

DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA

EFFECTOS DEL EJERCICIO FÍSICO CRÓNICO SOBRE LA
EXCITABILIDAD INTRÍNSECA MIOCÁRDICA. ESTUDIO
EXPERIMENTAL

LAURA LÓPEZ BUENO

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Servei de Publicacions
2008

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 14 de març de 2008 davant un tribunal format per:

- D. Ángel Llácer Escorihuela
- D. Juan Cosín Sales
- D^a. Asunción Gandía Balaguer
- D. José Millet Roig
- D. Antonio Alberola Aguilar

Va ser dirigida per:

D. Luis Such Berenguer

D. Luis Such Miquel

©Copyright: Servei de Publicacions
Laura López Bueno

Depòsit legal:

I.S.B.N.: 978-84-370-7165-7

Edita: Universitat de València

Servei de Publicacions

C/ Artes Gráficas, 13 bajo

46010 València

Spain

Telèfon: 963864115



DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

**Efectos del ejercicio físico
crónico sobre la excitabilidad
intrínseca miocárdica. Estudio
experimental.**

Presentado por: Laura López Bueno.

Dirigido por: Prof. Dr. D. Luis Such Belenguer.

Prof. Dr. D. Luis Such Miquel.

Esta tesis doctoral ha sido realizada 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.

A todos aquéllos que me han acompañado en el camino:

*A los que me han enseñado a
hacer preguntas*

A los que me han dado respuestas

*A los que han compartido mis
sueños*

A todos vosotros, por ayudarme a crecer

Gracias

Abreviaturas

AV	—	Auriculoventricular.
DEP	—	Densidad del espectro de potencia.
DPA	—	Duración del potencial de acción.
FA	—	Fibrilación auricular.
FrD	—	Frecuencia dominante de la señal fibrilatoria.
FrDMáx	—	Frecuencia dominante máxima de la señal fibrilatoria.
FrDMin	—	Frecuencia dominante mínima de la señal fibrilatoria.
FV	—	Fibrilación ventricular.
LO	—	Longitud de onda.
PA	—	Potencial de acción.
PRE	—	Periodo refractario efectivo.
PREA	—	Periodo refractario efectivo auricular.
PREV	—	Periodo refractario efectivo ventricular.
PRF	—	Periodo refractario funcional.
PRFA	—	Periodo refractario funcional auricular.
PRFV	—	Periodo refractario funcional ventricular.
PRR	—	Periodo refractario relativo.
PRSCAV	—	Periodo refractario del sistema de conducción auriculoventricular.
PRSCVA	—	Periodo refractario del sistema de conducción ventriculoauricular.
PSN	—	Periodo de supernormalidad.

SCAV	—	Sistema de conducción auriculoventricular.
SCVA	—	Sistema de conducción ventriculoauricular.
TEEA	—	Test del extraestímulo auricular.
TEEV	—	Test del extraestímulo ventricular.
VA	—	Ventriculoauricular.
VC	—	Velocidad de conducción.

Canales iónicos

I_{Ca}	—	Corriente de entrada lenta de Ca^{2+} .
I_{CaL}	—	Corriente de Ca^{2+} de larga duración.
I_{CaT}	—	Corriente de Ca^{2+} transitoria.
I_f	—	Corriente marcapasos.
I_K	—	Rectificador retrasado.
I_{KAch}	—	Corriente de K^+ sensible a la acetilcolina.
I_{KATP}	—	Corriente de K^+ regulada por ATP.
I_{Kh}	—	Canal marcapasos.
I_{Kp}	—	Corriente de K^+ en la fase de meseta.
I_{Kr}	—	Corriente rectificadora tardía, rápida.
I_{Ks}	—	Corriente rectificadora tardía, lenta.
I_{KUr}	—	Corriente rectificadora tardía, ultrarrápida.
I_{K1}	—	Corriente rectificadora interna.
I_{Na}	—	Corriente rápida de entrada de Na^{2+} .

- $I_{\text{sus}} (I_{\text{late}})$ — Corriente repolarizante de K^+ de inactivación lenta.
- I_{to} — Corriente transitoria de salida de K^+ .

Índice

1.- INTRODUCCIÓN.....	13
1.1.- Objetivos	14
1.2.- Justificación de los objetivos (antecedentes)	14
1.2.1.-Aspectos fundamentales de la electrofisiología celular miocárdica. Activación eléctrica cardiaca	14
1.2.1.1.- Análisis del potencial de acción de las células miocárdicas	15
1.2.1.2.- Cambios de la excitabilidad miocárdica durante el potencial de acción: estudio de la refractoriedad. Correspondencia entre el potencial de acción y los periodos refractarios	22
1.2.1.3.- Conducción del impulso eléctrico por el miocardio. Análisis de la conducción en el miocardio ventricular	28
1.2.1.4.- Longitud de onda del proceso de activación eléctrica del miocardio	37
1.2.2.- Modificaciones electrofisiológicas cardiacas producidas por el entrenamiento	38

1.2.2.1.- Adaptaciones al entrenamiento: generalidades	38
1.2.2.2.- Consideraciones especiales respecto a las adaptaciones cardiacas	48
1.2.2.3.- Adaptaciones electrofisiológicas miocárdicas: automatismo y conducción auriculoventricular. Otras modificaciones electrofisiológicas	54
1.2.2.4.-Adaptaciones electrofisiológicas miocárdicas: de la refractariedad y conducción ventricular intrínsecas	65
1.2.3.- Estudio especial de las características de la fibrilación ventricular inducida, como parámetro electrofisiológico de excitabilidad.....	70
1.2.3.1.- Generalidades: concepto y evolución del conocimiento sobre la fibrilación ventricular	70
1.2.3.2.- Métodos de análisis de la fibrilación ventricular	75
1.3.- Resumen de la justificación de los objetivos e hipótesis de trabajo.....	80
1.4.- Plan de trabajo	81
2.- MATERIAL Y MÉTODOS	83
2.1.- Material	84

2.1.1.- Animales de experimentación: características	84
2.1.2.- Reactivos	84
2.1.3.- Aparatos	85
2.2.- Métodos	90
2.2.1.- Protocolo de entrenamiento de los animales	90
2.2.2.- Estudio electrofisiológico	92
2.2.2.1.- Preparación experimental	92
2.2.2.2.- Parámetros a estudiar: definición y determinación de los mismos	94
2.2.2.3.- Grupos de estudio	103
2.2.2.4.- Protocolo experimental	104
2.3.- Análisis estadístico	105
2.4.- Legislación	105
2.5.- Financiación	106
3.- RESULTADOS	107
3.1.- Automatismo	108
3.2.- Conducción	110
3.3.- Refractoriedad	112

3.4.-Frecuencia de la fibrilación ventricular	120
4.- DISCUSIÓN	122
4.1.- Algunas consideraciones generales	123
4.2.- Consideraciones relativas a los métodos empleados	124
4.3.-Respecto a los resultados obtenidos	127
4.3.1.-Respecto al automatismo como parámetro cardiovascular de entrenamiento	127
4.3.2.- Respecto a la velocidad de conducción.....	131
4.3.3.- Respecto a la refractariedad.....	133
4.3.4.- Respecto a la longitud de onda del proceso de activación	151
4.3.5.- Respecto a la frecuencia de la fibrilación ventricular.....	153
4.3.6.- Consideraciones finales respecto a los resultados obtenidos	156
4.4.- Limitaciones del estudio	157
5.- CONCLUSIONES	159
6.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	162

CAPÍTULO 1

Introducción

1.1.- Objetivos.

Los objetivos del presente trabajo han sido analizar, en corazón aislado de conejo, los efectos del ejercicio físico crónico sobre:

a) la velocidad de conducción ventricular intrínseca,

b) la refractariedad intrínseca auricular, ventricular y del sistema de conducción auriculoventricular y ventriculoauricular retrógrada,

c) el producto de la velocidad de conducción por el periodo refractario efectivo ventricular, esto es, la longitud de onda del proceso de activación ventricular, y

d) la frecuencia de la fibrilación ventricular inducida, como parámetro estrechamente relacionado con la refractariedad ventricular.

1.2.- Justificación de los objetivos (antecedentes).

1.2.1.- Aspectos fundamentales de la electrofisiología celular miocárdica. Activación eléctrica cardíaca.

1.2.1.1.- Análisis del potencial de acción de las células miocárdicas.

Vamos a realizar unas consideraciones previas respecto a la actividad eléctrica en reposo del tejido miocárdico, y comenzamos pues con el concepto de potencial de reposo. Posteriormente, analizaremos el potencial de acción (PA):

a) Potencial de reposo:

En las células ventriculares se mantiene el valor electronegativo del potencial de reposo de una manera estable (a diferencia de lo que ocurre en las células marcapasos) y durante un corto tiempo hasta que se produce la siguiente despolarización del PA. En esta fase intervienen la corriente de rectificación interna (I_{K1}), responsable de mantener el potencial de reposo cerca del potencial de equilibrio del K^+ y el intercambiador Na/K^+ , bomba dependiente de ATP que genera una corriente iónica ($I_{Na/K\ pump}$) al expulsar iones Na^+ de la célula e introducir iones K^+ , con una relación de 3 iones Na^+ por cada 2 iones K^+ .

b) Potencial de acción (fig. 1.1):

La **fase de despolarización rápida** se caracteriza por una fuerte pendiente de subida ($dV_m/dt = 393$ V/s, Kléber y Rudy, 2004), registrándose una variación desde el valor del potencial electronegativo propio del reposo hasta aproximadamente +20 mV. Esta fase se debe a la activación de la corriente rápida de entrada de Na^+ (I_{Na}) que se inactiva cuando la diferencia de potencial se aproxima al potencial de equilibrio del Na^+ (aproximadamente a +30 mV) y dura entre 1 y 2 ms. Esta fase también es denominada fase 0. Aunque esta corriente de entrada de Na^+ se ha relacionado solamente con la despolarización de las células miocárdicas no marcapasos, recientemente han sido realizados estudios sobre una corriente de entrada rápida de este ión, en las células del nodo sinusal (Lei *et al.*, 2007) y aunque su función en el nodo sinusal es incierta, se sabe que esta corriente, si bien no se halla en todas las células marcapasos, se inactiva en potenciales de membrana relativamente positivos y recientes evidencias sugieren una fuerte correlación entre disfunción del nodo sinusal humano y defectos en esta corriente (Lei *et al.*, 2007).

En la **fase de meseta** del PA, el potencial se mantiene aproximadamente constante y se debe a la activación voltaje dependiente de la corriente de entrada de Ca^{2+} a través de los canales que vehiculan la corriente $I_{\text{Ca-L}}$. Su duración es de unos

200 ms en las células ventriculares humanas, variando de unas especies a otras y de unas condiciones a otras. Esta corriente se activa cuando el potencial de membrana alcanza unos -25 mV y provee una corriente despolarizante que mantiene el “plateau” contra la acción repolarizante de las corrientes I_{kr} e I_{ks} . En el caso de las aurículas humanas y caninas, así como en el corazón de los ratones y de las ratas, existe una corriente adicional, la I_{kur} , que se activa más rápidamente que la I_{kr} . (Roden *et al.*, 2002). Esta fase también es denominada fase 2.

En la **fase de repolarización**, aumenta la velocidad de repolarización hasta que el potencial de membrana alcanza el valor propio del potencial de reposo. Se debe a la inactivación de la I_{Ca} , a la máxima activación de las corrientes de salida de K^+ de rectificación tardía (I_{kr} e I_{ks}) y a la activación de la corriente de rectificación interna (I_{k1}) en la fase final. También participa en el PA la activación del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (I_{ncx}), que si bien actúa de tal manera que produce una extracción de tres iones Na^+ e introducción de un ión Ca^{2+} , posteriormente se invierte su acción y ejerce un efecto electrogénico que prolonga algo la duración del PA al final del “plateau”, ya que en este caso extrae un ión Ca^{2+} por cada tres iones Na^+ que introduce. Su duración aproximada es de 100 ms. Esta fase también es denominada fase 3.

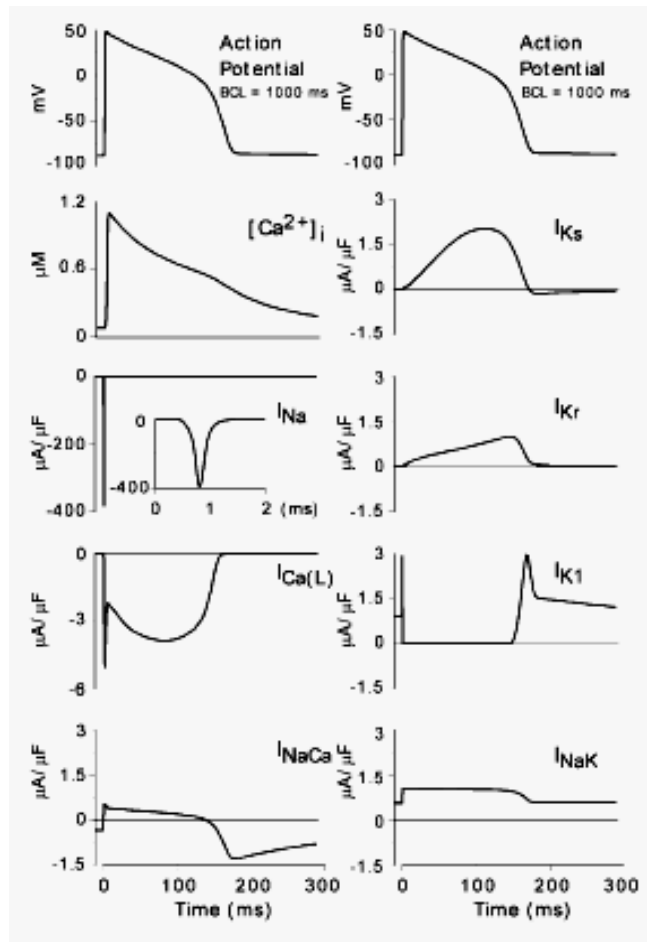


Fig.1.1. Corrientes, intercambiadores y concentraciones principales que actúan durante el PA de una célula subendocárdica ventricular. Tomado de Rudy (Kléber y Rudy, 2004).

Hay que tener en cuenta en las células subepicárdicas, además, la corriente I_{to} , que es la responsable de la aparición de la fase de repolarización rápida (fig. 1.2):

La fase de repolarización rápida se debe a la inactivación de la I_{Na} , y a la activación de la corriente transitoria de salida de K^+ (I_{to}), que se inactiva de forma dependiente del tiempo y del voltaje. Esta fase también es denominada fase 1 del PA.

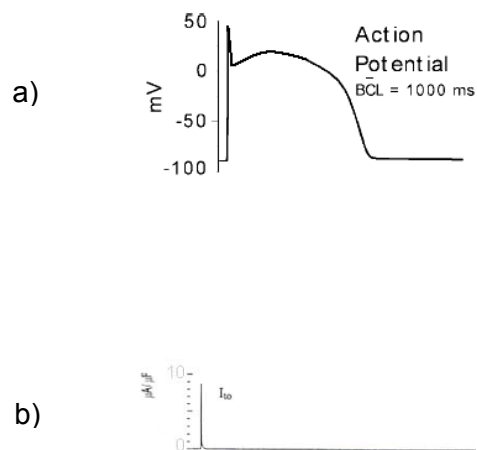


Fig.1.2. Corriente transitoria de potasio en el potencial de acción de una célula subepicárdica ventricular. a) modificado de Rudy (Kléber y Rudy, 2004). b) modificado de Jalife *et al.* (1999).

Como vemos, hay un gran número de corrientes iónicas que participan en la génesis del potencial de acción. Efectivamente, las membranas de las células miocárdicas poseen un enorme dispositivo de canales y sistemas de intercambio a lo largo del sarcolema (fig. 1.3).

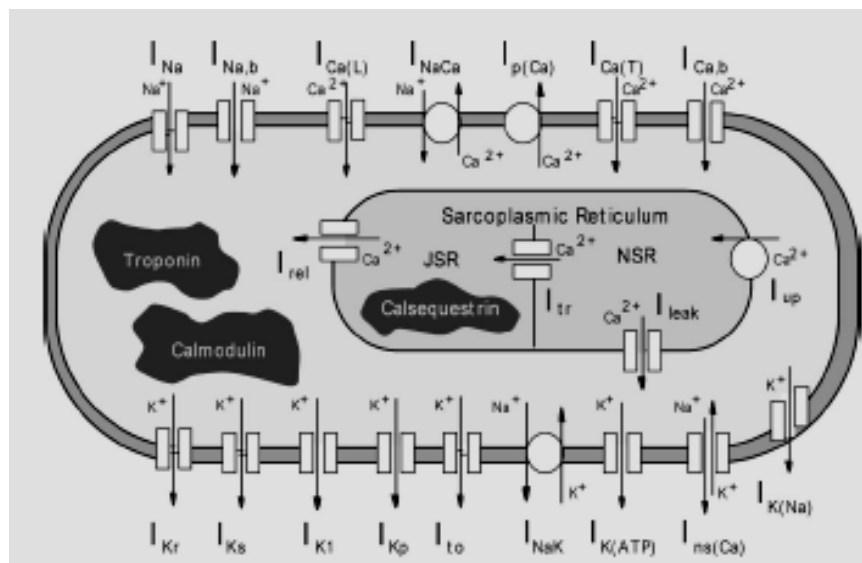


Fig.1.3. Diagrama de un modelo de célula ventricular. Tomado de Luo-Rudy (Kléber y Rudy, 2004).

Además de las corrientes implicadas en el PA de las células ventriculares (dichas corrientes son cuantitativamente distintas en el miocito auricular y en el ventricular, como hemos mencionado previamente), en los miocitos auriculares existe la corriente de salida de K^+ sensible a la acetilcolina ($I_{K_{Ach}}$) y la corriente de salida de K^+ perteneciente al rectificador retardado (I_{Kur}). En la figura 1.4 podemos observar el trazado correspondiente al PA de las células auriculares y ventriculares, así como el correspondiente a las corrientes iónicas y sistemas de intercambio que participan.

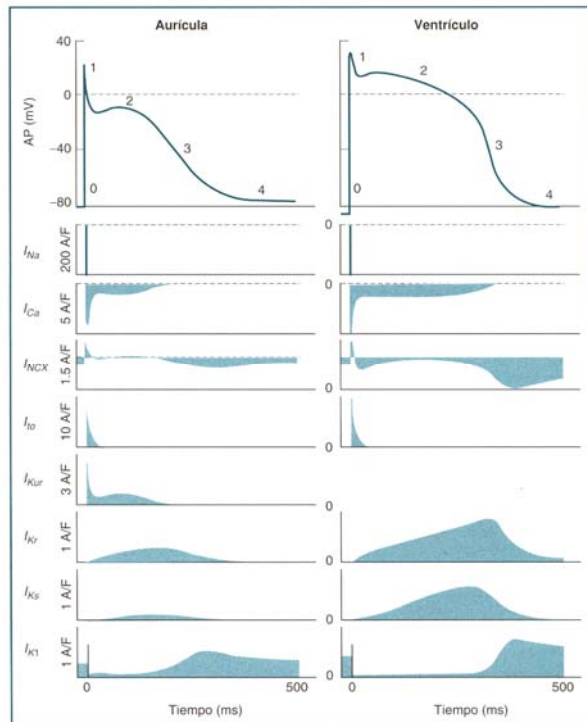


Fig. 1.4. Ondas representativas del PA cardiaco. Podemos observar el PA de miocitos auriculares y ventriculares. Tomado de Zipes y Jalife, 2006.

En la figura 1.5 se muestra el impacto de la fibrilación auricular (FA) en los PA y las corrientes iónicas de los miocitos auriculares humanos. Así, observamos por una parte el PA de un sujeto sano, de 26 años, con un ritmo sinusal normal, y, por otra parte, el PA de un paciente de 73 años con FA persistente durante tres años. Las corrientes que contribuyen al PA humano están ilustradas esquemáticamente, junto con los

cambios documentados en las corrientes funcionales, a la izquierda, y los genes subyacentes, a la derecha.

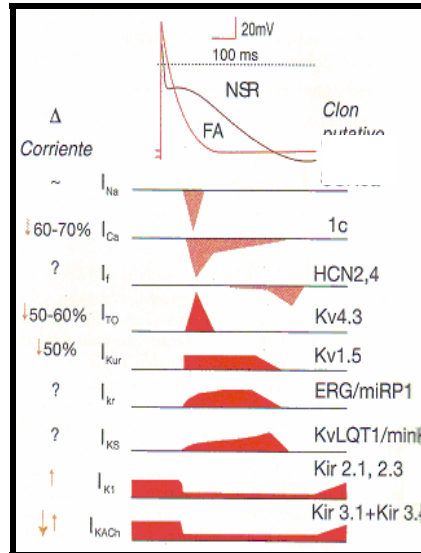


Fig. 1.5. Impacto de la FA en los PA y las corrientes iónicas de los miocitos auriculares humanos. Tomado de Zipes y Jalife, 2006.

1.2.1.2.- Cambios de la excitabilidad miocárdica durante el potencial de acción: estudio de la refractariedad. Correspondencia entre el potencial de acción y los periodos refractarios.

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

El **periodo refractario absoluto** (PRA) puede determinarse en la célula aislada y constituye el periodo durante el cual la membrana no puede ser reexcitada por un estímulo externo, con independencia del nivel de carga eléctrica aplicado. Por tanto, el estímulo no es capaz de producir una respuesta no solamente no propagada, sino tampoco local. En las redes de células, el PRA no puede determinarse con exactitud a causa de los diferentes tiempos de recuperación de las diversas células en la red y por lo general, se determina el periodo refractario efectivo para estas redes celulares.

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

El **periodo refractario relativo** (PRR) comienza al final del PRE y constituye el intervalo de tiempo tardío en el PA durante el cual puede generarse un potencial de acción propagado pero con un estímulo despolarizante que es mayor de lo normal; es decir, el mínimo estímulo despolarizante que pueda iniciar un PA propagado.

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

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

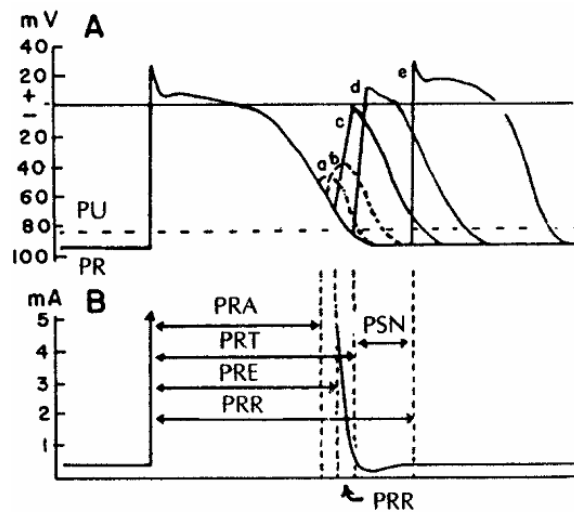


Fig. 1.6 A. PA de membrana normal y respuestas a una serie de estímulos aplicados durante y el final de la repolarización y después de él. B. Duraciones aproximadas del periodo refractario absoluto (PRA), periodo refractario total (PRT), periodo refractario efectivo (PRE), tiempo de recuperación total (TRT), periodo supernormal (PSN) y periodo refractario relativo (PRR). (Tomado de West, 1998).

