

DEPARTAMENT D' ACTIVITAT FÍSICA I ESPORT

MODIFICACIONES DEL AUTOMATISMO, CONDUCCIÓN,
REFRACTARIEDAD MIOCÁRDICAS Y DEL PATRÓN
FIBRILATORIO VENTRICULAR PRODUCIDAS POR EL
EJERCICIO FÍSICO CRÓNICO: INFLUENCIA DEL SISTEMA
NERVIOSO CARDÍACO.

MANUEL ZARZOSO MUÑOZ

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Servei de Publicacions
2011

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 14 d'octubre de 2011 davant un tribunal format per:

- Dr. Luis Such Belenguer
- Dr. J. Francisco Lisón Párraga
- Dra. Silvia Llorens Folgado
- Dra. Mar Almar Galeana
- Dr. Pedro Pérez Soriano

Va ser dirigida per:

Dr. Antonio Alberola Aguilar

Dr. Salvador Llana Belloch

Dr. Luis Such Miquel

©Copyright: Servei de Publicacions
Manuel Zarzoso Muñoz

I.S.B.N.: 978-84-370-8804-4

Edita: Universitat de València

Servei de Publicacions

C/ Arts Gràfiques, 13 baix

46010 València

Spain

Telèfon:(0034)963864115

**MODIFICACIONES DEL AUTOMATISMO,
CONDUCCIÓN, REFRACTARIEDAD
MIOCÁRDICAS Y DEL PATRÓN
FIBRILATORIO VENTRICULAR PRODUCIDAS
POR EL EJERCICIO FÍSICO CRÓNICO:
INFLUENCIA DEL SISTEMA NERVIOSO
CARDÍACO**



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Este trabajo de investigación ha sido subvencionado por el Ministerio de Ciencia e Innovación a través del Plan Nacional de I+D+i, con una ayuda otorgada a Antonio Alberola (DEP2007-73234-C03-01) y por la Generalitat Valenciana, gracias a una beca de Formación de Personal Investigador concedida a Manuel Zarzoso (BFPI/2008/003 y BEFPI/2011/034).

D. Antonio Alberola Aguilar, Doctor por la Universidad de Valencia y profesor en el Departamento de Fisiología de la Universidad de Valencia, **D. Luis Such Miquel**, Doctor por la Universidad de Valencia y profesor en el Departamento de Fisioterapia de la Universidad de Valencia y **D. Salvador Llana Belloch**, Doctor por la Universidad de Valencia y profesor en el Departamento de Educación Física y Deportiva de la Universidad de Valencia,

HACEN CONSTAR: Que la presente Tesis Doctoral titulada: “Modificaciones del automatismo, conducción, refractariedad miocárdicas y del patrón fibrilatorio ventricular producidas por el ejercicio físico crónico: influencia del sistema nervioso cardíaco”, cuyo autor es **D. Manuel Zarzoso Muñoz**, ha sido realizada bajo su dirección y reúne, a su juicio, las condiciones requeridas para que pueda optar al grado de Doctor.

Valencia, mayo de 2011

D. Antonio Alberola Aguilar D. Luis Such Miquel D. Salvador Llana Belloch

Índice

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1. Objetivos	9
1.2. Justificación de los objetivos	10
1.2.1. Adaptaciones al entrenamiento físico	10
1.2.1.1. Generalidades.....	10
1.2.1.2. Adaptaciones fisiológicas al entrenamiento físico.....	19
1.2.1.3. Consideraciones especiales respecto a las adaptaciones cardíacas.....	24
1.2.2. El sistema nervioso autónomo (SNA) en el corazón	31
1.2.2.1. Generalidades.....	31
1.2.2.2. El sistema nervioso extrínseco	37
1.2.2.2.1. Inervación parasimpática.....	37
1.2.2.2.2. Inervación simpática.....	38
1.2.2.3. El sistema nervioso intrínseco.....	39
1.2.2.3.1. Consideraciones anatómicas y funcionales.....	39
1.2.2.3.2. Naturaleza autónoma del sistema nervioso intrínseco	41
1.2.2.4. Efectos del sistema nervioso autónomo en el corazón.....	45
1.2.2.4.1. Efectos de la estimulación parasimpática	45
1.2.2.4.2. Efectos de la estimulación simpática	47
1.2.2.4.3. Efectos de otros neurotransmisores	50
1.2.3. Electrofisiología celular miocárdica: aspectos fundamentales de la activación eléctrica cardíaca	54
1.2.3.1. Automatismo sinusal.....	55
1.2.3.1.1. Bases iónicas del automatismo sinusal	56
1.2.3.1.2. Efectos del SNA sobre el automatismo sinusal.....	58
1.2.3.2. La conducción del impulso eléctrico cardíaco	61
1.2.3.2.1. La conducción auricular	61
1.2.3.2.2. La conducción nodal	62
1.2.3.2.3. La conducción His-Purkinje	65
1.2.3.2.4. La conducción Purkinje-ventrículos	66
1.2.3.2.5. La conducción ventricular.....	66

1.2.3.1.6. Efectos del SNA sobre la conducción	68
1.2.3.3. Modificaciones de la excitabilidad miocárdica durante el potencial de acción (refractariedad)	70
1.2.3.3.1. Bases iónicas de la refractariedad miocárdica	73
1.2.3.3.2. Efectos del SNA sobre la refractariedad miocárdica.....	75
1.2.3.4. Estudio especial de la frecuencia de la fibrilación ventricular inducida como parámetro electrofisiológico de excitabilidad	77
1.2.4. Modificaciones electrofisiológicas producidas por el entrenamiento	81
1.2.5. Modificaciones intrínsecas de automatismo, conducción y refractariedad	87
1.3. Resumen de la justificación de los objetivos e hipótesis	91
1.4. Plan de trabajo	93
2. MATERIALES Y MÉTODOS	94
2.1. Materiales.....	94
2.1.1. Animales de experimentación.....	94
2.1.2. Reactivos	96
2.1.3. Aparatos	96
2.1.4. Programas informáticos	100
2.2. Métodos	103
2.2.1. Grupos de estudio	103
2.2.2. Protocolo de entrenamiento físico.....	103
2.2.3. Estudio electrofisiológico	104
2.2.3.1. Preparación experimental.....	104
2.2.3.2. Protocolo experimental	106
2.2.3.3. Definición y determinación de los parámetros.....	109
2.2.4. Análisis estadístico	121
2.2.5. Legislación	121

3. RESULTADOS	122
3.1. Automatismo	124
3.1.1. Resultados del bloqueo colinérgico	124
3.1.2. Resultados del grupo falso operado	124
3.1.3. Efecto del entrenamiento físico	125
3.2. Conducción	126
3.2.1. Conducción auriculoventricular. Longitud del intervalo A-V	126
3.2.1.1. Resultados del bloqueo colinérgico	126
3.2.1.2. Resultados del grupo falso operado.....	126
3.2.1.3. Efecto del entrenamiento físico	127
3.2.2. Conducción auriculoventricular. Longitud de Ciclo de Wenckebach	128
3.2.2.1. Resultados del bloqueo colinérgico	128
3.2.2.2. Resultados del grupo falso operado.....	128
3.2.2.3. Efecto del entrenamiento físico	129
3.2.3. Conducción ventriculoaricular	130
3.2.3.1. Resultados del bloqueo colinérgico	130
3.2.3.2. Resultados del grupo falso operado.....	130
3.2.3.3. Efecto del entrenamiento físico	131
3.3. Refractoriedad	132
3.3.1. Refractoriedad auricular	132
3.3.1.1. Resultados del bloqueo colinérgico	132
3.3.1.2. Resultados del grupo falso operado.....	134
3.3.1.3. Efecto del entrenamiento físico	135
3.3.2. Refractoriedad ventricular	137
3.3.2.1. Resultados del bloqueo colinérgico	137
3.3.2.2. Resultados del grupo falso operado.....	139

3.3.2.3. Efecto del entrenamiento físico	141
3.3.3. Refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular	143
3.3.3.1. Resultados del bloqueo colinérgico	143
3.3.3.2. Resultados del grupo falso operado.....	144
3.3.3.3. Efecto del entrenamiento físico	145
3.3.4. Refractariedad del sistema de conducción ventriculoaricular	146
3.3.4.1. Resultados del bloqueo colinérgico.....	146
3.3.4.2. Resultados del grupo falso operado	147
3.3.4.3. Efecto del entrenamiento físico	148
3.4. Patrón fibrilatorio ventricular.....	149
3.4.1. Resultados del bloqueo colinérgico.....	149
3.4.2. Resultados del grupo falso operado.....	151
3.4.3. Efecto del entrenamiento físico	152
3.5. Flujo coronario.....	153
3.6. Peso de los animales y de los corazones	154
4. DISCUSIÓN	156
4.1. Consideraciones generales	157
4.2. Consideraciones sobre los métodos empleados.....	159
4.2.1. El modelo experimental	159
4.2.2. El protocolo de entrenamiento físico	162
4.3. Respecto a los resultados obtenidos	165
4.3.1. El automatismo	165
4.3.2. La conducción	168
4.3.3. La refractariedad.....	171
4.3.4. La frecuencia de la fibrilación ventricular	177
4.3.5. El grupo de animales falsos operados.....	178

4.4. Consideraciones finales respecto a los resultados	179
4.5. Limitaciones del estudio	179
5. CONCLUSIONES	180
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	183

Capítulo 1.

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVOS.

El principal objetivo de este trabajo consiste en investigar, en un modelo experimental de corazón aislado de conejo, el papel del sistema nervioso parasimpático intrínseco en las modificaciones que el entrenamiento físico produce sobre:

- A) El automatismo sinusal.
- B) La conducción auriculoventricular.
- C) La refractariedad auricular, ventricular y del sistema de conducción auriculoventricular y ventriculoauricular.
- D) La frecuencia dominante de la fibrilación ventricular inducida.

1.2. JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS.

1.2.1. Adaptaciones al entrenamiento físico.

1.2.1.1. Generalidades.

En primer lugar, comenzaremos este apartado haciendo algunas consideraciones de tipo conceptual acerca de lo que se entiende por actividad física, ejercicio físico y adaptaciones al ejercicio físico, términos que se encuentran relacionados entre sí pero que describen conceptos diferentes.

El término "actividad física" puede definirse como cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos y que produce un gasto de energía superior al metabolismo basal (Caspersen y cols., 1985). Para otros autores como Newell (1990), además de las mencionadas características, se considera actividad física siempre y cuando el movimiento se realice con intencionalidad, quedando excluidos de la definición de actividad física aquellos movimientos no intencionados, como por ejemplo los movimientos reflejos.

El ejercicio físico, por su parte, constituye una subcategoría de la actividad física y puede definirse como una actividad física planeada, estructurada y repetitiva, cuyo objetivo es mejorar o mantener la forma física (Caspersen y cols., 1985). Los diferentes tipos de ejercicio físico existentes pueden agruparse en dos grandes categorías: ejercicio de tipo dinámico o isotónico y ejercicio de tipo estático o isométrico (Asmussen, 1991). El ejercicio dinámico implica cambios en la longitud muscular y el movimiento de las articulaciones, con contracciones rítmicas que se desarrollan con una fuerza intramuscular relativamente pequeña; el ejercicio estático está relacionado con el desarrollo de una gran fuerza intramuscular con poco o ningún cambio en la longitud del músculo o en el movimiento de las articulaciones. Estos dos tipos de ejercicio podrían considerarse como los dos polos opuestos de un continuo (Mitchell y cols., 2005), con la mayoría de actividades requiriendo ambos componentes, el estático y el dinámico.

Los términos estático y dinámico caracterizan la actividad en base a la acción mecánica de los músculos implicados y son diferentes de los términos aeróbico y

anaeróbico, que caracterizan la actividad en función del tipo de metabolismo muscular. La mayoría de ejercicios estáticos de alta intensidad se realizan de forma anaeróbica mientras que los ejercicios dinámicos de alta intensidad que duran más de varios minutos se realizan de forma aeróbica. Así, se pueden clasificar los diferentes tipos de ejercicio físico o actividades deportivas basándonos en los componentes estático y dinámico de las distintas actividades que los componen; por ejemplo, en la categoría de deportes con alto componente dinámico podemos encontrar deportes que incluyen actividades como el esquí (campo a través), la carrera (larga distancia), el fútbol y el squash (figura 1.1).

COMPONENTE ESTÁTICO 	III. ALTO (>50% CVM)	Concursos atléticos (lanzamientos), gimnasia, artes marciales, escalada, vela, esquí acuático, levantamiento de peso, windsurf, bobsleigh	Culturismo, esquí alpino, skateboarding, snowboard, lucha libre	Boxeo, piragüismo, ciclismo, decatión, remo, patinaje de velocidad, triatlón
	II. MEDIO (20-50% CVM)	Tiro con arco, automovilismo, buceo, motociclismo, competiciones ecuestres	Fútbol americano, concursos atléticos (saltos), patinaje artístico, rodeo, rugby, carreras (sprint), surfing, natación sincronizada	Baloncesto, hockey sobre hielo, esquí de fondo (deslizante), lacrosse, carreras (media distancia), natación, balonmano
	I. BAJO (<20% CVM)	Billar, bolos, cricket, curling, golf, tiro al blanco	Baseball/softball, esgrima, ping-pong, voleibol	Bádminton, esquí de fondo (clásico), hockey sobre hierba, orientación, marcha, carrera (larga distancia), squash, fútbol, tenis
		A. BAJO (<40% VO_{2MAX})	B. MODERADO (40-70% VO_{2MAX})	C. ALTO (>70% VO_{2MAX})
		COMPONENTE DINÁMICO		

Figura 1.1. Clasificación de los deportes en función del tipo de actividad implicada. Esta clasificación está realizada en base a los componentes estáticos y dinámicos pico que se alcanzan durante la competición; no obstante, pueden alcanzarse valores elevados también durante el entrenamiento. El incremento del componente dinámico está definido en términos del consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}) estimado y resulta en un incremento del gasto cardíaco. El aumento del componente estático está relacionado con el porcentaje de la contracción voluntaria máxima (CVM) alcanzada y resulta en un incremento cada vez mayor de la presión arterial. Modificado de Mitchell y cols. (2005).

Continuando con la delimitación conceptual de términos, también es importante diferenciar entre adaptaciones al ejercicio y respuestas agudas al ejercicio. Así, una adaptación es el cambio que aparece a largo plazo, que tarda más tiempo en desaparecer

y que se puede manifestar incluso en reposo. Por contra, una respuesta al ejercicio es una modificación aguda e inmediata que experimentan los sistemas fisiológicos ante un estímulo, en este caso, la realización de actividad física. A continuación se explicarán detalladamente las respuestas del organismo ante diferentes tipos de ejercicio (dinámico y estático).

A. Respuesta aguda al ejercicio dinámico.

El incremento de la actividad muscular necesario para la realización de un ejercicio dinámico requiere de un aumento en el suministro de oxígeno para suplir las demandas del metabolismo aeróbico. Por lo tanto, una característica fundamental de la respuesta aguda es un incremento en el consumo de oxígeno (VO_2). El consumo de oxígeno, definido como el producto entre el gasto cardíaco (GC) y la diferencia arteriovenosa de oxígeno ($A-VO_2$), puede incrementar, por tanto, si se aumenta el GC, la $A-VO_2$ de oxígeno, o ambos. Por un lado, el incremento del GC se consigue gracias al aumento de la frecuencia cardíaca y el volumen sistólico. Por otra parte, la $A-VO_2$ está determinada por la capacidad para extraer el oxígeno que es proporcionado por la sangre a través del lecho capilar y por la distribución del flujo sanguíneo al músculo. Por tanto, la $A-VO_2$ puede aumentar con un mayor flujo sanguíneo en el territorio muscular o mejorando el sistema de extracción de oxígeno en el músculo. La respuesta fisiológica al ejercicio dinámico resulta en una modificación de los parámetros anteriormente mencionados, gracias a lo cual se produce en última instancia un incremento del VO_2 (Charlton y Crawford, 1997).

Existe una relación lineal entre el VO_2 y la intensidad de trabajo durante el ejercicio dinámico hasta que se alcanza el VO_{2max} , que es una medida de la capacidad aeróbica, y que está determinado por el máximo suministro de oxígeno y la máxima extracción del mismo por los músculos implicados en la actividad. El VO_{2max} se utiliza como una medida de la capacidad de rendimiento porque es independiente del tipo de ejercicio que se realiza (Mitchell y Blomqvist, 1971).

El GC también se relaciona de manera lineal con el VO_2 y está determinado en su mayor parte por el incremento en la frecuencia cardíaca que se produce durante el

ejercicio (Stone y Liang, 1984). El volumen sistólico contribuye al incremento del GC en el inicio de la actividad como resultado del incremento en el retorno venoso provocado por la acción de bomba de los músculos al contraerse. El ejercicio dinámico intenso puede resultar en un incremento de 5 veces el GC (desde los 5 L·min⁻¹ en reposo hasta los 25 e incluso 40 L·min⁻¹), 3 veces la frecuencia cardíaca y 2 veces el volumen sistólico en comparación con los valores de reposo. La A-VO₂ aumenta unas 3 veces como resultado de una redistribución del flujo sanguíneo al músculo esquelético implicado en la actividad y un aumento en la extracción de oxígeno a lo largo del lecho capilar de los mismos (Charlton y Crawford, 1997).

La posición en la que se realiza el ejercicio también influye en la magnitud de estos cambios. Por ejemplo, la frecuencia cardíaca es mayor en posición vertical que en posición supina debido a que la reducción del retorno venoso en posición vertical resulta en una activación del reflejo simpático. Una vez que se inicia el ejercicio, hay un incremento rápido en la frecuencia cardíaca como resultado de la inhibición de la actividad parasimpática (la principal determinante de la frecuencia cardíaca en reposo) y un incremento de la actividad simpática. Estos cambios, mediados por el sistema nervioso central, se deben a mecanismos cerebrales y cambios reflejos provocados por la activación de mecanorreceptores en los músculos que se activan (Secher y Johansen, 1976). A medida que el ejercicio se desarrolla, los cambios subsiguientes en la frecuencia cardíaca están mediados por un incremento de la actividad del sistema nervioso simpático y las catecolaminas circulantes.

La respuesta del volumen sistólico del ventrículo izquierdo depende también de la posición en la que se realiza la actividad. En posición supina en reposo, el volumen sistólico es del 80% del volumen máximo obtenible. En posición vertical, el volumen sistólico es aproximadamente el 65% del volumen máximo obtenible debido al reducido retorno venoso. En consecuencia, la magnitud del cambio durante el ejercicio varía según la posición (Poliner y cols., 1980). Como ya se ha mencionado, con el inicio del ejercicio el retorno venoso incrementa como resultado de la acción de bomba de los músculos al contraerse. Además, la presión intratorácica desciende de manera que la presión de llenado ventricular aumenta, el orificio de la válvula mitral se dilata y el volumen diastólico va incrementando progresivamente durante los primeros instantes y luego se

estabiliza (Crawford y cols., 1985). Por tanto, el aumento inicial del volumen sistólico se debe a la activación del mecanismo de Frank-Starling, cuando el volumen telediastólico incrementa o se mantiene a pesar del incremento en la frecuencia cardíaca, que disminuye el tiempo de llenado durante la diástole (Weiss y cols., 1979). A medida que el ejercicio tiene lugar, este mecanismo no es suficiente para aumentar todavía más el volumen sistólico (ya que el tiempo de llenado durante la diástole disminuye), por lo que la estimulación simpática y las catecolaminas circulantes incrementan todavía más el volumen sistólico a través de un incremento de la contractilidad y una reducción del volumen telediastólico.

Durante el ejercicio, se produce también una redistribución del flujo sanguíneo de manera que se reduce el flujo en los órganos internos, principalmente de la cavidad abdominal, e incrementa en los músculos implicados en la actividad, mientras que el flujo de sangre que le llega al cerebro permanece invariable. Esto tiene gran importancia para la circulación coronaria porque el corazón extrae normalmente de un 70 a un 80% del oxígeno presente en la sangre en reposo (Kocke y Ellis, 1980). Por lo tanto, un aumento en el suministro de oxígeno en el corazón debe ir acompañado de un incremento en el flujo coronario; así, durante el ejercicio, el flujo coronario se cuadruplica gracias a la vasodilatación y la reducción de la resistencia vascular coronaria (Stone, 1983). También se produce un incremento de la extracción de oxígeno en los órganos metabólicamente activos, provocando como resultado neto el aumento de la $A-VO_2$ durante el ejercicio.

La presión sistólica aumenta durante el ejercicio y la presión diastólica disminuye ligeramente, pero la presión arterial media apenas sufre modificaciones. Los cambios en la presión arterial durante el ejercicio no guardan una relación lineal con la carga de trabajo puesto que la presión sanguínea está influida por la magnitud de la masa muscular que se ejercita (Blomqvist y cols., 1981). La influencia que la vasodilatación ejerce en una gran masa muscular durante el ejercicio es diferente a la efectuada en un músculo pequeño con relación a la conductancia vascular total. Por tanto, puede obtenerse el mismo incremento en el GC con una presión arterial mayor durante, por ejemplo, la flexión de codo, en comparación con el ejercicio realizado con las piernas, ya que éste último tiende a disminuir la conductancia vascular total y la presión arterial.

La presión arterial pulmonar aumenta más que la presión arterial sistémica y los volúmenes pulmonares también aumentan, con lo que se produce un incremento en el transporte de oxígeno pulmonar durante el ejercicio (Ehsani y cols., 1991). No se ha encontrado evidencia de que la capacidad de difusión a través de los alveolos se modifique.

B. Respuesta aguda al ejercicio estático.

La respuesta fisiológica al ejercicio estático es similar a la del ejercicio dinámico, existiendo, no obstante, una serie de diferencias entre ambos. La presión intramuscular aumenta notablemente durante la acción contráctil partiendo de la misma longitud, resultando en una importante reducción del flujo sanguíneo o incluso su interrupción. Por ejemplo, un ejercicio de empuñadura realizando una presión isométrica sostenida mayor del 70% de la máxima contracción voluntaria interrumpe completamente el flujo de sangre en el antebrazo. El flujo sanguíneo en las piernas es incluso más sensible al esfuerzo contráctil y contracciones superiores al 20% de la máxima contracción voluntaria interrumpen completamente el flujo sanguíneo (Asmussen, 1981). En consecuencia, un ejercicio isométrico prolongado depende de mecanismos anaeróbicos para proporcionar la energía necesaria para la contracción muscular, siendo el incremento en VO_2 y GC modesto.

El incremento del GC que se produce durante el ejercicio isométrico es resultado, principalmente, del aumento de la frecuencia cardíaca, puesto que el volumen sistólico no se modifica de forma apreciable hasta el inmediato periodo de recuperación. La $A-VO_2$ no se modifica durante la realización de ejercicio isométrico porque los músculos, al contraerse, limitan el acceso de sangre al mismo. Después de la liberación de la tensión isométrica, la $A-VO_2$ aumenta como resultado del mayor flujo sanguíneo al músculo. La presión arterial sistémica sí que aumenta durante este tipo de ejercicio mientras que el volumen sistólico y la resistencia vascular total no se ven incrementados lo suficiente como para afectar la presión arterial significativamente (Mitchel y cols., 1981).

Una vez que el ejercicio isométrico ha finalizado, se incrementa el VO_2 y el GC de forma transitoria antes de descender. Este fenómeno puede explicarse debido a que

durante la isquemia provocada por una contracción isométrica prolongada, se activan mecanismos locales que producen vasodilatación en el lecho vascular muscular. Cuando el flujo retorna, la demanda local de oxígeno y el flujo sanguíneo aumentan y se produce un aumento transitorio en el GC y VO_2 . La respuesta post-isquémica presumiblemente se utiliza para suplir la deuda de oxígeno en la que se incurre durante el ejercicio isométrico (Mitchell y cols., 1983).

Las principales respuestas agudas del sistema cardiovascular al ejercicio físico estático y dinámico pueden verse resumidas en la figura 1.2:

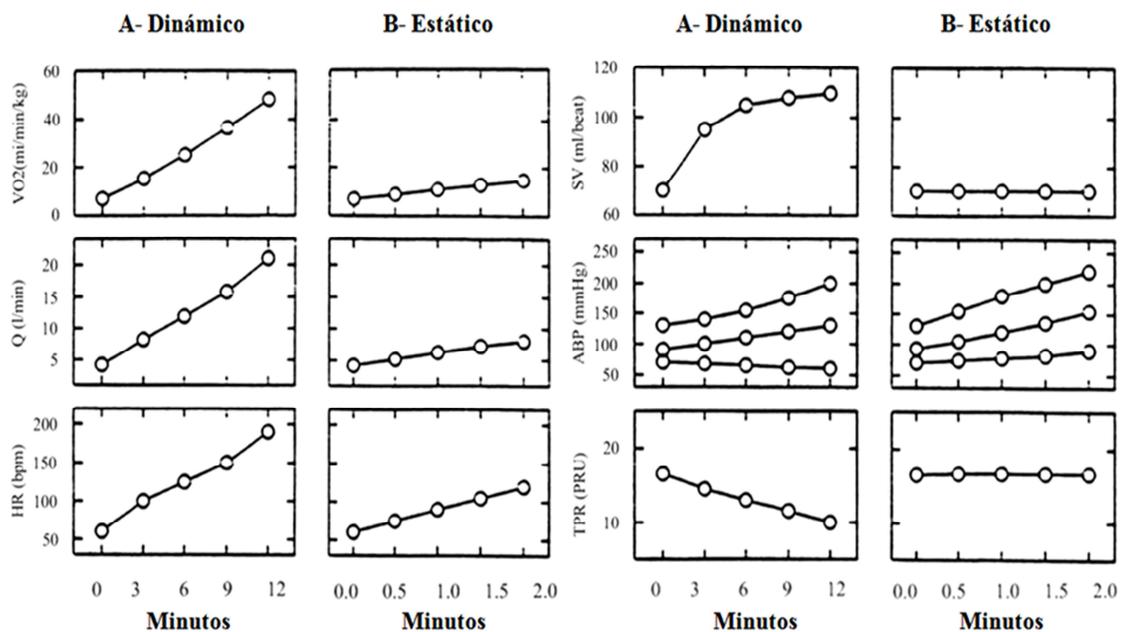


Figura 1.2. Respuesta cardiovascular al ejercicio. (A) Respuesta al ejercicio dinámico al incrementar progresivamente la carga hasta el consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}) (B) Respuesta a una contracción estática (empuñadura) al 30% de la contracción máxima voluntaria. APB = presión arterial media (mm Hg); HR = frecuencia cardíaca (latidos/minuto); Q = gasto cardíaco (L/min); SV = volumen sistólico (mL/latido); TPR = resistencia periférica total (unidades de resistencia periférica); VO_2 = consumo de oxígeno ($mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$). Modificado de Mitchell y cols. (2005).

Resumiendo, podemos decir que el ejercicio dinámico que se realiza con los grandes grupos musculares produce un incremento en el consumo de oxígeno, frecuencia cardíaca, volumen sistólico (por tanto también, el consecuente incremento en el gasto cardíaco) y presión arterial sistólica, un moderado incremento en la presión arterial media y un descenso tanto en la presión arterial diastólica como en la resistencia periférica total (figura 1.2A). El ejercicio estático, por contra, produce un pequeño incremento en el consumo de oxígeno, gasto cardíaco y frecuencia cardíaca, pero no

modifica el volumen sistólico (figura 1.2B). Además, se observa un incremento marcado de la presión arterial (media, sistólica y diastólica) y ningún cambio en la resistencia periférica. Es por ello que el ejercicio dinámico produce principalmente una sobrecarga en el volumen del ventrículo izquierdo mientras que el ejercicio estático provoca un aumento de presión. La respuesta aguda a ambos tipos de ejercicio físico (estático y dinámico) modifica varios factores que son importantes para determinar la demanda de oxígeno miocárdica: la frecuencia cardíaca, la tensión de la pared muscular y el estado contráctil del ventrículo izquierdo (Sonnenblick y cols., 1968). La tensión de la pared muscular se ve afectada por la presión que se desarrolla y el volumen ventricular. En los ejercicios dinámicos de alta intensidad hay un gran incremento de la frecuencia cardíaca y del volumen sistólico que se consigue gracias al incremento en el volumen telediastólico (mecanismo de Frank-Starling) y un descenso en el volumen telesistólico (por el aumento del estado contráctil). En el ejercicio estático de alta intensidad, hay un menor incremento de la frecuencia cardíaca y suceden pocos cambios en los volúmenes telesistólicos y telediastólicos del ventrículo izquierdo, pero la presión arterial y el estado contráctil del ventrículo se incrementan.

La realización regular de ejercicio físico, ya sea estático o dinámico, produce una serie de cambios morfológicos y/o funcionales, más o menos duraderos, que preparan mejor al organismo para la realización del mismo. Estos cambios representan la adaptación fisiológica del organismo ante un determinado esfuerzo (Lamb, 1989). La principal característica de la adaptación al ejercicio es que requiere tiempo para que se produzca. La mayoría de las respuestas y adaptaciones al ejercicio y al entrenamiento son ejemplos de regulaciones de retroalimentación negativa, aparentemente producidas para ayudar al cuerpo a minimizar los cambios homeostáticos que ocurren durante el ejercicio.

En la adaptación fisiológica al entrenamiento físico hay:

- Por un lado, una alteración de la constancia del medio interno, modificando sus condiciones físicas y químicas, lo cual es detectado por el organismo, que elabora las respuestas homeostáticas de tipo nervioso, humoral y hormonal. Esto último provoca modificaciones funcionales en los diferentes órganos y sistemas implicados.

- 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. En el esquema que sigue a continuación (figura 1.3) se señalan las interrelaciones creadas en lo que es la respuesta al entrenamiento por ejercicio físico.

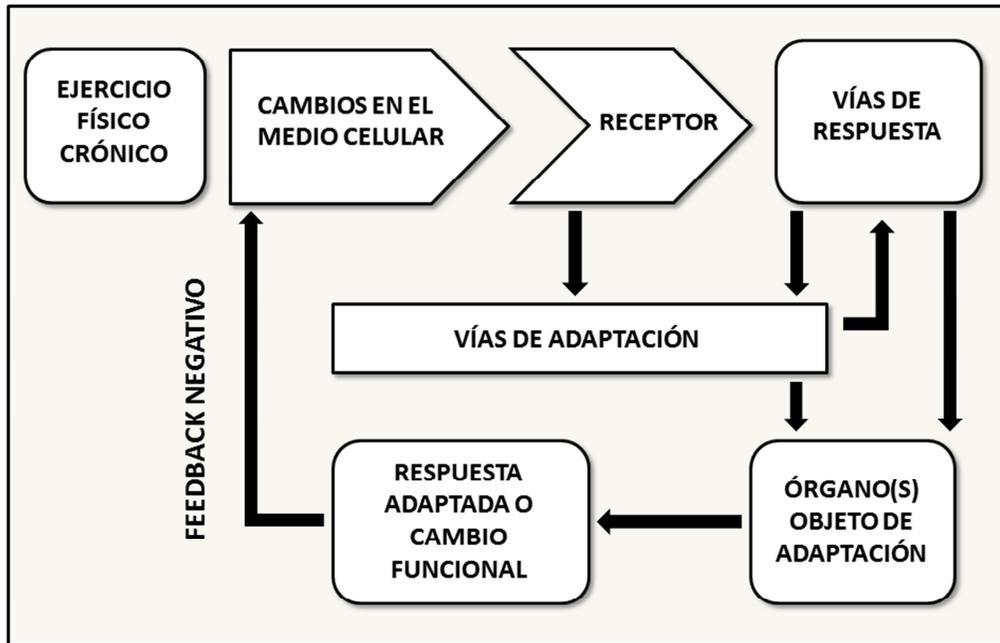


Figura 1.3. Interrelaciones que implican la respuesta al ejercicio y al entrenamiento. Modificado de Lamb (1989).

El entrenamiento físico afecta a una serie de factores que determinan la capacidad de rendimiento físico, lo cual implica cambios funcionales y estructurales en una serie de sistemas y órganos (Astrand y cols., 2003). López-Chicharro y Fernández (2006), relataron algunos aspectos relacionados con las adaptaciones al entrenamiento:

- Cada individuo responde de una manera diferente ante cada programa de entrenamiento, lo que constata la variabilidad biológica de los sujetos.
- La magnitud de la mejora fisiológica o del rendimiento depende de la capacidad potencial, determinada genéticamente, que establece el límite de adaptación de un tejido o un sistema disponible para el cambio en cada persona. Además, el

grado de adaptación depende también del estado físico de la persona así como de la efectividad de los programas de entrenamiento prescritos a los sujetos.

De este modo, el entrenamiento físico de tipo aeróbico produce adaptaciones a diferentes niveles: bioquímico, respiratorio, cardiovascular, hormonal, neural y del sistema nervioso vegetativo, muscular, sanguíneo, térmico y estructural (López-Chicharro y Fernández, 2006). En el siguiente apartado se profundizará con más detalle en las adaptaciones generales al entrenamiento físico.

1.2.1.1. Adaptaciones fisiológicas al entrenamiento físico.

El proceso de entrenamiento físico implica a diferentes áreas y procesos: máxima captación de oxígeno, funciones hemodinámicas centrales, función del sistema nervioso autónomo, función muscular y vascular periférica, y capacidad para la ejecución del ejercicio físico submáximo. Todas estas adaptaciones constituyen una situación o estado de entrenamiento que permite al individuo realizar ejercicio con menores frecuencias cardíacas a cualquier nivel submáximo de ejercicio (Fletcher y cols., 2001).

En relación con el entrenamiento aeróbico, pueden destacarse una serie de adaptaciones generales del músculo esquelético como son 1) un aumento en el contenido de mioglobina, 2) un incremento de la capacidad de oxidación de los hidratos de carbono, 3) un aumento en el número, el tamaño y área de superficie de las mitocondrias, 4) un incremento del nivel de actividad o de la concentración de las enzimas involucradas en el ciclo de Krebs y en el sistema de transporte de electrones y 5) un incremento de la oxidación de las grasas, lo que supone una menor depleción de glucógeno y una menor producción de ácido láctico.

Respecto a la concentración de lactato en plasma, ante una determinada carga de trabajo, la concentración es menor en el individuo entrenado. Esto refleja un descenso en la liberación de lactato desde los tejidos a la sangre, así como un incremento en la eliminación del lactato en plasma durante el ejercicio producido por el entrenamiento físico (figura 1.4):

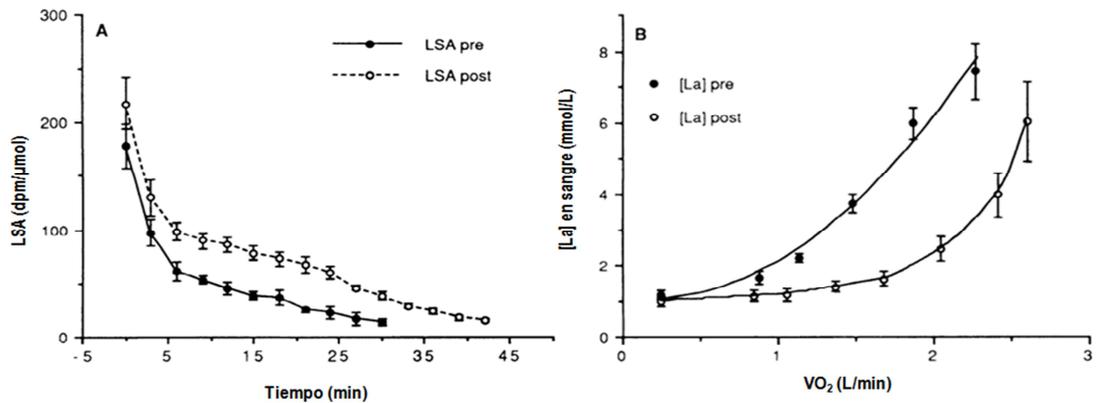


Figura 1.4. Efecto del incremento de la carga de trabajo después del periodo de entrenamiento sobre la actividad específica del lactato (LSA, A) y la acumulación de lactato en sangre ([La], B). Modificado de McRae y cols. (1992).

De la misma manera, la degradación del glucógeno muscular (Mazzeo y cols., 1986), la concentración intramuscular de lactato y la liberación de lactato desde el músculo (Mc Ardle y cols., 1991) disminuye en el individuo entrenado. Los mecanismos fisiológicos responsables de la menor acumulación de lactato durante ejercicios submáximos aún no están completamente definidos, pero se barajan las siguientes posibilidades (López-Chicharro y Fernández, 2006):

- Una mayor utilización de ácidos grasos como fuente metabólica, que conducirá a una menor utilización de glucógeno, y por lo tanto a una menor producción de lactato por los músculos.
- Un menor déficit de oxígeno al comienzo del ejercicio debido a un aumento más rápido del VO₂, llevando también a un menor acúmulo de lactato.
- Mayor utilización del lactato como fuente energética durante el ejercicio submáximo que provocará una menor concentración plasmática total.
- Cambios subcelulares como el aumento de la masa mitocondrial del músculo.

El entrenamiento de resistencia también produce modificaciones en el tipo de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) muscular, desviándola hacia la forma H4 (M4, M3h, M2H2, MH3, H4) o forma cardíaca de LDH, que tiene menos afinidad para el lactato, con lo que la formación de éste será menor.

Por otra parte, el entrenamiento físico también aumenta la actividad de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) y la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), proporcionando así protección frente al daño producido por los radicales libres y mejorando la función del sistema cardiovascular (Husain y Hazelrigg, 2002).

A nivel cardiovascular, una adaptación característica es el incremento en el VO_{2max} . En individuos sedentarios, el valor de VO_{2max} suele ser de aproximadamente unos 45 mL·kg·min⁻¹, pudiendo incrementarse con el entrenamiento hasta los 60 mL·kg·min⁻¹ y, en deportistas de élite de disciplinas con elevado componente dinámico y predominantemente aeróbico, puede llegar a 80 mL·kg·min⁻¹ (Mitchell y Blomqvist, 1971). En la tabla 1.1 pueden verse algunos de los valores más representativos en función de la disciplina deportiva.

Tipo de deporte	Hombres	Mujeres
Deportes de resistencia		
Carrera de larga distancia	75-80	65-70
Esquí de fondo	75-80	65-70
Ciclismo en ruta	70-75	60-65
Natación	60-70	55-60
Remo	65-69	60-64
Piragüismo	60-68	50-55
Deportes de equipo		
Fútbol	50-57	-
Balonmano	55-60	48-52
Voleibol	55-60	48-52
Tenis	48-52	40-45
Deportes de combate		
Boxeo	60-65	-
Lucha libre	60-65	-
Judo	55-60	50-55
Esgrima	45-50	40-45
Deportes de potencia		
200 m lisos	55-60	45-50
Salto de longitud	50-55	45-50
Lanzamiento peso/disco	40-45	35-40
Lanzamiento jabalina	45-50	42-47
Salto con pértiga	45-50	-
Saltos de esquí	40-45	-
Deportes técnicos/acrobáticos		
Esquí alpino	60-65	48-53
Patinaje artístico	50-55	45-50
Gimnasia	45-50	40-45

Gimnasia rítmica	-	40-45
Vela	50-55	45-50
Tiro	40-45	35-40

Tabla 1.1. Valores estándar de VO_{2max} en función de la disciplina deportiva. Modificado de Dirik y cols. (1988).

