

VNIVERSITAT Đ VALÈNCIA



**Facultat de Medicina i Odontologia  
Departament de Fisiologia**

**EFFECTOS DEL EJERCICIO FÍSICO CRÓNICO SOBRE LAS  
MODIFICACIONES DE ALGUNAS PROPIEDADES  
ELECTROFISIOLÓGICAS MIOCÁRDICAS EN NORMOXIA Y TRAS  
ISQUEMIA REGIONAL AGUDA SEGUIDA DE REPERFUSIÓN**

**Autora:**

Rita Esmeralda Salvador Pinto

**Dirigida por:**

Dr. D. Antonio Alberola Aguilar

**Valencia, 2015**



**Antonio Alberola Aguilar**, Doctor en Medicina, Catedrático del Departamento de Fisiología de la Universidad de Valencia.

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado **“Efectos del ejercicio físico crónico sobre las modificaciones de algunas propiedades electrofisiológicas miocárdicas en normoxia y tras isquemia regional aguda seguida de reperfusión”** ha sido realizado por Doña Rita Esmeralda Salvador Pinto bajo mi supervisión. Dicho trabajo está concluido y, en mi criterio, reúne todos los requisitos necesarios para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Valencia.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en Valencia a 30 de octubre de 2015

Fdo. Antonio Alberola Aguilar



*Mis agradecimientos van dirigidos a todos aquellos que colaboraron para que la realización de esta tesis fuera posible.*



## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	3
1.1. Objetivos .....	3
1.2. Justificación de los objetivos e hipótesis de trabajo .....	4
1.2.1.Efectos del ejercicio físico crónico .....	4
1.2.1.1. Generalidades .....	4
1.2.1.2. Adaptaciones electrofisiológicas miocárdicas: refractariedad y conducción ventricular. Mecanismos nerviosos e intrínsecos .....	19
1.2.1.2.a) Refractariedad de los miocardiocitos ventriculares durante el potencial de acción .....	23
1.2.1.2.b) Conducción del impulso eléctrico por el miocardio. Análisis de la conducción en el miocardio ventricular .....	27
1.2.2. El ejercicio físico crónico aeróbico como maniobra protectora no farmacológica del miocardio .....	35
1.2.2.1. Introducción y generalidades .....	35
1.2.2.2. Ejercicio físico e isquemia miocárdica .....	37
1.2.2.3. Estado actual del conocimiento de los mecanismos básicos sobre los que se asientan los efectos protectores a nivel miocárdico del ejercicio físico, incluyendo a la cardiopatía isquémica y reperfusión .....	43
1.2.3. Consideraciones finales: resumen de la justificación de los objetivos. Hipótesis de trabajo .....	46

1.2.4. Plan de trabajo .....	47
<b>2. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>51</b>
2.1. Material .....	51
2.1.1. Animales de experimentación: características .....	51
2.1.2. Reactivos .....	51
2.1.3. Aparatos .....	52
2.2. Métodos .....	59
2.2.1. Protocolo de entrenamiento de los animales .....	59
2.2.2. Estudio electrofisiológico .....	60
2.2.2.1. Preparación experimental .....	60
2.2.2.2.- Parámetros de estudio: definiciones y determinación de los mismos .....	63
2.2.2.3.- Grupos de estudio .....	71
2.2.2.4.- Protocolo experimental .....	72
2.3.- Análisis estadístico .....	75
2.4.- Legislación .....	76
2.5.- Financiación .....	76
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>81</b>
3.1. Refratariedad .....	81
3.1.1. Periodo refractario funcional determinado durante la fibrilación ventricular inducida (PRFFV) .....	81



3.1.2. Periodos refractarios determinados con el test del extra-estímulo .....	82
3.1.2.1.Periodo refractario efectivo ventricular (PREV) .....	82
3.1.2.2.Periodo refractario funcional ventricular (PRFV) .....	84
3.1.2.3. Relación entre el PRFFV y el PRFV obtenido con diferentes trenes de estimulación ventricular .....	90
3.2.Velocidad de conducción .....	113
3.3. Longitud de onda del proceso de activación .....	116
3.4.Frecuencia de la fibrilación ventricular .....	118
3.4.1 Frecuencia dominante media previa oclusión coronaria y tras oclusión coronaria .....	118
3.4.2 Frecuencia dominante media tras la reperfusión .....	120
3.5. Coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular .....	121
<b>4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>125</b>
4.1. Consideraciones relativas a alguno de los métodos empleados .....	126
4.2. Consideraciones respecto a los resultados obtenidos ....	132
4.2.1. Consideraciones respecto a la refractariedad en circunstancias de normal perfusión .....	132
4.2.2.Consideraciones respecto a la refractariedad en circunstancias de isquemia regional aguda .....	138

4.2.3. Consideraciones respecto a la velocidad de conducción .....	144
4.2.4. Consideraciones respecto a la longitud de onda del proceso de activación .....	146
4.2.5. Consideraciones respecto a la frecuencia de la fibrilación ventricular .....	149
4.2.6. Consideraciones respecto al coeficiente de variación .....	152
4.2.7. Consideraciones finales respecto a los resultados obtenidos .....	152
4.3. Limitaciones del método .....	153
4.4. Perspectivas futuras .....	154
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>159</b>
<b>6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>165</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Interrelaciones durante la respuesta al ejercicio y al entrenamiento.....	3
Figura 1.2. Representación gráfica de las corrientes que intervienen durante el PA de una célula subendocárdica ventricular.....	19
Figura 1.3. Representación gráfica de la corriente transitoria de potasio durante el potencial de acción de una célula subepicárdica ventricular.....	20
Figura 1.4. Célula ventricular representada esquemáticamente con su dispositivo de canales y sistemas intercambiadores.....	21
Figura 1.5. A. Potencial de acción de membrana y respuestas a estímulos aplicados en diferentes tiempos. B. Representación esquemática de los diferentes periodos refractarios.....	23
Figura 1.6. Propagación del PA desde la fuente hasta el sumidero.....	28
Figura 2.1. Tapiz rodante .....	50
Figura 2.2. Estimulador Grass S88®.....	50
Figura 2.3. Electrodo múltiple de registro.....	51
Figura 2.4. Sistema de cartografía MAPTECH® .....	52

Figura 2.5. Programa Pacemap®, aplicado para adquirir y registrar las señales eléctricas y analizarlas posteriormente....	53
Figura 2.6. Programa MatLab®, aplicado para comprobar y validar los mapas y espectros de frecuencia de las señales de la FV .....	54
Figura 2.7. Sistema de perfusión tipo Langendorff. ....	55
Figura 2.8. Localización de los electrodos de estimulación y registro .....	59
Figura 2.9. Periodo refractario efectivo ventricular (PREV) y funcional ventricular (PRFV).....	63
Figura 2.10. Mapas de activación.....	65
Figura 2.11. Espectro de frecuencias representado frente a la amplitud del trazado de FV.....	67
Figura 3.1. Efecto del entrenamiento sobre el PRFFV.....	77
Figura 3.2. Media y desviación estándar de los valores de los periodos refractarios efectivos en los grupos control y entrenado, previos y tras la oclusión arterial coronaria.....	79
Figura 3.3. Media y desviación estándar de los valores de los periodos refractarios funcionales en los grupos control y entrenado, previos y tras la oclusión arterial coronaria. ....	81

Figura 3.4. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) en el grupo control antes de la oclusión coronaria. ....	82
Figura 3.5. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) en el grupo control antes de la oclusión coronaria. ....	83
Figura 3.6. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria. ....	84
Figura 3.7. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria.....	85
Figura 3.8. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	86
Figura 3.9. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	87

Figura 3.10. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). .....	88
Figura 3.11. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control tras oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	89
Figura 3.12. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control tras oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	90
Figura 3.13. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	91
Figura 3.14. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado antes de la	

oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	92
Figura 3.15. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	93
Figura 3.16. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado tras la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). .....	94
Figura 3.17. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado tras la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV).....	95
Figura 3.18. Efecto del entrenamiento sobre la velocidad de conducción (VC).....	110
Figura 3.19. Media y desviación estándar de los valores de la velocidad de conducción ventricular (VC) en los grupos control y entrenado, previa oclusión (V preoclusión) y tras 20 minutos de oclusión arterial coronaria aguda (V postoclusión).....	111

Figura 3.20. Efecto del entrenamiento sobre la longitud de onda (LO).....	112
Figura 3.21. Media y desviación estándar de los valores de la longitud de onda del proceso de activación en los grupos control y entrenado, previa oclusión (LO preoclusión) y tras 20 minutos de oclusión arterial coronaria aguda (LO postoclusión).....	113
Figura 3.22. Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la FDM de la FV previamente a la oclusión de la arteria coronaria circunfleja (basal) y en diferentes tiempos después de la oclusión.....	115
Figura 3.23. Media de la frecuencia dominante media (FDM) en los grupos control y entrenado a los cinco minutos de reperfusión.....	116
Figura 3.24. Media y desviación estándar de los valores correspondientes al CV de la FD de la FV previamente a la oclusión de la arteria coronaria circunfleja y en diferentes tiempos tras la oclusión.....	118



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1. Efecto del entrenamiento sobre los PREV y PRFV en controles y entrenados, antes y tras la oclusión coronaria.....	82
Tabla 3.2. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control previa oclusión coronaria y los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson.....	96
Tabla 3.3. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado previa oclusión coronaria y los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson.....	98
Tabla 3.4. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control tras oclusión coronaria y los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson.....	100
Tabla 3.5. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado tras oclusión coronaria y	

los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson.....	101
Tabla 3.6. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular previa oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados.....	102
Tabla 3.7. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular tras la oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados.....	103
Tabla 3.8. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular previa oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados.....	104
Tabla 3.9. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular tras la oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados.....	105
Tabla 3.10. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos	

ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales control previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria.....	106
Tabla 3.11. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales entrenados previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria. ....	107
Tabla 3.12. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales control previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria.....	108
Tabla 3.13. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales entrenados previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria.....	109

## **SIGLAS Y ABREVIATURAS**

AV — Auriculoventricular.

DPA — Duración del potencial de acción.

EE — Extraestímulo.

FA — Fibrilación auricular.

FD — Frecuencia dominante de la señal fibrilatoria.

FDM — Frecuencia dominante media de la señal fibrilatoria.

FV — Fibrilación ventricular.

LO — Longitud de onda.

OAC — Oclusión arterial coronaria.

PA — Potencial de acción.

PR — Periodo refractario.

PRE — Periodo refractario efectivo.

PREV — Periodo refractario efectivo ventricular.

PRFV — Periodo refractario funcional ventricular.

PRFFV — Periodo refractario funcional durante la fibrilación ventricular.

TEEV — Test del extraestímulo ventricular.

VC — Velocidad de conducción.

Canales iónicos que vehiculan corriente:

ICa — de corriente de entrada lenta de Ca<sup>2+</sup>.

ICaL — de corriente de Ca<sup>2+</sup> de larga duración.

ICaT — de corriente de Ca<sup>2+</sup> transitoria.

IK — de corriente rectificadora retardada de K<sup>+</sup>.

IKUr — de corriente rectificadora tardía o ultrarrápida.

IK1 — de corriente rectificadora de entrada o anómala.

INa — de corriente rápida de entrada de Na<sup>+</sup>.

I<sub>slow</sub> (I<sub>late</sub>) — de corriente repolarizante de K<sup>+</sup> de inactivación  
lenta.

I<sub>to</sub> — de corriente transitoria de salida de K<sup>+</sup>.



---

# INTRODUCCIÓN

---





## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Objetivos**

En la presente tesis doctoral hemos tratado de asentar el efecto del ejercicio físico crónico sobre:

1. Parámetros electrofisiológicos relacionados con la estabilidad eléctrica del miocardio ventricular en normoxia:

- a.- Refractoriedad.
- b.- Velocidad de conducción.
- c.- Longitud de onda del proceso de activación eléctrica.
- d.- Frecuencia de la fibrilación ventricular inducida.
- e.- Heterogeneidad electrofisiológica.

2. La modificación de los parámetros mencionados tras la oclusión coronaria aguda.

3. La modificación de la frecuencia de la fibrilación tras la reperfusión.

## **1.2. Justificación de los objetivos e hipótesis de trabajo**

### **1.2.1.Efectos del ejercicio físico crónico**

#### **1.2.1.1. Generalidades**

a) El ejercicio físico produce **modificaciones duraderas** en la fisiología del organismo que lo preparan mejor para la realización de ejercicio. Estas adaptaciones fisiológicas requieren algunas semanas para evidenciarse. Dichas adaptaciones ya fueron mencionadas por Lamb en 1989 “La mayoría de las respuestas y adaptaciones al ejercicio y al entrenamiento son ejemplos de regulaciones *feedback* negativas, aparentemente producidas para ayudar al cuerpo a minimizar los cambios homeostáticos que ocurren durante el ejercicio”.

Entre las adaptaciones mencionadas anteriormente cabe destacar:

1) En primer lugar, un cambio en la constancia del Medio Interno. Este cambio, modifica las características físicas y químicas del organismo y éste produce alteraciones neurohormonales en la homeostasis que darán lugar a

modificaciones funcionales en los órganos y sistemas relacionados.

2) En segundo lugar, según publicó Lamb en 1989, el ejercicio de forma crónica genera una señal que es detectada por el organismo y que lo hace responder a la realización de ejercicio físico agudo de forma diferente a como lo haría sin la realización previa del ejercicio crónico. En la figura 1.1 se muestran las interrelaciones creadas en la respuesta al ejercicio y al entrenamiento.

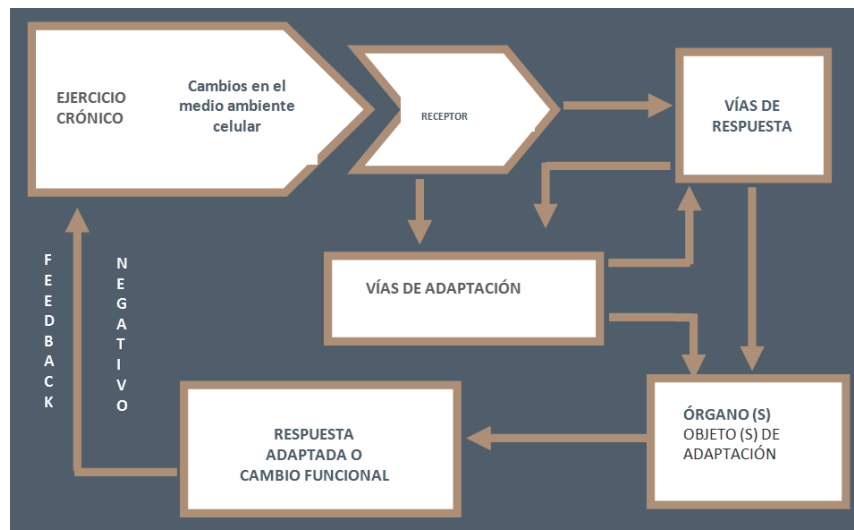


Fig. 1.1. Interrelaciones durante la respuesta al ejercicio y al entrenamiento (tomado de Lamb, 1989).

b) El entrenamiento modifica el **rendimiento** (“performance”) físico y da lugar a adaptaciones en la función y estructura de órganos y sistemas, además de producir cambios que afectan a la psique (Åstrand *et al.*, 2003).

c) A continuación mencionaremos las **adaptaciones bioquímicas** del entrenamiento, las cuales pueden ser la causa de los cambios que obtengamos en la presente investigación.

Durante la actividad física actúan de forma simultánea tres sistemas de energía: el sistema adenosina trifosfato-fosfocreatina o ATP-CrP, el sistema del ácido láctico y el sistema aeróbico. Las contribuciones de los diversos sistemas de energía pueden variar enormemente dependiendo de la intensidad y duración del ejercicio. El sistema anaeróbico es el utilizado cuando hace falta una transferencia de energía de forma inmediata. Así por ejemplo, en pruebas de hasta 90 segundos se utilizan predominantemente fosfatos intramusculares de alta energía (ATP y CrP) en la vía que transforma glucosa en lactato. Si el ejercicio se alarga a entre 2 y 4 minutos, predomina el metabolismo aeróbico (McArdle *et al.*, 2010).

Como mencionado por Jacobs en 1987, el entrenamiento anaeróbico, da lugar a una mayor capacidad para tolerar altas concentraciones de lactato en sangre.

También es importante comentar que se incrementan la reserva de sustratos susceptibles de degradación por la vía anaerobia y el aumento de los enzimas requeridos para dicho metabolismo (Houston, 1977).

Cabe destacar en ejercicios submáximos la menor utilización del glucógeno y el menor acúmulo de lactato en músculo y sangre, lo que da lugar a un incremento del umbral anaeróbico. Dichas adaptaciones parecen relacionarse con un aumento del número y tamaño de las mitocondrias (Barnard, 1970 y Kiessling, 1971), un aumento de ATP y fosfágenos, un incremento de la capacidad de fosforilación oxidativa (Holloszy y Coyle, 1984), un aumento de la mioglobina (Pattengale y Holloszy, 1967), un aumento de la capacidad para realizar la glucólisis aerobia y una mayor susceptibilidad para la utilización de ácidos grasos (Riviere, 1989).

Varios estudios, como los de Padrao AI *et al.* 2012 y Budiono BP *et al.* 2012, han tratado de investigar los cambios en la expresión mitocondrial de proteínas producidos por el ejercicio. Las modificaciones del fenotipo de las mitocondrias aumentan la resistencia al estrés producido por la hipoxia y por los estímulos pro-apoptóticos. También ha sido publicado que las mitocondrias de animales entrenados pueden tolerar niveles de calcio más elevados (Kavazis *et al.* 2008).

El entrenamiento incrementa la capacidad de la células de producir ATP de forma aeróbica mediante el catabolismo de los ácidos grasos y la glucosa. La duración del ejercicio aeróbico intenso se prolonga gracias a que los niveles de ácido láctico permanecen bajos y se conservan las reservas de glucógeno (McArdle *et al.*, 2010). Las fibras musculares también se modifican debido al entrenamiento. Por ejemplo, los corredores de fondo incrementan más las fibras musculares tipo B que tipo A en algunos grupos musculares. En el entrenamiento anaeróbico, sucede lo opuesto, es decir, se produce un mayor aumento de fibras tipo A. Según Zuti y Golding, 1976, el entrenamiento da lugar a cambios bioquímicos que producen alteraciones como la reducción de la grasa corporal y el aumento de la masa proteica muscular dando como consecuencia, si se realiza de forma sostenida, a pérdida de peso. Se ha comprobado que la realización de ejercicio disminuye la circunferencia abdominal mediante la reducción de la grasa visceral, incluso en ausencia de un descenso del peso corporal (Gleeson *et al.* 2011). Esto último se asocia a un descenso del riesgo de padecer patología cardiovascular.

Penpargkul *et al.*, 1970 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985), observaron que se producía una relajación más rápida

de los corazones entrenados debido a que se incrementaba la captación y unión del  $\text{Ca}^{2+}$  en el retículo sarcoplásmico intracelular del miocardio. Tibbits *et al.*, 1981 observaron evidencias indirectas de una provisión incrementada de la disponibilidad de calcio por el sarcolema en corazones entrenados. No se ha encontrado ninguna evidencia directa de lo anterior ya que no se han realizado investigaciones con una preparación de sarcolema puro para realizar experimentos con entrenamiento.

Es importante destacar a nivel molecular que en la adaptación al ejercicio físico o entrenamiento se produce un desplazamiento del equilibrio entre procesos de síntesis y de ruptura. Descubrir las rutas de señalización que regulan este balance puede ayudar a comprender más en detalle las adaptaciones al entrenamiento (Åstrand *et al.*, 2003).

d) Con respecto a las **modificaciones respiratorias**, el entrenamiento incrementa el consumo máximo de oxígeno y la eliminación de anhídrido carbónico durante el ejercicio. Según Selkurt (1984), en la persona entrenada el aumento de la ventilación pulmonar se logra gracias a un incremento del volumen corriente y en la persona no entrenada la ventilación se incrementa por un aumento de la frecuencia ventilatoria. "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". La adaptación al ejercicio mencionada anteriormente, puede ser una ventaja, ya que se economiza un oxígeno que se requeriría en el propio esfuerzo de la ventilación (Mc Ardle y Katch, 2010). El aumento del volumen corriente en entrenados puede estar relacionado con un incremento del desplazamiento volumétrico con cada respiración que puede ser debido a que el ejercicio aumenta el tamaño de las vías aéreas superiores, dando lugar a un descenso en la resistencia al flujo aéreo y un mayor desplazamiento del volumen de aire con cada respiración. El entrenamiento también parece incrementar la distensibilidad pulmonar y torácica dando lugar a cambios del volumen pulmonar mayores que los producidos en individuos no entrenados (Barnard, 1970). Según Bouchard (1992) también se produce un aumento de la superficie alvéolo-capilar y una mayor capacidad de difusión de los gases.

e)El entrenamiento de larga duración produce **modificaciones de carácter endocrino**. Así por ejemplo, se producen cambios en la sensibilidad celular a diferentes hormonas (Åstrand *et al.*, 2003). Los adipocitos y el tejido músculo esquelético incrementan la sensibilidad a la insulina (James *et al.*, 1985). En corredores entrenados se ha observado



una disminución de los niveles de insulina en sangre y un aumento de la concentración de ACTH y cortisol (Wirth *et al.*, 1981). Con respecto al cortisol, estudios como el de Hackney *et al.*, mostraron un descenso de estos niveles. La testosterona en sangre parece disminuir en atletas varones mediante la realización de entrenamiento de resistencia (Hackney *et al.*, 1988). Sin embargo, otros autores como Mujika *et al.*, 1996 defienden que no existen cambios en los niveles de testosterona, hormonas tiroideas y cortisol por el entrenamiento. Con respecto a la hormona del crecimiento, Eliakim *et al.* (1998), describieron que el entrenamiento de resistencia breve no se acompañó de un aumento de GH pero que un año de entrenamiento incrementó la liberación pulsátil de GH en reposo. Según González (1992) “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” habiéndose observado “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”.

La reparación tisular parece estar aumentada en individuos entrenados debido a un aumento del hematocrito, la hemoglobina, las plaquetas y la interleuquina- 6. Estos cambios, también parecen incrementar la nutrición tisular y la termorregulación. Con el entrenamiento prolongado se produce una expansión del volumen plasmático, que por hemodilución puede dar lugar a valores de hematocrito y hemoglobina bajos a pesar de que los valores absolutos de éstos sean más elevados (Convertino, 1982). Según Bouchard (1992) se produce un aumento de la actividad eritropoyética mediante la realización de ejercicio físico. Así por ejemplo, en la persona entrenada, la hematocateresis que existe tras la realización de ejercicio físico intenso se contrarresta rápidamente a diferencia de las personas no entrenadas (González, 1992).

f) El **sistema nervioso vegetativo** también presenta adaptaciones al ejercicio. Los cambios a nivel de mecano- y quimio-receptores de los músculos periféricos dan lugar a modificaciones por “feedback” del sistema nervioso vegetativo (Dickhuth *et al.* 2004). Entre las diversas adaptaciones podemos mencionar, por ejemplo, la disminución de las catecolaminas o sus metabolitos en orina y sangre durante el reposo, que

parece estar relacionado con la disminución del tono simpático (Hartley *et al.*, 1972, citados por Fletcher *et al.*, 2001).

En un estudio realizado por Lubanda *et al.* 2015, en un modelo porcino, la denervación renal disminuyó la influencia del sistema nervioso simpático sobre la conducción cardiaca y produjo un descenso del periodo refractario efectivo. Estas modificaciones se observan con frecuencia durante el ejercicio. Sin embargo, este estudio electrofisiológico no se asoció con un descenso de la inducibilidad de la fibrilación ventricular. Los hallazgos con respecto a la inducibilidad de la fibrilación en este estudio parecen relacionarse con diversas limitaciones como la utilización de un modelo porcino sano y no un modelo con sustrato arritmogénico. Además, los resultados obtenidos pueden haber sido influenciados por la profundidad de la analgesia y sedación de los animales.

Los niveles de noradrenalina (NA) en deportistas durante el reposo disminuyeron en las investigaciones realizadas por Hespel *et al.*, 1988 y Bowers *et al.* (1995). En atletas entrenados durante años, se observó un aumento de la adrenalina (A) en reposo (Kjaer *et al.*, 1986). Sin embargo, al revisar estudios longitudinales, parte de los resultados parecen controvertidos.

Molé en 1978 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985), publicó sus observaciones con respecto al incremento de la

sensibilidad a las catecolaminas mediante el entrenamiento. El mismo autor, también demostró un incremento del inotropismo mediante el uso de isoproterenol ( $\beta$ -adrenérgico).

En personas sanas, la regulación vagal prevalece en condiciones de reposo. Bajos niveles de modulación vagal pueden no contrarrestar de forma adecuada la estimulación simpática, dejando al corazón vulnerable a las taquiarritmias ventriculares y la muerte súbita cardiaca (Canevalli *et al.*, 2014). La reducción de la modulación vagal caracteriza a la patología cardiovascular, como por ejemplo en el caso de la insuficiencia cardiaca (Sabbah *et al.*, 2011). Scheuer y Tipton (1977) relacionaron la realización de ejercicio físico con un aumento del tono parasimpático. También ha sido objetivado que todos los cambios del tono simpático se acompañan de un aumento paralelo del tono parasimpático.

En un estudio realizado por Seals y Chase (1989) se observó que el entrenamiento de resistencia extenuante en hombres daba lugar a reducciones de la frecuencia cardiaca durante el reposo y además incrementaba el tono cardiaco vagal.

Al comparar atletas de resistencia con controles sedentarios, Dixon *et al.*, 1992 (citado por Kenta Yamamoto *et*

*al.*, 2001) concluyeron que existía un menor control simpático y un mayor control vagal cardiaco.

En investigaciones realizadas en perros, con el objetivo de estudiar la variabilidad de la frecuencia cardiaca por el ejercicio y el riesgo de muerte súbita, Billman y Kukielka (2006) objetivaron que el entrenamiento aumentó la actividad vagal cardiaca. Estos resultados fueron reproducidos nuevamente por los mismos autores en 2007 al estudiar en perros con susceptibilidad a fibrilación ventricular, los efectos de un protocolo de ejercicio submáximo en la recuperación de la frecuencia cardiaca.

g) Por lo que respecta a las adaptaciones del ejercicio a nivel cardiovascular general, el gasto cardiaco parece incrementarse en ejercicios máximos (Saltin *et al.*, 1968, citado por Fletcher *et al.*, 2001) y se asocia con cambios simultáneos en el volumen sistólico.

El ejercicio reduce el consumo miocárdico de oxígeno mediante una disminución del trabajo ventricular izquierdo y de la frecuencia cardiaca. Parece ser que la frecuencia cardiaca máxima no se incrementa en personas sanas. Mediante el entrenamiento, los individuos son capaces de incrementar el gasto cardiaco gracias a un mayor volumen sistólico y no por un aumento de la frecuencia cardiaca (Hartley *et al.*, 1969).

Esto da lugar a un descenso del flujo coronario por gramo de miocardio (Laughlin *et al.* 2012).

Según Christensen al producir una mejoría con el entrenamiento, logramos un descenso de la frecuencia cardiaca gradual y la intensidad de entrenamiento para producir un mismo efecto debe ser incrementada. Sin embargo, no hay una relación lineal entre el efecto del entrenamiento y la cantidad de entrenamiento (Astrand *et al.*, 2003).

