagard R, Goossens W, Lissens W, Moerman E and Amery A. Effects of physical endurance training on the plasma

*Referencias bibliográficas*

---

renin-angiotensin-aldosterone system in normal man. *J Endocrinol* 116: 443-449, 1988.

Hoffman, BF. Effects of digitalis on electrical activity of cardiac fibers. In: *Effect of Digitalis*, edited by C. Fisch and B. Surawicz. New York: Grune & Stratton: 93-109, 1969.

Holloszy JO and Coyle EF. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Physiol* 56: 831-837, 1984.

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

Houston ME and Thompson JA. The response of endurance adapted adults to intense anaerobic training. *Eur J Appl Physiol* 36: 207-212, 1977.

Huizar, JF., Warren, MD, Shvedko, AG, Kalifa, J, Moreno, J, Mironov, S, Jalife, J., and Zaitsev, AV. Three distinct phases of VF during global ischemia in the isolated blood-perfused pig heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H1617–H1628, 2007.

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

Jacobs I. Sprint training effects on muscle myoglobin, enzymes, fiber types, and blood lactate. *Med Sci Sports Exerc* 19: 368-375, 1987.

Jalife J, Gray RA. Drifting vortices of electrical waves underlie ventricular fibrillation in the rabbit heart. *Acta. Physiol. Scand.* 157:123–31, 1996.

Jalife J, Gray RA, Morley GE, Davidenko JM. Self-organization and the dynamical nature of ventricular fibrillation. *Chaos* 8:79–93, 1998.

Jalife J, Delmar M, Davidenko J and Anumonwo J. Basic cardiac electrophysiology for the clinician. Futura publishing company: New York, 1999.

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

Jalife J. Time, space and frequency in ventricular fibrillation. *Rev Esp Cardiol.* Sep 59(9): 859-61, 2006.

Jalife J, Delmar M, Anumonwo J, Berenfeld O, Kalifa J. Basic cardiac electrophysiology for the clinician. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley-Blackwell: Oxford, 2009.

James D, Kraegen E and Chisholm D. Effects of exercise training on in vivo insulin action in individual tissues of the rat. *J Clin Invest* 76: 657-666, 1985.

Janse MJ, cinca J, Morena H, et al. The “border zone” in myocardial ischemia. An electrophysiological, metabolic and histochemical correlation in the pig heart. *Circ Res* 44:576-88, 1978.

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

Jew KN and Moore RL. Exercise training alters an anoxia induced, glibenclamide-sensitive current in rat ventricular cardiocytes. *J Appl Physiol* 92: 1473–1479, 2002.

Johnson TA, Gray AL, Lauenstein JM, Newton SS, Massari VJ. Parasympathetic control of the heart. An interventriculo-septal ganglion is the

*Referencias bibliográficas*

---

major source of the vagal intracardiac innervation of the ventricles. *J Appl Physiol* 96: 2265-2272, 2004.

Kenta Yamamoto, Motohiko Miyachi, Takeshi Saitoh, Akira Yoshioka, and Sho Onodera. Effects of endurance exercise training on resting and post-exercise cardiac autonomic control, 2001.

Kiessling K. Effects of physical training on ultrastructural features in human skeletal muscle. In *Muscle Metabolism during Exercise*. Edited by B Saltin: New York, 1971.

Kimura S, Bassett AL, Kohya T, et al. Simultaneous recording of action potentials from endocardium and epicardium during ischemia in the isolated cat ventricle: relation of temporal; electrophysiologic heterogeneities to arrhythmias. *Circulation* 74:401-9, 1986.

Kimura S, Bassett AL, Furukawa T, Cuevas J, Myerburg RJ: Electrophysiological properties and responses to simulated ischemia in cat ventricular myocytes of endocardial and epicardial origin. *Circ Res* 66:469-477, 1990.

Kimura S, Bassett AL, Furukawa T, Furukawa N, Myerburg RJ: Differences in the effect of metabolic inhibition on action potentials and calcium currents in endocardial and epicardial cells. *Circ Res* 69:421-428, 1991.

Kjaer M, Farrell P, Christensen N and Galbo H. Increased epinephrine response and inaccurate glucoregulation in exercising athletes. *J Appl Physiol* 61: 1693-1700, 1986.

Kléber AG and Rudy Y. Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiol Rev*. Apr 84(2): 431-88, 2004.

Kodama I, Wilde AAM, Janse MJ, et al. Combined effects of hypoxia, hyperkalemia and acidosis on membrane action potential and excitability of guinea pig ventricular muscle. *J Mol Cell Cardiol* 16:246-59, 1984.

Konings KT, Kirchhof CJ, Smeets JR, et al. High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. *Circulation* 89: 1665-1680, 1994.