La magnitud de este incremento del VO_{2max} depende de un número de factores como el estado inicial del individuo, la duración del programa de entrenamiento y la intensidad, duración y frecuencia de las sesiones (Wenger y Bell, 1983). Aunque muchos estudios sobre el entrenamiento de resistencia han mostrado que el VO_{2max} aumenta con el tiempo de entrenamiento, el volumen e intensidad de ejercicio óptimos para su mejora no es todavía conocido. No obstante, algunas evidencias que han analizado la relación entre intensidad y volumen, indican que un entrenamiento cercano al 80-100% del VO_{2max} parece ser la intensidad más efectiva para desarrollar este parámetro utilizando el menor volumen de entrenamiento (Wenger y Bell, 1983; Tabata y cols., 1997).

Otra de las adaptaciones importantes a nivel cardiovascular es el mayor gasto cardíaco que se puede lograr con un ejercicio máximo, a diferencia de los valores submáximos, que no suelen cambiar con respecto a los valores previos al entrenamiento (Saltin y cols., 1968). También la frecuencia cardíaca submáxima se ve modificada por el entrenamiento físico, siendo acompañada esta modificación de cambios concomitantes del volumen sistólico. En la persona entrenada, el aumento del gasto cardíaco se produce a expensas de un aumento en el volumen sistólico más que a través de un incremento de la frecuencia cardíaca máxima, ya que ésta normalmente no sufre modificación alguna con el entrenamiento físico (Hartley y cols., 1969).

En cuanto a las modificaciones que el entrenamiento físico produce sobre el sistema endocrino, en líneas generales, parece ser que dichas modificaciones se producen cuando el entrenamiento ha sido de larga duración, no siendo tan evidentes cuando éste se ha producido en cortos períodos de tiempo (Astrand y cols., 2003). 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 (Astrand y cols., 2003). Como ejemplo puede destacarse el aumento de la sensibilidad a la insulina

en los adipocitos, y muy especialmente en el músculo esquelético (James y cols., 1985). También se ha relatado una disminución de la insulinemia por el entrenamiento y el aumento en la concentración de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y del cortisol en corredores intensamente entrenados (Wirth y cols., 1981), aunque en el caso de esta última hormona existe un menor consenso (Hackney y cols., 1988). Asimismo, ha sido relatado que la testosteronemia disminuye en atletas masculinos con el entrenamiento de resistencia (Hackney y cols., 1988); por otra parte, otros autores no han encontrado que el entrenamiento físico modifique los niveles de testosterona, cortisol y hormonas tiroideas (Mujika y cols., 1996). En cuanto a la hormonas del crecimiento, Eliakim y cols. (1996), observaron que un año de entrenamiento de resistencia aeróbica amplifica la liberación pulsátil de GH en reposo, a diferencia del entrenamiento realizado durante un corto periodo de tiempo (5 semanas), que no fue acompañado por incrementos de dicha hormona.

El entrenamiento de resistencia también modifica la presencia de una serie de lípidos en plasma que son importantes para el desarrollo de la arterioesclerosis y la enfermedad coronaria, de forma que previene su aparición. Así, la realización de ejercicio aeróbico dinámico produce un incremento de HDL total, la subfracción 2 y la apolipoproteína A₁, que es el mayor componente de HDL (Kiens y cols., 1980). El ejercicio también disminuye los niveles de triglicéridos, LDL y el peso del individuo, además de incrementar la actividad de la lipoproteína lipasa en el tejido muscular y adiposo (Nikkila y cols., 1978). La realización de ejercicio aeróbico dinámico de intensidad baja a moderada es todo lo que se necesita para conseguir estos efectos metabólicos en los lípidos (Huttunen y cols., 1979).

Por lo que respecta al sistema nervioso vegetativo, la adaptación más importante al entrenamiento aeróbico consiste en un aumento del tono parasimpático y una disminución del tono simpático en reposo. Respecto a la concentración de catecolaminas en sangre, los resultados son controvertidos. Por un lado, Hartley y cols. (1972) encontraron unos niveles sanguíneos y urinarios de catecolaminas más bajos en reposo en deportistas entrenados, mientras que Hespel y cols. (1988) registraron una disminución de las concentraciones plasmáticas de noradrenalina en reposo. No obstante, Kjaer y cols. (1986) observaron un aumento de los niveles de adrenalina en

reposo en atletas sometidos a entrenamiento durante varios años. En lo referente a la sensibilidad a las catecolaminas en el corazón, Molé (1978), relata que en sujetos entrenados la sensibilidad a las mismas está aumentada. Esto podría ser debido a un incremento del estado inotrópico, ya que se encontró un aumento en la velocidad de contracción relacionado con la administración de un agonista β -adrenérgico (isoproterenol).

En resumen, el ejercicio físico es interpretado por nuestro organismo como un estímulo y, en consecuencia, diferentes sistemas se ponen en funcionamiento para que nuestro organismo pueda adaptarse a los cambios producidos por dicho estímulo. Dentro de estos sistemas, cobra una gran importancia el sistema nervioso autónomo y las glándulas adrenales (Mazzeo 1991), que responden durante y después del ejercicio para mantener la homeostasis. La exposición prolongada a este estrés provoca una serie de adaptaciones que normalmente van asociadas con un incremento en el rendimiento. En el siguiente apartado se tratará con más detalle cuáles son las adaptaciones cardíacas al entrenamiento físico.

1.2.1.2. Consideraciones especiales respecto a las adaptaciones cardíacas.

Al igual que ocurre con otros tejidos como el muscular esquelético, también el músculo cardíaco es sensible a cambios, resultado de adaptaciones, producidas por la realización regular de ejercicio físico. Así, el entrenamiento físico induce una serie de adaptaciones morfológicas y funcionales en el corazón directamente relacionadas con el tipo, duración, años de práctica deportiva e intensidad del entrenamiento. Su expresión depende de factores genéticos, metabólicos, humorales y, en gran medida, del tipo de entrenamiento que el deportista realice (Boraita y Serratosa, 1998). Estas adaptaciones aparecen fundamentalmente en aquellos deportes en los que predomina el ejercicio dinámico, y en los que el aporte de oxígeno a los músculos se realiza predominantemente a partir del metabolismo aeróbico. Por el contrario, los deportes con predominio del ejercicio estático o explosivo y una demanda energética esencialmente anaeróbica apenas producen modificaciones morfológicas o funcionales cardíacas.

Las adaptaciones más características del sistema cardiovascular ante repetidas series de ejercicio dinámico en el que predomina el metabolismo aeróbico incluyen: 1) un descenso de la frecuencia cardíaca en reposo y submáxima, 2) un incremento del volumen sistólico máximo, 3) un aumento del volumen telediastólico ventricular izquierdo, 4) una mejora de la función contráctil, 5) un incremento de la masa miocárdica y del tamaño del ventrículo izquierdo y 6) una mejora de la perfusión coronaria (Blomqvist y Saltin, 1983; Moore y Korcick, 1995). Asimismo, los músculos esqueléticos implicados en el entrenamiento físico dinámico se vuelven más de tipo oxidativo que glicolítico, con un incremento en el número y tamaño de las mitocondrias y en el número de capilares. Estos cambios contribuyen a la mayor diferencia arteriovenosa de oxígeno observada en los deportistas de resistencia aeróbica (Mitchell y cols., 2005).

Por otro lado, la adaptación crónica (entrenamiento) del sistema cardiovascular al ejercicio estático y predominantemente anaeróbico resulta en un escaso o nulo incremento del VO_{2max} . Sin embargo, este tipo de entrenamiento sí que produce cambios en la masa del ventrículo izquierdo, desarrollándose en deportistas de estas disciplinas una hipertrofia fundamentalmente concéntrica sin apenas aumento del volumen de la cavidad ventricular (Pelliccia y cols., 1991). Además, el músculo esquelético implicado en el ejercicio estático se vuelve más de tipo glicolítico y menos oxidativo, produciéndose también un incremento de la masa muscular, principalmente por la hipertrofia de sus fibras, con un pequeño grado de hiperplasia (Mitchell y cols., 2005).

Estos cambios morfológicos y funcionales que se producen en el corazón de los individuos entrenados han dado lugar al término de "síndrome del corazón del deportista", de forma que las adaptaciones a un tipo de entrenamiento determinado (estático versus dinámico, aeróbico versus anaeróbico) pueden llevar a su desarrollo si el entrenamiento se realiza durante unas 5-6 horas semanales (Lauschke y Maisch, 2009). El meta-análisis de la literatura efectuado por Pluim y cols. (2000) confirmó la existencia de dos principales formas del corazón del deportista: la forma de los deportes dinámicos con un alto componente aeróbico y la forma de los deportes estáticos con un elevado componente anaeróbico. También encontraron una forma mixta, como la de aquellos deportistas que combinan el trabajo de fuerza con el de resistencia; éste es el caso de deportes como el remo o el ciclismo en el que se combinan ejercicios dinámicos y

estáticos de grandes grupos musculares a intensidades elevadas. Los ciclistas de alta competición, por ejemplo, pueden soportar intensidades próximas a la frecuencia cardíaca máxima durante largos periodos de tiempo (a veces cercanos a las 6 horas). La combinación de unas cargas de volumen y presión extremas podrían explicar por qué los mayores incrementos en el tamaño y el espesor del ventrículo izquierdo se dan en los ciclistas y los remeros (Pluim y cols., 2000).

A continuación trataremos con más profundidad los cambios que se producen en el corazón del deportista como resultado de un ejercicio dinámico y predominantemente aeróbico.

Una de las modificaciones más características se produce en la frecuencia cardíaca de las personas entrenadas en comparación con las sedentarias. Ya ha sido mencionado en líneas anteriores que el entrenamiento aeróbico produce una disminución de la frecuencia cardíaca basal (Bonaduce y cols., 1998; Levy y cols., 1998) y submáxima (Wilmore y cols., 2001; Skinner y cols., 2003), siendo también evidente esta menor frecuencia cardíaca de los individuos entrenados durante el ejercicio, cuando la comparación se realiza a intensidades submáximas iguales. En cuanto a la frecuencia cardíaca máxima no parece haber un claro consenso, ya que algunos estudios han relatado un ligero incremento (Charlton y Crawford, 1997; Weir y cols., 1997) mientras que otros muestran un descenso con el entrenamiento (Spina y cols., 1992); no obstante, la revisión llevada a cabo por Zavorsky (2000) concluyó que la frecuencia cardíaca máxima desciende entre 5 y 13 latidos por minuto con el entrenamiento aeróbico e incrementa de 4 a 10 latidos por minuto con el desentrenamiento. Los mecanismos propuestos para explicar este descenso en la frecuencia cardíaca máxima incluyen una expansión del volumen plasmático (Convertino, 1983), una mejora en la función de la respuesta barorreceptora (Kingwell y cols., 1992) y un descenso en la densidad y el número de receptores β -adrenérgicos (Sylvestre-Gervais y cols., 1982).

La disminución de la frecuencia cardíaca submáxima se acompaña generalmente de un aumento concomitante del volumen sistólico. El volumen sistólico está sujeto a una serie de influencias, que incluyen el volumen telediastólico, la función intrínseca contráctil del miocardio y la postcarga que se ejerce sobre el corazón. Existe una

tendencia que sugiere que el entrenamiento de resistencia aeróbica ejerce influencia sobre el volumen telediastólico (Hepp y cols., 1974; Levine y cols., 1991; Blomqvist y Saltin, 1983), la postcarga (Jin y cols., 2000) y mejora la función contráctil intrínseca del miocardio, incluyendo estudios experimentales sobre la función ventricular en el corazón intacto (Fitzsimons y cols., 1990; Jin y cols., 2000) y en la actividad contráctil del miocito aislado (Molé y cols., 1978; Diffe y cols., 2000; Wisloff y cols., 2001). Schaible y Scheuer (1985), atribuyeron el aumento del volumen sistólico al mecanismo de la Ley de Frank-Starling, habiendo sido relatado que la realización de ejercicio físico produce un aumento en el volumen de las cámaras cardíacas, lo que conlleva un incremento de la capacidad para recibir mayor cantidad de sangre durante la diástole. En esta misma línea, Pelliccia y cols. (1991) relataron que el aumento del volumen sistólico producido por el entrenamiento de resistencia se halla relacionado con el agrandamiento del tamaño de la cámara cardíaca y con el mayor llenado de la misma por la sangre. Por otro lado, Fletcher y cols. (2001) plantearon la posibilidad de que los cambios sobre la función del corazón como bomba puedan ser debidos también a un aumento del estado inotrópico del corazón y a una tasa elevada de llenado del ventrículo izquierdo en el inicio de la diástole a frecuencias cardíacas altas en los individuos entrenados.

Una de las modificaciones más importantes que el entrenamiento produce tiene lugar en las dimensiones cardíacas. Los resultados del estudio llevado a cabo por Spirito y cols. (1994) sobre 947 deportistas de élite demostraron que el tipo de deporte influye de manera determinante sobre los cambios que se producen en la morfología cardíaca. Por ejemplo, el ciclismo en ruta, la natación y el remo estaban asociados con las mayores dimensiones cardíacas, mientras que disciplinas como las carreras de velocidad y los concursos en atletismo, el buceo y el *bobsleigh* casi no modificaban el tamaño de las cámaras cardíacas. Además, la mayoría de los deportes (aproximadamente un 80%) tenían algún efecto sobre la cavidad del ventrículo izquierdo y el grosor de la pared. Por ejemplo, los ciclistas de ruta, remeros y nadadores mostraban las cavidades más grandes y también de mayor grosor. Debe destacarse, no obstante, que los valores de grosor de la pared ventricular excedieron los valores normales (>12 mm) únicamente en el 2% de los atletas analizados. Por tanto, el incremento del grosor de la pared del ventrículo izquierdo asociado con el entrenamiento físico muy raramente entra en el rango de lo patológico.

Por lo que respecta a estudios experimentales, se ha comprobado que existe a) una relación de proporcionalidad directa entre la magnitud de la hipertrofia y la duración del programa de entrenamiento, y b) una relación de proporcionalidad inversa con la edad (Blomqvist y Saltin, 1983). No están del todo claros los mecanismos por los cuales se produce esta hipertrofia en el corazón en los atletas de resistencia, postulándose distintas causas como son el aumento de la carga, el aumento del volumen de llenado, el aumento de la presión, la prolongada estimulación por catecolaminas (Opie, 2004) e incluso factores relacionados con la predisposición genética sobre el grado de hipertrofia o la magnitud de la respuesta al entrenamiento (López-Chicharro y Fernández, 2006).

En lo referente 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. 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), mientras que para otros autores puede producirse un aumento de la vascularidad incluso en ausencia de incrementos en la masa miocárdica (Blomqvist y Saltin, 1983). En relación con el ejercicio físico aeróbico, resultados experimentales indican que induce un incremento tanto en el flujo sanguíneo y capacidad de intercambio capilar como en la capacidad de difusión coronaria (Laughlin, 1994). En este estudio se observó que, en los animales entrenados, el producto de la permeabilidad por superficie capilar y el flujo sanguíneo son más altos a una determinada presión de perfusión porque la resistencia vascular coronaria es menor, hecho que puede ser debido a modificaciones en la estructura vascular coronaria, a un control alterado de la resistencia vascular coronaria o a una combinación de ambos. También se describió la presencia de angiogénesis coronaria así como crecimiento de vasos en longitud y/o diámetro producido por el entrenamiento. 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. La práctica de ejercicio puede producir aumento en la vasodilatación dependiente del endotelio en la microcirculación coronaria; estos efectos parecen ser debidos a un incremento de la expresión de la óxido nítrico sintasa a nivel vascular. De

cualquier modo, existen evidencias que avalan la presencia de vasodilatación dependiente de endotelio en arterias coronarias de conductancia como un componente de la respuesta de la circulación coronaria al ejercicio (Laughlin, 1994).

La acción como bomba del corazón tiene su origen en la acción coordinada de los miocitos, las principales células cardíacas, cuya contracción es reflejo de la actividad del corazón latido a latido (Bers, 2002). Aunque sólo representan aproximadamente un 20% de las células del corazón, suponen un 90% de la masa del mismo debido a su tamaño (Bergman y cols., 2009). Los cardiomiocitos responden de maneras muy diversas ante los diferentes programas de ejercicio, siendo esta respuesta intensidad-dependiente (Kemi y cols., 2005). En cuanto a las modificaciones que se producen en el miocito, el entrenamiento físico produce un estado inotrópico mejorado debido a los cambios que induce en el aparato contráctil y la hipertrofia celular que, en última instancia, incrementan la capacidad como bomba del corazón (Kemi y Wisloff, 2009). La mejora de la contractilidad de los cardiomiocitos está estrechamente regulada por la utilización intracelular de Ca^{2+} y la capacidad celular de flujo de Ca^{2+} hacia y desde los miofilamentos, así como la capacidad de respuesta de éstos al Ca^{2+} . Penpargkul y cols. (1977), encontraron un incremento en la captación y unión del Ca^{2+} debido al entrenamiento, además de un aumento en la actividad del retículo sarcoplásmico, explicado por una relajación más rápida de los corazones. En cuanto al papel del sarcolema, Tibbits y cols. (1981), encontraron cambios importantes en la composición de las membranas celulares aisladas del corazón de ratas sometidas a entrenamiento físico. En comparación con los animales control, el contenido global de fosfolípidos y fosfatidilserina aumentó en el grupo de animales entrenados un 23 y un 50%, respectivamente. Esta observación sugiere un mecanismo por el cual la contractilidad mejora con el entrenamiento físico.

Por último, en cuanto a las modificaciones fonocardiográficas, Roeske y cols. (1976) encontraron la presencia de un tercer y cuarto ruido cardíaco en los deportistas entrenados. El tercer ruido estaba presente en todos los individuos de la muestra utilizada y el cuarto ruido fue registrado en el 56% de los deportistas.

Como ya ha sido recogido en el apartado anterior, el sistema nervioso autónomo juega un papel fundamental en la respuesta del organismo, y más concretamente del sistema cardiovascular, al ejercicio. A continuación profundizaremos con más detalle en la estructura y función del sistema nervioso autónomo, haciendo especial énfasis en el sistema nervioso parasimpático, objeto de estudio del presente trabajo.

1.2.2. El sistema nervioso autónomo (SNA) en el corazón.

1.2.2.1. Generalidades.

Las dos ramas de la inervación autónoma, simpática y parasimpática, trabajan la una frente a la otra de forma opuesta de una manera muy finamente ajustada. La estimulación del sistema nervioso simpático ejerce efectos facilitadores sobre la función cardíaca, aumentando la frecuencia cardíaca y la contractilidad miocárdica, mientras que la estimulación del sistema nervioso parasimpático ejerce un efecto inhibitorio que disminuye la frecuencia cardíaca y la contractilidad. La interacción entre las influencias reguladoras de estas dos ramas del sistema nervioso autónomo es compleja y susceptible de modulación a diferentes niveles, desde los barorreceptores y quimiorreceptores sometidos a control central hasta las interacciones interneuronales locales (Berne y Levy, 2001).

En cuanto a su estructura, ambas ramas del sistema nervioso autónomo están compuestas por neuronas aferentes, eferentes y neuronas de circuito local:

A. *Sistema nervioso aferente cardíaco.* Los cuerpos de las neuronas aferentes cardíacas están localizados principalmente en el lado izquierdo de los ganglios de la raíz dorsal craneal torácica (Armour, 2004). Existen evidencias anatómicas de que las neuronas aferentes cardíacas se distribuyen de manera relativamente uniforme a lo largo del ganglio nodoso y los ganglios de la raíz dorsal, desde la raíz cervical 7 hasta la raíz dorsal 4, bilateralmente (Vance y Bowker, 1983). También están localizadas en los ganglios intratorácicos, incluyendo aquéllos intrínsecos en el propio corazón (Armour y Hopkins, 1990a; 1990b). Sus terminaciones nerviosas están localizadas en el origen de las venas cavas superior e inferior, en el nodo sinusal, la zona dorsal de la aurícula, los tractos de salida de ambos ventrículos y el arco interior de la aorta (Armour, 1973). Estas neuronas aferentes transducen señales de tipo mecánico, señales de tipo químico o ambas, ya que la mayoría de las neuronas aferentes transducen estímulos multimodales, pudiendo detectar alteraciones tanto mecánicas como químicas (Huang y cols., 1996).

B. *Sistema nervioso eferente cardíaco*. En cuanto al sistema nervioso eferente en el corazón, como es bien sabido, las neuronas preganglionares del sistema nervioso autónomo se encuentran extrínsecamente localizadas en el tronco de encéfalo y la médula espinal, mientras que las neuronas postganglionares están principalmente situadas, bien en los troncos simpáticos extrínsecos (neuronas simpáticas) o bien intrínsecamente dentro de los ganglios intramurales cardíacos (neuronas parasimpáticas postganglionares) (Pauza y cols., 2002). Las neuronas simpáticas preganglionares localizadas en la médula espinal, proyectan sus axones desde las raíces dorsales 1 a 5 (Norris y cols., 1977) para hacer sinapsis con las neuronas eferentes postganglionares localizadas en los polos craneales del ganglio estrellado, a lo largo de los ganglios cervicales medio y superior (derecho e izquierdo) del mediastino y los ganglios adyacentes al corazón (Armour, 1991). El control nervioso adrenérgico del cronotropismo, dromotropismo e inotropismo regional depende, en última instancia, de la integración de múltiples *inputs* nerviosos sensoriales locales y centrales dentro del eje nervioso intratorácico. Las neuronas sensoriales intratorácicas juegan un papel clave en esta integración (Armour, 2004). Por otro lado, los cuerpos preganglionares de las neuronas eferentes parasimpáticas que hacen sinapsis con las neuronas eferentes postganglionares en el corazón, están situadas principalmente en la región ventral lateral del núcleo ambiguo del bulbo raquídeo (Mc Allen y Spyker, 1976), mientras que otra pequeña población de neuronas se encuentra también en la zona intermedia entre estos dos núcleos medulares (Hopkins y Armour, 1984). Las neuronas cardíacas preganglionares proyectan sus axones, desde estas zonas, hacia las neuronas eferentes postganglionares distribuidas a través de los principales plexos ganglionares auriculares y ventriculares (Gray y cols., 2004). En la figura 1.5 puede observarse una representación esquemática del origen de la inervación parasimpática y las vías nerviosas que confluyen en el corazón. Cuando se activan, las neuronas motoras parasimpáticas deprimen, no sólo la frecuencia y fuerza de contracción auricular, sino también la conducción en el nodo auriculoventricular y la fuerza de contracción ventricular. Las ramas cardíacas del nervio vago confluyen también con las neuronas simpáticas postganglionares para formar un plexo nervioso en la base del corazón conocido como el plexo nervioso cardíaco (Raffel y Wieland, 2001).

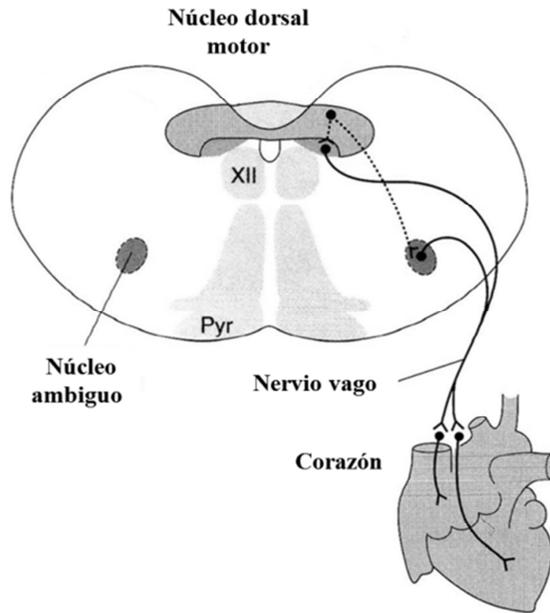


Figura 1.5. Inervación parasimpática del corazón. Modificado de Ganong (2004).

Haces de neuronas simpáticas y parasimpáticas proyectan sus axones desde el plexo cardíaco hacia varias regiones del corazón, incluyendo el nodo sinusal, el nodo auriculoventricular, aurículas y ventrículos. En la siguiente tabla puede verse una breve comparación de las características de las neuronas parasimpáticas y simpáticas cardíacas:

	Neuronas simpáticas	Neuronas parasimpáticas
Neurotransmisor	Noradrenalina (NA)	Acetilcolina (ACh)
Patrón de distribución nerviosa	Difuso	Focal
Densidad en la aurícula	Alta	Moderada
Densidad en los nodos	Alta	Alta
Densidad en el ventrículo	Alta	Baja
Receptores postsinápticos	β -adrenérgicos	muscarínicos
Efectos en la función cardíaca	Facilitadores	Inhibidores

Tabla 1.2. Características de las neuronas autónomas cardíacas. Modificado de Raffel y Wieland (2001).

Desde mediados del siglo pasado, la inervación simpática y parasimpática del corazón se ha estudiado de forma macroscópica con el uso de azul de metileno y técnicas de impregnación en plata (Hirsch y Borhard-Erdle, 1961; Johnston, 1968). Sin embargo, estos métodos no permitían distinguir entre nervios adrenérgicos y colinérgicos, siendo estudiada la inervación cardíaca posteriormente con métodos histoquímicos e inmunohistoquímicos (Kent y cols., 1976; Wharton y cols., 1990). Las

características ultraestructurales de las terminaciones nerviosas en el corazón humano también han sido estudiadas (Dastur y cols., 1989). Se ha demostrado que la inervación autónoma se organiza de forma diferente en las distintas regiones del corazón. Así, estudios realizados con marcadores de la inervación parasimpática como la acetilcolinesterasa, la acetilcolina y la colinacetiltransferasa han evidenciado que la zona con mayor inervación parasimpática es la auricular y, en el ventrículo, mayor en la base que en la zona apical (Shinha y cols., 1979; Slavikova y Tucek, 1982; Loffelhog y Pappano, 1985); además, Kawano y cols. (2003) observaron que existe un mayor número de nervios afines a la acetilcolinesterasa en la zona subendocárdica que en la subepicárdica. Por su parte, en lo referente a los diferentes tejidos miocárdicos, Kent y cols. (1990) relataron la existencia de una mayor inervación colinérgica en el tejido de conducción que en el miocardio de trabajo. En cuanto a los marcadores de la inervación adrenérgica, estudios sobre el contenido de catecolaminas en el corazón han revelado que es mayor en las aurículas que en los ventrículos, en las orejuelas que en el cuerpo auricular y mayor en la base que en el ápex del ventrículo (Angelakos, 1965; Pierpoint y cols., 1984). Por su parte, Kawano y cols. (2003) demostraron la existencia de más nervios afines a la tirosina hidroxilasa en la pared anterior que en la pared posterior del corazón.

C. *Neuronas de circuito local.* Además, existe también una población de neuronas dentro del sistema nervioso intratorácico localizada entre las neuronas aferentes y eferentes, las conocidas como neuronas de circuito local. Estas neuronas pueden proyectar axones hacia neuronas, no sólo dentro de los ganglios en los que están localizadas, sino también en otros ganglios. Estos hallazgos anatómicos indican que las neuronas intratorácicas pueden estar involucradas en una multiplicidad de interacciones en la coordinación regional de la respuesta cardíaca (Armour, 2004). Su presencia permite un intercambio de información entre las neuronas localizadas, no sólo en un ganglio intratorácico (incluyendo aquéllos que son intrínsecos al propio corazón), sino también entre neuronas localizadas en diferentes ganglios intratorácicos (Armour, 1991). Las neuronas del sistema nervioso intrínseco del corazón están constantemente interactuando con aquellas neuronas situadas en los ganglios intratorácicos extracardíacos, así como con neuronas del sistema nervioso

central para regular la respuesta motora del corazón. Algunas neuronas de los circuitos locales intrínsecos incluso reciben *inputs* procedentes de las neuronas eferentes simpáticas y parasimpáticas, indicando que algunas neuronas procesan *inputs* de ambas ramas del sistema nervioso autónomo, y no necesariamente de manera recíproca. Por lo tanto, las alteraciones del medio extracardíaco pueden también influir el sistema nervioso intrínseco de manera indirecta (Armour, 2004).

En cuanto al funcionamiento de este complejo entramado nervioso, algunos autores han propuesto que las neuronas de un plexo ganglionar cardíaco ejercen control únicamente sobre las regiones adyacentes, dando lugar a la teoría del control regional. Así, por ejemplo, las neuronas que pertenecen al plexo ganglionar auricular derecho únicamente ejercen influencia sobre el tejido adyacente del nodo sinusal, mientras que aquéllas presentes en el plexo ganglionar auricular de la vena cava inferior controlan el nodo auriculoventricular (Quan y cols., 1988; Gatti y cols., 1995). Sin embargo, las neuronas pertenecientes a cada uno de los grandes plexos cardíacos pueden ejercer control sobre modificaciones de tipo mecánico o eléctrico en todas las cavidades cardíacas (Yuan y cols., 1993). Este hecho va en la línea de la idea de que las neuronas de cada plexo intracardíaco están en constante comunicación entre sí (Randall y cols., 2003). A este respecto, es importante destacar que se producen distintas respuestas cuando los componentes neuronales de los principales plexos ganglionares se activan mediante la aplicación local de un estímulo eléctrico (Butler y cols., 1990) frente a la activación mediante la aplicación de un estímulo químico (Yuan y cols., 1993). Esto sucede porque los estímulos eléctricos locales activan los cuerpos adyacentes y axones de paso en la zona, mientras que la aplicación de estímulos químicos activa cuerpos neuronales, no axones (Armour, 1991). Por ejemplo, las neuronas colinérgicas del plexo auricular derecho, al ser activadas químicamente, ejercen control sobre el nodo sinusal, nodo auriculoventricular, aurícula izquierda y tejido ventricular (Yuan y cols., 1993; Pagé y cols., 1995). Del mismo modo, las neuronas colinérgicas del plexo ganglionar de la vena cava inferior afectan al nodo auriculoventricular (Gatti y cols., 1995) así como al nodo sinusal, parte de la aurícula izquierda y ambos ventrículos (Yuan y cols., 1993). Con las neuronas adrenérgicas sucede de manera similar (Yuan y cols., 1993; Esler y cols., 1997).

Armour (2004) propuso un modelo hipotético de la jerarquía nerviosa cardíaca que trata de explicar el funcionamiento de este complejo entramado nervioso (figura 1.6, p. 36). La información que es conducida por vía aferente, procedente del corazón y de los grandes vasos, inicia una serie de respuestas reflejas centrales y periféricas que controlan las neuronas motoras cardíacas (vía eferente). Dicho control puede resolverse en dos cuestiones básicas: 1) cómo las neuronas aferentes transducen la información sobre su entorno directa o indirectamente a las neuronas motoras cardíacas y 2) el tipo y escala temporal (latencia de los reflejos) de la información que es enviada a las neuronas motoras. Las propiedades de corto alcance de las neuronas mecanosensitivas cardíacas de respuesta rápida generan reflejos de corta latencia que ejercen influencia rápidamente sobre poblaciones seleccionadas de neuronas motoras. Su relativamente corta distancia a la primera sinapsis permite una activación diferencial de las neuronas cardíacas motoras durante fases específicas del ciclo cardíaco (Armour, 1976) para ejercer una coordinación de la frecuencia cardíaca y la contractilidad regional latido a latido (Armour y cols., 1970). Estos reflejos mecanosensitivos de ciclo corto están sometidos a control nervioso central (Armour, 1991). Por otro lado, existen poblaciones de neuronas aferentes que transducen el entorno químico cardíaco hacia neuronas intratorácicas y de centros superiores de integración, llevando a cabo esta tarea a través de respuestas más lentas, que son reflejo de un entorno químico que cambia normalmente de forma más lenta (Kember y cols., 2001).

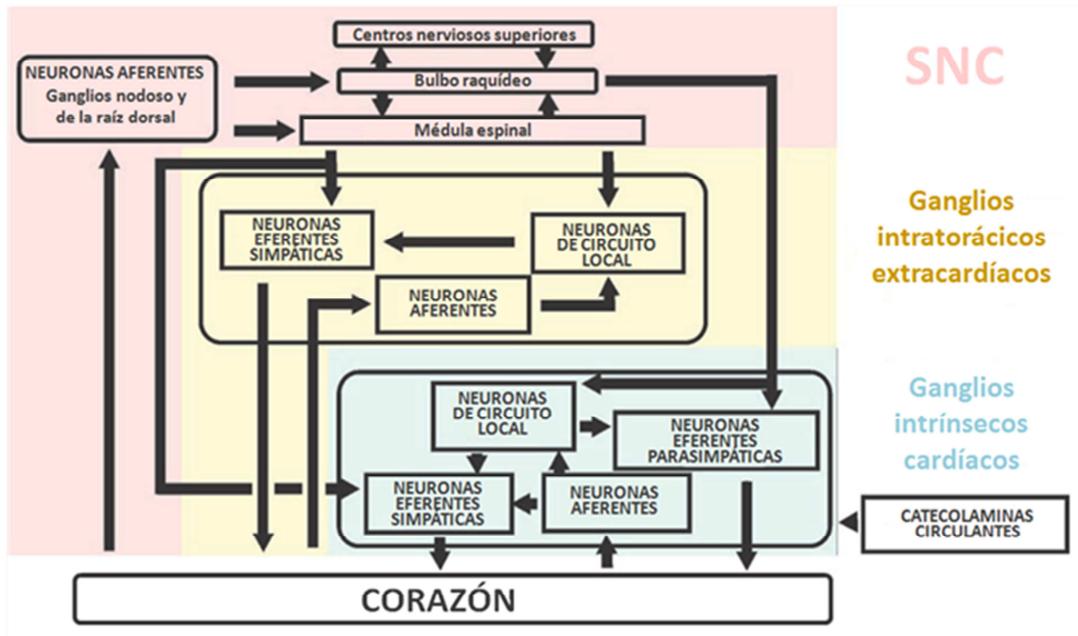


Figura 1.6. Modelo hipotético de la jerarquía nerviosa cardíaca. La información sensorial es transducida por las neuronas aferentes, situadas en los ganglios intratorácicos intrínsecos y extrínsecos, a través de neuronas de circuito local hasta las neuronas eferentes. La información sensorial cardíaca es también llevada a los centros nerviosos superiores para producir respuestas de bucle largo. Las catecolaminas circulantes ejercen efectos directos sobre el sistema nervioso intrínseco cardíaco. Modificado de Armour (2004).

1.2.2.2. El sistema nervioso extrínseco.

1.2.2.2.1. Inervación parasimpática.

La inervación eferente parasimpática cardíaca procede del nervio vago derecho e izquierdo, que se origina en el bulbo raquídeo. El nervio vago se divide entonces en el nervio vago cardíaco superior e inferior, confluyendo finalmente con las neuronas simpáticas postganglionares para formar un plexo nervioso en la base del corazón. Las fibras parasimpáticas cruzan el surco auriculoventricular a lo largo de la superficie del corazón y se sumergen a través de la pared ventricular hacia el subendocardio antes de proyectar sus axones terminales intramuralmente (Berne y Levy, 2001). Las neuronas parasimpáticas están distribuidas de una forma mucho más heterogénea a lo largo de todo el corazón que las neuronas simpáticas. La densidad de la inervación parasimpática es considerablemente mayor en los nodos sinusal (SA) y auriculoventricular (AV) que en el tejido auricular circundante o en el tejido ventricular. La inervación ventricular es escasa,

existiendo una reducida densidad de neuronas postganglionares intraventriculares (Napolitano y cols., 1965), mientras que las fibras parasimpáticas en la aurícula se encuentran localizadas en pequeños acúmulos de grasa, principalmente en las zonas superior y posterior de la aurícula (Vaseghi y Shivkumar, 2008).

1.2.2.2.2. Inervación simpática.

La inervación simpática intratorácica del corazón tiene su origen principalmente en los ganglios estrellados derecho e izquierdo, desde donde parten las fibras postganglionares y viajan a lo largo de las estructuras vasculares epicárdicas del corazón hasta penetrar en el miocardio, acabando en terminaciones nerviosas que alcanzan el endocardio. James y cols. (1986) describieron la anatomía de las proyecciones nerviosas cardíacas en el corazón humano. El nervio estrellado cardiopulmonar derecho, que parte del ganglio estrellado derecho, discurre a través del plexo nervioso dorsal hacia el nervio cardiopulmonar lateral izquierdo y se proyecta en la pared lateral del ventrículo izquierdo. Los nervios cardiopulmonares medial y lateral, desde los ganglios cervicales centrales, forman el nervio coronario izquierdo que bordea la arteria coronaria izquierda principal. Los nervios cardiopulmonares dorsales izquierdos se unen con los nervios cardiopulmonares derechos para formar el plexo dorsal y el nervio coronario izquierdo; también existe una conexión entre el plexo dorsal y el nervio coronario derecho. No obstante, ninguna de las proyecciones nerviosas simpáticas ejercen influencia exclusivamente en un determinado territorio cardíaco, aunque la inervación postganglionar de la región anterior del ventrículo izquierdo parece estar principalmente regulada por las fibras nerviosas procedentes del ganglio simpático derecho y la inervación simpática postganglionar de la pared posterobasal, del ganglio estrellado derecho (Schlack y Thämer, 1996).

Las neuronas simpáticas se distribuyen de una forma relativamente uniforme por todo el corazón. La concentración de noradrenalina en la aurícula y los nodos SA y AV es similar y aproximadamente unas tres veces mayor que en el ventrículo (Berne y Levy, 2001). En los ventrículos, haces de neuronas simpáticas discurren cerca de los vasos coronarios en el territorio subepicárdico, proyectando en última instancia sus axones

terminales que penetran intramuralmente entre las células cardíacas (Raffel y Wieland, 2001). A lo largo de los axones terminales se encuentran una serie de varicosidades de aproximadamente 1 a 3 μm de diámetro y hasta 4 μm de longitud (Gabella, 1995). La mayoría de las vesículas que almacenan noradrenalina en los axones terminales se concentran en estas varicosidades.

1.2.2.3. El sistema nervioso intrínseco.

1.2.2.3.1. Consideraciones anatómicas y funcionales.

El sistema nervioso intrínseco cardíaco puede definirse como aquél que permanece en el corazón después de una denervación extrínseca total (Napolitano y cols., 1965). Como es bien sabido, el corazón posee un plexo nervioso que le proporciona una inervación básica propia, formado por los elementos neuronales que sobreviven a la denervación quirúrgica del corazón. Este plexo cardíaco está constituido por células nerviosas autónomas sensitivas, eferentes e interneuronas. Todos los cuerpos celulares de este complejo sistema nervioso intrínseco están localizados en los ganglios intramurales.