Entre algunas de las adaptaciones al entrenamiento cabe mencionar un aumento de la masa miocárdica, del tamaño ventricular izquierdo al final de la diástole y una mejora de la función contráctil del miocardio (Moore *et al.* 1995).

También se producen durante el entrenamiento adaptaciones mecánicas y metabólicas debido a un incremento de la demanda energética durante el ejercicio. Así, todos los mecanismos celulares relacionados con la excitación y contracción muscular y con la producción de energía responderán adaptándose a las cantidades reiteradas de ejercicio dinámico.

Al estudiar las modificaciones de la presión arterial por el entrenamiento, Bedford y Tipton (1987) observaron en un estudio en ratas que el control barorreflejo de la presión

arterial disminuía por el entrenamiento. Whelton *et al.* 2002 también estudiaron los efectos del ejercicio aeróbico regular sobre la tensión arterial y observaron que en individuos hipertensos se produjo un descenso de la presión arterial de 4 a 9 mm Hg en la presión sistólica y de 3 a 9 mm Hg en la diastólica.

El ejercicio también parece afectar al envejecimiento del músculo cardíaco, postponiendo los efectos del envejecimiento y limitando los cambios en la expresión genética que suceden habitualmente con el paso del tiempo (Bronikowski *et al.* 2003).

A pesar de todos los efectos beneficiosos del ejercicio, algunos estudios mencionan que el ejercicio extenuante puede dar lugar a “fatiga o daño cardíaco”, sin embargo, las consecuencias clínicas permanecen por esclarecer. También se ha podido objetivar que los valores de troponinas y péptido natriurético cerebral aumentan después de realizar entrenamiento de resistencia, datos que sugieren daño a nivel de los miocitos (Green *et al.* 2006).

Parece ser que en ausencia de isquemia, el entrenamiento no realiza ninguna modificación de la circulación coronaria colateral. Sin embargo, cuando el ejercicio produce isquemia de forma crónica, hay evidencia de un aumento de circulación colateral. Además de lo mencionado

anteriormente, otros factores como el gradiente de presión entre los vasos sanguíneos influyen en el incremento de la circulación coronaria colateral. Así por ejemplo, el ejercicio de resistencia crónico, que da lugar a hipertrofia miocárdica se asocia con un incremento proporcional de la vascularización coronaria. Por tanto, al aumentar las demandas de oxígeno miocárdico se producen adaptaciones vasculares coronarias que facilitan la máxima ejecución cardíaca (Duncker y Bache, 2008). Estas adaptaciones pueden ser estructurales (a nivel de capilares y arteriolas coronarias), relativas al control neurohumoral y a las adaptaciones al mismo.

También ha sido publicado que el entrenamiento aumenta el área de la superficie de permeabilidad capilar sin modificar el número de capilares. El aumento de la óxido nítrico sintasa y la disminución de fuerzas de compresión extravasculares en reposo y durante el ejercicio juegan un papel importante aumentando la vasodilatación de la microcirculación coronaria (Duncker y Bache, 2008). Laughlin (1985) por ejemplo, observó un aumento del flujo coronario en perros que fueron entrenados durante tres meses o más. Por tanto parece ser que la vasodilatación de las arteriolas aumenta el flujo coronario máximo en animales entrenados.



### **1.2.1.2. Adaptaciones electrofisiológicas miocárdicas: refractariedad y conducción ventricular. Mecanismos nerviosos e intrínsecos**

Comenzaremos este apartado describiendo los fenómenos electrofisiológicos básicos que suceden en el miocardio ventricular.

Las células ventriculares de trabajo presentan un potencial de reposo electronegativo estable entre cada una de las despolarizaciones del potencial de acción. Este potencial de reposo parece ser mantenido gracias a la corriente de rectificación interna ( $I_{K1}$ ) y la bomba  $\text{Na}/\text{K}^+$ .

Durante la fase de despolarización rápida o fase 0, que dura entre 1 y 2 ms, se observa una pendiente de subida hasta +20 mV ( $dV_m/dt = 393 \text{ V/s}$ , Kléber y Rudy, 2004) desde el potencial de reposo electronegativo mencionado anteriormente. Parece ser que la corriente rápida de entrada de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ) juega un papel importante y pasa de estar activada al inicio de la fase de despolarización a estar inactivada al final de esta fase porque la diferencia de potencial lograda se acerca al potencial de equilibrio del  $\text{Na}^+$ .

La siguiente fase no parecen presentarla todas las células miocárdicas y se denomina fase de de repolarización

rápida o fase 1. Aquí se inactiva la corriente rápida de entrada de  $\text{Na}^+$  y se activa la corriente transitoria de salida de  $\text{K}^+$  ( $I_{\text{to}}$ ). Esta última se inactiva dependiendo del tiempo y voltaje.

Al alcanzar el potencial de membrana aproximadamente -25 mV, existe una entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  mediante canales voltaje dependientes. La corriente  $I_{\text{Ca-L}}$  dura sobre los 200 ms en las células ventriculares del ser humano. Esta es la denominada fase 2 del Potencial de Acción y da lugar a una corriente despolarizante que mantiene una meseta contra la acción repolarizante de las corrientes  $I_{\text{kr}}$  e  $I_{\text{ks}}$ . Roden *et al.*(2002) publicaron que en aurículas de humanos, perros, ratones y ratas, existe además otra corriente ( $I_{\text{kur}}$ ) que se activa antes que la  $I_{\text{kr}}$ .

La siguiente fase dura aproximadamente unos 100 ms y se denomina fase de repolarización o fase 3 del Potencial de Acción. La  $I_{\text{Ca}}$  se inactiva, se incrementan hasta un máximo las corrientes de salida de  $\text{K}^+$  de rectificación tardía ( $I_{\text{kr}}$  e  $I_{\text{ks}}$ ), se activa la corriente de rectificación interna ( $I_{\text{K1}}$ ) y se activa el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  ( $I_{\text{ncx}}$ ). Este intercambiador extrae inicialmente tres iones de  $\text{Na}^+$  por cada ión de  $\text{Ca}^{2+}$  que introduce e invierte su acción posteriormente. En la fase 3 se incrementa la velocidad de repolarización hasta lograr que el potencial de membrana tenga un valor del potencial de reposo.

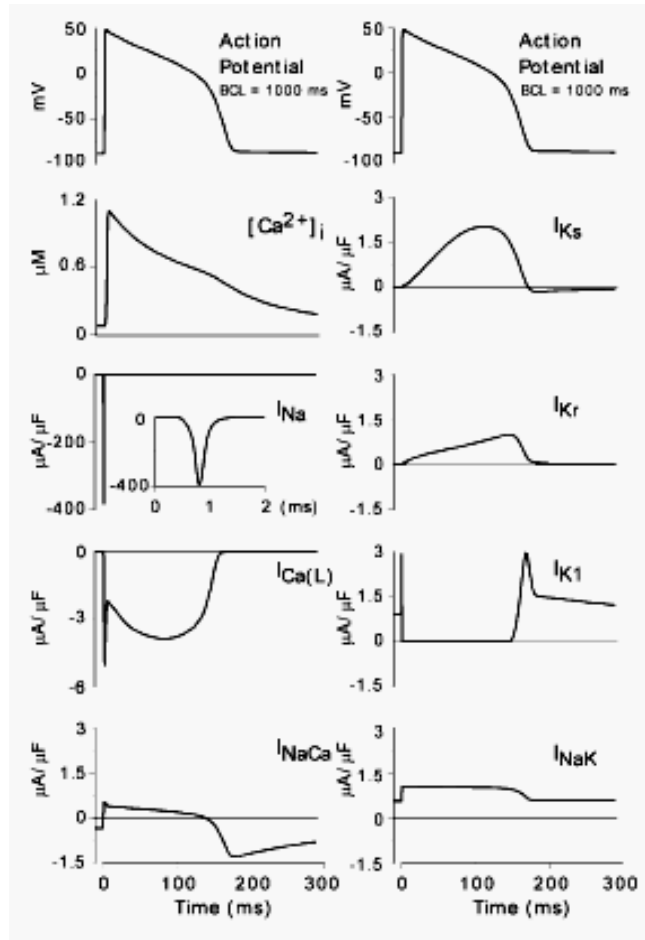


Fig.1.2. Representación gráfica de las corrientes que intervienen durante el PA de una célula subendocárdica ventricular. Tomado de Rudy (Klíber y Rudy, 2004).

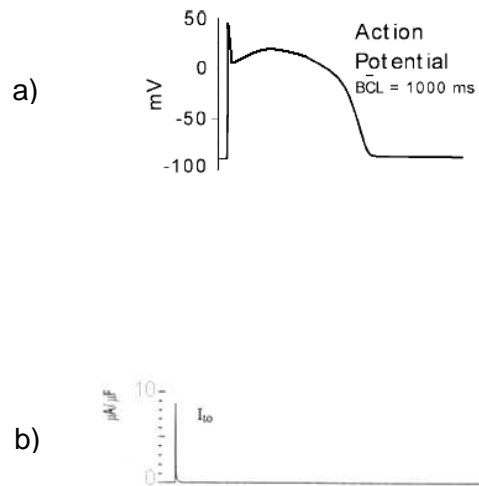


Fig.1.3. Representación grafica de la corriente transitoria de potasio durante el potencial de acción de una célula subepicárdica ventricular. a) modificado de Rudy (Kléber y Rudy, 2004). b) modificado de Jalife *et al.* (1999).

En la fig. 1.4. observamos representados de forma esquemática los sistemas de intercambio y los canales del sarcolema de las células miocárdicas.

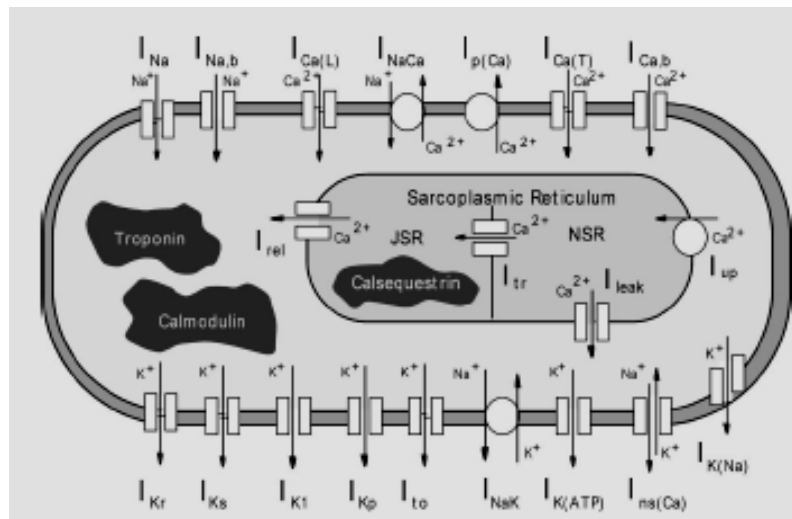


Fig.1.4. Célula ventricular representada esquemáticamente con su dispositivo de canales y sistemas intercambiadores. (Kléber y Rudy, 2004).

### 1.2.1.2.a)- Refractoriedad de los miocardiocitos ventriculares durante el potencial de acción.

Según Mountcastle (1977), durante el potencial de acción encontramos diversos periodos de tiempo que difieren según la mayor o menor excitabilidad miocárdica: “El *periodo refractario efectivo* se define como aquel lapso del ciclo cardiaco durante el cual el estímulo, cualquiera que sea su intensidad, no consigue producir una respuesta eléctrica *propagada* (se subraya el término *propagada* ya que se ha

demostrado que, en realidad, en cualquier fase del ciclo cardiaco un estímulo de suficiente duración e intensidad, puede iniciar una respuesta local de membrana o influir sobre el proceso de recuperación). Por esta razón, parece recomendable utilizar el término *efectivo* más adecuado que el *absoluto* para esta fase del periodo refractario. El *periodo refractario relativo* se define como el lapso durante el cual puede inducirse un potencial de acción propagado, pero el estímulo necesario para lograrlo debe ser mucho más intenso que el requerido para obtener una respuesta similar en la diástole. Poco antes de finalizar el periodo refractario relativo se invierte la situación y el umbral es ligeramente más bajo que en la diástole. Se trata del llamado *periodo de supernormalidad*. El periodo de excitabilidad “normal” se extiende desde el final del periodo de supernormalidad, a lo largo de la diástole, hasta el momento de iniciarse el siguiente potencial de acción. En cualquier momento de este periodo, los estímulos de intensidad umbral diastólica pueden producir potenciales de acción propagados con velocidades de conducción y latencias normales.”

En fibras de Purkinje y bajo algunas condiciones en músculo cardiaco de trabajo, hay un corto periodo de tiempo,

durante la parte final de la repolarización, en el cual las células presentan más excitabilidad que durante el reposo.

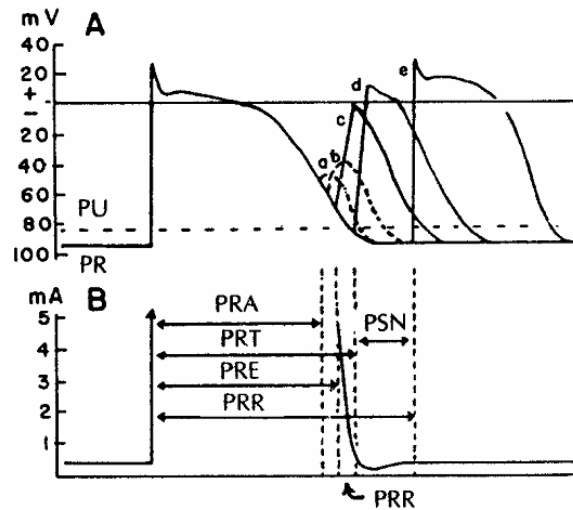


Fig. 1.5. A. Potencial de acción de membrana y respuestas a estímulos aplicados en diferentes tiempos. B. Representación esquemática del periodo refractario absoluto (PRA), periodo refractario total (PRT), periodo refractario efectivo (PRE), periodo supernormal (PSN) y periodo refractario relativo (PRR). (Tomado de West, 1998).

Con respecto a las células ventriculares, sabemos que presentan una conducción rápida y que la recuperación de la excitabilidad es sobre todo voltaje-dependiente. Sin embargo, en las células de respuesta lenta la recuperación depende principalmente del tiempo y por tanto la repolarización al

potencial de reposo no coincide siempre con una recuperación de la excitabilidad (West, 1998).

Vamos a comentar en las próximas líneas las alteraciones que se producen en los iones a lo largo de los distintos tipos de periodo refractario.

Los canales de  $\text{Na}^+$  se empiezan a inactivar durante la despolarización celular. Desde esta inactivación, hace falta un periodo de recuperación para que los canales puedan comenzar a conducir de nuevo (Jalife *et al.*, 1999). Este es el llamado periodo refractario absoluto (PRA).

El periodo refractario efectivo (PRE) es el resultado de que no se produzca casi entrada de  $\text{Na}^+$  (Jalife *et al.*, 1999).

En el periodo refractario relativo (PRR) el movimiento de entrada de  $\text{Na}^+$  es tan lento que hace falta una intensidad de corriente incrementada para que el movimiento de entrada sea suficientemente rápido y pueda originar un Potencial de Acción. La entrada de  $\text{Na}^+$  se ve contrarrestada por la salida de  $\text{K}^+$  (Mountcastle, 1977).

Según Jalife *et al.* (1999) existe un periodo denominado de supernormalidad en el que el umbral para la activación está bastante cerca del normal gracias a la reactivación de varios canales de  $\text{Na}^+$ .



El periodo refractario finaliza con una completa repolarización del Potencial de Acción y es principalmente dependiente del voltaje (Hoffman y Cranefield, 1960, tomado de Sutton *et al.*, 2000). Este conocimiento se ha utilizado para tratar arritmias mediante fármacos que prolongan la duración del Potencial de Acción (para revisión, ver Sutton *et al.*, 2000).

#### **1.2.1.2.b)- Conducción del impulso eléctrico por el miocardio. Análisis de la conducción en el miocardio ventricular**

El nodo sinusal, que actúa como marcapasos cardiaco en condiciones fisiológicas, transmite la actividad eléctrica a 0,05 m/s debido a que presenta potenciales de reposo bajos y también porque los potenciales de acción de la zona del nodo sinusal muestran un ascenso lento (Hoffmann y Cranefield, 1960, tomado de Mountcastle, 1977).

La velocidad de conducción se incrementa a 1 m/s al cruzar los tejidos que comunican el nodo sinusal con el músculo auricular. El impulso eléctrico se transmite radialmente como un “líquido colocado en una superficie plana” según describió Lewis, 1925 (tomado de Mountcastle, 1977).

Algunos datos publicados en estudios como el de Paes *et al.* en 1961 (tomado de Mountcastle, 1977) parecen mostrar que existen tanto en las aurículas de conejo como en las de perro unas vías preferentes para conducir impulsos.

Algunos autores postulan que existen tres vías internodales por las cuales se transmite el impulso cardiaco y que son histológicamente parecidas a las del sistema de Purkinje. Además, estas vías tienen más resistencia a incrementos extracelulares de  $K^+$  (Opie, 1998). Otros autores defienden que no hay vías auriculares especializadas y que el septo auricular presenta células con propiedades especializadas.

Las isocronas han sido utilizadas para estudiar modelos de activación auricular y mostrar la propagación del impulso (Scher y Spah, 1979). Cuando el impulso eléctrico llega al nodo AV existe un enlentecimiento en la transmisión de dicho impulso, con la finalidad de que la sístole auricular termine antes del inicio de la excitación ventricular (Opie, 1998). La velocidad de conducción desde la aurícula al nodo AV se enlentece en ocasiones hasta ser de 0'05 m/s. En investigaciones realizadas sobre la conducción del nodo se observó que la mayor parte del retraso en la conducción se

produce en la zona auricular del nodo (Erlanger, 1912, Eyster y Meek, 1916 y Hering, 1910, tomado de Mountcastle, 1977).

En investigaciones realizadas por Hoffman y Cranefield se observó un decremento de la conducción entre la aurícula y el nodo AV y se describió como a continuación: “Es un tipo de conducción en el que las propiedades de la fibra cambian a lo largo de su longitud, de tal manera que el PA se hace gradualmente menos eficaz como estímulo para la porción no excitada de la fibra”.

La disminución de la conducción del impulso eléctrico por la región superior del nodo parece estar relacionada con los diferentes diámetros de las fibras del miocardio. En la zona auricular del nodo el diámetro de las fibras es más pequeño que el que presentan las fibras auriculares y con muchas interconexiones (Tawara, 1906, tomado de Mountcastle, 1977). En cambio en la región inferior del nodo AV y en el haz de His el diámetro de las fibras se incrementa progresivamente según se reduce la ramificación.

Según Jalife *et al.* (1999) al despolarizar una célula del miocardio ventricular se desencadena un gradiente eléctrico entre esa célula y la siguiente. De esta forma se inicia una corriente excitatoria para las células vecinas. El Potencial de Acción actúa como la fuente de corriente y el sumidero lo

constituye el potencial de membrana intracelular en reposo de la célula vecina.

Para la segunda célula la corriente fuente produce una despolarización que conduce a esta célula a su potencial umbral. Esta célula genera una fuente de corriente para las células vecinas y de esta forma se repite lo mencionado anteriormente dando lugar a un Potencial de Acción que viaja a lo largo de la fibra (fig. 1.6). En un miocito aislado toda la corriente que se introduce en el circuito descarga ese condensador celular, en cambio, en la fibra muscular solo una pequeña parte de la corriente despolariza cada célula.

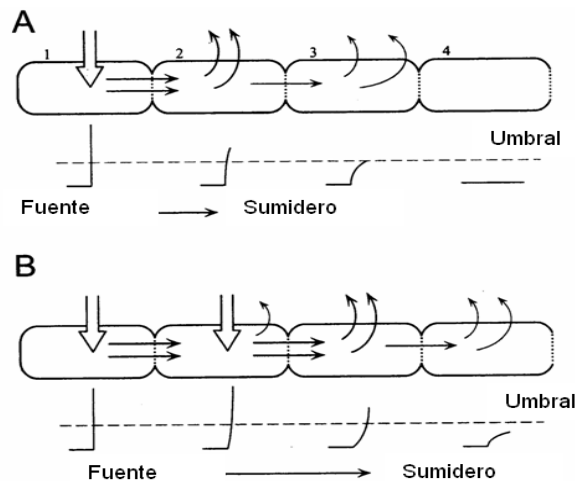


Fig.1.6. Propagación del PA desde la fuente hasta el sumidero. A: la fuente está localizada en la célula 1; B: el sumidero se transmite a la célula 2. Modificado de Jalife *et al.* (1999).

El impulso eléctrico se propaga a los ventrículos con una velocidad relacionada con la fase 0 del PA que depende de la corriente de entrada de  $\text{Na}^+$ , sin embargo, en el tejido nodal, la corriente es producida por un movimiento de  $\text{Ca}^{2+}$ . En base a estos conocimientos electrofisiológicos, los fármacos que disminuyen la entrada de sodio, disminuirán la velocidad de conducción. A este grupo de fármacos pertenecen los antiarrítmicos de la clase I como la flecainida y la quinidina.

La densidad de las comunicaciones intercelulares puede modificar la velocidad de conducción como en el caso de la isquemia miocárdica. Según Jalife (1999) en la isquemia existe un incremento de protones que como consecuencia cierra las *Gap Junctions* y da lugar a un descenso del movimiento de cargas eléctricas desde la fuente al sumidero.

Tras realizar un análisis de aspectos básicos electrofisiológicos pasaremos a comentar lo que consideramos más propiamente el objetivo de este apartado.

Entre las diversas manifestaciones fisiológicas que produce el entrenamiento encontramos las cardiovasculares. El ejercicio intenso puede dar lugar a modificaciones cardiacas tanto estructurales como eléctricas. Como ejemplo podemos mencionar a Pelliccia *et al.*, 2008, que encontraron mayores cambios electrocardiográficos en atletas con mayores cambios

estructurales en ecocardiografía como la hipertrofia ventricular izquierda entre otros. Los cambios electrocardiográficos estaban relacionados con un incremento del voltage, prolongación del QRS, ondas T invertidas, bloqueos auriculoventriculares de primer grado y desviación de los ejes cardiacos.

Han sido claramente demostrados los cambios en el automatismo sinusal y la conducción aurículo-ventricular en individuos entrenados durante el reposo. Scheuer y Tipton (1977) relacionaron la bradicardia en reposo producida por el entrenamiento con un incremento de la actividad parasimpática y un descenso en la actividad simpática. Previamente, Branwell y Ellis en 1929 (citados por Scheuer y Tipton, 1977) ya habían publicado en atletas olímpicos, un descenso de la frecuencia cardiaca.

Talan *et al.*, 1982 y Jost *et al.*, 1989 (citados por Aizer *et al.*, 2009) describieron una mayor actividad nerviosa parasimpática relacionada con el ejercicio físico regular

Los bloqueos aurículo-ventriculares en deportistas de élite (Talan *et al.* 1982; Viitasalo *et al.* 1982 y 1984) y la prolongación de la longitud del ciclo de Wenckebach en el corazón aislado de conejo sometido a un protocolo de ejercicio físico crónico (Such *et al.*, 2002) parecen relacionarse con un

efecto depresor de la conducción del impulso eléctrico a través del nodo AV mediado por la realización de ejercicio. Parece ser que la conducción nodal AV se encuentra deprimida por la acción vagal.

Los mecanismos intrínsecos pueden estar implicados tanto en la depresión del automatismo sinusal como en la de la conducción aurículo-ventricular ya que se pueden observar también en en corazón aislado (Such *et al.* 2002) y en corazón denervado farmacológicamente (Stein *et al.*, 2002).

La información sobre refractariedad ventricular intrínseca y sus cambios por el entrenamiento es escasa. La refractariedad del sistema de conducción y del miocardio de los ventrículos tendió a aumentar en investigación con conejos, pero los cambios hallados no fueron estadísticamente significativos (Such *et al.*, 2002). Sólo el período refractario funcional ventricular se incrementó en animales entrenados. En 2005 López *et al.*, realizaron investigaciones en conejos sobre diversos parámetros electrofisiológicos y sus modificaciones por el entrenamiento y hallaron modificaciones de carácter intrínseco de varios parámetros. Así, por ejemplo, con un tren base de estimulación de 200 ms se produjo un aumento significativo del período refractario efectivo auricular. También se observó que los períodos refractarios presentaron mayores

valores en los animales entrenados que en los controles. En 2008, Such *et al.* y en 2011, Zarzoso, objetivaron en experimentos con conejos, un incremento de la refractariedad ventricular con protocolos de ejercicio de menor intensidad que la que se utilizó por los mismos autores en trabajos previos.

Estudiando los efectos del ejercicio físico crónico sobre el acoplamiento excitación-contracción, Tibbits *et al.* (1981), hallaron un aumento en la duración del potencial de acción en el animales entrenados. En investigaciones realizadas en ratas para estudiar el efecto del entrenamiento y del envejecimiento, Gwathmey *et al.* (1990) también objetivaron un incremento en la duración del potencial de acción del grupo entrenado. Ha sido comprobada la correlación entre la refractariedad y la duración del potencial de acción (Sutton *et al.* 2000). En 2002, Natali *et al.* al investigar en ratas entrenadas demostraron un aumento de la duración del PA en los cardiomiocitos subepicárdicos pero no hallaron modificaciones en la duración del potencial de acción de células subendocárdicas.

Parece ser que no existen suficientes trabajos de investigación sobre las modificación intrínsecas de la velocidad de conducción por el ejercicio físico crónico. Entre las pocas investigaciones que hemos encontrado se encuentran las de



nuestro grupo de trabajo como por ejemplo la publicación de López, y Pelechano de 2008.

## **1.2.2. El ejercicio físico crónico aeróbico como maniobra protectora no farmacológica del miocardio**

### **1.2.2.1. Introducción y generalidades**

La fibrilación ventricular es una de las principales causas de muerte súbita de origen cardiaco en el mundo occidental industrializado (Billman, 2002). Parece ser que la heterogeneidad de la repolarización miocárdica es una causa frecuente de arritmias ventriculares.

Algunos autores sugieren la realización de ejercicio como mecanismo protector frente a arritmias. La actividad física muestra un papel crucial como terapia no farmacológica en la prevención primaria, secundaria y terciaria de enfermedades cardiovasculares. La prevención primaria es la encargada de la promoción de la salud, la secundaria promueve la detección temprana y screening y la terciaria está dirigida a rehabilitación de pacientes con patología cardiaca. Algunos estudios como el de Billman de 2002 demuestran el rol

importante del ejercicio físico en la protección frente a la muerte súbita de origen cardiológico.

Opie *et al.* (1983) realizaron trabajos de investigación experimental en animales y publicaron que el entrenamiento aumenta la resistencia del miocardio a la fibrilación ventricular mediante el incremento de los umbrales fibrilatorios tanto antes como tras la oclusión coronaria y que disminuye los niveles de AMP cíclico en los corazones de animales entrenados.

El ejercicio físico, realizado de forma regular parece incrementar de los mecanismos antioxidantes miocárdicos y postponer el daño producido por el acúmulo de especies reactivas de oxígeno en las células. Entre los mecanismos antioxidantes podemos mencionar el rápido incremento de la superóxido dismutasa con ejercicio de corta duración (Goldibi *et al.* 2012). Por otro lado, también incrementa la biodisponibilidad de óxido nítrico, así por ejemplo Hajnal *et al.* (2005) tratando de investigar el papel del óxido nítrico en la protección del miocardio que se producía por la realización de ejercicio físico en perros, encontraron una menor heterogeneidad electrofisiológica y un descenso del riesgo de fibrilación ventricular en animales entrenados.