Kuppersmith J, Antman EM, Hoffman BF. In vivo electrophysiological effects of lidocaine in canine acute myocardial infarction. *Circ Res*;36:84-91, 1975.

Laughlin MH. Effects of exercise training on coronary circulation: introduction. *Med Sci Sport Exerc* 26: 1226-1229, 1994.

Lazzara R, El-Sherif N, Hope RR, et al. Ventricular arrhythmias and electrophysiological consequences of myocardial ischemia and infarction. *Circ Res* 42:740-9, 1978.

Li, R.A. & Chiamvimonvat, N. Adrenergic signaling and cardiac ion channels. En Zipes & Jalife. *Cardiac Electrophysiology: From cell to bedside*. 5th ed. Saunders Elsevier: Philadelphia, 2009.

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

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

López L. Efectos del ejercicio físico crónico sobre la excitabilidad intrínseca miocárdica. Estudio experimental: Tesis, 2008.

*Referencias bibliográficas*

---

McWilliam JA. Fibrillar contraction of the heart. *J Physiol.* Oct;8(5):296-310, 1887.

McWilliam JA. Electrical stimulation of the heart in man. *Br. Med. J.* 1:348, 1889.

Martin JE, Dubbert PM and Cushman WC. Controlled Trial of Aerobic Exercise in Hypertension. *Circulation* 81: 1560-1567, 1990.

Massé S, Farid T, Dorian P, Umapathy K, Krishnakumar Nair K, Asta J, Ross H, Rao V, Sevapsidis E and Nanthakumar K. Effect of global ischemia and reperfusion during ventricular fibrillation in myopathic human hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297:H1984-H1991, 2009.

Matsuda JJ, Lee H and Shibata EF. Enhancement of rabbit Cardiac sodium channels by beta-adrenergic stimulation. *Circ Res* 70:199-207, 1992.

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

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

Moe GK. On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 140:183-88, 1962.

Molé PA. Increased contractile potential of papillary muscles from exercise-trained rat hearts. *Am J Physiol.* Apr;234(4):H421-5, 1978.

Mountcastle V. *Fisiología Médica.* 1ª ed. Fournier SA. Mexico 2: 810-815, 1974.

*Referencias bibliográficas*

---

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

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

Opie Lionel H. *Heart. Physiology, from Cell to Circulation*. Lippincott-Raven. pags 117 – 121: New York, 1998.

Opie Lionel H. *Heart. Physiology, from Cell to Circulation*. Lippincott-Raven. pags 117 – 121: New York, 2004.

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

Parra G, Díaz B, Such-Miquel L, Cebriá MA, Pelechano F, Trapero I, Zarzoso M, Chorro FJ, Such L, Alberola AM. Effects of chronic physical exercise on myocardial heterogeneity and its modifications by acute ischemia. *Acta Physiologica* 195(S667), 2009.

Parra G, Zarzoso M, Such Miquel L, Brines L, Alberola A, Rams C, Such L y Chorro FJ. 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, 2010.

Pattengale PK and Holloszy JO. Augmentation of skeletal muscle myoglobin by programs of treadmill running. *Am J Physiol* 213: 783-785, 1967.

Paulsen W., Boughner D.R., Ko P. Left ventricular function in marathon runners: Echocardiographic assessment. *Journal of Applied Physiology Respiratory Environmental and Exercise Physiology* 51(4): 881-886, 1981.

## Referencias bibliográficas

---

Pelechano F., Such-Miquel L., Such L., López L., Salvador R.E., Chorro F.J., Trapero I., Cebriá A., Gómez P., Alberola A. El entrenamiento disminuye la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular. Estudio experimental en corazón aislado de conejo. Archivos de Medicina del Deporte. Vol. XXIV, nº 5, p. 366, 2007.

Pelechano F. Efectes electrofisiològics miocàrdics intrínsecs sobre l'automatisme, la conducció i la refractarietat produïts per la realització d'un protocol d'entrenament. Estudi experimental: Tesis, 2008.

Pelliccia A, Maron BJ, Spataro A, Proschan MA y Spirito P. The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly trained elite athletes. N. Eng. J. Med. 324: 295 - 301, 1991.

Penpargkul S, Scheuer J. The effect of physical training upon the mechanical and metabolic performance of the rat heart. J Clin Invest. Oct;49(10):1859-68, 1970.

Pinto JEB. Sistema nervioso autónomo. En Cingolani, H.E., Houssay, A.B. & colaboradores. Fisiología humana. 6ª Ed. Tomo 4. El Ateneo: Buenos Aires, 1989.

Ramanathan KB, Bodenheimer M, Banka VS, et al. Electrophysiological effects of partial coronary occlusions and reperfusion. Am J Cardiol 40:50-4, 1977.

