

Análisis del efecto del ejercicio físico en la homogeneidad espacial del espectro de la señal de fibrilación ventricular

J Caravaca¹, A J Serrano¹, E Soria-Olivas¹, M Bataller¹, L Such-Belenguer², J Guerrero¹

¹ Grupo de Procesado Digital de Señal. Dpto. Ingeniería Electrónica. Universidad de Valencia. Spain. juan.caravaca@uv.es

² Departamento de Fisiología. Universidad de Valencia. Spain

Resumen

El presente trabajo estudia las modificaciones intrínsecas que el ejercicio físico produce en la respuesta cardíaca durante fibrilación ventricular (FV), tanto en condiciones de perfusión estable como cuando se produce isquemia en una zona del miocardio. Se estudiarán dichas modificaciones comparándolas con las producidas por el efecto de un fármaco (Glibenclamida) y con un grupo control. El análisis se realizará desde el punto de vista del dominio frecuencial, estudiando la homogeneidad espacial de la frecuencia dominante (ROI_{sa}FD) y de la energía normalizada (ROI_{sa}EN), en registros de cartografía cardíaca unipolar de corazón aislado de conejo. Se utilizarán tres grupos de conejos: control (GC: sin entrenamiento, N=18), entrenados (GE: N=9) y fármaco (GF: sin entrenamiento, con tratamiento, N=15). Se realizarán comparaciones intergrupos, teniendo en cuenta el hecho de que se realizan medidas repetidas en el tiempo, y se harán comparaciones intragrupos para estudiar el efecto del tiempo.

Los resultados obtenidos sugieren que los efectos intrínsecos producidos por ejercicio físico sobre la homogeneidad espacial de la respuesta espectral de la FV son similares a los producidos por el tratamiento con Glibenclamida, especialmente cuando se tienen zonas isquémicas.

1. Introducción

Los efectos extrínsecos que el ejercicio físico produce en la respuesta cardíaca son conocidos, modifica el equilibrio simpático-vagal del sistema nervioso vegetativo produciendo un incremento de la actividad parasimpática que se manifiesta en una disminución de la frecuencia cardíaca [1]. Diversos estudios han demostrado una mayor facilidad para la aparición de muerte súbita cuando disminuye el tono parasimpático [2], así como un efecto antiarrítmico al aumentar la actividad vagal [3].

En este trabajo se plantea estudiar los cambios intrínsecos en la respuesta de la fibrilación ventricular producidos por la realización crónica de ejercicio físico. En anteriores estudios se han observado cambios intrínsecos basados en una reducción de la frecuencia dominante espectral y un incremento de regularidad tanto espectral como morfológica [4]. No obstante, se desconoce el mecanismo subyacente tras estos cambios intrínsecos, resultando necesario ampliar este análisis.

Para analizar estos efectos intrínsecos, se obtuvieron tres grupos de registros correspondientes a animales sin entrenamiento (GC), animales con entrenamiento físico (GE) y un último grupo llamado grupo fármaco (GF), que no ha realizado ejercicio físico y ha sido tratado con

Glibenclamida, un bloqueante del canal KATP que reduce los daños producidos por la isquemia [5].

Se ha utilizado corazones aislados, eliminando la influencia extrínseca del sistema nervioso vegetativo y permitiendo controlar la perfusión durante la arritmia. La adquisición se ha realizado en condiciones de perfusión y tras provocar una zona isquémica mediante la oclusión de una arteria coronaria.

El procesado se ha realizado analizando la homogeneidad espacial de la frecuencia dominante (FD) y la regularidad espectral medida mediante la energía normalizada (EN). Para analizar la homogeneidad espacial se ha aplicado la técnica de las regiones de interés (ROI) [6], analizando las regiones de cada mapa, correspondiente al valor en cada electrodo de un parámetro (FD o EN) buscando las zonas con valores similares del parámetro analizado.