Billman y colaboradores (2007) en experimentos realizados en perros, observaron que la frecuencia cardiaca basal se recuperaba más rápidamente en animales entrenados tras acabar el ejercicio y que éstos presentaban una menor frecuencia cardiaca al iniciar el ejercicio.

### **1.2.2.2. Ejercicio físico e isquemia miocárdica**

En estudios realizados en perros con infarto de miocardio cicatrizado en laboratorio, Billman y colaboradores (1984) publicaron que 6 semanas de ejercicio diario daban lugar a una prevención de arritmias producidas por oclusión arterial coronaria.

Un incremento del umbral fibrilatorio fue también obtenido en los experimentos realizados por Bakth *et al.* (1986) en perros normales y en perros diabéticos con un protocolo de entrenamiento.

También Hull *et al.* (1994) observaron un aumento del umbral fibrilatorio en perros entrenados que dió lugar a una mayor dificultad para inducir fibrilación ventricular debida a la isquemia.

Entre otras modificaciones por el ejercicio consta la disminución de la disfunción isquémica miocárdica y la mejoría

de la función contráctil del miocardio como publicaron Brandt MA y colaboradores (2001) en investigaciones con perros.

La incidencia de arritmias letales disminuyó en perros que realizaron un protocolo de ejercicio y se sometieron a oclusión coronaria. Este efecto protector frente a las arritmias pareció estar relacionado con una disminución de la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio de animales entrenados (Babai *et al.*, 2002).

En experimentos realizados con ratas, el daño de la isquemia-reperfusión pareció atenuarse mediante la realización de ejercicio físico según Hoshida S y colaboradores (2002).

También se observó un aumento del umbral de arritmias ventriculares en experimentos realizados con ratas hipertensas (Heidi L. *et al.*, 2004). Las proteínas reguladoras del calcio presentaron un papel importante en los cambios asociados con el umbral de arritmias.

La reducción de la susceptibilidad de padecer arritmias se ha relacionado, en el caso de animales con alta capacidad aeróbica consecuencia del entrenamiento, con un incremento del control autonómico de la frecuencia cardiaca y disminución de las necesidades metabólicas durante la isquemia. Por ejemplo, Lujan *et al.* (2006) publicaron que ratas corredoras con gran capacidad aeróbica sometidas a oclusión coronaria y

reperusión presentaron menos incidencia de taquiarritmias ventriculares al compararlas con ratas con baja capacidad aeróbica.

En estudios con oclusión coronaria aguda realizados en ratas como el de Collins *et al.* (2005) y tratando de estudiar si la cardioprotección del ejercicio físico se relacionaba con cambios en las proteínas reguladoras del calcio, hallaron que las ratas que realizaron un protocolo de ejercicio físico mostraban menor incidencia de arritmias ventriculares.

Además de los trabajos de investigación de carácter experimental que demuestran el efecto protector del ejercicio físico frente a las arritmias, también se han realizado trabajos clínicos que sugieren resultados similares.

El ejercicio físico regular parece aumentar la expectativa de vida en personas sanas y disminuye los eventos cardiovasculares en pacientes con insuficiencia cardiaca y patología coronaria (Rosenwinkel *et al.*, 2001; Buch *et al.*, 2002). Sin embargo existe gran preocupación clínica debido a los casos de muerte súbita sucedidos en deportistas. Para tratar de prevenir los casos de muerte por patología cardiaca en deportistas de élite, algunos países han decidido instaurar protocolos de *screening* de los deportistas de competición como por ejemplo, el del gobierno italiano. Este gobierno

realiza *screening* de los ciudadanos que participan en deportes de competición desde 1982 con el objetivo de diagnosticar la presencia de patología cardiovascular. Verdile *et al.* 2014, realizaron un estudio en 5011 atletas con la finalidad de esclarecer la importancia clínica de las taquiarritmias ventriculares inducidas por el ejercicio y observaron que las taquiarritmias inducidas por el ejercicio se hallaron en una minoría de atletas altamente entrenados sin patología cardíaca. Dichas arritmias fueron benignas y no se asociaron con eventos adversos o posterior desarrollo de patología cardiovascular.

Estudios como el de Bartels *et al.* (1997) demostraron que entre individuos con mayor nivel de actividad física existían menos casos de muerte súbita que entre individuos que realizaban poco ejercicio.

El buen nivel de forma física y el gasto energético alto por el tipo de trabajo realizado también dio lugar a un menor número de casos de muerte súbita en el estudio realizado con pacientes por Ekelund *et al.* (1988).

Berlin & Colditz, 1990 realizaron investigaciones en pacientes con una historia previa de infarto de miocardio que siguieron un programa de rehabilitación cardíaca y hallaron reducciones importantes en los casos de muerte súbita .

El ejercicio físico parece actuar en la prevención e instauración de diversos cambios que se producen durante la isquemia. Entre los cambios que suceden durante la isquemia miocárdica podemos mencionar un descenso del ATP celular, un incremento en la producción de las especies reactivas de oxígeno, un acúmulo de los iones hidrógeno, un incremento de los niveles del calcio libre en el citosol y una activación de la proteasa calcio-activada denominada *calpain* (Scott K.*et al.*2014).

En pacientes que habían tenido un infarto de miocardio y con fracciones de eyección bajas, Paffenbarger y Hale (1975) y Hertzeanu *et al.* (1993) publicaron sus observaciones con respecto a una disminución de la severidad y la frecuencia de arritmias, tras realizar un programa de ejercicio físico crónico.

La actividad física regular también muestra efectos beneficiosos en pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva mejorando la función cardiaca y reduciendo la frecuencia de arritmias (Kiilavuori *et al.*, 1995).

El ejercicio isométrico parece ser beneficioso en pacientes con cardiopatía coronaria, por ejemplo, Lin *et al.* 2012, demostraron en un estudio realizado en pacientes con cardiopatía coronaria, que la contracción isométrica isquémica

facilitaba el flujo colateral y la perfusión en tejido cardiaco lejano.

En una revisión epidemiológica, Wannamethee y Shaper (2001), expusieron la relación lineal dosis-respuesta entre la actividad física y la patología coronaria hasta determinado nivel de actividad física. También describieron el rol fundamental que presenta la realización de ejercicio físico para la prevención primaria y secundaria de patología coronaria.

Böhm y Werner (2008) revisando los tratamientos habituales para protección frente a patología cardiovascular, además de mencionar que la realización de ejercicio físico moderado mejora la reparación vascular y la función endotelial, describieron que en el estudio internacional "INTERHEART", la ausencia de actividad física podía predisponer a patología cardiovascular. Parece ser que la carencia de ejercicio se asocia con otros factores que pueden ser responsables de aproximadamente un 90% de riesgo de infarto de miocardio (Yusuf *et al.*, 2004).



### **1.2.2.3. Estado actual sobre el conocimiento de los mecanismos básicos sobre los que se asientan los efectos protectores a nivel miocárdico del ejercicio físico, incluyendo a la cardiopatía isquémica y por reperfusión.**

Algunos autores postulan que el ejercicio físico protege frente a la aparición de arritmias porque el entrenamiento modifica el equilibrio simpático-parasimpático mediante el incremento de la actividad parasimpática (Blomqvist & Saltin, 1983 y Scheuer & Tipton, 1997). Esta modificación del sistema nervioso vegetativo logra una depresión del automatismo sinusal con descenso de la frecuencia cardíaca. Otros estudios que defienden esta opinión son los de Zuanetti *et al.* (1987), realizados en gatos, en el que obtuvieron protección frente a las arritmias al realizar estimulación vagal. También Billman (1990) consiguió prevenir la fibrilación ventricular mediante el uso de carbacol (un agonista colinérgico) y guanosin-monofosfato-cíclico.

Sin embargo, mientras que algunos autores (Morady *et al.*, 1988) observan aumentos de la refractariedad ventricular debidos al incremento de la actividad parasimpática y lo

interpretan como mecanismo protector frente a cierto tipo de arritmias ventriculares, otros autores (Farges *et al.*, 1977) defienden que el incremento de actividad colinérgica no modifica la refractariedad ventricular, o sólo la modifica en determinadas circunstancias y dependiendo de la especie estudiada. Así por ejemplo, en el caso del perro, la acetilcolina no cambia el potencial de acción según unos autores, lo acorta según otros y en el caso de la oveja, la acetilcolina alarga el potencial de acción (para revisión ver Rardon & Bayley, 1983). Billman y colaboradores (2006), observaron en sus investigaciones que no es sólo la regulación vagal cardíaca aumentada, la que protege frente a la muerte súbita cardíaca si se realiza ejercicio físico.

Entre los diversos factores que además de la regulación vagal, parecen relacionarse con el efecto protector del ejercicio está por ejemplo la mejoría de los factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión arterial (Kokkinos *et al.*, 1995), la obesidad (Wood *et al.*, 1991) y la diabetes mellitus tipo 2. Kokkinos *et al.* (1995) publicaron un descenso significativo de la presión arterial diastólica y una regresión de la hipertrofia de los ventrículos en un estudio con varones que realizaron intenso ejercicio aeróbico. Según Wood *et al.* (1991), el ejercicio aumenta la perfusión miocárdica y altera el perfil de

lípidos en el organismo por una disminución de las lipoproteínas de baja densidad y un incremento de las lipoproteínas de alta densidad. El ejercicio aumenta el flujo coronario en corazones entrenados, pero publicaciones sobre investigaciones en corazones aislados demuestran que a pesar de que el ejercicio sea de corta duración, éste da lugar a cardioprotección aunque no se produzcan cambios en el flujo coronario (Bowles *et al.* 1994, Lennon *et al.* 2004, Quindry *et al.* 2005).

Otra de las modificaciones del entrenamiento que pueden ser consideradas cardioprotectoras frente a la isquemia es la disminución de la glicolisis en el corazón de rata (Burelle y *et al.*, 2004). Sin embargo, no se conocen los mecanismos por los cuales se altera el fenotipo metabólico del corazón para producir esta respuesta. Hasta la actualidad, parece ser que no existe evidencia directa que relacione los cambios en la glicolisis del miocardio producidos por el ejercicio y la cardioprotección (Scott K.*et al.*2014).

Como hemos descrito, existen numerosas causas de la posible protección que el ejercicio ejerce frente a las arritmias y la muerte súbita.

Los mecanismos exactos de protección del entrenamiento frente a arritmias y a muerte súbita cardiaca permanecen por descubrir según numerosos autores a pesar de las diversas publicaciones que proponen mecanismos directos e indirectos de protección como las que hemos mencionado anteriormente (Wannamethee y Shaper, 2001; Billman, 2002; Ascensao *et al*, 2007, Hamer y Stamatakis, 2008; Böhm y Werner, 2008).

### **1.2.3. Consideraciones finales: resumen de la justificación de los objetivos. Hipótesis de trabajo**

Debido a que el ejercicio físico se postula como maniobra no farmacológica protectora frente a arritmias y muerte súbita y a que los mecanismos por los cuales se ejerce dicha protección no han sido totalmente esclarecidos, hemos considerado de interés realizar la presente tesis doctoral con la siguiente hipótesis de trabajo:

El ejercicio físico regular realizado en un modelo de animal con hábitos de sedentarismo y con respuestas cardiovasculares por el entrenamiento similares al ser humano, ejercerá efectos electrofisiológicos beneficiosos en la isquemia

aguda y reperfusión del miocardio. El entrenamiento físico también modificará las propiedades electrofisiológicas (refractoriedad, velocidad de conducción, longitud de onda, frecuencia dominante y heterogeneidad electrofisiológica) relacionadas con la instauración de arritmias por reentrada y por tanto, con la FV y como consecuencia con la muerte súbita.

#### **1.2.4. Plan de trabajo**

Con la finalidad de validar nuestra hipótesis hemos diseñado el siguiente plan de trabajo:

- 1) Someter a un grupo de conejos a un protocolo de ejercicio físico regular en cinta rodante y mantener a otro grupo en condiciones normales de estabulación.
- 2) Estudiar en cada corazón aislado, tanto de conejos entrenados como no entrenados, las modificaciones que sobre la frecuencia de la FV inducida produce la oclusión coronaria aguda y la reperfusión.
- 3) investigar el efecto del entrenamiento sobre la refractoriedad, la velocidad de conducción, la longitud de onda y el coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular tanto en situación de normal perfusión como tras isquemia aguda, en las fases iniciales de la misma.

- 4) Realizar la correspondiente inferencia estadística en cuanto a los parámetros objeto de estudio se refiere, y
- 5) Tras el análisis de los resultados proceder a obtener las correspondientes conclusiones.

---

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---





## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **2.1. Material**

#### **2.1.1. Animales de experimentación: características**

La investigación experimental de esta tesis doctoral se realizó en conejos machos raza Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*) de peso inicial  $1'98 \pm 0'14$  Kg.

#### **2.1.2. Reactivos**

Se utilizaron los siguientes reactivos y compuestos para realizar los experimentos:

- Ketamina (Ketolar<sup>®</sup>) de Parke-Davis como anestésico.
- Heparina sódica al 5% de Rovi<sup>®</sup>.
- Solución de Tyrode. Esta solución fue preparada con la combinación de: CaCl<sub>2</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, KCl, NaHCO<sub>3</sub>, NaCl y glucosa de Panreac<sup>®</sup> Química S.A.

### 2.1.3.- Aparatos

- Balanzas: Precisa Balances<sup>®</sup> y balanza Soehnle<sup>®</sup>.
- Tapiz rodante Panlab<sup>®</sup> S.L. (fig. 2.1).



Fig. 2.1. Tapiz rodante.

- Sistema de estimulación:
  - Electrodo**s** bipolares de estimulación con una distancia interelectrodo de 1 mm y diámetro de 0'125 mm.
  - Estimulador Grass S88<sup>®</sup> (Grass Instruments<sup>®</sup>, Inc., Quincy, M.A., U.S.A.) que permite monitorizar y modificar la intensidad y duración del estímulo además de la frecuencia de estimulación. Este estimulador logra emitir pulsos rectangulares de corriente de 2 ms y presenta una unidad de aislamiento del estímulo (fig. 2.2).

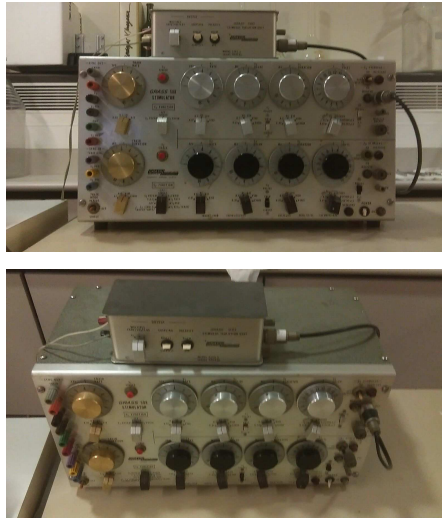


Fig. 2.2. Estimulador Grass S88<sup>®</sup>.

El estimulador se encuentra conectado a un sistema computarizado para programar la estimulación.

- Sistemas de registro:
  - Electrodo múltiple de registro con 256 electrodos unipolares. La distancia interelectrodo del electrodo múltiple es de 1 mm y el diámetro es de 0'125 mm. Este electrodo fue utilizado para registrar electrogramas ventriculares durante los experimentos de la presente tesis doctoral (fig.2.3).



Fig.2.3. Electrodo múltiple de registro.

- Sistema de cartografía epicárdica de la actividad eléctrica (MAPTECH<sup>®</sup>, Waalre, Holanda). Éste fue utilizado para la adquirir y digitalizar las señales de los electrogramas. Los electrogramas fueron amplificados con una ganancia de 100 a 300, posteriormente fueron filtrados para eliminar las frecuencias que se situaban fuera de la banda entre 1-400 Hz y finalmente fueron multiplexados. La resolución de cada canal fue de 12 bits y la frecuencia de muestreo por canal fue de 1 kHz. Los registros obtenidos durante el protocolo experimental se almacenaron en soporte informático para su posterior análisis (fig. 2.4).

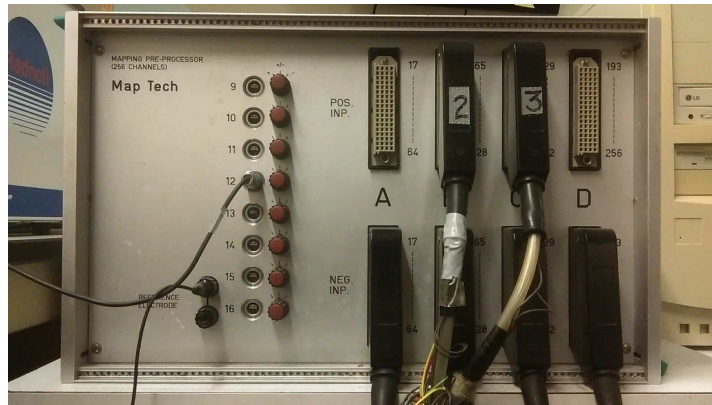


Fig. 2.4. Sistema de cartografía MAPTECH®.

▪ **Software:**

-Pacemap®, utilizado para analizar y para registrar en el disco duro del ordenador los electrogramas.

-Para visualizar los trazados de los intervalos V-V de la FV utilizamos una aplicación en MatLab® (fig. 2.5).

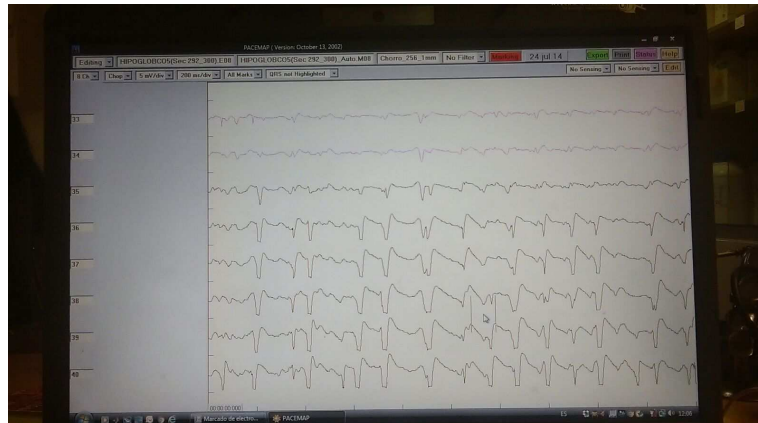


Fig. 2.5. Programa Pacemap®, aplicado para adquirir y registrar las señales eléctricas y analizarlas posteriormente.

-MedMap<sup>®</sup>: este programa fue utilizado principalmente para comprobar y validar espectros de frecuencia y mapas de las señales de la FV. Realizamos algunas correcciones y mejoras de este programa y lo capacitamos para importar los archivos de señales producidos por el software PaceMap<sup>®</sup>, también automatizamos el cálculo de las frecuencias dominantes de los espectros y optimizamos el cálculo estadístico por matrices de electrodos (fig. 2.6).

- Sistema de perfusión del corazón (fig. 2.7):
  - Bomba peristáltica (Cole-Parmer<sup>®</sup> Instrument co.).
  - Sistema de soporte metabólico tipo Langendorff.
  - Bomba circulante de termostatación (Neslab<sup>®</sup> Instrument, inc.).

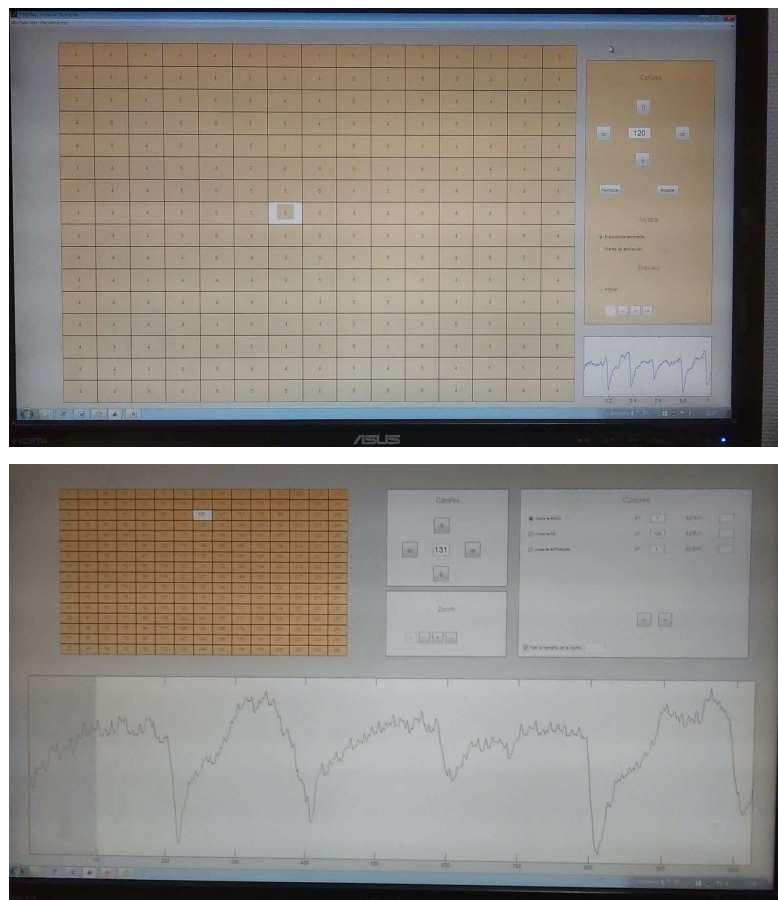


Fig. 2.6. Programa MatLab®, aplicado para comprobar y validar los mapas y espectros de frecuencia de las señales de la FV.

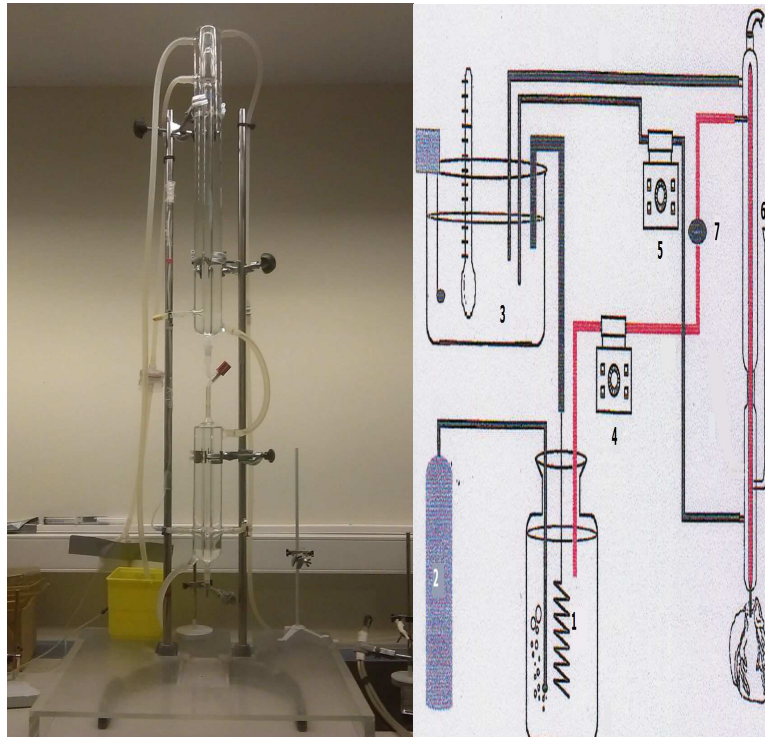


Fig. 2.7. En la imagen de la izquierda se muestra el sistema de perfusión tipo Langendorff. En el esquema de la derecha se muestra una preparación de corazón aislado de conejo, en la que se aprecia el líquido nutritivo (Tyrode) almacenado en un recipiente (1) conectado a un depósito de carbógeno (2), con baño para ajustar la temperatura del líquido nutritivo (3), y bombas de perfusión (4 y 5), sistema de registro de la presión de perfusión (6), filtros (7), trayectoria recorrida por el Tyrode (en rojo), y por el líquido termostatizante (en líneas negras gruesas). (Modificado de Tormos A, 2005).



## **2.2. Métodos**

### **2.2.1. Protocolo de entrenamiento de los animales.**

El protocolo de entrenamiento de los conejos fue de una duración de 6 semanas. Se realizaron 30 sesiones de 5 días por semana. En cada una de las sesiones, los conejos que estaban sometidos al protocolo de entrenamiento, realizaron 6 series de 4 minutos cada una en la que los animales corrían a una velocidad de  $0'5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Los descansos entre series fueron de 1 minuto. Antes de iniciar el protocolo de entrenamiento, los conejos realizaron un periodo de familiarización con la cinta rodante de 4 sesiones (Such *et al.*, 2002).

Dos observadores controlaban durante el protocolo de entrenamiento si el ejercicio se realizaba correctamente. Se excluyeron del estudio los conejos que no corrieron de forma adecuada durante cinco sesiones consecutivas. Tras el protocolo de entrenamiento sacrificamos a los animales con la finalidad de proceder al estudio electrofisiológico.

El grupo control, no realizó ningún protocolo de entrenamiento y permaneció en las jaulas durante el mismo tiempo total del entrenamiento del otro grupo. Por tanto,

permanecieron seis semanas además de la semana de familiarización de los otros conejos con la cinta rodante.

Se controlaron las condiciones de estabulación de los conejos. El fotoperiodo artificial fue de 12 horas, es decir, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. La temperatura a la que se mantuvo a los conejos fue entre los 21-23° C y se utilizó una humedad relativa del 31%. Los conejos permanecieron en jaulas individuales de medidas reglamentarias, y se utilizó viruta de nogal Lignocel UBK 1500/3000 para mantenerlos en las condiciones de limpieza más apropiadas.

Todos los animales estudiados fueron alimentados con agua y pienso (Harlan Teklad Global Rabbit Diet), *ad libitum*.

## **2.2.2. Estudio electrofisiológico**

### **2.2.2.1. Preparación experimental**

Los conejos fueron heparinizados administrando 0'4 ml de heparina (2000 UI/ml) a través de la vena marginal de la oreja y posteriormente se anestesiaron vía intravenosa con una dosis de ketamina de 12'5 mg/kg. Tras la anestesia, los conejos fueron sacrificados por contusión cervical. Posteriormente se

realizó una toracotomía mediosternal y una pericardiotomía y se extrajo el corazón rápidamente. Se seccionó el corazón por su pedículo vascular, y se sumergió en una solución de Tyrode frío (8° C), para poder realizar la sección de la arteria pulmonar y diseccionar la arteria aorta ascendente. La arteria aorta fue conectada al sistema de Langendorff y fijada con hilo de seda de 1-2 mm de diámetro. La solución de Tyrode fue perfundida retrógradamente al corazón a  $37 \pm 5^{\circ}\text{C}$ . El Tyrode, fue preparado previamente al inicio del protocolo experimental con las siguientes concentraciones (mM): NaCl 130, KCl 4'7,  $\text{CaCl}_2$  2'2,  $\text{MgCl}_2$  0'6,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1'2,  $\text{NaHCO}_3$  24'2 y glucosa 12. La solución se oxigenó mediante  $\text{O}_2$  al 95% y  $\text{CO}_2$  al 5% y el pH se mantuvo constante a 7'4. La presión de perfusión también fue controlada y se mantuvo en 60 mmHg.

Tras canular al corazón a través de la aorta en el Sistema de Langendorff, se eliminaron los restos de tejidos como el pulmón y la tráquea. También se seccionó la aurícula izquierda y se cortaron las cuerdas tendinosas de la válvula mitral para hacerla insuficiente. Esto último se realizó con la finalidad de que no se acumulara Tyrode en el ventrículo izquierdo en caso de que la válvula aórtica fuera incompetente.