La inervación intrínseca del corazón ha sido estudiada desde los años 70. Inicialmente, se pensaba que el sistema nervioso intrínseco cardíaco estaba formado únicamente por neuronas parasimpáticas postganglionares y sus axones, además de células cromafines intramiocárdicas. Posteriores investigaciones han demostrado la existencia de un complejo sistema nervioso intracardíaco en el corazón de diversas especies de mamíferos como el conejo (Papka, 1976), la rata (Pardini y cols., 1987), la cobaya (Hassal y Burnstock, 1986), el perro (Yuan y cols., 1994), el ser humano (Armour y cols., 1997), el gato (Johnson y cols., 2004), la oveja (Saburkina y cols., 2010) y el ratón (Rysevaite y cols., 2011a; 2011b).

El número de ganglios que han sido caracterizados en el corazón varía en función de la especie analizada, pudiendo encontrarse desde 4 plexos ganglionares en la rata (Pardini y cols., 1987) hasta 10 en el corazón humano (Armour y cols., 1997). Cada uno de los ganglios que constituye dichos plexos está formado por agrupaciones de neuronas

(variables en cuanto a su número y morfología) y circuitos neuronales, localizados tanto en la grasa epicárdica en la base de la aurícula, en el septo interauricular y las zonas craneales de los ventrículos, como en la zona intramural del corazón (Yuan y cols., 1994; Armour y cols., 1997; Pauza y cols., 2000). Estos ganglios contienen neuronas morfológicamente distintas, incluyendo aquéllas de tipo mono, bi y multipolar (Yuan y cols., 1994; Armour y cols., 1997). Pauza y cols. (2002) llevaron a cabo un estudio comparativo para determinar el número y la morfología de los ganglios intracardíacos de la rata, la cobaya, el perro y el ser humano. Identificaron 2 tipos de ganglios en cuanto a su forma, los globulares y los planos, independientemente de la especie. Los primeros podrían ser considerados como característicos del tejido cardíaco, ya que este tipo de ganglios no ha sido identificado en otros órganos. En cuanto a su tamaño, algunos ganglios ocupaban más de 1 mm² y estaban formados por más de 2000 neuronas. Respecto a las diferencias entre especies en cuanto a la morfología de los ganglios, los ganglios cardíacos del perro son los más grandes y complejos en cuanto a forma; no obstante, en la rata pueden encontrarse algunos ganglios bastante complejos y de gran tamaño en la base del corazón. No encontraron diferencias entre especies en cuanto al diámetro del cuerpo neuronal.

Esta complejidad anatómica es también consistente con estudios fisiológicos que han demostrado la diversidad funcional de las neuronas intrínsecas cardíacas (Smith, 1999). En relación con esta diversidad funcional, en los ganglios cardíacos pueden encontrarse, dependiendo de la especie, diferentes tipos de neuronas intracardíacas como neuronas postganglionares simpáticas y parasimpáticas, neuronas sensoriales e interneuronas (figura. 1.7). Estas neuronas sintetizan diferentes neuro-transmisores: además de acetilcolina, algunas neuronas poseen enzimas para la biosíntesis de monoaminas, también se han encontrado poblaciones de células que sintetizan dopamina, serotonina, adrenalina y noradrenalina (Slavikova y cols., 2003), enzimas para la síntesis de histamina (Singh y cols., 1999), además de varios neuropéptidos como el neuropéptido Y o el polipéptido intestinal vasoactivo (Steele y cols., 1994; Slavikova, 1997). También se han identificado neuronas inmunoreactivas a la óxido nítrico sintasa (Tanaka y cols., 2001). Como puede observarse, esta diversidad química en las neuronas intracardíacas podría reflejar una especialización funcional de las mismas (Richardson y cols., 2003).

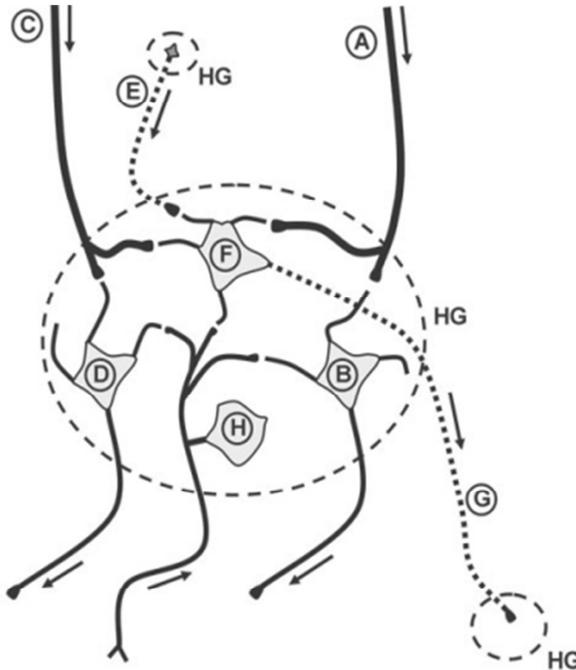


Figura 1.7. Esquema simplificado de las neuronas en los ganglios cardíacos y sus proyecciones. Las flechas indican la dirección de la transmisión de la señal. A-B neuronas parasimpáticas preganglionares y postganglionares; C-D neuronas simpáticas preganglionares y postganglionares; E axón de neurona localizada en otro ganglio cardíaco; F circuitos locales; G axón inervando otro ganglio cardíaco; H neurona sensorial intracardíaca; HG ganglio cardíaco (Kukanova y Mravec, 2006).

Las neuronas intracardíacas pueden mostrar una actividad espontánea que es modulada por las neuronas extracardíacas y que también está influida por el entorno local cardiovascular gracias a la información proporcionada por una serie de mecanorreceptores y quimiorreceptores de las propias neuronas intracardíacas (Arora y cols., 2001). Los circuitos del sistema nervioso intracardíaco permiten modular la actividad del corazón también en condiciones en las que la influencia del control nervioso extracardíaco se suprime, como en el caso del corazón transplantado (Armour, 1999).

1.2.2.3.2. Naturaleza autónoma del sistema nervioso intrínseco.

Actualmente, todavía existe una considerable incertidumbre en lo que respecta a la función fisiológica del sistema nervioso intracardíaco. Debido a que la inervación simpática del corazón tiene su origen en neuronas postganglionares procedentes de los ganglios intratorácicos, se ha postulado que los ganglios intracardíacos son de naturaleza parasimpática. Aunque se sabe que en el corazón existe una rica inervación eferente parasimpática localizada principalmente en la aurícula, inicialmente se pensaba que ésta no se extendía hasta los ventrículos o tenía poca importancia (Randall y cols., 1991). Investigaciones realizadas durante las 3 últimas décadas han demostrado que las

neuronas parasimpáticas postganglionares contenidas en pequeños acúmulos de grasa en la superficie de todo el corazón median ciertos aspectos de la función cardíaca (Chiou y cols., 1997). Por ejemplo, las células ganglionares localizadas en el ganglio sinoauricular (en la zona de la vena pulmonar derecha próximas a la unión de la aurícula derecha con la vena cava superior) median un efecto cronotrópico negativo mientras que el ganglio auriculoventricular, localizado en la unión entre el límite inferior de la aurícula izquierda y la vena cava inferior, media un potente efecto dromotrópico negativo (Gatti y cols., 1996). Posteriormente se demostró la existencia de una inervación vagal de los ventrículos, que estaba constituida principalmente por axones colinérgicos con un origen supraventricular en el ventrículo derecho y por ganglios parasimpáticos intracardiácos en el ventrículo izquierdo (Blomqvist, 1987). Estudios más recientes han documentado la presencia de múltiples ganglios intraventriculares responsables de cambios en la función cardíaca. Así, por ejemplo, el ganglio del septo interventricular (IVS) constituye la principal fuente de inervación del ventrículo derecho e izquierdo y ejerce una influencia parasimpática sobre ambas zonas (Johnson y cols., 2004) mientras que el ganglio craneoventricular (CV) disminuye selectivamente la contractilidad sin afectar la frecuencia cardíaca ni la conducción en el ventrículo izquierdo (Dickerson y cols., 1998). Existe también un segundo ganglio ventricular (LV2), pero su influencia sobre la función cardíaca y más concretamente sobre el ventrículo izquierdo, no es tan conocida (Johnson y cols., 2004).

Dentro de este complejo sistema neuronal intracardiaco se encuentran, además, una pequeña población de células cromafines, cuya presencia en el corazón fue descrita ya en los años 1930. Estas células son diferentes al resto de células que forman los ganglios cardíacos y su verdadera función se desconoce. Por una parte, Jacobowitz (1967) propuso que representan un *pool* extraneuronal de catecolaminas que puede estar influido por la inervación colinérgica procedente de las células ganglionares simpáticas, localizadas junto a éstas. Además, estas células catecolaminérgicas podrían ejercer una influencia paracrina liberando sus catecolaminas, que inhibirían la transmisión gangliónica. Sin embargo, Ellison y Hibbs (1974) fueron incapaces de demostrar las comunicaciones necesarias para postular dicho proceso de retroalimentación negativo. Estudios posteriores demostraron

que las células cromafines intracardíacas no parecen ejercer ninguna contribución funcional al control del corazón (Priola y cols., 1978).

Recientemente, Huang y cols. (1996) documentaron por primera vez la presencia de agrupaciones de células cardíacas adrenérgicas, diferentes a las anteriores, que denominaron células adrenérgicas intrínsecas cardíacas o células ICA, en el corazón de la rata y en el de embrión humano. Estas células carecen de los característicos elementos axonales y pueden sintetizar y liberar catecolaminas en ausencia de inervación. Estructuralmente son diferentes de las densamente granuladas células adrenales de la médula, que se encuentran inervadas por terminaciones nerviosas simpáticas nicotínicas-colinérgicas, estando la liberación de adrenalina de la médula adrenal bajo control nervioso. Por contra, las células ICA no requieren inervación para liberar catecolaminas. En cuanto a la función exacta de estas células, se ha especulado con que juegan un papel esencial durante la ontogénesis del individuo, ya que han sido identificadas en el miocardio de embriones humanos (Dail y cols., 1973), antes de que la inervación simpática tenga lugar. Esta función de las catecolaminas en el desarrollo fetal ha sido subrayada por el descubrimiento de que, en ratones con una interrupción selectiva de los genes que sintetizan catecolaminas, se produce una muerte prematura en el útero debido a una insuficiencia cardíaca, antes de la etapa del desarrollo en la que se produce la inervación simpática cardíaca (Zhou y cols., 1995). Se desconoce si este tipo de células podría tener alguna implicación para la regulación de la función cardíaca en etapas posteriores, pero diversos estudios las han relacionado con la regulación de la frecuencia cardíaca, la conducción y la presión arterial (Huang y cols., 1996; Palmiter 1996). Posteriormente, Huang y cols. (2005) demostraron que las células ICA son capaces de la síntesis, liberación y absorción de catecolaminas, así como de la generación espontánea de corrientes transitorias de calcio regulados por la tensión de oxígeno. La inhibición de estas células frente al descenso en la concentración de oxígeno las distingue de las células cromafines, que se activan durante a la hipoxia.

En el caso del corazón de conejo, son escasos los estudios llevados a cabo tanto sobre la anatomía del sistema nervioso intrínseco como sobre aspectos más relacionados con su funcionamiento. Papka (1976) describió la ultraestructura de los ganglios cardíacos en conejos pre y post natales en un intento de proporcionar información sobre la

ontogénesis de la inervación autónoma del corazón. En el conejo, las células nerviosas parasimpáticas eran los tipos de células predominantes en los ganglios intracardíacos. En contacto con las neuronas parasimpáticas postganglionares se encontraron dos tipos de neuronas: 1) pequeñas vesículas (40-60 nm) similares a las descritas por Richardson (1964) como sinapsis colinérgicas y 2) vesículas de tamaños variables entre 40-60 y 80-100 nm correspondientes a terminales adrenérgicas. Dichas terminales adrenérgicas se han descrito asociadas con neuronas colinérgicas en varios ganglios parasimpáticos y su función podría estar relacionada directa o indirectamente con el fenómeno inhibitorio en los ganglios cardíacos, tal y como sucede en los ganglios intestinales (Norberg y Sjoqvist, 1966). En el estudio de Papka no se determinó el origen de los axones adrenérgicos en los ganglios cardíacos. Sin embargo, puesto que no se encontraron cuerpos celulares en los ganglios, el mismo autor sugiere que podría asumirse un origen extraganglionar de dichos axones.

Como puede observarse, los resultados recogidos por diversas investigaciones durante las últimas 4 décadas han demostrado que el sistema nervioso intrínseco cardíaco no es solamente una "estación de relé" de las eferencias simpáticas y parasimpáticas en el corazón, sino que es capaz de actuar de forma autónoma y está involucrado en la intrincada jerarquía de la regulación nerviosa del corazón (figura 1.6, p. 36). De este modo, dentro del sistema nervioso intracardíaco se produce una gran cantidad de actividad nerviosa que implica tanto a neuronas aferentes e interneuronas que conectan los plexos ganglionares, como a neuronas eferentes, principalmente parasimpáticas, y circuitos neuronales locales. No obstante, el papel exacto de este sistema nervioso intracardíaco sobre la mecánica y función del corazón se desconoce.

1.2.2.4. Efectos del sistema nervioso autónomo en el corazón.

1.2.2.4.1. Efectos de la estimulación parasimpática.

La acetilcolina (ACh), principal neurotransmisor del sistema nervioso parasimpático, se sintetiza gracias al transporte de colina al citosol de la terminación nerviosa a través de un transportador con gran afinidad por la colina y la acetilación por la colinacetiltransferasa (Zipes e Inoue, 1988). La ACh se almacena en las vesículas y es liberada cuando se produce la estimulación parasimpática, activando principalmente receptores nicotínicos preganglionares y muscarínicos postsinápticos (Kubo y cols., 1986). Sus efectos terminan por la rápida degradación que realizan las acetilcolinesterasas (Hall, 1973).

En el proceso de la estimulación parasimpática nos encontramos con una serie de elementos imprescindibles como son: 1) un primer mensajero extracelular, la ACh, 2) un receptor, en este caso muscarínico y 3) un sistema de señalización intracelular, el sistema de la proteína G. En el tejido cardíaco, en respuesta a la ocupación del receptor muscarínico (principalmente del tipo M_2) por la acetilcolina, se activa la proteína G-inhibidora, formada por las subunidades α - β - γ , lo que resulta en (figura 1.8):

- La activación de canales de potasio dependientes de ACh ($I_{K_{ACh}}$). La activación de estos canales provoca una hiperpolarización del potencial de reposo, lo que ralentiza la frecuencia cardíaca y la conducción en el nodo auriculoventricular.
- Una inhibición de la adenilato ciclasa por acción de la GTP-asa, lo que provoca una menor disponibilidad de AMPc, disminuyendo la frecuencia cardíaca y la contractilidad.

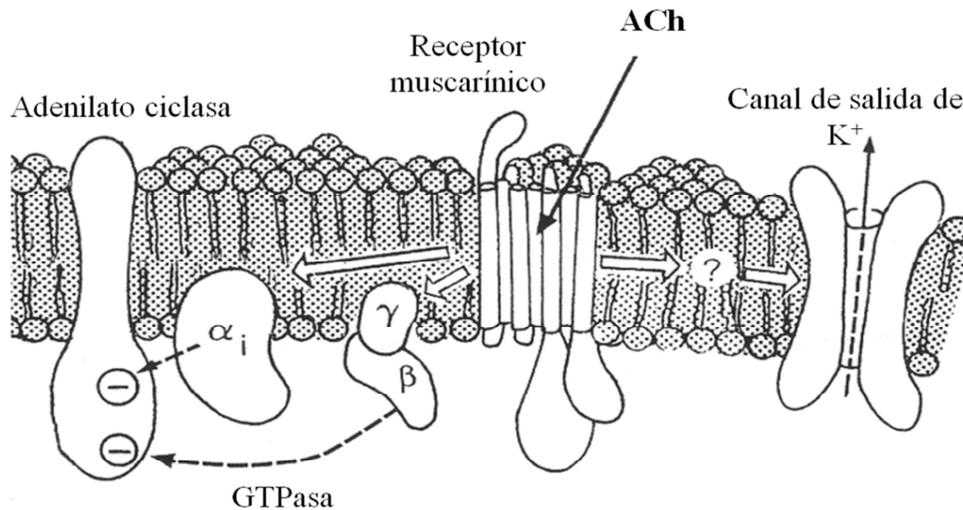


Figura 1.8. Mecanismos de la estimulación parasimpática. Modificado de Opie (2004).

Estos dos efectores provocan una respuesta global cronotrópica, dromotrópica e inotrópica negativa (figura 1.9). En apartados posteriores se explicará con más detalle los mecanismos que subyacen a los efectos de la estimulación parasimpática sobre el automatismo, la conducción y la refractariedad.

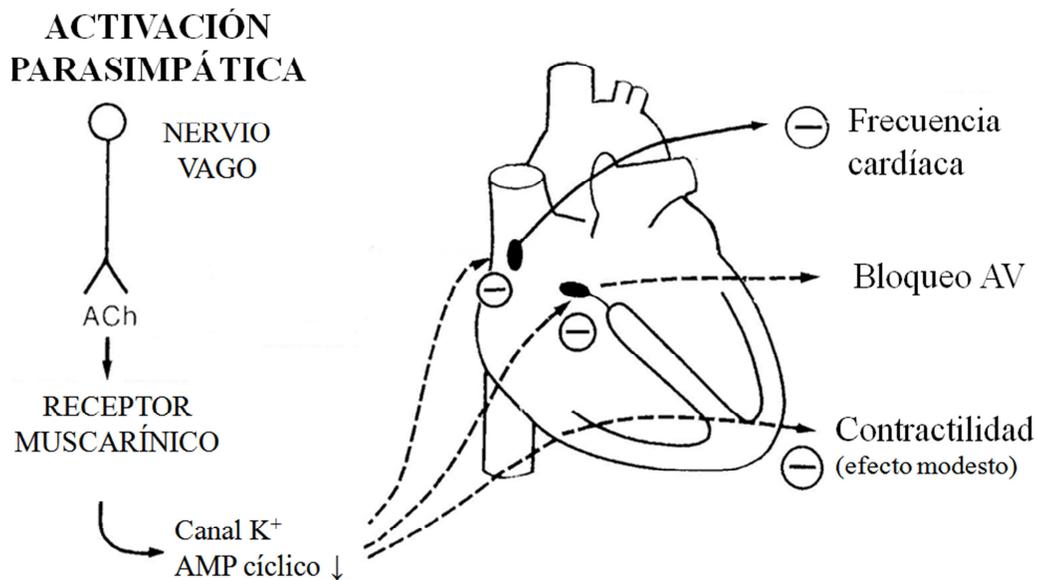


Figura 1.9. Efecto de la estimulación nerviosa parasimpática en el corazón. Actuando a través de los receptores muscarínicos, tiene un efecto inhibitorio en el corazón. La principal zona de acción del control parasimpático parece ser el nodo SA, a través del cual se produce una disminución de la frecuencia cardíaca. Otros efectos parasimpáticos incluyen la inhibición del nodo AV y un discreto efecto sobre la contractilidad. En atletas entrenados la actividad parasimpática aumenta, lo que produce una disminución de la frecuencia cardíaca basal. Además, en algunos atletas pueden producirse bloqueos en la conducción del impulso desde el nodo SA hacia los ventrículos (bloqueo auriculoventricular). Modificado de Opie (2004).

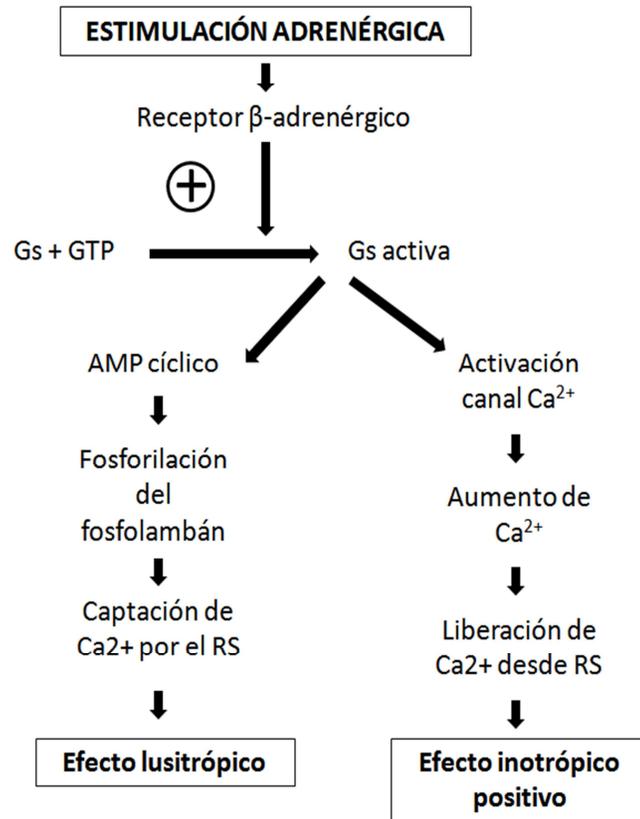
1.2.2.4.2. Efectos de la estimulación simpática.

El principal neurotransmisor que media la respuesta nerviosa simpática es la noradrenalina (NA). A lo largo de los axones terminales existen una serie de varicosidades, que miden alrededor de 1 a 3 μm y de hasta 4 μm de longitud. La mayoría de las vesículas que almacenan NA en los axones terminales se encuentran concentradas en estas varicosidades. Cada una de ellas actúa como un lugar especializado de almacenamiento y liberación de NA (Gabella, 1995). La síntesis de NA se realiza a partir de la tirosina, que es convertida enzimáticamente en dihidroxifenilalanina y después en dopamina. La dopamina es entonces transportada a las vesículas mediante transporte activo y transformada en NA por la enzima B-hidroxilasa. La estimulación nerviosa lleva a la liberación de NA a través de la fusión de las vesículas con la membrana nerviosa. Además de la estimulación nerviosa, la liberación está también regulada por un sistema de receptor presináptico, que incluye a los receptores adrenérgicos α_2 , y proporciona un sistema de retroalimentación negativa sobre la exocitosis (Francis, 1988).

Existen dos tipos principales de receptores definidos por la naturaleza específica de las reacciones vasculares evocadas por la acción de las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina). Los receptores que tienen un efecto estimulador sobre la función cardíaca son los receptores β -adrenérgicos (β_1). Por otro lado, los receptores que afectan al tono de las arteriolas son los receptores α -adrenérgicos y los β -adrenérgicos (β_2).

La NA liberada se une al receptor β_1 -adrenérgico, activándose la proteína G estimulante (G_s), que estimula la actividad de la adenilato ciclasa. El resultado es la conversión del adenosín trifosfato (ATP) en AMP cíclico (AMPC), que a su vez promueve la entrada de calcio en el miocito gracias a la apertura de los canales de calcio. A continuación se produce una mayor liberación del calcio almacenado en el retículo sarcoplásmico, de modo que aumenta el calcio en el citosol a medida que lo hace la fuerza de contracción (figura 1.10).

Figura 1.10. Esquema del mecanismo de acción de la estimulación β -adrenérgica. Existe un efecto calcio-dependiente en el incremento de la contractilidad (efecto inotrópico positivo) y un efecto dependiente del fosfolambán en el aumento de la tasa de relajación (efecto lusitrópico). Gs = proteína G estimulante; RS = retículo sarcoplásmico. Modificado de Opie (2004).



El efecto global de la estimulación β -adrenérgica es un efecto facilitador de la función cardíaca, e incluye (Opie, 2004):

- Un efecto cronotrópico positivo mediante un incremento de la frecuencia cardíaca.
- Un efecto dromotrópico positivo al incrementar la velocidad de conducción del impulso a través del nodo auriculoventricular, haz de His y la red de Purkinje.
- Un efecto inotrópico positivo, es decir, incrementa la contractilidad en el miocardio de trabajo.
- Un efecto relajante o lusitrópico.

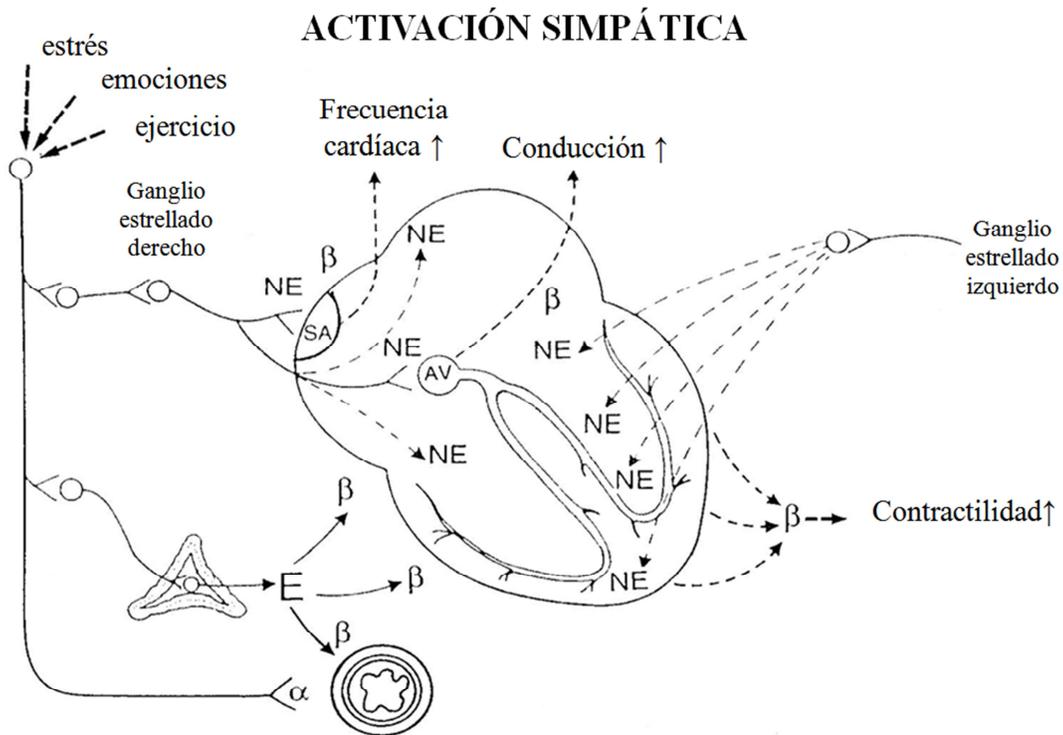


Figura 1.11. Mecanismos de la estimulación simpática, que actúa a través de 1) la acción de neuronas simpáticas postganglionares que parten del ganglio estrellado derecho, aumentando la liberación de NA en las zonas de nodo SA y AV; 2) neuronas simpáticas postganglionares procedentes del ganglio estrellado izquierdo, que incrementan la liberación de NA en el ventrículo izquierdo; y 3) la medula adrenal, que libera adrenalina a través del torrente sanguíneo a todas las zonas del corazón. Los receptores implicados son los β -adrenérgicos y como consecuencia se produce un aumento de la frecuencia cardíaca y la conducción del impulso eléctrico a través del nodo AV y el sistema de conducción, así como un aumento de la fuerza de contracción. Modificado de Opie (2004).

En la tabla 1.3 podemos ver, a modo de resumen, los efectos opuestos de la estimulación adrenérgica y colinérgica en sistema cardiovascular.

	β -adrenérgica	α -adrenérgica	Colinérgica
Corazón			
Nodo SA	+	0	-
Nodo AV	+	0	-
Sist. His-Purkinje	+	0	-
Contracción	+	0, +	0, -
Arteriolas coron.	Dilatación	Constricción	Dilatación

Tabla 1.3. Efectos de la estimulación de los diferentes tipos de receptores para explicar los efectos opuestos de la estimulación adrenérgica simpática y la estimulación colinérgica parasimpática en el sistema cardiovascular (modificado de Opie, 2004). 0 = no efecto; + = efecto facilitador; - = efecto inhibidor.

1.2.2.4.3. Efectos de otros neurotransmisores.

Existen una serie de factores humorales que son capaces de modificar tanto la frecuencia cardíaca como la contractilidad, la microcirculación, el flujo coronario, la precarga y la postcarga. Actualmente se conocen más de 20 componentes activos que median o modulan la transmisión interneuronal en el control de estos parámetros, siendo la mayoría de ellos neuropéptidos (Nozdrachev y cols., 2005). Entre los principales péptidos que pueden modificar la función cardíaca, podemos encontrar:

- Neuropéptido Y. Este péptido está muy extendido en el sistema nervioso simpático y, junto con la NA, está contenido en los terminales simpáticos de las neuronas postganglionares que inervan el sistema cardiovascular. El neuropéptido Y modula la transmisión sináptica de dos maneras diferentes: primero, a través de una inhibición presináptica de liberación de NA en respuesta a la estimulación simpática y, segundo, a través de la potenciación del efecto postsináptico de la NA. Se piensa que el neuropéptido Y liberado de las terminales simpáticas bajo una condición de intensa estimulación simpática causa una inhibición del tono vagal. No obstante, el efecto del neuropéptido Y varía en función de las especies y el modelo experimental utilizado. Por ejemplo, en la cobaya produce un incremento en la frecuencia cardíaca mientras que en corazón aislado de rata produce un descenso de la misma (Nozdrachev y cols., 2005). En los humanos existen evidencias de que produce un efecto vasoconstrictor en la circulación coronaria (Franco-Cereceda y cols., 1987).
- Péptido intestinal vasoactivo (PIV), localizado en los vasos coronarios y en el nodo SA (Rigel y Lathrop, 1990; Shan, 1996), actúa como vasodilatador y ejerce un efecto cronotrópico e inotrópico positivo. Se ha observado este efecto en varias especies, incluyendo al ser humano (Said y Mutt, 1970; Franco-Cereceda y cols., 1987), en el que los receptores del VIP están asociados con la adenilato ciclasa y se encuentran localizados tanto en aurícula como en los ventrículos (Taton y cols., 1982).

- El péptido relacionado con el gen de la calcitonina (PRGC) está localizado en las neuronas sensoriales y, en el corazón, se encuentra frecuentemente junto con las taquiquininas, como la sustancia P. Existe una mayor concentración de este péptido en las aurículas, principalmente en la zona de los nodos (Saito y cols., 1986) y en las arterias coronarias (Bell y McDermott, 1996). El PRGC ejerce un efecto cronotrópico e inotrópico positivo en humanos y la mayoría de mamíferos. No obstante, en el caso del perro este péptido actúa como neuromodulador y carece del efecto directo cronotrópico negativo (Bell y McDermott, 1996).
- La sustancia P, como ya se ha mencionado anteriormente, es un péptido que se encuentra dentro del tipo de las taquiquininas. Se encuentra normalmente en las fibras sensoriales, donde se produce junto con el PRGC (Lundberg, 1996). Se han encontrado fibras inmunorreactivas a la sustancia P principalmente en los nodos de la mayoría de mamíferos (Steele y Choate, 1994). La sustancia P es un vasodilatador coronario y, aunque no se ha observado un efecto directo sobre la frecuencia cardíaca en la mayoría de estudios *in vitro* (Corr, 1992), debido a su localización y asociación con el PRGC se le ha implicado en la modulación de la actividad del nodo SA.
- La angiotensina II. Es un péptido que puede afectar a varios órganos y está implicado en la regulación de la presión y el flujo sanguíneos. Además de los clásicos efectos sobre el sistema endocrino, la angiotensina II ejerce unos efectos autocrinos y paracrinos en los órganos y tejidos que son capaces de producirla. La enzima convertidora de angiotensina se produce en cantidades apreciables en el nodo SA, sugiriéndose una síntesis local de angiotensina II (Saito y cols., 1987). La angiotensina II facilita la liberación de catecolaminas desde los terminales simpáticos y disminuye el tono vagal a través de mecanismos centrales. La angiotensina II ejerce un efecto cronotrópico e inotrópico positivo en el corazón aislado de caballo (Kobayashi y cols., 1978). Además, la angiotensina II tiene un efecto cronotrópico positivo al ser inyectada en la arteria del nodo SA (Lambert y cols., 1991). Estos efectos sobre la

frecuencia cardíaca son independientes del sistema adrenérgico y están mediados por los receptores AT₁.

- Péptidos natriuréticos. En 1981 se descubrió que la aurícula produce una sustancia vasodilatadora que se denominó péptido auricular natriurético (PAN) (de Bold y cols., 1981). El PAN es almacenado y liberado por las vesículas secretoras contenidas en los miocitos auriculares y las células sinoauriculares (Cantin y cols., 1989). Se cree que el PAN suprime la actividad del sistema nervioso simpático y potencia los efectos del sistema nervioso parasimpático (Sasaki y cols., 1986). Por su mecanismo de acción, el PAN es un antagonista de los receptores α_1 -adrenérgicos y ejerce un efecto cronotrópico negativo regulando la actividad de los canales de calcio en el corazón (Atchinson y Ackermann, 1993). Además de éste, existen otros dos tipos de péptido natriurético: 1) El péptido natriurético cerebral, que fue identificado en 1988 en el cerebro de cerdo y se demostró que también se producía en el corazón, concretamente en células secretoras auriculares y del tejido de conducción de los ventrículos (Gisbert y Fischmeister, 1988) y 2) el péptido natriurético de tipo C, descubierto en 1990 (Sudoh y cols., 1990), localizado en el endotelio vascular. De este último se piensa que juega un papel fundamental en la regulación del tono vascular y tiene otras funciones autocrinas o paracrinas. En cuanto a su efecto sobre la frecuencia cardíaca, ejerce un efecto cronotrópico e inotrópico positivo *in vitro* incrementando la actividad de los canales de calcio (Hansson y Forsgreen, 1995).
- Por último encontramos la endotelina, que incluye las endotelinas 1, 2 y 3, sustancias biológicamente activas en varios tejidos del organismo (entre ellos, el corazón) y que son producidas por el endotelio. Estos péptidos son vasoconstrictores y modulan el tono vascular. Se ha demostrado que la endotelina 1 ejerce un efecto cronotrópico e inotrópico positivo en la aurícula derecha del corazón aislado de cobaya (García y cols., 1990).

Tras haber visto la estructura del sistema nervioso autónomo en el corazón y cómo este sistema, a través de sus ramas simpática y parasimpática, puede regular la función del sistema cardiovascular, se presenta a continuación una explicación de las principales propiedades electrofisiológicas cardíacas objeto de estudio en este trabajo (automatismo, conducción y refractariedad), así como su modificación por la acción del sistema nervioso autónomo, haciendo especial hincapié en los efectos del sistema nervioso parasimpático.

1.2.3. Electrofisiología celular miocárdica: aspectos fundamentales de la activación eléctrica cardíaca.

En el corazón existen ciertos mecanismos especiales que determinan el ritmo y la transmisión de los potenciales de acción por todo el músculo cardíaco para producir el latido rítmico del corazón.

Así, el corazón está compuesto por tres tipos principales de miocardio: músculo auricular, músculo ventricular y las fibras musculares excitadoras y conductoras especializadas. Los tipos de músculo auricular y ventricular se contraen en gran medida de la misma manera que el músculo esquelético, con la diferencia de que la duración de la contracción es mucho mayor. Por el contrario, las fibras excitadoras y conductoras especializadas se contraen sólo débilmente debido a que contienen pocas fibrillas contráctiles; en lugar de ello, muestran ritmo y diversas velocidades de conducción, proporcionando un sistema de estimulación cardíaca que controla el latido rítmico.

Algunas células cardíacas tienen la capacidad de autoexcitación, un proceso que puede causar una descarga y una contracción rítmica automática. Dentro de este grupo de células encontramos fundamentalmente las células que forman el sistema especializado de conducción del corazón. La estructura de este sistema que muestra la mayor capacidad de autoexcitación es la formada por las células del nodo sinusal y por esta razón el nodo sinusal controla, en condiciones fisiológicas, el latido del corazón.

Este sistema electrogénico especializado, genera impulsos que producen la contracción rítmica de músculo cardíaco y conducen estos impulsos con rapidez por todo el miocardio. Cuando este sistema funciona normalmente, las aurículas se contraen aproximadamente un sexto de segundo antes que los ventrículos, lo que permite su contribución al llenado de los ventrículos antes de que bombeen la sangre a los pulmones y a la circulación periférica. Otro aspecto importante del sistema es que permite que todas las zonas de los ventrículos se contraigan casi simultáneamente, lo que resulta esencial para una generación eficaz de presión en las cavidades ventriculares.

El sistema especializado de autoexcitación y conducción del corazón, que controla las contracciones cardíacas está formado por (Guyton, 2006):

- El nódulo sinusal, también denominado nodo sinusal o sinoauricular (SA), que genera el impulso rítmico normal.
- Las vías internodales que conducen el impulso desde el nódulo sinusal hasta el nodo auriculoventricular.
- El nodo auriculoventricular (AV), en el cual el impulso procedente de las aurículas sufre un pequeño retraso antes de pasar a los ventrículos.
- El haz de His, que conduce el impulso de las aurículas a los ventrículos.
- Los haces derecho e izquierdo del Haz de His y las fibras de Purkinje, que conducen el impulso cardíaco a todas las partes de los ventrículos.

1.2.3.1. Automatismo sinusal.

El automatismo miocárdico, es decir, la contracción rítmica y espontánea del corazón, se inicia gracias a la descarga periódica de impulsos que tiene lugar en el nodo SA. Esta característica también es compartida por determinadas células del nodo AV y del sistema especializado de conducción ventricular.

En cuanto a su morfología, el nodo SA es una especie de estructura difusa y definida por el conglomerado de miles de células especializadas localizadas en la parte superior de la aurícula derecha, entre la *crista terminalis* y la unión de la aurícula derecha con la vena cava superior. El nodo SA puede observarse, en el ser humano, como una tira pequeña, aplanada y elipsoide de músculo especializado de unos 3mm de ancho, 15 mm de largo y 1 mm de espesor. Sus fibras carecen casi por completo de filamentos contráctiles y miden cada una de 3 a 5 μm de diámetro, lo que contrasta con el diámetro de 10 a 15 μm de las fibras del músculo auricular circundante. Las fibras del nodo sinusal se conectan directamente con las fibras musculares de la aurícula de forma que cualquier PA que comienza en el nodo sinusal, se propaga inmediatamente a la pared muscular auricular.

La mayoría de las células que se encuentran en la región del nodo SA presentan el característico potencial transmembrana oscilante asociado con la actividad marcapasos, incluyendo un potencial diastólico inestable y una despolarización gradual que se va acercando poco a poco al umbral y con ello a la génesis de un potencial de acción (Jalife y

cols., 2009). De este modo, el automatismo sinusal se debe a la despolarización lenta de la membrana durante la fase 4 del potencial de acción.