En las células ventriculares, que en general conducen con rapidez, la recuperación de la excitabilidad o refractariedad, es principalmente dependiente del voltaje, mientras que en las células de respuesta lenta, en general asociadas con una velocidad de conducción lenta, la recuperación es sobre todo dependiente del tiempo. De este modo, en las células del tipo de respuesta lenta, la repolarización de la célula hacia su potencial en reposo no

coincide necesariamente con la recuperación de la excitabilidad. (West, 1998).

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

El **PRA** ocurre porque, una vez el PA se ha producido, no se dispone de más corrientes activas de entrada para conseguir despolarizar la membrana. Los canales de Na^+ comienzan a inactivarse, a no conducir, durante la despolarización. Desde la inactivación, se requiere un periodo de recuperación para que estos canales puedan comenzar a conducir de nuevo (Jalife *et al.*, 1999).

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

El **PRR** se produce al avanzar la repolarización, cuando el potencial de membrana aumenta de 60 a 70 mV y entonces puede producirse un PA propagado. A este nivel de potencial de membrana, la tasa de movimiento de entrada de Na^+ es tan lenta que es necesaria una intensidad de corriente mucho mayor para que el movimiento de entrada de Na^+ alcance la suficiente rapidez para generar el PA, que será pequeño y lento, característico del bajo nivel de potencial de membrana que lo origina. Además, existe un movimiento de salida de iones de K^+ a través de la membrana durante la repolarización, el cual tiende a contrarrestar los efectos de la estimulación catódica y de la corriente de entrada de Na^+ (Mountcastle, 1974).

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

Respecto a la correspondencia entre el PA y los periodos refractarios, realizaremos las siguientes consideraciones: en condiciones normales, el periodo refractario es predominantemente voltaje dependiente y termina con la

completa repolarización del PA (Hoffman y Cranefield, 1960, tomado de Sutton *et al.*, 2000). Precisamente, esto ha servido de base para el uso de fármacos que incrementan la duración del PA en el tratamiento de las arritmias (para revisión, ver Sutton *et al.*, 2000). No ocurre como hemos señalado en los primeros minutos de isquemia miocárdica global, en los cuales la duración del PA disminuye y el periodo refractario se alarga.

1.2.1.3.- Conducción del impulso eléctrico por el miocardio. Análisis de la conducción en el miocardio ventricular.

Una característica del nodo sinusal es que permite una propagación de la actividad eléctrica muy lenta, del orden de 0,05 m/s, que parece estar relacionada con los potenciales de reposo bajos y con el lento ascenso de los potenciales de acción de esta zona (Hoffmann y Cranefield, 1960, tomado de Mountcastle, 1974).

Este impulso aumenta la velocidad cuando atraviesa los tejidos que unen al nodo sinusal con la musculatura auricular y, a partir de aquí, es cuando se difunde la onda excitatoria muy rápidamente por la musculatura, a velocidad constante de 1 m/s. La excitación se propaga en forma radial y fue comparada

por Lewis, 1925 (tomado de Mountcastle, 1974), a la de un "líquido colocado en una superficie plana".

No se ha hecho una descripción histológica de ninguno de los tejidos de conducción que están especializados en la aurícula, como ocurre con la red de Purkinje del ventrículo, pero los datos electrofisiológicos sugieren que podrían haber unas vías preferentes para la conducción de impulsos en las aurículas del perro y conejo (Paes *et al.*, 1961 y Paes *et al.*, 1959, tomado de Mountcastle, 1974) ya que se han registrado potenciales de acción tipo Purkinje en fibras unitarias del haz anular del seno (Paes *et al.*, 1961, tomado de Mountcastle, 1974) que rodea a las venas cavas donde se unen la pared venosa con el músculo auricular. Es de este haz de donde desciende una rama directamente a la zona del seno coronario próximo al nodo auriculoventricular (AV).

Se ha postulado que hay tres vías internodales por donde pasa el impulso cardiaco a través de la aurícula y que en éstas, las células que encontramos son histológicamente similares a las del sistema de Purkinje. Estas células son más resistentes a una concentración extracelular de K^+ aumentada (Opie, 1998).

El modelo de activación auricular ha sido estudiado mediante isocronas (Scher y Spah, 1979) cuyo modelo de movimiento muestra cómo se propaga el impulso. Algunos estudios muestran que funcionalmente no hay vías auriculares

especializadas. Además, el sistema de conducción del septo atrial propaga impulsos desde el nodo sinusal al nodo AV y sus células tienen propiedades funcionales especializadas, con lo que no se encuentran necesariamente en las tres vías internodales.

La conducción a través del nodo AV tiene lugar de la siguiente forma: cuando el impulso llega a las fibras miocárdicas que unen las aurículas y los ventrículos, tiene lugar una pausa en la propagación de la excitación hacia los ventrículos que es la que permite, fundamentalmente, que la sístole auricular finalice antes de que se inicie la excitación ventricular (Opie, 1998).

Sobre la localización y el mecanismo por el cual se produce esa pausa en la propagación del impulso a través de la región AV se ha discutido mucho, pero sólo se tienen pruebas experimentales indirectas (Mountcastle, 1974). Se llevaron a cabo unos estudios preliminares de la siguiente forma: seccionando o comprimiendo diferentes partes del nodo y observando cuál era la porción más importante para que se pudiese mantener la conducción normal a los ventrículos. Fue así como se demostró que este retraso ocurría preferentemente en la zona auricular del nodo (Erlanger, 1912, Eyster y Meek, 1916 y Hering, 1910, tomado de Mountcastle, 1974).

Los potenciales de membrana se registraron en fibras unitarias de la aurícula, y al mismo tiempo en el nodo AV y el haz de His en corazones de conejos y perros (Hoffman y Cranefield, 1960, Horrman y Suckling, 1953, y Sano *et al.*, 1960, tomado de Mountcastle, 1974).

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

Anteriormente se había explicado el retraso de la conducción a través del nodo AV, suponiendo que había vías largas del nodo donde la velocidad de conducción era normal o el periodo refractario intranodal era prolongado; sin embargo las pruebas mencionadas anteriormente mostraron que las vías de conducción tenían una longitud normal, pero era la velocidad de ésta mucho menor en la zona entre la aurícula y el nodo AV.

Si se hacía un registro del potencial de acción (PA) con un microelectrodo en la parte superior del nodo AV, se veía que

era poco viable ya que la duración del potencial de acción de las fibras de unión no era mucho mayor que el de las fibras musculares comunes de la aurícula. Fueron Hoffman y Cranefield, 1960 (tomado de Mountcastle, 1974), los que propusieron una tercera posibilidad para el retraso de la conducción en el nodo.

Éstos postularon que el impulso se conduce con decremento y a baja velocidad a través de la región limítrofe entre la aurícula y el nodo y definen la conducción decremental de la siguiente forma: “Es un tipo de conducción en el que las propiedades de la fibra cambian a lo largo de su longitud, de tal manera que el PA se hace gradualmente menos eficaz como estímulo para la porción no excitada de la fibra”.

También fueron Hoffmann y Cranefield (1960) los que observaron que la amplitud y la velocidad de despolarización del PA disminuían conforme se alejaba de la aurícula, debido a que la eficacia del PA como estímulo para el tejido adyacente dependía de su magnitud y de la velocidad de su ascenso (Weidmann, 1956, tomado de Mountcastle, 1974); de esta forma, esta disminución podía causar decremento en la conducción.

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

capacidad de la membrana, la magnitud del potencial de reposo y el diámetro y configuración de las fibras. El potencial de reposo de las fibras, en el límite aurículo-nodal y en la parte superior del nodo AV, es menor que el de las fibras musculares de la aurícula y el ventrículo (Hoffman y Cranefield, 1960, tomado de Mountcastle, 1974).

El diámetro de las fibras miocárdicas que se encuentran en la zona auricular del nodo es menor que el de las fibras auriculares y existen muchas interconexiones entre las fibras limítrofes (Tawara, 1906, tomado de Mountcastle, 1974). En la región inferior del nodo AV y en el haz de His, el diámetro de las fibras musculares aumenta gradualmente conforme se reduce la ramificación de estas fibras.

En la tabla 1.1 podemos observar los diferentes diámetros de las fibras y la velocidad de conducción en los diferentes tejidos cardiacos tanto específicos de la conducción nerviosa como de los diferentes tipos de miocardiocitos. Por eso, la conducción lenta y decremental del impulso a través de la región superior del nodo podría estar relacionada con el pequeño tamaño y la ramificación profusa de las fibras en esta área.

Sitio	Diámetro de la fibra <i>mm</i>	Velocidad de conducción <i>m/s</i>
Nódulo sinusal	2- 7	
Aurícula	3- 17	0.8- 1
Fibras AV (aprox. 5 mm)	3- 11	0.05
Rama Haz de His	9 -18	2
Miocardio ventricular	10- 12	
Subendocardio		1
Subepicardio		0.4- 1

Tabla 1.1. Diámetro de las fibras y velocidad de conducción en el corazón humano, de Butereisen (1970), tomado de West (1998).

Respecto a la célula miocárdica ventricular, cuando se despolariza, se establece un gradiente entre esa célula y la vecina inmediata (Jalife *et al.*, 1999). Así, la corriente generada por el PA en la primera célula actúa como una corriente excitatoria para las células colindantes. El PA llega a ser la fuente de corriente y el potencial de membrana intracelular en reposo (de la célula vecina) constituye el sumidero. La corriente despolarizante generada por el PA se propaga electrotonicamente como un circuito de corriente local. Para las células que están lejos de la fuente, el potencial electrotonico está por debajo del umbral y su amplitud decae exponencialmente con la distancia. Sin embargo, para la segunda célula la corriente fuente causa una despolarización suficiente para conducir a esta célula, a su potencial umbral. El

inicio de este potencial de acción genera un nuevo influjo de corriente de entrada que acaba afectando al conjunto. Esta segunda célula favorece una fuente de corriente para esas células que están a lo largo del trayecto y el proceso se repite por sí mismo, viajando el PA a lo largo de la fibra (fig. 1.7).

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

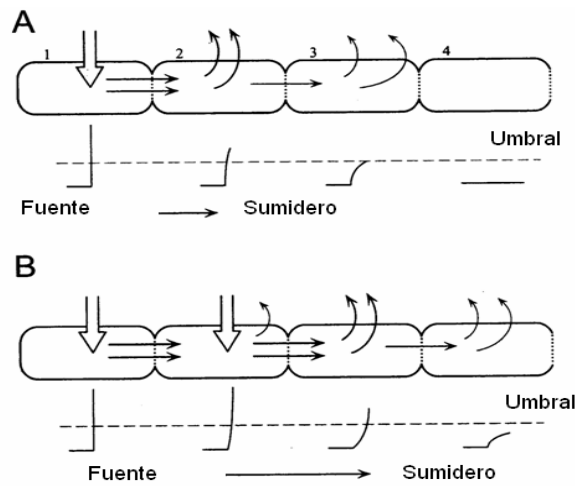


Fig.1.7. Distribución de las cargas intracelulares durante la propagación de un PA, desde la despolarización (fuente) al resto de la célula (sumidero). A: la fuente está localizada en la célula 1; B: el sumidero se extiende a la célula 2. Modificado de Jalife *et al.* (1999).

La velocidad de propagación del impulso eléctrico, en los miocitos ventriculares, va a estar relacionada de una manera muy estrecha con la corriente de entrada despolarizante (fase 0 del PA) de Na^+ , a diferencia del tejido nodal en el que tal corriente la produce el movimiento de Ca^{2+} . De hecho y como es sabido, los antiarrítmicos de la clase I actúan sobre la fase 0 del PA, disminuyendo la corriente de entrada de sodio, y por tanto, la velocidad de conducción, como ocurre al administrar sustancias tales como la quinidina, procainamida o disopiramida, encainida, flecainida, etc.

La velocidad de la propagación del impulso eléctrico también puede modificarse en función de la mayor o menor densidad de comunicaciones intercelulares. Así, por ejemplo, en situaciones en las que se produce un incremento en la concentración de protones, como es el caso de la isquemia miocárdica, pueden causar cierre de los canales de las comunicaciones llamadas *Gamp Junctions*, y por tanto disminuir el movimiento de cargas eléctricas desde la fuente, para despolarizar a las células adyacentes (Jalife, 1999).

1.2.1.4.- Longitud de onda del proceso de activación eléctrica del miocardio.

Como sabemos desde los estudios de Mines en 1913 (citado por Kléber y Rudy, 2003), este autor definió uno de los requerimientos básicos para la iniciación de la excitación reentrante, que como es bien sabido es el mecanismo básico de un gran número de arritmias: era la existencia de un bloqueo unidireccional de conducción. Pero además Mines se dio cuenta de que la iniciación y el mantenimiento de la re-entrada era dependiente tanto de la velocidad de conducción como del periodo refractario. Por tanto, en la medida en que la extensión de la zona refractaria que sigue a la onda de excitación, la llamada longitud de onda del proceso de excitación era menor que la longitud total de la vía anatómica re-entrante, una zona de tejido excitable, el llamado *gap* excitable, existía entre la cola de la onda precedente y la cabeza de la siguiente (Kléber y Rudy, 2003). Por tanto es preciso la existencia de un “hueco” excitable para que se mantengan estables los movimientos circulares y lo hagan a una frecuencia constante durante horas. En el caso de que la longitud de onda sea mayor que la longitud del circuito anatómico, la extinción de la onda será lo que tenga lugar como resultado de dicha situación (Kléber y Rudy, 2003).

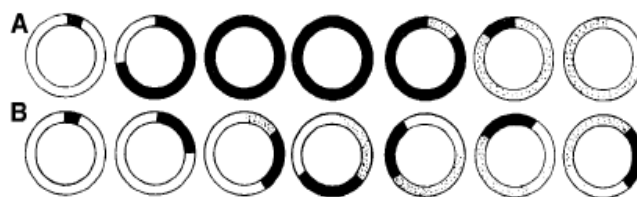


Fig. 1.8. Modelo de reentrada anatómica determinada presentado por Mines, 1913 (tomado de Kléber y Rudy, 2004). Excitado, el tejido refractario está marcado en negro; el tejido refractario relativo está marcado por puntos. Los anillos blancos son totalmente excitables. A: el bloqueo unidireccional produce excitación que se propaga solamente en el sentido horario. Cuando la longitud de onda de excitación es más larga que la longitud del anillo, el frente de onda colisiona con su propia cola refractaria y llegará a extinguirse. B: la longitud de onda es más corta y el tejido está excitable en el punto en que la onda se origina cuando la onda original ha viajado a lo largo del círculo completo; esto posibilita que la reentrada pueda ocurrir.

1.2.2.- Modificaciones electrofisiológicas cardiacas producidas por el entrenamiento.

1.2.2.1.- Adaptaciones al entrenamiento: generalidades.

Comenzaremos este apartado haciendo algunas consideraciones de tipo conceptual acerca de lo que se entiende por adaptaciones al ejercicio.

A los cambios morfológicos y/o funcionales inducidos por la realización regular de ejercicio físico que además son más o

menos duraderos, y que preparan mejor al organismo para la realización de ejercicio, se les cataloga como adaptación fisiológica para el esfuerzo. La adaptación al ejercicio requiere tiempo (algunas semanas al menos). “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” (Lamb, 1989).

En la adaptación fisiológica al ejercicio (entrenamiento) hay:

a) Por una parte, una alteración de la constancia del Medio Interno, modificando sus condiciones físicas y químicas, lo cual es detectado por el organismo de alguna manera, el cual a continuación elabora las respuestas homeostáticas de tipo “neurohumorohormonal” adecuadas. Esto último provoca modificaciones funcionales en los diferentes órganos y sistemas implicados.

b) Por otra parte, la realización crónica de ejercicio crea además un tipo de señal que es detectada por el organismo y que lo hace responder cuando se realiza el ejercicio físico agudo de manera diferente a como lo haría sin la realización previa del ejercicio crónico (Lamb, 1989). En el esquema que sigue a continuación (fig. 1.8) se señalan las interrelaciones

creadas en lo que es la respuesta al ejercicio y al entrenamiento.



Fig. 1.9. Interrelaciones que implican la respuesta al ejercicio y al entrenamiento (modificado de Lamb, 1989).

El entrenamiento físico afecta a una serie de factores que constituyen la capacidad de rendimiento (“performance”) físico, lo cual implica cambios funcionales y estructurales en una serie de sistemas y órganos, y en el caso del ser humano hasta de modificaciones que afectan a la psique (Åstrand *et al.*, 2003).

Respecto a las adaptaciones a nivel bioquímico producidas por el entrenamiento, cabe destacar las siguientes:

- Como consecuencia del entrenamiento anaeróbico, existe una mayor capacidad de soporte frente a concentraciones de lactato en sangre, incrementadas durante

ejercicios máximos (Jacobs, 1987). Esto último tiene especial repercusión en lo que a la aparición de la fatiga se refiere. Asimismo, cabe destacar el aumento de la reserva de los sustratos susceptibles de una degradación anaeróbica, así como incremento del dispositivo enzimático que opera sobre ellos (Houston, 1977). El menor uso del glucógeno y menor acúmulo de lactato muscular y sanguíneo en ejercicios submáximos, lo que supone un aumento del umbral anaeróbico, lo que probablemente esté en relación con el dispositivo oxidativo (estructural y metabólico), esto es, aumento del tamaño y de la cantidad de mitocondrias (Barnard, 1970 y Kiessling, 1971), mayor capacidad para la fosforilación oxidativa (Holloszy y Coyle, 1984), incremento en las concentraciones de fosfágenos y ATP, incremento de la mioglobina (Pattengale y Holloszy, 1967), mayor facilidad para la movilización y uso de ácidos grasos (Riviere, 1989) y aumento de la capacidad para hacer glucólisis aerobia. Las adaptaciones bioquímicas suponen lógicamente la modificación del porcentaje de un determinado tipo de fibra muscular con respecto a otro tipo; así, los corredores de fondo con alto grado de entrenamiento desarrollan más fibras tipo B que tipo A en ciertos músculos, justamente lo contrario de lo que ocurre en el entrenamiento anaeróbico. Los cambios bioquímicos debidos al entrenamiento se manifiestan en modificaciones de la composición química corporal, como reducción de la grasa corporal y aumento de la masa proteica muscular, con pérdida de peso (Zuti y Golding, 1976).

- En cuanto a la regulación de las concentraciones del Ca^{2+} intracelular miocárdico, Penpargkul *et al.*, 1970 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985), estudiando el retículo sarcoplásmico, encontraron un incremento en la captación y unión del Ca^{2+} debido al entrenamiento, así como un aumento en la actividad del retículo, explicado por una relajación más rápida de los corazones. Respecto al papel del sarcolema, sabemos que éste provee una fuente externa de calcio para el acoplamiento excitación-contracción, y se ha propuesto que esta estructura pueda servir como importante lugar de adaptación mediante una provisión aumentada de la disponibilidad de calcio para la formación de puentes cruzados en el corazón condicionado (Tibbits *et al.*, 1981, tomado de Schaible y Scheuer, 1985). No obstante, los datos que apoyan esta hipótesis son más bien evidencias indirectas, ya que una preparación de sarcolema puro no ha sido estudiada en los experimentos con entrenamiento.

- En el proceso de adaptación al ejercicio físico o entrenamiento y en el de desadaptación o desentrenamiento, se produce desplazamiento de equilibrio entre procesos de síntesis y de ruptura a nivel molecular, y en la actualidad, constituye un objetivo prioritario descubrir las rutas de señalización que regulan este balance (Åstrand *et al.*, 2003).

El entrenamiento en personas sanas implica a diferentes áreas y procesos: captación de oxígeno, funciones hemodinámicas centrales, función del sistema nervioso autónomo, función muscular y vascular periférica, y capacidad para la ejecución del ejercicio físico submáximo. Todas estas adaptaciones constituyen una situación o estado de entrenamiento, el cual permite al individuo realizar ejercicio a un mayor pico de trabajo de carga con menores frecuencias cardiacas a cualquier nivel submáximo de ejercicio (Fletcher *et al.*, 2001).

En lo que respecta a algunas de las modificaciones respiratorias, el entrenamiento aumenta el consumo máximo de oxígeno (que es el pico máximo de captación de oxígeno originado por el ejercicio muscular, y puede calcularse mediante el producto del gasto cardiaco por la diferencia arteriovenosa de oxígeno) durante el ejercicio, así como la eliminación de anhídrido carbónico por unidad de aire espirado y por minuto (Selkurt, 1984). Así como en la persona no entrenada el aumento de la ventilación pulmonar se consigue fundamentalmente a expensas de un aumento en la frecuencia ventilatoria, en el entrenado el factor que más contribuye al aumento del volumen minuto es el volumen corriente, como expone Selkurt (1984): "La frecuencia ventilatoria se acelera en relación lineal con la ventilación pulmonar, pero los atletas respiran menos veces para conseguir la misma ventilación por minuto". Esta diferencia podría atribuirse a dos factores: el

atleta puede tener a) vías aéreas superiores más grandes, con la consiguiente menor resistencia al flujo aéreo y mayor desplazamiento volumétrico con cada respiración y b) mayor distensibilidad torácica y pulmonar, de modo que su volumen pulmonar cambia más por cada cambio unitario de la presión intrapulmonar (Barnard, 1970). El hecho de que en los individuos entrenados la ventilación sea menor, puede suponer una ventaja, ya que ello va a favor de economizar un oxígeno que consumiría el propio trabajo ventilatorio (Mc Ardle y Katch, 1990). Al parecer también aumenta la capacidad de difusión de los gases en el sector alvéolo-capilar como consecuencia del entrenamiento, lo que parece estar relacionado más bien con una superficie alvéolo-capilar más extensa y, a su vez, una mayor capacidad de difusión (Bouchard, 1992). Ciertos tipos de entrenamiento pueden incrementar la captación máxima de oxígeno para el sistema transportador de oxígeno.