El objetivo del presente trabajo es comparar los distintos grupos desde el punto de vista de la homogeneidad espacial de la FD y la EN. Esta comparación se realizará tanto para las adquisiciones realizadas en perfusión como para aquellas en las que se provocó la aparición de una zona isquémica. Dichas comparaciones permitirán analizar si las modificaciones intrínsecas de la respuesta fibrilatoria producidas por el ejercicio físico siguen los mismos mecanismos que aquellas producidas por el efecto del fármaco, comparando con un grupo control.

En la siguiente sección se explicarán los métodos utilizados para realizar la adquisición de datos y para estudiar la homogeneidad espacial del espectro de la respuesta ventricular. Posteriormente se presentarán y discutirán los resultados obtenidos con dichos análisis. Finalmente se extraerán algunas conclusiones a partir de los resultados obtenidos.

2. Métodos

En este apartado se describirá el procedimiento experimental con el que se obtuvieron los datos, así como el utilizado para extraer las variables que serán utilizadas para analizar los distintos grupos.

2.1. Adquisición de los datos

Los registros de electrocartografía cardíaca de FV han sido adquiridos en los laboratorios de electrofisiología cardíaca de la Universidad de Valencia mediante la utilización de un sistema de mapeado comercial (MAPTECH) de 256 canales. La adquisición se realizó con un electrodo matricial de 240 electrodos localizado en

ventrículo izquierdo de corazón aislado de conejo perfundido mediante un sistema de *Langendorff* [7].

Se analizaron tres grupos: control (GC: sin entrenamiento, N=18), entrenado (GE, N=9) y bajo el efecto de un fármaco (GF, N=15). El grupo entrenado está formado por conejos que fueron sometidos a ejercicio físico controlado, mientras que el grupo fármaco se trata de conejos que no realizaron ningún tipo de entrenamiento físico pero que fueron tratados con Glibenclamida [5]. En todos los casos, la FV se indujo por estimulación a frecuencias crecientes. La duración máxima de cada registro fue de 300 segundos, digitalizado con frecuencia de muestreo de 1kHz.

Con todos los sujetos se realizan dos captaciones consecutivas. Este procedimiento consiste en realizar una primera captación en situación de perfusión controlada por el sistema de *Langendorff* durante aproximadamente 300 segundos. A continuación, se detiene la captación de señales y se procede a hacer una ligadura en la arteria coronaria circunfleja. Esta oclusión producirá una isquemia en una región dentro del área de captación. Una vez realizada la oclusión de dicha arteria, se procede a realizar la segunda adquisición de otros 300 segundos en condiciones de isquemia.

En ciertos sujetos no se pudo realizar esta segunda adquisición, debido a que la arteria a ocluir no siempre resultaba accesible y a que, en algún sujeto del GF, se produjo una salida de la FV volviendo a ritmo sinusal de forma espontánea. El número de sujetos en cada uno de los grupos en la captación en isquemia será menor que el utilizado en la captación en condiciones de perfusión.

En todos los casos, se realiza un preprocesado para analizar la calidad del registro, descartando aquellos canales con baja amplitud o ruidosos. Para estudiar la evolución temporal de la fibrilación, los registros se procesaron en segmentos consecutivos de 4 segundos.

2.2. Análisis espectral

Para cada segmento de 4 segundos y canal se obtiene el espectro (método de *Welch* aplicando ventana de *Hanning* y 2 tramos no solapados, resolución: 0,5Hz).

El análisis en el dominio de la frecuencia incluye la obtención de la frecuencia dominante (FD), definida como aquella correspondiente al mayor pico del espectro [4], y la energía normalizada (EN), definida como la energía espectral en una ventana centrada en $FD \pm 1\text{Hz}$ normalizada por la energía espectral en la banda de interés (5-35Hz) [4].

La FD está relacionada con la tasa de activación del tejido cardíaco, a su vez relacionada con el periodo refractario celular. Por otra parte, la EN está relacionada con la regularidad espectral de forma que, si la mayor parte de la energía del espectro se concentra en torno a la FD, se tendrá una alta energía normalizada.