Una vez ubicado el corazón en el sistema de Langendorff, se colocaron los electrodos de estimulación y

registro en la superficie epicárdica. Un electrodo bipolar fue situado en la aurícula para registro del electrograma auricular. En el ventrículo izquierdo se ubicó otro electrodo bipolar de estimulación. Sobre la pared lateral del ventrículo izquierdo se colocó el electrodo múltiple con 256 electrodos unipolares. Sobre la aorta canulada se colocó el electrodo indiferente. Los registros fueron grabados mediante un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardiaca (MAPTECH<sup>®</sup>), como hemos comentado previamente.

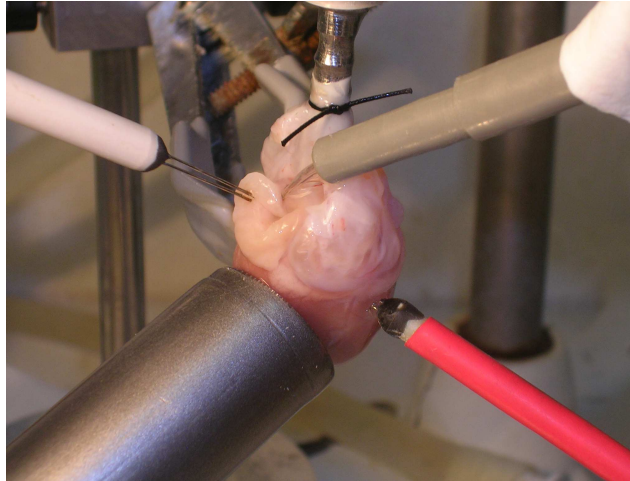


Fig. 2.8. Localización de los electrodos de estimulación y registro.

### **2.2.2.2. Parámetros de estudio: definiciones y determinación de los mismos**

a) Definición de los parámetros:

- Parámetros electrofisiológicos aplicados para valorar la refractariedad del miocardio:

- El periodo refractario funcional ventricular durante la fibrilación ventricular (PRFFV) se define como el percentil 5 de la frecuencia dominante y se determina calculando el percentil 5 de un histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000 ciclos en cada caso (Duytschaever *et al.* 2001).

- El periodo refractario efectivo ventricular (PREV) se define como el máximo intervalo de acoplamiento del extraestímulo ventricular ( $S_1-S_2$ ) que no presenta captura ventricular ( $S_2$  sin  $V_2$ ).

- El periodo refractario funcional ventricular (PRFV) se define como el mínimo intervalo existente entre el electrograma ventricular producido por el último estímulo del tren base ventricular, y el desencadenado con el extraestímulo (mínimo intervalo  $V_1-V_2$ ).

- Parámetros electrofisiológicos aplicados para valorar la conducción ventricular:

- La velocidad de conducción, es la distancia que recorre la onda de despolarización a través del miocardio ventricular. Ésta se mide en centímetros (durante un segundo).

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

- La longitud de onda, es la distancia que recorre la onda de despolarización durante su periodo refractario. Ésta se calcula multiplicando el periodo refractario funcional ventricular por la velocidad de conducción.

$$LO = PRFV \cdot VC$$

- Parámetros electrofisiológicos aplicados para valorar la frecuencia de la fibrilación ventricular:

La frecuencia dominante de la FV es la frecuencia del espectrograma con mayor densidad espectral.

- La frecuencia dominante media (FDM) se define como la media de las frecuencias dominantes registradas por el electrodo múltiple en un tiempo concreto de la FV.

- Parámetros electrofisiológicos aplicados para valorar la heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ventricular:

- El coeficiente de variación se calcula mediante el cociente de la desviación estándar sobre la FDM, multiplicado el resultado posteriormente por 100.

b) Determinación de los parámetros:

Para comprender mejor el presente apartado, explicaremos previamente como realizamos la determinación del umbral de estimulación o umbral diastólico. Mediante el estimulador *Grass* y con una frecuencia de estimulación constante de 4-5 pulsos por segundo y una duración del estímulo eléctrico de 2 ms, redujimos lentamente la intensidad de estimulación, desde un valor mayor al que lograba respuesta cardiaca sostenida con la estimulación, hasta lograr la intensidad más pequeña del estímulo que producía respuesta excitatoria. Tras calcular el umbral de estimulación, realizamos el protocolo experimental aplicando estímulos eléctricos a una intensidad doble del umbral de estimulación.

- Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la refractariedad ventricular:

Utilizamos el test del extraestímulo ventricular para determinar la refractariedad ventricular.

En este test, estimulamos al ventrículo mediante trenes de 10 estímulos, seguidos de un extraestímulo que se va acercando en intervalos de 5 ms, al último estímulo del tren, hasta que finalmente uno de los estímulos no produce respuesta ventricular. Mediante este test determinamos el PREV y el PRFV (fig. 2.9). La longitud del ciclo de estimulación fue de un 10% inferior a la frecuencia cardiaca espontánea, 250, 200 y 150 ms en pre-oclusión y de 250 y 150 ms post-oclusión coronaria.



El periodo refractario funcional durante la FV se determinó como el percentil 5 de un histograma de todos los intervalos V-V durante la FV inducida.

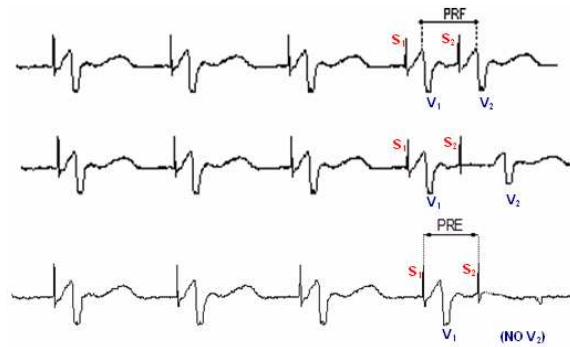


Fig. 2.9. Periodo refractario efectivo ventricular (PREV) y funcional ventricular (PRFV).  $S_1$ : artefacto del último estímulo del tren.  $V_1$ : electrograma ventricular producido por el último estímulo del tren.  $S_2$ : artefacto del extraestímulo.  $V_2$ : electrograma ventricular producido por el extraestímulo

- Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la conducción ventricular:

- La velocidad de conducción ventricular fue determinada en el  $V_1$ - $V_2$  del último tren de estimulación en el que el extraestímulo produjo respuesta ventricular. En este tren de estimulación, establecimos una ventana fija que incluía la despolarización ventricular producida por el extraestímulo (EE),

y realizamos un marcado semiautomático de la misma. Utilizamos el programa Pacemap® para generar una codificación en colores de los tiempos resultantes y obtuvimos un mapa de activación fijo (fig. 2.10) de cómo se propagaba del impulso a través del miocardio del ventrículo. Mediante este método pudimos construir las isócronas del proceso de activación ventricular.

Calculamos la VC en los mapas de activación realizando la división de la distancia entre dos electrodos (espacio) por la diferencia de tiempo para detectar la activación eléctrica de los ventrículos por esos mismos electrodos (tiempo), y localizados perpendicularmente a las isócronas. Ya que los frentes de onda pueden viajar en distintas direcciones con respecto a la superficie epicárdica y no siempre de forma paralela, la velocidad de conducción real puede ser más lenta que el que el valor obtenido. Este posible error lo minimizamos realizando las medidas de VC sólo en mapas en los que se identificaron en los bordes la entrada y salida del frente de onda.

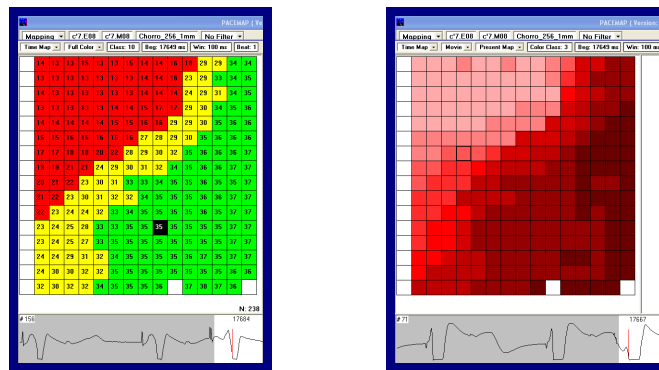


Fig. 2.10. Mapas de activación.

- La longitud de onda del proceso de activación ventricular, es el resultado de multiplicar la VC por el periodo refractario funcional ventricular, como previamente hemos explicado.

- Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la frecuencia de la fibrilación ventricular:

- La Frecuencia dominante media se determinó mediante el análisis de señales de la FV. Para inducir la FV, se estimuló en el ventrículo izquierdo a frecuencias crecientes desde 4 Hz y se realizaron incrementos de 0'1 Hz cada 3s hasta que se desencadenó la FV. Se estimuló a una intensidad ligeramente mayor al doble del umbral. Se interrumpió la

estimulación cuando visualizamos la instauración de la fibrilación ventricular.

Una vez obtenidos los registros de FV en sistema informático, procedimos a analizar la frecuencia dominante media de las señales fibrilatorias registradas con todos los electrodos ubicados en el ventrículo mediante el método de Welch, que es el basado en los estudios de Fourier sobre los diversos armónicos que constituyen una onda compuesta (fig. 2.11).

El análisis espectral de la FV se realizó en diferentes tiempos hasta los 300 segundos tras la inducción de la FV. También realizamos el análisis de la FD de la fibrilación tras la oclusión coronaria. El análisis se realizó estudiando bloques de datos de 2048 puntos y utilizando la *ventana de Hamming*. Para cada bloque se obtuvo la frecuencia dominante que es la frecuencia que se corresponde con el espectro máximo, y la energía contenida en el segmento del periodograma correspondiente a  $FD \pm 1$  Hz. La media aritmética de este registro en cada electrodo permitió el cálculo de la frecuencia dominante media (FDM).

Los datos fueron procesados mediante el software Matlab®.

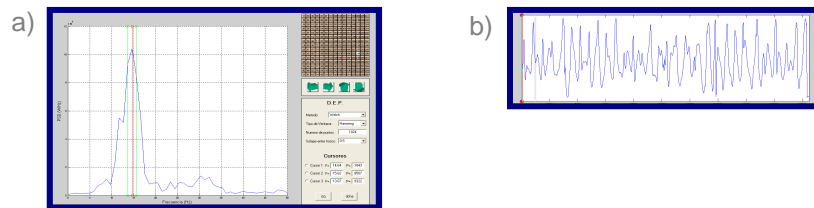


Fig. 2.11. Espectro de frecuencias representado frente a la amplitud del trazado de FV, en ordenadas se representa la densidad espectral de potencia (DEP) y en abscisas los valores de FD (a) y el registro de la fibrilación ventricular analizado (b).

### 2.2.2.3. Grupos de estudio

Dividimos a los animales en los grupos control y entrenado. Para los estudios de refractariedad, frecuencia dominante y coeficiente de variación, el grupo control, estaba compuesto por un total de 10 conejos no entrenados y el grupo entrenado estaba compuesto por un total de 9 animales. Para los estudios de la velocidad de conducción y la longitud de onda, el grupo control, estaba compuesto por un total de 19 conejos no entrenados y el grupo entrenado estaba compuesto por un total de 14 animales.

#### **2.2.2.4. Protocolo experimental**

Tras sacrificar al animal y extraer el corazón, éste fue canulado a través de la aorta en el sistema de Langendorff, como comentamos previamente. Posteriormente, se requiere un tiempo para estabilizar la preparación de unos 20 minutos. Durante este periodo de tiempo, se colocan los electrodos, de estimulación y registro y se conectan los sistemas de adquisición y transformación de datos. Tras todo esto se realiza el siguiente protocolo de investigación:

1. Determinación del flujo coronario durante un minuto.
2. Registro electrográfico basal, para determinar el automatismo sinusal.
3. Medición del umbral de excitación ventricular como explicamos previamente.
4. Test del extraestímulo ventricular para determinación del periodo refractario efectivo y funcional ventricular. En este test se aplicaron 10 estímulos por tren, y como ya hemos comentado, con diferentes longitudes de ciclo de estimulación:

una que fue un 10% menor que el ciclo sinusal espontáneo, otra a 250 ms, otra a 200 ms y otra a 150 ms, con un intervalo de acoplamiento del extraestímulo igual a la longitud del ciclo de estimulación utilizado en cada caso. El intervalo de acoplamiento se fue disminuyendo en 5 milisegundos en los sucesivos trenes de estimulación.

5. Estimulación ventricular a frecuencias crecientes para inducir la FV, comenzando con 4 hertzios e incrementando 0.1 hertzios cada tres segundos hasta producir la FV. Se mantuvo la perfusión coronaria y la intensidad de estimulación fue de un 40% superior al doble del umbral diastólico. Tras provocar la arritmia, se procedió al registro de la misma durante 5 minutos.

6. Oclusión de la arteria coronaria circunfleja mediante una aguja de sutura con hilo de poliéster. Se comprobó la efectividad de la oclusión por el incremento de la presión registrada en la raíz aórtica mediante el manómetro de agua conectado lateralmente al sistema de Langendorff. Posteriormente, se observó una elevación del segmento ST en los distintos electrogramas ventriculares del epicardio.

7. Tras 10 minutos de oclusión coronaria realizamos la desfibrilación con Tyrode frío para permitir el retorno a ritmo sinusal. En los electrogramas se pueden observar las modificaciones producidas por la isquemia.

8. Registro electrográfico basal, tras 10 minutos de estabilización, para realizar la medición de la frecuencia cardiaca y valorar el grado de afectación miocárdica por la isquemia.

9. Determinación del umbral de excitación ventricular.

10. Determinación del PREV y PRFV durante la isquemia inducida con la realización del TEEV (10 estímulos por tren), en primer lugar con un tren base de estimulación de 250 ms y posteriormente con un tren de estimulación de 150 ms.

11. Inducción de la FV para registro de la frecuencia dominante y liberación de la ligadura coronaria para nuevo registro de la FD durante la reperfusión.

12. Extracción del corazón del sistema Langendorff para pesado del mismo.



### 2.3. Análisis estadístico

Para comparar los grupos entrenado y control, de los parámetros de refractariedad, de la velocidad de conducción, de la longitud de onda del proceso de activación y de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular previamente a la oclusión arterial coronaria se realizó un test  $t$  de *Student* (una cola) para muestras no apareadas. Para comparar los mismos parámetros tras la oclusión arterial coronaria, entre los grupos control y entrenado y para compararlos antes y después de la oclusión coronaria, se realizó un análisis de la varianza (medidas repetidas) de dos factores sobre un factor. Para realizar la comparación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular determinada en distintos tiempos previamente a la oclusión coronaria y dentro de cada grupo, se utilizó un análisis de la varianza de medidas repetidas (un factor). Para el análisis de la evolución de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular y del coeficiente de variación de la frecuencia dominante tras la oclusión coronaria respecto del valor de dichos parámetros inmediatamente antes de la oclusión aplicamos un análisis de la varianza de medidas repetidas (un factor). Para la correlación de los periodos refractarios se utilizó un test de regresión lineal y un test  $t$  de *Student* (una cola). Para el estudio

de la FD tras la reperfusión se utilizó un test  $t$  de *student* (una cola) para muestras no apareadas. Se consideraron las diferencias significativas cuando la  $p \leq 0.05$ .

Para el análisis estadístico se usó el *software* Microsoft® Excel 2013 y el paquete de análisis estadístico SPSS® (versión 22), de la firma SPSS Inc.

## **2.4. Legislación**

Todos los estudios fueron realizados de acuerdo con lo establecido en el Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (BOE 21 de octubre de 2005).

## **2.5. Financiación**

La presente tesis doctoral ha sido financiada con la ayuda concedida por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, con número de referencia BFI 2002- 02077, para la realización del proyecto de investigación “Efecto del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad miocárdica intrínseca, y sobre el patrón

fibrilatorio ventricular”, del que es Investigador Principal el Prof. Dr. D. Luis Such Belenguer.



---

## RESULTADOS

---



### 3. RESULTADOS

#### 3.1.Refractariedad

##### 3.1.1. Periodo refractario funcional determinado durante la fibrilación ventricular inducida (PRFFV).

Como hemos descrito en el capítulo de métodos, un método seguido para estimar el periodo refractario durante la FV ha sido determinar el percentil 5 de un histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000 ciclos en cada caso (Duytschaever *et al.* 2001). El PRFFV fue mayor (\* $p < 0,05$ ) en el grupo entrenado que en el control:  $50 \pm 8$  ms ( $n = 9$ ), vs  $43 \pm 5$  ms ( $n = 10$ ).

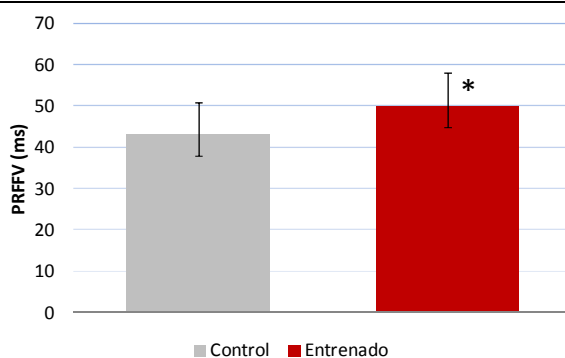


Fig. 3.1. Efecto del entrenamiento sobre el PRFFV. Valores expresados en ms. \* $p < 0,05$ . El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

### **3.1.2. Periodos refractarios determinados con el test del extra-estímulo**

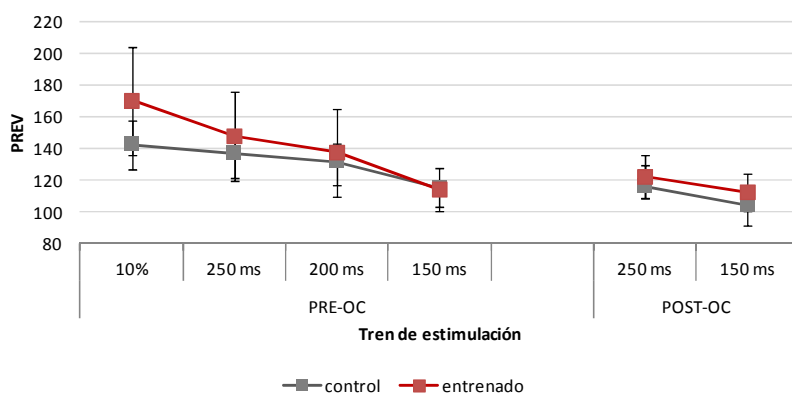
#### **3.1.2.1. Periodo refractario efectivo ventricular (PREV)**

Al comparar, previamente a la oclusión coronaria el PREV obtenido con los trenes de estimulación de un 10% menor del ciclo sinusal y de 250 ms, 200 ms y 150 ms, del grupo control respecto al grupo entrenado, el valor de éste último no fue significativamente diferente, si bien, este último tendió a ser mayor que el del grupo control.

En cuanto al PREV, tendió a ser menor de forma no significativa tras la oclusión coronaria con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms, tanto en el grupo control como en el grupo entrenado.

Al establecer la comparación de los PREV obtenidos con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms, tras la oclusión coronaria, entre grupo control y grupo entrenado no se hallaron diferencias significativas.





	10%	250	200	150	250	150
control (8)	143±34	137±28	132±28	115±14	116±14	105±12
entrenado (6)	170±15	148±15	138±14	114±12	122±7	113±13

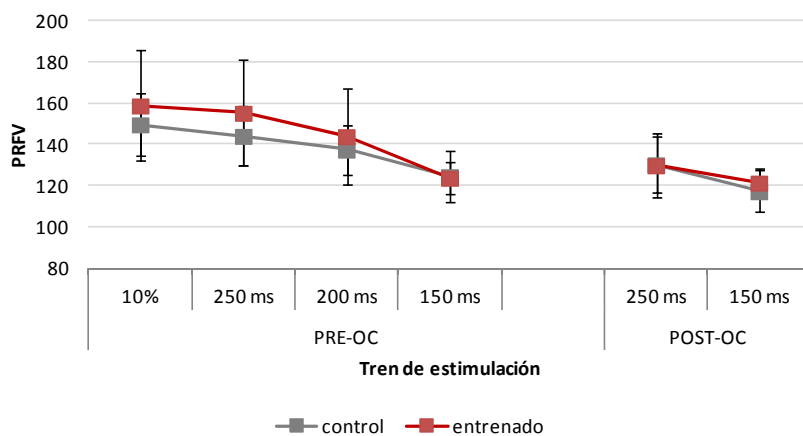
Fig. 3.2. Media y desviación estándar de los valores de los periodos refractarios efectivos en los grupos control y entrenado, previos y tras la oclusión arterial coronaria. PREV=Periodo refractario efectivo ventricular. Los valores vienen expresados en ms. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria (PRE-OC) fue de un 10% menor del ciclo sinusal y de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Tras la oclusión coronaria (POST-OC) la longitud del ciclo de estimulación utilizada fue de 250ms y 150ms. Número de experimentos entre paréntesis.

### **3.1.2.2.Periodo refractario funcional ventricular (PRFV)**

Al comparar, previamente a la oclusión coronaria el PRFV obtenido con los trenes de estimulación de un 10% menor del ciclo sinusal y de 250 ms, 200 ms y 150 ms, del grupo control respecto al grupo entrenado, el valor de este último tendió a ser mayor pero los resultados no alcanzaron nivel de significación estadística.

Tras la oclusión coronaria los PRFV obtenidos con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms, tendieron a ser menores de forma no significativa, tanto en el grupo control como en el grupo entrenado.

Al establecer la comparación de los PRFV tras la oclusión coronaria, obtenidos con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms, entre los grupos control y entrenado no se hallaron diferencias significativas.



	10%	250	200	150	250	150
control (8)	150±27	144±26	138±24	125±8	130±16	117±7
entrenado (6)	159±15	155±14	144±12	124±12	130±13	121±10

Fig. 3.3. Media y desviación estándar de los valores de los periodos refractarios funcionales en los grupos control y entrenado, previos y tras la oclusión arterial coronaria. PRFV=Periodo refractario funcional ventricular. Los valores vienen expresados en ms. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria (PRE-OC) fue de un 10% menor del ciclo sinusal y de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Tras la oclusión coronaria (POST-OC) la longitud del ciclo de estimulación utilizada fue de 250ms y 150ms. Número de experimentos entre paréntesis.

PREV	PRE-OC				POST-OC	
	10%	250 ms	200 ms	150 ms	250 ms	150 ms
control	143	137	132	115	116	105
entrenado	170	148	138	114	122	113
<i>m</i>	19.3%	8.0%	4.4%	-1.0%	5.0%	7.8%

PRFV	PRE-OC				POST-OC	
	10%	250 ms	200 ms	150 ms	250 ms	150 ms
control	150	144	138	125	130	117
entrenado	159	155	144	124	130	121
<i>m</i>	6.1%	7.7%	4.7%	-0.6%	-0.3%	3.5%

Tabla. 3.1. Efecto del entrenamiento sobre los PREV y PRFV en controles y entrenados, antes y tras la oclusión coronaria. Valores expresados en ms. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria (PRE-OC) fue de un 10% menor del ciclo sinusal y de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Tras la oclusión coronaria (POST-OC) la longitud del ciclo de estimulación utilizada fue de 250ms y 150ms. PREV=Periodo refractario efectivo ventricular. PRFV=Periodo refractario funcional ventricular. *m*=porcentaje de incremento de los periodos refractarios al comparar los grupos control y entrenado.

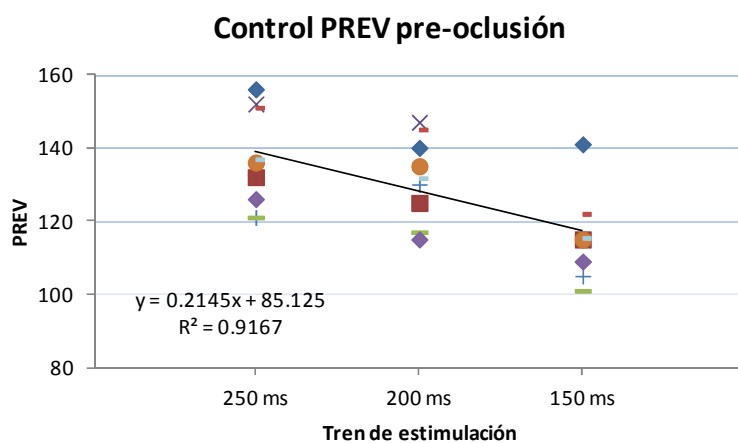


Fig.3.4. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) en el grupo control antes de la oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms.

Al realizar una regresión lineal de los PREV previa oclusión coronaria en el grupo control y con ciclos de estimulación de 250ms, 200ms y 150 ms, se observó una buena correlación. Se obtuvo una correlación muy fuerte entre los PREV de los tres grupos de estimulación ( $R^2=0,9$ ).

La longitud del PREV varió de forma proporcional a la longitud del tren con el que se determinaba. Los PREV obtenidos con un tren de estimulación de 150 fueron menores que los obtenidos con los trenes de estimulación de 250 y de 200.

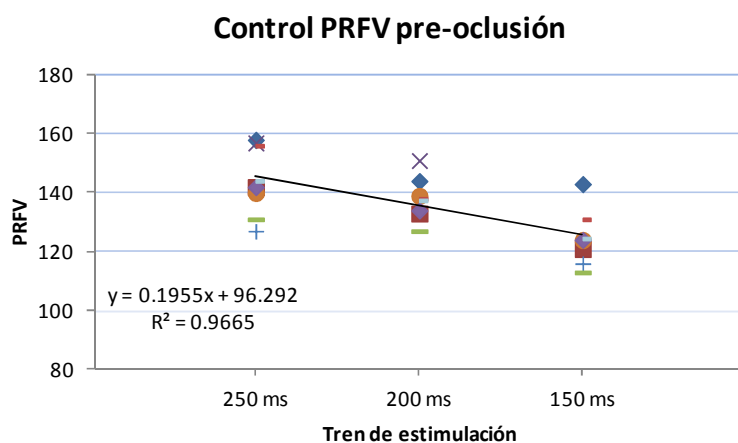


Fig.3.5. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) en el grupo control antes de la oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms.

Al realizar una regresión lineal de los PRFV previa oclusión coronaria en el grupo control y con ciclos de estimulación de 250ms, 200ms y 150 ms, se observó una excelente correlación entre los PRFV de los tres grupos de estimulación ( $R^2=0,96$ ). La longitud del PRFV pre-oclusión varió también de forma proporcional a la longitud del tren con el que se determinaba, como sucedió con los PREV pre-oclusión.

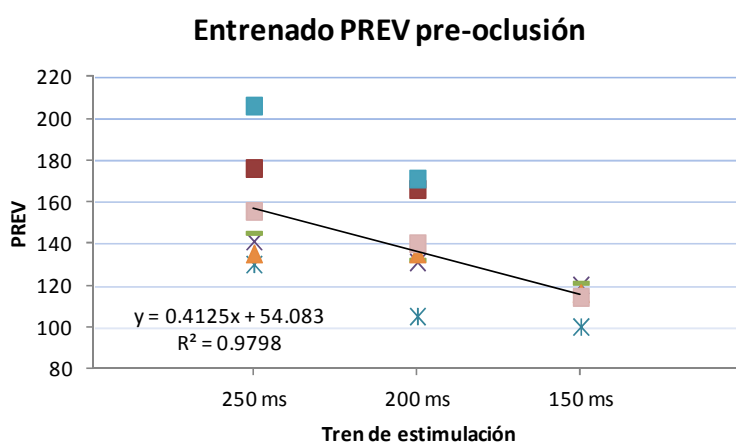


Fig.3.6. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms.