Por lo que respecta al sistema nervioso vegetativo, probablemente la adaptación al ejercicio implica una disminución del tono de la división simpática, que entre otras formas de manifestarse está el hecho de unos niveles sanguíneos y urinarios de catecolaminas más bajos en reposo (Hartley *et al.*, 1972, citados por Fletcher *et al.*, 2001), lo que coincide con un incremento del tono parasimpático. Así, Bowers *et al.* (1995), encontraron una disminución de las concentraciones plasmáticas de noradrenalina (NA) en reposo (Hespele *et al.*, 1988); y en atletas sometidos a entrenamiento

durante varios años, encontraron un aumento de los niveles de adrenalina (A) en reposo (Kjaer *et al.*, 1986). No obstante, en estudios longitudinales, algunos de los resultados obtenidos son controvertidos.

Respecto a la sensibilidad a las catecolaminas, Molé, 1978 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985), relata que en sujetos entrenados, la sensibilidad a las mismas está aumentada. Ello puede ser debido a un incremento del estado inotrópico, ya que encontró un aumento en la velocidad de contracción relacionado con la administración de un β -adrenérgico como el isoproterenol.

Son de destacar, asimismo, las modificaciones de carácter endocrino. En líneas generales parece ser, a la vista de las investigaciones realizadas (Åstrand *et al.*, 2003), que las modificaciones endocrinas por el entrenamiento, se producen cuando éste ha sido de larga duración (años), lo que no ocurre cuando el entrenamiento se ha producido en cortos periodos de tiempo. Es importante señalar también que se producen cambios en la sensibilidad a las diferentes hormonas por parte de las células sobre las que actúan, como consecuencia del entrenamiento (Åstrand *et al.*, 2003); un ejemplo lo constituye el aumento de la sensibilidad a la insulina, en tejidos tales como los adipocitos, y muy especialmente en los músculos esqueléticos (James *et al.*, 1985). También se ha relatado una disminución de la insulinemia por el entrenamiento y el

aumento de la concentración de ACTH y del cortisol en corredores fuertemente entrenados (Wirth *et al.*, 1981), aunque en esta última hormona hay menos coincidencias (Hackney *et al.*, 1988). Se ha visto que la testosteronemia disminuye en atletas masculinos con el entrenamiento de resistencia (Hackney *et al.*, 1988); por otra parte, otros autores postulan que no hay cambios por el entrenamiento en los niveles de testosterona, cortisol y hormonas tiroideas (Mujika *et al.*, 1996).

En cuanto a la hormona del crecimiento, Eliakim *et al.* (1998), relataron que un año de entrenamiento amplifica la liberación pulsátil de GH en reposo, a diferencia del entrenamiento de resistencia breve, que no fue acompañado por incrementos de dicha hormona.

En lo referente a las hormonas sexuales femeninas y el entrenamiento, hay que decir que “el entrenamiento físico, practicado de forma habitual y con fines deportivos, produce profundos efectos sobre el sistema hormonal de las mujeres y efectos transitorios sobre la capacidad de reproducción femenina” (González, 1992) habiéndose detectado “oligomenorrea, amenorrea y retraso en la menarquia en atletas entrenadas y habituadas al entrenamiento físico. Se ha constatado, además, una relación entre la modalidad deportiva, el grado e intensidad del entrenamiento realizado y el trastorno menstrual”.

Respecto al volumen plasmático, en algunos tipos de ejercicio y entrenamiento puede llegar a ser de un 30% y cuando no va parejo al aumento en el número de células, produce un descenso del índice hematocrito y de la concentración de hemoglobina, aunque el contenido total de esta última aumenta. Son especialmente manifiestos los cambios citados en el caso del entrenamiento prolongado. Los anteriores cambios permitirán una mejor nutrición tisular y una eficaz termorregulación (Covertino, 1982). El incremento del hematocrito tras el ejercicio es menor en el entrenado. El ligero aumento del número de eritrocitos parece ser debido a un incremento de la actividad eritropoyética (Bouchard, 1992). En la persona entrenada no se produce la ligera anemia que ocurre tras la realización de un ejercicio físico duradero e intenso, y probablemente debida a la fuerte hematocateresis no contrarrestada rápidamente, como pasa en los entrenados (González, 1992).

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

aspectos generales de las adaptaciones cardiovasculares al ejercicio.

En la persona entrenada, es posible el aumento del gasto cardiaco a expensas de un aumento en el gasto sistólico, más que a un incremento de la frecuencia cardiaca, ya que la frecuencia cardiaca máxima normalmente no aumenta en las personas sanas (Hartley *et al.*, 1969).

1.2.2.2.- Consideraciones especiales respecto a las adaptaciones cardiacas.

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

Una de las modificaciones se produce en la frecuencia cardiaca de las personas entrenadas en comparación con las sedentarias. Ya hemos hecho alguna mención en líneas anteriores a que la frecuencia cardiaca submáxima disminuye también con el entrenamiento. Lo mismo cabe decir de otras modificaciones del tipo de la función del corazón como bomba, de la capacidad de las cavidades cardiacas, etc.

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

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

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

Otro mecanismo que se ha tratado de implicar en el aumento del volumen sistólico y que hemos acabado de comentar, es el aumento del estado inotrópico del corazón en los individuos entrenados, y a una tasa elevada de llenado del

ventrículo izquierdo en el inicio de la diástole a frecuencias cardiacas altas. Pero la evidencia de un aumento de la contractilidad en sujetos entrenados durante el ejercicio es algo contradictoria. Los estudios de Stein *et al.*, 1978 y Anholm *et al.*, 1982 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985), mostraron un incremento en el acortamiento miocárdico en sujetos entrenados durante el ejercicio que puede haberse producido bajo condiciones de reposo. El estudio de Bar-Shlomo *et al.*, 1982 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985), no mostró diferencias en este acortamiento en reposo durante el ejercicio. Rerych, 1978 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985) relató una disminución del acortamiento en sujetos entrenados, en reposo, pero no mostraron diferencias durante el ejercicio. Curiosamente, los estudios de Paulsen *et al.*, 1981 y Anholm *et al.*, 1982 (citados por Schaible y Scheuer, 1985) demostraron, respectivamente, un decremento en reposo o incremento durante la actividad en los valores de la velocidad de acortamiento.

El entrenamiento produce cambios en las dimensiones cardiacas. Así, Schaible y Scheuer (1985), relataron que en atletas de resistencia se produjo un aumento del tamaño miocárdico junto con ciertos cambios electrocardiográficos y fonocardiográficos, de donde deriva el concepto del “síndrome del corazón del atleta”. Estos cambios pueden ocurrir en cuestión de algunas semanas (Saltin *et al.*, 1968), pero el mantenimiento del aumento del tamaño cardiaco incluso

después de cierto tiempo de relativa inactividad, requiere haberse entrenado intensivamente durante varios años, tal y como señaló en una revisión al respecto Blomqvist y Saltin (1983). Según algunos autores, el entrenamiento de resistencia, ocasiona un aumento del volumen telediastólico sin cambios en el grosor de la pared ventricular, la cual sí aumentó de grosor con la realización de ejercicios isométricos, sin variaciones en el volumen ventricular izquierdo, como relataron Blomqvist y Saltin (1983). En posteriores estudios se relató que la realización de ejercicios, tanto de tipo dinámico como isométrico, produjo un aumento de la masa total ventricular izquierda; pero el aumento de la masa normalizada respecto al peso corporal total o al peso magro total, solamente se produjo en los entrenamientos de resistencia (Blomqvist y Saltin, 1983). En estudios experimentales, se ha visto que al parecer hay una relación de proporcionalidad directa entre la magnitud de la hipertrofia y la duración del programa de entrenamiento, y de proporcionalidad inversa con la edad (Blomqvist y Saltin, 1983). No están claros los mecanismos de producción de la hipertrofia en los atletas de resistencia, postulándose distintas causas como son: el aumento de la carga, el aumento del volumen, el aumento de la presión, o la prolongada estimulación por catecolaminas (Opie, 1998).

En la tabla 1.2 se presenta, de modo orientativo, lo que pueden ser las diferencias que acabamos de citar, entre los sujetos entrenados y no entrenados.

	NO ENTRENADOS		ENTRENADOS	
	REPOSO	EJERCICIO	REPOSO	EJERCICIO
FRECUENCIA (latido/min)	72	180	40	180
VOLUMEN SISTÓLICO, ml/min	70	100	140	190
GASTO CARDIACO, l/min	5	18	5.6	35
VOLUMEN TELE DIASTÓLICO, ml	145	160	200	220
VOLUMEN TELE SISTÓLICO, ml	75	60	60	30
TIEMPO DE DIÁSTOLE, s	0.53	0.13	1.1	0.08
TIEMPO DE SÍSTOLE, s	0.3	0.2	0.4	0.2

Tabla 1.2. Efectos cardiacos generales del entrenamiento (tomado de Moffat y Mottram, 1987).

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

la vascularidad incluso en ausencia de incrementos en la masa miocárdica (Blomqvist y Saltin, 1983).

Resultados experimentales indican que el entrenamiento físico aerobio induce un incremento tanto en el flujo sanguíneo y capacidad de intercambio capilar así como en la capacidad de difusión coronaria (Laughlin, 1994). En los animales entrenados, el producto permeabilidad por superficie capilar y el flujo sanguíneo son más altos a una determinada presión de perfusión porque la resistencia vascular coronaria es menor, lo cual puede ser debido a modificaciones en la estructura vascular coronaria, a un control modificado de la resistencia vascular coronaria o a una combinación de ambos (Laughlin, 1994). Ha sido descrito que hay angiogénesis coronaria así como crecimiento de vasos en longitud y/o diámetro producido por el entrenamiento (Laughlin, 1994). Algunos autores plantean que el entrenamiento podría inducir modificaciones en la función vasomotora intrínseca del árbol arterial coronario, a través de modificaciones mediadas por el endotelio y modificaciones en el músculo liso vascular. Respecto a la circulación coronaria colateral, el entrenamiento no parece ejercer ninguna influencia en corazones normales. La práctica de ejercicio puede producir aumento en la vasodilatación dependiente de endotelio en la microcirculación coronaria; estos efectos parecen resultar de expresión incrementada de nítrico-sintasa a nivel vascular. De cualquier modo, hay evidencias que avalan la existencia de vasodilatación

dependiente de endotelio en arterias coronarias de conductancia como un componente de la respuesta de la circulación coronaria al ejercicio (Laughlin, 1994).

Respecto a las modificaciones en la presión arterial por el entrenamiento, están ligadas a la edad, al nivel de aptitud física y al hecho de que la persona sea previamente normotensa o hipertensa. Si la presión arterial es fisiológica previamente a la iniciación del entrenamiento, si su grado de aptitud física es el normal y la edad no excede de aproximadamente treinta años, la presión arterial no se verá modificada. Sin embargo, se conseguirán descensos tensionales en reposo en personas previamente hipertensas, más cercanas a los cuarenta años y a lo que llamamos tercera edad con un grado de aptitud física más bien deficiente (Bouchard, 1992). No obstante hay que decir, que si bien algunos autores no han hallado un efecto reductor de la presión arterial en normotensos (Frick *et al.*, 1963), otros autores sugieren un moderado descenso de la presión arterial, por el ejercicio crónico (Martin *et al.*, 1990).

1.2.2.3.- Adaptaciones electrofisiológicas miocárdicas: automatismo y conducción auriculoventricular. Otras modificaciones electrofisiológicas.

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

Para la mayoría de autores, la disminución de la frecuencia cardíaca es la consecuencia de una modificación del equilibrio entre la acción del simpático y del parasimpático sobre el corazón (De Schryver y Mertens- Strythagen, 1975). Blomqvist y Saltin (1983) exponen que el entrenamiento puede modificar el equilibrio existente entre los componentes simpático y parasimpático del sistema nervioso vegetativo, produciéndose un incremento de la actividad parasimpática, como clásicamente amplias evidencias han venido a demostrarlo (para revisión mirar Scheuer y Tipton, 1977), lo que se manifiesta por una depresión del automatismo sinusal y por tanto de la frecuencia cardíaca. El entrenamiento ejerce unos efectos similares al bloqueo beta adrenérgico (Brundin *et al.*, 1973, tomado de Opie, 1998).

En algunos trabajos se publicó que tanto la frecuencia cardíaca máxima, como media y mínima, de deportistas

jóvenes de alto nivel eran significativamente menores que la de los controles (Palatini *et al.*, 1985, Viitasalo *et al.*, 1982, revisados por Boraita y Serratosa, 1998).

Así, Bedford y Tipton (1987) observaron en un estudio sobre el control barorreflejo de la presión arterial, llevado a cabo en dos grupos de ratas, unas sometidas a ejercicio físico (entrenamiento), y otro grupo no entrenado, que el control barorreflejo de la frecuencia cardíaca se ve atenuado por el ejercicio físico, lo cual aboga en favor de que las modificaciones de la frecuencia cardíaca por el entrenamiento se relacionan con modificaciones del sistema nervioso vegetativo.

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

Furlan *et al.* (1993) realizaron un estudio en personas jóvenes sanas, con el fin de investigar los efectos precoces y tardíos del ejercicio y del entrenamiento sobre los mecanismos nerviosos que controlan la frecuencia cardíaca. Estos autores realizaron un estudio sobre un grupo de adultos control (no

entrenados), y lo compararon con un grupo de atletas durante un periodo de reposo (desentrenados), y con un tercer grupo de atletas durante su plan de entrenamiento. Las medidas realizadas fueron la variabilidad de la frecuencia cardiaca, los movimientos respiratorios y la presión arterial. Se realizó un análisis espectral de la variabilidad de los intervalos V-V y de la actividad respiratoria con el objetivo de observar los componentes frecuenciales ligados a la actividad parasimpática y aquéllos dependientes de la actividad simpática. Estos autores observaron que había una bradicardia ligada al componente parasimpático que coexistía con signos de actividad simpática aumentada en los atletas en periodo de entrenamiento.

En otro estudio con similares objetivos llevado a cabo por Shi *et al.* (1995), en humanos sometidos a bloqueos farmacológicos del sistema nervioso simpático con metoprolol y del parasimpático con atropina, antes y después de ser sometidos a entrenamiento físico, observaron que no se producían modificaciones de la frecuencia cardiaca cuando se bloqueaba el sistema nervioso simpático y parasimpático.

De Schryver y Mertens- Strythagen (1975), llevaron a cabo un estudio comparando las concentraciones de acetilcolina en el miocardio de un grupo de ratas sometidas a ejercicio físico, frente a un grupo control, encontrando que el ejercicio físico crónico produce un aumento del contenido total

de las concentraciones de acetilcolina en el corazón, por lo que postularon que ello podría reflejar un incremento en la actividad nerviosa parasimpática sobre el corazón. No obstante, estos autores plantean como materia de controversia si el sistema simpático o parasimpático influye fundamentalmente sobre la actividad del corazón en animales ejercitados crónicamente.

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

No sólo el cronotropismo está deprimido como consecuencia del entrenamiento, sino también el dromotropismo o conducción, lo que se manifiesta a nivel de conducción AV. Varios estudios han comprobado la contribución del sistema nervioso autónomo y de mecanismos miocárdicos sobre los cambios electrofisiológicos observados en humanos y en animales de laboratorio entrenados.

El ejercicio físico crónico produce otras modificaciones electrofisiológicas que conducen a la aparición de ciertas arritmias. Talan *et al.* (1982) observaron que las arritmias auriculares fueron más frecuentes entre los atletas. Estos autores no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de extrasístoles ventriculares aisladas o en forma de complejos. El mecanismo responsable de la alta prevalencia de extrasístoles auriculares entre corredores de larga distancia está poco claro actualmente. En este estudio, Talan *et al.* (1982) evidenciaron que la presencia de arritmias auriculares o ventriculares no se correlaciona significativamente con el tamaño de la aurícula izquierda y del ventrículo izquierdo demostrado por ecocardiografía.

Northcote *et al.* (1989), en un estudio realizado con dos grupos, uno de corredores veteranos y otro control, observaron que algunos de los atletas presentaron un ECG durante el ejercicio que cumplía criterios de isquemia (depresión del segmento ST mayor de 1 mm ocurriendo a los 0'08 segundos después del punto J), y de entre ellos, la mitad presentaron una arteriografía coronaria normal. Esto es más de lo esperable en la población normal libre de síntomas. Balady *et al.* (1984) citados por Northcote *et al.* (1989), encontraron que el 13% de atletas entrenados presentaron una depresión del segmento ST en el ECG realizado en reposo. Pantano y Orieg (1982), citados por Northcote *et al.* (1989), describieron en corredores bien entrenados una respuesta isquémica al ejercicio, pero

presentaban una gammagrafía con Tl^{201} de perfusión miocárdica normal.

Kambara y Phillips (1976) citados por Northcote *et al.* (1989) sugirieron, para explicar el falso positivo arriba citado, que la repolarización de los ventrículos de los atletas no es homogénea. La asimetría de la repolarización puede estar relacionada con la disminución del tono simpático. Boraita y Serratosa (1998), encontraron que el patrón de repolarización precoz es el típico del deportista, asociado habitualmente con ondas T negativas en V1 y ondas U prominentes en derivaciones precordiales apareciendo habitualmente asociadas a bradicardia sinusal. El intervalo Q-T corregido para la frecuencia cardíaca, ocasionalmente y coincidiendo con alteraciones hidroelectrolíticas, puede estar alargado. En atletas de grandes distancias y de forma excepcional, pueden aparecer ondas T negativas asimétricas y profundas en derivaciones electrocardiográficas precordiales derechas, que se relacionan con una adaptación de tipo aeróbico en la que la vagotonía es responsable de una heterogeneidad en el potencial de acción.

En el estudio de Boraita y Serratosa (1998), se relata que las arritmias por aumento del automatismo y las taquiarritmias en el deportista de competición son escasas y generalmente benignas. Para estos autores, el aumento de los focos ectópicos puede estar relacionado con el aumento del tono

vagal. En su estudio, hallaron una frecuencia baja de extrasistolia ventricular en el electrocardiograma basal y en el del esfuerzo, tratándose de una extrasistolia monotópica de escasa densidad y también con criterios de parasistolia.

Viitasalo (1982), Zehender (1990) y Chamoux (1983), citados por Boraita y Serratosa (1998), concluyeron que “el deporte no es un factor arritmógeno y no predispone a padecer arritmias ventriculares malignas, por lo que no existen diferencias significativas en la prevalencia de dichas arritmias con respecto a la población general”.

Otros autores han investigado la aparición de arritmias ventriculares en los atletas. Así Palatini *et al.* (1985) llevaron a cabo un estudio de la prevalencia de las arritmias en dos grupos de humanos; un grupo de éstos eran atletas bien entrenados, el otro grupo (grupo control) lo componían humanos sedentarios. Los resultados de este estudio mostraron que en el grupo de los atletas aparecía un mayor número de extrasístoles ventriculares que podían estar relacionados con la muerte súbita de los atletas.

Además de los estudios de los factores nerviosos, otros autores han investigado mecanismos que influyen en las adaptaciones electrofisiológicas cardíacas de carácter intrínseco.

Así, Northcote *et al.* (1989), asignaron indirectamente un papel a mecanismos miocárdicos como los responsables de ciertas modificaciones electrofisiológicas intrínsecas por el entrenamiento, por ejemplo la bradicardia, al afirmar que este cambio electrofisiológico, más que una modificación adaptativa, podría ser una condición semejante a la enfermedad del nodo sinusal inducida por el ejercicio.

Por otro lado, Katona *et al.* (1982) llevaron a cabo una investigación sobre atletas, para estudiar los efectos tanto del sistema simpático como parasimpático sobre la frecuencia cardíaca en reposo. En dicha investigación se bloqueó el sistema simpático, con propranolol, y el parasimpático, con atropina, a los atletas y también a un grupo control de personas no entrenadas. El resultado de dicha investigación fue que la frecuencia cardíaca de los atletas tenía un valor significativamente menor que la de los componentes del grupo control, tras el bloqueo autonómico, por lo que concluyeron que la disminución de la frecuencia cardíaca en humanos entrenados es de carácter intrínseco, y no por un incremento del tono parasimpático.

De la misma manera, Lewis *et al.* (1980) estudiaron en ciclistas el componente no autonómico de la bradicardia, en reposo y durante el ejercicio máximo y submáximo después de entrenamiento de resistencia a largo plazo, y cuya frecuencia cardíaca compararon con la de sujetos no entrenados.

Asimismo, compararon la frecuencia cardiaca de los deportistas antes de someterse a un bloqueo autonómico farmacológico y después del bloqueo. En este estudio concluyeron que en los humanos sometidos a ejercicio físico de larga evolución, se evidenciaba un importante componente no autonómico de la bradicardia tanto en reposo como tras el ejercicio.

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

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

Con respecto a las modificaciones de la conducción miocárdica debidas al entrenamiento, algunos estudios mostraron bloqueos auriculoventriculares de primer grado, y en menor extensión de segundo grado (Talan *et al.*, 1982, Viitasalo *et al.*, 1982 y Viitasalo *et al.*, 1984).

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

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

En trabajos previos encontramos que probablemente existen mecanismos miocárdicos que pueden intervenir también, al menos en parte, en la aparición de una depresión del cronotropismo sinusal intrínseco y de la conducción AV

intrínseca (Such *et al.*, 2002, López *et al.*, 2005 y Such *et al.*, 2005).

1.2.2.4.- Adaptaciones electrofisiológicas miocárdicas: de la refractariedad y conducción ventricular intrínsecas.

Con respecto al efecto del entrenamiento físico sobre la refractariedad intrínseca se dispone de poca información. Such *et al.* (2002), refirieron que si bien la refractariedad, tanto del sistema de conducción como la del miocardio ventricular de trabajo, pareció aumentar, los cambios detectados no fueron estadísticamente significativos; solamente el periodo refractario funcional ventricular fue mayor en los animales entrenados. López *et al.* (2005), estudiaron el efecto de un protocolo de entrenamiento mediante ejercicio físico en conejos, sobre la refractariedad auricular, ventricular y del sistema de conducción auriculoventricular, así como sobre la velocidad de conducción miocárdica ventricular y la longitud de onda del proceso de activación miocárdica ventricular, encontrando modificaciones de carácter intrínseco de algunos de los parámetros; así, el periodo refractario efectivo auricular aumentó significativamente cuando el tren base de estimulación usado para determinarlo fue de 200 ms. En general, los valores de los periodos refractarios fueron mayores en los animales entrenados que en los controles.