En la figura 1.12 puede observarse una representación esquemática de las variaciones regionales de la forma del potencial de acción (PA) y en cuáles se evidencia la despolarización diastólica anteriormente mencionada, esto es, principalmente en la zona de los nodos SA y AV.

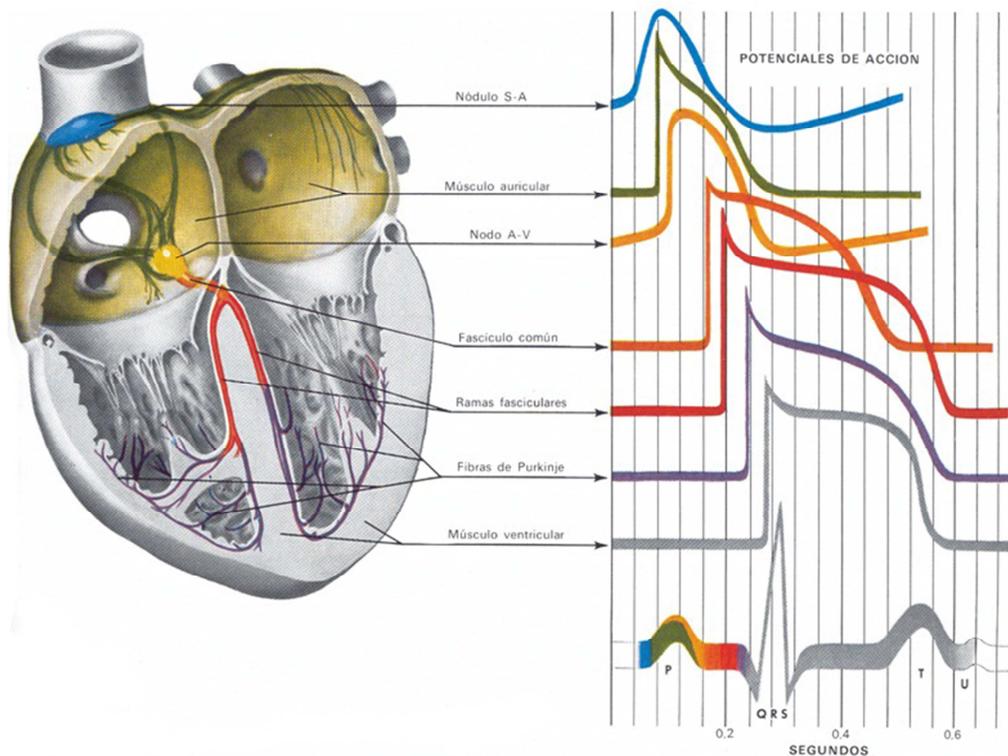


Figura 1.12. Variaciones de la morfología de las ondas del potencial de acción en diferentes regiones del corazón. Los potenciales de acción están desplazados en el tiempo para reflejar la secuencia temporal de la propagación (Buja y cols., 2006).

1.2.3.1.1. Bases iónicas del automatismo sinusal.

De forma breve, podríamos resumir los movimientos iónicos que acontecen durante el automatismo sinusal de la siguiente manera: la despolarización progresiva que se produce durante la fase 4 del PA y que caracteriza a las células nodales, resulta (al menos en parte), de la activación de la corriente I_f . Esta corriente se activa con la hiperpolarización del potencial de membrana y permite la entrada de cargas positivas en

la célula de forma gradual y, con ello, la despolarización progresiva y continua hasta que la membrana alcanza el umbral de activación para los canales de calcio (Ca^{2+}). Al abrirse los canales de Ca^{2+} continúa el flujo de iones positivos al interior de la célula. Al alcanzarse aproximadamente los -40 mV se produce el PA, caracterizado por una rápida despolarización en la que el potencial de membrana alcanza valores positivos. Es entonces cuando tiene lugar la repolarización, provocada por la apertura de los canales de potasio (K^+) y con ello la salida de cargas positivas de la célula.

La morfología del PA en las células del nodo SA difiere, por ejemplo, del PA de las células miocárdicas de trabajo, tal y como puede observarse en la figura 1.12.

A continuación se verá con más detalle el papel que las diferentes corrientes iónicas juegan en la génesis del impulso eléctrico cardíaco (figura 1.13). Opie (2004) atribuye a una serie de canales iónicos la evolución temporal del potencial de acción del nodo SA:

- Canales de sodio (Na^+):

Al abrirse los canales de Na^+ se genera una corriente de entrada (I_f), que permanece activa en el rango de -90 a -50 mV. Aunque el papel de I_f como corriente marcapasos es controvertido para algunos autores, se le considera como uno de los mecanismos iónicos implicados en la génesis de la actividad rítmica cardíaca.

- Canales de Ca^{2+} :

Las corrientes de Ca^{2+} , que empiezan a activarse entre los -60 y -50 mV, son la causa principal de la segunda mitad de la particular fase de despolarización de las células del nodo SA. Estudios de *voltage-clamp* en células del nodo SA muestran que la corriente de Ca^{2+} puede separarse en el componente transitorio, con un potencial umbral de alrededor de -60 a -50 mV y un componente de larga duración con un umbral aproximadamente de -30 mV.

La corriente transitoria de Ca^{2+} tipo T ($I_{\text{Ca-T}}$) es la que se activa en primer lugar, dado que su actividad se inicia a un voltaje más negativo (entorno a -60 mV). $I_{\text{Ca-T}}$ está involucrada principalmente en la génesis del potencial inestable de las células marcapasos.

Por su parte, el componente de larga duración viene dado por la corriente de Ca^{2+} tipo L ($I_{\text{Ca-L}}$). Esta corriente juega dos papeles importantes: además de participar en la génesis del potencial inestable de las células marcapasos, es la responsable de la fase de ascenso rápido del PA (Jalife y cols., 2009).

- Canales de K^+ :

El rápido comienzo de la repolarización K^+ -dependiente provocado por la activación del rectificador retardado de la corriente de K^+ (I_{K}) determina la no existencia de meseta. La corriente de K^+ más importante en las células marcapasos es I_{K} mientras que la corriente rectificadora interna (I_{K1}), presente en otros tipos celulares, no existe en las células del nodo SA. Esta corriente se activa por el umbral de despolarización total alcanzado en el punto más alto del PA y contribuye a la repolarización, decayendo con el tiempo (es tiempo dependiente) para permitir las corrientes de entrada de cationes e iniciar una nueva despolarización.

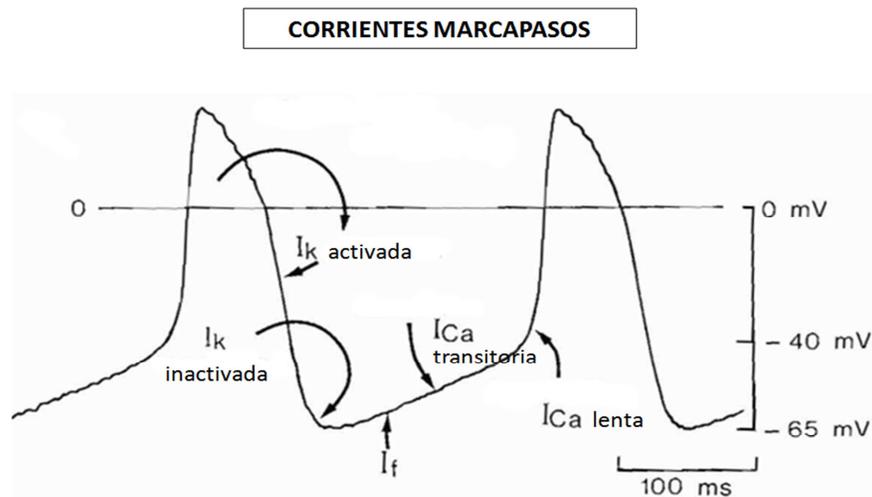


Figura 1.13. Las corrientes marcapasos en el nodo SA. Modificado de Opie, (1998).

1.2.3.1.2. Efectos del SNA sobre el automatismo sinusal.

El control del sistema nervioso autónomo sobre el nodo SA es fundamental para la regulación de la actividad cardíaca. Así, por ejemplo, la taquicardia que se produce al realizar un ejercicio físico intenso resulta de la combinación de la estimulación simpática y la inhibición de la actividad parasimpática.

En cuanto al efecto del sistema nervioso parasimpático, la ACh reduce la amplitud, la tasa de incremento y la duración del PA en el nodo SA (figura 1.14). Durante la estimulación vagal fisiológica, la actividad marcapasos del nodo SA no se detiene sino que cambia hacia aquellas células que tienen una frecuencia de descarga menor. Además, la ACh provoca la apertura de canales de salida de K^+ , de forma que fluye la corriente de salida de K^+ dependiente de ACh ($I_{K_{ACh}}$). El canal involucrado en este fenómeno es el canal muscarínico de K^+ activado por ACh, nombrado de esta forma porque el receptor muscarínico se activa por efecto de la ACh. Al abrirse este canal, el potencial de membrana del nodo SA alcanza valores más negativos (se hiperpolariza) en respuesta a la salida de los iones de potasio con carga positiva. Además, esta hiperpolarización aumenta el tiempo en que se alcanza el umbral de activación a causa del voltaje inicial, más negativo, disminuyendo la frecuencia de disparo del nodo SA. Asimismo, la ACh inhibe la corriente de calcio tipo L, I_{Ca-L} .

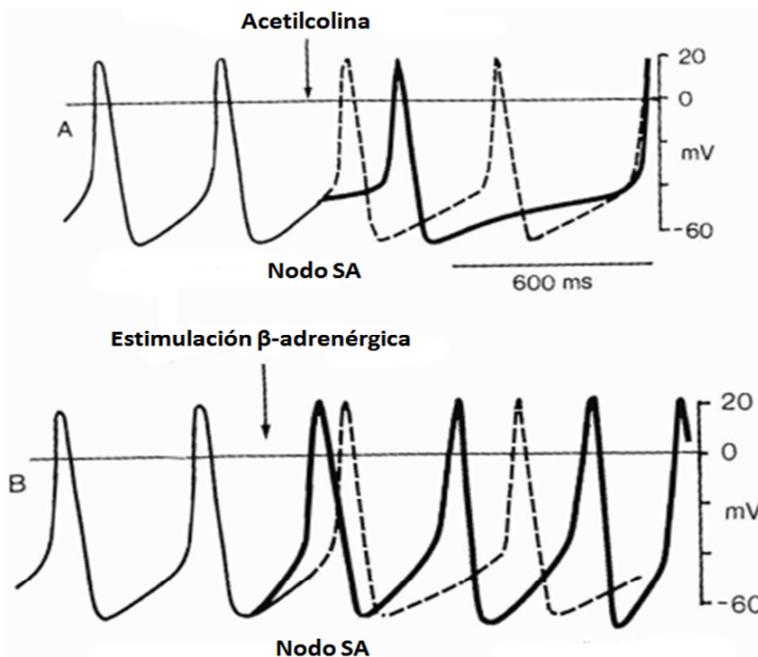


Figura 1.14. El incremento del tono vagal, inhibe al nodo SA. Dicha estimulación resulta en una corriente de salida de potasio y con ello la hiperpolarización del potencial de reposo, de manera que se necesita un mayor tiempo para alcanzar el umbral de activación del potencial de acción. Por tanto, se produce un enlentecimiento de la frecuencia cardíaca (bradicardia). Modificado de Opie, (2004).

Los efectos de la estimulación simpática β -adrenérgica presentan una complejidad mayor que los de la estimulación parasimpática. En primer lugar, la estimulación adrenérgica provoca una hiperpolarización del nodo SA que puede causar un cambio en el marcapasos desde el foco dominante normal de las células P, con su PA característica, a un patrón más parecido al del territorio auricular y por tanto más polarizado durante la diástole. Los mecanismos que llevan a esta hiperpolarización con la estimulación β -

adrenérgica son controvertidos, pero diferentes de la hiperpolarización causada por la ACh, probablemente provocados por un incremento en la actividad de la bomba sodio-potasio. Esta hiperpolarización conduce a un cambio en el potencial del marcapasos hacia la zona requerida para la activación de I_f , de forma que se requiere menos tiempo para alcanzar el umbral normal de activación en el que empieza a fluir la corriente de entrada de calcio. Además, la estimulación β -adrenérgica, actuando a través de su segundo mensajero, el AMP cíclico (AMPC), incrementa la posibilidad de apertura de I_{Ca-L} sin afectar a I_{Ca-T} . La combinación de la activación temprana de I_f e I_{Ca-L} produce un aumento en la velocidad de despolarización y también en la frecuencia de disparo del nodo SA. Estos mecanismos explican cómo, por ejemplo, la estimulación adrenérgica que se produce durante el ejercicio provoca la taquicardia necesaria para incrementar el trabajo cardíaco.

1.2.3.2. La conducción del impulso eléctrico cardíaco.

Una vez producida la génesis del impulso en el nodo SA, éste se extiende rápidamente a través de las aurículas hasta alcanzar el nodo AV. Se entiende como conducción auriculoventricular a la capacidad de conducir el impulso eléctrico cardíaco generado espontáneamente por las células especializadas a lo largo de todo el corazón. En la siguiente tabla pueden verse reflejados los valores de diferentes parámetros del impulso eléctrico cardíaco en el corazón de los mamíferos.

	NS	Aurícula	NAV	Purkinje	Ventrículo
Potencial de reposo (mV)	-50 a -60	-80 a -90	-60 a -70	-90 a -95	-80 a -90
PA					
Amplitud (mV)	60-70	110-120	70-80	120	110-120
Sobredisparo (mV)	0-10	30	5-15	30	30
Duración (ms)	100-300	100-300	100-30	300-500	200-300
VC ($m \cdot s^{-1}$)	<0,05	0,3-0,4	0,1	2-3	0,3-0,4
Diámetro fibra (μm)	5-10	10-15	1-10	100	10-16

Tabla 1.4. Propiedades del potencial transmembrana en corazones de mamíferos. NS = nodo sinusal; NSA = nodo auriculoventricular; PA = potencial de acción; VC = velocidad de conducción (Braunwald, 2009).

1.2.3.2.1. La conducción auricular.

Como ya hemos comentado, la conducción del impulso cardíaco se inicia en el nodo SA y difunde de forma radial por toda la aurícula derecha a lo largo de las fibras miocárdicas auriculares normales. Se han definido 3 tractos internodales que sirven como vías conductoras del impulso cardíaco. Histológicamente están formadas por células similares a las del sistema de Purkinje; en cuanto a su fisiología, estas células son muy resistentes a una elevada concentración de K^+ , una propiedad similar a la que presentan las células del nodo SA. Existe una vía especial, la banda interauricular anterior o haz de Bachmann que conduce el impulso desde el nodo SA hasta la aurícula izquierda. La onda de excitación se propaga en sentido inferior a través de la aurícula derecha y termina por llegar al nodo AV, que en condiciones normales suele ser el único acceso del impulso cardíaco a los ventrículos (Berne y Levy, 2006).

En los estudios realizados acerca del patrón de activación auricular cabe destacar el realizado por Ito y Scher (1979) en un modelo de activación auricular por isocronas (líneas que unen zonas de excitación simultánea) y que muestran cómo se propaga el impulso. Tales estudios han mostrado que, desde un punto de vista funcional, no hay vías auriculares especializadas. Es más, la pared auricular completa funciona como un sistema que conduce las ondas desde el nodo SA al nodo AV y sus células tienen propiedades funcionales especializadas, por lo que no se encuentran únicamente en las vías internodales (Opie, 2004).

En cualquier caso, el impulso nervioso que recorre el territorio auricular, no pueden alcanzar directamente a los ventrículos a causa del tejido conectivo que separa las dos cámaras cardíacas y sólo puede hacerlo por una vía específica de conducción: el nodo auriculoventricular (Opie, 2004).

1.2.3.2.2. La conducción nodal.

El impulso eléctrico es recogido en el nodo AV, localizado en la aurícula derecha debajo del origen de la válvula tricúspide; desde el nodo, el impulso continúa a lo largo de Haz de His a través del tejido conectivo que separa aurículas y ventrículos.

Se han reconocido tres zonas distintas en el nodo AV en base a la morfología de los potenciales de acción registrados con microelectrodos (figura 1.15):

- 1) La aurículo-nodal (AN).
- 2) El nodo compacto como tal (N)
- 3) La nodo-hisiana (NH).

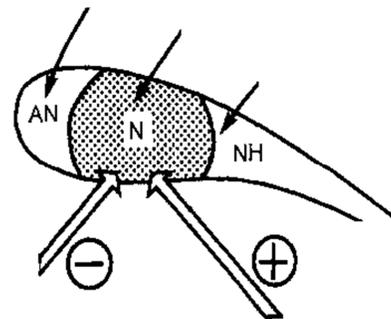


Figura 1.15. El nodo AV. Modificado de Opie (2004).

La respuesta de la zona N se caracteriza por una subida relativamente lenta de la fase de ascenso y una escasa amplitud del PA. Los potenciales de acción de las zonas AN

muestran una morfología intermedia entre la región N y el músculo auricular, y los potenciales de acción de las zonas NH muestran una morfología intermedia entre la región N y el haz de His (Zipes y Jalife, 2006).

El nodo AV es el único tipo celular importante o estructura relevante del corazón que aún no se ha podido caracterizar mediante un modelo matemático adecuado. Los diversos intentos de explicar matemáticamente la conducción AV se han basado en modificaciones empíricas de los modelos ya existentes sobre el nodo SA. Ello es debido posiblemente a la heterogeneidad electrofisiológica del mismo, causada por la heterogeneidad en la expresión de los canales iónicos y las uniones intercelulares (Zipes y Jalife, 2006). Estas consideraciones contrastan con estudios de Chorro y cols. (1988) y Ferrero (1990), en los que sí se cuantificaba la conducción nodal mediante la utilización de dos modelos matemáticos aunque no investigaron el mecanismo básico de los canales iónicos.

Zipes y Jalife (2006) atribuyen a una serie de canales la evolución temporal del PA del nodo AV:

- Canales de Na^{2+} :

Los canales iónicos de Na^{2+} se expresan en menor número en las células de la zona N (compacta del nodo AV), lo que justifica que el PA de estas células sea de menor amplitud y menor velocidad de conducción que el de las células de las zonas distales del nodo AV (Petrecca y cols., 1997). Además, tienen una amplia despolarización espontánea generada por la corriente I_f , causante de la documentada capacidad de las células N de actuar como marcapasos (Paes y cols., 1961). Las células transicionales de los tipos AN y NH, por su parte, expresan más I_{Na} , (Petrecca y cols., 1997; Petrecca y cols., 2000) lo que explica el ascenso rápido del PA y su mayor velocidad de conducción.

- Canales de Ca^{2+} :

Los canales de calcio desempeñan un papel importante en la conducción a través del nodo AV (Zipes y Méndez, 1973; Noma y cols., 1980), e incluso es posible

que sean los responsables de la transmisión del impulso en ausencia de canales de Na^{2+} . En las células del nodo AV se han encontrado, al igual que en las células del nodo SA, los dos tipos de canales: los de tipo L (Munk y cols., 1996) y los de tipo T (Liu y cols., 1993), así como sus respectivas corrientes $I_{\text{Ca-L}}$ e $I_{\text{Ca-T}}$.

- Canales de K^+ :

Los canales de K^+ también parecen expresarse en el nodo AV de forma irregular. La corriente transitoria de salida I_{to} parece residir principalmente en las capas medias del nodo AV, mientras que se encuentra poco expresada en la región N (Munk y cols., 1996). Noma y cols. (1980), demostraron que la corriente rectificadora retardada, I_{K} , es la principal corriente de repolarización en el nodo AV. Estudios más recientes apuntan a que el componente predominante es el componente rápido, I_{Kr} (Howarth y cols., 1996; Habuchi y cols., 1995). Contrariamente a lo que sucede en el nodo SA, hay pocos datos acerca de la presencia del componente lento, I_{Ks} , en el nodo AV (Habuchi y cols., 1995). Por otro lado, el control vagal del nodo AV sugiere la influencia de la I_{KAch} (Clemo y Belardinelli, 1986). El importante papel de la corriente I_{f} quedó firmemente demostrado por Noma y cols. (1980) y por otros investigadores (Petrecca y cols., 1997; Howarth y cols., 1996). El papel de los canales de K^+ de corriente rectificadora de entrada se desconoce.

- Canales de las uniones intercelulares:

Los canales de las uniones intercelulares desempeñan un papel importante en la conducción AV. Los datos obtenidos por Zipes y Jalife (2006) sugieren que la heterogeneidad en la distribución de la expresión de conexinas en las diferentes zonas del nodo AV (menor expresión en la zona N), podría estar en relación con la electrofisiología de la doble vía del nodo AV, al formar vías de comunicación de célula a célula que corresponderían a las vías lenta y rápida (Nikolski y cols., 2003).

Clásicamente, se han descrito varias propiedades electrofisiológicas del nodo AV, similares a las del nodo sinusal:

- 1) La despolarización diastólica espontánea lenta, con un disparo lento, que está normalmente anulado por el nodo SA (supresión por sobreestimulación). Sin embargo, el nodo AV puede servir como un marcapasos subsidiario cuando el nodo SA falla.
- 2) La conducción decremental que se produce cuando el impulso alcanza las fibras miocárdicas de unión entre las aurículas y los ventrículos, observándose una pausa en la propagación de la excitación a éstos. Este retraso nodal permite, como es conocido, que la sístole auricular concluya antes de iniciarse la excitación ventricular.

1.2.3.2.3. La conducción His-Purkinje.

Las fibras de Purkinje conducen el impulso eléctrico cardíaco al miocardio ventricular. Estas fibras tienen características funcionales en buena medida opuestas a las de las fibras nodales AV. Son fibras muy grandes, incluso mayores que las fibras musculares ventriculares normales, y transmiten PA a una velocidad de $1,5$ a $4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, una velocidad unas 6 veces superior a la velocidad habitual del músculo ventricular y 150 veces mayor que la de algunas fibras del nodo AV. Esto permite que la transmisión del impulso eléctrico cardíaco por el restante músculo ventricular sea casi inmediata.

Se cree que la causa de la rapidez de transmisión de los PA en las fibras de Purkinje es el alto nivel de permeabilidad de las uniones intercelulares comunicantes de los discos intercalares, situados entre las sucesivas células cardíacas que constituyen las fibras de Purkinje. Por tanto los iones pasan con facilidad de una célula a la siguiente, aumentando así la velocidad de transmisión. Las fibras de Purkinje tienen también muy pocas miofibrillas, lo que significa que apenas se contraen en el transcurso de la transmisión del estímulo.

Tras atravesar el tejido fibroso situado entre el músculo auricular y el ventricular, la porción distal del haz de His se dirige hacia abajo, en el tabique interventricular a lo largo de unos 5 a 15 mm, hacia la punta del corazón, como se muestra en la figura 1.12 (p. 55). Después, el haz se divide en las ramas derecha e izquierda, situadas bajo el endocardio en

las caras correspondientes del tabique ventricular. Cada rama se extiende hacia abajo, hacia la punta del ventrículo, dividiéndose progresivamente en ramas más pequeñas que rodean a cada cavidad ventricular y giran hacia la base del corazón. Los extremos de las fibras de Purkinje penetran aproximadamente un tercio del espesor de la masa muscular, y se ponen en contacto con las fibras del músculo cardíaco.

1.2.3.2.4. La conducción Purkinje-ventrículos.

Desde el momento en que el estímulo eléctrico cardíaco penetra en las ramas del haz en el tabique ventricular hasta que alcanza las terminaciones de las fibras de Purkinje, el tiempo total transcurrido es de tan sólo 0,03 s por término medio; por tanto, una vez que el impulso cardíaco entra en el sistema de Purkinje, se disemina casi inmediatamente a la totalidad de la masa muscular ventricular (Guyton, 2006).

1.2.3.2.5. La conducción ventricular.

Jalife y cols. (2009) relataron que, cuando una célula se despolariza, se establece un gradiente de voltaje entre esa célula y las células vecinas. 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 PA genera un nuevo influjo de corriente de entrada que acaba afectando al conjunto. Esta segunda célula favorece una fuente de corriente para esas células que están a lo largo del trayecto y el proceso se repite por sí mismo, viajando el PA a lo largo de la fibra (fig. 1.16). En el caso de una fibra, con sólo una fracción de la corriente se despolariza cada célula, a diferencia del miocito aislado, donde se necesita toda una corriente de entrada para que ocurra este fenómeno.

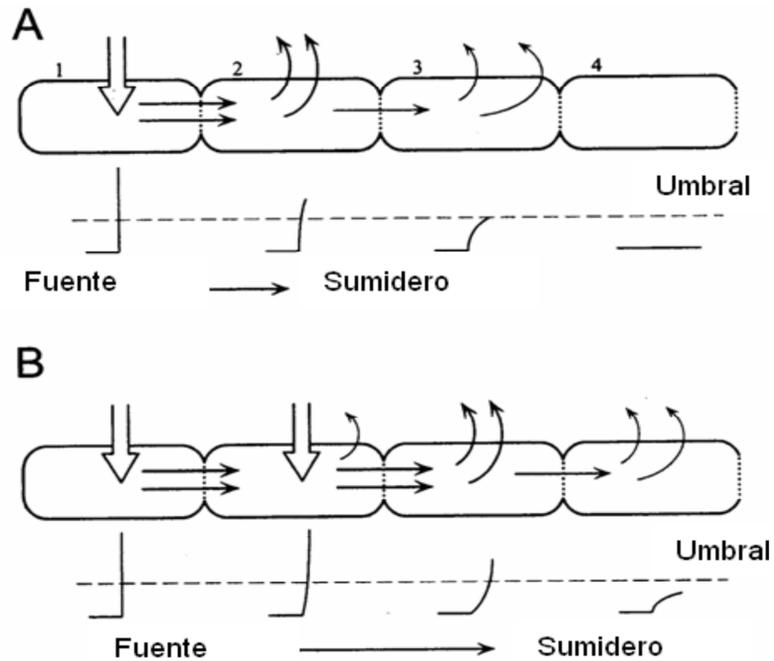


Figura 1.16. Distribución de las cargas intracelulares durante la propagación de un PA, desde la despolarización (fuente) al resto de la célula (sumidero). A) la fuente está localizada en la célula 1; B) el sumidero se extiende a la célula 2. Modificado de Jalife y cols. (2009).

Se sabe que el miocardio auricular y ventricular posee diferentes propiedades electrofisiológicas, como son comportarse como un sincitio funcional y la anisotropía en la conducción del impulso nervioso.

A. *Sincitio funcional.*

Las corrientes iónicas fluyen de una célula a otra prácticamente sin resistencia. Estudios microscópicos del tejido muscular del corazón demuestran que el miocardio está constituido por fibras de forma aproximadamente cilíndrica de unos 100 μm de longitud y unos 10 μm de diámetro (Anderson y cols., 1976). Las fibras no están aisladas unas de otras, sino que se interconectan en serie y en paralelo mediante túneles longitudinales y transversales en los cuales existe una membrana celular especial (discos intercalares) que separa los citoplasmas y confiere individualidad a cada fibra.

Las uniones intercelulares o discos intercalares representan zonas de baja resistencia eléctrica (aproximadamente unas 400 veces menor que la de una

membrana celular convencional) gracias a la existencia en su interior de estructuras conductoras con alta conductividad eléctrica (Guyton, 2006).

B. Anisotropía en la conducción.

Saffitz y cols. (1994) en estudios ultraestructurales del tejido cardíaco, describen cómo un miocito típico está conectado a una media de otros 11-12 miocitos, y un número equivalente de discos intercalares se producen entre miocitos adyacentes. Como resultado, los frentes de onda que se propagan a través del músculo cardíaco en dirección transversal (perpendicular al eje mayor de las fibras), encuentran numerosos discos intercalares. Debido a la forma cilíndrica de los miocitos individuales, para recorrer una misma distancia, los frentes de onda durante la propagación transversal encontrarán muchos más discos intercalares que los frentes que se propagan en sentido longitudinal, experimentando, por tanto, mucha mayor resistencia (Iida y cols., 1996). En consecuencia, la velocidad de conducción en sentido longitudinal es, en condiciones normales, unas 3 veces mayor que en sentido transversal, creando el PA al propagarse, isocronas elipsoidales (Turgeon y cols., 1992; Schalij y cols., 1992). Este fenómeno denominado anisotropía en la conducción hace que la propagación de los frentes de onda sea fuertemente dependiente de la orientación y conexiones entre las fibras (Tsuneiro y cols., 1997) y, según diversos autores (Schalij y cols., 1992; Spach y cols., 1981; Tsuneiro y cols., 1997), se relaciona con la génesis de arritmias por reentrada funcional en determinadas circunstancias, especialmente durante la isquemia (Ranger y Nattel, 1995; Restivo y cols., 1995; Heisler y Ferrier, 1996).

1.2.3.1.6. Efectos del SNA sobre la conducción.

Los nervios colinérgicos proporcionan estímulos inhibidores, produciendo una respuesta dromotrópica negativa en la conducción aurículoventricular. Con la estimulación vagal, varios mecanismos se combinan para en última instancia inhibir la corriente de entrada de calcio. En primer lugar, tal y como sucede en el caso del nodo SA, la interacción con las proteínas G inhibe la formación de cAMP y abre los canales de K^+ , lo cual tiende a cerrar los canales de Ca^{2+} (Opie, 2004) Además, se estimula a la óxido nítrico

sintasa para formar óxido nítrico, que a su vez promueve la formación de cGMP y éste tiende a cerrar los canales de Ca^{2+} . Los efectos de los mecanismos inhibitorios son más pronunciados cuando existe una estimulación adrenérgica concurrente.

Por su parte, la activación del sistema nervioso simpático está asociada con un efecto dromotrópico positivo. Así, las catecolaminas producen un aumento en la velocidad de la fase de despolarización y también en la amplitud del potencial de acción, lo cual va en consonancia con su efecto sobre la corriente lenta de entrada de calcio, $I_{\text{Ca-L}}$ (Scheinman, 1993).

Estudios experimentales en los que se ha utilizado el bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo han confirmado una respuesta dromotrópica positiva tras utilizarse el bloqueo del sistema nervioso parasimpático con atropina y una respuesta dromotrópica negativa al utilizar propranolol para bloquear el sistema nervioso simpático (Berkowitz y cols., 1969; Akhtar y cols., 1974; Prystowsky y cols., 1981). También se ha observado que la conducción aurículoventricular, tanto en humanos como en animales, apenas sufre modificaciones después de la administración simultánea de atropina y propranolol (Prystowsky y cols., 1981), lo que indica un efecto equilibrado de ambas ramas del sistema nervioso autónomo sobre la conducción aurículoventricular. Esto contrasta con el marcado efecto parasimpático que predomina sobre el automatismo sinusal en reposo. En la misma línea, estudios realizados en el corazón humano trasplantado (Bexton y cols., 1984) demostraron resultados similares a los obtenidos en el corazón inervado, sugiriendo que el sistema nervioso autónomo parece tener poca influencia en las características electrofisiológicas basales del sistema de conducción.

Respecto a la conducción anterógrada versus retrógrada, Mitsuoka y cols. (1987) observaron que, durante la estimulación vagal, la conducción puede verse afectada de manera diferente, siendo el efecto mayor en sentido anterógrado que retrógrado. Parece ser que el cambio en la dirección de la conducción lleva a una organización intranodal de la excitación completamente diferente y los cambios en este "ambiente electrotónico" son un factor fundamental que contribuye a tales diferencias.

1.2.3.3. Modificaciones de la excitabilidad miocárdica durante el potencial de acción (refractoriedad).

La excitabilidad o batmotropismo es una de las propiedades eléctricas cardíacas que hace referencia a la capacidad que tienen las células para despolarizarse y generar un potencial de acción (PA) ante la llegada de una corriente despolarizante. Será importante distinguir, pues, entre dos conceptos fundamentales: el potencial de reposo y el potencial de acción.

A. Potencial de acción:

La primera fase del potencial de acción (o fase 0), corresponde a la despolarización rápida de la célula, registrándose una variación desde el valor de potencial electronegativo propio del reposo, -90 mV, hasta aproximadamente +20 mV (figura 1.17). Se caracteriza por una pronunciada pendiente de subida ($dV_m/dt = 393 \text{ V/s}$) (Kléber y Rudy, 2004) y se debe, fundamentalmente, 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. Aunque esta corriente de entrada de Na^+ se ha relacionado solamente con la despolarización de las células miocárdicas no marcapasos, recientemente ha sido identificada una corriente de entrada rápida de este ión en las células del nodo sinusal (Lei y cols., 2007).

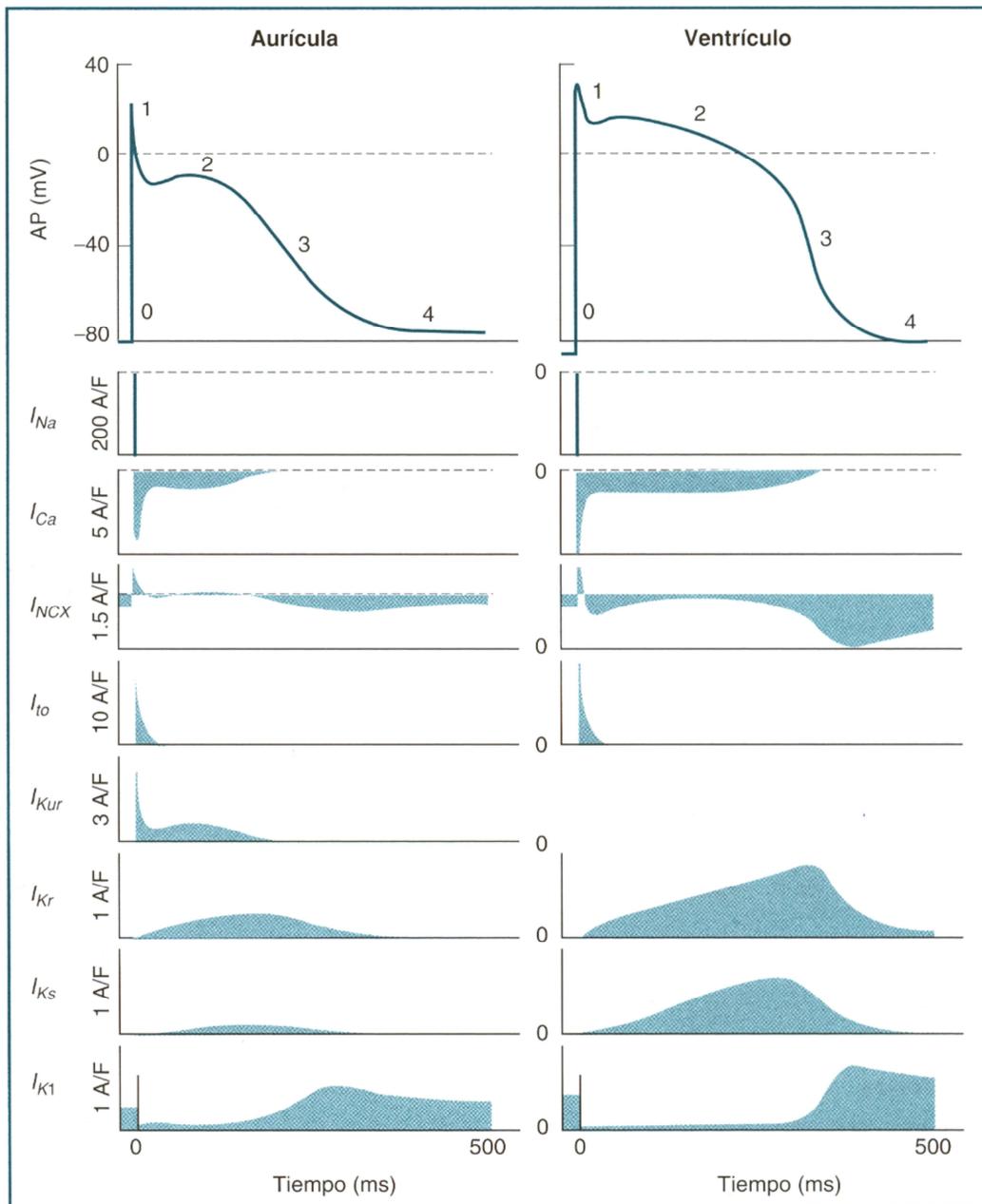


Figura 1.17. Fases del potencial de acción cardíaco y corrientes implicadas en las células auriculares (izquierda) y ventriculares (derecha). Puede observarse la diferente morfología del PA entre ambos tipos celulares (Zipes y Jalife, 2006).

A continuación tiene lugar la fase de repolarización rápida, debida 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.

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. Esta corriente se activa cuando el potencial de membrana alcanza unos -25 mV y provee una corriente despolarizante que mantiene la meseta 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 y cols., 2002). Esta fase también es denominada fase 2.

En la fase de repolarización (fase 3) 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 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, que normalmente produce una extracción de tres iones Na^+ e introducción de un ión Ca^{2+} , tras la activación de la $I_{\text{Ca-L}}$ se invierte su acción y ejerce un efecto electrogénico positivo que prolonga algo la duración del PA al final de la meseta, ya que en este caso extrae un ión Ca^{2+} por cada tres iones Na^+ que introduce. Su duración aproximada es de 100 ms.

B. Potencial de reposo:

El potencial de reposo es la diferencia de potencial que existe entre el interior y el exterior de una célula en condiciones de reposo. En las células ventriculares se alcanza el valor electronegativo del potencial de reposo de una manera estable (a diferencia de lo que ocurre en las células marcapasos), hasta que se produce el siguiente PA. En esta fase intervienen la corriente de rectificación interna (I_{K1}), responsable de mantener el potencial de reposo cerca del potencial de equilibrio para el K^+ y el intercambiador Na^+/K^+ , bomba dependiente de ATP que genera una corriente iónica ($I_{\text{Na/K}}$) al expulsar iones Na^+ de la célula e introducir iones K^+ . Esta es la denominada fase 4 del PA.

En los cardiomiocitos auriculares, ventriculares, endocárdicos y epicárdicos están presentes casi todas las corrientes anteriormente mencionadas, esto es, las corrientes

que vehiculan las entradas iónicas I_{Na} e I_K , y las corrientes de salida I_{to} , I_{Kr} , I_{Kur} , I_{Ks} , I_{KATP} , I_{KACh} e I_{K1} .

Las corrientes de entrada despolarizan la membrana, mientras que las corrientes de salida contribuyen a la repolarización. En la figura 1.17 puede verse una comparación entre la morfología de los potenciales de acción auricular y ventricular. El PA ventricular normalmente tiene una mayor duración, un potencial más positivo en la fase de meseta (fase 2) y un potencial de membrana de reposo más negativo (fase 4). La presencia de una corriente de potasio rectificadora retardada ultrarrápida (I_{Kur}) en los miocitos auriculares contribuye a la menor fase de meseta del PA auricular. La corriente de entrada de potasio rectificadora (I_{K1}) de las células ventriculares permite que haya una repolarización de fase 3 más rápida y un potencial de membrana en reposo más negativo (fase 4).