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

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

*Referencias bibliográficas*

---

Rerych S.K., Anderson P.A.W., Scholz P.M. Accuracy of left ventricular end-diastolic volume determinations using first pass radionuclide technique. *Journal of Nuclear Medicine* 19(6): 726, 1978.

Rerych S.K., Scholz P.M., Newman G.E. Cardiac function at rest and during exercise in normals and in patients with coronary heart disease: Evaluation by radionuclide angiocardigraphy. *Annals of Surgery* 187(5):449-464, 1978.

Riascos, D., Baltaxe, E., Pascual A. La preparación de Langendorff: corazón de mamífero aislado perfundido. *UNIVERSITAS MÉDICA*, 45:111-117, 2004.

Riviere D. Lipolytic response of fat cells to catecholamines in sedentary and exercise-trained women. *J Appl Physiol* 66: 330-337, 1989.

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

Ruffy R, Lovelace ED, Knoebel SB, Mueller TM, Zipes DP: Relationship between changes in left ventricular bipolar electrograms and regional myocardial blood flow during acute coronary occlusion in the dog. *Circ Res* 45: 764-770, 1979.

Saltin B, Blomqvist G, Mitchell JH, Johnson RL, Wildenthal K and Chapman CB. Response to exercise after bed rest and after training. *Circulation* 38: 78-84, 1968.

Schaible T and Scheuer J. Cardiac function in hypertrophied hearts from chronically exercised female rats. *J. Appl. Physiol.* 50:1140-45, 1981.

Schaible T and Scheuer J. Cardiac adaptations to chronic exercise. *Progress in cardiovascular diseases* 27: 297 - 324, 1985.

### *Referencias bibliográficas*

---

Scherlag BJ, El-Sherif N, Hope R, Lazzara R: Characterization and localization of ventricular arrhythmias resulting from myocardial ischemia and infarction. *Circ Res* 35:372-383, 1974.

Scheuer J and Tipton, CM. Cardiovascular adaptations to physical training. *Ann. Rev. Physiol.* 39: 221 - 251, 1977.

Schwartz PJ, Stone HL. The role of the autonomic nervous system in sudden coronary death. *Ann NY Acad Sci* 1982;382:162-181, Zipes DP. Influence of myocardial ischemia and infarction on autonomic innervation of heart. *Circulation*;82:1095-1105, 1990.

Seals DR, y Chase PB. Influence of physical training on HR variability y baroreflex circulatory control. *J. Appl. Physiol.* 66: 1886 - 1895, 1989.

Selkurt, EE. *Physiology.* 5th ed. Little, Brown and Company: Boston, 1984.

Singh BN. Arrhythmia control by prolonging repolarization: The concept and its potencial therapeutic impact. *Eur Heart J* 14(Suppl H):14-23, 1993.

Smeets JLRM, Alessie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, and Hollen J. The wavelength of the cardiac impulse and reentrant arrhythmias in isolated rabbit atrium. The role of heart rate, autonomic transmitters, temperature, and potassium. *Circ Res* 58: 96– 108, 1986.

Stein RA, Michielli D, Fox EL, Krasnow N. Continuous ventricular dimensions in man during supine exercise and recovery. An echocardiographic study. *Am J Cardiol.* Apr;41(4):655-60, 1978.

Stein R, Moraes RS, Cavalcanti AV, Ferlin EL, Zimmerman LI and Ribeiro JP. Atrial automaticity and atrioventricular conduction in athletes: contribution of autonomic regulation. *Eur J Appl Physiol* 82: 155-157, 2002.

*Referencias bibliográficas*

---

Stewart JR, Burmeister WE, Burmeister J, et al. Electrophysiologic and antiarrhythmic effects of phentolamine in experimental coronary artery occlusion and reperfusion in the dog. *J Cardiovasc Pharmacol*;2:77-81, 1980.

Strohmenger H.U., Lindner K.H., Brown C.G. Analysis of the ventricular fibrillation ECG signal amplitude and frequency parameters as predictors of countershock success in humans. *Chest*; 111:584-89, 1997.

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

Such L, Alberola, AM. Such-Miquel L, López L, Trapero I, Pelechano F, Gómez-Cabrera MC, Tormos A, Millet J. and Chorro FJ. Effects of chronic exercise on myocardial refractoriness: a study on isolated rabbit heart. *Acta Physiol* 193, 331–339, 2008.

Such L, Parra G, Such-Miquel L, Rams C, Chorro FJ, Alberola A. Efectos del ejercicio crónico sobre la refractariedad miocárdica en condiciones de normal perfusión y tras isquemia regional aguda. Estudio en corazón aislado de conejo. *Rev Esp Cardiol*, 2011.