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

No disponemos de información respecto al efecto del entrenamiento sobre la refractariedad auricular intrínseca, aunque, en contraste, sí se conoce el efecto sobre la refractariedad ligada al control nervioso autónomo. El hecho conocido de que el ejercicio físico aumente el tono vagal, y de que la acetilcolina disminuya el periodo refractario efectivo auricular (Farges *et al.*, 1977) nos inclina a otorgar una disminución de la refractariedad por el ejercicio físico en el corazón "in situ". Contrastan con lo que acabamos de decir respecto al efecto del entrenamiento sobre el periodo refractario auricular, los resultados obtenidos por Mezzani *et al.* (1990) en un estudio realizado a dos grupos de pacientes con Wolf-Parkinson-White. En el grupo de pacientes entrenados se observó un periodo refractario auricular tanto efectivo como funcional más largo que en los sujetos control. Estos autores también observaron que tanto la longitud del ciclo basal, como el periodo refractario efectivo del sistema de conducción

anterógrado y ventriculoauricular fueron más largos en los sujetos entrenados.

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

De una manera similar a lo que ocurrió con la refractariedad auricular, se encontró un aumento de la refractariedad ventricular, tanto efectiva como funcional, con algunas longitudes de ciclo del tren base de estimulación, en los corazones de animales entrenados (López *et al.*, 2005).

Respecto a la duración del potencial de acción, existen diferentes trabajos que estudian las posibles modificaciones que el ejercicio físico produce sobre determinados procesos electrofisiológicos relacionados con la refractariedad miocárdica.

Así, Brorson *et al.* (1976), investigando en humanos los efectos del entrenamiento sobre el potencial de acción monofásico y la refractariedad auricular, observaron un aumento de la duración del potencial de acción en el grupo entrenado, atribuyéndolo a un incremento en la concentración intracelular de potasio. Otros autores como Tibbits *et al.* (1981), estudiando los efectos del ejercicio físico crónico sobre el acoplamiento excitación-contracción, encontraron también un aumento en la duración del potencial de acción en el grupo entrenado, que dichos autores atribuyeron a un aumento en la entrada de calcio. Del mismo modo, Gwathmey *et al.* (1990) investigando en ratas el efecto combinado del entrenamiento y del envejecimiento sobre algunos parámetros fisiológicos, observaron un aumento del potencial de acción en el grupo entrenado, explicado con los mismos mecanismos.

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

Pensamos que quizá el aumento de la refractariedad producido por la realización de ejercicio físico aerobio sea lo que subyace a la baja incidencia de taquiarritmias en deportistas señalada por diferentes autores (Boraita y Serratosa, 1998), siendo la incidencia de extrasistolia, tanto

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

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

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

1.2.3.- Estudio especial de las características de la fibrilación ventricular inducida, como parámetro electrofisiológico de excitabilidad.

1.2.3.1. Generalidades: concepto y evolución del conocimiento sobre la fibrilación ventricular.

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

Andreas Vesalio comparó los movimientos que ocurrían en los corazones disecados de los animales, que presuntamente estaban fibrilando, con un movimiento como de saco de gusanos, tal y como podemos leer en el libro *De Humani Corporis Fabrica* (1543). En 1874 podemos leer la denominación de movimiento fibrilar en un artículo publicado por Vulpiano (Jalife, 2000). El primer registro electrocardiográfico de la FV en el ser humano lo publicó Hoffman en 1912 (Jalife, 2000).

Un importante aspecto relativo a la capacidad para el mantenimiento de la FV, una vez instaurada, fue la hipótesis de la “masa crítica”, enunciada por Garrey (1914), en parte sobre las observaciones de Mc William (1887) que fue objeto de estudio tempranamente. En esta hipótesis se plantea que la dificultad para inducir FV y para la recuperación espontánea una vez inducida la arritmia, es mayor cuanto menor es la magnitud del miocardio. Garrey cuantificó la magnitud de la masa crítica para el caso de los corazones de tortugas y mamíferos. Por debajo de un determinado número de centímetros cuadrados no era posible el mantenimiento de la FV y por arriba de esta superficie era posible el mantenimiento de la misma en una forma de movimiento circular de la onda de excitación. Fue el pionero en el planteamiento de que sin haber ningún obstáculo anatómico se pudieran establecer circuitos de reentrada a la manera de vórtices alrededor de una región estimulada; planteamiento que si bien fue subestimado posteriormente, ha sido más recientemente confirmado por diversos autores. Allesie, cuatro décadas más tarde, aportó datos a favor del tipo de reentrada propuesto por Garrey, una vez desarrolladas las técnicas de mapeo electrográfico con multielectrodos (Allesie *et al.*, 1973, 1976, 1977 y Smeets, 1986, citados por Kléber y Rudy, 2004).

El movimiento circular en tejidos excitables fue demostrado por primera vez por Mayer (1908 y 1916, citado por

Kléber y Rudy, 2004) en anillos de tejido de la “submedusa” de la especie *Sychomedusa cassiopea*.

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

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

Etapas de la FV:

1) Ondulatoria (dura entre 1 y 2 segundos), de frecuencia de activación ventricular tan rápida como de 10 Hz; 2) Incoordinación convulsiva (15 a 40 segundos), de frecuencia de

activación ventricular tan rápida como de 10 Hz; 3) Incoordinación temblorosa (2 a 3 minutos), de frecuencia de activación decreciente al igual que ocurre con la siguiente etapa, dada la progresión de la isquemia; y 4) Fibrilación atónica (se desarrolla después de 2 a 5 minutos de iniciada la FV). Estas fases las diferenció Wiggers, en 1930 (citado por Jalife, 2000) tras producir FV en perros mediante estímulo eléctrico y de realizar registro cinematográfico de la arritmia, y en su opinión, tanto la formación de circuitos limitados como la reentrada, ocurre a lo largo de la evolución de las fases citadas. De especial relevancia fue la reflexión de dicho autor que plantea que “en la medida que las excitaciones reentrantes viajan sobre una abultada masa de músculo ventricular, no se debe pensar en términos de anillos o circuitos bidimensionales, sino más bien de frentes de onda masivos propagándose en tres dimensiones” (Jalife, 2000).

¿Qué tipo de actividad es la que mantiene a la FV? La hipótesis de Moe (1964) plantea la existencia de múltiples ondas pequeñas que se producen simultáneamente y son independientes, desplazándose por trayectos al azar y que van cambiando. La propuesta de que la FV se debe a un mecanismo distinto al de la taquicardia y de que había una actividad absolutamente desorganizada durante la FV fue hecha por este autor. La idea de que la FV era el resultado de una serie de frentes de onda en continuo cambio de dirección y número fue imaginada por este autor. Moe y Abildskov, en

1959 (Jalife, 2000), probaron que esta arritmia, independientemente de la causa que la originara, podía automantenerse y permanecer en un estado estable, para lo que se requería la existencia de repolarizaciones no homogéneas en el tejido miocárdico. Asimismo, se demostró que la heterogeneidad de los periodos refractarios miocárdicos, además de la anteriormente mencionada heterogeneidad en la repolarización, era un factor de gran importancia para la inducción de FV. La posibilidad de que la actividad reentrante permaneciera periódica y no degenerara en fibrilación, se demostró que no tenía lugar en ausencia de heterogeneidad en los periodos refractarios.

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

Actualmente, se plantea si las múltiples *wavelets* son en realidad el resultado de la actividad mantenida de fuentes de actividad reentrante producidas por uno o pocos circuitos y que activan a muy alta frecuencia al miocardio ventricular. Esta idea contrasta con la hipótesis más clásica según la cual, el

mantenimiento de la FV en tres dimensiones en los ventrículos implica a un gran número de *wavelets* de activación errantes, cuyos trayectos habitualmente cambian al azar de un ciclo al siguiente, si bien en el proceso de la iniciación de la arritmia puede jugar un papel importante la activación focal. Respecto a las investigaciones que plantean la existencia de una o pocas fuentes de actividad reentrante cabe citar a Gray *et al.*, 1995 y Jalife y Gray, 1996.

1.2.3.2. Métodos de análisis de la fibrilación ventricular.

El análisis de la activación ventricular durante la fibrilación ventricular es complejo, debido a las características de la arritmia y a las limitaciones de las técnicas utilizadas para su estudio, que ha sido abordado utilizando métodos y técnicas diversas (Moe, 1964, Abildskov, 1994, Allessie *et al.*, 1996, Carlisle *et al.*, 1990, Stewart *et al.*, 1996, Chorro *et al.*, 1996, Chorro *et al.*, 1998, Lee *et al.*, 1996, Cha *et al.*, 1994, Rogers *et al.*, 1999, Gray *et al.*, 1998, Kwan *et al.*, 1998, Gray, 1999, Chorro *et al.*, 2000), entre los que se encuentran el análisis de las características del ECG, registros endocárdicos, intracelulares o de los potenciales de acción monofásicos, el análisis de las características espectrales de las señales fibrilatorias, los estudios basados en técnicas cartográficas y la utilización de simulaciones mediante ordenador.

La cartografía epicárdica de la activación ventricular, empleando electrodos múltiples con los que se registran potenciales extracelulares (Lee *et al.*, 1996, Cha *et al.*, 1994, Rogers *et al.*, 1999, Dillon *et al.*, 1988, Brugada *et al.*, 1990) o sistemas ópticos basados en la utilización de marcadores sensibles a los cambios de voltaje y en los que las variaciones en la fluorescencia de la señal indican los cambios del potencial transmembrana de grupos de células próximas entre sí (Davidenko *et al.*, 1992, Pertsov *et al.*, 1993, Cabo *et al.*, 1994, Witkowski *et al.*, 1998, Gray 1999, Efimov *et al.*, 1999, Zhou *et al.*, 1995), ha aportado información sobre las características de la activación miocárdica durante las arritmias ventriculares y ha supuesto el soporte metodológico de diversos trabajos sobre la FV en los que se han objetivado los patrones de activación y la existencia de activación reentrante, tanto en el inicio de la arritmia como durante la evolución de la misma (Lee *et al.*, 1996, Cha *et al.*, 1994, Rogers *et al.*, 1999, Kwan *et al.*, 1998, Chorro *et al.*, 2000, Witkowski *et al.*, 1998, Weiss *et al.*, 1999), siendo más limitada la información disponible sobre su cese mediante procedimientos distintos a la desfibrilación eléctrica (Cha *et al.*, 1994).

Los métodos basados en el análisis del dominio de la frecuencia, tales como los análisis del poder espectral y del espectro de coherencia, examinan la distribución de la energía de los electrogramas como una función de la frecuencia (Ropella, 2001). Para el análisis espectral puede ser usado un

método matemático como es el de la transformación rápida de Fourier; el análisis de Fourier es un método no paramétrico que descompone las señales en una suma de componentes sinusoidales.

La utilización de técnicas situadas en el dominio de la frecuencia ha ampliado la capacidad de análisis de las ondas fibrilatorias obtenidas con el ECG de superficie o mediante electrodos epicárdicos o endocárdicos. En el espectro de frecuencias los componentes principales de las señales fibrilatorias se agrupan en bandas alrededor de valores definidos que se pueden identificar con facilidad y permiten caracterizar mejor las fases evolutivas de la arritmia. La información proporcionada por las técnicas espectrales y la obtenida mediante la determinación de parámetros en el dominio del tiempo, como la mediana de los intervalos V-V durante la FV, proporciona información superponible (Chorro *et al.*, 2000) y son instrumentos útiles para caracterizar las acciones de fármacos u otros procedimientos terapéuticos. Varias son las características del poder espectral que han sido analizadas en la fibrilación ventricular con el fin de establecer su carácter predictivo en relación con las consecuencias de la misma tras la desfibrilación.

Así, como relatan Gazmuri *et al.* (2001) en una revisión al respecto, han sido analizadas: 1) la frecuencia mediana, que es la frecuencia que bisecciona el espectro de potencia

(Strohmenger *et al.*, 1997, Brown *et al.*, 1991 y 1993, citados por Gazmuri *et al.*, 2001); 2) la frecuencia límite, que es la frecuencia por debajo de la cual reside el 95% del área del espectro de potencia (Strohmenger *et al.*, 1997, citado por Gazmuri *et al.*, 2001); 3) el llamado índice AMSA (amplitud del área del espectro), que se obtiene integrando el área bajo la curva de amplitud del espectro de frecuencia dentro de un ancho de banda que elimina ciertos artefactos como es el caso del ruido ambiental (Marn-Pernat *et al.*, 2001); 4) la frecuencia dominante, que corresponde al máximo espectro de potencia (Strohmenger *et al.*, 1997, citado por Gazmuri *et al.*, 2001). En el presente trabajo, se pretende usar este último parámetro para el análisis de la fibrilación ventricular.

Otras técnicas de estudio de la fibrilación ventricular han sido las basadas en el análisis de las características del electrocardiograma. Así, Moe *et al.* (1941), analizaron la variación en la amplitud de las ondas del ECG, caracterizando así la evolución del patrón fibrilatorio desde su inicio. Sobre estos criterios se ha distinguido la fibrilación “fina” de la “grosera”, con el fin de establecer situaciones diferentes en la evolución de la fibrilación ventricular, conceptos éstos (los de “fina” y “grosera”) cuya utilidad ha sido objeto de polémica.

También han sido utilizados métodos de estudio que se han basado en el análisis de los potenciales de acción monofásicos y/o incluso en el del registro intracelular de

potenciales de acción mediante el uso de microelectrodos. Estos últimos métodos, han sido de gran utilidad para aportar información adicional sobre la fibrilación ventricular, la cual, origina modificaciones en el potencial de acción, como la disminución del tiempo de repolarización (Swartz *et al.*, 1993).

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

Zaitsev *et al.* (2003) relataron que el análisis de la fibrilación ventricular mediante la transformada de Fourier proporciona un estudio objetivo, preciso y completo de la frecuencia dominante. Según estos autores, la frecuencia de la

fibrilación ventricular es un estimador de la longitud del ciclo y de la rapidez de la FV.

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

1.3.- Resumen de la justificación de los objetivos e hipótesis de trabajo.

Dada la relativamente escasa información acerca de los efectos del ejercicio físico crónico sobre los parámetros que determinan la longitud de onda del proceso de activación miocárdico ventricular y de la frecuencia de la FV inducida, y dada la importancia que estos parámetros tienen a nivel de la protección miocárdica sobre la aparición de arritmias por reentrada, así como sobre la estabilización de las mismas, nos ha parecido de interés desde un punto de vista no solamente de aplicación clínica, sino también desde el punto de vista fisiológico básico, investigar en conejos sometidos a un protocolo de ejercicio físico crónico, los efectos del mismo sobre los siguientes parámetros: 1) la conducción ventricular

intrínseca; 2) la refractariedad intrínseca auricular, ventricular, del sistema de conducción auriculoventricular y ventriculoauricular; 3) la longitud de onda del proceso de activación miocárdica; 4) la frecuencia de la FV inducida y sin interrumpir la perfusión.

Por otra parte, dados los efectos del ejercicio físico crónico sobre el automatismo intrínseco y sobre la conducción AV intrínseca, nosotros hipotetizamos que el ejercicio físico crónico aumenta la refractariedad intrínseca auricular, ventricular, del sistema de conducción auriculoventricular y ventriculoauricular y la longitud de onda del proceso de activación miocárdica, y disminuye la frecuencia de la FV. Todo esto trataremos de evidenciarlo en una preparación de corazón aislado de conejo, sometido a un protocolo de ejercicio físico.

1.4.- Plan de trabajo.

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

- a) Entrenaremos a conejos en tapiz rodante, siguiendo un protocolo determinado.
- b) Mantendremos estabulados, sin realizar ejercicio, a otro grupo de conejos.

- c) Tras el periodo de entrenamiento y/o estabulación, procederemos a aislar los corazones de ambos grupos de conejos.
- d) Realizaremos el estudio de los parámetros electrofisiológicos objeto de estudio.
- e) Compararemos los resultados entre grupos.
- f) Discutiremos los resultados.
- g) Finalmente, extraeremos las correspondientes conclusiones.

CAPÍTULO 2

Material y Métodos

2.1.- Material.

2.1.1.- Animales de experimentación:
características.

El presente estudio ha sido realizado en corazones aislados de conejos machos, de raza Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*), alimentados *ad libitum* y con un peso medio al inicio del protocolo de entrenamiento o estabulación de $1'98 \pm 0'14$ Kg.

2.1.2.- Reactivos.

Se han utilizado los siguientes reactivos y compuestos:

- Para la preparación de la solución de Tyrode: CaCl_2 , MgCl_2 , KCl, NaH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl y glucosa de Panreac[®] Química S.A.

- Anestesia: ketamina (Ketolar[®]) de Parke-Davis.

- Heparinización: heparina sódica al 5% de Rovi[®].

2.1.3.- Aparatos.

- Balanza Precisa (Precisa Balances[®]) y balanza Soehnle[®].
- Tapiz rodante ("treadmill") Panlab[®] S.L. (fig. 2.1).



Fig. 2.1. Tapiz rodante.

- Sistema de estimulación:
 - Electrodo**s** bipolares de estimulación de acero inoxidable con un diámetro de 0'125 mm, y distancia interelectrodo de 1 mm.
 - Estimulador Grass S88[®] (Grass Instruments[®], Inc., Quincy, M.A., U.S.A.) provisto de una unidad de aislamiento de estímulo (SIU5). El estimulador permite emitir pulsos rectangulares de corriente, con una duración de 2 ms y en el

que podemos controlar parámetros tales como frecuencia de estimulación, intensidad de estímulo y tiempo de duración del estímulo (fig. 2.2).



Fig. 2.2. Estimulador Grass S88®.

- Sistema computarizado conectado al estimulador para estimulación programada.

- Sistemas de registro:

- **Electrodo bipolar** de plata con diámetro de 0'5 mm y una separación interelectrodo de 1 mm, para el registro del auriculograma.

- **Electrodo múltiple** para registro de los electrogramas ventriculares, compuesto de 256 electrodos unipolares de acero inoxidable, de un diámetro 0'125 mm, y una distancia interelectrodo de 1 mm (fig.2.3).



Fig.2.3. Electrodo múltiple de registro.

- **Sistema de cartografía** epicárdica de la actividad eléctrica (MAPTECH[®], Waalre, Holanda), para la adquisición y digitalización de las señales correspondientes a los electrogramas. Los electrogramas se amplificaron con una ganancia de 100 a 300, se filtraron eliminando las frecuencias situadas fuera de la banda comprendida entre 1-400 Hz y se multiplexaron. La frecuencia de muestreo en cada canal fue de 1 kHz, con una resolución de 12 bits. Los registros obtenidos a lo largo del experimento fueron almacenados en soporte digital para su análisis posterior (fig. 2.4).



Fig. 2.4. Sistema de cartografía MAPTECH[®].

- **Softwares:**

- **Pacemap**[®], utilizado para la captura y análisis de los electrogramas. Este *software* almacena los registros en el disco duro del ordenador, siendo la extracción de los episodios requeridos una tarea sencilla y rápida.

En PaceMap[®], debido a una limitación en los cálculos estadísticos, se utilizó una aplicación en MatLab[®] para poder visualizar los trazados de los intervalos V-V de la FV y calcular los estadísticos, a partir de un fichero ASCII de marcas exportadas (fig. 2.5):



Fig. 2.5. Programa **Pacemap**[®], utilizado para la adquisición y registro de las señales eléctricas y posterior análisis.

- **MedMap**[®], desarrollado bajo entorno MatLab[®], utilizado fundamentalmente para la comprobación y validación de mapas y espectros de frecuencia de las señales de FV.

Mediante ligeras modificaciones y ampliaciones de este programa se realizaron algunas correcciones y mejoras. Se le dotó de la capacidad de importar los archivos de señales generados por el nuevo software PaceMap[®], se automatizó el cálculo de las frecuencias dominantes de los espectros y se optimizó el cálculo estadístico por matrices de electrodos (fig. 2.6).

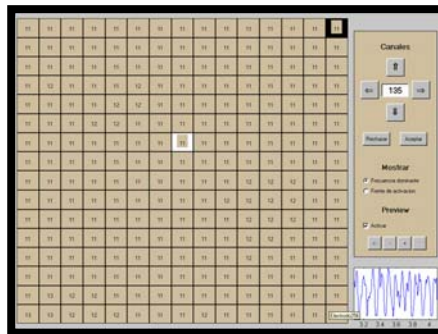


Fig. 2.6. Programa MatLab[®], utilizado fundamentalmente para la comprobación y validación de mapas y espectros de frecuencia de las señales de FV.

- Sistema de perfusión del corazón (fig. 2.7):
 - Sistema de soporte metabólico tipo Langendorff.
 - Bomba peristáltica (Cole-Parmer[®] Instrument co.).

-Bomba circulante de termostatación (Neslab[®] Instrument, inc.).

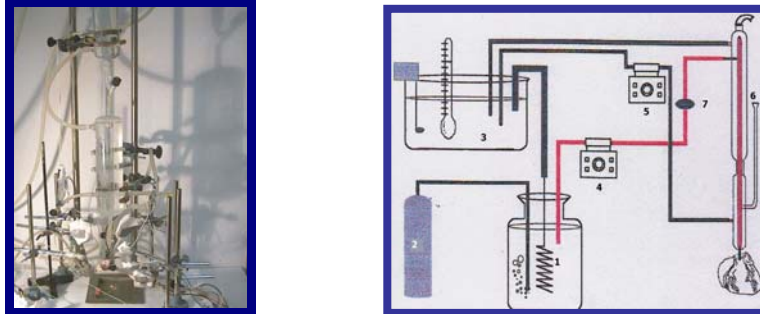


Fig. 2.7. En la imagen de la izquierda se muestra el sistema de perfusión tipo Langendorff. En la imagen de la derecha se muestra un esquema de una preparación de corazón aislado de conejo, en la que se indica la ubicación del líquido nutricio (Tyrode) en un recipiente (1) conectado a un depósito de carbógeno (2), con baño para termostatar el líquido nutricio (3), y bombas de perfusión (4 y 5), sistema de registro de la presión de perfusión (6), filtros (7), conducción de Tyrode (en rojo), y del líquido termostatzante (en líneas negras gruesas). (Modificado de Tormos A, 2005).

2.2.- Métodos.

2.2.1.- Protocolo de entrenamiento de los animales.

Los conejos fueron entrenados en cinta rodante durante 6 semanas. El protocolo de entrenamiento consistió en 30 sesiones (5 días a la semana). Cada sesión se compuso a su vez de 6 series, en cada una de las cuales el animal corrió a

una velocidad de $0'5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, durante 4 minutos. El intervalo de descanso entre las series fue de 1 minuto. Previamente a la iniciación de las sesiones de entrenamiento, los conejos fueron sometidos a un periodo de 4 sesiones de familiarización con la cinta rodante (Such *et al.*, 2002).

La correcta realización del ejercicio sobre la cinta rodante fue regularmente supervisada por dos observadores. Los conejos que una vez iniciado el periodo de entrenamiento no corrieron adecuadamente durante cinco sesiones consecutivas, fueron excluidos del presente estudio. Finalizado el protocolo de entrenamiento se procedió a sacrificar a los animales para realizar el estudio electrofisiológico.