Al realizar una regresión lineal de los PREV previa oclusión coronaria en el grupo de animales entrenados y con ciclos de estimulación de 250ms, 200ms y 150 ms, se observó

también una excelente correlación entre los PREV de los tres grupos de estimulación ( $R^2=0,97$ ). La longitud del PREV pre-oclusión en animales entrenados varió también de forma proporcional a la longitud del tren con el que se determinaba.

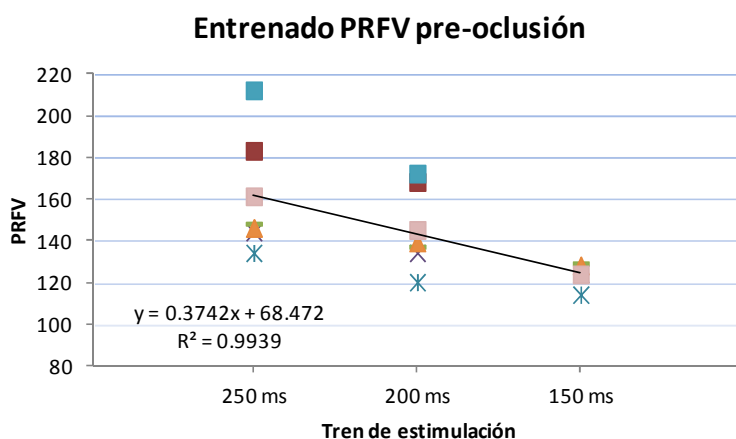


Fig.3.7. Regresión lineal de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms.

Tras realizar una regresión lineal de los valores de los PRFV previa oclusión coronaria en el grupo de animales entrenados y con ciclos de estimulación de 250ms, 200ms y 150 ms, se observó también una correlación excelente entre los PRFV de los tres grupos de estimulación ( $R^2=0,99$ ). La longitud del PRFV pre-oclusión en animales entrenados varió también de

forma proporcional a la longitud del tren con el que se determinaba.

### 3.1.2.3. Relación entre el PRFFV y el PRFV obtenido con diferentes trenes de estimulación ventricular

También realizamos una correlación de los periodos refractarios funcionales obtenidos con el test del extraestímulo tanto previa oclusión coronaria como post oclusión con los periodos refractarios funcionales obtenidos durante la FV (PRFFV).

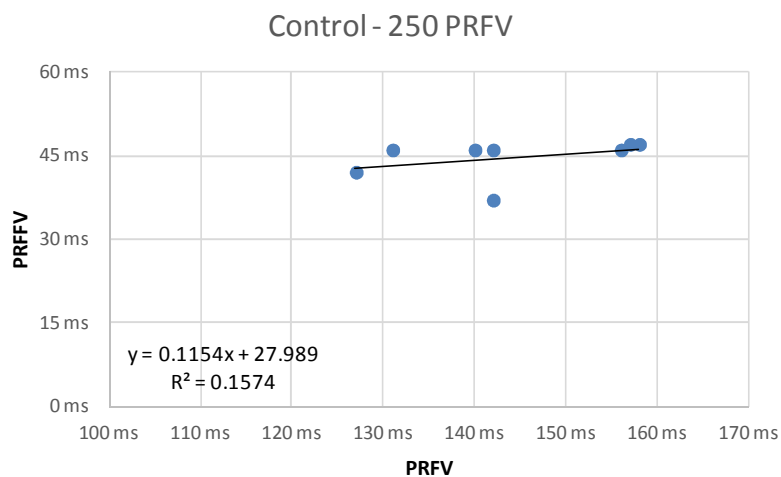


Fig.3.8. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 250 ms. Valores expresados en ms.



Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo, con un test de estimulación de 250 ms y el periodo refractario funcional de la FV la  $R^2$  fue sólo de 0,15. Por tanto no encontramos una buena correlación entre dichos valores.

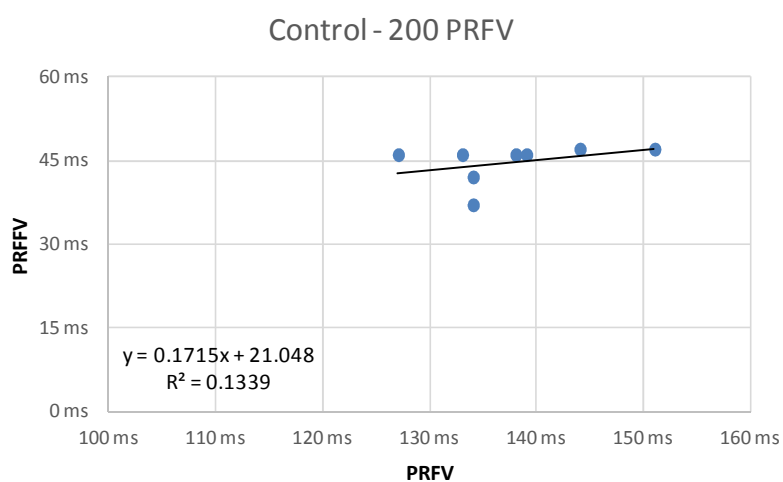


Fig.3.9. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 200 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo, con un test de estimulación de 200 ms y el periodo refractario funcional de la FV la  $R^2$  fue 0,13. Por tanto

tampoco encontramos una buena correlación entre dichos valores.

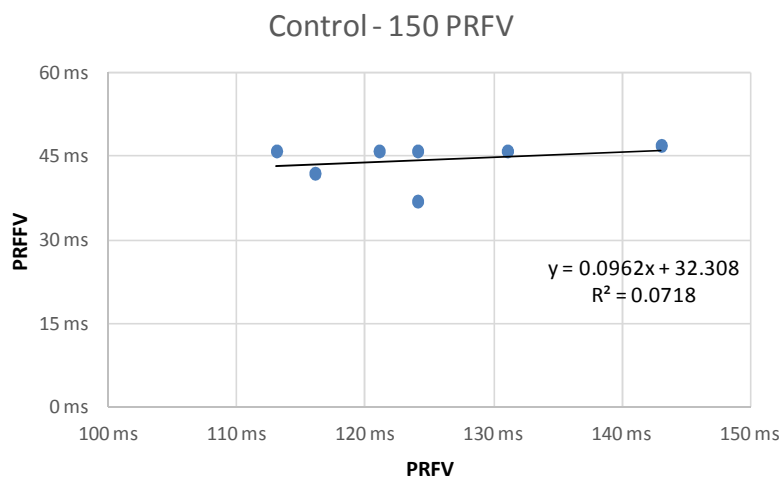


Fig.3.10. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo, con un test de estimulación de 150 ms y el periodo refractario funcional de la FV no obtuvimos una buena correlación entre dichos valores.

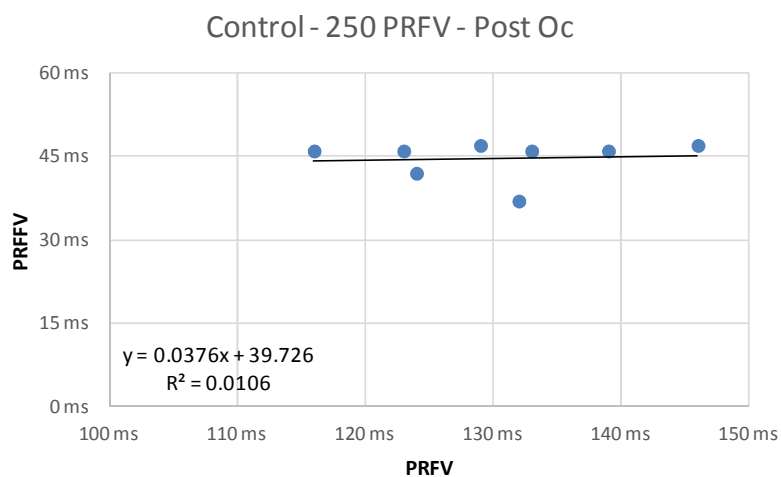


Fig.3.11. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control tras oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 250 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo en animales control tras realizar oclusión coronaria, con una longitud del ciclo de estimulación de 250 ms y el periodo refractario funcional de la FV inducida, no encontramos una buena correlación entre los valores mencionados.

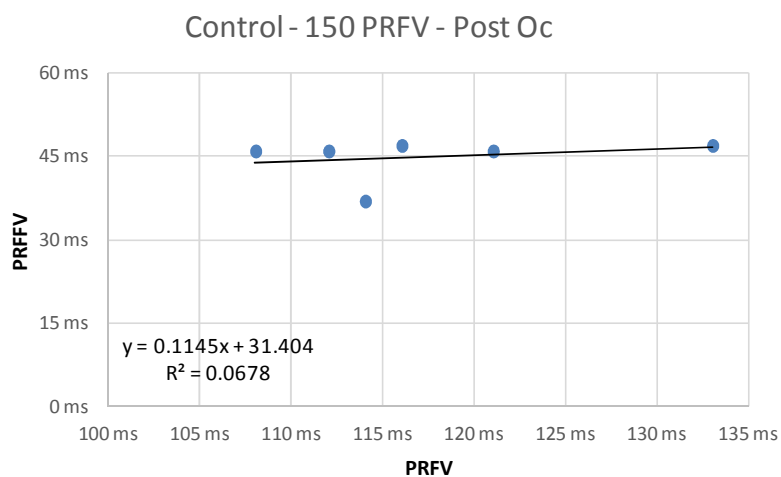


Fig.3.12. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control tras oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo en animales control tras realizar oclusión coronaria, con una longitud del ciclo de estimulación de 150 ms con el periodo refractario funcional de la FV inducida, no encontramos una buena correlación entre estos dos parámetros.

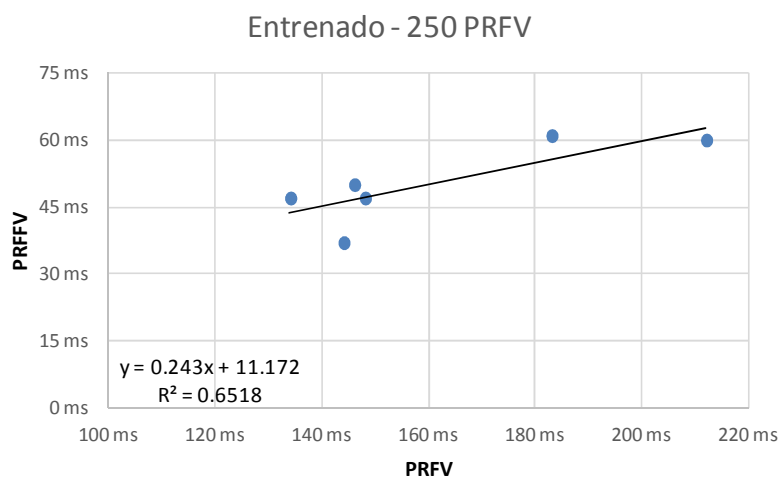


Fig.3.13. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 250 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo en animales entrenados, con una longitud del ciclo de estimulación de 250 ms y el periodo refractario funcional de la FV inducida, no encontramos una buena correlación entre los valores mencionados aunque la  $R^2$  fue de 0,65.

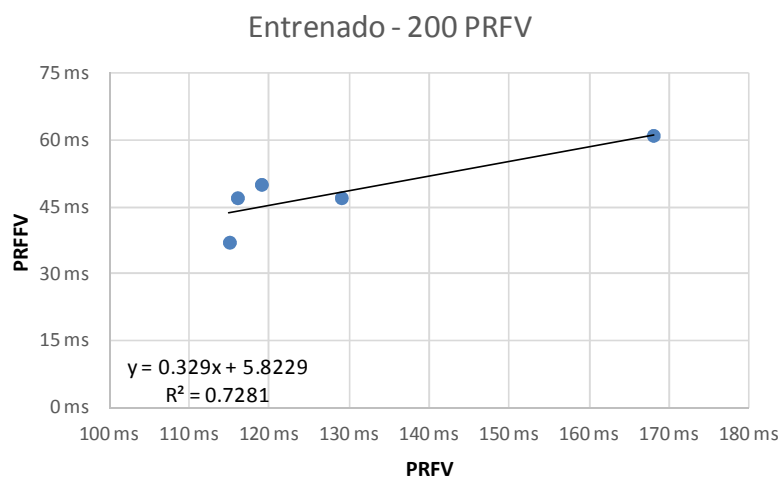


Fig.3.14. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 200 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo en animales entrenados, con una longitud del ciclo de estimulación de 200 ms y el periodo refractario funcional de la FV inducida, encontramos una buena correlación entre los valores mencionados. La  $R^2$  fue de 0,72.

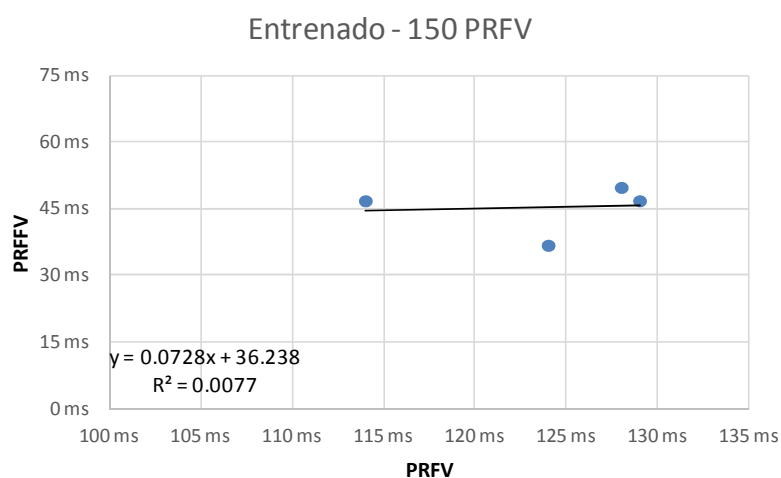


Fig.3.15. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado antes de la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo en animales entrenados, con una longitud del ciclo de estimulación de 150 ms con el periodo refractario funcional de la FV inducida, no encontramos una buena correlación entre los valores mencionados.

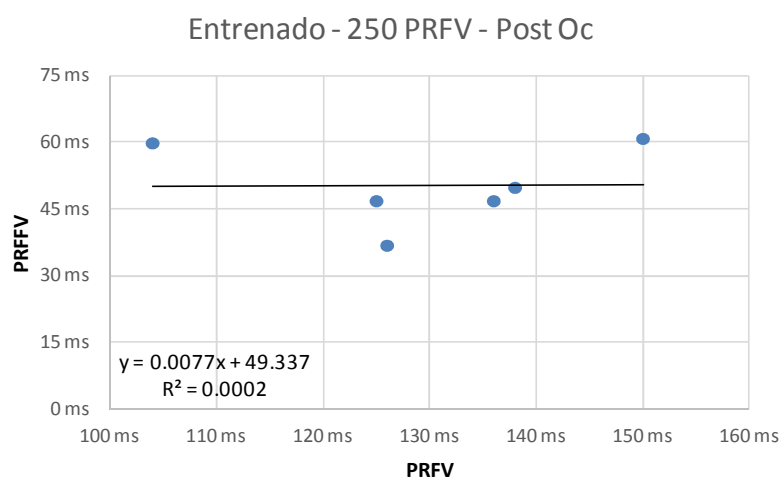


Fig.3.16. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado tras la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 250 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo en animales entrenados tras oclusión coronaria, con una longitud del ciclo de estimulación de 250 ms, con el periodo refractario funcional de la FV inducida, no encontramos una buena correlación entre los valores mencionados.



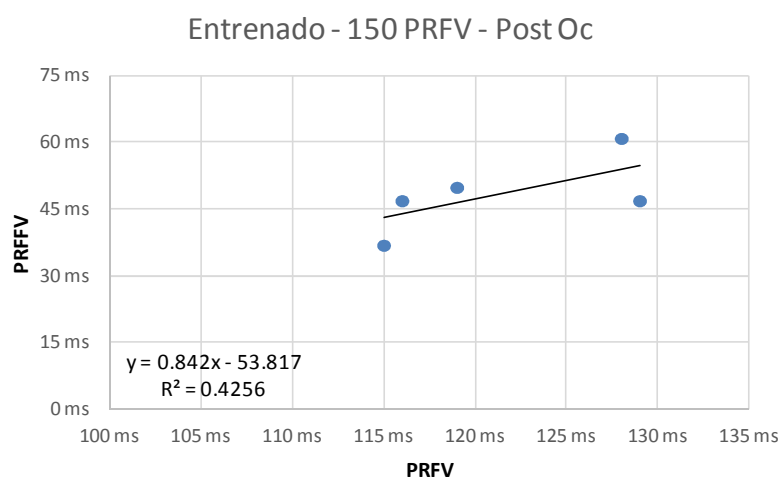


Fig.3.17. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado tras la oclusión coronaria con los periodos refractarios durante la FV (PRFFV). La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms. Valores expresados en ms.

Al correlacionar el PRFV obtenido con el test del extraestímulo en animales entrenados tras oclusión coronaria, con una longitud del ciclo de estimulación de 150 ms, con el periodo refractario funcional de la FV inducida, no encontramos una buena correlación entre los valores mencionados.

Tras realizar las correlaciones de los PRFV con los PRFFV en animales controles y entrenados, antes y después de la oclusión coronaria las  $R^2$  más elevadas fueron las obtenidas en los animales entrenados al realizar el test del extraestímulo con

un tren de estimulación de 250 ms ( $R^2=0,65$ ) y con un tren de 200 ms ( $R^2=0,72$ ).

Realizamos una correlación de Pearson de los PRFV con los diferentes trenes de estímulos previa oclusión coronaria y tras oclusión coronaria, tanto de los grupos control como del grupo entrenado junto con los PRFFV.

Correlaciones<sup>a</sup>

		PRFV_250	PRFV_200	PRFV_150	PRF_FV
PRFV_250	Correlación de Pearson	1	.778*	.924**	.397
	Sig. (bilateral)		.023	.003	.330
	N	8	8	7	8
PRFV_200	Correlación de Pearson	.778*	1	.902**	.366
	Sig. (bilateral)	.023		.005	.373
	N	8	8	7	8
PRFV_150	Correlación de Pearson	.924**	.902**	1	.268
	Sig. (bilateral)	.003	.005		.561
	N	7	7	7	7
PRF_FV	Correlación de Pearson	.397	.366	.268	1
	Sig. (bilateral)	.330	.373	.561	
	N	8	8	7	8

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

\*\*.. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

a. Grupo = Control

Tabla 3.2. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control previa oclusión coronaria y los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms, 200 ms y 250 ms.

En el grupo control y previa oclusión coronaria, al correlacionar el PRFV obtenido con el tren de estimulación de 200 ms con el que obtuvimos con el tren de estimulación de

250 ms, observamos una correlación fuerte con un valor de 0,778 y con una  $p$  significativa que fue menor de 0,05. La correlación fue más fuerte al tratar de correlacionar el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 150 ms con el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 250ms, ya que el coeficiente de correlación de Pearson fue de 0,924 y la  $p$  fue significativa y menor de 0,01. La correlación también fue fuerte al tratar de correlacionar el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 150 ms con el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 200ms, ya que el coeficiente de correlación de Pearson fue de 0,902 y la  $p$  fue significativa y menor de 0,01. Se observó una correlación débil de los PRFFV con los PRFV obtenidos con el test del extraestímulo a 250 ms, 200ms y 150 ms previa oclusión coronaria en el grupo control.

Correlaciones<sup>a</sup>

		PRFV_250	PRFV_200	PRFV_150	PRF_FV
PRFV_250	Correlación de Pearson	1	.955**	.994**	.807
	Sig. (bilateral)		.003	.006	.052
	N	6	6	4	6
PRFV_200	Correlación de Pearson	.955**	1	.984**	.826**
	Sig. (bilateral)	.003		.016	.043
	N	6	6	4	6
PRFV_150	Correlación de Pearson	.994**	.984**	1	.088
	Sig. (bilateral)	.006	.016		.912
	N	4	4	4	4
PRF_FV	Correlación de Pearson	.807	.826**	.088	1
	Sig. (bilateral)	.052	.043	.912	
	N	6	6	4	6

\*\* La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral)

a Grupo = Entrenado

Tabla 3.3. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado previa oclusión coronaria y los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms, 200 ms y 250 ms.

En el grupo entrenado y previa oclusión coronaria, al correlacionar el PRFV obtenido con el tren de estimulación de 200 ms con el que obtuvimos con el tren de estimulación de 250 ms, observamos una correlación muy fuerte con un valor de 0,955 y con una  $p$  significativa que fue menor de 0,01. La correlación también fue fuerte al tratar de correlacionar el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 150 ms con el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 250ms, ya que el coeficiente de correlación de Pearson fue de

0,994 y la  $p$  fue significativa y menor de 0,01. Al tratar de correlacionar el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 150 ms con el PRFV que obtuvimos con un tren de estimulación de 200ms, la correlación fue fuerte y el coeficiente de correlación de Pearson fue de 0,984 con una  $p$  significativa y menor de 0,05. Se observó una correlación débil de los PRFFV con los PRFV obtenidos con el test del extraestímulo a 150 ms previa oclusión coronaria en el grupo entrenado. En cambio, la correlación de los PRFFV con los PRFV obtenidos con los trenes de estimulación de 250 ms y 200 ms fue fuerte y alcanzó el nivel de significación estadística en 200 ms (la  $p$  fue menor de 0,05) con un coeficiente de correlación de 0,826 en el tren de estimulación de 200 ms.

Correlaciones<sup>a</sup>

		PRFV_250	PRFV_200	PRFV_150	PRF_FV
PRFV_250	Correlación de Pearson	1	. <sup>b</sup>	.763	.103
	Sig. (bilateral)		.	.078	.808
	N	8	0	6	8
PRFV_200	Correlación de Pearson	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>
	Sig. (bilateral)				
	N	0	0	0	0
PRFV_150	Correlación de Pearson	.763	. <sup>b</sup>	1	.260
	Sig. (bilateral)	.078	.		.618
	N	6	0	6	6
PRF_FV	Correlación de Pearson	.103	. <sup>b</sup>	.260	.
	Sig. (bilateral)	.808	.	.618	
	N	8	0	6	8

a Grupo = Control

b No se puede calcular porque como mínimo, una de las variables es constante.

Tabla 3.4. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo control tras oclusión coronaria y los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms y 250 ms.

En el grupo control y tras oclusión coronaria, al correlacionar el PRFV obtenido con el tren de estimulación de 150 ms con el que obtuvimos con el tren de estimulación de 250 ms, observamos una correlación fuerte con un valor de 0,763. Se observó una correlación débil de los PRFFV con los PRFV obtenidos con el test del extraestímulo a 250 ms y 150 ms tras oclusión coronaria en el grupo control.

Correlaciones<sup>a</sup>

		PRFV_250	PRFV_200	PRFV_150	PRF_FV
PRFV_250	Correlación de Pearson	1	. <sup>b</sup>	.260	.013
	Sig. (bilateral)		.	.684	.980
	N	6	0	5	6
PRFV_200	Correlación de Pearson	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>
	Sig. (bilateral)				
	N	0	0	0	0
PRFV_150	Correlación de Pearson	.260	. <sup>b</sup>	1	.652
	Sig. (bilateral)	.684	.		.233
	N	5	0	5	5
PRF_FV	Correlación de Pearson	.013	. <sup>b</sup>	.652	.
	Sig. (bilateral)	.980	.	.233	
	N	6	0	5	6

a Grupo = Entrenado

b No se puede calcular porque como mínimo, una de las variables es constante.

Tabla 3.5. Correlación de los valores de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) obtenidos con el test del extraestímulo en el grupo entrenado tras oclusión coronaria y los periodos refractarios durante la FV (PRFFV) mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms y 250 ms.

En el grupo entrenado y tras oclusión coronaria, al correlacionar el PRFV obtenido con el tren de estimulación de 150 ms con el PRFFV obtuvimos una correlación fuerte con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,652. Se observó una correlación débil de los PRFFV con los PRFV obtenidos con el test del extraestímulo a 250 ms tras oclusión coronaria en el grupo entrenado. También fue débil la correlación del PRFV obtenido con un tren de estimulación a 150 ms y el obtenido con un tren de estimulación a 250 ms.

Realizamos un cálculo de las pendientes de las regresiones lineales, obtenidas en cada uno de los experimentos previa oclusión coronaria (con los trenes de estimulación de 250 ms, 200 ms y 150 ms) y tras oclusión coronaria (con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms) para los PREV y PRFV.

Al realizar una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PREV previa oclusión coronaria con los trenes de estimulación de 250 ms, 200 ms y 150 ms del grupo control con el grupo entrenado, obtuvimos una  $p=0,05$ .

Control vs Entrenado pre oclusión		PREV	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances			
	Variable 1	Variable 2	
Mean	0.18125	0.3066667	
Variance	0.0030411	0.0387067	
Observations	8	6	
Pooled Variance	0.0179017		
Hypothesized Mean Difference	0		
df	12		
t Stat	-1.735658		
P(T<=t) one-tail	0.0541025		
t Critical one-tail	1.7822876		
P(T<=t) two-tail	0.1082051		
t Critical two-tail	2.1788128		

Tabla 3.6. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular previa oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms, 200 ms y 250 ms.



También realizamos una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PREV tras oclusión coronaria con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms del grupo control con el grupo entrenado y obtuvimos una  $p=0,23$ .

Control vs Entrenado post oclusión		PREV	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances			
	Variable 1	Variable 2	
Mean	0.1816667	0.14	
Variance	0.0068567	0.01055	
Observations	6	5	
Pooled Variance	0.0084981		
Hypothesized Mean Difference	0		
df	9		
t Stat	0.7464331		
P(T<=t) one-tail	0.2372258		
t Critical one-tail	1.8331129		
P(T<=t) two-tail	0.4744516		
t Critical two-tail	2.2621572		

Tabla 3.7. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular tras la oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 250 ms y 150 ms.

Realizamos una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PRFV previa oclusión coronaria con los trenes de estimulación de 250 ms, 200 ms y 150 ms del grupo control con el grupo entrenado y obtuvimos una  $p=0,07$ .

Control vs Entrenado pre oclusión		PRFV	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances			
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	
Mean	0.17375	0.31	
Variance	0.0023125	0.0596	
Observations	8	6	
Pooled Variance	0.0261823		
Hypothesized Mean Difference	0		
df	12		
t Stat	-1.559155		
P(T<=t) one-tail	0.0724655		
t Critical one-tail	1.7822876		
P(T<=t) two-tail	0.1449309		
t Critical two-tail	2.1788128		

Tabla 3.8. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular previa oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 150 ms, 200 ms y 250 ms.

También realizamos una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PRFV tras oclusión coronaria con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms del grupo control con el grupo entrenado y obtuvimos una  $p=0,38$ .

Control vs Entrenado post oclusión PRFV  
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	0.1516667	0.136
Variance	0.0043767	0.01143
Observations	6	5
Pooled Variance	0.0075115	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	0.2985232	
P(T<=t) one-tail	0.3860407	
t Critical one-tail	1.8331129	
P(T<=t) two-tail	0.7720814	
t Critical two-tail	2.2621572	

Tabla 3.9. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular tras la oclusión coronaria en animales control versus animales entrenados. La longitud del ciclo de estimulación utilizada en el test del extraestímulo fue de 250 ms y 150 ms.