2.3. Estudio de homogeneidad espacial

A estas dos variables se les aplica un algoritmo de identificación de regiones de interés (ROI) para estudiar

su homogeneidad espacial [6]. Con este método se localizan espacialmente, dentro de los mapas obtenidos para las diferentes variables, las zonas que tienen un comportamiento similar.

Para obtener las ROI se aplica un umbral al valor del parámetro. En el caso de la FD este umbral se establece como una ventana simétrica en torno a la FD media del mapa, mientras que en, el caso de la EN, el umbral es un valor fijo obtenido experimentalmente.

Posteriormente se asigna a cada electrodo una etiqueta de pertenencia a la ROI, determinada en función de si cumple el criterio de umbral y de su vecindad a otras que también superen el umbral. A partir de estas regiones de interés se calcula el porcentaje del mapa cubierto por electrodos que pertenecen a las regiones de interés, *ROI_{sa}*. Esta característica está relacionada con la homogeneidad espacial de cada parámetro, de forma que un área en torno al 100% implica que la mayor parte del mapa presenta unos valores similares de la variable analizada.

De esta forma se obtienen los valores de *ROI_{sa}FD* y *ROI_{sa}EN*, que serán utilizados para estudiar la evolución temporal de la fibrilación ventricular.

3. Resultados

Este apartado presenta, y discute, los resultados obtenidos en los diferentes análisis realizados. En primer lugar se mostrarán los resultados del análisis de la comparación intergrupos mediante una aproximación de medidas repetidas. Por último, se mostrarán los resultados derivados de realizar la comparación entre distintas medidas realizadas a cada uno de los grupos.

Las variables continuas se mostrarán como $\text{media} \pm \text{desviación estándar}$. Se evaluó su normalidad mediante el test de *Kolmogorov-Smirnov* [8]. Se encontraron diferencias significativas para todas las variables, por lo que se compararon mediante un test no paramétrico (test de *Wilcoxon* para datos pareados [9]).

Los datos secuenciales se estudiaron mediante un modelo lineal general de medidas repetidas realizando una corrección por *Bonferroni* [10]. Mediante este modelo se analizaron los efectos intergrupos en cada uno de los distintos instantes temporales. La significación estadística se ha establecido en $p < 0,05$.

3.1. Análisis de los efectos inter grupos

Este apartado muestra los resultados de comparar los distintos grupos entre sí, tanto en perfusión como tras la oclusión de la arteria coronaria circunfleja para provocar una zona isquémica.

Se estudiará la variación temporal de las medias de cada uno de los grupos en cada captación. De esta forma, se comparará la evolución de cada grupo conforme se avanza en el tiempo, tanto en perfusión como en isquemia. La longitud del segmento correspondiente a isquemia (256 s) es ligeramente menor a la del segmento en perfusión (304 s) por razones prácticas del experimento.

Las figuras 1 a 4 muestran la evolución temporal de las medias de cada grupo para cada una de las dos medidas (ROI_{saFD} y ROI_{saEN}).

Superpuesto a estas figuras se muestra el resultado de las comparaciones realizadas mediante los análisis de medidas repetidas. Solamente se encontraron diferencias significativas entre los sujetos del GF y del GC, indicándose los instantes temporales en los que se encontró dicha diferencia como una zona con un sombreado oscuro.

En el caso de las captaciones realizadas en perfusión (figuras 1 y 3) se puede observar como la uniformidad espacial de la FD y la EN tiene una tendencia ascendente. Dicha tendencia está relacionada con el tiempo que necesita la FV para dejar el estado transitorio provocado por la estimulación a frecuencias crecientes.