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

Las condiciones en las que permanecieron estabulados los conejos también fueron controladas, siendo el fotoperiodo artificial de 12 horas (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), la temperatura se mantuvo entre los $21\text{-}23^{\circ} \text{ C}$ y la humedad relativa del 31%. Cada conejo estuvo en una jaula individual de dimensiones reglamentarias, y se utilizó viruta de nogal

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

Se alimentó a todos los animales estudiados con agua y pienso (Harlan Teklad Global Rabbit Diet), *ad libitum*.

2.2.2.- Estudio electrofisiológico.

2.2.2.1.- Preparación experimental.

Tras la heparinización mediante la administración de 0'4 ml de heparina (2000 ui/ml), y anestesia intravenosa de los conejos con ketamina, (12'5 mg/kg), a través de la vena marginal de la oreja, se sacrificaron mediante contusión cervical. Después de una toracotomía mediosternal y una pericardiotomía, se extrajo el corazón rápidamente, seccionándolo por su pedículo vascular, y se sumergió en una solución fría de Tyrode (8° C), para posterior manipulación. Tras seccionar la arteria pulmonar y a continuación disecar la arteria aorta ascendente, ésta se seccionó también, y se conectó a un sistema de Langendorff, mediante hilo de seda de 1-2 mm de diámetro, perfundiendo retrógradamente al corazón con la solución de Tyrode a $37 \pm 5^{\circ}\text{C}$, y que contiene en concentraciones (mM): NaCl 130, KCl 4'7, CaCl_2 2'2, MgCl_2 0'6, NaH_2PO_4 1'2, NaHCO_3 24'2 y glucosa 12. El pH se mantuvo a 7'4 por equilibrio. La oxigenación del mismo se efectuó con una

mezcla del 95% O₂ y 5% CO₂ (carbógeno). La presión de perfusión inicial se fijó en 60 mmHg.

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

Los electrodos se dispusieron del siguiente modo. Se ubicaron dos electrodos bipolares, revestidos de plata, para la estimulación auricular y para el registro del electrograma auricular. Otro electrodo bipolar se situó en el ventrículo izquierdo para estimularlo. El registro ventricular se realizó por medio de un electrodo múltiple con 256 electrodos unipolares de acero inoxidable colocados en la superficie epicárdica de la pared lateral del ventrículo izquierdo. El electrodo indiferente se ubicó sobre la aorta canulada. La grabación de los registros fue obtenida con un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca (MAPTECH[®]), como se ha comentado anteriormente (fig. 2.8).

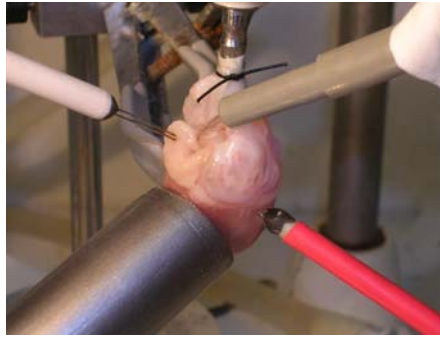


Fig. 2.8. Ubicación de los electrodos.

2.2.2.2.- Parámetros a estudiar: definición y determinación de los mismos.

a) Definición de los parámetros:

- Parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la conducción ventricular:

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

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

- La longitud de onda es el producto del periodo refractario efectivo ventricular por la velocidad de conducción.

Se define como la distancia recorrida por la onda de despolarización durante la duración de su periodo refractario.

$$LO = PREV \cdot VC$$

- Parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la refractariedad miocárdica:

- Periodo refractario efectivo auricular (PREA): es el intervalo más largo S_1-S_2 en el que el extraestímulo S_2 no consigue despolarizar la aurícula (S_1 es el artefacto del último estímulo del tren y S_2 es el artefacto del extraestímulo).

- Periodo refractario funcional auricular (PRFA): es el intervalo A_1-A_2 más corto propagado de dos estímulos sobre aurícula, con el test del extraestímulo auricular (A_1 es el último electrograma del tren fijo de estimulación y A_2 el electrograma auricular correspondiente al extraestímulo).

- Periodo refractario efectivo del sistema de conducción auriculoventricular (PRESCAV): es el intervalo A_1-A_2 más largo, sin el V_2 correspondiente.

- Periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular (PRFSCAV): es el mínimo intervalo de acoplamiento entre el electrograma ventricular, producido por el

último estímulo del tren base auricular y el que está producido por el extraestímulo (el mínimo V_1-V_2).

- Periodo refractario efectivo del sistema de conducción ventriculoauricular o retrógrada (PRESCVA): es el intervalo V_1-V_2 más largo, sin el A_2 correspondiente.

- Periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoauricular o retrógrada (PRFSCVA): es el mínimo intervalo de acoplamiento entre el electrograma auricular, producido por el último estímulo del tren base ventricular y el que está producido por el extraestímulo (el mínimo A_1-A_2).

- Periodo refractario efectivo ventricular (PREV): es el máximo intervalo de acoplamiento del extraestímulo ventricular (S_1-S_2) sin captura ventricular (S_2 sin V_2).

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

- Parámetros electrofisiológicos utilizados para la valoración de la frecuencia de la fibrilación ventricular:

- Frecuencia dominante máxima (FDM_{máx}): es la frecuencia máxima del espectro registrado por el multielectrodo en un tiempo determinado de la FV.
- Frecuencia dominante mínima (FDM_{mín}): es la frecuencia mínima del espectro registrado por el multielectrodo en un tiempo determinado de la FV.
- Frecuencia dominante media (FDM): es la media de las frecuencias dominantes registradas por el multielectrodo en un tiempo determinado de la FV.

b) Determinación de los parámetros:

La determinación de parámetros en los que se requiere el uso de estimulación eléctrica requiere de la explicación de algunos aspectos relacionados con la misma. Primero hay que decir que los estímulos fueron de una intensidad doble del umbral, y la determinación del umbral se realizó del siguiente modo: se midió el umbral de estimulación del corazón, con el estimulador *Grass*, con una frecuencia de estimulación constante de 4-5 pulsos por segundo y una duración del estímulo, también constante, de 2 ms, se disminuyó

progresivamente la intensidad de estimulación, desde un valor superior al que claramente producía respuesta cardíaca mantenida a la estimulación, hasta alcanzar el umbral diastólico, es decir, la mínima intensidad del estímulo capaz de producir una respuesta excitatoria.

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

- Analizaremos, por una parte, la velocidad de conducción ventricular, en el V_1 - V_2 del último tren de estimulación cuyo extraestímulo produjo respuesta ventricular. En este tren, establecemos una ventana fija que abarcaba la despolarización ventricular producida por el extraestímulo (EE), y se procedió al marcado semiautomático de la misma. El programa utilizado, Pacemap®, produjo una codificación en colores de los tiempos resultantes, obteniendo un mapa de activación fijo (fig. 2.9) de la propagación del impulso por el miocardio ventricular pudiendo así construir las isócronas del proceso de activación ventricular producido.

En dichos mapas, se ha calculado la VC, dividiendo la distancia que separa a dos electrodos por la diferencia de tiempo en la detección de la activación eléctrica ventricular por esos mismos electrodos, y situados en una dirección perpendicular a las isócronas. Como los frentes de onda pueden viajar de manera no paralela a la superficie epicárdica,

la velocidad de conducción real pudiera ser más lenta que el valor medido. Este posible error lo redujimos utilizando solamente aquellos mapas en los que la entrada y salida del frente de onda se identificaron en los bordes de los mapas de activación.

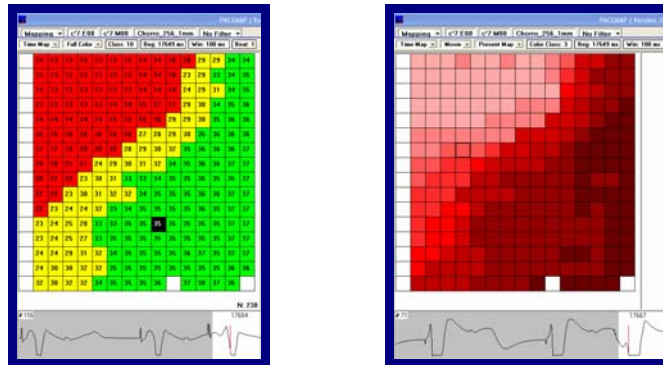


Fig. 2.9. Mapas de activación.

- Analizaremos, por otra parte, la longitud de onda del proceso de activación ventricular, que como previamente hemos indicado en el apartado de definiciones, es el producto del periodo refractario efectivo ventricular por la velocidad de conducción.

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

- Refractoriedad auricular: se determina mediante el test del extraestímulo auricular: estimulamos a la aurícula mediante trenes de 10 estímulos a frecuencia fija, seguidos de un extraestímulo. Este extraestímulo se va acercando en intervalos de 5 ms, al último estímulo del tren, hasta que no aparece el auriculograma correspondiente al extraestímulo auricular (S_2 sin A_2). Con ello determinamos el PREA y PRFA. Las longitudes de los ciclos de estimulación fueron de un 10% inferior a la espontánea, de 250, de 200 y de 150 milisegundos.

- Refractoriedad del sistema de conducción auriculoventricular: se determina mediante el test del extraestímulo auricular: estimulamos a la aurícula mediante trenes de 10 estímulos, seguidos de un extraestímulo. Este extraestímulo, como se ha descrito anteriormente, se va acercando en intervalos de 5 ms, al último estímulo del tren, hasta que no aparece el ventriculograma correspondiente al extraestímulo auricular (A_2 sin V_2). Con ello determinamos el PRESCAV y PRFSCAV. Las longitudes de los ciclos de estimulación fueron de un 10% inferior a la espontánea, de 250, de 200 y de 150 ms.

- Refractoriedad del sistema de conducción ventriculoauricular o retrógrada: se determina mediante el test del extraestímulo ventricular: estimulamos al ventrículo mediante trenes de 10 estímulos, seguidos de un extraestímulo. Este extraestímulo, como se ha descrito

anteriormente, se va acercando en intervalos de 5 ms, al último estímulo del tren, hasta que no aparece el auriculograma correspondiente al extraestímulo ventricular (V_2 sin A_2). Con ello determinamos el PRESCVA y PRFSCVA. Las longitudes de los ciclos de estimulación fueron de un 10% inferior a la espontánea, de 250, de 200 y de 150 ms.

- Refractoriedad ventricular: se determina mediante el test del extraestímulo ventricular; es decir, estimulamos al ventrículo mediante trenes de 10 estímulos, seguidos de un extraestímulo. Este extraestímulo, se va acercando en intervalos de 5 ms, al último estímulo del tren, con lo que se consigue determinar el PREV y el PRFV (fig. 2.10). Las longitudes de los ciclos de estimulación fueron de un 10% inferior a la espontánea, de 250, de 200 y de 150 ms.

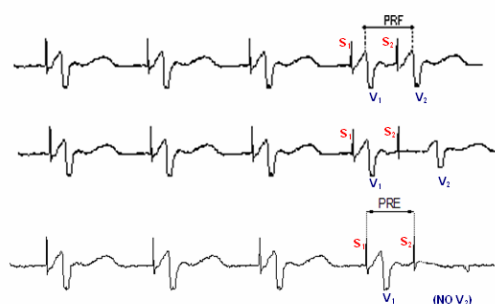


Fig. 2.10. Periodo refractario efectivo ventricular (PREV) y funcional ventricular (PRFV). S_1 : artefacto del último estímulo del tren. V_1 : electrograma ventricular generado por el último estímulo del tren. S_2 : artefacto del extraestímulo. V_2 : electrograma ventricular generado por el extraestímulo.

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

- Frecuencia dominante máxima, mínima y media: se estimuló el ventrículo izquierdo a frecuencias crecientes a partir de 4 Hz, con un incremento de 0'1 Hz cada 3 s hasta desencadenarla, manteniendo la perfusión coronaria. La intensidad de estimulación fue ligeramente superior al doble del umbral, que es la intensidad que excepto para la inducción de la fibrilación ventricular, ha sido usada para el estudio de la refractariedad. La estimulación fue cesada en el momento en que visualizamos la instauración de la fibrilación ventricular.

Posteriormente, analizamos la FrD (media, máxima y mínima) de las señales fibrilatorias registradas con todos los electrodos unipolares localizados en el ventrículo mediante el Método de Welch, que se basa en los estudios clásicos de Fourier sobre los armónicos constituyentes de una onda compuesta (fig. 2.11).

El análisis espectral de la FV se realizó en el minuto cinco tras la inducción de la FV. Este análisis se efectuó utilizando bloques de datos de 2048 puntos, aplicando la *ventana de Hamming*. Se obtuvo para cada bloque la frecuencia dominante (FrD), es decir, la frecuencia correspondiente con el espectro máximo, y la energía contenida en el segmento del periodograma correspondiente a

FrD 1 Hz. La densidad del espectro de potencia (DEP) se calcula con el cuadrado de la amplitud de la señal, expresado en unidades arbitrarias.

El procesamiento de datos fue efectuado mediante software Matlab® en una plataforma Hewlett-Packard 712/80 (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA).

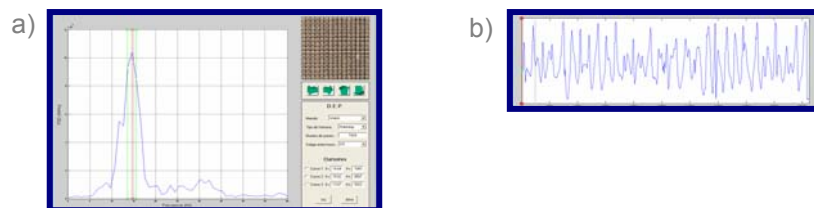


Fig. 2.11. Espectro de frecuencias representado frente a la amplitud del trazado de FV, en ordenadas se representa la densidad espectral de potencia (DEP) y en abscisas los valores de FrD (a) y el registro de la fibrilación ventricular analizado (b).

2.2.2.3.- Grupos de estudio

Dividimos a los animales en dos grupos: control, compuesto por un total de once conejos no entrenados; y grupo entrenado, compuesto por un total de doce animales.

2.2.2.4.- Protocolo experimental

Tras ubicar el corazón en el sistema de Langendorff, situamos los electrodos correspondientes; pasado un tiempo de estabilización de la preparación de 20 minutos, se procedió a la realización del siguiente protocolo:

- Registro electrográfico basal, para la determinación del automatismo sinusal.

- Test del extraestímulo auricular con diferentes longitudes de ciclo de estimulación: al 10% menor del ciclo sinusal, a 250 ms, a 200 ms y a 150 ms, para el estudio de la refractariedad auricular y de la refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular.

- Registro electrográfico basal, para la determinación del automatismo sinusal.

- Test del extraestímulo ventricular con diferentes longitudes de ciclo de estimulación: al 10% menor del ciclo sinusal, a 250 ms, a 200 ms y a 150 ms; para el estudio de la refractariedad ventricular, del sistema de conducción retrógrado y de la velocidad de conducción ventricular.

- Inducción de la fibrilación ventricular a frecuencias crecientes para el estudio de la frecuencia de la FV en el minuto 5 de registro de la misma.

- Peso de los corazones de los conejos.

2.3.- Análisis estadístico.

Para la comparación, entre los grupos entrenado y control, de la refractariedad, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas de 2 factores sobre 1 factor, con una $p \leq 0'05$.

En cuanto a la velocidad de conducción, la longitud de onda, la frecuencia de la fibrilación ventricular y los parámetros de control del entrenamiento, se utilizó el test de la *t* de *Student* para muestras no apareadas, con una $p \leq 0'05$, para la comparación entre los grupos entrenado y control.

Para el análisis estadístico se usó el *software* Microsoft® Excel 2000 y el paquete de análisis estadístico SPSS® (versión 14), 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.

CAPÍTULO 3

Resultados

3.1.- Automatismo.

Los intervalos V-V *in vivo* fueron mayores en el grupo de conejos entrenados que en el grupo de conejos control (ver tabla 3.1 y fig. 3.1).

Los intervalos V-V *in vitro*, obtenidos en los corazones de conejos entrenados, fueron más largos que los del grupo de conejos control (ver tabla 3.1 y fig. 3.2).

	V-V <i>in vivo</i>	V-V <i>in vitro</i>
Control	235±8 (11)	292±18 (11)
Entrenado	264±32* (4)	330±38* (12)

Tabla 3.1: Media y desviación estándar de los valores correspondientes a los intervalos V-V, *in vivo* e *in vitro*. Valores expresados en ms. Número de experimentos entre paréntesis. *p<0'05.

V-V *in vivo*

ms

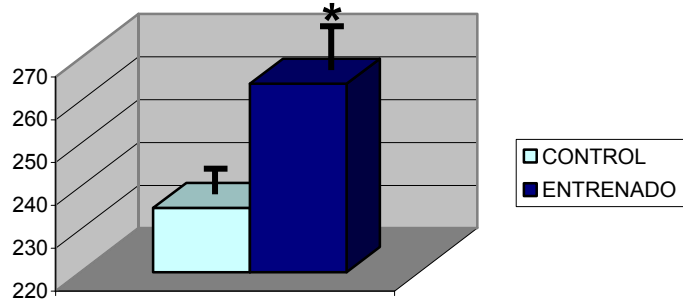


Fig. 3.1: Efecto del entrenamiento sobre los intervalos V-V *in vivo*. Valores expresados en ms. * $p < 0.05$. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

V-V *in vitro*

ms

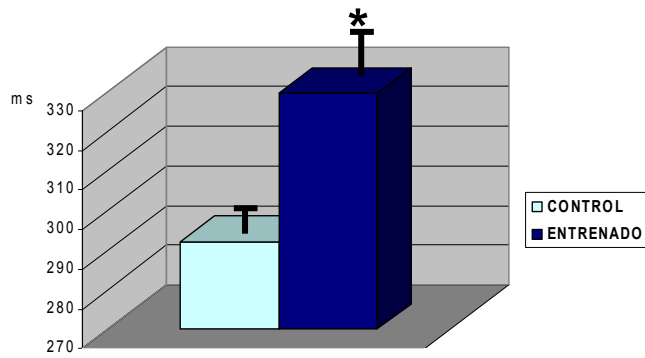


Fig. 3.2: Efecto del entrenamiento sobre los intervalos V-V *in vitro*. Valores expresados en ms. * $p < 0.05$. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

3.2.- Conducción.

a) Conducción ventricular.

Respecto a la velocidad de conducción, no hubo diferencias entre los valores obtenidos en los corazones de los conejos entrenados respecto a los controles (ver tabla 3.2 y fig. 3.3).

b) Longitud de onda.

En referencia a los valores de la longitud de onda del proceso de activación miocárdica ventricular, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos entrenado y control, ya que el nivel de significación fue igual a 0'06 (ver tabla 3.2 y fig. 3.4).

	VC	LO
Control	104±9 (10)	12±1 (10)
Entrenado	102±8 (12)	14±2 (12)

Tabla 3.2: Media y desviación estándar de los valores de velocidad de conducción (VC) y longitud de onda (LO). Valores expresados en $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ para la VC y en centímetros para la LO. Número de experimentos entre paréntesis.

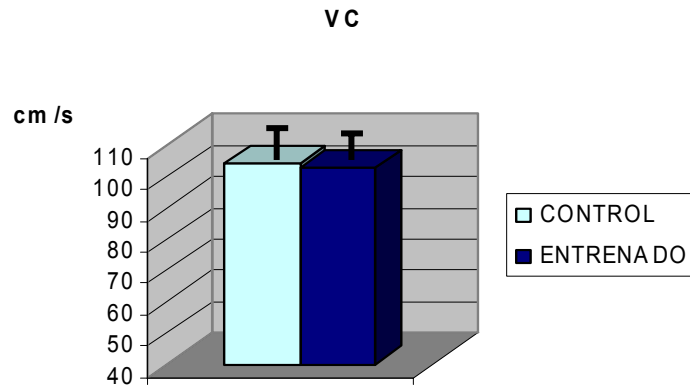


Fig. 3.3: Efecto del entrenamiento sobre la velocidad de conducción. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

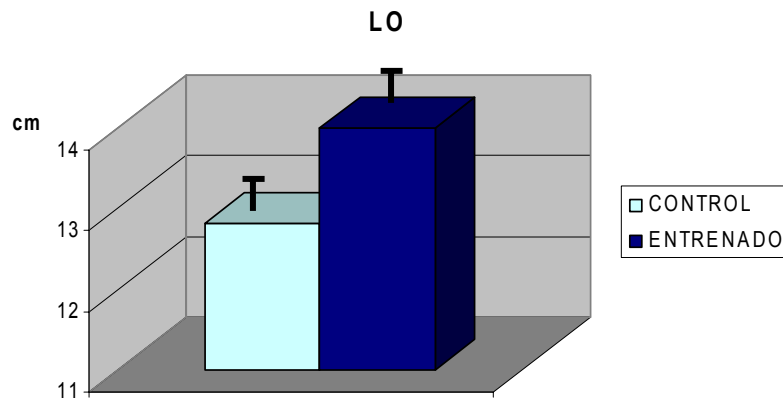


Fig. 3.4: Efecto del entrenamiento sobre la longitud de onda. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

3.3.- Refractoriedad.

a) Refractoriedad auricular.

Respecto al periodo refractario efectivo auricular, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos entrenado y control (ver tabla 3.3 y fig. 3.5).

En referencia a los valores del periodo refractario funcional auricular, tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (ver tabla 3.4 y fig. 3.6).

<i>PREA</i>	10%	250	200	150
Control	73±7 (7)	72±8 (7)	69±8 (7)	63±12 (7)
Entrenado	78±18 (5)	79±20 (5)	80±17 (5)	70±13 (5)

Tabla 3.3: Media y desviación estándar de los valores correspondientes al periodo refractario efectivo auricular con 4 trenes de estimulación: 10% menor que la

longitud del ciclo sinusal básico, 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms. Número de experimentos entre paréntesis.

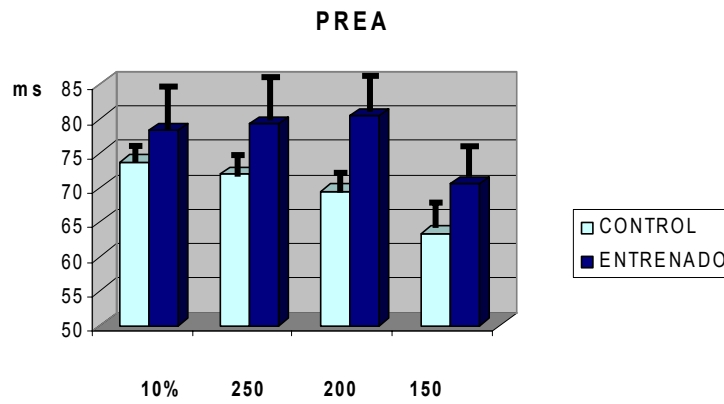


Fig. 3.5: Efecto del entrenamiento sobre el PREA. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

<i>PRFA</i>	10%	250	200	150
	Control	90±5 (8)	87±7 (8)	90±5 (8)
Entrenado	93±10 (6)	95±14 (6)	98±20 (6)	86±6 (6)

Tabla 3.4: Media y desviación estándar de los valores correspondientes al periodo refractario funcional auricular con 4 trenes de estimulación: 10% menor que la longitud del ciclo sinusal básico, 250 ms, 200 ms y

150 ms. Valores expresados en ms. Número de experimentos entre paréntesis.