Para realizar una comparación de las pendientes obtenidas en cada experimento con los PREV y los PRFV y comparar lo sucedido previa oclusión coronaria con lo sucedido post-oclusión coronaria, utilizamos también las pruebas t de student de cada grupo.

Con respecto al grupo control, al realizar una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PREV previa oclusión (con los trenes de estimulación de 250 ms, 200 ms y 150 ms) con los obtenidos tras oclusión coronaria (con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms), obtuvimos una  $p=0,49$ .

Control Pre vs post oclusión		PREV	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances			
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	
Mean	0.18125	0.1816667	
Variance	0.0030411	0.0068567	
Observations	8	6	
Pooled Variance	0.0046309		
Hypothesized Mean Difference	0		
df	12		
t Stat	-0.011337		
P(T<=t) one-tail	0.4955703		
t Critical one-tail	1.7822876		
P(T<=t) two-tail	0.9911406		
t Critical two-tail	2.1788128		

Tabla 3.10. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales control previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Tras la oclusión coronaria la longitud del ciclo de estimulación utilizada fue de 250ms y 150ms.

En el grupo entrenado, al realizar una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PREV previa oclusión (con los trenes de estimulación de 250 ms, 200 ms y 150 ms) con los obtenidos tras oclusión coronaria (con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms), obtuvimos una  $p=0,06$ .

Entrenado Pre vs post oclusión		PREV	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances			
	Variable 1	Variable 2	
Mean	0.3066667	0.14	
Variance	0.0387067	0.01055	
Observations	6	5	
Pooled Variance	0.0261926		
Hypothesized Mean Difference	0		
df	9		
t Stat	1.7006846		
P(T<=t) one-tail	0.0616078		
t Critical one-tail	1.8331129		
P(T<=t) two-tail	0.1232157		
t Critical two-tail	2.2621572		

Tabla 3.11. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios efectivos ventriculares (PREV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales entrenados previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Tras la oclusión coronaria la longitud del ciclo de estimulación utilizada fue de 250ms y 150ms.

Con respecto al grupo control, al realizar una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PRFV previa oclusión (con los trenes de estimulación de 250 ms, 200 ms y 150 ms) con los obtenidos tras oclusión coronaria (con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms), obtuvimos una  $p=0,24$ .

Control Pre vs post oclusión		PRFV	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances			
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	
Mean	0.17375	0.1516667	
Variance	0.0023125	0.0043767	
Observations	8	6	
Pooled Variance	0.0031726		
Hypothesized Mean Difference	0		
df	12		
t Stat	0.725965		
P(T<=t) one-tail	0.2408901		
t Critical one-tail	1.7822876		
P(T<=t) two-tail	0.4817801		
t Critical two-tail	2.1788128		

Tabla 3.12. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales control previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Tras la oclusión coronaria la longitud del ciclo de estimulación utilizada fue de 250ms y 150ms.

En el grupo entrenado, al realizar una prueba t de student para comparar las pendientes obtenidas en cada experimento con los PRFV previa oclusión (con los trenes de estimulación de 250 ms, 200 ms y 150 ms) con los obtenidos tras oclusión coronaria (con los trenes de estimulación de 250 ms y 150 ms), obtuvimos una  $p=0,08$ .

Entrenado Pre vs post oclusión		PRFV	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances			
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	
Mean	0.31	0.136	
Variance	0.0596	0.01143	
Observations	6	5	
Pooled Variance	0.0381911		
Hypothesized Mean Difference	0		
df	9		
t Stat	1.4703895		
P(T<=t) one-tail	0.0877653		
t Critical one-tail	1.8331129		
P(T<=t) two-tail	0.1755307		
t Critical two-tail	2.2621572		

Tabla 3.13. Estudio estadístico de las pendientes de las regresiones lineales de los periodos refractarios funcionales ventriculares (PRFV) de cada experimento obtenidos con el test del extraestímulo ventricular en animales entrenados previa oclusión coronaria versus post-oclusión coronaria. La longitud del ciclo de estimulación utilizada previa oclusión coronaria fue de 250 ms, 200 ms y 150 ms. Tras la oclusión coronaria la longitud del ciclo de estimulación utilizada fue de 250ms y 150ms.

### 3.2.Velocidad de conducción

Al comparar, previamente a la oclusión coronaria la velocidad de conducción ventricular del grupo control respecto al grupo entrenado, hallamos que este parámetro fue significativamente mayor en el grupo entrenado que en el control ( $79 \pm 21$  cm/s;  $n=19$  vs  $63 \pm 16$  cm/s;  $n=14$ ,  $*p<0,05$ ).

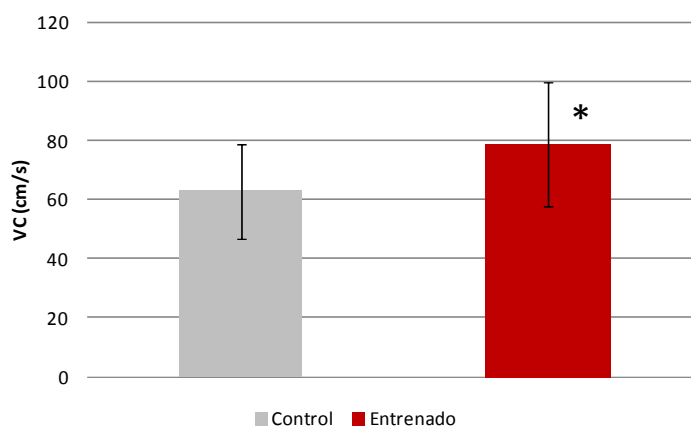
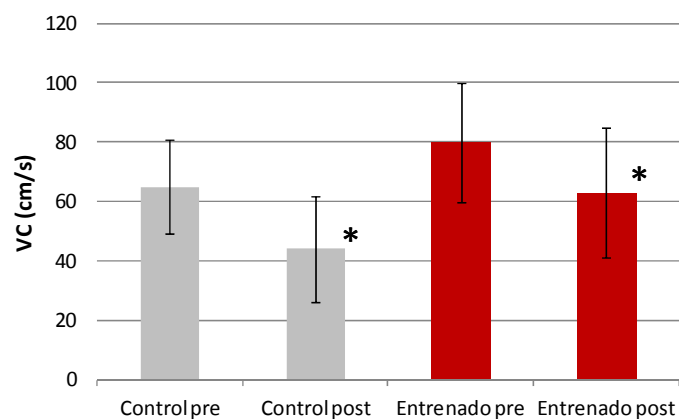


Fig. 3.18. Efecto del entrenamiento sobre la velocidad de conducción (VC). Valores expresados en cm/s. \* $p < 0,05$ . El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

En cuanto a la velocidad de conducción, disminuyó tras la oclusión coronaria en el grupo control ( $44 \pm 18$  cm/s vs  $65 \pm 16$  cm/s;  $n=13$ , \* $p < 0,05$ ). En cuanto al grupo entrenado, la velocidad de conducción disminuyó también tras la oclusión coronaria ( $63 \pm 22$  cm/s vs  $80 \pm 20$  cm/s;  $n=14$ , \* $p < 0,05$ ).

Al establecer la comparación de las velocidades de conducción tras la oclusión coronaria entre grupo control y grupo entrenado encontramos que dicho parámetro fue menor en el grupo control que en el entrenado ( $44 \pm 18$  cm/s;  $n=13$  vs  $63 \pm 22$  cm/s;  $n=14$ , \* $p < 0,05$ ).





	V preoclusión	V postoclusión
Control	65±16 (13)	44±18 (13)
Entrenado	80±20 (14)	63±22 (14)

Fig. 3.19. Media y desviación estándar de los valores de la velocidad de conducción ventricular (VC) en los grupos control y entrenado, previa oclusión (V preoclusión) y tras 20 minutos de oclusión arterial coronaria aguda (V postoclusión). Los valores vienen expresados en cm/s. \* $p < 0,05$ . Número de experimentos entre paréntesis.

### 3.3. Longitud de onda del proceso de activación

Al comparar, previamente a la oclusión arterial coronaria, la longitud de onda del proceso de activación del grupo control respecto al grupo entrenado, hallamos que fue mayor en el grupo entrenado que en el control ( $12,4 \pm 3,6$  cm ;  $n=18$  vs  $9,6 \pm 3$  cm;  $n=14$ ,  $*p<0,05$ ).

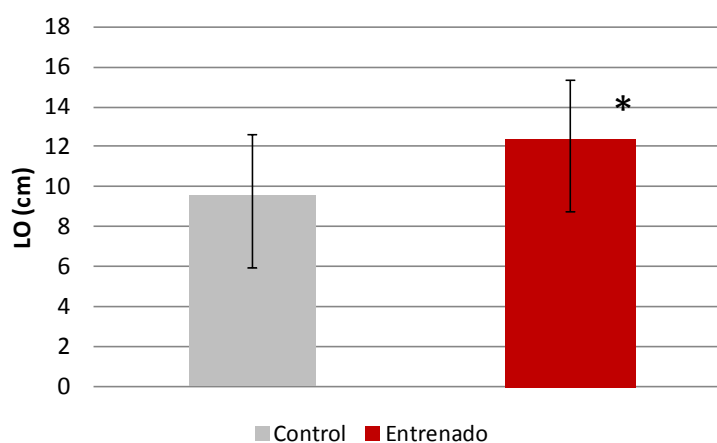
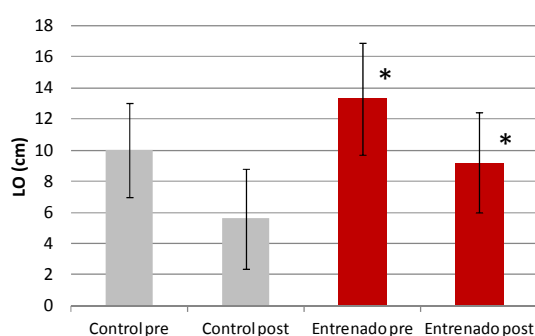


Fig. 3.20. Efecto del entrenamiento sobre la longitud de onda (LO). Valores expresados en cm.  $*p<0,05$ . El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

La longitud de onda disminuyó tras la oclusión coronaria en el grupo control ( $5,6 \pm 3,2$  cm vs  $10 \pm 3$  cm;  $n=12$ ). En cuanto al

grupo entrenado, este parámetro disminuyó también tras la oclusión coronaria ( $9,2\pm 3,2$  cm vs  $13,3\pm 3,6$  cm;  $n=11$ ).

Al establecer la comparación de las longitudes de onda tras la oclusión coronaria entre grupo control y grupo entrenado encontramos diferencias significativas, de tal modo que la longitud de onda fue mayor en el grupo entrenado que en el control ( $9,2\pm 3,2$  cm;  $n=11$  vs  $5,6\pm 3,2$  cm;  $n=12$ ;  $*p<0,05$ ).



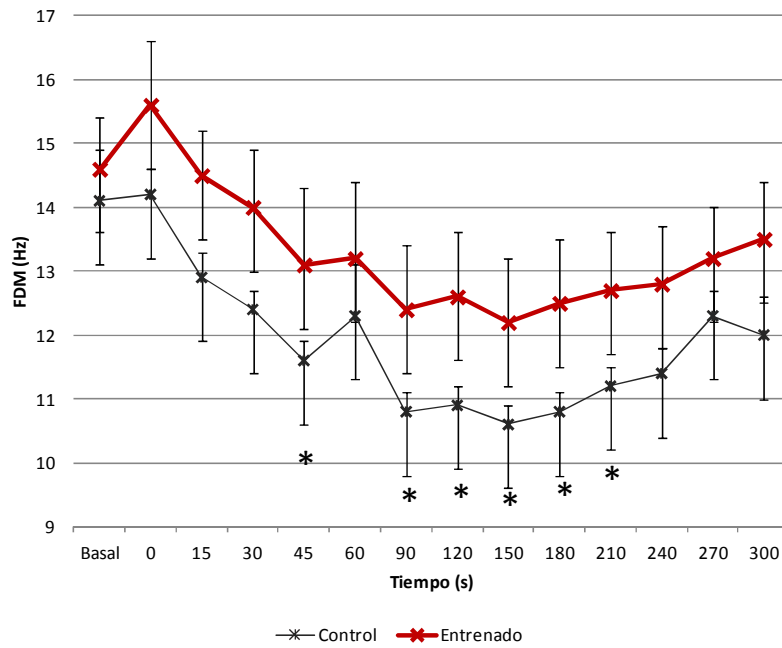
	LO preoclusión	LO postoclusión
Control	$10\pm 3$ (12)	$5.6\pm 3.2$ (12)
Entrenado	$13.3\pm 3.6$ (11)	$9.2\pm 3.2$ (11)

Fig. 3.21. Media y desviación estándar de los valores de la longitud de onda del proceso de activación en los grupos control y entrenado, previa oclusión (LO preoclusión) y tras 20 minutos de oclusión arterial coronaria aguda (LO postoclusión). Los valores vienen expresados en cm.  $*p<0,05$ . Número de experimentos entre paréntesis.

### **3.4.Frecuencia de la fibrilación ventricular**

#### **3.4.1 Frecuencia dominante media previa oclusión coronaria y tras oclusión coronaria**

No hubo diferencias significativas entre el valor de la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular, tanto inmediatamente antes de la oclusión coronaria (basal) como posteriormente a la misma al comparar entre si los grupos control y entrenado. Al comparar el valor de la FDM de la FV obtenido inmediatamente antes de la oclusión arterial coronaria, con el valor obtenido en diferentes tiempos posteriormente a la misma, se hallaron diferencias significativas, produciéndose una disminución del mencionado parámetro en los tiempos que se indican en la Fig. 3.22. (\* $p < 0,05$ ). No obstante, en el grupo entrenado la FDM no experimentó ningún cambio significativo al comparar el valor de la misma, inmediatamente antes de la ligadura coronaria, con los valores obtenidos en los distintos tiempos post-oclusión coronaria.



	FDM													
Control (7)	14,1	14,2	12,9	12,4	11,6	12,3	10,8	10,9	10,6	10,8	11,2	11,4	12,3	12,0
	±0,8	±0,4	±0,4	±0,3	±0,3*	±0,8	±0,3*	±0,3*	±0,3*	±0,3*	±0,3*	±0,4	±0,4	±0,6
Entrenado (7)	14,6	15,6	14,5	14	13,1	13,2	12,4	12,6	12,2	12,5	12,7	12,8	13,2	13,5
	±0,8	±1	±0,7	±0,9	±1,2	±1,2	±1	±1	±1	±1	±0,9	±0,9	±0,8	±0,9
	Basal	0s	15s	30s	45s	60s	90s	120s	150s	180s	210s	240s	270s	300s

Fig. 3.22. Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la FDM de la FV previamente a la oclusión de la arteria coronaria circunfleja (basal) y en diferentes tiempos después de la oclusión (s=segundos). Los valores vienen expresados en hercios (Hz). Número de experimentos entre paréntesis. \* $p < 0.05$  vs valor basal.

### 3.4.2 Frecuencia dominante media tras la reperfusión

Al comparar la frecuencia dominante media de los grupos control y entrenado tras cinco minutos de reperfusión no se observaron diferencias significativas entre el grupo entrenado ( $14.27 \pm 1,95$  Hz;  $n=7$ ) y el grupo control ( $14.68 \pm 1,48$  Hz;  $n=7$ ).

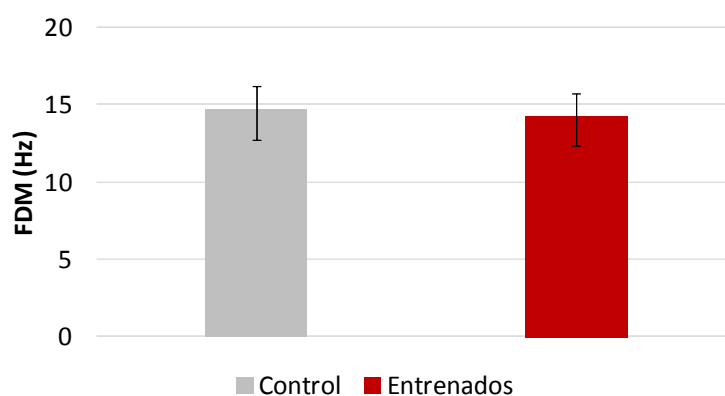


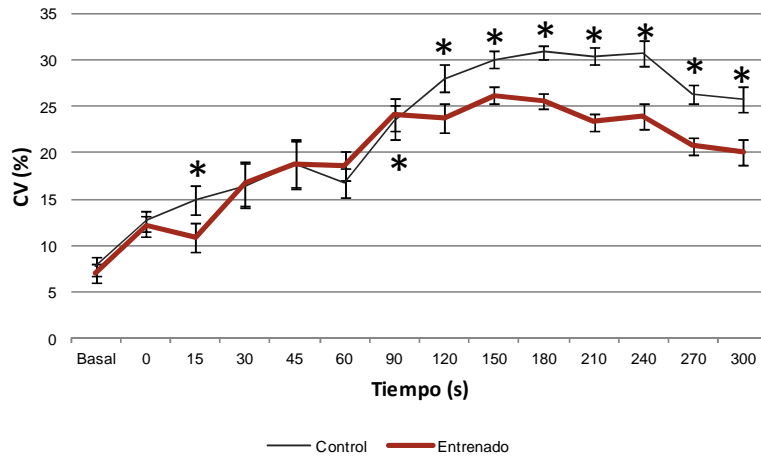
Fig. 3.23. Media de la frecuencia dominante media (FDM) en los grupos control y entrenado a los cinco minutos de reperfusión. Valores expresados en Hercios (Hz).

### **3.5. Coeficiente de variación de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular**

Al comparar el valor del CV de la FD de la FV obtenido inmediatamente antes de la oclusión arterial coronaria (basal), respecto al valor obtenido en diferentes tiempos posteriormente a la misma, se hallaron diferencias significativas (\* $p < 0,05$ ), produciéndose un aumento del mencionado parámetro en los tiempos post-oclusión coronaria que se indican en la Fig. 3.24.

No hubo diferencias significativas entre el valor del CV de la FD media de la FV, tanto inmediatamente antes de la oclusión coronaria (basal) como posteriormente a la misma al comparar entre sí los grupos control y entrenado.

No obstante, en el grupo entrenado el CV de la FD media de la FV no cambió de forma significativa tras la oclusión coronaria, con respecto al valor basal.



	CV													
CONTROL (8)	7.8	12.7	14.9	16.4	18.7	16.7	23.3	28	30	30.8	30.4	30.7	26.3	25.7
	±1.0	±1.1	±1.5*	±2.4	±2.6	±1.6	±1.8*	±1.5*	±0.9*	±0.8*	±0.9*	±1.3*	±1.0*	±1.4*
ENTRENADO (8)	7.1	12.1	10.9	16.7	18.8	18.6	24.1	23.7	26.2	25.6	23.3	23.9	20.7	20.1
	±0.6	±2.1	±1.1	±1.8	±2.8	±2.2	±4.0	±6.4	±3.8	±4.4	±5.7	±4.2	±4.3	±4.2
	Basal	0s	15s	30s	45s	60s	90s	120s	150s	180s	210s	240s	270s	300s

Fig. 3.24. Media y desviación estándar de los valores correspondientes al CV de la FD de la FV previamente a la oclusión de la arteria coronaria circunfleja (basal) y en diferentes tiempos tras la oclusión (s=segundos). Los valores vienen expresados en porcentaje. Número de experimentos entre paréntesis. \*p<0.05 vs valor basal.



---

## DISCUSIÓN

---



## 4. DISCUSIÓN

En esta tesis doctoral hemos realizado investigaciones en corazones aislados de conejos controles y conejos entrenados en cinta rodante, con el objetivo de estudiar las modificaciones que el ejercicio físico crónico produce sobre las siguientes propiedades electrofisiológicas del miocardio ventricular: refractariedad, velocidad de conducción, longitud de onda del proceso de activación eléctrica, frecuencia de la fibrilación ventricular inducida y heterogeneidad electrofisiológica; así como los efectos que la isquemia regional aguda produce sobre las propiedades y parámetros mencionados y los efectos que produce la reperfusión sobre la frecuencia dominante media.

En el presente capítulo serán comentados aspectos sobre:

1) Metodología utilizada en esta tesis doctoral: sujeto experimental, protocolo de entrenamiento, método de perfusión del corazón aislado, estudio electrofisiológico; 2) los resultados obtenidos y el significado de los mismos; 3) las limitaciones del estudio y 4) las perspectivas futuras.

La presente tesis doctoral posee un interés científico básico y puede disponer de interés clínico a más largo plazo,

principalmente por sus aportaciones sobre los parámetros electrofisiológicos estudiados. La idea básica es profundizar en el conocimiento y estudio de la modificación de estos parámetros para ayudarnos a comprender diversos tipos de arritmias que ya fueron mencionadas por Paffenbarger y Hale (1975), Ekelund *et al.*, (1988) y Blair *et al.* (1996) por su implicación en la mortalidad de origen cardiaco. Entre estas arritmias, cabe destacar la fibrilación ventricular que es considerada causa principal de muerte súbita de origen cardiaco (Billman *et al.*, 2002) y que ha sido realizada por estimulación a frecuencias crecientes en la presente investigación para su detallado estudio.

#### **4.1. Consideraciones relativas a alguno de los métodos empleados**

Las investigaciones experimentales de esta tesis doctoral fueron realizadas en conejos. De entre las diversas razones por las que consideramos al conejo como el animal más apropiado para estos experimentos está la recomendación por diversos autores, como Billman (2002) que mencionan una mayor facilidad para estudiar los mecanismos electrofisiológicos de la FV debido a su frecuencia cardiaca menor y su mayor masa cardiaca al compararlos con animales

como el ratón. Parece ser que además se facilita el estudio de los efectos del entrenamiento si éste es realizado en conejos, debido a que el conejo de laboratorio es sedentario y con protocolos concretos de de ejercicio, podemos observar respuestas y adaptaciones cardiovasculares por el entrenamiento con relativa facilidad (DiCarlo & Bishop, 1990, Such *et al.* 2002, Such *et al.* 2008).

En corazón de ratón es complejo investigar la FV debido a que es difícil inducir la arritmia y mantenerla en el tiempo debido a la escasa masa ventricular y la elevada frecuencia cardiaca. Según Wit y Janse (1993), este animal presenta una corta duración del potencial de acción y una repolarización cuya uniformidad dificulta la dispersión de los periodos refractarios y por tanto dan lugar a una dificultad para la instauración y el mantenimiento de la FV. Al tratar de comparar la manipulación de los corazones de ratón con los de conejo, éstos últimos presentan mayor facilidad para la manipulación en el laboratorio, factor importante a tener en cuenta al tratar de decidir qué animal de experimentación conviene más cuando se desea realizar una investigación específica en electrofisiología cardiaca.

Además de todo lo mencionado previamente, los potenciales de acción ventriculares del conejo son similares a

los de los humanos y presentan una fase de meseta típica. También es importante destacar que la duración del PA es parecida a la del ser humano y además los cardiomiocitos ventriculares de conejo muestran todas las corrientes iónicas principales que participan en el PA. Sin embargo existen algunas variaciones con respecto a cinética y aspectos cuantitativos.

Según Stengl (2010), a pesar de la diferencia de tamaño del corazón de conejo al compararlo con el humano, que puede limitar algunos fenómenos espaciales como la heterogeneidad transmural del PA, podemos extrapolar los resultados al ser humano.

Schaible y Scheuer, en 1985 ya destacaron que los estudios longitudinales son complicados en ratas, aunque sean los animales usados con mayor frecuencia en experimentos de condicionamiento cardiaco. El principal motivo por el que estos autores destacan esta dificultad es el pequeño tamaño cardiaco que es complejo si se requiere una instrumentalización prolongada.

La preparación de corazón aislado con el sistema tipo Langendorf excluye las influencias humorales además de las nerviosas en los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral. Esta misma metodología se ha utilizado con

frecuencia para estudiar qué efectos electrofisiológicos producen determinados fármacos o diversas manipulaciones como lesiones por radiofrecuencia, estiramientos, variaciones de temperatura, hipoxia global, ejercicio físico, etc. (Chorro *et al.*, 1997, 1999, 2000, 2005, Such *et al.*, 2002).

El modelo de corazón aislado de conejo, requiere Tyrode para el mantenimiento de su perfusión, sin embargo para experimentos con perros se requiere sangre para perfundir al corazón. Por este motivo existe mayor dificultad al tratar de realizar experimentos con perros.

La preparación de corazón aislado tipo *working heart* no ha sido la elegida por nosotros para la realización del protocolo experimental ya que deseábamos confirmar que las diferencias observadas entre los grupos no se relacionaban con modificaciones en el trabajo cardiaco. Por tanto, elegimos una preparación tipo Langendorff, que no presenta poscarga y solamente muestra ligerísima precarga.

A continuación comentaremos algunos de los métodos utilizados con la finalidad de analizar los diversos parámetros electrofisiológicos. Comenzaremos con la determinación del periodo refractario funcional ventricular durante la FV inducida realizada determinando el percentil 5 de un histograma de las longitudes del ciclo ventricular obtenido entre 4000 y 6000

ciclos. Al determinar el PR funcional ventricular durante la FV inducida obtenemos información sobre la capacidad del miocardio ventricular para permitir el paso de frentes de activación sucesivos mientras el tejido no se encuentra en periodo refractario. Este método contrasta con el test del extraestímulo ventricular, en el que aplicamos estímulos en el corazón mediante la localización de electrodos de estimulación en el exterior del mismo. Duytschaever et al. (2001) ya aplicaron este método, lo compararon con otros y comentaron como ventaja que no era necesario realizar “marcapaseo” del corazón.

También podemos destacar el uso de la transformada rápida de Fourier para el análisis de la frecuencia de la fibrilación. Al descomponer el trazado fibrilatorio en sus armónicos, obtenemos uno de mayor amplitud que es el de la frecuencia dominante. Este método, valora la energía en función de la frecuencia y ha sido utilizado en diversas investigaciones de electrofisiología cardiaca (Chorro *et al.* 2000, Ropella 2001).

Zaitsev *et al.* (2003) ya observaron que la isquemia disminuye la FD de la FV. Además, diversos estudios como el de Strohmenger *et al.* (1997), confirman que la parada cardiaca producida por fibrilación ventricular desciende la FD de la FV



debido a isquemia y que la reanimación cardiopulmonar y los fármacos vasopresores aumentan la FD de la FV dando como consecuencia una mayor facilidad para la desfibrilación.

La isquemia además reduce los fosfatos de alta energía (Neumar *et al.* 1990), modifica el potencial de membrana celular y los valores de sobrecarga de calcio (Strohmenger *et al.* 1990). Todos estos efectos delétereos variarán la FD y por tanto, la determinación de este parámetro supondrá un punto importante para informarnos de forma indirecta de los resultados de la oclusión y la isquemia del miocardio. Ya que disponemos de un multielectrodo, podemos registrar estos valores en más de doscientas localizaciones diferentes y calcular la dispersión de la FD en la superficie miocárdica ventricular izquierda en cada uno de los experimentos realizados. Por tanto, el cálculo de la FD nos aportará información sobre la heterogeneidad electrofisiológica de la superficie miocárdica ventricular.