1.2.3.3.1. Bases iónicas de la refractariedad miocárdica.

El periodo refractario es el intervalo de tiempo durante el cual la célula cardíaca es inexcitable o sólo puede ser excitada aplicando intensidades de corriente superiores a las necesarias cuando la célula se encuentra en reposo. A lo largo del PA se produce una variación de la excitabilidad del miocardio, distinguiéndose varios períodos de tiempo con diferente excitabilidad (figura 1.18, p.73). West (1998), describió que:

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

El PRE de una célula o red celular constituye el período durante el cual sólo puede producirse una respuesta local por un estímulo despolarizante de mayor intensidad a la normal. Así, durante el período refractario efectivo, la membrana puede responder, pero

no puede generarse un PA propagado que transporte el impulso a través de toda la red celular. Este período incluye al período refractario absoluto.

El período 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 período supernormal (PSN) es un corto intervalo durante el cual la célula es más excitable de lo normal; es decir, que con un mínimo estímulo despolarizante se puede iniciar un PA propagado. El tiempo de recuperación total constituye el período desde el comienzo del PA hasta el final del período supernormal.

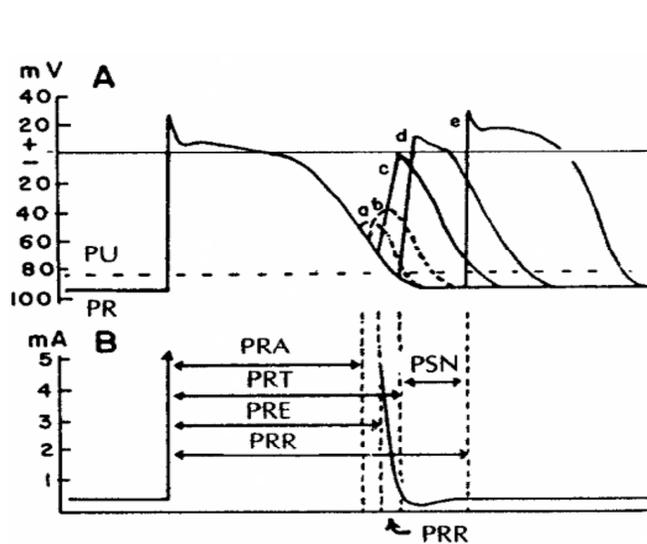


Figura 1.18. A) PA de membrana normal y respuestas a una serie de estímulos aplicados durante y el final de la repolarización y después del PA. B) Duraciones aproximadas del período refractario absoluto (PRA), período refractario total (PRT), período refractario efectivo (PRE), tiempo de recuperación total (TRT), período supernormal (PSN) y período refractario relativo (PRR). Modificado de West (1998).

En las células de este tipo, 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 períodos 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 período de recuperación para que estos canales puedan comenzar a conducir de nuevo (Jalife y cols., 2009).

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 el movimiento de entrada de Na^+ es prácticamente nulo (Jalife y cols., 2009).

El PRR se produce al avanzar la repolarización, cuando la diferencia de potencial de membrana disminuye de -60 a -70 mV y entonces, como ya se ha comentado, puede producirse un PA propagado. A este nivel de diferencia 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 de menor voltaje. 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 corriente de entrada de Na^+ (Mountcastle, 1974).

El período de supernormalidad ocurre, en parte, porque el potencial de membrana retorna a 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 y cols., 2009).

1.2.3.3.2. Efectos del SNA sobre la refractariedad miocárdica.

En cuanto al periodo refractario auricular, la estimulación parasimpática a través de la ACh activa la corriente de salida de potasio regulada por ACh (I_{KACh}), lo cual produce un acortamiento de la refractariedad, de la duración del potencial de acción y la dispersión del periodo refractario (Zipes y cols., 1974; Vigmond y cols., 2004).

Los efectos de la ACh sobre la conducción auriculoventricular han sido extensamente estudiados. Sin embargo, la modificación de la refractariedad del sistema de conducción

auriculoventricular por el sistema nervioso autónomo es menos conocida. Prystowsky y cols. (1981) observaron una disminución en el periodo refractario efectivo del nodo AV tras la administración de atropina, lo que aboga en favor de un efecto prolongador de la refractariedad por parte de la ACh.

En cuanto al efecto del sistema nervioso parasimpático sobre la refractariedad miocárdica ventricular, esta cuestión ha sido objeto de debate durante mucho tiempo. Diversos autores han otorgado poca relevancia al control parasimpático vagal de los ventrículos (Randall y cols., 1991), en contraste con otras investigaciones de las que parece desprenderse una participación parasimpática significativa en la función ventricular (Rardon y Bayley, 1983).

Asimismo, la importancia del tono parasimpático de reposo sobre la refractariedad ventricular ha sido planteada desde hace relativamente poco tiempo (Prytowsky y cols., 1981). Farges y cols. (1977) relataron que la ACh acortó el período refractario de las fibras musculares auriculares, pero no modificó la refractariedad en el tejido miocárdico ventricular. Solamente se produjo una disminución paralela del período refractario auricular y ventricular con la administración de isoproterenol, un antagonista β -adrenérgico. Por otro lado, estudios posteriores como el de Prytowsky y cols. (1981) observaron que la eliminación del tono vagal con atropina tenía un efecto significativo sobre el acortamiento de la refractariedad ventricular, incluso en presencia del bloqueo β -adrenérgico, sugiriendo un efecto directo de la ACh en el incremento de la refractariedad ventricular. Resultados similares fueron obtenidos por Morady y cols. (1988), en un trabajo realizado en humanos, observaron que la administración de atropina acorta el período refractario efectivo y funcional ventricular, no sólo tras bloquear el sistema adrenérgico con propranolol sino también tras la administración de diferentes dosis de isoproterenol, siendo mayor el acortamiento de la refractariedad cuanto mayor era la dosis de isoproterenol. De este modo, estos autores concluyeron que el tono vagal alarga el período refractario ventricular, incluso en ausencia de una actividad simpática de fondo, y que este alargamiento puede ser acentuado por la estimulación β -adrenérgica.

1.2.3.4. Estudio especial de la frecuencia de la fibrilación ventricular inducida como parámetro electrofisiológico de excitabilidad.

Como es bien sabido, la FV es una arritmia letal cuya aparición implica la pérdida de la contracción efectiva del corazón, la anulación del gasto cardíaco y la muerte súbita del sujeto. Los avances en el conocimiento de los mecanismos básicos que determinan su inicio, su perpetuación o su cese son necesarios para intentar progresar en la prevención de la FV, o en los procedimientos encaminados a interrumpirla eficazmente.

Diferentes autores han correlacionado algunas características de la FV con la mayor o menor malignidad de la misma. Según se desprende de dichas investigaciones, existe una relación entre alguna de las dichas características y el mejor o peor estado en que quedaría el corazón tras la desaparición de la misma, en aquellos casos en los que se instaura la FV de un modo súbito. Así, Strohmenger y cols. (1997) realizaron un estudio con el propósito de analizar, si en pacientes con FV extrahospitalaria, la frecuencia de esta arritmia y la amplitud de la misma eran predictivas de cardioversión exitosa, observando que el mayor voltaje de la FV guardaba relación con unas mejores posibilidades de cardioversión; por otro lado, un trazado fibrilatorio "fino" (indicativo de una fibrilación de poca amplitud y alta frecuencia) era más difícil de revertir. Asimismo, la cardioversión guardaba una buena correlación con la frecuencia dominante de la FV, siendo mayores las posibilidades de éxito con valores de frecuencia dominante más altos en situación de isquemia. Para estos autores, la isquemia progresiva debida a parada cardíaca resulta en una depleción de fosfágenos (Neumar y cols., 1990) y un deterioro de la excitabilidad celular (Zipes, 1975), así como una sobrecarga celular de calcio (Clusin y cols., 1984), lo cual provoca una disminución de la frecuencia de la FV e incrementa la probabilidad de disociación electromecánica que sigue a la desfibrilación (Hillsley y cols., 1994).

El análisis de la activación ventricular durante la FV es complejo, debido a las características de la arritmia y a las limitaciones de las técnicas utilizadas para su estudio, que ha sido abordado utilizando métodos y técnicas diversas, 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 (Moe, 1962; Carlisle y cols., 1990; Abildskov, 1994; Cha y cols., 1994; Allessie y cols., 1996; Stewart y cols., 1996; Lee y cols., 1996; Chorro y cols., 1998;; Kwan y cols., 1998; Gray y cols., 1998; Rogers y cols., 1999).

Técnicas como la cartografía epicárdica de la activación ventricular mediante electrodos múltiples con los que se registran potenciales extracelulares (Cha y cols., 1994; Lee y cols., 1996; Rogers y cols., 1999), o sistemas de mapeo óptico basados en la utilización de marcadores sensibles a los cambios de voltaje en los que las variaciones en la fluorescencia de la señal indican los cambios del potencial transmembrana de grupos de células próximas entre sí (Zhou y cols., 1995; Witkowski y cols., 1998; Gray 1999; Efimov y cols., 1999), han aportado información muy valiosa sobre las características de la activación miocárdica durante las arritmias ventriculares. Dichas técnicas han supuesto el soporte metodológico de diversos trabajos sobre la FV en los que se han objetivado los patrones de activación y la existencia de activación reentrante, tanto en el inicio de la arritmia como durante la evolución de la misma (Cha y cols., 1994; Lee y cols., 1996; Kwan y cols., 1998; Witkowski y cols., 1998; Weiss y cols., 1999; Rogers y cols., 1999; Chorro y cols., 2000), siendo más limitada la información disponible sobre su cese mediante procedimientos distintos a la desfibrilación eléctrica (Cha y cols., 1994).

Los métodos basados en el análisis del dominio de la frecuencia, tales como el análisis de la potencia espectral y el 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 transformada rápida de Fourier, un método no paramétrico que descompone las señales en una suma de componentes sinusoidales. Zaitsev y cols. (2003) relataron que el análisis de la FV 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.

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. Como ha sido comentado en líneas anteriores, 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, son instrumentos útiles para caracterizar las acciones de diversas situaciones, como la que es objeto de la presente tesis.

Varias son las características del poder espectral que han sido analizadas en la FV, con el fin de establecer su carácter predictivo en relación con las consecuencias de la misma tras la desfibrilación. Así, como relatan Gazmuri y cols., (2001) en una revisión al respecto, han sido analizadas:

- 1) La frecuencia mediana, que es la frecuencia que bisecciona el espectro de potencia (Strohmenger y cols., 1997).
- 2) La frecuencia límite, que es la frecuencia por debajo de la cual reside el 95% del área del espectro de potencia (Strohmenger y cols., 1997).
- 3) El índice de amplitud del área del espectro (también llamado AMSA), que se obtiene integrando el área bajo la amplitud del espectro de frecuencia dentro de un ancho de banda determinado (Marn-Pernat y cols., 2001).
- 4) La frecuencia dominante, que corresponde al máximo espectro de potencia (Strohmenger y cols., 1997). En el presente trabajo se pretende usar este parámetro para la valoración de la FV.

Se ha observado también que, si no se interrumpe la perfusión coronaria (perfusión normóxica) se mantienen tanto la frecuencia dominante del espectro (Chorro y cols., 1998), como la capacidad de obtener una desfibrilación efectiva sin disociación electromecánica (Martín y cols., 1986). La utilización de modelos experimentales en los que se mantiene la perfusión coronaria durante la FV, permite mantener un estado metabólico adecuado durante el desarrollo de la arritmia, y excluir esta variable a la hora de analizar, tanto las características del patrón fibrilatorio, como los efectos de diversos fármacos o maniobras sobre el mismo (Eggenreich y cols., 1996; Chorro y cols., 1998).

En la presente tesis doctoral, se plantea como uno de los objetivos analizar la frecuencia dominante de la FV inducida en corazón aislado de animales entrenados, ya que la frecuencia dominante es una propiedad que se correlaciona inversamente con la refractariedad, otra propiedad relacionada con la aparición de arritmias por reentrada y con la perpetuación de las mismas (Chorro y cols., 2000).

1.2.4. Modificaciones electrofisiológicas producidas por el entrenamiento.

El entrenamiento físico influye de manera significativa sobre la forma en que el sistema nervioso autónomo controla la función cardíaca. Así, el entrenamiento de resistencia incrementa la actividad parasimpática y disminuye la actividad simpática en el corazón humano en reposo, lo que se manifiesta en el individuo entrenado con una disminución de la frecuencia cardíaca y la depresión de la conducción del impulso eléctrico. En el presente apartado se explicarán con más detalle éstas y otras modificaciones que el entrenamiento físico produce en las propiedades electrofisiológicas del miocardio.

A) Automatismo.

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 la realización de ejercicio de intensidad submáxima en comparación individuos sedentarios (Bonaduce y cols., 1998; Levy y cols., 1998; Wilmore y cols., 2001; Skinner y cols., 2003).

La bradicardia sinusal de entre 40 y 60 latidos·min⁻¹ es el trastorno del ritmo cardíaco más frecuente en el individuo entrenado (Boraita y cols., 1998), siendo su incidencia variable en función del tipo e intensidad del entrenamiento. Para la mayoría de autores, esta disminución de la frecuencia cardíaca es consecuencia de la modificación del equilibrio entre la acción del sistema nervioso simpático y del sistema nervioso parasimpático sobre el corazón. En efecto, Blomqvist y Saltin (1983) relataron que el entrenamiento físico puede modificar el equilibrio existente entre los componentes simpático y parasimpático del sistema nervioso autónomo, produciéndose un incremento de la actividad parasimpática, como clásicamente amplias evidencias han venido a demostrarlo (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 β -adrenérgico (Brundin y cols., 1978).

En esta misma línea, Bedford y Tipton (1987), en un estudio sobre el control barorreflejo de la presión arterial, observaron que, tras el periodo de entrenamiento, 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 producidas por el entrenamiento se relacionan con modificaciones del sistema nervioso vegetativo.

En un estudio llevado a cabo por Seals y Chase (1989) se analizó la variabilidad de la frecuencia cardíaca como índice de tono vagal cardíaco, encontrándose que en los sujetos entrenados se producía un incremento del tono vagal. Furlan y cols. (1993) realizaron un estudio en personas jóvenes sanas, con el fin de investigar los efectos a corto y largo plazo del ejercicio y del entrenamiento físico sobre los mecanismos nerviosos que controlan la frecuencia cardíaca. El estudio fue realizado comparando la variabilidad de la frecuencia cardíaca, actividad respiratoria y presión arterial en 3 diferentes grupos: sujetos control, nadadores durante el ciclo de descanso (desentrenados) y nadadores durante el ciclo de competición. Sus principales hallazgos fueron: 1) durante el periodo de reposo, los deportistas seguían manteniendo una ligera bradicardia acompañada de un predominio de la actividad del sistema nervioso parasimpático en reposo tras examinar el perfil del análisis espectral 2) durante el periodo de competición los atletas mostraron una bradicardia en reposo coexistiendo, paradójicamente, con un perfil espectral que sugería una actividad simpática predominante y 3) La persistencia durante más de 24 horas de una actividad simpática aumentada tras las sesiones de entrenamiento.

También se ha estudiado la importancia del sistema nervioso autónomo, concretamente el sistema nervioso simpático, en las modificaciones producidas por el entrenamiento. Así, Sable y cols. (1982) estudiaron el efecto del bloqueo β -adrenérgico en la modificación de varios parámetros cardiovasculares, entre los cuales estaba la frecuencia cardíaca. Los resultados obtenidos mostraron que el bloqueo β -adrenérgico con propranolol durante el periodo de entrenamiento atenuó de forma marcada los efectos del entrenamiento físico sobre el automatismo sinusal en sujetos sanos, por lo que la estimulación simpática es uno de los mecanismos fisiológicos más importantes a través de los cuales opera el entrenamiento físico con ejercicio dinámico. Posteriormente, Shi y cols. (1995) llevaron a cabo un estudio utilizando el bloqueo farmacológico del sistema nervioso simpático y parasimpático tras 8 meses de entrenamiento de resistencia

aeróbica en sujetos sanos. Su principal hallazgo en lo que respecta a la frecuencia cardíaca fue que la bradicardia presente en los individuos entrenados dependía exclusivamente de mecanismos nerviosos y, por tanto, no obtuvieron modificaciones de la frecuencia cardíaca intrínseca (tras el bloqueo colinérgico y adrenérgico).

B) Conducción.

En cuanto a la conducción auricular, el entrenamiento no produce grandes cambios electrocardiográficos en la morfología, duración y voltaje de la onda P, pero pueden encontrarse ondas P melladas con una duración alargada, que se consideran secundarias a un trastorno en la conducción interauricular propio de una hipervagotonía, con una incidencia del 2% en la población deportiva general (Boraita y Serratosa, 1998).

Por lo que respecta a la conducción ventricular, en el electrocardiograma del deportista puede encontrarse un ligero incremento en la anchura del complejo QRS que se atribuye a un retraso en la despolarización ventricular secundario al aumento de masa ventricular (Boraita y Serratosa, 1998).

No obstante, la modificación más característica puede observarse en la conducción auriculoventricular. Así, dependiendo del tipo de deporte que se estudie, la ocurrencia de bloqueo auriculoventricular oscila entre el 27,5 y el 40 % para el bloqueo de primer grado, y el 15 y el 22 % para el de segundo grado tipo I, frente al 5 y al 2,5 %, respectivamente, de los grupos control (Palatini y cols., 1985; Talan y cols., 1982; Viitasalo y cols., 1982).

La coexistencia del bloqueo AV tipo I en deportistas, junto con una disminución de la frecuencia cardíaca, apoya que este bloqueo es inducido por el entrenamiento (Bjornstajd y cols., 1993). El hecho de que la reversión de los bloqueos auriculoventriculares, que aparecen también en atletas (Bjornstad y cols., 1994) pueda ocurrir durante el ejercicio, permite atribuir la depresión de la conducción AV por el entrenamiento a un aumento del tono vagal (Northcote y cols., 1989).

C) Refractariedad.

En lo que respecta a la excitabilidad miocárdica, diferentes trabajos han estudiado el efecto del entrenamiento físico sobre determinados procesos electrofisiológicos relacionados con la refractariedad miocárdica. Así, Brorson y cols. (1976), investigaron en humanos los efectos del entrenamiento físico sobre el potencial de acción monofásico en células auriculares, observando un aumento de la duración del mismo en el grupo de individuos entrenados.

Otros autores como Tibbits y cols. (1981), estudiando el efecto del entrenamiento físico sobre el acoplamiento de la excitación-contracción miocárdica, encontraron también un aumento en la duración del potencial de acción de las células ventriculares en el grupo entrenado, que dichos autores atribuyeron a un incremento en la entrada de calcio. En esta misma línea, Gwathmey y cols. (1990), en un estudio experimental investigando el efecto combinado del entrenamiento físico y del envejecimiento sobre algunos parámetros electrofisiológicos, observaron un aumento del potencial de acción de las células miocárdicas ventriculares en el grupo entrenado, explicado con los mismos mecanismos.

Por otro lado, Hamra y McNeil (1997) estudiaron si el ejercicio físico crónico alteraba la respuesta electrofisiológica celular ante agonistas adrenérgicos y colinérgicos. Los resultados indicaron que el acortamiento del potencial de acción inducido por el isoproterenol (agonista β -adrenérgico) era similar en los animales sedentarios y los entrenados; de igual modo, la ACh no alteró las características del potencial de acción en ambos grupos. Estos resultados parecen indicar que el entrenamiento físico no influye sobre la respuesta y las interacciones adrenérgicas/colinérgicas a nivel celular.

D) Arritmias.

Como ya se ha comentado en líneas anteriores, las alteraciones en cuanto al ritmo (automatismo) son frecuentes en el individuo que practica ejercicio físico de forma regular. Las alteraciones en la conducción suelen observarse en los deportistas implicados en disciplinas con un predominio de los componentes dinámico y aeróbico. Además de éstas, pueden encontrarse otra serie de alteraciones en el corazón del deportista.

Por un lado, se ha relatado una mayor incidencia de arritmias auriculares como extrasístoles auriculares aisladas y dobletes auriculares en individuos entrenados (Talan y cols., 1982). Asimismo, Palatini y cols. (1985) investigaron la prevalencia de arritmias ventriculares en deportistas de resistencia de alto nivel (20 ciclistas y 20 corredores). Los resultados de este estudio mostraron que en el grupo de los atletas aparecía un mayor número de extrasístoles ventriculares (25% versus 5% en el grupo de individuos sedentarios). No encontraron diferencias en la incidencia de dichas arritmias entre ciclistas y corredores.

Northcote y cols. (1989), comparando el ECG durante el ejercicio de corredores veteranos con sujetos control, observaron que cumplía criterios de isquemia (depresión del segmento ST mayor de 1 mm ocurriendo a los 0,08 segundos después del punto J); no obstante, la mitad de ellos presentaron una arteriografía coronaria normal, que es más de lo esperable en la población normal libre de síntomas. Asimismo, Boraita y Serratosa (1998), encontraron que el patrón de repolarización precoz es típico en el deportista, asociado habitualmente con ondas T negativas en la derivación V₁ y ondas U prominentes en las derivaciones precordiales del ECG, 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, 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.

Las arritmias que se dan en el deportista suelen ser escasas y generalmente benignas (Boraita y Serratosa 1998). Estos autores, citando a Viitasalo (1982), Zehender (1990) y Chamoux (1983), concluyeron que "el deporte no es un factor arritmogénico 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".

No obstante, recientes estudios observacionales han puesto de manifiesto la preocupación en el caso del deporte de alta competición. A pesar de los incuestionables beneficios del mantenimiento de un estilo de vida saludable gracias a la realización de

ejercicio físico de forma regular, el entrenamiento de alto nivel podría estar asociado con un aumento del riesgo de aparición de arritmias cardíacas que pueden ser letales para el individuo. Estudios epidemiológicos como el de Aizer y cols. (2009) han mostrado que el entrenamiento de resistencia de elevada intensidad puede promover la aparición de fibrilación auricular y también se ha observado la presencia de taquiarritmias ventriculares complejas en sujetos muy entrenados (Biffi y cols., 2002; Ector y cols., 2007). Es por ello que algunos autores plantean la posibilidad de que el entrenamiento de resistencia de alto nivel pueda promover, a largo plazo, el desarrollo de un sustrato arritmogénico en el corazón. En esta línea, Benito y cols. (2011) han relatado el remodelado que produce un ejercicio de muy alta intensidad y larga duración en un modelo experimental de rata, demostrando una serie de cambios negativos en cuanto a la función cardíaca, contenido de tejido fibrótico, marcadores de fibrosis y susceptibilidad ante las arritmias. Dichos cambios revertían sustancialmente tras el cese de este tipo de ejercicio. Estos autores han sugerido que el ejercicio de resistencia de alta intensidad y larga duración (como el que suele realizarse en la alta competición de algunas disciplinas deportivas) puede promover un remodelado cardíaco potencialmente arritmogénico.

1.2.5. Modificaciones intrínsecas del automatismo, conducción y refractariedad miocárdicas.

Como hemos visto en el apartado anterior, existe una opinión generalizada de que las modificaciones que el entrenamiento físico produce sobre las diferentes propiedades electrofisiológicas cardíacas son reflejo de un incremento en el tono vagal. Sin embargo, el atribuirle únicamente a la acción nerviosa dichos cambios puede darnos una visión incompleta sobre de la naturaleza de tales adaptaciones. Así, otros autores han sugerido la participación de modificaciones de tipo intrínseco, esto es, no mediadas por factores externos al propio miocardio, en las modificaciones electrofisiológicas producidas por el entrenamiento.

A) Automatismo.

La visión tradicional consiste en que el entrenamiento de resistencia aeróbica disminuye la frecuencia cardíaca gracias a un aumento del tono vagal; no obstante, esta afirmación es discutible según la información aportada por varias investigaciones que se describirán a continuación.

Lewis y cols. (1980) trataron de determinar la existencia de un componente no autonómico en la bradicardia, comparando la frecuencia cardíaca intrínseca de ciclistas altamente entrenados con sujetos sedentarios, tanto en reposo como durante el ejercicio submáximo en cicloergómetro. Tras efectuar el bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo en las dos condiciones anteriormente mencionadas obtuvieron que la frecuencia cardíaca intrínseca era significativamente menor en el grupo de individuos entrenados, tanto en reposo como durante el ejercicio, evidenciando así un importante componente no autonómico de la bradicardia tanto en reposo como tras el ejercicio.

Poco después, Katona y cols. (1982) intentaron construir un modelo matemático de las influencias tanto simpáticas como parasimpáticas en la frecuencia cardíaca de los individuos entrenados, en este caso remeros de élite. Para poder caracterizar estas influencias efectuaron un bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo con propranolol y atropina. El resultado de dicho bloqueo fue que la frecuencia cardíaca de los atletas tenía un valor significativamente menor que la de los individuos sedentarios,

por lo que concluyeron que la disminución de la frecuencia del corazón en individuos entrenados se debía a una disminución de la frecuencia cardíaca intrínseca y no al aumento del tono parasimpático.

Posteriormente, Stein y cols. (2002) llevaron a cabo una investigación para evaluar las características electrofisiológicas del nodo SA en atletas de resistencia y compararlas con sujetos sedentarios tras el bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo con propranolol y atropina. Como resultado, obtuvieron que tanto la longitud del ciclo como el tiempo de recuperación del nodo SA eran más largos en los deportistas, después del bloqueo con atropina y tras la administración de propranolol para el bloqueo autonómico completo. En la misma línea que los anteriores estudios, volvió a evidenciarse que los efectos del entrenamiento físico en el automatismo sinusal están relacionados con el funcionamiento intrínseco del corazón y no sólo con la influencia del sistema nervioso autónomo.

Por lo que respecta a estudios experimentales en corazón aislado, y por tanto no sometido a influencias nerviosas extrínsecas ni humorales, Tipton y cols. (1977) llevaron a cabo una serie de experimentos en corazones de ratas entrenadas, con el fin de estudiar la bradicardia producida por el entrenamiento, aunque los resultados no pudieron demostrar la influencia del ejercicio físico sobre la frecuencia cardíaca. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Nylander y cols. (1982) quienes, utilizando el mismo modelo animal, observaron que la bradicardia desarrollada por los animales en reposo y durante el ejercicio ante cargas de trabajo submáximas seguía presente tras el aislamiento y perfusión del corazón en un sistema de tipo Langendorff. Según estos autores, estos resultados proporcionaban así una evidencia más a favor de la presencia de un componente no nervioso en la bradicardia inducida por el entrenamiento físico.

En esta misma línea, nuestro grupo de investigación ha sugerido que la naturaleza de estas modificaciones puede tener su origen en mecanismos miocárdicos intrínsecos que pueden intervenir también, al menos en parte, en la aparición de una depresión del cronotropismo sinusal. Así, Such y cols. (2002), en un estudio experimental realizado en conejos sometidos a un protocolo de ejercicio físico en tapiz rodante de 6 semanas de duración hallaron que, en el corazón aislado procedente de animales entrenados, la

frecuencia cardíaca basal era menor que en los corazones de animales control no sometidos a entrenamiento.

B) Conducción.

Como ya se ha mencionado en el apartado anterior, la principal modificación que tiene lugar por el entrenamiento físico es la aparición de bloqueos auriculoventriculares de primer grado y, con mucha menos frecuencia, de segundo grado (Talan y cols., 1982, Viitasalo y cols., 1982 y Viitasalo y cols., 1984).

Además de por la acción de un elevado tono vagal en reposo, algunos autores han intentado explicar la aparición del bloqueo AV en deportistas como resultado de una serie de modificaciones no vinculadas al sistema nervioso, como puede ser un daño miocárdico (Bjornstad y cols., 1991), o la hipertrofia ventricular. En este sentido, Bjornstad y cols. (1993) encontraron una incidencia aumentada de bloqueos AV en sujetos con hipertrofia ventricular izquierda.

Asimismo, para evaluar el papel del sistema nervioso autónomo sobre la conducción AV, Stein y cols. (2002) estudiaron las características electrofisiológicas de este parámetro en atletas de resistencia, comparándolas con sujetos sedentarios y utilizando también el bloqueo farmacológico de los sistemas simpático y parasimpático con propranolol y atropina, respectivamente. Los resultados obtenidos indicaron que parámetros utilizados para evaluar la conducción como la longitud del ciclo de Wenckebach o la longitud del intervalo AV eran más largos en el grupo de deportistas que en los sujetos control y, además, esta diferencia se mantenía tras el bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo, apuntando a que dichas modificaciones no dependían únicamente de la acción del sistema nervioso.

En cuanto al efecto del entrenamiento sobre la conducción auriculoventricular intrínseca, Such y cols. (2002) relataron que el ejercicio físico crónico produce una depresión de la conducción del nodo auriculoventricular, evidenciada con un incremento en la longitud del ciclo de Wenckebach en los corazones aislados procedentes del grupo de animales entrenados.

C) Refractariedad.

Con respecto al efecto del entrenamiento físico sobre la refractariedad miocárdica intrínseca, se dispone de muy poca información. Estudios experimentales como el realizado por Such y cols. (2002), mostraron que el entrenamiento físico modificó el periodo refractario funcional ventricular, siendo éste mayor en el grupo de animales entrenados. En un estudio posterior en el que se utilizó un protocolo de entrenamiento con una intensidad menor, Such y cols. (2008) observaron un incremento en la refractariedad ventricular de los animales entrenados al analizar esta propiedad electrofisiológica tanto con el test del extraestímulo ventricular, como de manera indirecta con la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular. Los resultados de estos estudios parecen indicar, pues, que el entrenamiento físico incrementa la refractariedad ventricular intrínseca.

En cuanto a la refractariedad auricular intrínseca, también se dispone de poca información acerca del efecto del entrenamiento físico sobre esta propiedad electrofisiológica. López (2008) no encontró diferencias en la refractariedad auricular intrínseca de corazones procedentes de animales entrenados en comparación con animales control. En la misma línea, Such y cols. (2008), utilizando un protocolo de entrenamiento de menor intensidad, no observaron ningún cambio en el periodo refractario efectivo ni funcional auricular en el grupo de animales entrenados.

Por último, en un estudio realizado en humanos para investigar las adaptaciones electrofisiológicas al ejercicio físico de los nodos SA y AV, Stein y cols. (2002) refieren que los deportistas sometidos a bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo presentaron una modificación de la refractariedad intrínseca en el sistema de conducción auriculoventricular respecto a los sujetos control, siendo el período refractario efectivo del nodo AV mayor en el grupo de sujetos entrenados.

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

Se sabe que entrenamiento de resistencia aeróbico modifica propiedades electrofisiológicas cardíacas como el cronotropismo sinusal y el dromotropismo auriculoventricular. En efecto, un descenso de la frecuencia cardíaca y una depresión de la conducción han sido bien documentados en estudios humanos y experimentales (Katona y cols., 1982; Bedford y Tipton, 1987; Stein y cols., 2000). Tradicionalmente, se ha propuesto que tales modificaciones son resultado de un aumento de la actividad parasimpática en reposo (Bedford y Tipton, 1987; Seals y Chase, 1989; Shi y cols., 1995). No obstante, los resultados presentados por otras investigaciones en las que se utilizó el bloqueo del sistema nervioso autónomo tras finalizar el periodo de entrenamiento, han demostrado la implicación de mecanismos de tipo intrínseco en la bradicardia (Lewis y cols., 1980; Katona y cols., 1982; Negrao y cols., 1992; Bonaduce y cols., 1998; Stein y cols., 2002) y la depresión de la conducción auriculoventricular (Stein y cols., 2002) del individuo entrenado, ya que éstas se mantenían incluso tras el bloqueo farmacológico del sistema nervioso simpático y parasimpático. Resultados similares han sido obtenidos en modelos experimentales de corazón aislado (y, por tanto, no sometido a la influencia de factores nerviosos extrínsecos ni humorales), no sólo en el cronotropismo sinusal (Nylander y cols., 1982; Such y cols., 2002; 2008) y la conducción auriculoventricular (Such y cols., 2002), sino también sobre la refractariedad ventricular, que incrementa con el entrenamiento físico (Such y cols., 2002; 2008).

Por otro lado, estudios recientes han demostrado que existe un complejo sistema nervioso intracardíaco que no es solamente una "estación de relé" de las eferencias del sistema nervioso autónomo. Así, el corazón posee neuronas parasimpáticas postganglionares distribuidas en cada uno de los ganglios intracardíacos, tanto auriculares como ventriculares (Papka, 1976; Pardini y cols., 1987; Armour, 2004; Johnson y cols., 2004) que pueden presentar actividad espontánea incluso después de la descentralización aguda (Gagliardi y cols., 1988; Armour y Hopkins, 1990a; 1990b). De este modo, el sistema nervioso intrínseco cardíaco podría modificar la actividad del corazón, aún desconectado de los centros nerviosos superiores (Johnson y cols., 2004; Gray y cols., 2004).

Actualmente, la función precisa y relevancia fisiológica del sistema nervioso intrínseco cardíaco se desconoce (Armour, 2004). Es por ello que el sistema nervioso parasimpático intrínseco podría estar implicado en las modificaciones que el entrenamiento físico produce sobre las propiedades electrofisiológicas miocárdicas anteriormente mencionadas. De hecho, la ACh ejerce efectos significativos sobre las propiedades electrofisiológicas cardíacas de una manera similar a los cambios observados por el entrenamiento físico: produce un descenso de la frecuencia cardíaca (Prystowsky y cols., 1983), deprime la conducción e incrementa la refractariedad auriculoventricular (Trautwein 1963; Prystowsky y cols., 1979; Takahashi y Zipes 1983) e incrementa la refractariedad ventricular, hecho que ha sido observado tanto en estudios experimentales (Martins y Zipes 1980; Inoue y Zipes 1987; Litovsky y Antzelevitch 1990) como en humanos (Prystowsky y cols., 1981; Morady y cols., 1988; Ellenbogen y cols., 1990; Shimizu y cols., 1994).

Puesto que las modificaciones electrofisiológicas que el entrenamiento físico produce en el corazón aislado sobre el automatismo, la conducción y la refractariedad son similares a los efectos producidos por la estimulación parasimpática, y dado que las neuronas parasimpáticas postganglionares se encuentran intactas en el corazón aislado y pueden presentar actividad espontánea, nuestra hipótesis de trabajo es que dichas modificaciones están mediadas por la actividad del sistema nervioso parasimpático intrínseco. Por tanto, el principal objetivo de este trabajo es investigar el papel de las neuronas parasimpáticas postganglionares en las modificaciones que el entrenamiento físico produce sobre el automatismo, la conducción y la refractariedad miocárdicas en un modelo de corazón aislado.

1.4. Plan de trabajo.

Para el desarrollo de esta tesis doctoral se organizaron las tareas a realizar mediante el siguiente plan de trabajo:

1. Búsqueda bibliográfica, diseño experimental y temporalización de los experimentos. Puesta a punto del instrumental y del protocolo.
2. Aplicación del protocolo de ejercicio físico en tapiz rodante en los animales pertenecientes al grupo entrenado. Durante el mismo tiempo que tiene lugar el protocolo de entrenamiento se lleva a cabo la estabulación, bajo unas condiciones control y sin realizar ejercicio físico, de otro grupo de animales.
3. Tras el período de entrenamiento y/o estabulación, se procede con la preparación experimental, aislando los corazones de ambos grupos de animales.
4. Aplicación del protocolo electrofisiológico necesario para el estudio de los diferentes parámetros de automatismo, conducción y refractariedad.
5. Procesado y tratamiento de los registros obtenidos para extraer la información de los parámetros objeto de estudio.
6. Análisis de los resultados obtenidos, realizando la comparación entre los diferentes grupos experimentales. Para ello se aplicaron los tests estadísticos adecuados que permitieron extraer las correspondientes conclusiones.
7. Redacción del proyecto de tesis doctoral.

Capítulo 2.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES.

2.1.1. Animales de experimentación.

El presente estudio ha sido realizado con 32 conejos machos de raza White New Zealand (*oryctolagus cuniculus*), con una edad de 9 semanas y un peso medio de $2,02 \pm 0,1$ Kg al inicio del periodo de entrenamiento o estabulación. Tras este periodo, los animales con los que se realizó la preparación experimental y el estudio electrofisiológico tenían una edad de 16 semanas y un peso medio de $3,7 \pm 0,3$ kg.

Los animales se mantuvieron en el animalario de la Unidad Central de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universitat de València (E. G.), bajo condiciones controladas y constantes de temperatura ($21-23^{\circ}$), humedad relativa (31%) y ciclos de luz artificial-oscuridad de 12 horas. Cada conejo estuvo alojado en una jaula individual de dimensiones reglamentarias (RD 1201/2005) y se utilizó viruta de nogal Lignocel UBK 1500/3000 para mantenerlos en las condiciones de limpieza más adecuadas. El acceso a agua y comida fue *ad libitum*, siendo la dieta pienso estándar (Harlan Teklad Global Rabbit Diet) con un valor calórico de 2,4 Kcal/g. En la tabla que aparece a continuación se muestra su composición:

Agua	12%
Proteínas	16,5%
Grasa	3,5%
Fibra	15,5%
Ceniza	8,5%

Tabla 2.1. Composición del pienso utilizado para alimentar a los animales.

Se realizó una supervisión diaria de todos los animales mediante la observación directa e inspección cuando se consideró necesaria. Además, se registró diariamente tanto el peso como la cantidad de alimento y agua ingeridos como medida de control de su estado de salud.

2.1.2. Reactivos.

Los reactivos utilizados en la preparación experimental de las distintas soluciones utilizadas fueron los siguientes:

- CaCl_2 , MgCl_2 , KCl , NaH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl y glucosa de Panreac Química® para la preparación de la solución de Tyrode.
- Heparina sódica al 5% de Mayne Pharma®, para la heparinización del animal.
- Ketamina Ketolar® de Parke-Davis®, para la anestesia del animal.
- Atropina (*atropine sulfate monohydrate*) de Sigma-Aldrich Química®, para bloquear los receptores muscarínicos cardíacos.

2.1.3. Aparatos.

- Balanza de precisión (Precisa Balances®) y balanza Soehnle®.
- Tapiz rodante para conejos LE8700 de Panlab®. El tapiz rodante estaba compuesto por una cinta rodante (figura 2.1A) y una unidad de control (figura 2.1B).

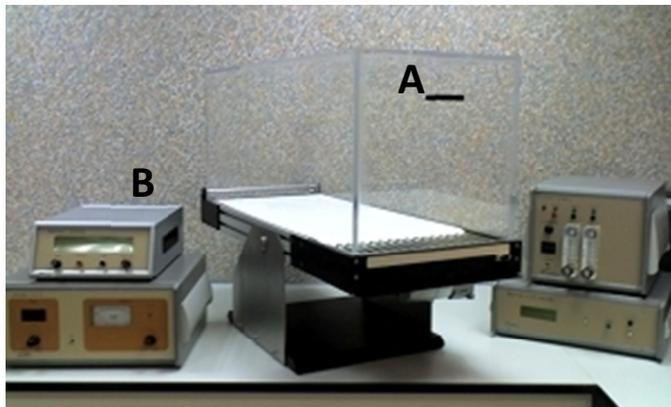


Figura 2.1. Tapiz rodante (A) con su correspondiente unidad de control (B).