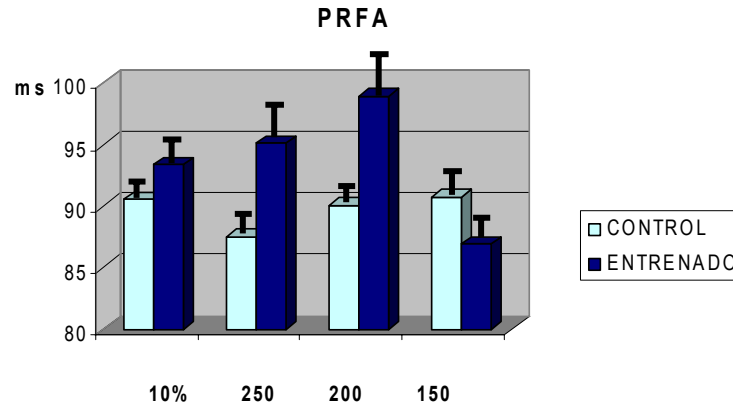


Fig. 3.6: Efecto del entrenamiento sobre el PRFA. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

b) Refractoriedad del sistema de conducción auriculoventricular.

La comparación de los periodos refractarios efectivos del sistema de conducción auriculoventricular entre los animales del grupo control y los animales entrenados, no se pudo realizar debido al escaso número de valores correspondientes a dicho parámetro, lo cual se debió a que en la mayor parte de los casos, durante la realización del test del extraestímulo auricular se alcanzó antes el periodo refractario efectivo

auricular, con lo que no se pudo determinar el valor del periodo refractario efectivo del sistema de conducción AV.

En referencia a los valores del periodo refractario funcional del sistema de conducción AV, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos entrenado y control (ver tabla 3.5 y fig. 3.7).

<i>PRFSCAV</i>	10%	250	200	150
Control	131±25 (3)	144±6 (3)	135±6 (3)	128±7 (3)
Entrenado	148±25 (6)	144±18 (6)	142±10 (6)	137±12 (6)

Tabla 3.5: Media y desviación estándar de los valores correspondientes al periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular con 4 trenes de estimulación: 10% menor que la longitud del ciclo sinusal básico, 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms. Número de experimentos entre paréntesis.

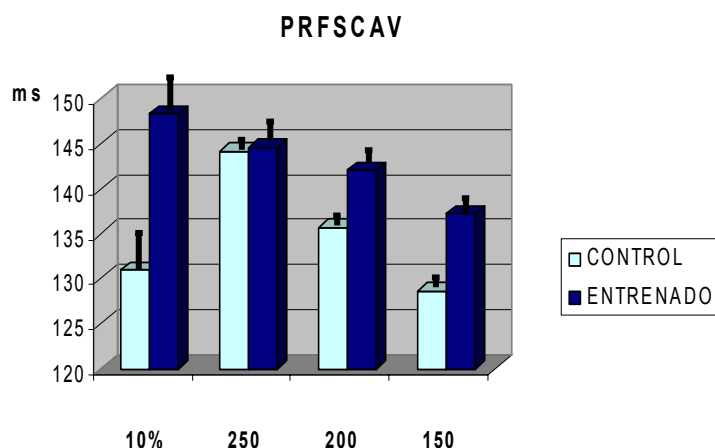


Fig. 3.7: Efecto del entrenamiento sobre el PRFSCAV. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

c) Refractoriedad del sistema de conducción ventriculoauricular.

La comparación de los periodos refractarios efectivos del sistema de conducción ventriculoauricular entre los animales del grupo control y entrenado no se pudo realizar debido al escaso número de valores correspondientes a dicho parámetro, lo cual se debió a que en la mayor parte de los casos, durante la realización del test del extraestímulo ventricular se alcanzó antes el periodo refractario efectivo ventricular, con lo que no se pudo determinar el valor del periodo refractario efectivo del sistema de conducción VA.

En cuanto al periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoauricular, no se pudo realizar la estadística debido al escaso número de datos válidos hallados, tanto en el grupo entrenado como en el grupo control.

d) Refractoriedad ventricular.

En referencia a los valores del periodo refractario efectivo ventricular, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos entrenado y control (ver tabla 3.6 y fig. 3.8).

En cuanto a los periodos refractarios funcionales ventriculares, fueron mayores en el grupo entrenado que en el grupo control, al estimular con un tren de estimulación un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal básico, 250 ms, 200 ms y 150 ms (ver tabla 3.7 y fig. 3.9).

<i>PREV</i>	10%	250	200	150
Control	123±11 (9)	122±8 (9)	114±9 (9)	105±7 (9)
Entrenado	135±14 (11)	126±12 (11)	120±12 (11)	108±12 (11)

Tabla 3.6: Media y desviación estándar de los valores correspondientes al periodo refractario efectivo ventricular con 4 trenes de estimulación: 10% menor que la longitud del ciclo sinusal básico, 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms. Número de experimentos entre paréntesis.

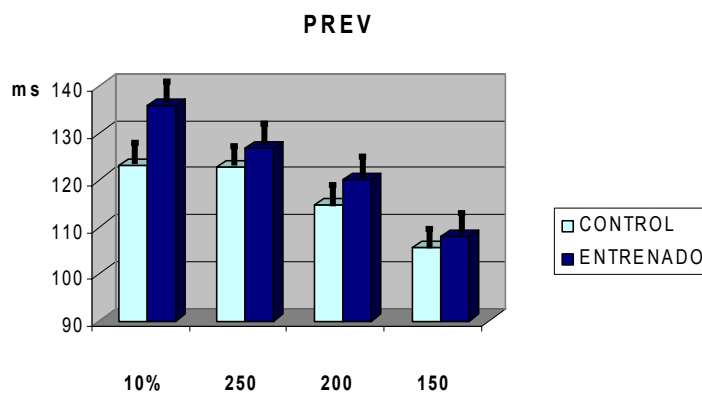


Fig. 3.8 Efecto del entrenamiento sobre el PREV. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

PRFV	10%	250	200	150
	Control	134±19 (9)	132±5 (9)	126±8 (9)
Entrenado	147±13* (11)	147±13* (11)	130±10* (11)	120±8* (11)

Tabla 3.7: Media y desviación estándar de los valores correspondientes al periodo refractario funcional ventricular con 4 trenes de estimulación: 10% menor que la longitud del ciclo sinusal básico, 250 ms, 200 ms y 150 ms. Valores expresados en ms. Número de experimentos entre paréntesis. *p<0'05.

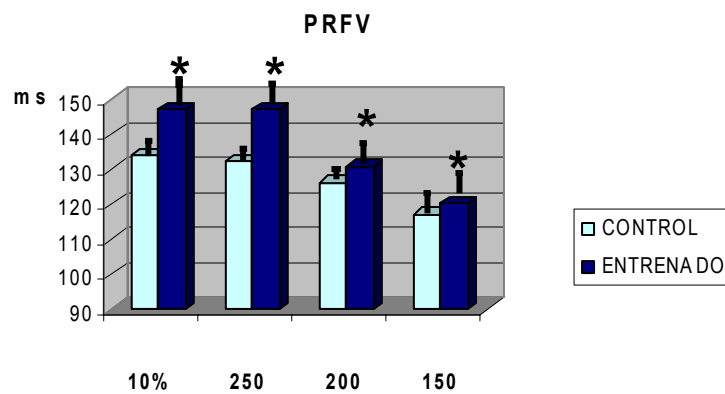


Fig. 3.9: Efecto del entrenamiento sobre el PRFV. *p<0'05. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

3.4.- Frecuencia de la fibrilación ventricular.

La frecuencia dominante máxima de la fibrilación ventricular de los corazones de los animales entrenados fue menor que la de los controles (ver tabla 3.8 y fig. 3.10).

Respecto a la frecuencia dominante media y mínima, no hubo diferencias entre ambos grupos (ver tabla 3.8 y fig. 3.10).

	FDM	FDMáx	FDMín
Control	15±2'2 (5)	21'9±5'9 (5)	9'8±4'1 (5)
Entrenado	14±1'9 (6)	16'44±2* (6)	9'9±2'6 (6)

Tabla 3.8: Media y desviación estándar de los valores correspondientes a la frecuencia dominante media (FDM), a la frecuencia dominante máxima (FDMáx) y a la frecuencia dominante mínima (FDMín) en el minuto cinco de

fibrilación ventricular. Valores expresados en Hz. Número de experimentos entre paréntesis. * $p < 0.05$.

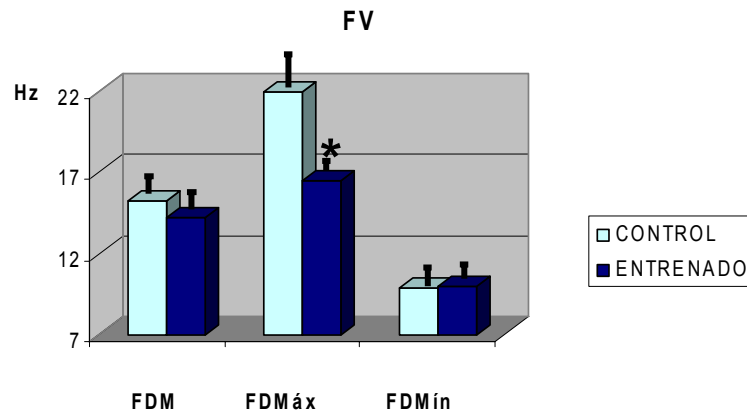


Fig. 3.10: Efecto del entrenamiento sobre la frecuencia dominante. * $p < 0.05$. El símbolo de dispersión utilizado corresponde al error estándar.

CAPÍTULO 4

Discusión

4.1.- Algunas consideraciones generales.

En la presente tesis hemos investigado, en corazones aislados de conejos entrenados en cinta rodante, siguiendo el protocolo descrito en el capítulo relativo a Metodología, el efecto del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad miocárdica, la velocidad de conducción ventricular, la longitud de onda del proceso de activación (producto del periodo refractario efectivo ventricular x la velocidad de conducción) y la frecuencia de la fibrilación ventricular.

Este trabajo se ha realizado con el fin de evidenciar la existencia de las modificaciones citadas, y de que los mecanismos que subyacen son propios del corazón y, por tanto, no sometidos a control nervioso y/o humoral.

Como comentamos previamente en el capítulo de Introducción, pensamos que nuestra investigación posee un interés científico básico, y de probable aplicación en clínica humana a más largo plazo. El interés científico básico deriva de la relativamente escasa información de que se dispone del problema planteado; y el interés en clínica humana deriva de los estudios realizados en la actualidad por diversos autores sobre el efecto que produce el ejercicio físico regular sobre la prevención, directa o indirecta, de diversos tipos de arritmias cardíacas que se hallan implicadas en la mortalidad de origen cardíaco (Paffenbarger y Hale, 1975, Ekelund *et al.*, 1988, Blair

et al., 1996), como es la fibrilación ventricular, implicada como causa principal de muerte súbita de origen cardiaco (Billman, 2002).

4.2.- Consideraciones relativas a los métodos empleados.

Hemos usado una preparación de corazón aislado con el fin de excluir influencias nerviosas y/o humorales sobre los resultados, y que ha sido usada comúnmente para el estudio de efectos electrofisiológicos directos o intrínsecos de fármacos o de diversas manipulaciones como son estiramientos, lesiones por radiofrecuencia, variaciones térmicas, hipoxia global, ejercicio físico, etc. (Chorro *et al.*, 1997, 1999, 2000, Such *et al.*, 2002, Chorro *et al.*, 2005).

El modelo de corazón aislado de conejo, solamente requiere para su perfusión, líquidos de fácil disponibilidad y preparación como es el Tyrode, lo que representa una ventaja si lo comparamos con el corazón de animales como el perro, que requiere sangre para su perfusión; además, es de fácil manipulación, lo que le da también ventajas respecto al corazón de animales más pequeños como es el de rata o cobaya. Otros animales como el ratón, que tiene una masa ventricular pequeña y una frecuencia cardiaca muy rápida, con una duración corta de potencial de acción, es un mal modelo

para el estudio de la fibrilación ventricular. En este animal es extremadamente difícil la inducción de la fibrilación ventricular, así como el mantenimiento, en el tiempo, de la misma, ya que los circuitos reentrantes, que son necesarios para la propagación de la fibrilación ventricular, difícilmente se forman en estos animales (ver revisión de Billman, 2002).

En cuanto al uso de los perros, avala su utilización que pueden ser instrumentalizados para realizar estudios longitudinales y que se han visto por el entrenamiento una serie de efectos, como son la reducción de la frecuencia cardiaca, la disminución del gasto cardiaco y la no variación del volumen sistólico. Así, se ha podido realizar un estudio del dP/dt , donde se demostró un aumento del mismo en perros entrenados (Schaible y Scheuer, 1985). Reidhammer *et al.*, 1983 (tomado de Schaible y Scheuer, 1985) relataron un pequeño incremento en la masa del corazón y un menor incremento en la presión y en el volumen telediastólicos en los entrenados, así como un incremento de la contractilidad.

Referente a las ratas de laboratorio, éstas constituyen el animal más frecuentemente estudiado en experimentos de acondicionamiento cardiaco. Ello es debido a que presenta una constitución genética bien definida, un bajo coste económico y la posibilidad de ser entrenadas simultáneamente. Por otra parte, presenta una serie de desventajas, como son su alta frecuencia cardiaca, que dificulta los estudios dependientes de

ésta y un tamaño cardíaco muy pequeño, que va en perjuicio de una instrumentalización prolongada, lo que impide realizar estudios longitudinales (Schaible y Scheuer, 1985).

Respecto al animal utilizado para este tipo de estudios, el conejo, es un animal considerado por muchos autores idóneo para estudios sobre efectos del entrenamiento, ya que el conejo de laboratorio es, a semejanza de los humanos en general, sedentario, y con protocolos de ejercicio de intensidad, duración y frecuencia apropiadas, se obtiene una respuesta cardiovascular propia del entrenamiento muy fácilmente (DiCarlo *et al.*, 1990).

Finalmente, el hecho de que hayamos usado una preparación tipo Langendorff, sin poscarga, y con una ligerísima precarga, y no sea por tanto una preparación de "working heart", nos permite asegurar que las diferencias observadas entre los grupos no pueden atribuirse a diferencias en el trabajo cardíaco. La ligerísima precarga a la que hemos hecho mención se refiere al ventrículo derecho, debido al Tyrode que perfunde el árbol coronario y que retorna a dicho ventrículo, y nosotros hemos explorado, tanto la refractariedad como la velocidad de conducción, en el ventrículo izquierdo.

4.3.- Respecto a los resultados obtenidos.

4.3.1.- Respecto al automatismo como parámetro cardiovascular de entrenamiento.

Aunque no ha sido planteado como punto prioritario en la presente tesis, el estudio de las variaciones del automatismo sinusal se ha propuesto por dos razones:

a) Como parámetro electrofisiológico de entrenamiento nos propusimos analizar en algunos animales la longitud del ciclo sinusal *in vivo* y también, en casi todos los grupos experimentales, *in vitro*. La disminución de la longitud del ciclo sinusal *in vivo* en reposo es como muy bien sabemos una manifestación electrofisiológica de entrenamiento. Es, como clásicamente ha sido descrito (para revisión mirar Scheuer y Tipton, 1977), una de las adaptaciones cardiovasculares propias y más características de la realización regular de ejercicio físico, como hemos apuntado previamente en el capítulo de Introducción.

En nuestro estudio, tal y como pudimos ver en el capítulo de Resultados, se puso de manifiesto al final del periodo de entrenamiento un incremento de la longitud del ciclo sinusal en aquellos animales entrenados en los que se determinó dicho parámetro respecto a los controles. Este parámetro no fue determinado en todos los animales por razones metodológicas,

de las que cabe destacar la dificultad de mantener al animal “voluntariamente” casi inmóvil durante un minuto con el fin de practicarle el registro electrocardiográfico, con el que poder analizar posteriormente la longitud del ciclo sinusal. Téngase en cuenta que los registros se realizaron en el animal consciente y además no sometido al estrés de una inmovilización forzada. Esto se realizó de tal manera para evitar la administración y la interferencia de fármacos anestésicos o sedantes. Por otra parte, la inmovilización forzada generaría, además de estrés y por tanto un incremento de la catecolaminemia, unos trazados con mucho “ruido” consecuencia de las fuertes contracciones que suele producir el animal en tales situaciones. Es, por tanto, por las razones mencionadas, que no en todos los conejos se pudo realizar el análisis del ECG *in vivo*, ya que algunos de estos animales no permitieron un registro adecuado por su comportamiento (poca tendencia a la inmovilización “voluntaria”) durante el periodo de registro.

Pensamos que el alargamiento de la longitud del ciclo sinusal medido en el ECG *in vivo* permite hablar de una adaptación cardiovascular producida por la aplicación del protocolo de ejercicio, es decir, de una situación que podemos llamar de entrenamiento.

También hemos mostrado que la longitud del ciclo sinusal medido en el corazón aislado ha sido mayor en el de los

animales entrenados que en el de los controles. Este resultado ha sido también considerado, en sí mismo, como parámetro cardiovascular de entrenamiento. Ya ha sido publicado previamente por otros autores y por nosotros mismos, que en el corazón aislado de animales entrenados se observa una depresión del cronotropismo sinusal (Such *et al.*, 2002), lo que nos permite añadir, a nuestro entender, este parámetro a los más comúnmente considerados para establecer más claramente la consideración de la situación de animal entrenado.

b) Aunque el efecto del ejercicio físico crónico sobre el automatismo o cronotropismo sinusal intrínseco ha sido objeto previo de estudio por otros autores y por nuestro grupo investigador, los resultados presentados sobre el efecto del ejercicio físico crónico sobre el automatismo sinusal, no dejan de contribuir a reforzar la idea de que el entrenamiento provoca cambios intrínsecos de dicha propiedad, ya que los observamos en un corazón aislado y por lo tanto no sometido a influencias del llamado sistema nervioso extrínseco, ni tampoco a influencias humorales. En este último sentido es importante considerar en el corazón *in situ*, no solamente las influencias nerviosas de carácter extrínseco a las que está sometido, sino también a todos aquellos componentes propios de la sangre que irriga al corazón y que sin duda muchos de ellos puedan ejercer efectos sobre él. En dicho sentido pensamos que las propiedades electrofisiológicas que exhibe el corazón *in situ*

probablemente serán la resultante de todos los factores citados más el concurso del sistema nervioso extrínseco y todos los factores intrínsecos, incluidos también los nerviosos. Hacemos estas consideraciones para justificar la ventaja de nuestro modelo frente a los que para realizar estudios de las modificaciones electrofisiológicas intrínsecas del ejercicio recurren al bloqueo farmacológico de los receptores para los neurotransmisores del SN autónomo, en el corazón *in situ*, y que por lo tanto no pueden obviar las posibles influencias de tipo humorohormonal.

Los cambios observados en la frecuencia cardíaca intrínseca observados por nosotros están en consonancia con anteriores estudios experimentales realizados en ratas (Nylander *et al.*, 1982) y perros (Ordway *et al.*, 1982). En contraposición, otros estudios en corazones aislados de animales entrenados no encontraron cambios significativos en la frecuencia cardíaca (Tipton *et al.*, 1977). El componente intrínseco de la bradicardia en los sujetos entrenados ha sido relacionado con un agrandamiento cardíaco y con el estiramiento tónico del marcapasos sinoauricular, hecho que podría producir la dilatación auricular en los protocolos de entrenamiento de resistencia (Lewis *et al.*, 1980). Una modificación en el metabolismo de los miocitos cardíacos que resultara en una más eficiente utilización y generación de la energía, ha sido sugerida como una causa de la bradicardia intrínseca (Katona *et al.*, 1982). También ha sido relatado, en

algunos casos, que la bradicardia podría estar en relación con el síndrome de la enfermedad del seno (Northcote *et al.*, 1989).

4.3.2.- Respecto a la velocidad de conducción.

El entrenamiento no ha modificado la velocidad de conducción del impulso eléctrico a través del miocardio ventricular. Por ello, y a pesar de los efectos que más adelante comentaremos sobre la refractariedad ventricular, la realización de ejercicio físico crónico no parece modificar los factores que afectan a la velocidad de conducción que han sido comentados en el capítulo de Introducción del presente trabajo y que, resumido, dice que el proceso de propagación del potencial de acción depende de: el balance entre la magnitud de la fuente de corriente y la magnitud de la corriente que se necesita para poder despolarizar a las células adyacentes, aún no despolarizadas, y por otra parte, la capacidad de la corriente para desplazarse a lo largo de la fibra a través de las uniones íntimas (*gap junctions*). La aplicación del protocolo de entrenamiento no parece haber afectado a las corrientes de entrada rápida de Na^+ , en la medida que estas corrientes (en general, las corrientes de entrada) se hallan relacionadas con la amplitud de la fuente de corriente necesaria para la propagación del potencial de acción (Jalife, 1999). En el músculo ventricular, como también en el auricular, e incluso en el sistema especializado de conducción ventricular, las

corrientes de Na^+ proveen la mayor parte de la corriente excitatoria. Asimismo, cabe pensar que el entrenamiento tampoco ha afectado a las uniones *gap*, ya que éste es otro componente que influye sobre la velocidad de conducción, como hemos dejado constancia en el capítulo de Introducción.

De igual manera, la FV parece ser dependiente de la duración de la refractariedad (Mc Coneil, 1987) y de la longitud de onda de activación ventricular (Reiter *et al.*, 1993). En un modelo canino (Karagueuzian *et al.*, 1994), y en tejido ventricular aislado procedente de pacientes receptores de trasplante cardiaco (Hwang *et al.*, 1999), se generaron ondas espirales reentrantes mediante estimulación. El cromakalim, fármaco que favorece la apertura de los canales de potasio sensibles al ATP, acortó el PRE en estas preparaciones, facilitando la inducción de reentrada funcional, e indujo la transición desde una espiral reentrante simple y estable, a una activación en forma de fibrilación con múltiples ondas espirales. Utilizando el mismo fármaco, también se observó que incrementaba la vulnerabilidad ventricular a la reentrada, y que aceleraba su frecuencia de activación por disminución del tamaño de la zona central alrededor de la cual gira el frente de ondas (Uchida *et al.*, 1999).