## **4.2. Consideraciones respecto a los resultados obtenidos**

### **4.2.1. Consideraciones respecto a la refractariedad en circunstancias de normal perfusión**

Tal como hemos presentado en resultados, el periodo refractario funcional medido durante la fibrilación ventricular fue mayor en animales entrenados cuando los comparamos con los animales control. Los periodos refractarios determinados durante el test del extraestímulo tendieron a ser mayores en animales entrenados pero sin alcanzar el nivel de significación estadística. Nuestros resultados, son similares a los que nuestro grupo investigador obtuvo en investigaciones anteriores, aplicando el mismo protocolo de entrenamiento (Such *et al.*, 2008) y un protocolo de intensidad más elevada (Such *et al.*, 2002) en los que los periodos refractarios fueron mayores en animales entrenados. Otros investigadores también publicaron resultados parecidos (Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, Jew *et al.*, 2000, Natali *et al.*, 2002), ya que observaron que la duración del PA de los cardiomiocitos de animales entrenados se prolongaba al compararla con los animales control. Para poder entender esta afirmación, es importante clarificar que existe una correlación entre el periodo refractario

en humanos y el potencial de acción cuando ambos parámetros se estudian en condiciones control (Sutton *et al.*, 2000). Así por ejemplo, Natali *et al.* (2002) al realizar investigaciones de la duración del PA de los cardiomiocitos procedentes del epicardio ventricular de ratas entrenadas hallaron, una prolongación de la duración del potencial de acción de los cardiomiocitos procedentes de animales entrenados al compararlos con los controles. Las ratas de esta investigación experimental fueron entrenadas con un sistema que les permitía realizar ejercicio físico a voluntad y presentaron incremento del potencial de acción. Por tanto, este incremento del PA lo podemos correlacionar con un incremento también del PR en animales entrenados si extrapolamos las publicaciones que hemos explicado previamente.

En la presente discusión comentamos que la realización regular de ejercicio físico podría incrementar la refractariedad miocárdica en humanos. Debido a que utilizamos el Sistema Langendorff para los experimentos de la presente tesis doctoral y a que este sistema de investigación de corazón aislado excluye influencias extrínsecas humorales o nerviosas, podemos inferir que los resultados obtenidos presentan un componente intrínseco, pero no conocemos los mecanismos básicos por los que los periodos refractarios tendieron a ser

mayores en animales entrenados. A pesar de ello, si nos basamos en investigaciones realizadas por otros autores como Jew *et al.* (2001) podemos encontrar una relación del mayor periodo refractario producido por el entrenamiento con algunos cambios electrofisiológicos. Estos autores realizaron estudios con ratas, en miocardiocitos aislados de ventrículo izquierdo, tras haber sometido a los animales a un protocolo específico de entrenamiento. Tras aplicar la técnica de *patch-clamp* objetivaron que el entrenamiento:

a) disminuía la densidad de las corrientes repolarizantes de potasio de inactivación lenta o sostenida, denominadas  $I_{sus}$  ( $I_{late}$ ) (Himmel *et al.*, 1999) e b) incrementaba la velocidad a la que se consigue el pico de la corriente  $I_{to}$ . Esta corriente es la que da lugar al comienzo de la repolarización rápida del miocardiocito. Todo lo comentado previamente puede contribuir al alargamiento del PA por el entrenamiento (Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, Natali *et al.*, 2002). Sin embargo, estos autores no determinaron cuales de los componentes específicos de estas corrientes son modificados por el entrenamiento, ni estudiaron si las corrientes de  $K^+$ , voltaje dependientes son variables en diversas regiones del miocardio ventricular.

Otra posibilidad puede ser que el entrenamiento haya modificado al intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ . Este intercambiador presenta propiedades electrogénicas y por tanto, puede modificar la DPA. En 2003, Mace *et al.*, estudiando en ratas la influencia de la edad y el entrenamiento en tapiz rodante sobre miocardiocitos aislados, concluyeron que se incrementó la actividad del intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  con el envejecimiento y también la DPA medido en el 75% y 90% del valor de reposo desde el máximo nivel del potencial. Según estos autores, el aumento de la actividad del intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  podría dar lugar a un alargamiento del PA en la fase tardía de los animales envejecidos. A pesar de ello, el entrenamiento no cambió los resultados anteriores. Teniendo en cuenta estos resultados y el uso de una metodología diferente, consideramos que, tal vez, no haya participado el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  en el aumento del periodo refractario funcional de la fibrilación ventricular y en la tendencia al aumento de la refractariedad con el test del extraestímulo .

Al tratar de investigar la participación de mecanismos iónicos en las modificaciones electrofisiológicas producidas por el ejercicio y partiendo de teorías que defienden que los canales de calcio pueden presentar adaptaciones electrofisiológicas y mecánicas debidas al entrenamiento

(Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, Moore *et al.*, 1993), Mokolke *et al.* (1997) investigaron en ratas con entrenamiento en tapiz rodante, la acción de las corrientes de calcio que colaboran en la formación de la meseta del PA en miocardiocitos ventriculares. Estas corrientes de entrada lenta de calcio ( $I_{Ca}$ ), pasan por los canales voltaje dependientes denominados canales tipo L de  $Ca^{2+}$ . Los experimentos fueron realizados aplicando la técnica de *voltage-clamp* y no se hallaron cambios en el voltaje de  $I_{Ca}$ , ni en el pico de  $I_{Ca}$  tras el entrenamiento, ni en la inactivación y la recuperación de  $I_{Ca}$ . Estos resultados excluían la hipótesis de que las adaptaciones inducidas por el entrenamiento podían relacionarse con cambios en la función y el número de canales de calcio tipo L. Esta publicación generó nuevas ideas para posteriores investigaciones con respecto a las modificaciones del entrenamiento sobre las corrientes repolarizantes de  $K^+$  que podrían originar cambios en  $I_{Ca}$  sin adaptaciones intrínsecas en el número y la función de los canales de calcio tipo L.

Wijffels *et al.* (1995) describieron que la longitud de onda presenta un papel clave en la estabilización de arritmias y en la aparición de nuevas arritmias por reentrada. Este parámetro queda determinado por los valores de refractariedad miocárdica y los de la velocidad de conducción.

Por tanto, un aumento en los periodos refractarios por el entrenamiento puede proteger frente a los cambios eléctricos y según nosotros puede participar como mecanismo básico por el que el ejercicio físico aeróbico muestre un efecto protector frente a las arritmias por reentrada que son causa de muerte súbita. Así, podemos proponer al ejercicio como maniobra no farmacológica para la protección frente a las arritmias (Billman, 2002). El hecho de que en los resultados de los periodos refractarios obtenidos con el test del extraestímulo no obtuvieramos significación estadística, puede estar relacionado con el número de experimentos, ya que en experimentos realizados por nuestro grupo de investigación previamente, los periodos refractarios obtenidos en animales entrenados fueron significativamente mayores que los obtenidos en los animales control. También cabe mencionar que en nuestro protocolo experimental, tras la oclusión coronaria, se produjo FV espontánea en un mayor número de experimentos del grupo control que del grupo entrenado. Esto parece indicarnos de forma indirecta que el protocolo de entrenamiento aplicado ha realizado un efecto protector frente a la aparición de arritmias espontáneas, como la FV, tras la oclusión coronaria.

#### **4.2.2. Consideraciones respecto a la refractariedad en circunstancias de isquemia regional aguda**

Hemos visto en la presente tesis doctoral que tras la oclusión coronaria tanto en los grupos control como entrenado tendieron a disminuir los periodos refractarios efectivo y funcional ventricular (determinados mediante el test del extraestímulo) no habiéndose observado diferencias entre grupos en la refractariedad ventricular postoclusión coronaria. Esto podría ser debido a que el ejercicio físico haya ejercido un efecto protector en el miocardio ventricular.

Al revisar trabajos experimentales sobre cambios producidos en la refractariedad debidos a la isquemia, es complicado llegar a una misma conclusión ya que las diversas publicaciones incluyen un acortamiento, un alargamiento, un alargamiento seguido por acortamiento o un acortamiento seguido por alargamiento (para revisión ver Sutton *et al.*, 2000). Estudios previos han demostrado, durante la isquemia, un alargamiento de la refractariedad (Elharrar *et al.*, 1977, Horacek *et al.*, 1984, Capucci *et al.*, 1995, citados por Sutton *et al.*, 2000), o un acortamiento de la misma (Han y Moe, 1964, Elharrar *et al.*, 1977, Wolk *et al.*, 1998, citados por Sutton *et al.*, 2000). Parece ser que la distinta metodología utilizada, la diferentes intensidades de estimulación aplicadas y el tipo de



isquemia producido (global o regional) dan lugar a estas diferencias obtenidas en la diversas publicaciones. Así por ejemplo, en la isquemia regional una alta intensidad de estimulación, puede estimular de forma inadvertida una zona lejana de miocardio en la que el periodo refractario sea más corto (Penny, 1984, Janse et al., 1985, Capucci et al., 1995, citados por Sutton et al., 2000). También es importante destacar la importancia de dónde se ubica el electrodo de estimulación respecto a la zona limítrofe, ya que ha sido descrito que en la zona limítrofe, los periodos refractarios parecen acortarse. Esta zona limítrofe es la que se sitúa entre la zona isquémica y la zona sana y presenta un aumento moderado en la concentración de potasio extracelular. En la zona central isquémica, sucede como con la isquemia global y por tanto existe un alargamiento del periodo refractario (para revisión ver Sutton *et al.*, 2000). Zipes & Jalife 2006 realizaron observaciones similares ya que publicaron que en el músculo ventricular no isquémico, el PR está íntimamente ligado a la DPA. Esta correlación entre PR y DPA parece perderse tras un minuto de isquemia en corazones humanos. Debido a la difusión de iones en la zona fronteriza de la isquemia, se objetivó que los PR eran más cortos en una parte intermedia de

la zona fronteriza que en la normal, mientras que se alargaban considerablemente hacia la región isquémica central.

En nuestra investigación el periodo refractario, tanto efectivo como funcional, determinado con el test del extraestímulo tendió a acortarse tras la oclusión coronaria. Podemos interpretar que esta tendencia al acortamiento se haya debido al lugar en el que fue ubicado el electrodo de registro. Probablemente, dicho electrodo fue situado en la zona “periférica” o limítrofe, como la que acabamos de describir en líneas anteriores. Esta zona estaría alejada de la zona central isquémica dañada, en donde suponemos que se alarga el período refractario. Pese a que el valor del periodo refractario funcional fue aparentemente mayor en el grupo entrenado, tras oclusión coronaria, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Esto nos hace suponer que puede que el protocolo de entrenamiento que hemos utilizado, no ejerza ninguna modificación tras la isquemia regional aguda y ni tras la reperfusión o que el número de experimentos realizados no haya sido suficiente para observar cambios estadísticamente significativos.

Los rangos entre los que variaron los valores de los PRFV obtenidos con el test del extraestímulo ventricular, en animales entrenados fueron mayores que los observados en los animales

control. Estos resultados podrían relacionarse con una respuesta frente al entrenamiento dependiente del individuo o una susceptibilidad individual al entrenamiento.

Las correlaciones lineales entre los distintos parámetros ofrecen una visión más amplia de esta propiedad electrofisiológica, es por ello que hemos procedido a hacer una correlación, no sólo de los periodos refractarios obtenidos con el test del extraestímulo ventricular, sino que también hemos correlacionado los periodos refractarios funcionales obtenidos con el test del extraestímulo y durante la FV. Obtuvimos, mediante la realización de la regresión lineal, que la longitud del PR varía de forma proporcional a la longitud del tren con el que se determina. Durante la isquemia también se reproduce el mismo fenómeno, así por ejemplo los PR obtenidos con un tren de estimulación de 150 ms fueron menores que los obtenidos con un tren de 250 ms. Al correlacionar los periodos refractarios funcionales obtenidos con el test del extraestímulo y los periodos refractarios durante la FV no observamos ninguna relación lineal y por tanto, parece ser que estos dos parámetros no se correlacionan ni en animales control, ni en entrenados.

No hemos encontrado estudios en los que se correlacionaran las pendientes de los PREV y PRFV obtenidas en

cada uno de los experimentos, con diferentes trenes de estimulación en animales control y entrenados, previa oclusión coronaria y tras oclusión coronaria. Por tanto, estos datos aportan una perspectiva novedosa para el análisis e interpretación de los periodos refractarios obtenidos con el test del extraestímulo ventricular. Si observamos la gráfica de la Fig. 3.2. podemos apreciar que las pendientes de los PREV control versus entrenado previa oclusión coronaria tienen inclinaciones bastante diferentes. Tras realizar los cálculos estadísticos de las pendientes de cada uno de los experimentos, pudimos observar que esta diferencia de pendientes previa oclusión coronaria en los PREV, tuvo significación estadística ( $p=0,05$ ) y también pudimos objetivar esta diferencia de pendientes de forma numérica (0,18 *versus* 0,31). Por tanto, parece ser que el entrenamiento ejerció una modificación con significación estadística, en la inclinación de las pendientes de los PREV previa oclusión coronaria, obtenidas con el test del extraestímulo ventricular. Al observar las pendientes de los PREV tras la oclusión coronaria en la figura 3.2., pudimos apreciar que las pendientes de animales control y entrenado fueron bastante similares. Debido a esta mayor similitud, cabría esperar valores de la  $p$  mayores, y esto fue lo que obtuvimos mediante la utilización del estudio de las

pendientes, una  $p$  de 0,23. Por tanto los resultados que obtuvimos presentaron significación estadística y no se debieron al azar. Así, podemos confirmar que los animales entrenados presentaron mayores valores de PREV que los controles y por tanto el ejercicio pareció ejercer efectos protectores frente a las arritmias mediante este incremento de la refractariedad. De la misma manera, si observamos la figura 3.3., podemos apreciar que las pendientes de los PRFV obtenidas previa oclusión coronaria fueron bastante similares pero con valores, en animales entrenados, mayores que en los animales control. Debido a la similitud de pendientes, obtuvimos valores de la  $p$  mayores en nuestro análisis estadístico de pendientes ( $p=0,07$ ). También cabría esperar valores grandes de la  $p$  tras la oclusión coronaria por una semejanza en las pendientes de los PRFV ( $p=0,38$ ). Al realizar las comparaciones de las pendientes antes de la oclusión coronaria con las obtenidas tras la oclusión obtuvimos valores de la  $p$  menores cuando las pendientes obtenidas fueron diferentes, como en el caso de los PREV y PRFV de los animales entrenados (0,06 y 0,08 respectivamente). Los valores de la  $p$  mayores, se correspondieron con pendientes más similares, es decir sin excesivo cambio de pendiente previa oclusión y tras la oclusión, como en el caso de los PREV y PRFV de los animales

control (0,49 y 0,24 respectivamente). Por tanto, con respecto a los resultados que obtuvimos de los PREV y PRFV con los diversos trenes de estimulación, antes y tras la oclusión coronaria podemos afirmar que presentaron diferencias significativas con el entrenamiento que parecen haber modificado esta relación.

Con respecto a las correlaciones de Pearson realizadas en la presente tesis doctoral, parece ser que el entrenamiento incrementa el grado de correlación previa oclusión coronaria entre los PRFV de los diversos trenes de estimulación e incluso incrementa la correlación con los PRFFV. Esto nos podría indicar que el ejercicio, estaría realizando modificaciones electrofisiológicas significativas en la variación de los PRF y su correlación. Parece ser que la correlación se pierde tras la oclusión coronaria tanto en los grupos control como entrenado.

#### **4.2.3. Consideraciones respecto a la velocidad de conducción**

En la presente tesis doctoral hemos observado que los animales que realizaron ejercicio físico crónico mostraron una mayor velocidad de conducción en el miocardio ventricular al compararlos con los animales control. Esta diferencia se mantuvo tras la oclusión coronaria a pesar de que la velocidad

de conducción se redujo en ambos grupos de animales. Tras la isquemia, siguió observándose en los animales entrenados un valor mayor de este parámetro que en el caso de los controles.

Como ya ha sido publicado por Jalife *et al.* (2009), la velocidad de conducción depende del balance entre la magnitud de la fuente de corriente, de la magnitud de la corriente necesaria para despolarizar las células “distales” a la célula excitada y de la capacidad de la corriente para propagarse de célula a célula a través de los canales de las uniones *gap*. La magnitud de la fuente de corriente está relacionada con la corriente de entrada rápida de sodio como lo demuestra el hecho de que administrando agentes bloqueantes de los canales de sodio se obtiene una disminución de la amplitud de la fuente de corriente y un empeoramiento de las respuestas de las células que actúan como sumidero de corriente.

Tras revisar las anteriores consideraciones, opinamos que la realización del protocolo de ejercicio seguida por nosotros podría haber actuado cambiando alguno de los factores citados.

La isquemia regional disminuyó en nuestros experimentos la velocidad de conducción en los dos grupos de animales objeto de estudio. Sin embargo, el valor de la velocidad de conducción tras la oclusión de la arteria coronaria fue menor en los animales control que en los entrenados, lo que interpretamos como un efecto beneficioso del ejercicio físico. Mencionamos esto por la relación que existe entre la velocidad de conducción y la longitud de onda del proceso de activación; y entre esta última y la mayor o menor facilidad para la instauración de arritmias por reentrada.

#### **4.2.4. Consideraciones respecto a la longitud de onda del proceso de activación**

Respecto a este parámetro, hemos observado que en los animales entrenados la longitud de onda en el miocardio ventricular fue mayor que en los controles. Tras la oclusión coronaria la longitud de onda se redujo en ambos grupos de animales; sin embargo, este parámetro siguió siendo mayor en los conejos entrenados que en los del grupo control. Por otra parte, la disminución de la longitud de onda del proceso de activación fue menor en el grupo entrenado que en el control.

Rensma *et al.* en 1988 utilizando modelos caninos, observaron que la inducción de la fibrilación auricular estaba



estrechamente relacionada con la longitud de onda auricular. Esta longitud de onda se define matemáticamente como la distancia recorrida por la onda de activación en el período de tiempo que tarda el tejido en recuperar la excitabilidad [longitud de onda ( $\lambda$ ) = período refractario efectivo (PRE) x velocidad de conducción (VC)] (Weiner *et al.* , 1946). Según Pye *et al.* (1992), esto sucede, porque el tamaño y el número de las ondas reentrantes funcionales se determinan por la longitud de onda miocárdica. Al disminuir la longitud de onda miocárdica mediante reducción de la refractariedad con acetilcolina (Rensma *et al.*1988), o enlenteciendo la velocidad de conducción reduciendo la concentración extracelular de potasio (Lammers *et al.* 1988), se produce un aumento en la incidencia de FA inducida. Sin embargo, los fármacos que incrementan la longitud de onda como la atropina, quinidina y el d-sotalol, presentan propiedades antifibrilatorias (Lammers *et al.* 1988, Rensma *et al.* 1988).

Parece ser, que la FV depende de la duración de la refractariedad (Mac Coneil 1987) y de la longitud de onda de activación ventricular (Reiter *et al.* 1993). En investigaciones realizadas en perros (Karagueuzian *et al.* 1994), y en tejido ventricular extraído de pacientes receptores de trasplante

cardiaco (Hwang *et al.* 1999), se lograron producir mediante estimulación, ondas espirales reentrantes. Un fármaco que favorece la apertura de los canales de potasio sensibles al ATP denominado Cromakalim, logró acortar el PRE en estas preparaciones y facilitó la inducción de reentrada funcional. El mismo fármaco produjo la transición desde una espiral reentrante simple y estable, a una activación con múltiples ondas espirales, similar a una fibrilación. Uchida *et al.* (1999), observaron al usar el Cromakalim, un incremento de la vulnerabilidad ventricular a la reentrada y la aceleración de su frecuencia de activación mediante una disminución de la zona central alrededor de la que gira el frente de ondas.

La longitud de onda, es un factor de extremada importancia en la instauración de reentradas. Así por ejemplo, Mines (para revisión ver Kleber y Rudy, 2004) observó que el comienzo y el mantenimiento de la reentrada dependía de los dos factores que determinan la longitud de onda del proceso de activación. Por tanto, si la longitud de onda era menor que la longitud del circuito reentrante, existiría una zona de tejido excitable entre la cola de una onda de activación previa y el frente de otra onda posterior que condicionaría movimientos circulares persistentes durante horas a frecuencia constante.

Interpretamos los resultados obtenidos sobre el efecto del ejercicio sobre la longitud de onda como altamente protectores frente a la instauración y mantenimiento de las arritmias reentrantes tales como la fibrilación ventricular sobre la base de las consideraciones que acabamos de realizar.

La magnitud de la LO se correlaciona inversamente con la aparición de arritmias por reentrada y por tanto, el ejercicio físico, mediante un incremento de la LO del proceso de activación miocárdica ventricular, tanto en condiciones de normal perfusión, como tras isquemia regional aguda podría proteger frente a las arritmias por reentrada.

#### **4.2.5. Consideraciones respecto a la frecuencia de la fibrilación ventricular**

Los valores de la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular disminuyeron tras la oclusión coronaria con respecto a los valores pre-oclusión en el grupo de animales control. Este parámetro se mantuvo tras la oclusión coronaria y no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas respecto a los valores pre-oclusión en animales entrenados.

En la presente tesis doctoral hemos investigado también los efectos directos que ejerce el entrenamiento sobre algunas características de la fibrilación ventricular inducida mediante

estimulación ventricular a frecuencias crecientes. Como comentamos en el apartado de Métodos, realizamos un análisis espectral de la fibrilación ventricular para valorar los cambios en la frecuencia dominante en normoxia, tras oclusión coronaria y tras reperfusión. La frecuencia dominante se utiliza para expresar la información morfológica y periódica contenida en una señal. La transformada de Fourier sirve para realizar transformación del dominio del tiempo al dominio de la frecuencia y nos permite examinar la señal eléctrica como una función de frecuencia. Autores como Chorro *et.al* (2000) y Ropella (2001), han aplicado el análisis de la frecuencia dominante en estudios electrofisiológicos cardiacos. Por otra parte, la frecuencia dominante es predictiva del éxito de los choques eléctricos en humanos al tratar de desfibrilar (Strohmenger *et al.*, 1997). El daño metabólico al que da lugar la fibrilación ventricular modifica las características espectrales de la fibrilación y la protección contra estos daños atenúa dichos cambios. Además, el hecho de que la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular permanezca estable es sugestiva de efectos protectores, por tanto, la ausencia de cambios en este parámetro puede considerarse un buen indicador de la falta de modificaciones electrofisiológicas. Es importante destacar que en nuestro modelo experimental de

corazón aislado, la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular está relacionada con las propiedades electrofisiológicas del miocardio ventricular, como los períodos refractarios (Chorro *et al.*, 2000) y aporta gran información ya que constituye otra propiedad electrofisiológica.

Chorro *et al.* (2000) ya publicaron que existe una correlación entre el valor de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular y el valor de la refractariedad en corazones aislados en condiciones normóxicas. Estos resultados son parecidos a las modificaciones de la refractariedad por el entrenamiento que han sido descritas, y los mecanismos básicos que justificarían estos efectos podrían estar relacionados con las modificaciones de las mismas corrientes iónicas que proponemos para explicar las variaciones en la refractariedad.

En la presente tesis doctoral se realizó la determinación de la frecuencia dominante tras la reperfusión, parámetro que no ha sido medido hasta ahora y que podemos mencionar como novedoso, a pesar de que los resultados no fueran estadísticamente significativos.

#### **4.2.6. Consideraciones respecto al coeficiente de variación**

La heterogeneidad electrofisiológica del miocardio ha sido investigada en la presente tesis doctoral por su estrecha relación con la aparición de arritmias reentrantes como es clásicamente conocido (Han y Moe, 1964). Para realizar la investigación de la heterogeneidad hemos analizado la dispersión del valor de la FD de la FV calculando la relación entre la desviación estándar de la FD media y la FD media, que es el denominado CV.

Al comparar los grupos control y entrenado obtuvimos mayores valores del CV en el grupo control. Tras la oclusión coronaria, se produjo un incremento del CV tanto en el grupo control como en el entrenado, pero en el grupo entrenado este incremento fue menor. Interpretamos este menor incremento del CV en los animales entrenados como un efecto beneficioso frente a la instauración de arritmias por reentrada.

#### **4.2.7. Consideraciones finales respecto a los resultados obtenidos**

En conclusión, la realización de ejercicio físico crónico parece incrementar la refractariedad miocárdica ventricular, la

velocidad de conducción y la longitud de onda del proceso de activación eléctrica miocárdica ventricular mediante mecanismos intrínsecos. La isquemia parece reducir la refractariedad, la velocidad de conducción, la longitud de onda y la FD, aunque el ejercicio parece preservar la caída de la FD. Con respecto al CV existe un menor incremento tras la isquemia en animales entrenados. Con respecto a la frecuencia dominante tras la reperfusión, no se produjeron modificaciones de la misma ni en animales control ni en entrenados.

Consideramos necesario continuar e incrementar el número de experimentos con la finalidad de asentar más firmemente la existencia de mecanismos intrínsecos que modifican las propiedades electrofisiológicas miocárdicas. Nuestros resultados plantean la importancia de investigar los mecanismos básicos, a nivel celular, sobre los que se asientan las modificaciones intrínsecas encontradas por nosotros.

### **4.3. Limitaciones del método**

A continuación pasaremos a mencionar las limitaciones de la metodología utilizada.

Nuestra metodología no permite realizar registros electrográficos en tres dimensiones. La placa multielectrodo que

utilizamos en esta tesis doctoral se aplica sobre la superficie epicárdica ventricular izquierda y como consecuencia, los registros obtenidos son de la actividad eléctrica del miocardio subepicárdico, y no producen información tridimensional. No opinamos que suponga un inconveniente que pueda repercutir de manera importante ya que no hemos pretendido realizar mapas de activación, sino determinar la frecuencia del proceso de activación miocárdico ventricular durante la fibrilación. Cuando analizamos la frecuencia dominante en los distintos puntos que permite la placa multielectrodo, no hallamos diferencias importantes en el valor de este parámetro.

Otro aspecto que nos gustaría comentar es el relativo a la placa multielectrodo que usamos para los experimentos. Esta placa, no se puede adaptar perfectamente a la superficie del ventrículo porque la concavidad de la placa y la convexidad del ventrículo no se corresponden exactamente. La desventaja de esta falta de adaptación es que elimina el registro ventricular de algunos de los electrodos unipolares.

#### **4.4. Perspectivas futuras**

Consideramos que esta tesis doctoral presenta un interés científico básico, y de probable aplicación en clínica



humana a más largo plazo. Se dispone de poca información sobre las modificaciones básicas que produce el ejercicio sobre diversos parámetros electrofisiológicos. Por tanto, un mejor conocimiento de los diversos cambios electrofisiológicos producidos por el ejercicio en situaciones de normal perfusión, tras oclusión coronaria y tras reperfusión, puede ayudar a entender los mecanismos por los que el ejercicio previene de forma directa o indirecta la aparición de arritmias y aportar nuevas ideas para futuras investigaciones en este campo.



---

## **CONCLUSIONES**

---



## 5. CONCLUSIONES

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

1. Incrementa la velocidad de conducción y la longitud de onda del proceso de activación miocárdico ventricular, por mecanismos no dependientes de factores nerviosos y/o

humorales extrínsecos. Por tanto el ejercicio físico modifica favorablemente mecanismos antiarrítmicos.

2. Ha conseguido mantener las modificaciones sobre los anteriores parámetros, tras la oclusión arterial coronaria aguda.

3. Disminuye la heterogeneidad miocárdica ventricular producida por la oclusión arterial aguda, que es la base de la aparición de arritmias por re-entrada, ya que si bien el miocardio contiene discontinuidades estructurales y heterogeneidades, éstas llegan a ser más importantes en circunstancias fisiopatológicas como la isquemia.