Such-Miquel L., Trapero I., Pelechano F., López L., Salvador R.E., Cebriá A., Díaz B., Chorro F.J., Alberola A., Such L. Beneficial intrinsic electrophysiological effects of physical training on acute myocardial ischemia. An study in isolated rabbit heart. *European Heart Journal*, p. 523, 2007.

Such-Miquel L, Soler C, Brines L, Parra G, Zarzoso M, Gallego D, Rams C, Alberola A, Such L, Chorro FJ. Effect of chronic physical exercise on myocardial conduction velocity. Role of cholinergic and adrenergic myocardial neurons. *European Heart Journal Vol.32 (Abstract Supplement):1028*, 2011.

*Referencias bibliográficas*

---

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

Taggart P, Sutton PMI, Spear DW, Drake HF, Swanton RH, Emanuel RW: Simultaneous endocardial and epicardial monophasic action potential recordings during brief periods of coronary artery ligation in the dog: Influence of adrenaline, beta blockade and alpha blockade. Cardiovasc Res 22:900-909, 1988.

Talan DA, Bauernfeind RA, Ashley WW, Kanakis CJr and Rosen KM. Twenty-four hour continuous ECG recordings in long distance runners. Chest 82: 19-24, 1982.

Tepperman J and Pearlman D. Effects of exercise and anemia on coronary arteries of small animals as revealed by the corrosion-cast technique. Circ Res 9: 576-584, 1961.

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

Tonkonogi M., Sahlin K. Physical exercise and mitochondrial function in human skeletal muscle. Exercise and Sport Sciences Reviews. 30:3 (129-137), 2002.

Trapero I. Modificaciones del patrón fibrilatorio ventricular por el estiramiento regional del ventrículo izquierdo. Estudio en corazón aislado de conejo. Valencia: Tesis, 2006.

Tse et al 1976 (p.42) Tse WW, Han J, Yoon MS Effect of acetylcholine on automaticity of canine Purkinje fibers. Am J Physiol 230:116-9, 1976.

*Referencias bibliográficas*

---

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

Viitasalo MT, Kala R, and Eisalo A. Ambulatory electrocardiographic recording in endurance athletes. *Br Heart J* 47: 213–220, 1982.

Viitasalo MT, Kala R and Eisalo A. Ambulatory electrocardiographic findings in young athletes between 14-16 years of age. *Eur Heart J* 5: 2-6, 1984.

Viitasalo MT, Kala R and Eisalo A. Ambulatory electrocardiographic recording in endurance athletes. *Br Heart J* 47: 213-220, 1982.

Williams DO, Scherlag BJ, Hope R, El-Sherif N, Lazzara R: The pathophysiology of malignant ventricular arrhythmias during acute myocardial infarction. *Circulation* 50:1163-1172, 1974.

West. JB. Bases fisiológicas de la práctica médica. 12ª edición. Ed. Médica Panamericana, 1998.

West, J.B. Bases fisiológicas de la práctica médica. 12ª ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, p 207-208, 1993.

Westfall TC y Westfall, DP. Neurotransmisión. Sistemas nerviosos autónomo y motor somático. En Brunton, L.L., Lazo, J.S y Parker, K.L. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Undécima edición. McGraw Hill. Mexico. Sección II –Cap.6:137-181, 2007.

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

### *Referencias bibliográficas*

---

Yang Z, Zhang H, Kong S, Yue X, Jin Y, Jin J and Huang Y. Study for relevance of the acute myocardial ischemia to arrhythmia by the optical mapping method. *Physiol. Meas.* 28;481–488, 2007.

Zaitsev, AV., Berenfeld, O., Mironov, SF, Jalife, J., Pertsov, AM. Distribution of Excitation Frequencies on the Epicardial and Endocardial Surfaces of Fibrillating Ventricular Wall of the Sheep Heart. *Circ Res* 86:408-417, 2000.

Zarzoso M, Such-Miquel L, Díaz B, Cebriá A, Salvador R, Parra G, Pelechano F, Trapero I, Chorro FJ, Such L. Effects of physical training on the decrease of dominant frequency of ventricular fibrillation produced by acute myocardial ischemia, *Acta Physiologica* 195 (S667), 2009.

Zarzoso M, Such-Miquel L, Parra G, Brines-Ferrando L, Such L, Chorro FJ, Guerrero J, Guill A, O'Connor JE, Alberola A. The training-induced changes on automatism, conduction and myocardial refractoriness are not mediated by parasympathetic postganglionic neurons activity. *Eur J Appl Physiol*, 2011.

Zipes Douglas y Jalife José. *Arritmias: electrofisiología cardíaca*. Madrid: Marbán, 2006.

Zipes, D. P., & Wellens, H. J.. Sudden cardiac death. *Circulation* 98 2334–2351, 1998.

Zuti WB and Golding LA. Comparing diet and exercise as weight reduction tools. *Phys Sports med* 4: 49-54, 1976.