4.3.3.- Respecto a la refractariedad.

a) En cuanto a la refractariedad auricular.

Respecto al periodo refractario efectivo y funcional auricular, a pesar del aparente mayor valor de los valores correspondientes a los corazones procedentes de los animales entrenados al compararlos con los animales control, como acabamos de ver en el capítulo Resultados, las diferencias entre grupos no alcanzaron el nivel de significación adecuado.

En cuanto a los efectos del ejercicio físico sobre la refractariedad, sí que existen referencias previas al efecto del entrenamiento sobre la refractariedad auricular en el corazón *in situ*, aunque contradictorias. Así, Brorson *et al.* (1976) no encontraron modificaciones en el periodo refractario efectivo auricular en sujetos entrenados, quizá porque dichos periodos se midieron en distintas partes de la aurícula, ya que la posición del catéter de estimulación no fue la misma antes y después del entrenamiento, además de la posibilidad de que exista una gran dispersión en los datos.

A diferencia de estos autores, Mezzani *et al.* (1990) hallaron un aumento en el periodo refractario efectivo y funcional auricular en sujetos entrenados, deportistas no de élite, respecto a no entrenados, si bien los sujetos sobre los

que realizaron el estudio tenían una vía auriculoventricular accesoria y un Wolff-Parkinson-White.

Furlanello *et al.* (1998), en un estudio realizado en una población de jóvenes atletas de élite, analizaron la presencia o no en estos sujetos de fibrilación auricular, paroxística o crónica, encontrando una mayor incidencia de esta arritmia en los jóvenes atletas de élite al comparar con el resto de los jóvenes, lo que parece estar en consonancia con la posibilidad de que el ejercicio físico crónico, y más de alta intensidad, acorte los periodos refractarios auriculares, a través de la acción vagal incrementada.

En el mismo sentido, Bettoni *et al.* (2002), en un estudio realizado en pacientes con FA paroxística, encontraron una predominancia vagal en estos sujetos, mostrando esta estimulación vagal un acortamiento del PRA, lo que facilitó la aparición de reentradas y contribuyó a inducir y/o mantener la FA en modelos experimentales.

Ninomiya (1966), en un estudio en perros, observó un acortamiento en la duración del potencial de acción monofásico durante la estimulación vagal auricular, siendo mayor dicho acortamiento en la aurícula derecha que en la izquierda, existiendo una distribución no uniforme de los efectos vagales sobre la aurícula. El retraso encontrado en el tiempo de recuperación entre ambas aurículas podría ser debido, al

menos en parte, a la existencia de un bloqueo parcial en la vía de conducción desde la aurícula derecha a la izquierda.

Farges *et al.* (1977) vieron que la acetilcolina y el isoprotenerol indujeron variaciones en el PRE del tejido atrial, produciéndose un acortamiento del periodo refractario efectivo de las fibras auriculares al estimular la aurícula de perro con el método del extraestímulo, durante un *by-pass* cardiopulmonar.

Smeets *et al.* (1986) estudiaron la longitud de onda del impulso cardiaco, en una porción de aurícula de conejo, como índice de vulnerabilidad del corazón a la fibrilación auricular, tanto en la inducibilidad como en la estabilización de la misma, así como la inducción de arritmias reentrantes. La administración de carbamilcolina acortó el periodo refractario y disminuyó el tamaño de los circuitos reentrantes. Los efectos de las catecolaminas sobre la FA varían según las especies y son frecuencia-dependientes.

Pocos son los trabajos que hemos encontrado respecto al estudio de la refractariedad en corazón aislado. En trabajos recientes, Such *et al.* (2005), observaron que el periodo refractario efectivo auricular fue más largo en corazones aislados de animales entrenados que en los corazones de animales controles, al aplicar el test del extraestímulo auricular y estimular con un tren de 200 ms.

No obstante, a pesar de las observaciones realizadas por los diferentes investigadores, tal y conforme apuntamos en el encabezamiento de este apartado, nuestros resultados excluyen efectos modificadores de la refractariedad auricular intrínseca por acción de la aplicación del protocolo que aquí presentamos.

b) En cuanto a la refractariedad ventricular.

Como hemos podido ver en el capítulo Resultados, la realización de ejercicio físico siguiendo el protocolo diseñado por nosotros, ha producido un aumento del periodo refractario funcional ventricular, al estimular con trenes de longitudes del ciclo de estimulación 10% menor de la longitud de ciclo sinusal, 250, 200 y 150 ms.

Estos resultados son similares a los obtenidos por nosotros en trabajos de investigación previos usando una metodología similar (Such *et al.*, 2002). No obstante, los resultados aquí expuestos son más concluyentes que los previos, ya que en estos últimos el número de datos fue menor, debido a limitaciones metodológicas relacionadas con el registro de los electrogramas. En estos experimentos tampoco hallamos diferencias significativas en cuanto al periodo refractario efectivo se refiere, entre los corazones procedentes de animales entrenados y los controles; solamente pudimos

observar, en cuanto a este parámetro se refiere, tendencias al aumento sin significación estadística.

En el presente estudio, el número de valores de periodos refractarios efectivo y funcional ha sido superior al estudio previo, y la metodología usada para el registro de electrogramas ha sido de mayor fidelidad, por lo que como hemos indicado en líneas anteriores, el estudio correspondiente al efecto del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad es más concluyente.

Podemos concluir no solamente que la realización de ejercicio físico crónico aumenta la refractariedad ventricular, sino que además se trata de la refractariedad intrínseca, ya que nuestra preparación excluía influencias nerviosas extrínsecas y humorales.

Otros autores han obtenido resultados similares a los nuestros en lo que respecta a la duración del potencial de acción global o parcial (Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, Jew *et al.*, 2000). Más recientemente, Natali *et al.* (2002) en ratas entrenadas con un sistema que les permitía realizar ejercicio físico a voluntad, hallaron también una prolongación de la duración del potencial de acción de los cardiomiocitos procedentes del epicardio ventricular.

Decimos que hallamos resultados similares a los de los anteriores autores porque aunque ellos no realizaron propiamente un estudio sobre la refractariedad miocárdica, sí lo hicieron sobre la duración del potencial de acción. La correspondencia o correlación entre el periodo refractario efectivo y el potencial de acción ha sido estudiada por Sutton *et al.* (2000) en el corazón humano bajo condiciones control. Estos autores observaron que en las condiciones mencionadas, el periodo refractario efectivo se aproximó a la duración del potencial de acción monofásico y por tanto la correlación entre ellos era buena, si bien en condiciones anormales, como era el caso de la isquemia, dicha correlación se perdía, ya que si bien la duración del potencial de acción monofásico disminuía, la duración del periodo refractario efectivo aumentaba. Según Downar *et al.* (1977), tras estudiar el efecto de la isquemia en corazón de cerdo, al ocluir la arteria coronaria, observaron, inicialmente, una disminución de la duración y de la amplitud del potencial de acción monofásico correlacionado con una disminución de los periodos refractarios. Posteriormente, encontraron un alargamiento de los periodos refractarios seguido de un acortamiento de la duración del potencial de acción. Este fenómeno es denominado refractariedad post-repolarización.

Nosotros también observamos en trabajos recientes un aumento de la refractariedad ventricular, tanto efectiva como

funcional, investigando dichos parámetros en los corazones de animales entrenados (López *et al.*, 2005).

Hecha la salvedad de los trabajos de investigación que acabamos de comentar, nosotros no hemos encontrado en la bibliografía ninguno encaminado al análisis de la modificación de la refractariedad intrínseca por el entrenamiento.

Desconocemos los mecanismos básicos por los cuales los periodos refractarios fueron mayores en los animales entrenados. A pesar de ello, y sobre la base de experimentos realizados por otros investigadores, podemos implicar, a nivel electrofisiológico celular, a ciertas corrientes y/o transportes iónicos. Así, Jew *et al.* (2001) encontraron, en cardiomiocitos aislados de ventrículo izquierdo de ratas sometidas a entrenamiento, y utilizando la técnica de *patch-clamp*, que el entrenamiento produjo: a) una reducción en la densidad de corrientes repolarizantes de potasio de inactivación lenta o sostenida, a las que ellos y otros autores denominaron I_{sus} o I_{late} (Himmel *et al.*, 1999), y b) al mismo tiempo que también encontraron un incremento en la rapidez a la cual se alcanza el pico de la corriente I_{to} que, como es sabido, es ésta una corriente de salida de potasio transitoria y responsable del inicio de la repolarización rápida del cardiomiocito, y un tenue pero significativo incremento en la densidad de corrientes I_{to} en los cardiomiocitos aislados del ventrículo izquierdo de la rata. Para estos autores (Jew *et al.*, 2001), el entrenamiento también

pareció afectar a la amplitud del pico y a la forma de la fase de repolarización temprana del potencial de acción registrado en miocitos aislados de cultivos.

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

No obstante, estos autores no determinaron cuál de los componentes específicos de estas corrientes que contribuyen, I_{SUS} o I_{late} e I_{to} , son afectados por el entrenamiento, ni determinaron si las adaptaciones de las corrientes repolarizantes de potasio, voltaje dependiente, son regionalmente variables en el miocardio ventricular. Cabría también la posibilidad de que el entrenamiento pudiera modificar la actividad del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que, como es sabido, tiene propiedades electrogénicas y podría variar la duración del potencial de acción. En este sentido, Mace *et al.* (2003), realizaron un estudio en cardiomiocitos aislados de ratas, respecto a la influencia de la edad y el entrenamiento en tapiz rodante sobre el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, y encontraron que se incrementó la actividad de dicho intercambiador en el envejecimiento, así como la duración del potencial de acción medido al 75% y al 90% del valor de reposo desde el nivel

máximo de potencial. Para estos autores, el incremento de la actividad del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ podría ser una posible explicación de la prolongación del potencial de acción en la fase tardía en los animales viejos. No obstante, el entrenamiento no modificó los resultados anteriores.

Las observaciones previas contrastan con las realizadas más recientemente por Collins *et al.* (2005), quienes realizaron una investigación experimental sobre la cardioprotección inducida por el ejercicio diario. Estos autores analizaron el efecto del entrenamiento, en ratas sedentarias normotensas, sedentarias hipertensas y entrenadas hipertensas, sobre diferentes proteínas implicadas en la regulación del calcio celular, y encontraron que si bien las ratas hipertensas exhibieron una mayor expresión del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, el ejercicio redujo dicha expresión.

Las anteriores consideraciones complican la interpretación del efecto del ejercicio físico sobre la refractariedad desde el punto de vista de su acción sobre el sistema de transporte $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ mencionado. Queremos decir que, desde nuestro punto de vista y como antes hemos indicado, un incremento en la actividad del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ debería alargar la refractariedad miocárdica al alargar

la duración del potencial de acción que, lógicamente, se produciría debido a los efectos electrogénicos de este sistema de transporte. Por otra parte, como acabamos de ver, tampoco ha sido observada ninguna modificación por el entrenamiento del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en algunos estudios. Por tanto, nosotros nos inclinamos a pensar que las modificaciones observadas en la refractariedad miocárdica por el entrenamiento, probablemente no se hallan en relación con posibles cambios que el ejercicio físico crónico pueda producir sobre el sistema de contratransporte $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$.

También se ha tratado de implicar a la corriente lenta de entrada de calcio (tipo L) en las modificaciones del potencial de acción producidas por el ejercicio físico crónico, pero al parecer el entrenamiento no afecta a estas corrientes, y puede suprimir la actividad del intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en cardiomiocitos intactos (Mokelke *et al.*, 1997, Palmer *et al.*, 1999).

Mokelke *et al.* (1997), para investigar la participación de otros mecanismos iónicos en las modificaciones electrofisiológicas causadas por el entrenamiento, estudiaron en corazones de ratas sometidas a un protocolo de resistencia sobre cinta rodante, la acción de las corrientes de calcio que contribuyen a formar la meseta del potencial de acción en cardiomiocitos ventriculares; como es sabido se trata de una corriente de entrada de calcio lenta (I_{Ca}), y que transcurre por los canales tipo L de Ca^{2+} , voltaje-dependientes. El trabajo lo

conformaron a partir de las teorías que apuntan a que los canales de calcio ya mencionados, podían sufrir adaptaciones electrofisiológicas y mecánicas (Tibbits *et al.*, 1981, Gwathmey *et al.*, 1990, y Moore *et al.*, 1993). Dadas las anteriores investigaciones, Mokolke *et al.* (1997), no encontraron modificaciones en la dependencia del voltaje de I_{Ca} , ni en el pico de I_{Ca} producido tras el protocolo de ejercicio físico, durante los experimentos llevados a cabo mediante la técnica de fijación de voltaje. De la misma manera, no encontraron que la inactivación y la recuperación de I_{Ca} del conjunto celular fueran variadas por el entrenamiento, lo cual descartaba la hipótesis de que las adaptaciones inducidas por el entrenamiento pudieran apoyarse sobre la base de las modificaciones en cuanto a la función y el número de los canales de calcio tipo L. En este trabajo se dejó abierta la puerta a futuras investigaciones acerca de los cambios por el entrenamiento en las corrientes repolarizantes de K^+ que podrían producir cambios en I_{Ca} , en ausencia de adaptaciones intrínsecas en el número y función de los canales de calcio tipo L, aspectos ambos ya relatados aquí. Además, se investigó otro parámetro, la capacitancia de la membrana de los miocitos ventriculares. Ésta se empleó como método indirecto para medir el volumen de los miocitos y que debido a la naturaleza irregular de los mismos, fue difícil de determinar. El incremento en la capacitancia de los cardiomiocitos demostró que, de manera intrínseca, había habido una hipertrofia celular en el ventrículo tras el entrenamiento.

Como es conocido, la refractariedad miocárdica es una propiedad, junto con la velocidad de conducción, que determina la longitud de onda del proceso de activación miocárdico, que es un factor relacionado con la aparición y la estabilización de arritmias reentrantes respecto al tiempo (Wijffels *et al.*, 1995). En este sentido, el incremento de los periodos refractarios debidos al entrenamiento es un efecto protector frente a las alteraciones eléctricas, y en nuestra opinión, podría participar como un mecanismo básico por el que la realización de ejercicio físico aeróbico ejerce un efecto protector frente a las arritmias reentrantes que producen la muerte súbita, y también es propuesto como un factor en la intervención frente a las arritmias, de carácter no farmacológico (Billman, 2002).

Como ya ha sido comentado en el capítulo de Introducción, Hamra y Mc Neil (1997) realizaron un estudio encaminado a investigar, en fragmentos aislados de corazón de perro sometido a entrenamiento físico, la variación del antagonismo acentuado (efectos antagónicos de la acetilcolina sobre la acción del isoproterenol a nivel de la duración del potencial de acción) y encontraron una ausencia de variaciones en dicho fenómeno en los animales entrenados respecto a los controles. Es decir, si bien la acetilcolina antagonizó la aceleración de la repolarización en los fragmentos de corazón procedentes de animales sometidos a ejercicio físico crónico,

este efecto no fue significativamente diferente en los animales no entrenados.

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

c) En cuanto a la refractariedad del SCAV.

En el presente estudio también hemos investigado los efectos intrínsecos del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad miocárdica del sistema de conducción auriculoventricular.

Como se ha apuntado previamente en el apartado de Resultados, el número de determinaciones del periodo refractario efectivo del sistema de conducción AV ha sido claramente menor que el correspondiente al periodo refractario funcional. Ello ha sido debido a que durante la realización del test del extraestímulo auricular, que es el método seguido por nosotros para determinar la refractariedad del sistema de

conducción AV, se ha alcanzado el periodo refractario auricular, más largo que el del sistema de conducción AV, en la mayor parte de los experimentos, lo cual obliga a interrumpir la realización del test del extraestímulo auricular. Por esta razón, y debido al escaso número de datos que fue posible obtener, no se pueden conseguir, en nuestra opinión, resultados que permitan evidenciar posibles diferencias entre grupos.

En los experimentos realizados por nosotros en otros estudios en los que se registraba el hisiograma, cuando se daba una falta de respuesta ventricular por haber alcanzado la refractariedad el sistema de conducción AV, podíamos comprobar que el periodo refractario obtenido era el del nodo AV, ya que se evidenciaba en la práctica totalidad de los casos la ausencia del hisiograma en tal caso. A pesar de que en la presente tesis no hemos registrado los hisiogramas, podemos asumir que, cuando se alcanza el periodo refractario del sistema de conducción AV, se trataría del periodo refractario nodal.

Estos resultados vienen a confirmar los obtenidos previamente por nuestro grupo (Such *et al.*, 2002), en los que se investigaron las modificaciones electrofisiológicas intrínsecas producidas por la realización de ejercicio físico crónico en corazón aislado de conejo. Tampoco en dichos estudios se encontraron modificaciones por el entrenamiento en la refractariedad del nodo AV. Hay que decir que en la

investigación presente se han usado varios trenes de estimulación en cada experimento para la realización del test del extraestímulo y no un solo tren como en el trabajo de referencia. Por otra parte, la metodología usada para el registro de electrogramas ha sido de mayor fidelidad.

Tampoco hemos encontrado diferencias significativas en cuanto al periodo refractario funcional del sistema de conducción AV, y pese a que el valor medio del periodo refractario funcional del sistema de conducción AV de los corazones procedentes de los animales entrenados fue aparentemente más largo que el de los controles, no fue diferente estadísticamente respecto al control, como vimos en Resultados. Pensamos que de una manera similar a las razones argumentadas para el caso del periodo refractario efectivo del sistema de conducción AV, las razones que subyacen a los resultados encontrados para el periodo refractario funcional del sistema de conducción AV pueden estar relacionadas con las anteriores consideraciones.

Nuestros resultados contrastan con los obtenidos por otros autores. Así, Stein *et al.* (2002), hallaron un incremento del periodo refractario del nodo auriculoventricular en humanos entrenados y sometidos a bloqueo del sistema nervioso autónomo, simpático y parasimpático, con el fin de analizar modificaciones intrínsecas.

En el ventrículo, Natali *et al.* (2002) han obtenido resultados similares a los nuestros, pero analizando la duración del PA de los cardiomiocitos procedentes del epicardio ventricular. Estos autores hallaron, en ratas entrenadas con un sistema que les permitía realizar ejercicio físico a voluntad, una prolongación de la duración del potencial de acción de los cardiomiocitos procedentes de animales entrenados en comparación con los controles.

Nosotros también observamos en trabajos recientes un aumento de la refractariedad ventricular, tanto efectiva como funcional, investigando dichos parámetros en los corazones de animales entrenados (López *et al.*, 2005). Asimismo, nosotros también observamos que el periodo refractario efectivo auricular fue significativamente más largo en animales entrenados que en los controles (Such *et al.*, 2005).

Hecha la salvedad de los trabajos de investigación que acabamos de comentar, no hemos encontrado en la bibliografía ninguno otro encaminado al análisis de la modificación de la refractariedad intrínseca por el entrenamiento, entendiéndose por intrínseca, no solamente no sometida a influencias del sistema nervioso extrínseco, sino tampoco a influencias humorales.

Desde nuestro punto de vista, no parece corresponderse la ausencia de modificaciones de la refractariedad del sistema de conducción AV con los resultados previos encontrados por

nosotros sobre el efecto del entrenamiento sobre las propiedades electrofisiológicas del nodo AV (Such *et al.*, 2002). Como ha ocurrido en el presente estudio respecto a la refractariedad del sistema de conducción AV, cabe comentar que pese a que no se encontraron modificaciones en el PRSCAV, sí que se encontró en dicho estudio previo una mayor facilidad para provocar el bloqueo AV tipo Wenckebach, mediante estimulación de la aurícula a frecuencias crecientes, en los animales entrenados. Por tanto, en estos estudios previos realizados por nosotros se demostró que el ejercicio crónico producía una depresión en la conducción en el nodo auriculoventricular (Such *et al.*, 2002). Estos resultados concordaban con la observación de que en atletas se evidenciaban bloqueos AV de primer grado y, en menor cuantía, bloqueos AV de segundo grado (Talan *et al.*, 1982, Viitasalo *et al.*, 1982 y Viitasalo *et al.*, 1984).

Por tanto, pensamos que el hecho de que no se haya podido demostrar una modificación del periodo refractario del sistema de conducción AV frente a la probada acción del ejercicio físico crónico sobre la capacidad del nodo AV para modificar su eficacia para la conducción, nos lleva a plantear la posibilidad de que en los animales entrenados se alcanzara antes el llamado fenómeno de “fatiga” y ello podría explicar la anterior aparición del bloqueo previamente mencionado, en los animales entrenados.

Otros autores sí encontraron efectos del entrenamiento sobre el sistema de conducción AV, como es la disminución de la conducción del nodo AV, que además han sido relacionados con un incremento en el tono vagal (Bjornstad *et al.*, 1993; Northcote *et al.*, 1989). Bjornstad *et al.* (1993) plantearon también una relación entre la prolongación del segmento PQ y la hipertrofia del ventrículo izquierdo, que estaba relacionada con el bloqueo de tipo I en sujetos con hipertrofia ventricular izquierda. Finalmente, hay quienes afirmaron que el bloqueo AV en atletas era causado por el daño del miocardio.

Por un lado, una alteración del balance iónico a través de la membrana, así como efectos bioquímicos y mecánicos inducidos por dilatación e hipertrofia, son propuestos como mecanismos del posible aumento de la conducción del nodo AV (Lewis *et al.*, 1980 y Katona *et al.*, 1982, tomado de Stein *et al.*, 2002).

d) En cuanto a la refractariedad del SCVA.

Tampoco en lo que respecta a las variaciones de la refractariedad intrínseca del sistema de conducción ventriculoauricular retrógrado encontramos diferencias significativas.

Las razones, tanto de tipo metodológico como científicas que podemos argüir para comentar el presente resultado, son básicamente las razones que subyacen a los resultados obtenidos en el caso de la refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular.

4.3.4.- Respecto a la longitud de onda del proceso de activación.