4. Parece disminuir el daño metabólico producido por la oclusión coronaria, ya que disminuye la caída de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular, parámetro este que está relacionado con el estado metabólico en la isquemia miocárdica.

5. Parece incrementar el periodo refractario y modificar las pendientes obtenidas con los TEEV de forma significativa. Además, la longitud de los periodos refractarios varía de forma proporcional a la longitud del tren con el que se determina.

6. Como conclusión final, podemos plantear la posibilidad de que el ejercicio físico regular ejerza efectos beneficiosos mediante la modificación de algunas propiedades electrofisiológicas de carácter intrínseco y, por tanto, no dependientes de factores nerviosos y/o humorales, que probablemente dificulten la instauración de arritmias por re-entrada. Si bien el presente trabajo no es concluyente, sí que apunta en la dirección que acabamos de comentar y, por tanto, nos plantea la necesidad de proseguir estas investigaciones.





---

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---



## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aizer, A., Gaziano, J.M., Cook, N.R., Manson, J.E., Buring, J.E., Albert C.M., (2009). Relation of vigorous exercise to risk of atrial fibrillation. *Am J Cardiol.* Jun 1. **103**(11),1572-7

Ascensao, A., Ferreira R, Magalhães J.,(2007). Exercise-induced cardioprotection-biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. *Int J Cardiol.* Apr 12;**117**(1):16-30.

Åstrand, P.O., Rodahl, K., Dahl, H.A., Stromme, S.B., (2003). *Textbook of work physiology: Physiological bases of exercise.* 4th ed. Human Kinetics.

Babai, L., Papp, J. G., Parratt, J. R., & Vegh, A., (2002). The antiarrhythmic effects of ischaemic preconditioning in anaesthetized dogs are prevented by atropine; role of changes in baroreceptor reflex sensitivity. *British Journal of Pharmacology*, **135**(1), 55-64.

Babai, L., Szigeti, Z., Parratt, J. R., & Vegh, A., (2002). Delayed cardioprotective effects of exercise in dogs are aminoguanidine sensitive: Possible involvement of nitric oxide. *Clinical Science*,**102**(4), 435-445.

Bakth, S., Arena, J., Lee, W., Torres, R., Haider, B., Patel, B.C., Lyons MM., Regan TJ., (1986) Arrhythmia susceptibility and myocardial composition in diabetes. Influence of physical conditioning. *J Clin Invest.* Feb;**77**(2), 382-95.

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

Bartels R., Menges M., Thimme W., (1997).Effect of physical activity on incidence of sudden cardiac death. Study of the Berlin-Reinickendorf and Berlin-Spandau population. *Med Klin (Munich)*. Jun 15;**92**(6):319-25.

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

Berlin J.A., Colditz G.A., (1990). A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol.* Oct;**132**(4),612-28.

Billman G.E., Schwartz P.J., Stone HL., (1984). The effects of daily exercise on susceptibility to sudden cardiac death. *Circulation*. Jun;**69**(6),1182-9.

Billman G.E., (1990). Effect of carbachol and cyclic GMP on susceptibility to ventricular fibrillation. *FASEB J.* Apr 1;**4**(6),1668-73.

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

Billman, G. E., & Kukielka, M., (2006). Effects of endurance exercise training on heart rate variability and susceptibility to sudden cardiac death: Protection is not due to enhanced cardiac vagal regulation. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, **100**(3),896-906.

Billman, G. E., & Kukielka, M., (2007). Effect of endurance exercise training on heart rate onset and heart rate recovery responses to submaximal exercise in animals susceptible to ventricular fibrillation. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, **102**(1), 231-240.

Blair, S. N., (1996). The future of sports medicine. *British Journal of Sports Medicine*, **30**(1), 2-3. Blomqvist, C. G., & Saltin, B., (1983). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annual Review of Physiology*, **45**, 169-189.

Böhm, M., Werner, C., Jakobsen, A., Heroys, J., Ralph, A., Rees, T., (2008). Treating to protect: Current cardiovascular treatment approaches and remaining needs. *Medscape Journal of Medicine*, *10 Suppl*, S3.

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

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

Bowles, D.K, Starnes, J.W., (1994). Exercise training improves metabolic response after ischemia in isolated working rat heart. *J Appl Physiol*.**76**, 1608–1614.

Brandt, M. A., & Gwartz, P. A., (2001). Exercise training reduces ischemic myocardial dysfunction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, **33**(4), 556-563.

Bramwell, C., & Ellis, R., (1929). Clinical observations on Olympic athletes. *European Journal of Applied Physiology and occupational Physiology (Arbeitsphysiologie)*, **2**, 51-60.

Bronikowski, A.M., Carter, P.A., Morgan, T.J., Garland, T. Jr, Ung, N, Pugh, T.D, Weindruch, R., Prolla, T.A., (2003). Lifelong voluntary exercise in the mouse prevents age-related alterations in gene expression in the heart. *Physiol Genomics*. Jan 15;**12**(2),129-38.

Buch, A. N., Coote, J. H., Townend, J.N. (2002). Mortality, cardiac vagal control and physical training-what's the link? *Exp. Physiol.* **87**, 423-435.

Budiono, B.P., See Hoe, L.E., Peart, J.N., Sabapathy, S., Ashton, K.J., Haseler, L.J., Headrick, J.P., (2012). Voluntary running in mice beneficially modulates myocardial ischemic tolerance, signaling kinases, and gene expression patterns. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. May.**302**: R1091–R1100.

Burelle, Y., Wambolt, R.B., Grist, M., Parsons, H.L., Chow, J.C., Antler, C., Bonen, A., Keller, A., Dunaway, G.A., Popov, K.M., Hochachka, P.W., Allard, M.F., (2004). Regular exercise is associated with a protective metabolic phenotype in the rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. April. **287**, H1055–H1063.

Canevalli, L., Sgoifo, A., (2014). Vagal modulation of resting heart rate in rats: the role of stress, psychosocial factors and physical exercise. *Frontiers in Physiology*. March. Review Article. **5**:118.

Chorro, F. J., Cánoves, J., Guerrero, J., Mainar, L., Sanchís, J., Such, L., et al. (2000). Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol: An experimental study. *Circulation*, **101**(13),1606-1615.

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

Collins, H.L., Loka, A.M. & DiCarlo, S.E., (2005). Daily exercise-induced cardioprotection is associated with changes in calcium regulatory proteins in hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* . **288**: H532-H540.

Convertino, V.A.,( 1982). Heart rate and sweat rate responses associated with exercise-induced hypervolemia. *Med Sci Sports Exerc*. **15**: 77-84.

Corrado, D., Migliore, F., Basso, C., Thiene, G., (2006).Exercise and the risk of sudden cardiac death.*Herz*, **31**, 553–558.

DiCarlo, S. E., & Bishop, V. S., (1990). Exercise training enhances cardiac afferent inhibition of baroreflex function. *The American Journal of Physiology*, **258**(1 Pt 2), H212-20.

Dickhuth, H.H., Röcker, K., Mayer, F., König, D., Korsten-Reck, U., (2004). Endurance training and cardiac adaptation (athlete's heart). *Herz. Jun*;29(4),373-80.

Duncker, D.J., Bache, R.J., (2008). Regulation of coronary blood flow during exercise. *Physiol Rev. Jul.* **88**(3),1009-86.

Duytschaever, M., Mast, F., Killian, M., Blaauw, Y., Wijffels, M., & Allessie, M. (2001). Methods for determining the refractory period and excitable gap during persistent atrial fibrillation in the goat. *Circulation*, **104**(8), 957-962.

Ekelund, L., Haskell, W., Johnson, J., Whaley, F., Criqui, M., & Sheps, D., (1988). Physical fitness as a predictor of cardiovascular mortality in asymptomatic north american men. *N Engl J Med.* **319**, 1379-1384.

Eliakim, A., Brasel, J.A., Mohan, S., Wong, W.L.T. & Cooper, D.M.,(1998).Increased physical activity and the growth hormone-IGF-I axis in adolescent males. *Am J Physiol.* **275** (1 Pt 2), R308-314.

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

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



Gleeson, M., Bishop, N.C., Stensel, D.J., Lindley, M. R., Mastana, S.S., & Nimmo M.A., (2011). The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews Immunology*, **11**(9), 607-615.

Goldibi, S. & Laher, I., (2012). Exercise and the cardiovascular system. Review Article. *Cardiology Research and Practice*. **2012**, Article ID 210852.

González, J. (1992). *Fisiología de la actividad física y del deporte*. Madrid. Interamericana Mc Graw Hill.

Gwathmey, J.K., Slawsky, M.T., Perreault, C.L., Briggs, G.M., Morgan, J.P. & Wei, J.Y., (1990). Effect of exercise conditioning on excitation-contraction coupling in aged rats. *J Appl Physiol*. **69**: 1366-1371.

Hackney, A., Sinning, W. & Bruot, B., (1988). Reproductive hormonal profiles of endurance-trained and untrained males. *Med Sci Sports Exerc* .**20**: 60-65.

Hajnal, A., Nagy, O., Litvai, A., Papp, J., Parratt, J. R., & Vegh, A. (2005). Nitric oxide involvement in the delayed antiarrhythmic effect of treadmill exercise in dogs. *Life Sciences*. **77**(16), 1960-1971.

Hamer, M., & Stamatakis, E., (2008). Physical activity and cardiovascular disease: Directions for future research. *The Open Sports Sciences Journal*, **1**, 1 - 2.

Han, J., & Moe, G. K. (1964). Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle. *Circulation Research*, **14**, 44-60.

Hartley, L. H., Grimby, G., Kilbom, A., Nilsson, N. J., Astrand, I., Bjure, J., et al., (1969). Physical training in sedentary middle-aged and older men. 3. Cardiac output and gas exchange asubmaximal and maximal exercise. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, **24**(4), 335-344

Hertzeanu, H. L., Shemesh, J., Aron, L. A., Aron, A. L., Peleg, E., Rosenthal, T., et al. (1993). Ventricular arrhythmias in rehabilitated and nonrehabilitated postmyocardial infarction patients with left ventricular dysfunction. *The American Journal of Cardiology*, **71**(1), 24-27.

Hespel, P., Lijnen, P., Van Hoof, R., Fagard, R., Goossens, W., Lissens, W., et al. (1988). Effects of physical endurance training on the plasma reninangiotensin-aldosterone system in normal man. *The Journal of Endocrinology*, **116**(3), 443-449.

Hertzeanu, H. L., Shemesh, J., Aron, L. A., Aron, A. L., Peleg, E., Rosenthal, T., et al. (1993). Ventricular arrhythmias in rehabilitated and nonrehabilitated postmyocardial infarction patients with left ventricular dysfunction. *The American Journal of Cardiology*. **71**(1), 24-27.

Himmel, H. M., Wettwer, E., Li, Q., & Ravens, U. (1999). Four different components contribute to outward current in rat ventricular myocytes. *The American Journal of Physiology*, **277**(1 Pt 2), H107-18.

Holloszy, J. O., & Coyle, E. F. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*. **56**(4), 831-838.

Hoshida, S., Yamashita, N., Otsu, K., & Hori, M. (2002). Repeated physiologic stresses provide persistent cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of the American College of Cardiology*, **40**(4), 826-831.

Houston, M. E., & Thomson, J. A. (1977). The response of endurance-adapted adults to intense anaerobic training. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. **36**(3), 207-213.

Hull, S. S., Jr, Vanoli, E., Adamson, P. B., Verrier, R. L., Foreman, R. D., & Schwartz, P. J. (1994). Exercise training confers anticipatory protection from sudden death during acute myocardial ischemia. *Circulation*. **89**(2), 548-552.

Hwang, H., Reiser, P. J., & Billman, G. E. (2005). Effects of exercise training on contractile function in myocardial trabeculae after ischemia-reperfusion. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*. **99**(1), 230-236.

Jacobs, I., Esbjornsson, M., Sylven, C., Holm, I., & Jansson, E. (1987). Sprint training effects on muscle myoglobin, enzymes, fiber types, and blood lactate. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. **19**(4), 368-374.

Jalife, J., Delmar, M., Anumonwo, J., & Berenfeld, O., Kalifa J. (2009). *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*. (Second edition). Oxford: Wiley- Blackwell.

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

James, D. E., Kraegen, E. W., & Chisholm, D. J. (1985). Effects of exercise training on in vivo insulin action in individual tissues of the rat. *The Journal of Clinical Investigation*. **76**(2), 657-666.

Jew, K. N., & Moore, R. L. (2001). Glibenclamide improves postischemic recovery of myocardial contractile function in trained and sedentary rats. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*. **91**(4),1545-1554.

Jew, K. N., Olsson, M. C., Mokolke, E. A., Palmer, B. M., & Moore, R. L. (2001). Endurance training alters outward K<sup>+</sup> current characteristics in rat cardiocytes. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*. **90**(4), 1327-1333.

Kavazis A.N, McClung J.M, Hood D.A. and Powers S.K. (2008). Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. *American Journal of physiology*. Feb. **294**(2), H928-35.

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

Kiilavuori, K., Toivonen, L., Naveri, H., & Leinonen, H. (1995). Reversal of autonomic derangements by physical training in chronic heart failure assessed by heart rate variability. *European Heart Journal*. **16**(4), 490-495.

Kim, M.K., Tomita, T., Kim, M.J., Sasai, H., Maeda, S. & Tanaka, K., (2009). Aerobic exercise training reduces epicardial fat in obese men. *Journal of Applied Physiology*. **106** (1), 5-11.

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

Kleber, A. G., & Rudy, Y. (2004). Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiological Reviews*. **84**(2), 431-488.

Kokkinos, P. F., Narayan, P., Colleran, J. A., Pittaras, A., Notargiacomo, A., Reda, D., et al. (1995). Effects of regular exercise on blood pressure and left ventricular hypertrophy in african-american men with severe hypertension. *The New England Journal of Medicine*.**333**(22), 1462-1467.

Korantzopoulos, P., Letsas, K.P., Christogiannis, Z., Kalantzi. K., Massis I., Milionis, H.J., Pappas, C., Goudevenos, J.A., (2011). Exercise-induced repolarization changes in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol*. Jan;**107**(1),37-40.

Lamb, D.R., (1989). *Fisiología del Ejercicio. Respuestas y adaptaciones*. 2º Ed. Augusto E. Pila Teleña. Madrid.

Laughlin M.H., (1985). Effects of exercise training on coronary transport capacity. *J Appl Physiol*. Feb. **58**(2), 468-76.

Laughlin, M.H., Bowles, D.K & Duncker D.J.,(2012).The coronary circulation in exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. January. **302**(1),H10-H23.

Lennon, S.L., Quindry, J., Hamilton, K.L., French, J., Staib, J., Mehta, J.L., Powers, S.K., (2004). Loss of exercise-induced cardioprotection after cessation of exercise. *J Appl Physiol.* **96**: 1299–1305.

Ling S., Lu X., Chen S., Ye F., Zhang J., Ma Y. and Li J., (2012). Human coronary collateral Recruitment is facilitated by isometric exercise during acute coronary occlusion. *J Rehabil Med.* **44**, 691-695.

López, L., Benítez, J., Trapero, I., Chorro, F., Such, L., Gómez, M. C., et al. (2005). Effects of physical training on the intrinsic atrial refractoriness. *J Physiol Biochem.* **61**(1), 295.

López, L., Such, L., Trapero, I., Benítez, J., Alberola, A., Such, L., et al. (2005). Physical training produces intrinsic modifications on the electrophysiological properties of ventricular myocardium. An experimental study. *J Physiol Biochem.* **61**(1), 102.

López, L., (2008). Efectos del ejercicio físico crónico sobre la excitabilidad intrínseca miocárdica. Estudio experimental. Tesis Doctoral. Departamento de Fisiología Universidad de Valencia.

Lubanda, J.C., Kudlicka J., Mlcek, M., Chochola, M., Neuzil, P., Linhart, A. & Kittnar, O., (2015). Renal denervation decreases effective refractory period but not inducibility of ventricular fibrillation in a healthy porcine biomodel: a case control study. *J Transl Med.* Jan. **13**(1), 4.

Lujan, H., Loka, A. & DiCarlo, S., (2005). Daily exercise-induced cardioprotection is associated with changes in calcium regulatory proteins in hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **288**, H532–H540.

Lujan, H. L., Britton, S. L., Koch, L. G., & DiCarlo, S. E. (2006). Reduced susceptibility to ventricular tachyarrhythmias in rats selectively bred for high aerobic capacity. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology.* **291**(6), H2933-41.

McArdle, W. D., Katch, F. I., & Katch, V. L. (2010). *Exercise Physiology: nutrition, energy and human performance.* (7a ed.). International Edition: Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins.

Mokelke, E. A., Palmer, B. M., Cheung, J. Y., & Moore, R.L. (1997). Endurance training does not affect intrinsic calcium current characteristics in rat myocardium. *The American Journal of Physiology*, **273**(3 Pt 2), H1193-7.

Moore, R. L., & Korzick, D. H. (1995). Cellular adaptations of the myocardium to chronic exercise. *Progress in Cardiovascular Diseases*, **37**(6), 371-396.

Moore, R. L., Musch, T. I., Yelamarty, R. V., Scaduto, R.C., Jr, Semanchick, A. M., Elensky, M., et al. (1993). Chronic exercise alters contractility and morphology of isolated rat cardiac myocytes. *The American Journal of Physiology*, **264**(5 Pt 1), C1180-9.

Morady, F., Kou, W. H., Nelson, S. D., de Buitelir, M., Schmaltz, S., Kadish, A. H., et al. (1988). Accentuated antagonism between beta-adrenergic and vagal effects on ventricular refractoriness in humans. *Circulation*, **77**(2), 289-297.

Mountcastle, V. B., Puche Álvarez, J., & Aréchiga Urtusuástigui, H. (1977). *Fisiología médica* (2a ed.). St. Louis MI: CV Mosby.

Mujika I, Hatard JC, Padilla S, Guezennec CY and Geysant A. (1996). Hormonal responses to training and its tapering off in competitive swimmers: relationships with performance. *Eur J Appl Physiol*. **74**(4), 361-366.

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

Neumar, R. W., Brown, C. G., Robitaille, P. M., & Altschuld, R. A. (1990). Myocardial high energy phosphate metabolism during ventricular fibrillation with total circulatory arrest. *Resuscitation*, **19**(3), 199-226.

Noakes, T. D., Higginson, L., Opie, L. H., (1983). Physical training increases ventricular fibrillation thresholds of isolated rat hearts during normoxia, hypoxia and regional ischemia. *Circulation*. **67**, 24-30.

Opie, L. H. (1998). *The heart: Physiology, from cell to circulation* (3rd ed.). Philadelphia: Lippincott-Raven.



Padrao, A.I., Ferreira, R., Vitorino, R., Alves, R.M., Figueiredo, P., Duarte, J.A., Amado, F. (2012). Effect of lifestyle on age-related mitochondrial protein oxidation in mice cardiac muscle. *Eur J Appl Physiol.* **112**,1467–1474.

Paffenbarger, R. S., & Hale, W. E. (1975). Work activity and coronary heart mortality. *The New England Journal of Medicine*, **292**(11), 545-550.

Pattengale, P.K. & Holloszy, J.O., (1967). Augmentation of skeletal muscle myoglobin by programs of treadmill running. *Am J Physiol.* **213**, 783-785.

Pelliccia, A., M. Di Paolo F., Quattrini, F.M., Basso, C., Culasso, F., Popoli, G., De Luca, R., Spataro, A., Biffi, A., Thiene, G., & Maron, B.J., (2008). Outcomes in Athletes with Marked ECG Repolarization Abnormalities. *N Engl J Med.* January. **358**:152-161.

Powers, S.K., Smuder, A.S., Kavazis, A.N., Quindry, J.C., (2014). Mechanisms of Exercise-Induced Cardioprotection. *Physiology (Bethesda)*. Jan; **29**(1): 27–38.

Quindry, J., French, J., Hamilton, K., Lee, Y., Mehta, J.L., Powers, S., (2005). Exercise training provides cardioprotection against ischemia-reperfusion induced apoptosis in young and old animals. *Exp Gerontol.* **40**, 416–425.

Rardon, D. P., & Bailey, J. C. (1983). Parasympathetic effects on electrophysiologic properties of cardiac ventricular tissue. *Journal of the American College of Cardiology.* **2**(6), 1200-1209.

Riviere, D., Crampes, F., Beauville, M., & Garrigues, M. (1989). Lipolytic response of fat cells to catecholamines in sedentary and exercise-trained women. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, **66**(1), 330-337.

Roden, D., Balsler, J., George, A. & Anderson, M., (2002). Cardiac ion channels. *Ann Rev of Physiol.* **64**: 431-475.

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

Rosenwinkel, E.T, Bloomfield, D.M., Arwady, M.A., and Goldsmith, R.L. (2001). Exercise and autonomic function in health and cardiovascular disease. *Cardiol. Clin.* **19**,369-387.

Sabbah, H.N., Ilsar, I., Zaretsky, A., Raastogi, S., Wang, M., and Gupta, R. C. (2011). Vagus nerve stimulation in experimental heart failure. *Heart Fail. Rev.* **16**, 171-178.

Schaible, T. F., & Scheuer, J. (1985). Cardiac adaptations to chronic exercise. *Progress in cardiovascular diseases.* **27**(5), 297-324.

Scher, A. M., & Spah, M. (1979). Cardiac depolarization and repolarization and the electrocardiogram. In R. Berne (Ed.), *Handbook of physiology. The cardiovascular system.* (pp. 357-392). Bethesda: American Physiological Society.

Scheuer, J., & Tipton, C. M. (1977). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annual Review of Physiology.* **39**, 221-251.

Seals, D. R., & Chase, P. B. (1989). Influence of physical training on heart rate variability and baroreflex circulatory control. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *66*(4), 1886-1895.

Selkurt, E. (1984). *Physiology* (5th ed.). Boston: Little, Brown and Company. Stein, R., Moraes, R.S., Cavalcanti, A.V., Ferlin, E.L., Zimmerman, L.I. & Ribeiro, J.P., (2002). Atrial automaticity and atrioventricular conduction in athletes: contribution of autonomic regulation. *Eur J Appl Physiol*. **82**: 155-157.

Stengl, M. (2010). Experimental models of spontaneous ventricular arrhythmias and of sudden cardiac death. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, *59 Suppl 1*, S25-31.

Strohmenger, H. U., Lindner, K. H., & Brown, C. G. (1997). Analysis of the ventricular fibrillation ECG signal amplitude and frequency parameters as predictors of countershock success in humans. *Chest*. **111**(3), 584- 589.

Such, L., Alberola, A. M., Such-Miquel, L., López, L., Trapero, I., Pelechano, F., et al. (2008). Effects of chronic exercise on myocardial refractoriness: A study on isolated rabbit heart. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, **193**(4), 331-339.

Such, L., Rodríguez, A., Alberola, A., López, L., Ruiz, R., Artal, L., et al. (2002). Intrinsic changes on automatism, conduction, and refractoriness by exercise in isolated rabbit heart. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, **92**(1), 225-229.

Sutton, P. M., Taggart, P., Opthof, T., Coronel, R., Trimlett, R., Pugsley, W., et al. (2000). Repolarisation and refractoriness

during early ischaemia in humans. *Heart (British Cardiac Society)*, **84**(4), 365-369.

Talan, D. A., Bauernfeind, R. A., Ashley, W. W., Kanakis, C., Jr, & Rosen, K. M. (1982). Twenty-four hour continuous ECG recordings in long-distance runners. *Chest*, **82**(1), 19-24.

Tibbits, G. F., Barnard, R. J., Baldwin, K. M., Cugalj, N., & Roberts, N. K. (1981). Influence of exercise on excitation-contraction coupling in rat myocardium. *The American Journal of Physiology*, **240**(4), H472-80.

Verdile L, J., Maron, B., Pelliccia, A., Spataro, A., Santini, M., Biffi A., (2014). Clinical significance of exercise-induced ventricular tachyarrhythmias in trained athletes without cardiovascular abnormalities. *Heart Rhythm*.**0**:1-8.

Tormos, A., (2005). Estudio experimental de los efectos de la hipotermia y la hipertermia local sobre los parámetros electrofisiológicos del miocardio y la frecuencia de activación de la fibrilación ventricular. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València.

Viitasalo, M. T., Kala, R., & Eisalo, A. (1982). Ambulatory electrocardiographic recording in endurance athletes. *British Heart Journal*, **47**(3), 213-220.

Viitasalo, M. T., Kala, R., & Eisalo, A. (1984). Ambulatory electrocardiographic findings in young athletes between 14 and 16 years of age. *European Heart Journal*, **5**(1), 2-6.

Walker, J., BS<sup>a</sup>, Calkins, H., Nazarian, S., (2010). Evaluation of Cardiac Arrhythmia among Athletes. *Am J Med*.December.**123** (12), 1075–1081.

Wannamethee, S. G., & Shaper, A. G. (2001). Physical activity in the prevention of cardiovascular disease: An epidemiological perspective. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, **31**(2), 101-114.

West. (1998). *Bases fisiológicas de la práctica médica*. 12ª edición. Ed. Médica Panamericana.

Whelton SP, Chin A, Xin X, He J. (2002). Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med*; **136**: 493–503.

Wijffels, M. C., Kirchhof, C. J., Dorland, R., & Allessie, M. A. (1995). Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*, **92**(7), 1954-1968.

Wirth A, Diehm C, Mayer H, Mörl H and Vogel I. (1981). Plasma C-peptide and insulin in trained and untrained subjects. *J Appl Physiol* .**50**, 71-77.

Wit, A.L. & Janse, M.J., (1993). *The Ventricular Arrhythmias of Ischemia and Infarction*. Mount Kisco, NY: Futura.

Wood, P. D., Stefanick, M. L., Williams, P. T., & Haskell, W. L. (1991). The effects on plasma lipoproteins of a prudent weight-reducing diet, with or without exercise, in overweight men and women. *The New England Journal of Medicine*. **325**(7), 461-466.

Wood, S.C., Doyle, M.P., Appenzeller O., (1991). Effects of endurance training and long distance running on blood viscosity. *Med Sci Sports Exerc.* Nov;**23**(11),1265-9.

Yamamoto, K., Miyachi, M., Saitoh, T., Yoshioka, A. & Onodera, S.(2001). Effects of endurance exercise training on resting and post-exercise cardiac autonomic control. *Medicine & Science in Sports & Exercise by the American College of Sports Medicine.***33**(9).1496-1502.

Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanus, F., et al. (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet.* **364**(9438), 937-952.

Zaitsev, A. V., Guha, P. K., Sarmast, F., Kolli, A., Berenfeld, O., Pertsov, A. M., et al. (2003). Wavebreak formation during ventricular fibrillation in the isolated, regionally ischemic pig heart. *Circulation Research.* **92**(5), 546-553.

Zarzoso, M., (2011). Modificaciones del automatismo, conducción, refractariedad miocárdicas y del patrón fibrilatorio ventricular producidas por el ejercicio físico crónico. Influencia del sistema nervioso cardiaco. Tesis doctoral. Departamento de fisiología de la Universidad de Valencia.

Zuanetti, G., De Ferrari, G.M., Priori, S.G., Schwartz, P.J., (1987). Protective effect of vagal stimulation on reperfusion arrhythmias in cats. *Circ Res.* Sep;**61**(3),429-35.

Zuti, W. B., & Golding, L. A. (1976). Comparing diet and exercise as weight reduction tools. *Phys Sports Med.***4**, 49-54.