En las captaciones realizadas tras la oclusión de la arteria coronaria (figuras 2 y 4) dicha tendencia es descendente, de forma que la homogeneidad espacial de FD y EN se va reduciendo con el tiempo. Esta pérdida de homogeneidad se debe a que, tras la obstrucción de la arteria, los cardiomiocitos ponen en marcha un proceso de glucólisis anaeróbica que provoca una pérdida del control sobre la correcta polarización del medio intracelular [11].

En el caso de la distribución espacial de la FD en perfusión (figura 1) se puede observar como el comportamiento de los sujetos del GE y el GF es similar y distinto al de los del GC, a pesar de no obtener diferencias en el test de medidas repetidas.

Cuando se analiza la homogeneidad espacial de la FD tras la oclusión de la coronaria (figura 2), se observa como la pérdida de homogeneidad espacial en sujetos del GF es menor a la producida en los otros dos grupos y, a partir de cierto instante, se diferencian estadísticamente de los del GC. Los sujetos del GE presentan una respuesta parecida a los del GF, con una ligera reducción en la homogeneidad espacial de dicha variable. En cuanto a los sujetos del GC, la pérdida de homogeneidad espacial es todavía mayor.

Si se analiza la evolución temporal de la distribución espacial de la EN en perfusión (figura 3) se observa que el comportamiento de los tres grupos es similar, existiendo diferencias significativas únicamente entre los sujetos del GF y del GC en los primeros instantes del registro.

Sin embargo, tras realizar la oclusión de la coronaria (figura 4), los sujetos del GF vuelven a tener la menor pérdida de homogeneidad espacial, existiendo diferencias significativas con los del GC al final del registro. En este caso el comportamiento de los sujetos del GE es más parecido a los del GC.

3.2. Análisis de los efectos intragrupos.

Este apartado muestra los resultados de los análisis de las comparaciones intragrupos. Se compararán ventanas de 16 segundos al inicio y final de las captaciones en perfusión e isquemia. Se realizarán test estadísticos entre inicio y final de cada captación y entre los inicios y finales de ambas captaciones.

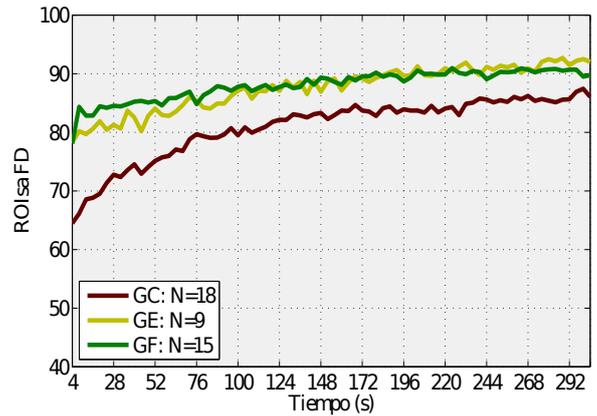


Figura 1. Evolución de la media de ROI_{saFD} en perfusión.

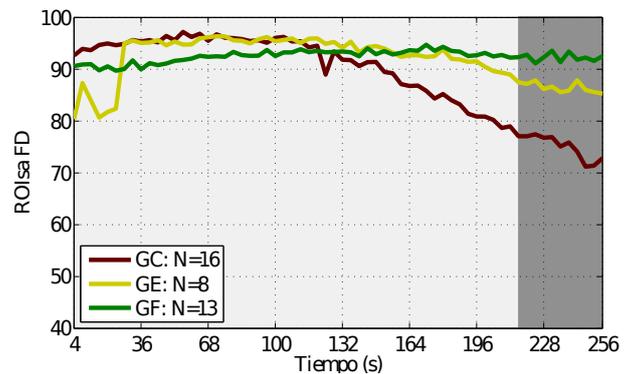


Figura 2. Evolución de la media de ROI_{saFD} en isquemia.