Como sabemos, la longitud de onda del proceso de activación miocárdica ventricular es una expresión de la longitud del tejido refractario, definido matemáticamente (Weiner *et al.*, 1946) como la distancia recorrida por la onda de activación en el periodo de tiempo que tarda el tejido en recuperar la excitabilidad [longitud de onda (λ) = periodo refractario efectivo (PRE) x velocidad de conducción (VC)]. Presumiblemente esto es así porque el tamaño y el número de las ondas reentrantes funcionales vienen determinados por la longitud de onda miocárdica (Pye *et al.*, 1992). El acortamiento de la longitud de onda miocárdica, bien disminuyendo la refractariedad con acetilcolina (Rensma *et al.*, 1988), o bien enlenteciendo la velocidad de conducción reduciendo la concentración extracelular de potasio (Lammers *et al.*, 1988), tienden a producir un incremento en la incidencia de FA inducida, mientras que los fármacos que alargan la longitud de onda, como la atropina, quinidina y el d-sotalol, poseen

propiedades antifibrilatorias (Lammers *et al.*, 1988, Rensma *et al.*, 1988). Además la longitud de onda del proceso de activación miocárdico ha sido relacionada no solamente con la aparición sino también con la estabilización de las arritmias re-entrantes (Wijffels *et al.*, 1995).

En relación a la longitud de onda del proceso de activación, pese a que uno de sus componentes, la velocidad de conducción, no fue diferente entre grupos, y el otro componente, la refractariedad ventricular, sí fue mayor en los conejos entrenados, los animales sometidos a ejercicio físico y los controles no difirieron significativamente en cuanto a este parámetro se refiere, tal y como hemos visto en el capítulo Resultados. No obstante las anteriores consideraciones, sí que se puede hablar de una tendencia al aumento de la longitud de onda en los animales entrenados, ya que la probabilidad de rechazar erróneamente la hipótesis nula fue del 6%.

Consideramos esta tendencia al aumento de la longitud de onda del proceso de activación, un efecto protector frente a la aparición de arritmias reentrantes. De hecho ha sido demostrado, utilizando modelos caninos, que la inducción de la fibrilación auricular estaba estrechamente relacionada con la longitud de onda auricular (Rensma *et al.*, 1988).

4.3.5.- Respecto a la frecuencia de la fibrilación ventricular.

En el presente estudio hemos investigado también los efectos directos del entrenamiento sobre algunas características de la fibrilación ventricular inducida mediante estimulación ventricular a frecuencias crecientes. Como hemos comentado en el apartado de Métodos, realizamos un análisis espectral de la fibrilación ventricular para evaluar los cambios en la frecuencia dominante bajo condiciones normóxicas. La frecuencia dominante se puede utilizar para expresar la información morfológica y periódica contenida en una señal. La transformación del dominio del tiempo al dominio de la frecuencia se realiza mediante la aplicación de la transformada rápida de Fourier, permitiéndonos examinar la energía contenida en la señal como función de la frecuencia. Distintos autores han aplicado el análisis de la frecuencia dominante en estudios electrofisiológicos cardiacos (Chorro *et.al.*, 2000 y Ropella, 2001). En nuestro modelo experimental de corazón aislado y perfundido en condiciones normóxicas, la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular está relacionada con las propiedades electrofisiológicas del miocárdico ventricular, como son los periodos refractarios (Chorro *et al.*, 2000) constituyendo el análisis de la frecuencia de la fibrilación otra propiedad electrofisiológica que puede ser investigada como un instrumento para conocer indirectamente la refractariedad. Por

lo tanto, los cambios en este parámetro son un buen marcador de las modificaciones electrofisiológicas.

La aplicación del protocolo de entrenamiento no ha disminuido significativamente la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular, y por tanto, no ha disminuido significativamente la frecuencia de la activación miocárdica durante la arritmia y como consecuencia, no desacelerando la fibrilación ventricular. El valor de la frecuencia dominante mínima no alcanzó el nivel de significación adecuado. No obstante lo anterior, la frecuencia dominante máxima de los corazones de los conejos entrenados fue menor que los valores obtenidos en los corazones de los conejos del grupo control, tal y como se comentó en el capítulo Resultados. Ha sido publicado que la distribución espacial de frecuencias locales de excitación durante la fibrilación ventricular parece mucho más simple y más organizada de lo que se podía esperar según la teoría de Moe y colaboradores (Zaitsev *et al.*, 2000). Zaitsev *et al.* (2000) publicaron la existencia de dominios en los que la frecuencia dominante era uniforme, persistiendo tales dominios durante un tiempo relativamente largo en comparación con el ciclo de excitación. En los mapas de frecuencias determinados por nosotros en cada experimento aparecen, de una forma análoga a la de los dominios, puntos del miocardio ventricular en los que la frecuencia de activación alcanza los valores máximos, siendo tales valores menores en

los animales del grupo entrenado que en el grupo control. Nosotros interpretamos que, aunque débilmente, estos resultados apuntan junto con los de la refractariedad a una acción del entrenamiento sobre la excitabilidad del miocardio ventricular.

Los resultados obtenidos, en lo que respecta a la frecuencia dominante, contrastan con los hallados por nosotros usando un protocolo de entrenamiento de menor intensidad que el usado para la realización de la presente tesis doctoral. En tales estudios, la frecuencia dominante media disminuyó por efecto del entrenamiento. La posibilidad de obtener una disminución de la frecuencia dominante media de la FV, que nosotros interpretamos como un efecto protector frente a la iniciación y perpetuación de las arritmias reentrantes, no se ha podido obtener usando un protocolo de mayor intensidad que aquél con el que sí se obtuvieron modificaciones frecuenciales de la FV. Por lo tanto, pensamos en la posibilidad de que quizá se debería ahondar en la investigación de protocolos de menor intensidad. Planteamos esta idea no solamente por los resultados obtenidos en lo que a la frecuencia dominante se refiere, sino también por los resultados obtenidos respecto a la refractariedad.

Como sabemos y ha sido investigado, hay una correlación entre la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular y la refractariedad en el caso de los corazones aislados en condiciones normóxicas (Chorro *et al.*, 2000). Estos resultados son similares a las modificaciones de la refractariedad por el entrenamiento descritas, y los mecanismos básicos que explican estos efectos podrían estar relacionados con las modificaciones de las mismas corrientes iónicas que proponemos para explicar los cambios en la refractariedad.

4.3.6.- Consideraciones finales respecto a los resultados obtenidos.

En conclusión, la realización de ejercicio físico crónico aumenta la refractariedad miocárdica ventricular intrínseca y parece modificar, en la misma dirección, la longitud de onda del proceso de activación eléctrica miocárdica ventricular intrínseca. Pensamos en la necesidad de proseguir y ampliar el número de experimentos con el fin de asentar más firmemente la modificación de las propiedades electrofisiológicas intrínsecas del miocardio por el entrenamiento. Nuestros resultados plantean el interés de investigar los mecanismos básicos, a nivel celular, sobre los que se asientan las modificaciones intrínsecas encontradas por nosotros.

4.4.- Limitaciones del estudio.

Como se mencionó en el capítulo Introducción de esta tesis doctoral respecto a los estudios realizados por Wiggers en 1930 (Jalife, 2000), este autor enfatizó que se debe pensar en términos de circuitos o frentes de onda que se propagan en masa en tres direcciones (cuando se refería a los procesos re-entrantes), y no de anillos o circuitos bidimensionales. En este sentido, nuestra metodología carece de la posibilidad de realizar los registros electrográficos en tres dimensiones. La placa multielectrodo usada se aplica sobre la superficie epicárdica del ventrículo izquierdo y por tanto los registros son de la actividad eléctrica del miocardio subepicárdico, y no dan la información tridimensional a la que hemos aludido. No obstante y dado que no hemos pretendido realizar mapas de activación en este trabajo de investigación, sino determinar la frecuencia del proceso de activación miocárdico ventricular durante la fibrilación, no nos parece un inconveniente que pudiera repercutir de una manera importante. Cuando analizamos la frecuencia dominante en cada caso, en los diferentes puntos que permite la placa multielectrodo, no encontramos grandes diferencias en el valor de este parámetro. En realidad, hay alguna ligera diferencia que se expresa en la pequeña desviación estándar que acompaña a la media de los valores de la frecuencia dominante obtenida en múltiples puntos del ventrículo en cada caso.

Otro inconveniente ligado a nuestro método es el de usar una placa multielectrodo, que al no acoplarse perfectamente a la superficie del ventrículo, ya que la concavidad de la placa y la convexidad ventricular no se corresponden, se excluye un número importante de electrodos unipolares.

Finalmente, otra limitación ha sido el método usado para la determinación de los periodos refractarios efectivo y funcional del sistema de conducción auriculoventricular y ventriculoauricular retrógrado. Este aspecto lo acabamos de comentar en referencia a los resultados obtenidos sobre la refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular. Efectivamente, el uso del test del extraestímulo auricular para la determinación de la citada refractariedad, exhibe el inconveniente de que si la aurícula tiene un periodo refractario efectivo más largo que el del sistema de conducción, no es posible determinar el periodo refractario efectivo de este sistema y a veces tampoco el periodo refractario funcional. Por otra parte, y sobre la base de una consideración similar, el uso del test del extraestímulo ventricular para la determinación de la refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular en su función de conducción retrógrada, exhibe el inconveniente de que si el ventrículo tiene un periodo refractario efectivo más largo que el del sistema de conducción retrógrado, tampoco es posible determinar el periodo refractario efectivo de este sistema y, en un gran número de casos, tampoco el periodo refractario funcional.

CAPÍTULO 5

Conclusiones

Hemos realizado un estudio acerca de los efectos del ejercicio físico crónico sobre las modificaciones intrínsecas de la refractariedad auricular, ventricular, del sistema de conducción auriculoventricular y de la conducción ventriculoauricular retrógrada, 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. Las conclusiones más relevantes de dicho estudio han sido que el ejercicio físico crónico en nuestro modelo experimental:

1. Alarga la refractariedad ventricular.

2. La modificación de la refractariedad ventricular es de carácter intrínseco, ya que se evidencia en el corazón aislado y por tanto no sometido a influencias nerviosas extrínsecas y/o humorales.

3. Si bien no ha modificado la velocidad de conducción ventricular, sí se ha observado una tendencia al aumento de la longitud de onda del proceso de activación miocárdica ventricular.

4. Sobre la base de los anteriores resultados podemos plantear la posibilidad de que el ejercicio físico regular exhiba

efectos protectores contra la instauración de arritmias re-entrantes, como es la propia fibrilación ventricular, ya que tanto la refractariedad ventricular como la longitud de onda del proceso de activación se hallan directamente relacionadas con la instauración y perpetuación de las citadas arritmias.

5. No parece afectar significativamente a la refractariedad auricular.

Además y aunque ya ha sido previamente demostrado por otros autores y nosotros mismos:

6. Contribuimos a asentar el principio de que el entrenamiento físico produce una depresión del automatismo sinusal intrínseco.

CAPÍTULO 6

Referencias bibliográficas

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

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

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

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

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

Bettoni M, Zimmermann M. Autonomic tone variations before the onset of paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 105: 2753-2759, 2002.

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

Bjørnstad H, Storstein L, Meen HD and Hals O. Electrocardiographic findings of left, right and septal hypertrophy in athletic students and sedentary control. *Cardiology* 82: 56-65, 1993.

Bjørnstad H, Storstein L, Meen HD and Hals O. Electrocardiographic findings of heart rate and conduction times in athletic students and sedentary control subjects. *Cardiology* 83: 258-267, 1993 (bis).

Bjørnstad H, Storstein L, Meen HD and Hals O. Ambulatory Electrocardiographic findings in top athletes, athletic students and control subjects. *Cardiology* 84: 42-50, 1994.

Blair S, Kampert J, Kohl H, Barlow C, Macera C, Paffenbarger R and Gibbons L. Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular diseases and all-causes mortality in men and women. *JAMA* 276: 205-210, 1996.

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

Blumenthal JA, Fredrikson M, Kuhn CM, Ulmer RL, Walsh-Riddle M and Appelbaum M. Aerobic exercise reduces levels of cardiovascular and sympathoadrenal responses to mental stress in subjects without prior evidence of myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 65: 93-98, 1990.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Chorro FJ, Sanchis J, Such L, Artal L, Llavador JJ, Llavador E, Monmeneu JV and Lopez-Merino V. Modification of atrioventricular nodal electrophysiology by selective radiofrequency delivery on the anterior or posterior approaches. *Pacing Clin Electrophysiol* 20: 1261-1273, 1997.

Chorro FJ, Guerrero J, Cánoves J, Martínez-Sober M, Mainar L, Sanchis J, Calpe J, Llavador E, Espí J and López-Merino V.

Quantification of the modifications in the dominant frequency of ventricular fibrillation under conditions of ischemia and reperfusion: An experimental study. *Pacing Clin Electrophysiol* 21: 1716-1723, 1998.

Chorro FJ, Mainar L, Sanchis J, Cánoves J, Porres JC, Guerrero J, Millet J, Llavador E, Such LM, Egea S, Lopez-Merino V and Such L. The activation patterns during atrial fibrillation in an experimental model. *Rev Esp Cardiol* 52: 327-338, 1999.

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

Chorro FJ, Trapero I, Guerrero J, Such LM, Cánoves J, Mainar L, Ferrero A, Blasco E, Sanchis J, Millet J, Tormos A, Bodí V, Alberola A. Modification of ventricular fibrillation activation patterns induced by local stretching. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 16 (9):1-10, 2005.

Collins HL, Loka AM and DiCarlo SE. Daily exercise-induced cardioprotection is associated with changes in calcium regulatory proteins in hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H532-H540, 2005.

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

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

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

De Schryver C and Mertens- Strythagen J. Heart tissue acetylcholine in chronically exercised rats. *Experientia* 31: 316-318, 1975.

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

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

Downar E, Janse M y Durrer D. The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation* 56: 217-224, 1977.

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

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

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

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

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

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

Furlan R, Piazza S, Dell'Orto S, Gentile E, Cerutti S, Massimo P and Malliani A. Early and late effects of exercise and athletic training on neural mechanisms controlling Heart rate. *Cardiovasc Res* 27: 482-488, 1993.

Furlanello F, Bertoldi A, Dallago M, Galassi A, Fernando F, Biffi A, Mazzone P, Pappone C, Chierchia S. Atrial fibrillation in elite athletes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 9 (8 Suppl): S63-68, 1998.

Garrey WE. The nature of fibrillatory contractions of the Heart: its relation to tissue mass and form. *Am J Physiol* 33: 397-414, 1914.

Gazmuri RJ, Ayoub IM, Hoffner E and Kolarova JD. Successful Ventricular Defibrillation by the Selective Sodium-Hydrogen Exchanger Isoform-1 Inhibitor Cariporide. *Circulation* 104: 234-239, 2001.

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

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

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

Gray RA. What exactly are optically recorded "Action potentials"? *J Cardiovasc Electrophysiol* 10: 1463-1465, 1999.

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

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

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

Hartley LH, Grimby G, Kilbom A, Nilsson NJ, Astrand I, Bjure J, Ekblom B and Saltin B. Physical training in sedentary middle-aged and older men: cardiac output and gas exchange during

submaximal and maximal exercise. *Scand J Clin Lab Invest* 24: 335-344, 1969.

Hespel P, Lijnen P, VanHoof R, Fagard R, Goossens W, Lissens W, Moerman E and Amery A. Effects of physical endurance training on the plasma renin-angiotensin-aldosterone system in normal man. *J Endocrinol* 116: 443-449, 1988.

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

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

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

Hwang C, Karagueuzian HS, Fishbein MC, *et al.* Demonstration of spiral waves of excitation in human ventricular tissue. *Circulation* 90: 466-477, 1994.

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

Jalife J and Gray R. Drifting vortices of electrical waves underlie ventricular fibrillation in the rabbit heart. *Acta Physiol Scand* 157(2): 123-31, 1996.

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

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

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

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

Karagueuzian HS, Gotoh M and Uchida T. Transition from single to multiple functional wavefronts in vitro induced by cromakalim, a K^+ ATP channel activator. *Circulation* 90: 1-42, 1994.

Katona PG, McLean M, Dighton DH and Guz A. Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and non-athletes at rest. *J Appl Physiol* 52: 1652-1657, 1982.

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

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

Kléber A and Rudy Y. Basic mechanism of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiol rev* 84: 431-488, 2004.

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

Lamb, DR. *Fisiología del Ejercicio. Respuestas y adaptaciones* 2º Ed. Augusto E. Pila Teleña. Madrid. 1989.

Lammers WJE, Allesie MA, Bonke FIM. Reentrant and focal arrhythmias in low potassium in isolated rabbit atrium. *Am J Physiol* 255:1359-1369, 1988.

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

Lee JJ, Kamjoo K, Hough D, Hwang C, Fan W, Fishbein MC, Bonometti C, Ikeda T, Karagueuzian HS and Chen PS. Reentrant wave fronts in Wiggers' stage II ventricular fibrillation. Characteristics and mechanisms of termination and spontaneous regeneration. *Circ Res* 78: 660-675, 1996.

Lei M, Zhang H, Grace AA, Huang CLH. SCN5A and sinoatrial node pacemaker function. *Cardiovasc Res* 74: 356-365, 2007.

Lewis SF, Nylander E, Gad P and Areskog N. Non- autonomic component in bradycardia of endurance trained men at rest and during exercise. *Acta Physiol Scand* 109: 297- 305, 1980.

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

Mace L, Palmer B, Brown D, Jew K, Lynch J, Glunt J, Parsons T, Cheung J and Moore R. Influence of age and run training on cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange. *J Appl Physiol* 95: 1994-2003, 2003.

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

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

Mc Ardle WD and Katch VL. Fisiología del Ejercicio. Alianza Editorial SA. Madrid. 1990.

Mc Coneil M. Ventricular fibrillation thresholds in Langendorff perfused rabbit hearts: all or none effect of low potassium concentration. *Cardiovasc Res* 21: 463-468, 1987.

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

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

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

Moe GK. On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 140: 183-188, 1964.

Moffat DB and Mottram RF. Anatomy and Physiology for Physiotherapist. 2nd ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 1987.

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

Moore R, Musch Timothy, Yelamarty R, Escaroto R, Semanchick A, Elensky M and Cheung J. Chronic exercise alters contractility and morphology of isolated rat cardiac myocytes. *Am J Physiol* 264: C1180-C1189, 1993.

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

Mujika I, Hatard JC, Padilla S, Guezennec CY and Geysant A. Hormonal responses to training and its tapering off in

competitive swimmers: relationships with performance. *Eur J Appl Physiol* 74(4): 361-366, 1996.

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

Nazir SA, Lab MJ. Mechanoelectric feedback and atrial arrhythmias. *Cardiovasc Res* 32: 52-61, 1996.

Ninomiya I. Direct evidence of nonuniform distribution of vagal effects on dog atria. *Circ Res* 19: 576-583, 1966.

Northcote RJ, Gordon PC and Ballantyne D. Electrocardiographic findings in male veteran endurance athletes. *Br Heart J* 61: 155-160, 1989.

Nylander E, Sigvardsson K and Kilbom A. Training-induced bradycardia and intrinsic heart rate in rats. *Eur J Appl Physiol* 48: 189-199, 1982.

Opie LH. The heart: Physiology, from Cell to Circulation. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia. 1998.

Ordway GA, Charles JB, Randall DC, Billman GE and Wekstein DR. Heart rate adaptation to exercise training in cardiac-denervated dogs. *J Appl Physiol* 52: 1586-1590, 1982.

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

Palatini P, Marablin G, Sperti G, Calzavara A, Libardoni M, Pessina AC and Dal Palu C. Prevalence and possible mechanisms of ventricular arrhythmias in athletes. *Am Heart J* 110: 560-567, 1985.

Palmer BM, Lynch JM, Snyder SM and Moore RL. Effects of chronic run training on Na⁺-dependent Ca²⁺ efflux from rat left ventricular myocytes. *J Appl Physiol* 86: 584-591, 1999.

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

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

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

Pye MP, Cobbe SM. Mechanisms of ventricular arrhythmias in cardiac failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res* 26: 740-750, 1992.

Reindell H, Roskamm H and Steim H. The heart and blood circulation in athletes. *Med Welt* 31: 1557-1563, 1960.

Reiter MJ, Mann DE, Williams GR. Interaction of hypokalemia and ventricular fibrillation in isolated rabbit hearts. *Am J Physiol* 265: 1544-1550, 1993.

Rensma PL, Allesie MA, Lammers WJ, Bonke FI, Schalij MJ. Length of excitation wave and susceptibility to reentrant atrial arrhythmias in normal conscious dogs. *Circ Res* 62: 395-410, 1988.

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

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

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

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

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

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

Scher AM and Spah MS. Cardiac depolarization and repolarization and the electrocardiogram. In: Berne RM (ed). *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System*. Bethesda: American Physiological Society, 357-392. 1979.

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

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

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

Shi X, Stevens GHJ, Foresman BH, Stern SA and Raven PB. Autonomic nervous system control of the heart: endurance exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 27: 1406-1413, 1995.

Smeets J, Allessie M, Lammers W, Bonke F y Hollen J. The wavelength of the cardiac impulse and reentrant arrhythmias in isolated rabbit atrium. *Circ Res* 58: 96-108, 1986.

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

Stewart AJ, Allen JD, Devine AB and Adgey AAJ. Effects of blockade of fast and slow inward current channels on ventricular fibrillation in the pig heart. *Heart* 76: 513-519, 1996.

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

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

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

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

Swartz JF, Jones JL and Fletcher RD. Characterization of ventricular fibrillation based on monophasic action potential morphology in the human heart. *Circulation* 87: 1907-1914, 1993.

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

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

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

Tipton CM, Matthes RD, Tchong T, Dowell RT and Vailas AC. The use of Langendorff preparation to study the bradycardia of training. *Med Sci Sports* 9: 220-230, 1977.

Tormos, A. 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. 2005.

Uchida T, Yashima M, Gotoh M, Qu Z, Garfinkel A, Weiss JN, Fishbein MC, Mandel WJ, Chen PS, Karagueuzian HS. Mechanism of acceleration of functional reentry in the ventricle. Effects of ATP-sensitive potassium channel opener. *Circulation* 99: 704-712, 1999.

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

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

Wei J, Spurgeon H and Lakatta E. Excitation-contraction in rat myocardium: alterations with adult aging. *Am J Physiol* 246: H784-H791, 1984.

Weiner N, Rosenblueth A. The mathematical formulation of the problem of conduction of impulses in a network of connected excitable elements, specifically in cardiac muscle. *Arch Inst Cardiol Mex* 16: 205-265, 1946.

Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Qu Z y Chen PS. Chaos and the transition to ventricular fibrillation. A new approach to antiarrhythmic drug evaluation. *Circulation* 99: 2819-2826, 1999.

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

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

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

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

Zaitsev A, Berenfeld O, Mironov SF, Jalife J, Pertsov A. Distribution of excitation frequencies on the epicardial and endocardial surfaces of fibrillating ventricular wall of the sheep heart. *Circ Res* 86: 408-417, 2000.

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

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

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

Zipes DP y Jalife J. Arritmias. *Electrofisiología cardiaca*. Marban. 1ª Edición. Madrid. 2006.

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