En la tabla 2.2 puede verse una descripción detallada de las especificaciones del sistema. La cinta rodante tiene una velocidad y pendiente ajustables de 0 a $150 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ y de -25° a 25° , respectivamente. El tapiz dispone de una anchura suficiente para que el animal pueda corregir sus errores de coordinación, permitiendo una observación exacta de la fatiga sin que se produzcan deficiencias de la coordinación motora. La unidad de control permite regular la velocidad de la cinta, muestra la información de la distancia

recorrida, tiempo empleado, el número y la duración de las descargas y permite la comunicación con el ordenador para almacenar datos y controlar la velocidad. Las pequeñas descargas proporcionadas cuando el animal se deja llevar hasta el final de la cinta son de una intensidad constante (de 0 a 2 mA).

Velocidad de la cinta	ajustable de 0 a 150 cm·s ⁻¹
Superficie de la cinta	450 mm de largo x 100 mm de ancho
Parrilla de descargas	190 mm de largo x 100 mm de ancho
Rango de corriente	ajustable de 0 a 2 mA
Pendiente	ajustable de -25° a 25°

Tabla 2.2. Especificaciones del tapiz rodante para conejos LE8700.

- Sistema de destilación de agua Millipore®.
- Sistema de estimulación:
 - Electrodo bipolares de acero inoxidable para estimulación eléctrica miocárdica, tanto auricular como ventricular, con un diámetro de 0,125 mm, y distancia interelectrodo de 1 mm.
 - Estimulador Grass S88® (Grass Instruments® Inc., Quincy, M.A., EE.UU.) provisto de una unidad de aislamiento de estímulos (SIU5). El estimulador permite emitir pulsos de corriente y controlar parámetros tales como la frecuencia de estimulación, el número, la intensidad y la duración de los estímulos.
 - Sistema controlado por computación conectado al estimulador para la emisión de los pulsos de corriente de forma programada.



Figura 2.2. Estimulador Grass S88®.

- Electrodo 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 por 256 electrodos unipolares de acero inoxidable con un diámetro de 0,125 mm y una distancia interelectrodo de 1 mm.



Figura 2.3. Electrodo múltiple de registro.

- Sistema de cartografía epicárdica de la actividad eléctrica Maptech® (Waalre, Holanda), que fue utilizado para el procesado de los registros electrográficos ventriculares. Los electrogramas se amplificaron con una ganancia de 100 a 300, se filtraron eliminando las frecuencias situadas fuera de la banda comprendida entre 1 y 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 en un ordenador preparado para la adquisición de los registros electrográficos.

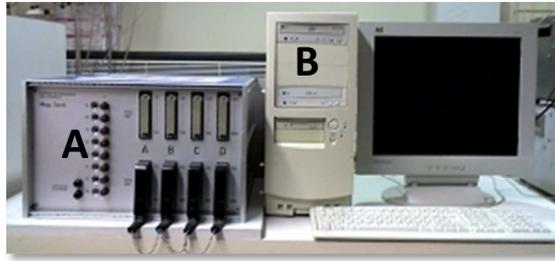


Figura 2.4. Sistema de cartografía MAPTECH®(A) conectado a un ordenador de sobremesa (B) preparado para la adquisición y registro de la actividad eléctrica cardíaca.

- Sistema de perfusión del corazón, compuesto por un sistema de soporte metabólico tipo Langendorff, una bomba peristáltica (Cole-Parmer® Instrument co.) y una bomba circulante de calentamiento (Neslab® Instrument, inc).

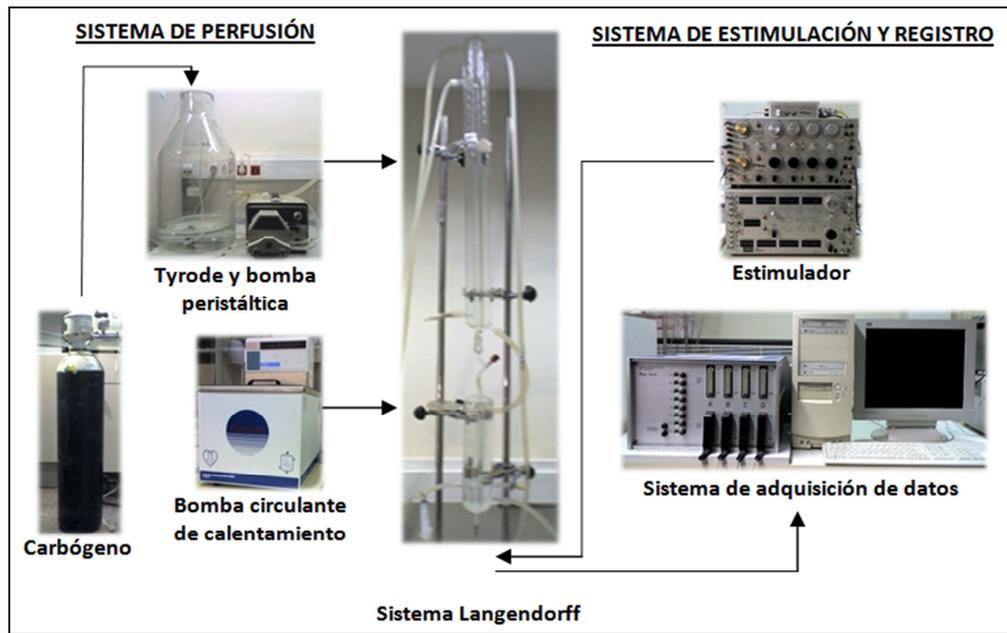


Figura 2.5. Esquema de una preparación de corazón aislado de conejo. El líquido nutricional (Tyrode) se almacena en un recipiente conectado a una bala de carbógeno y es bombeado al sistema gracias a una bomba peristáltica. El líquido nutricional se calienta hasta llegar al corazón gracias a la acción de una bomba que mantiene agua destilada a 40 °C circulando en el sistema. La estimulación se realiza directamente sobre el corazón mediante una serie de electrodos conectados a un estimulador y los registros son recogidos por un sistema de adquisición de datos.

- Bomba de infusión KDS100 (KD Scientific, EE.UU), que fue utilizada para administrar las dosis de atropina.



Figura 2.6. Bomba de infusión KDS-100.

- Desfibrilador, diseñado en la Universidad Politécnica de Valencia gracias a un proyecto de colaboración con el grupo de bioingeniería del instituto ITACA (BioITACA). El aparato está compuesto por: una unidad de control y dos palas que se conectan a la unidad de control, que son colocadas directamente en la superficie epicárdica del corazón para aplicar el choque. El aparato permitía regular la intensidad del choque (2-10 J) y el tipo de onda aplicado en la descarga (monofásica o bifásica).

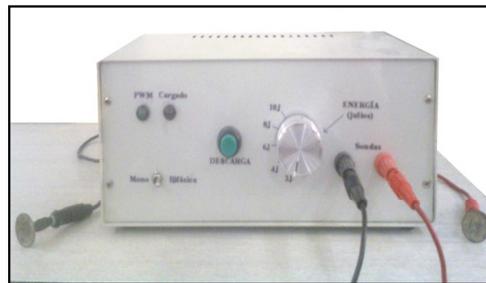


Figura 2.7. Desfibrilador manual.

2.1.4. Programas informáticos:

- Pacemap® (octubre de 2002), programa utilizado para la monitorización, adquisición y registro de las señales eléctricas cardíacas y su posterior análisis. Este programa almacena los registros en el disco duro del ordenador, siendo la extracción de los archivos requeridos una tarea sencilla y rápida. Una vez recuperados los archivos, permite el tratamiento de la señal registrada por cada uno de los electrodos.

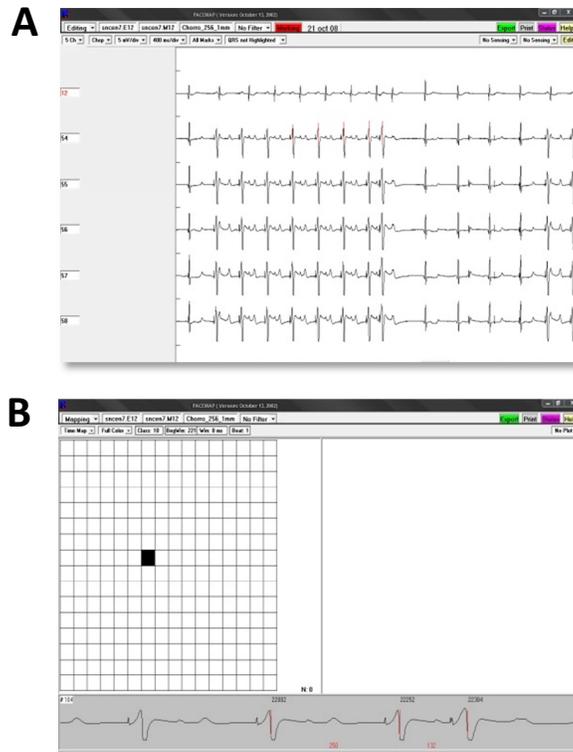


Figura 2.8. Detalle del programa Pacemap®. (A) Pantalla en la que aparece el electrograma auricular (primera fila) y los electrogramas correspondientes a 5 electrodos ventriculares de los 240 utilizables. (B) Medición realizada en uno de los electrodos que componen la matriz del electrodo múltiple, en la parte baja de la pantalla puede verse parte del electrograma correspondiente al electrodo seleccionado. Cada una de las celdas corresponde a cada uno de los 256 electrodos de la matriz.

- Matlab® 7.6.0 (octubre de 2008), programa que ofrece un entorno de desarrollo integrado con un lenguaje de programación propio, sobre el que se ha programado diversas aplicaciones para el tratamiento de los datos del estudio.
- MedMap 2.1, aplicación desarrollada bajo el entorno MatLab®, utilizada fundamentalmente para la comprobación y validación de mapas y espectros de frecuencia de las señales de fibrilación ventricular. Se le ha dotado de la capacidad de importar los archivos de señales generados por el programa PaceMap®, automatizado el cálculo de las frecuencias dominantes de los espectros y optimizado el cálculo estadístico por matrices de electrodos.

Antes de procesar la señal para obtener los parámetros estudiados, se realizó un tratamiento pre-proceso para analizar la calidad de la señal de cada uno de los electrodos

válidos de entre los 240 posibles. Se rechazaron aquellos electrodos que presentaban una señal con una baja amplitud o aquéllos en los que no se capturaba la actividad eléctrica cardíaca. Para estudiar la evolución temporal de la fibrilación ventricular se procesaron segmentos consecutivos de 4 segundos.

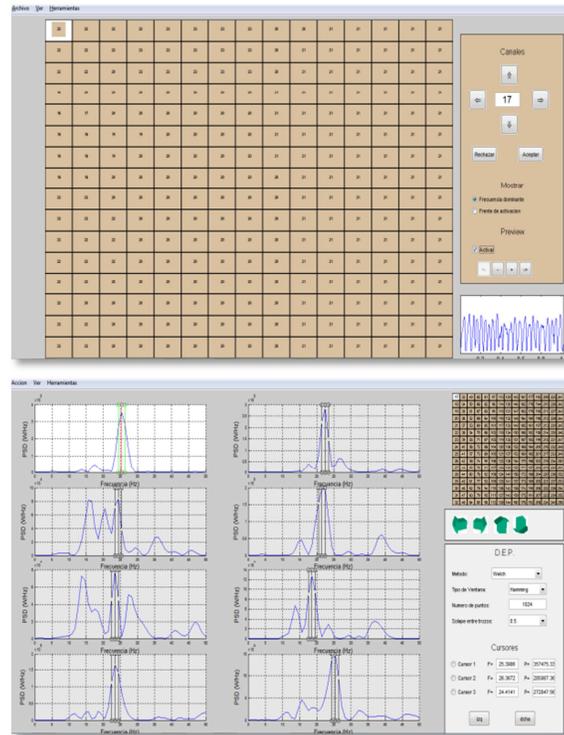


Figura 2.9. Detalle del programa Matlab® ejecutando la aplicación Medmap.

- SPSS® 15.0.1 (noviembre de 2006), paquete estadístico empleado para la gestión de datos y el análisis estadístico de los resultados.
- Microsoft Office 2007 (noviembre de 2006).

2.2. MÉTODOS.

2.2.1. Grupos de estudio.

Los animales fueron distribuidos en 3 grupos experimentales: entrenado, control y falso operado. El grupo entrenado estaba formado por 11 animales que fueron sometidos a un protocolo de entrenamiento físico durante seis semanas. El grupo control lo constituyeron otros 11 animales que no participaron en el protocolo de entrenamiento y que permanecieron estabulados durante dicho periodo. Por último, el grupo de animales falsos operados, constituido por 10 animales de características similares al grupo control. La diferencia de este grupo con el control radica en una variación del protocolo experimental que será detallada en el apartado 2.2.3.2.

2.2.2. Protocolo de entrenamiento físico.

Previamente a la iniciación de las sesiones de entrenamiento, los conejos fueron sometidos a una semana de familiarización con la cinta rodante en la que se habituaron a la dinámica de la carrera durante 6 minutos diarios (3 series de 2 minutos de duración con un minuto de descanso entre ellas). Tras esta semana de familiarización, los animales fueron asignados al grupo control, al grupo entrenado o al grupo falso operado.

Los conejos pertenecientes al grupo de animales entrenados fueron sometidos a un protocolo de entrenamiento físico en cinta rodante durante 6 semanas, a razón de 5 sesiones semanales en días consecutivos (de lunes a viernes). Cada sesión se compuso, a su vez, de 6 series de carrera continua sobre tapiz rodante, en cada una de las cuales el animal corrió a una velocidad de $0,33 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, ($20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$) durante 4 minutos. El intervalo de descanso entre cada una de las 6 series fue de 1 minuto. Así pues, el tiempo de entrenamiento total diario fue de 29 minutos.

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

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

2.2.3. Estudio electrofisiológico.

2.2.3.1. Preparación experimental.

La descripción de la preparación experimental puede verse gráficamente en la figura 2.10. Tras la heparinización (heparina 800 u. i.), y anestesia intravenosa de los conejos (ketamina 25 mg·kg⁻¹), a través de la vena marginal de la oreja (A), se sacrificaron mediante contusión cervical (B). Después de una toracotomía mediosternal y una pericardiotomía (C), se extrajo el corazón rápidamente, seccionándolo por su pedículo vascular, sumergiéndose en una solución de Tyrode a baja temperatura (1-5 °C) para su posterior manipulación (D). Tras seccionar la arteria pulmonar y a continuación diseccionar la arteria aorta ascendente, se conectó a través de la citada arteria a un sistema de Langendorff (E), donde se fijó mediante un hilo de seda de 1-2 mm de diámetro, perfundiendo retrógradamente al corazón con la solución de Tyrode a 37 ± 0.5°C (F), que contiene en concentración mM: 130 NaCl, 5.6 KCl, 2.2 CaCl₂, 0.6 MgCl₂, 1.4 NaH₂PO₄, 25 NaHCO₃, y 12.2 glucosa. El pH se mantuvo a 7,4. La oxigenación y soporte de pH de la solución de Tyrode se efectuó con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂). La presión de perfusión inicial se fijó en 60 mmHg.

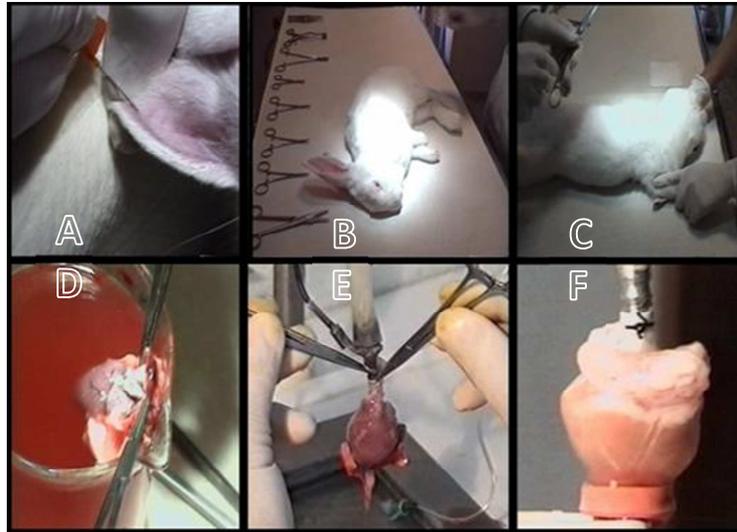


Figura 2.10. Preparación experimental.

Una vez ubicado el corazón en el sistema, se eliminaron los restos de los demás tejidos (pulmón, tráquea, restos de pericardio...) 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, de líquido por la aurícula izquierda, evitando así posibles acumulaciones de Tyrode en el ventrículo izquierdo en caso de que la válvula aórtica mostrara cierta insuficiencia para evitar, en este supuesto, la creación accidental de un modelo de *working heart* no deseado.

El sistema de perfusión tipo Langendorff, que hemos mostrado anteriormente en la figura 2.5, permite la llegada al corazón del oxígeno, del dióxido de carbono y de los nutrientes necesarios a través de la aorta ascendente. Se trata de una perfusión normógrada hacia el sistema de vasos coronarios.

El líquido de perfusión es impulsado desde un depósito exterior, donde se oxigena, hasta la parte más elevada del sistema de Langendorff por medio de una bomba peristáltica, tras un filtrado previo para evitar el paso de partículas de excesivo tamaño que pudiesen causar una posible obstrucción de los vasos coronarios. Una vez en el sistema tubular, el líquido va calentándose a medida que va descendiendo hacia el corazón hasta alcanzar una temperatura de 37 °C en la raíz de la aorta.

Los electrodos se dispusieron del siguiente modo (figura 2.11): se ubicó un electrodo bipolar para el registro del electrograma auricular en el haz interauricular de Bachman y el registro ventricular se realizó por medio de un electrodo múltiple con 256 electrodos unipolares de acero inoxidable, colocados en la superficie epicárdica plana de la pared libre del ventrículo izquierdo. El electrodo bipolar de estimulación auricular se situó en la aurícula izquierda, aprovechando la hendidura realizada para hacer insuficiente la válvula mitral, y fue utilizado para la realización del test del extraestímulo auricular. El electrodo bipolar de estimulación ventricular se ubicó en la pared libre del ventrículo izquierdo, en la zona anterolateral izquierda, siendo utilizado para la realización del test del extraestímulo ventricular e inducción de la FV mediante estimulación a frecuencias crecientes. El electrodo indiferente se ubicó sobre la aorta canulada. La grabación de los registros se obtuvo con un sistema de cartografía de la actividad eléctrica cardíaca (Maptech®). Los estímulos eléctricos se aplicaron con un estimulador Grass S88® (Grass Instruments® Inc., Quincy, M.A., U.S.A.) fijados a una unidad de aislamiento de estímulos (SIU).

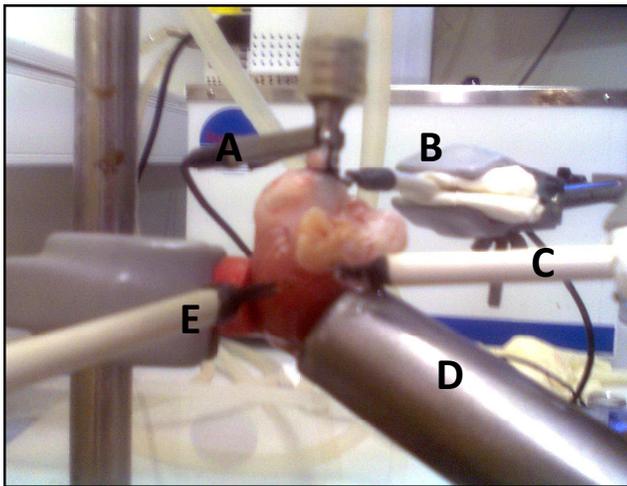


Figura 2.11. Colocación de los electrodos: A) electrodo indiferente; B) electrodo de registro auricular; C) electrodo de estimulación auricular; D) placa multi-electrodo de registro ventricular; E) electrodo de estimulación ventricular.

2.2.3.2. Protocolo experimental.

Se utilizó el mismo protocolo en el grupo control y en el grupo entrenado. Unos 20 minutos tras la colocación del corazón en el sistema, tiempo durante el cual se acabó de preparar el corazón para la ubicación de los electrodos y se estabilizó la preparación, se colocaron los electrodos tal y como ha sido descrito en el apartado anterior y, una vez colocados, se procedió con el inicio del protocolo experimental. Este protocolo (figura

2.12) constaba de dos grandes partes en las que se valoraron propiedades electrofisiológicas cardíacas como el automatismo, la conducción, la refractariedad (auricular, ventricular y del sistema de conducción) y el patrón fibrilatorio ventricular. Tras finalizar la primera parte del protocolo, se realizó una infusión continua de atropina disuelta en Tyrode a una concentración de $1\mu\text{M}$ para bloquear la posible acción del sistema nervioso parasimpático intrínseco, y se repitió el mismo protocolo con el fin de valorar cualquier posible modificación de las propiedades electrofisiológicas anteriormente mencionadas. En el grupo de animales falsos operados no se infundió atropina, sino Tyrode filtrado. El objetivo de este grupo era comprobar si la repetición del protocolo experimental o el transcurso del tiempo podían modificar los parámetros estudiados y así poder diferenciar estos posibles efectos de los producidos por el bloqueo colinérgico.

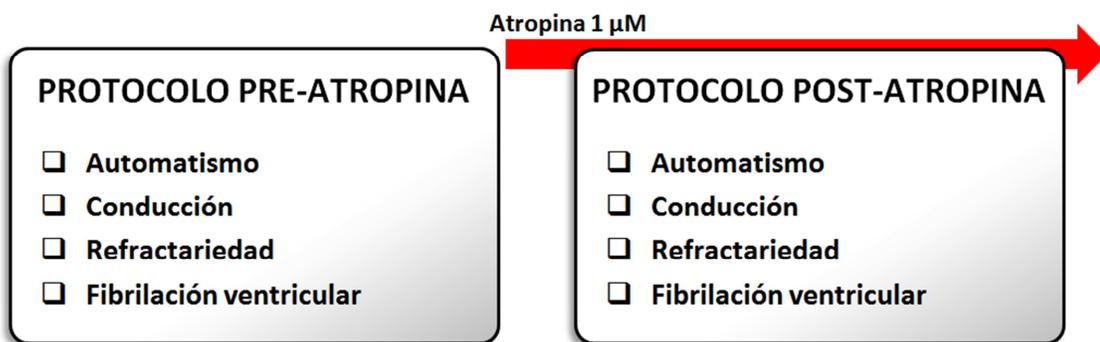


Figura 2.12. Esquema del protocolo electrofisiológico con las propiedades electrofisiológicas objeto de estudio en el presente trabajo.

A continuación se describirá de forma más detallada cada una de las partes que componían el protocolo electrofisiológico utilizado (figura 2.13). Antes de iniciar el protocolo, se realizó una medida del flujo coronario, tras lo cual se procedió de la siguiente manera:

1. Registro electrográfico basal para la determinación de la longitud de ciclo sinusal y la conducción auriculoventricular.
2. Determinación del umbral de estimulación auricular.
3. Estimulación auricular a frecuencias crecientes para determinar la longitud del ciclo de Wenckebach.

4. Registro electrográfico basal para la determinación de la longitud de ciclo sinusal espontáneo y ajustar la longitud del ciclo de estimulación del test del extra-estímulo auricular.
5. Test del extraestímulo auricular con diferentes ciclos de estimulación: un 10% menor que la longitud de ciclo sinusal basal, con 250, 200 y 150 ms. Esta prueba se utilizó para el estudio de la refractariedad auricular y de la refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular.
6. Registro electrográfico basal para la determinación de la longitud de ciclo sinusal espontáneo y ajustar la longitud del ciclo de estimulación del test del extra-estímulo ventricular.
7. Determinación del umbral de estimulación ventricular.
8. Test del extraestímulo ventricular con diferentes ciclos de estimulación: un 10% menor que la longitud de ciclo sinusal basal, con 250, 200 y 150 ms. Esta prueba se utilizó para el estudio de la refractariedad ventricular y de la refractariedad del sistema de conducción ventriculoaricular.
9. Estimulación ventricular a frecuencias crecientes para determinar la longitud del ciclo de Wenckebach. Una vez alcanzado dicho punto, se aumentó la intensidad de estimulación hasta el triple del umbral diastólico y se continuó estimulando hasta que se desencadenó la fibrilación ventricular. Se registró la entrada en fibrilación, deteniéndose en este momento la estimulación programada.
10. Registro continuo de 330 s de la actividad fibrilatoria, manteniéndose en todo momento la perfusión. Tras este tiempo, se procedió a revertir la arritmia utilizando un desfibrilador manual aplicando choques de 2 J de energía mediante una onda bifásica.
11. Estabilización durante 10 minutos de la actividad cardíaca tras revertir la fibrilación ventricular.
12. Medida del flujo coronario para fijar la velocidad de infusión de la bomba y registro electrográfico basal para la determinación de la longitud de ciclo sinusal espontáneo y la conducción auriculoventricular en el instante previo a la administración de atropina.

13. Infusión de atropina ($1\mu\text{M}$) durante 5 minutos con una velocidad de infusión calculada a partir del flujo coronario. La infusión se mantendría hasta la finalización del experimento.
14. Registro electrográfico basal para la determinación de la longitud de ciclo sinusal y la conducción auriculoventricular tras la administración de atropina. Medida del flujo coronario.
15. Repetición del protocolo electrofisiológico (2-11).
16. Medida del peso de los corazones.

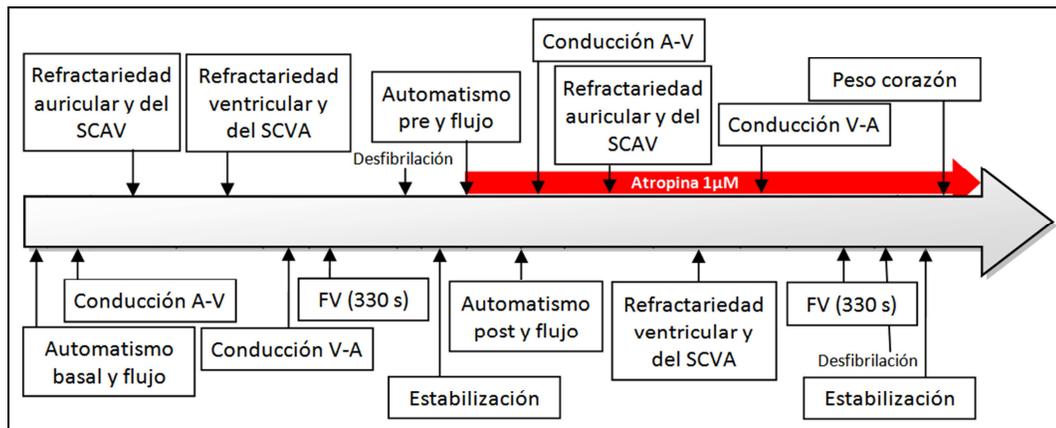


Figura 2.13. Esquema detallado del protocolo electrofisiológico.

2.2.3.3. Definición y determinación de los parámetros a investigar.

A) Definición de los parámetros.

- I. Parámetro electrofisiológico utilizado para valorar el automatismo sinusal:
 - Longitud de ciclo sinusal: es el tiempo, expresado en milisegundos, que existe entre una despolarización auricular o ventricular espontánea y la siguiente. Este parámetro tiene una relación inversa con la frecuencia cardíaca.

II. Parámetros electrofisiológicos utilizados para valorar la conducción auriculoventricular:

- Tiempo de conducción auriculoventricular (intervalo A-V): es el tiempo, expresado en milisegundos, que existe entre una despolarización auricular y la despolarización ventricular correspondiente.
- Longitud del ciclo de Wenckebach (LCW): se define como la mínima frecuencia de estimulación a la que se produce un bloqueo de tipo Wenckebach en la conducción auriculoventricular.
- Longitud del ciclo de Wenckebach retrógrado (LCWR): es la mínima frecuencia de estimulación a la que se produce un bloqueo de tipo Wenckebach en la conducción ventriculoauricular.

III. Parámetros electrofisiológicos utilizados para valorar la refractariedad miocárdica:

Antes de definir los parámetros electrofisiológicos utilizados para valorar refractariedad, se ilustran en la siguiente figura, de forma genérica, dos electrogramas correspondientes a los tests del extraestímulo auricular y ventricular para facilitar la comprensión de las definiciones de los diferentes parámetros.

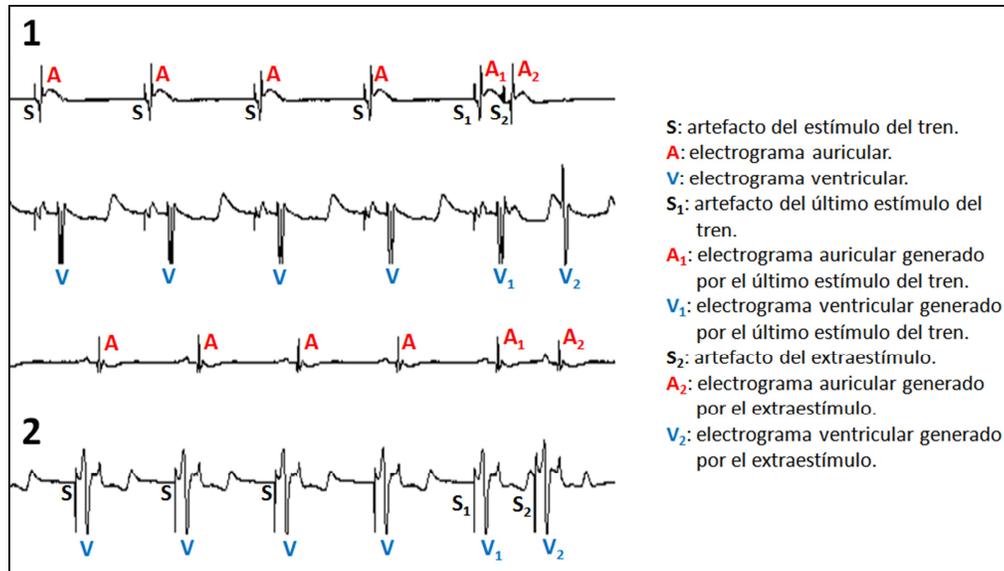


Figura 2.14.(1) Test del extraestímulo auricular en el que pueden observarse los diferentes estímulos del tren con sus correspondientes despolarizaciones auriculares y ventriculares, el extraestímulo acoplado tras la aplicación del tren de estímulos y sus correspondientes respuestas auriculares y ventriculares. (2) Test de extraestímulo ventricular en el que pueden observarse los diferentes estímulos del tren con sus correspondientes despolarizaciones ventriculares y auriculares, el extraestímulo acoplado tras la aplicación del tren de estímulos y sus correspondientes respuestas ventriculares y auriculares.

A continuación se definirán los parámetros a estudiar para evaluar la refractariedad miocárdica:

- Período 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).
- Período 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 electrograma generado por el último del tren fijo de estimulación y A_2 el electrograma auricular generado por el extraestímulo).
- Período refractario efectivo del sistema de conducción auriculoventricular (PRESCAV): es el intervalo A_1 - A_2 más largo, sin el V_2 correspondiente (electrograma ventricular generado por A_2).

- Período 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 intervalo V_1-V_2).
- Período refractario efectivo ventricular (PREV): es el máximo intervalo de acoplamiento del extraestímulo ventricular (S_1-S_2) sin captura ventricular (S_2 sin V_2).
- Período 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).
- Período refractario efectivo del sistema de conducción ventriculoauricular (PRESCVA): es el intervalo V_1-V_2 más largo, sin el A_2 correspondiente (electrograma auricular generado por el V_2).
- Período refractario funcional del sistema de conducción ventriculoauricular (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 intervalo A_1-A_2).

IV. Parámetros electrofisiológicos utilizados para valorar el patrón fibrilatorio ventricular:

- Frecuencia dominante media (FrDM) de la señal fibrilatoria: entendemos por frecuencia dominante de la FV como la frecuencia a la que la distribución espectral de potencia de la señal presenta la máxima amplitud (Ropella, 2001). En la figura 2.15 puede verse ilustrado el concepto de frecuencia dominante.

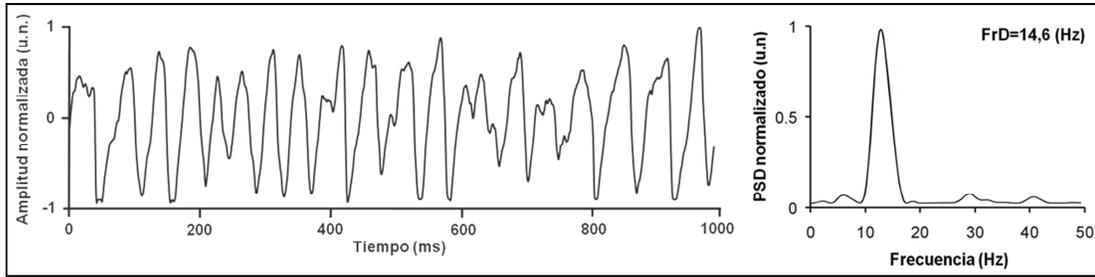


Figura 2.15. Serie temporal de un trazado fibrilatorio registrado por uno de los 256 electrodos ventriculares (izquierda) y espectro de potencia de una señal de fibrilación ventricular (derecha). Esquema detallado del protocolo electrofisiológico. PSD = densidad espectral de potencia; Hz = hercios; u.n. = unidades normalizadas; t = tiempo; ms = milisegundos.

B) Determinación de los parámetros.

I. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración del automatismo sinusal:

- Longitud del ciclo sinusal: se analizó mediante la medida del intervalo V-V, midiendo el tiempo entre dos despolarizaciones espontáneas ventriculares. Se ha utilizado el intervalo V-V para la determinación de la longitud del ciclo sinusal puesto que las despolarizaciones ventriculares son de mayor voltaje que las auriculares y que el tiempo entre dos despolarizaciones auriculares espontáneas consecutivas y entre sus respectivas despolarizaciones ventriculares, es idéntico (figura 2.16).



Figura 2.16. Determinación del intervalo V-V.

II. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la conducción:

- Longitud del intervalo A-V: el tiempo de conducción auriculoventricular se analizó con el intervalo A-V, midiendo el tiempo transcurrido entre la despolarización auricular y su correspondiente despolarización ventricular (figura 2.17).

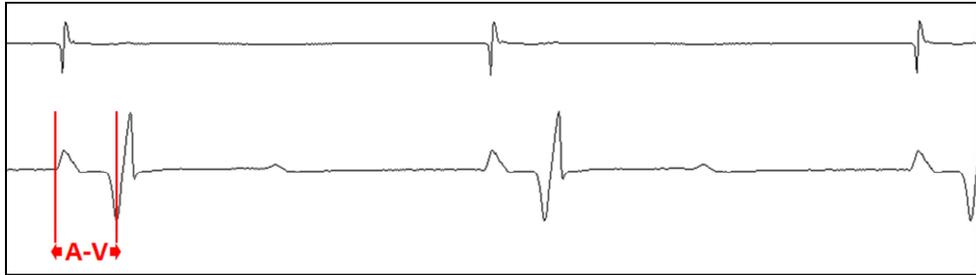


Figura 2.17. Determinación del intervalo A-V.

- Longitud del ciclo de Wenckebach (LCW): se analizó estimulando al corazón en la aurícula a frecuencias crecientes, utilizando estímulos con una intensidad doble al umbral diastólico de cada corazón y 2 ms de duración del pulso de corriente, hasta el punto en el que se produjo un bloqueo tipo Wenckebach en la conducción auriculoventricular. Se determinó la frecuencia de estimulación a la que se producía dicho bloqueo (figura 2.18).

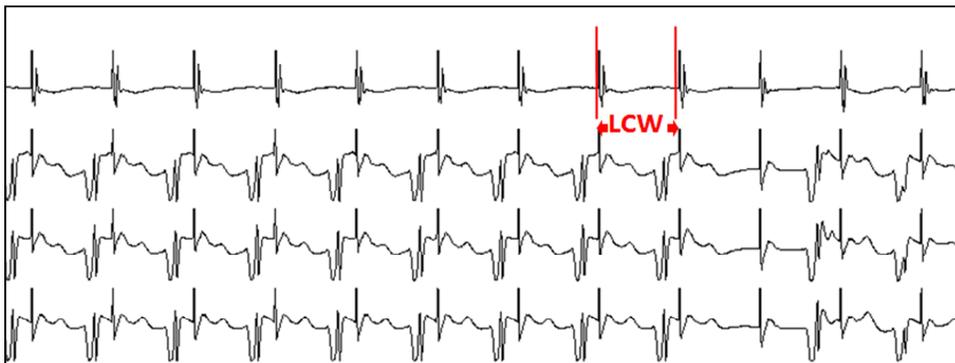


Figura 2.18. Determinación de la longitud de ciclo de Wenckebach (LCW).

- Longitud del ciclo de Wenckebach retrógrado (LCWR): se analizó estimulando al corazón desde el ventrículo izquierdo a frecuencia creciente, utilizando estímulos con una intensidad doble al umbral diastólico y 2 ms de duración del pulso de corriente, hasta el punto en el que se produjo un bloqueo tipo Wenckebach en la conducción ventriculoauricular. Se determinó la frecuencia de estimulación en la que aparecía dicho bloqueo (figura 2.19).

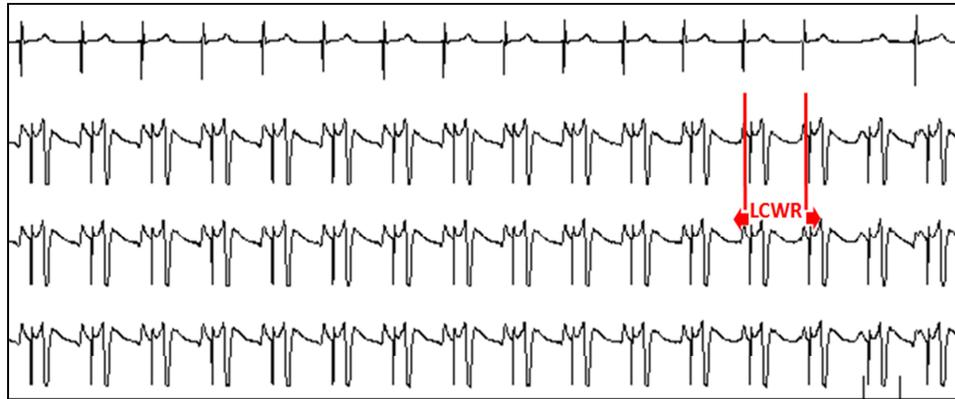


Figura 2.19. Determinación de la longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado (LCWR).

III. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de la refractariedad:

Para la determinación de los parámetros electrofisiológicos relacionados con la refractariedad miocárdica se utilizó el test del extraestímulo con diferentes longitudes de ciclo de estimulación y estímulos con una intensidad doble al umbral diastólico y 2 ms de duración del pulso de corriente. Para ello, se utilizaron trenes de 10 estímulos a los que se iba acoplado un extraestímulo a razón de 5 ms por tren. Las longitudes de ciclo de estimulación de los diferentes trenes fueron de un 10% inferior a la frecuencia cardíaca espontánea, de 250, de 200 y de 150 ms para cada una de las determinaciones de refractariedad miocárdica estudiada. A continuación se describen el proceso empleado para determinar los distintos parámetros utilizados para valorar la refractariedad auricular, ventricular y del sistema de conducción.

- Refractariedad auricular: se determina mediante el test del extraestímulo auricular, estimulando a la aurícula mediante trenes de 10 estímulos a

frecuencia fija, seguidos de un extraestímulo. Este extraestímulo se va aproximando al último estímulo del tren en intervalos de 5 ms, hasta que desaparece la respuesta auricular correspondiente al extraestímulo auricular (es decir, nos encontramos con un S_2 sin su A_2). Con ello determinamos los periodos refractarios. El programa utilizado (Pacemap®) nos permitió medir el tiempo en milisegundos de los periodos refractarios efectivo (PREA) y funcional (PRFA) de la aurícula, tal y como se definió en el apartado anterior (figura 2.20).



Figura 2.20. Determinación de la refractariedad auricular. PRFA = periodo refractario funcional auricular; PREA = periodo refractario efectivo auricular.

- Refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular: determinada mediante el test del extraestímulo auricular tal y como ha sido descrito anteriormente. Se localiza el punto en el que no aparece el ventriculograma correspondiente al extraestímulo auricular (es decir, nos encontramos con un A_2 sin V_2). En este punto se mide el periodo refractario efectivo del sistema de conducción auriculoventricular (PRESCAV) es decir, el intervalo A_1 - A_2 sin V_2 y el periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular (PRFSCAV) como el mínimo intervalo de acoplamiento entre la despolarización ventricular generada por el último estímulo del tren y la del extraestímulo (V_1 - V_2).

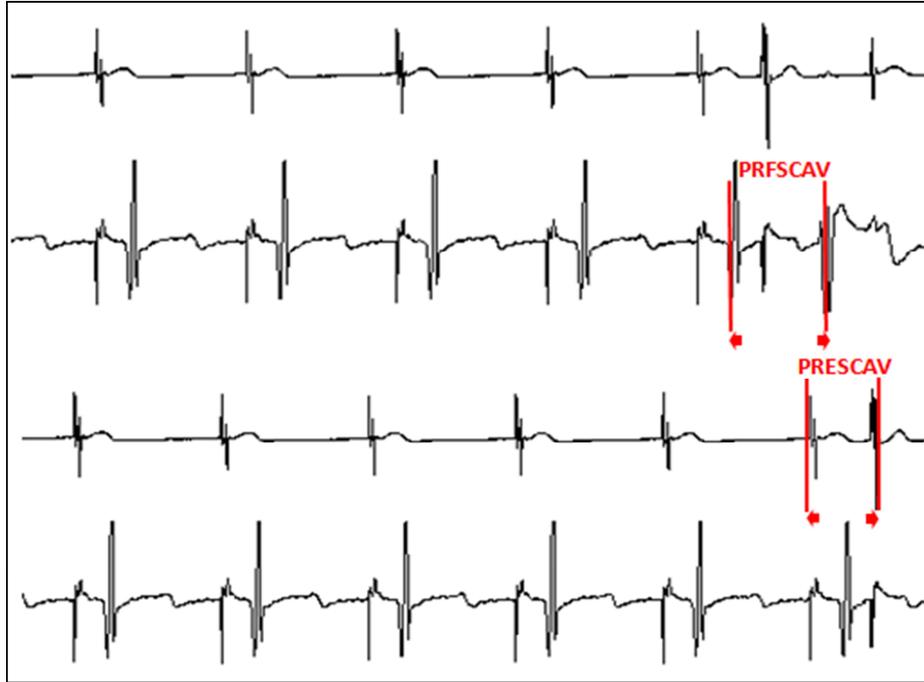


Figura 2.21. Determinación de la refractariedad del sistema de conducción ventriculoauricular. PRFSCAV = periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular; PRESCAV = periodo refractario efectivo del sistema de conducción auriculoventricular.

- Refractariedad ventricular: se determina mediante el test del extraestímulo ventricular, estimulando en ventrículo de forma similar a la descrita para el test del extraestímulo auricular. El programa utilizado (Pacemap®) nos permitió medir el tiempo en milisegundos de los periodos refractarios efectivo (PREV) y funcional (PRFV) del ventrículo (figura 2.22), tal y como se definió en el apartado anterior.



Figura 2.22. Determinación de la refractariedad ventricular. PRFV = periodo refractario funcional ventricular; PREV = periodo refractario efectivo ventricular.

- Refractariedad del sistema de conducción ventriculoaricular: determinada mediante el test del extraestímulo ventricular. Se localiza el punto en el que no aparece el auriculograma correspondiente al extraestímulo ventricular (es decir, nos encontramos con un V_2 sin A_2). En este punto, se mide el periodo refractario efectivo del sistema de conducción ventriculoaricular (PRESCVA) es decir, el intervalo V_1-V_2 sin A_2 y el periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular (PRFSCVA) como el mínimo intervalo de acoplamiento entre la despolarización auricular generada por el último estímulo del tren y la del extraestímulo (A_1-A_2).

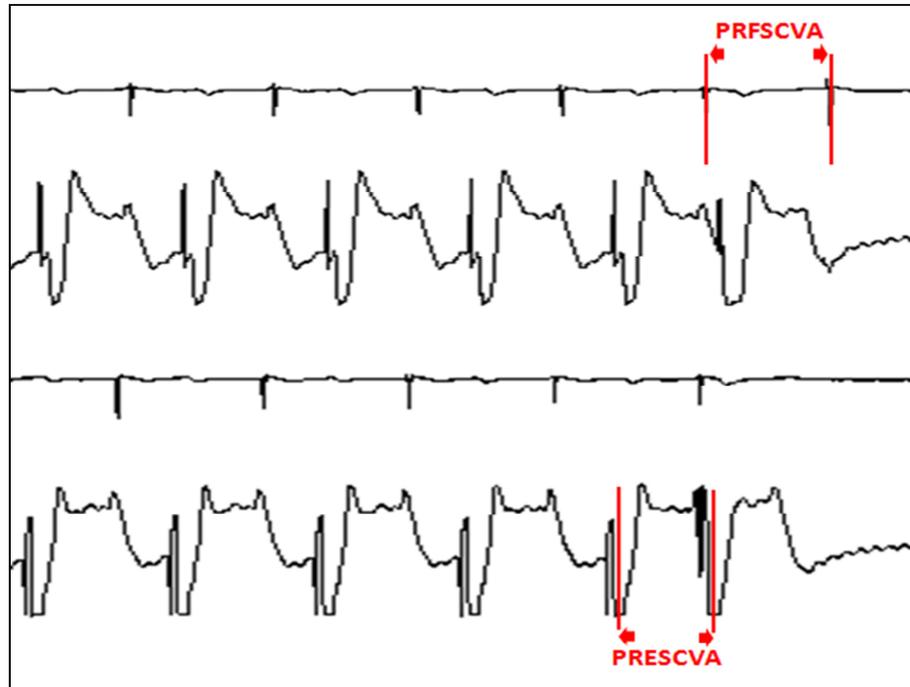


Figura 2.23. Determinación de la refractariedad del sistema de conducción ventriculoaricular. PRFSCVA = periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular; PRESCVA = periodo refractario efectivo del sistema de conducción ventriculoaricular.

IV. Determinación de los parámetros electrofisiológicos para la valoración de las características espectrales de la fibrilación ventricular.

Una vez completadas las pruebas para valorar la refractariedad miocárdica, se indujo la FV del miocardio estimulando el ventrículo izquierdo a frecuencia creciente a partir de 4 Hz, con un incremento de 2 Hz por minuto hasta desencadenar la FV. Una vez inducida, la FV fue mantenida durante 330 s, sin interrumpir la perfusión coronaria. La intensidad de estimulación utilizada para inducir la FV fue tres veces superior al umbral diastólico. La estimulación se interrumpió en el momento en que se instauró la FV. Se realizó un registro continuo de la actividad eléctrica cardíaca durante los primeros 330 s de fibrilación ventricular, pero los registros fueron procesados en segmentos consecutivos de 4 s desde el desencadenamiento hasta los 300 s posteriores. Antes de procesar la señal para obtener los parámetros estudiados, se realizó un tratamiento pre-proceso para analizar la calidad de la señal de cada uno de los 240 electrodos válidos. Se rechazaron aquellos electrodos que presentaban una señal con una baja amplitud o aquéllos en los

que no se capturaba la actividad eléctrica cardíaca. A partir de dichos registros obtuvimos la información proporcionada por la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular:

- Frecuencia dominante media: para cada segmento y canal se obtiene la Frecuencia dominante media (FrDM) es aquella frecuencia que se corresponde con el máximo espectro, es decir, la frecuencia de mayor amplitud. Se obtuvo el espectro a partir del periodograma modificado de Welch, utilizando ventana de Hanning y 2 tramos no solapados (resolución: 0,5Hz). Se analizó la FrDM de las señales fibrilatorias registradas por la placa multielectrodo durante 300 s de FV (en total, 240 canales válidos) en el ventrículo izquierdo, utilizándose para el análisis el valor promedio de los 240 canales en cada uno de los 75 segmentos de 4 s procesados.

2.2.4. Análisis estadístico.

Para el análisis de los datos se utilizaron diversos tests estadísticos debido a las diferentes características de los parámetros utilizados. Previamente a la aplicación de los tests, se realizó un análisis exploratorio de los datos correspondientes a cada una de las variables para así detectar posibles datos anómalos, que fueron eliminados antes de continuar con el tratamiento.

Para el estudio del efecto del bloqueo colinérgico sobre automatismo y conducción se utilizó una prueba *t* de Student para muestras apareadas. Asimismo, se analizó el efecto del entrenamiento físico con una prueba *t* de Student para muestras no apareadas. En el caso de la refractariedad miocárdica, se analizó el efecto del bloqueo colinérgico y del entrenamiento mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas. Para comprobar la normalidad de las distribuciones de los datos se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. De igual modo, se contrastó la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene.

2.2.5. Legislación.

Las condiciones de estabulación y los procedimientos experimentales utilizados en el presente estudio fueron realizados de acuerdo con lo establecido por la Unión Europea sobre la regulación en el uso de animales con fines científicos (2003/65/CE), promulgado en el Real Decreto 1201/2005 de 10 de octubre sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (B.O.E. 21 de octubre de 2005). El comité ético del Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental de la Universitat de València aprobó todos los procedimientos utilizados en el presente estudio.

Capítulo 3.

RESULTADOS

A continuación describiremos los resultados obtenidos en las diferentes características electrofisiológicas estudiadas: automatismo, conducción, refractariedad y el patrón fibrilatorio ventricular. Para una mejor comprensión y una mayor claridad en la exposición de los resultados, se ha dividido cada uno de los apartados correspondientes a dichas propiedades electrofisiológicas en tres subapartados: en el primero de ellos se ha analizado el efecto del bloqueo colinérgico en los grupos control y entrenado para determinar el papel de las neuronas parasimpáticas postganglionares en las adaptaciones electrofisiológicas producidas por el entrenamiento físico en corazón aislado; en segundo lugar se ha estudiado en el grupo de animales falsos operados el posible efecto que el transcurso del tiempo, la realización del protocolo electrofisiológico o las manipulaciones realizadas durante el mismo pudiera tener sobre cada uno de los diferentes parámetros estudiados. Por último, se ha analizado el efecto del entrenamiento físico sobre cada una de las características electrofisiológicas anteriormente mencionadas.

3.1. Automatismo.

3.1.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

En primer lugar, estudiamos el efecto del bloqueo colinérgico sobre el intervalo V-V. Tras analizar los auriculogramas correspondientes a los registros en ritmo sinusal espontáneo, antes y después de la administración de atropina, observamos que no se produjo ningún cambio en este parámetro, tanto en el grupo control como en el grupo entrenado (figura 3.1). Se excluyeron del estudio de los intervalos V-V aquellos corazones en los que se instauró un ritmo nodal, un total de 2 corazones en el caso del grupo control y de 4 en el grupo entrenado.

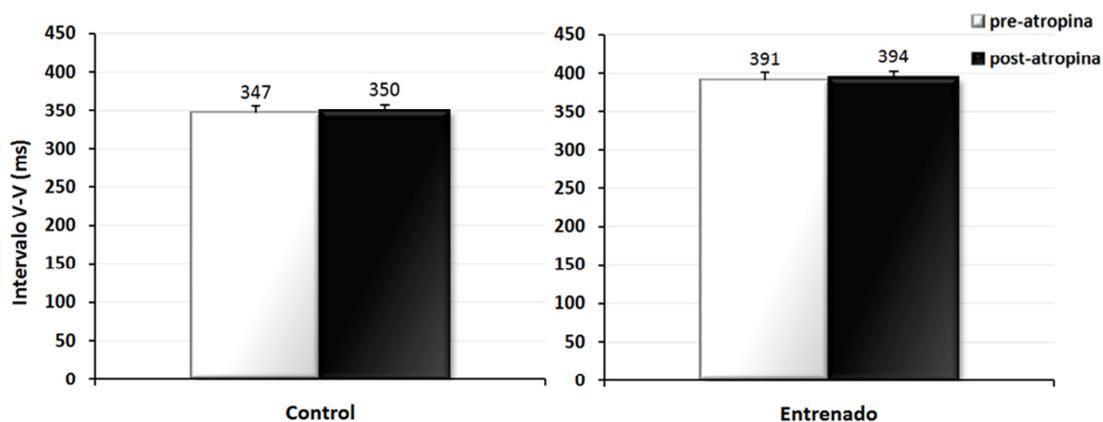


Figura 3.1. Efecto del bloqueo colinérgico en la longitud del intervalo V-V en el grupo control y en el grupo entrenado. Grupo control n = 9; grupo entrenado n = 7; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.1.2. Resultados del grupo falso operado.

Determinamos la longitud del intervalo V-V en el grupo de animales falsos operados antes y después de la infusión de Tyrode filtrado para comprobar si existía algún efecto relacionado con el transcurso del tiempo durante el protocolo experimental, con la repetición del protocolo electrofisiológico o por acción de cualquier maniobra contemplada en el mismo que pudiese enmascarar los posibles efectos de la administración de atropina. Como puede observarse en la figura 3.2, los resultados obtenidos permiten confirmar que el intervalo V-V permaneció inalterado en este grupo experimental.

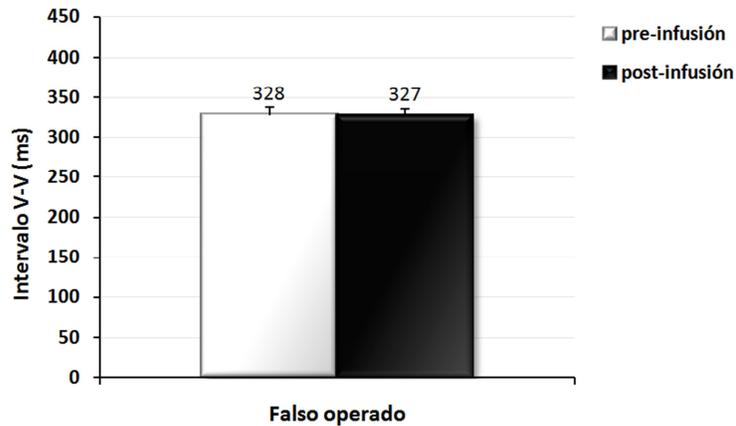


Figura 3.2. Longitud del intervalo V-V en el grupo de animales falsos operados. Grupo falso operado n = 9; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.1.3. Efecto del entrenamiento físico.

La longitud del intervalo V-V en los corazones procedentes de animales entrenados fue un 16 % mayor que en los procedentes de animales control ($p < 0,05$), tal y como puede observarse en la figura 3.3. A partir de este parámetro puede calcularse la frecuencia cardíaca basal, en este caso *in vitro*, cuya media en el grupo de animales entrenados fue de $169 \text{ latidos} \cdot \text{min}^{-1}$ frente a las $197 \text{ latidos} \cdot \text{min}^{-1}$ del grupo control.

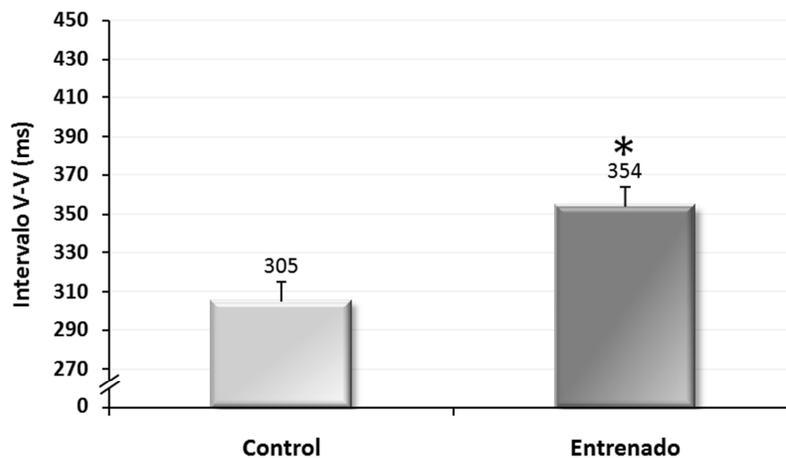


Figura 3.3. Efecto del entrenamiento físico sobre la longitud del intervalo V-V. Grupo control n = 10; grupo entrenado n = 11; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar. * $p < 0,05$

3.2. Conducción.

3.2.1. Conducción auriculoventricular. Longitud del intervalo A-V.

3.2.1.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

Al comparar las mediciones realizadas antes y después de la administración de atropina en el grupo control y en el grupo entrenado (figura 3.4) podemos observar que la duración del intervalo A-V no se vio alterada por el bloqueo colinérgico. Se excluyeron del estudio de los intervalos V-V aquellos cuyo marcapasos no era el nodo SA.

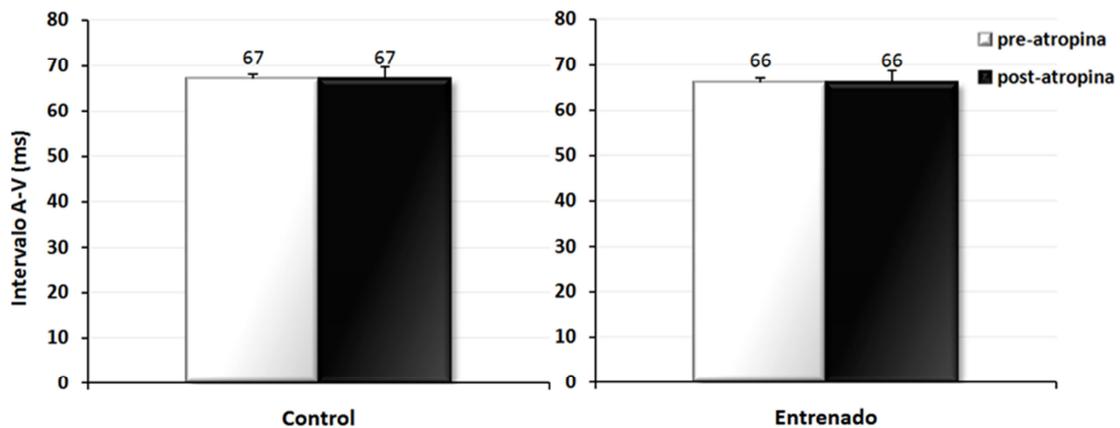


Figura 3.4. Efecto del bloqueo colinérgico en la longitud del intervalo A-V en el grupo control y en el grupo entrenado. Grupo control n = 9; grupo entrenado n = 7; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.2.1.2. Resultados del grupo de animales falsos operados.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la longitud del intervalo A-V al comparar las medidas pre-infusión y post-infusión de Tyrode filtrado (figura 3.5), por lo que podemos descartar que exista algún efecto relacionado con el transcurso del tiempo durante el protocolo experimental, con la repetición del protocolo electrofisiológico o por acción de cualquier maniobra contemplada en el mismo sobre este parámetro de la conducción.

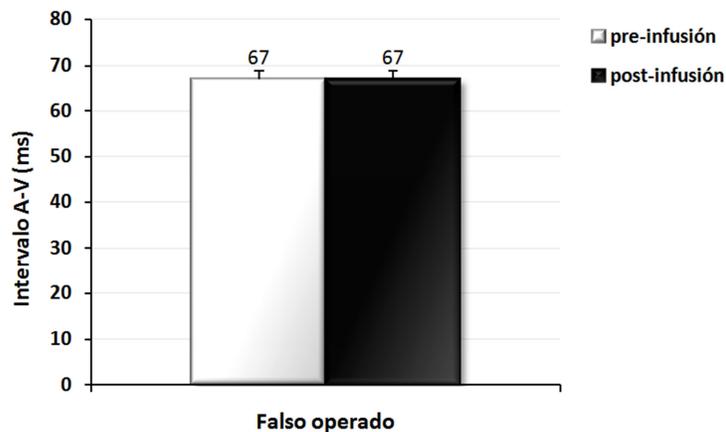


Figura 3.5. Longitud del intervalo A-V en el grupo de animales falsos operados. Grupo falso operado n = 9; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.2.1.3. Efecto del entrenamiento físico.

Respecto al intervalo A-V, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos en corazones procedentes de animales entrenados al compararlos frente a los corazones procedentes de animales control (tabla 3.1).

	A-V basal (ms)	A-V pre- infusión (ms)	A-V post-infusión (ms)
Control (n)	68±4 (10)	67±7 (9)	67±7 (9)
Entrenado (n)	65±8 (11)	66±3 (7)	66±7 (7)

Tabla 3.1. Efecto del entrenamiento físico sobre la longitud del intervalo A-V. Los valores son medias ± desviación típica; número de experimentos entre paréntesis; ms = milisegundos.

3.2.2. Conducción auriculoventricular. Longitud de ciclo de Wenckebach.

3.2.2.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

La conducción auriculoventricular no se vio modificada por el bloqueo colinérgico, tal y como puede observarse en la figura 3.6, la longitud de ciclo de Wenckebach no fue modificada por la administración de atropina, tanto en el grupo control como en el entrenado.

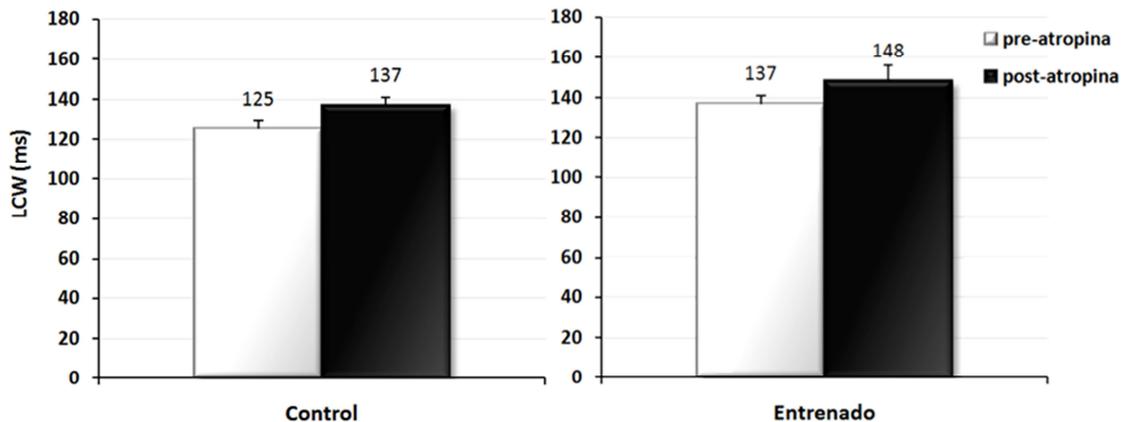


Figura 3.6. Efecto del bloqueo colinérgico sobre la longitud de ciclo de Wenckebach en el grupo control y en el grupo entrenado. Grupo control n = 9; grupo entrenado n = 11; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.2.2.2. Resultados del grupo de animales falsos operados.

Determinamos la longitud de ciclo de Wenckebach en los momentos pre y post infusión de Tyrode filtrado para comprobar si existía alguna modificación derivada del transcurso del tiempo, del protocolo electrofisiológico o de alguna de las maniobras que se realizaban durante el mismo. Los resultados de la figura 3.7 muestran que no existieron cambios estadísticamente significativos en este grupo experimental.

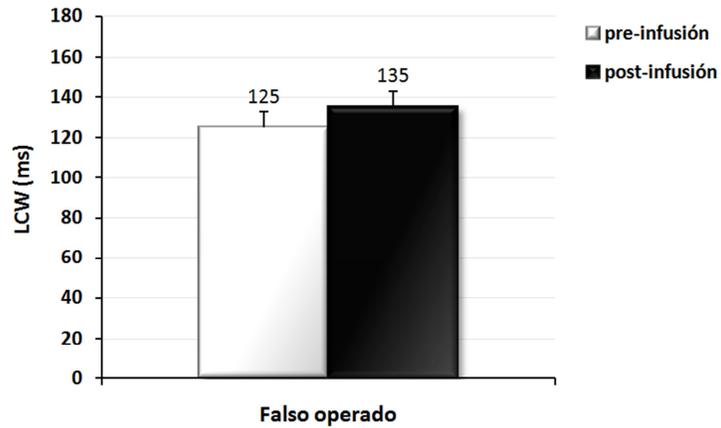


Figura 3.7. Longitud de ciclo de Wenckebach en el grupo de animales falsos operados. Grupo falso operado n = 7; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.2.2.3. Efecto del entrenamiento físico.

La longitud de ciclo de Wenckebach fue un 10 % mayor en el grupo de animales entrenados (figura 3.8).

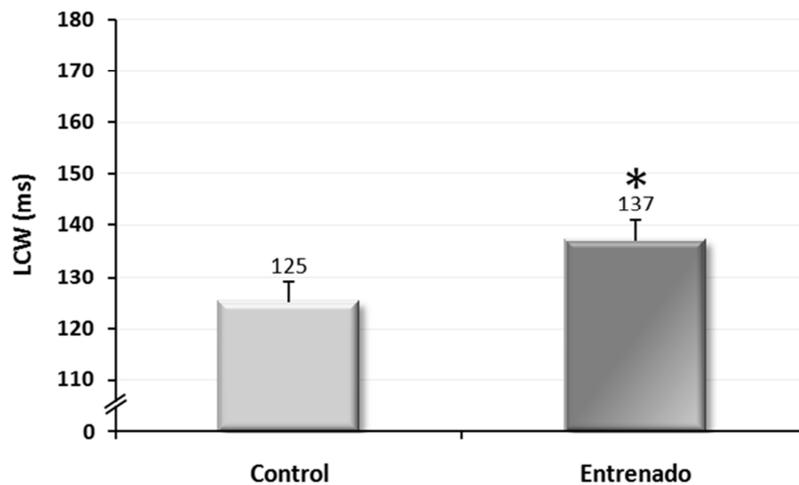


Figura 3.8. Efecto del entrenamiento físico sobre la longitud de ciclo de Wenckebach. Grupo control n = 10; grupo entrenado n = 11; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar. * p<0,05

3.2.3. Conducción ventriculoaricular.

3.2.3.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

En el grupo de animales control, la LCWR aumentó un 8 % tras el bloqueo colinérgico, tal y como puede observarse en la figura 3.9. Por otro lado, en el grupo de animales entrenados la LCWR no se vio modificada por la administración de atropina (figura 3.9)

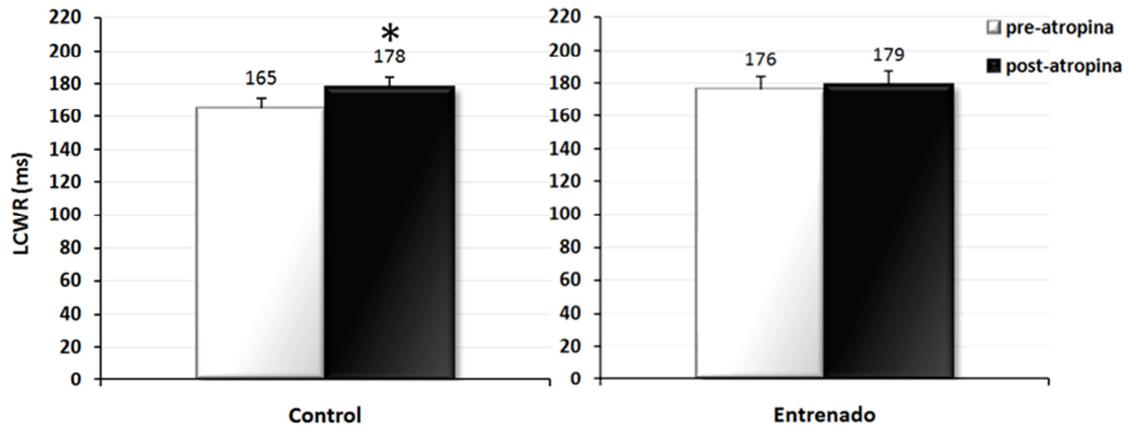


Figura 3.9. Efecto del bloqueo colinérgico sobre la longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado en el grupo control y en el grupo entrenado. Grupo control n = 9; grupo entrenado n = 10; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.2.3.2. Resultados del grupo falso operado.

La longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado (LCWR) aumentó significativamente en la segunda determinación realizada. Tal y como puede observarse en la figura 3.10, la LCWR experimentó un incremento del 7 % debido al efecto del tiempo, a la repetición del protocolo electrofisiológico o alguna maniobra realizada durante el mismo.

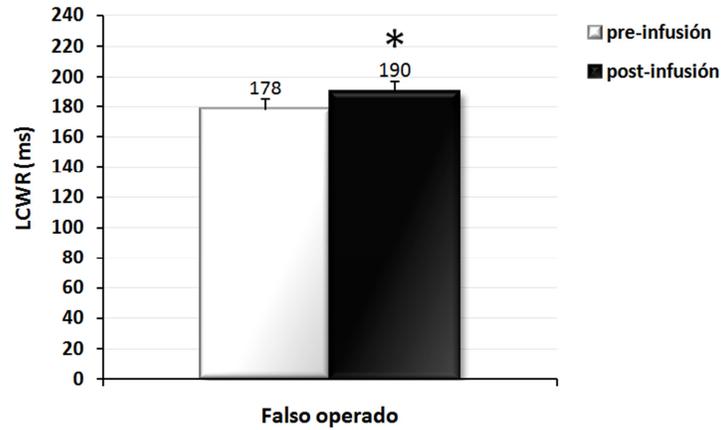


Figura 3.10. Longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado en el grupo de animales falsos operados. Grupo falso operado n = 8; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

* $p < 0.05$

3.2.3.3. Efecto del entrenamiento físico.

El protocolo de entrenamiento físico no modificó la conducción retrógrada ventriculoaricular determinada mediante la longitud de ciclo de Wenckebach alcanzado de forma retrógrada (tabla 3.2).

	LCWR pre-atropina (ms)	LCWR post-atropina (ms)
Control (n)	165±18 (9)	178±18 (9)
Entrenado (n)	176±22 (10)	179±21 (10)

Tabla 3.2. Efecto del entrenamiento físico sobre la longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado. Los valores corresponden a la media ± desviación típica; número de experimentos entre paréntesis; LCWR = longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado; ms = milisegundos.

3.3. Refractoriedad.

3.3.1. Refractoriedad auricular.

3.3.1.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

Como puede verse en la figura 3.11, el bloqueo colinérgico no modificó el periodo refractario efectivo auricular en el grupo de animales control. En el grupo de animales entrenados se obtuvieron los mismos resultados, de forma que no existieron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los trenes de estimulación utilizados tras la infusión de atropina (figura 3.12).

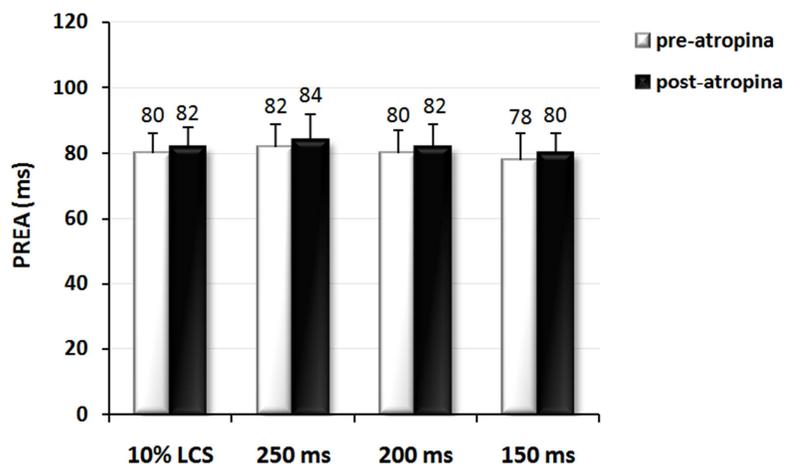


Figura 3.11. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario efectivo auricular en el grupo control. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PREA = periodo refractario efectivo auricular; grupo control n = 10; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

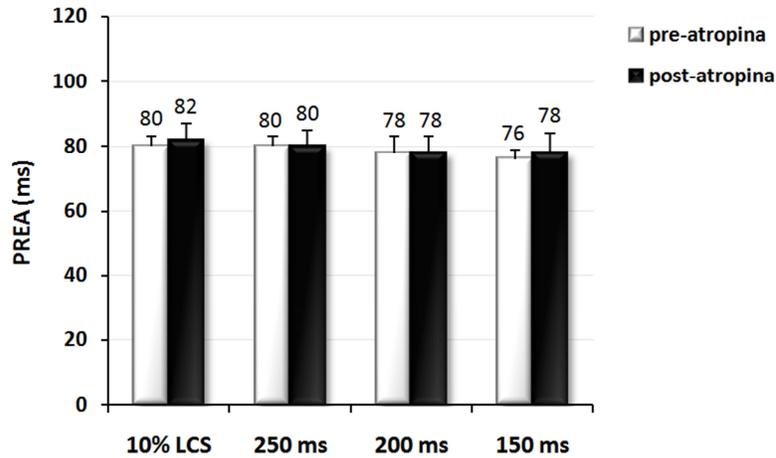


Figura 3.12. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario efectivo auricular en el grupo entrenado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PREA = periodo refractario efectivo auricular; grupo entrenado n = 11; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

En cuanto al periodo refractario funcional auricular, se obtuvieron resultados similares, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas tras la administración de atropina tanto en el grupo control (figura 3.13) como en el grupo entrenado (figura 3.14).

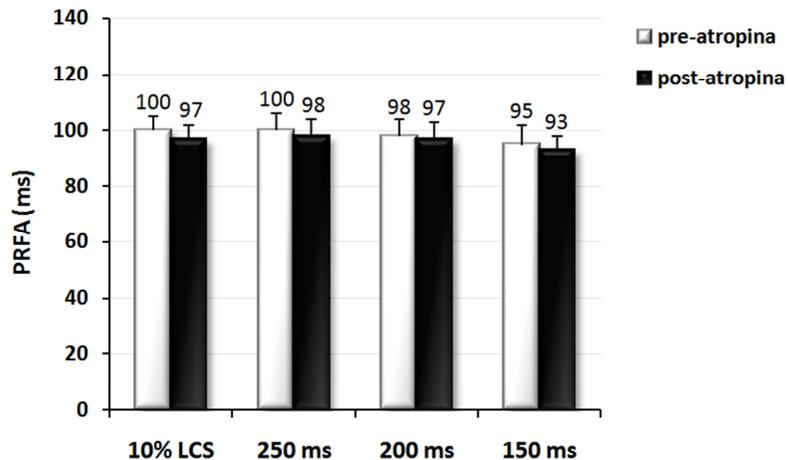


Figura 3.13. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional auricular en el grupo control. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PRFA = periodo refractario funcional auricular; grupo control n = 10; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

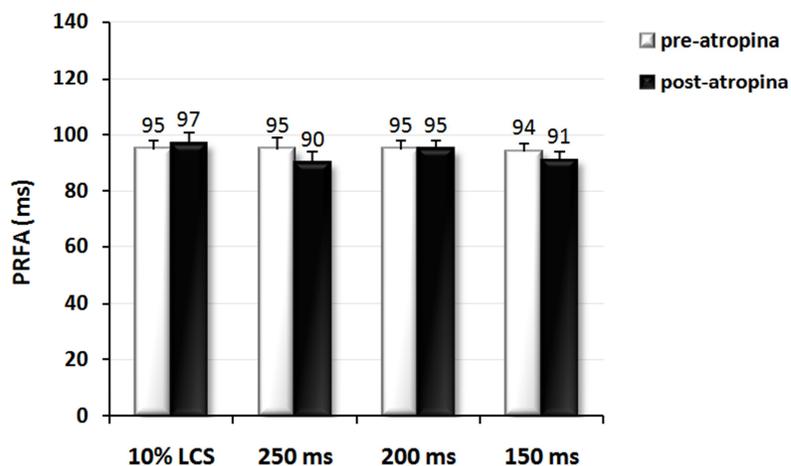


Figura 3.14. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional auricular en el grupo entrenado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PRFA = periodo refractario funcional auricular; grupo entrenado n = 11; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.3.1.2. Resultados del grupo falso operado.

En la figura 3.15 se muestran los cambios en el periodo refractario efectivo auricular en las dos determinaciones realizadas durante el protocolo experimental. Tal y como puede observarse, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas determinaciones.