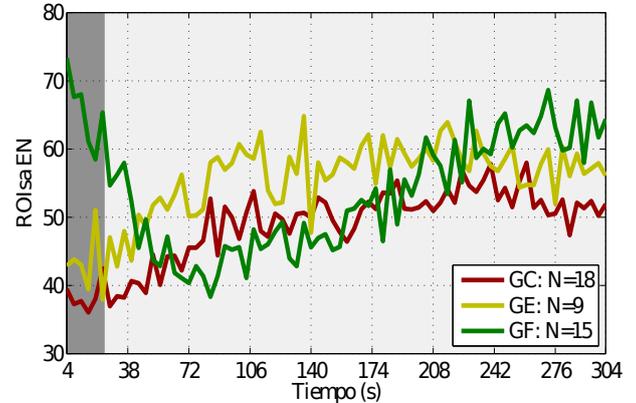


Figura 3. Evolución de la media de ROI_{saEN} en perfusión.

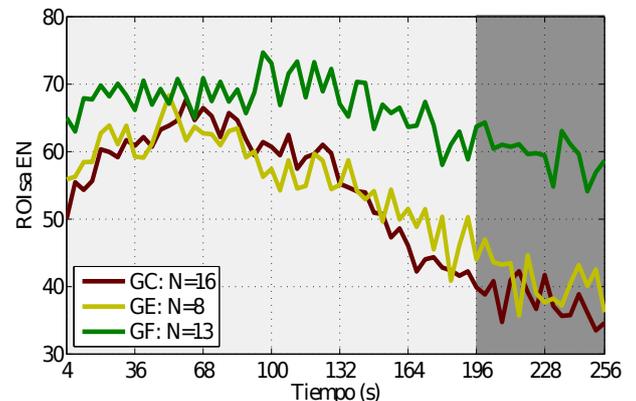


Figura 4. Evolución de la media de ROI_{saEN} en isquemia.

		PERFUSIÓN		ISQUEMIA	
		INICIO	FINAL	INICIO	FINAL
GC (N=16)	FD	81,5±23,0	91,5±17,3*	96,0±9,1	73,1±21,6*
	EN	40,5±16,1	58,8±25,1*	62,9±20,9	35,8±20,3*
GE (N=8)	FD	82,5±21,3	90,3±15,0*	95,1±7,6	86,1±10,8
	EN	54,0±16,5	62,3±30,5	63,7±25,8	40,5±14,1*
GF (N=13)	FD	82,9±18,5	88,5±21,9*	91,3±19,3	92,3±11,3
	EN	50,6±20,9	61,2±23,4*	68,9±21,7	58,1±21,3

Tabla 1. Resultados del análisis intragrupos. FD y EN hacen referencia a ROIsaFD y ROIsaEN. El asterisco indica diferencias significativas con el inicio.

La tabla 1 muestra los resultados de este análisis. En perfusión todos los grupos presentan valores mayores al final que al inicio, mientras que en isquemia los efectos son más dependientes del grupo. Los sujetos del GC presentan una mayor reducción en la homogeneidad espacial de FD y EN conforme se produce la isquemia.

La reducción observada en los sujetos del GE es menor, indicando que se producen menos modificaciones por el proceso isquémico en dicho grupo. Los sujetos del GF tienen una respuesta prácticamente estable, de forma que la isquemia prácticamente no produce modificaciones en la homogeneidad espacial del espectro.

Los sujetos del GC presentaron diferencias significativas en todos los análisis realizados con la FD, encontrando diferencias entre inicio y final de isquemia ($p=0,0005$) y perfusión ($p=0,0008$). También entre las captaciones de isquemia y perfusión, tanto al inicio ($p=0,0008$) como al final ($p=0,0004$). Resultados similares se obtuvieron en el caso de la homogeneidad espacial de la EN.

Los sujetos del GE tienen un comportamiento distinto en ambas variables. Con la FD únicamente se obtuvieron diferencias entre inicio y final de perfusión ($p=0,008$) y entre los inicios de perfusión e isquemia ($p=0,015$). Para la EN se obtuvieron diferencias entre inicio y final de isquemia ($p=0,02$).

Los sujetos del GF también tienen un comportamiento distinto entre FD y EN. La FD mostró las mismas diferencias que los sujetos del GE, es decir, entre inicio y final de perfusión ($p=0,026$) y entre inicio de perfusión e isquemia ($p=0,005$). Con la EN se obtuvieron diferencias únicamente entre inicio y final de perfusión ($p=0,01$).

4. Conclusiones

Se han analizado los efectos intrínsecos del ejercicio físico en la homogeneidad espacial del espectro de la señal de FV, comparando con un grupo control y con un grupo tratado con Glibenclamida.

El grupo de conejos sometidos a ejercicio físico y el grupo bajo el efecto del fármaco presentan un comportamiento similar cuando se analiza la homogeneidad espacial de la FD, y distinto al observado en el grupo control tanto en condiciones de perfusión estable como cuando existen zonas isquémicas.

Al analizar la homogeneidad espacial de la EN en perfusión, el comportamiento de los tres grupos no presenta tantas diferencias. Cuando existen zonas isquémicas, el grupo fármaco tiene una respuesta más homogénea y el grupo control más heterogénea, situándose el grupo entrenado entre estos dos últimos.

Los resultados obtenidos sugieren que los efectos intrínsecos del ejercicio físico sobre la homogeneidad espacial de la respuesta espectral en FV son similares a los efectos producidos por el tratamiento con Glibenclamida, tanto en condiciones de perfusión estable como cuando se tienen zonas isquémicas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto DEP2010-22318-C02-02 del Plan Nacional de I+D+I.

Referencias

- [1] Scheuer J, Tipton CM. Cardiovascular adaptations to physical training. *Ann. Rev. Physiol.*, vol 39, 1997, pp 221-251.
- [2] Billman GE. The effect of carbachol and cyclic GMP on susceptibility to VF. *FASEB J* vol 4, 1990, pp 1668-1673.
- [3] De Ferrari GM, Vanoli E, Stramba-Badiale M, Hull SS Jr, Foreman RD, Schwartz PJ. Vagal reflexes an survival during acute myocardial ischemia in conscious dogs with healed myocardial infarction. *Ann J Physiol*, vol 261, 1991, pp H63-H69.
- [4] Guerrero J, Rosado-Muñoz A, Serrano, AJ, Bataller M, Chorro J, Alberola A, Such L. Modifications on regularity and spectrum of ventricular fibrillation signal induced by physical training. *Computers in Cardiology*, 2009, pp.321-324.
- [5] Such L, Soler C, Alberola A, Parra G, Brines L, Gallego N, Zarzoso M, Del Canto I, Guerrero J, Chorro J, Rams C, Such Miquel L. Effect of katp channel blockade on the electrophysiological stability of the myocardium submitted to acute regional ischemia. Study in isolated rabbit heart, *Acta Physiologica*; vol 203 S686, 2011, p OC41.
- [6] Rogers J, Huang, Smith J, Ideker R, Incidence. Evolution, and Spatial Distribution of Functional Reentry During Ventricular Fibrillation in Pigs, *Circulation Research*, vol 84, 1999, pp 945-954.
- [7] Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szeląg A, Schulz R. Isolated heart perfusion according to Langendorff—Still viable in the new millennium, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, vol 55, 2007, pp 113-126.
- [8] Massey F. The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit, *J. American Statistics Assoc.*, vol 46, 1951, pp 68–78.
- [9] Wilcoxon F. Individual Comparisons by Ranking Methods, *Biometrics*, vol 1, 1945, pp 80-83.
- [10] Maxwell S. Pairwise multiple comparisons in repeated measures designs, *Journal of Educational and Behavioral Statistics*, vol 5, 1980, pp 269-287.
- [11] Ruiz-Meana M, García-Dorado D, Fisiopatología del daño miocárdico por isquemia-reperfusión: nuevas oportunidades terapéuticas en el infarto agudo de miocardio. *Revista Española de Cardiología*, vol 62, 2009, pp 199-209.