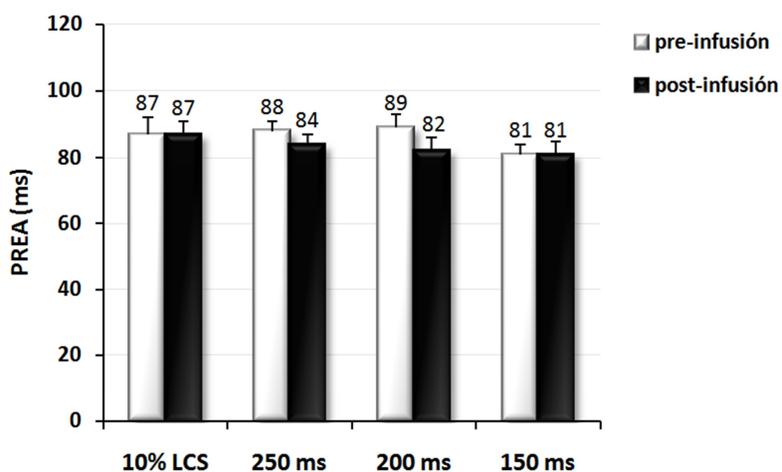


Figura 3.15. Periodo refractario efectivo auricular (PREA) en el grupo falso operado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados; grupo falso operado n = 6; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

En la figura 3.16 pueden observarse los valores del periodo refractario funcional auricular en las dos determinaciones realizadas durante el protocolo experimental. Al igual que en el caso anterior, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas determinaciones.

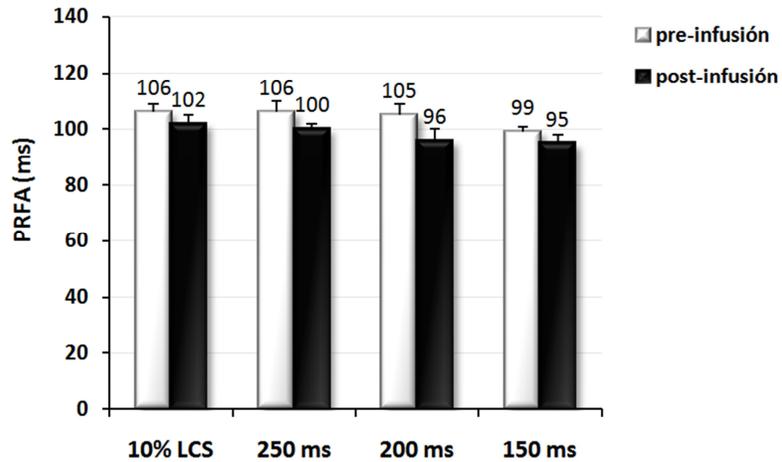


Figura 3.16. Periodo refractario funcional auricular (PRFA) en el grupo falso operado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados; grupo falso operado n = 6; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.3.1.3. Efecto del entrenamiento físico.

El protocolo de entrenamiento físico no modificó la refractariedad auricular determinada mediante el test del extraestímulo auricular. De este modo, ni el periodo refractario efectivo (tabla 3.3) ni el periodo refractario funcional auricular (tabla 3.4) fueron modificados por el protocolo de entrenamiento físico.

PREA (ms)				
	10% LCS	250 ms	200 ms	150 ms
Control	80±20	82±19	80±23	78±24
(n)	(10)	(10)	(10)	(10)
Entrenado	80±11	80±11	78±9	76±16
(n)	(11)	(11)	(11)	(11)

Tabla 3.3. Efecto del entrenamiento físico sobre el periodo refractario efectivo auricular (PREA). Los valores son medias ± desviación típica; número de experimentos entre paréntesis; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos.

PRFA (ms)				
	10% LCS	250 ms	200 ms	150 ms
Control	100±16	100±18	98±17	95±22
(n)	(10)	(10)	(10)	(10)
Entrenado	95±11	96±12	95±10	94±10
(n)	(11)	(11)	(11)	(11)

Tabla 3.4. Efecto del entrenamiento físico sobre el periodo refractario funcional auricular (PRFA). Los valores son medias ± desviación típica; número de experimentos entre paréntesis; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos.

3.3.2. Refractoriedad ventricular.

3.3.2.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

Como puede verse en la figura 3.17, el bloqueo colinérgico no modificó el periodo refractario efectivo ventricular en el grupo control. Resultados similares fueron obtenidos en el grupo entrenado, no existiendo diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los trenes de estimulación utilizados tras la infusión de atropina (figura 3.18).

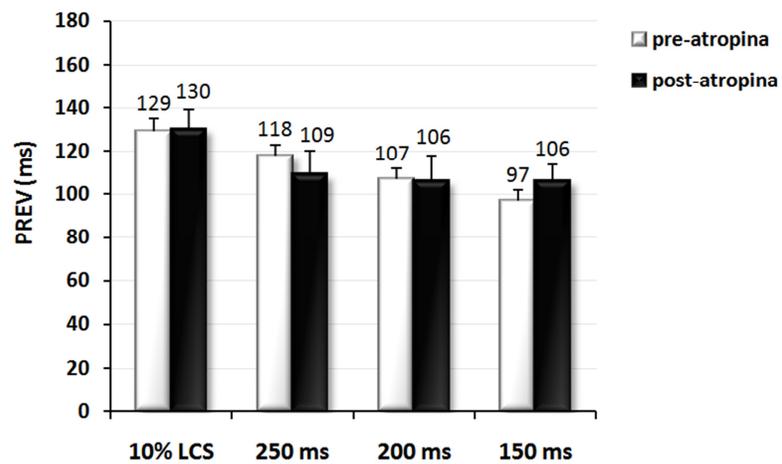


Figura 3.17. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario efectivo ventricular en el grupo control. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PREV = periodo refractario efectivo ventricular; grupo control n = 5; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

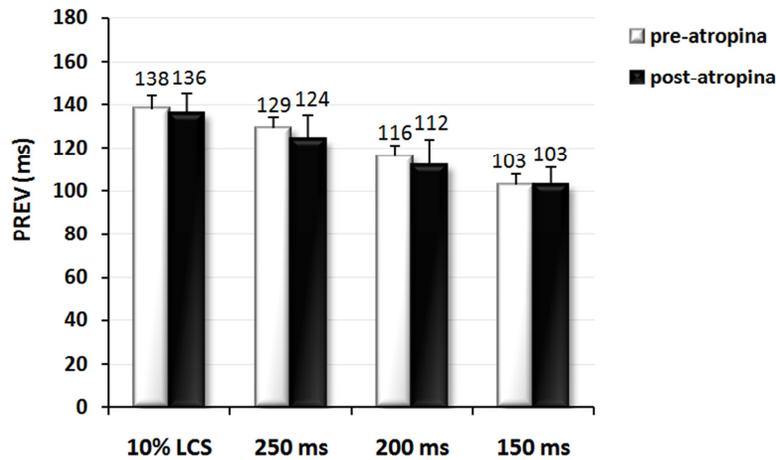


Figura 3.18. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario efectivo ventricular en el grupo entrenado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PRFV = periodo refractario funcional ventricular; grupo entrenado n = 9; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

En cuanto al periodo refractario funcional ventricular, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas tras la administración de atropina ni en el grupo control (figura 3.19) ni en el grupo entrenado (figura 3.20).

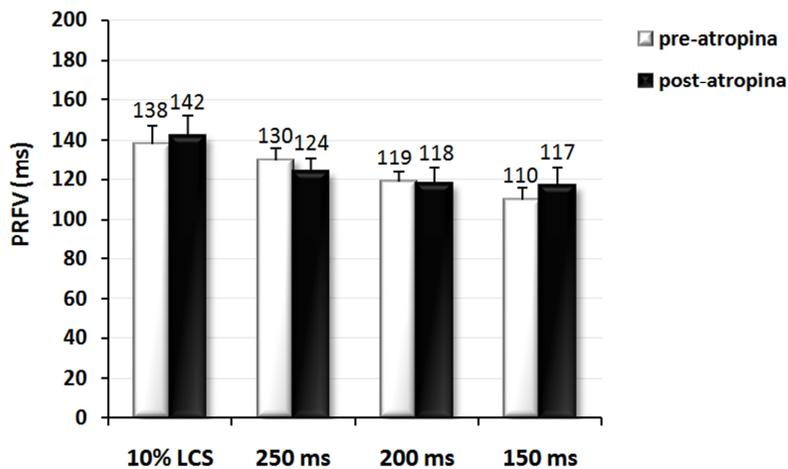


Figura 3.19. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional ventricular en el grupo control. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PRFV = periodo refractario funcional ventricular; grupo control n = 5; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

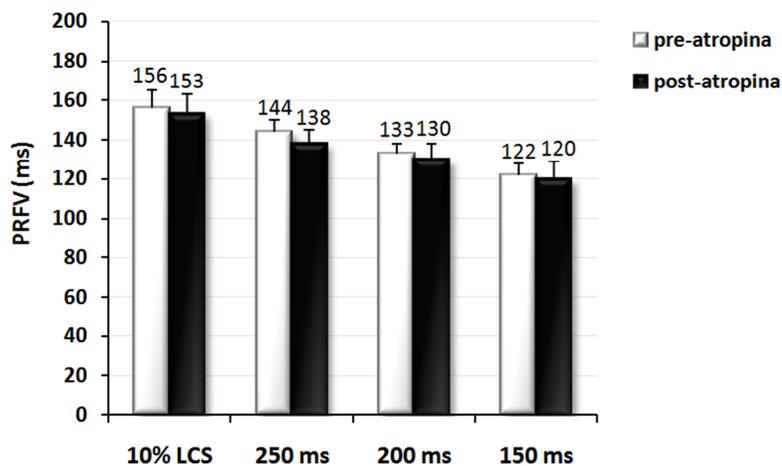


Figura 3.20. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional ventricular en el grupo entrenado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. PRFV = periodo refractario funcional ventricular; grupo entrenado n = 9; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.3.2.2. Resultados del grupo falso operado.

En la figura 3.21 se representan los valores del periodo refractario efectivo ventricular en las dos determinaciones realizadas durante el protocolo experimental. Como puede observarse, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos mediciones realizadas.

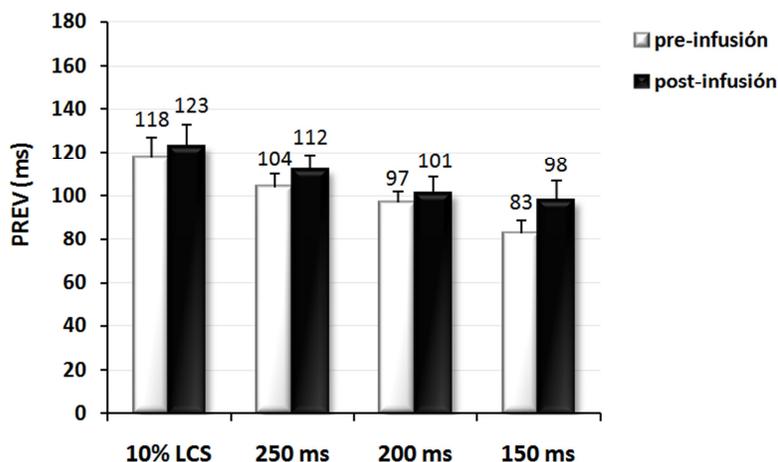


Figura 3.21. Periodo refractario efectivo ventricular (PREV) en el grupo falso operado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados; grupo falso operado n = 5; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

En la figura 3.22 aparecen representados los resultados del periodo refractario funcional ventricular en las dos determinaciones realizadas durante el protocolo experimental. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos mediciones.

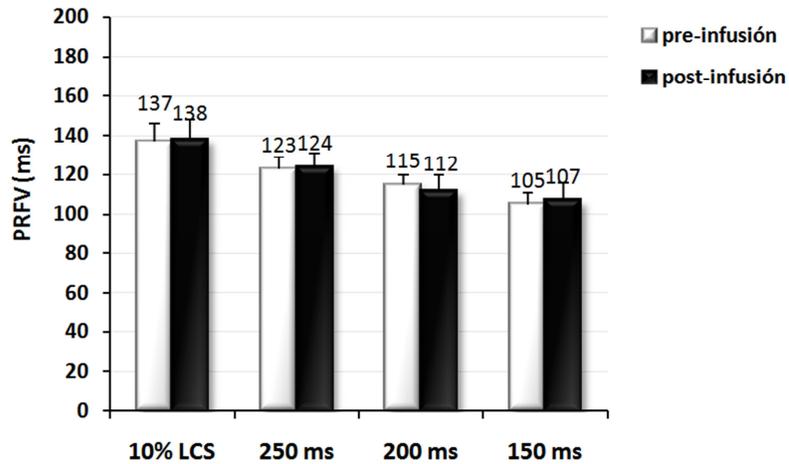


Figura 3.22. Periodo refractario funcional ventricular (PRFV) en el grupo falso operado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados; grupo falso operado n = 5; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

Los resultados obtenidos en este grupo experimental demuestran que la refractariedad ventricular no se ve alterada por el transcurso del tiempo, el protocolo de estimulación o las maniobras realizadas durante el mismo.

3.3.2.3. Efecto del entrenamiento físico.

El entrenamiento físico modificó el periodo refractario funcional ventricular (PRFV), siendo éste mayor en el grupo entrenado en los cuatro trenes de estimulación analizados. Se registró un incremento del PRFV en el grupo entrenado de un 13% en el tren que era un 10 % menor que la longitud de ciclo sinusal espontánea, de un 11 % con el tren de 250 ms, de un 12 % con el de 200 ms, y de un 11 % con el de 150 ms.

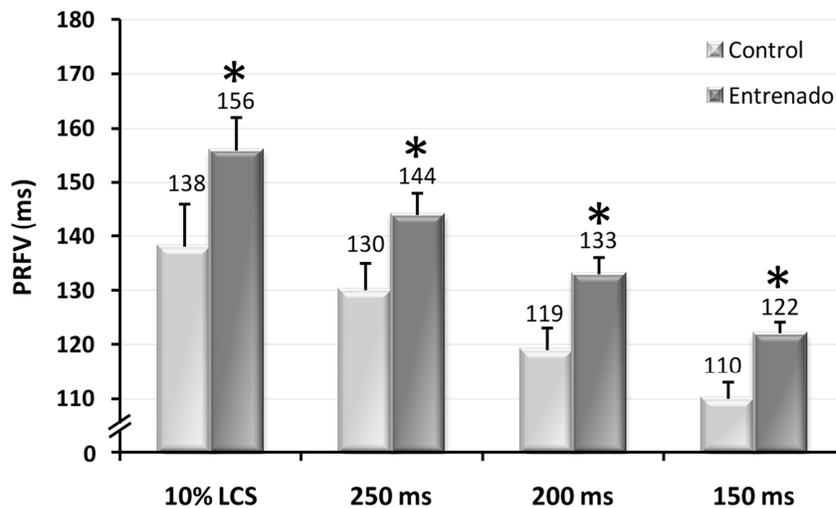


Figura 3.23. Efecto del entrenamiento físico sobre el periodo refractario funcional ventricular (PRFV). En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. Grupo control n = 6; grupo entrenado n = 9; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar. * p<0,05.

Por otro lado, las diferencias en el periodo refractario efectivo ventricular no alcanzaron la significación estadística ($p = 0,12$), pero los valores numéricos fueron superiores en el grupo de animales entrenados en los cuatro trenes de estimulación utilizados, tal y como puede observarse en la tabla 3.5.

	PREV (ms)			
	10% LCS	250 ms	200 ms	150 ms
Control	127±13	117±10	106±11	97±11
(n)	(6)	(6)	(6)	(6)
Entrenado	138±16	130±18	116±15	103±12
(n)	(9)	(9)	(9)	(9)

Tabla 3.5. Efecto del entrenamiento físico sobre el periodo refractario efectivo ventricular (PREV). Los valores son medias ± desviación típica; número de experimentos entre paréntesis; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos.

3.3.3. Refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular.

3.3.3.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

Analizamos únicamente el efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular (PRFSCAV), ya que no se pudo realizar el análisis estadístico correspondiente con el periodo refractario efectivo del sistema de conducción auriculoventricular debido a que, en muchos de los casos, se alcanzó antes el periodo refractario efectivo auricular y, por tanto, no se pudo determinar el valor de este parámetro. En lo que respecta al PRFSCAV, se determinó mediante la aplicación de cuatro trenes de estimulación diferentes (utilizando un intervalo entre los estímulos del tren de estimulación un 10% menor que la longitud de ciclo sinusal espontáneo, de 250, 200 y 150 milisegundos) antes y después de la administración de atropina. Como puede observarse en la figura 3.24, el bloqueo colinérgico no modificó el PRFSCAV en el grupo control ni tampoco lo hizo en el grupo entrenado (figura 3.25).

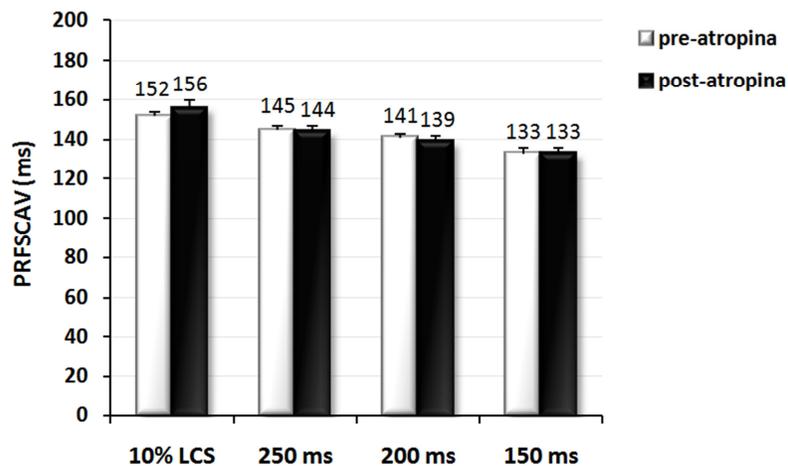


Figura 3.24. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular en el grupo control. PRFSCAV = periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular; grupo control n = 8; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

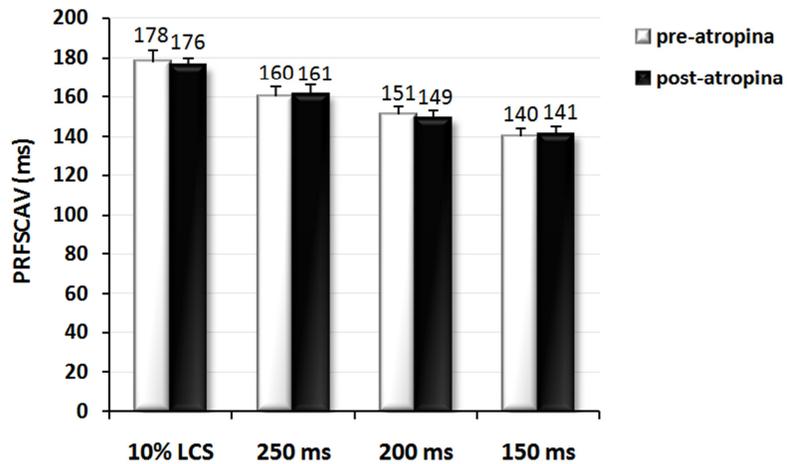


Figura 3.25. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular en el grupo entrenado. PRFSCAV = periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular; grupo entrenado n = 8; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.3.3.2. Resultados del grupo falso operado.

Al igual que sucede en el caso anterior, sólo pudo analizarse el periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular (PRFSCAV). Como puede observarse en la figura 3.26, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las dos mediciones realizadas durante el protocolo experimental.

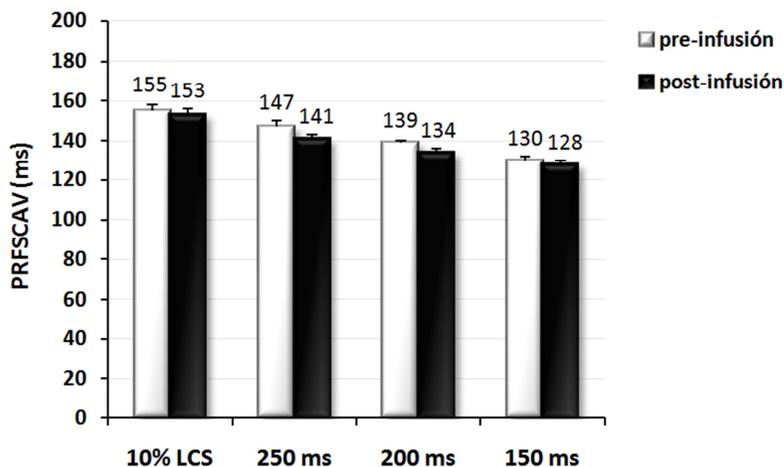


Figura 3.26. Periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular (PRFSCAV) en el grupo falso operado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados; grupo falso operado n = 7; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.3.3.3. Efecto del entrenamiento físico.

El periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular (PRFSCAV) fue significativamente mayor en el grupo entrenado en tres de los cuatro trenes de estimulación analizados (figura 3.27). De este modo, encontramos un incremento del PRFSCAV en el grupo entrenado de un 17 % con el tren que era un 10 % menor que la longitud de ciclo sinusal espontánea, de un 10 % con el tren de 250 ms y de un 7 % con el de 200 ms.

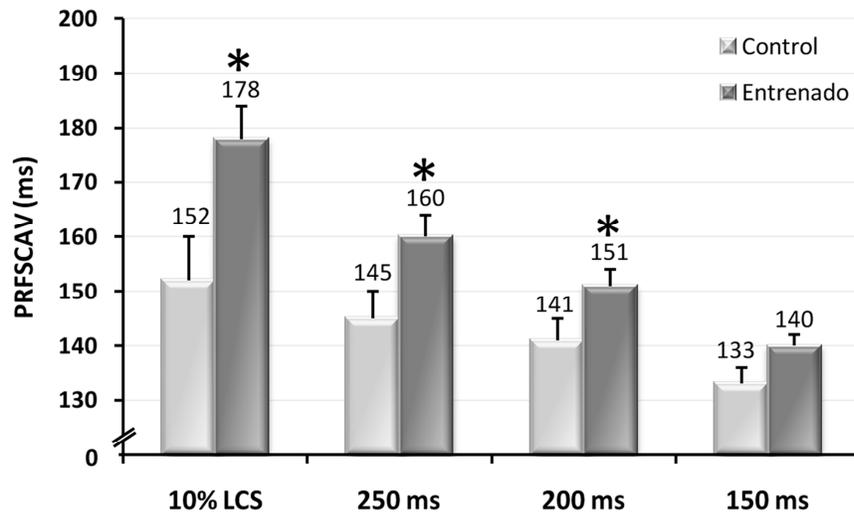


Figura 3.27. Efecto del entrenamiento físico sobre el periodo refractario funcional del sistema de conducción auriculoventricular (PRFSCAV). En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados. Grupo control n = 9; grupo entrenado n = 9; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar. * p<0,05.

3.3.4. Refractariedad del sistema de conducción ventriculoaricular.

3.3.4.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

En lo referente a la refractariedad del sistema de conducción ventriculoauricular, cabe destacar que únicamente pudo hacerse el análisis estadístico de los datos con el periodo refractario funcional porque no se disponía de una muestra suficiente en los tres grupos experimentales para efectuar el análisis del periodo refractario efectivo, al alcanzarse antes el periodo refractario efectivo ventricular. De igual modo, el periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular (PRFSCVA) se analizó con los tres primeros trenes de estimulación (con ciclo de estimulación un 10% menor que la longitud de ciclo sinusal espontánea, con 250 ms y con 200 ms), debido al escaso número de datos válidos hallados con el tren de estimulación de 150 ms.

En la figura 3.28 y 3.29 puede observarse que el bloqueo colinérgico no modificó el PRFSCVA en el grupo control ni tampoco en el grupo entrenado.

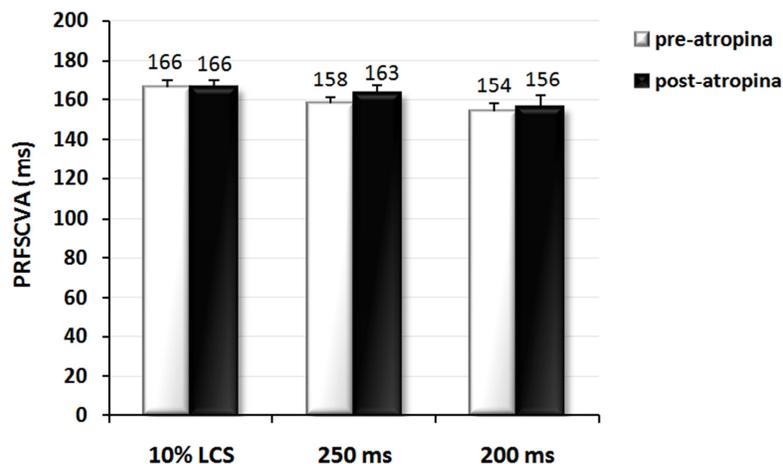


Figura 3.28. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular en el grupo control. PRFSCVA = periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular; grupo control n = 6; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

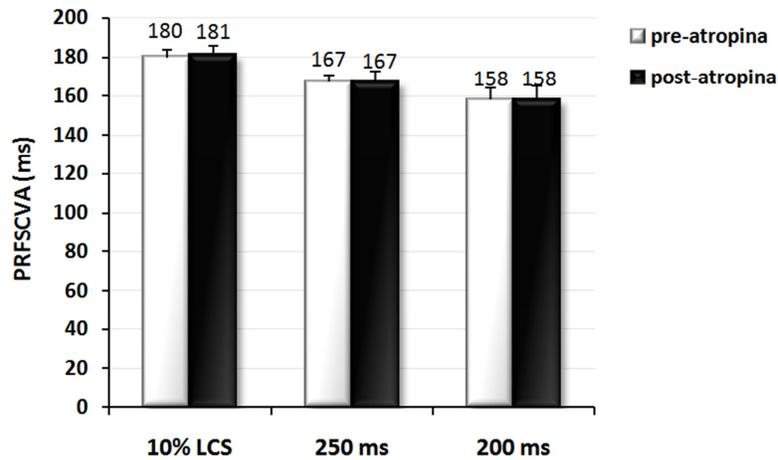


Figura 3.29. Efecto del bloqueo colinérgico sobre el periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular en el grupo entrenado. PRFSCVA = periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular; grupo control n = 9; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

3.3.4.2. Resultados del grupo de animales falsos operados.

En la figura 3.30 se representa el periodo refractario efectivo ventricular en las dos determinaciones realizadas durante el protocolo experimental. Como puede observarse, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos mediciones realizadas.

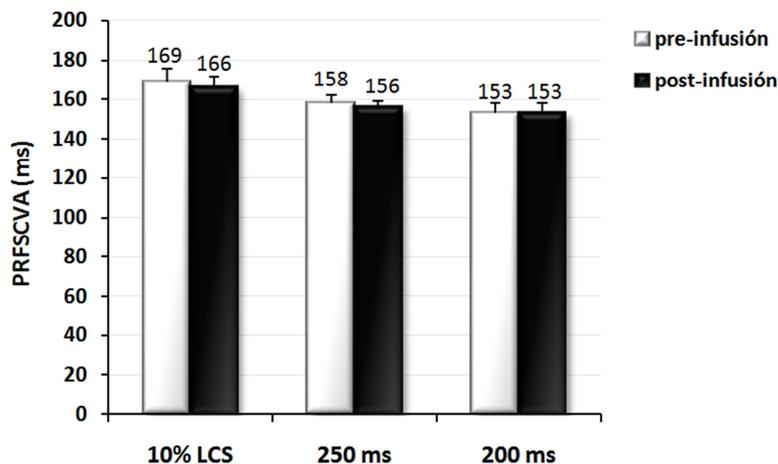


Figura 3.30. Periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoaricular (PRFSCVA) en el grupo falso operado. En el eje horizontal aparecen los cuatro trenes de estimulación utilizados; grupo falso operado n = 5; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos; las barras de error corresponden al error estándar.

Los resultados obtenidos en este grupo experimental demuestran que la refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular no se ve significativamente alterada por el transcurso del tiempo, el protocolo de estimulación o las maniobras realizadas durante el mismo.

3.3.4.3. Efecto del entrenamiento físico.

En la tabla 3.6 pueden observarse los resultados obtenidos, haciéndose evidente que el entrenamiento físico no modificó la refractariedad del sistema de conducción ventriculoauricular.

	PRFSCVA (ms)		
	10% LCS	250 ms	200 ms
Control	166±10	158±8	154±11
(n)	(6)	(6)	(6)
Entrenado	180±13	167±11	158±17
(n)	(9)	(9)	(9)

Tabla 3.6. Efecto del entrenamiento físico sobre el periodo refractario funcional del sistema de conducción ventriculoauricular (PRFSCVA). Los valores son medias ± desviación típica; número de experimentos entre paréntesis; 10% LCS = longitud un 10% menor que la longitud del ciclo sinusal espontáneo; ms = milisegundos.

3.4. Patrón fibrilatorio ventricular.

3.4.1. Resultados del bloqueo colinérgico.

En la figura 3.31 se muestra como el bloqueo colinérgico no modificó la FrDM de la FV en el grupo control.

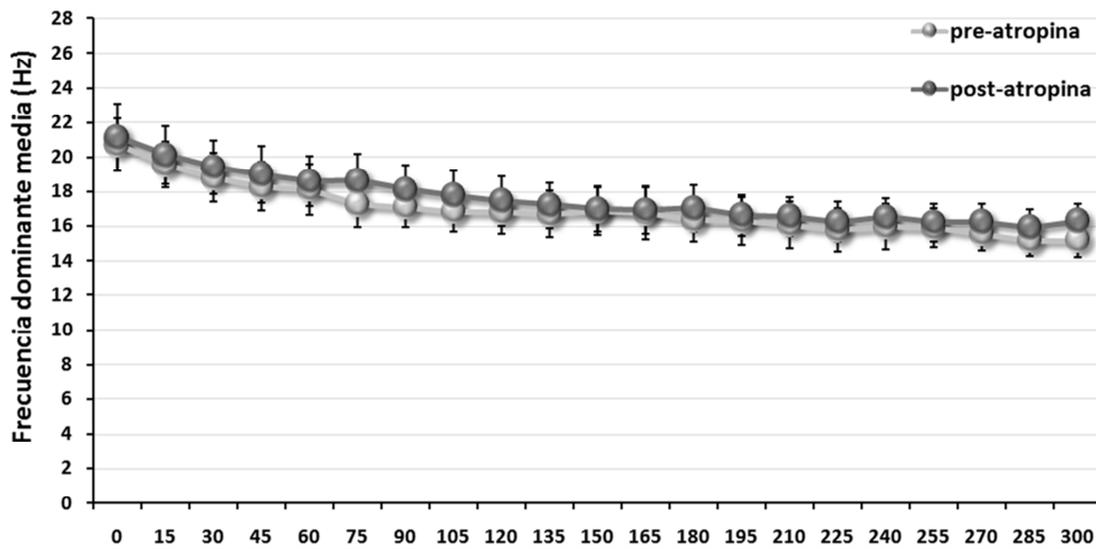


Figura 3.31. Efecto del bloqueo colinérgico sobre la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular en el grupo control. En el eje horizontal aparece los diferentes tiempos medidos. El tratamiento estadístico se realizó con los 75 segmentos de 4 s de FV correspondientes a 300 s, pero para la elaboración de la figura se utilizaron únicamente los puntos correspondientes a intervalos de 15 s. Grupo control n = 10; Hz = hercios; las barras de error corresponden al error estándar.

En el grupo entrenado se obtuvieron resultados similares, no existiendo diferencias estadísticamente significativas tras la infusión de atropina en ninguno de los 75 tiempos determinados (figura 3.32).

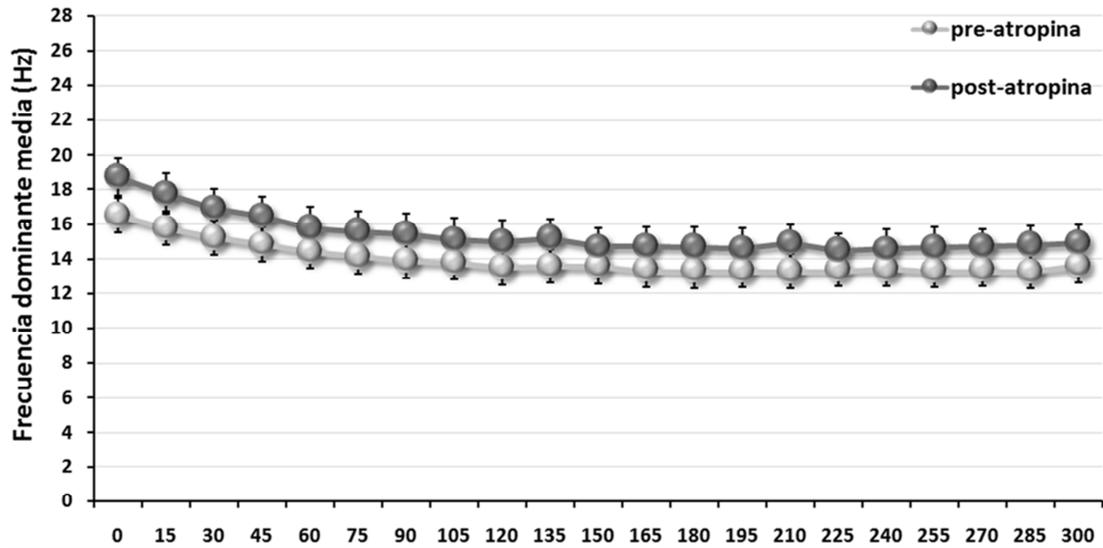


Figura 3.32. Efecto del bloqueo colinérgico sobre la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular en el grupo entrenado. En el eje horizontal aparece los diferentes tiempos medidos. El tratamiento estadístico se realizó con los 75 segmentos de 4 s de FV correspondientes a 300 s, pero para la elaboración de la figura se utilizaron únicamente los puntos correspondientes a intervalos de 15 s. Grupo entrenado n = 8; Hz = hercios; las barras de error corresponden al error estándar.

3.4.2. Resultados del grupo falso operado.

En la figura 3.33 se representa la evolución de la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular en las dos determinaciones realizadas durante el protocolo experimental. Como puede observarse, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos mediciones realizadas.

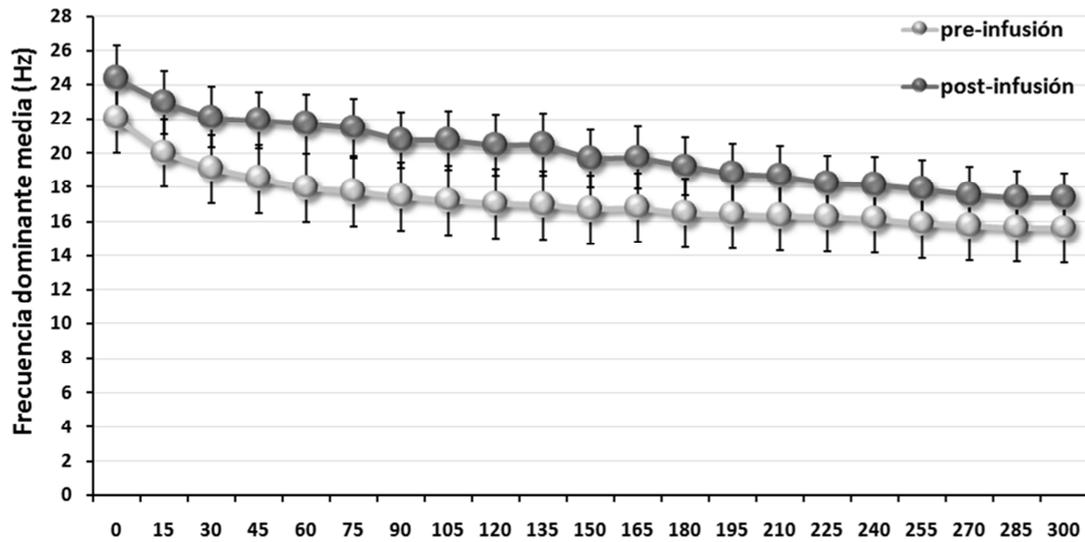


Figura 3.33. Frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular en el grupo de animales falsos operados. En el eje horizontal aparece los diferentes tiempos medidos. El tratamiento estadístico se realizó con los 75 segmentos de 4 s de FV correspondientes a 300 s, pero para la elaboración de la figura se utilizaron únicamente los puntos correspondientes a intervalos de 15 s. Grupo falso operado n = 10; Hz = hercios; las barras de error corresponden al error estándar.

3.4.3. Efecto del entrenamiento físico.

El entrenamiento físico modificó el patrón fibrilatorio ventricular, haciéndose evidente un descenso significativo de la frecuencia dominante media en el grupo entrenado (figura 3.34).

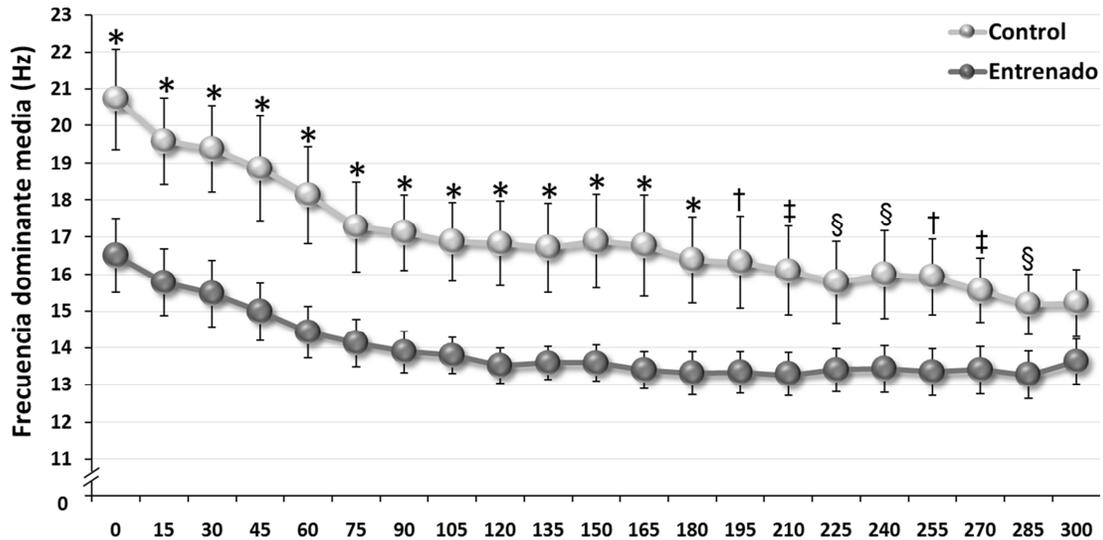


Figura 3.34. Efecto del entrenamiento físico sobre la frecuencia dominante media (FrDM) de la fibrilación ventricular (FV). En el eje horizontal aparece los diferentes tiempos medidos. El tratamiento estadístico se realizó con los 75 segmentos de 4 s de FV correspondientes a 300 s, pero para la elaboración de la figura se utilizaron únicamente los puntos correspondientes a intervalos de 15 s. Grupo falso operado n = 10; Hz = hercios; las barras de error corresponden al error estándar. *p<0,05; †p = 0,06; ‡ p = 0,07; § p = 0,09.

Cabe destacar que en 3 animales del grupo entrenado revirtió espontáneamente la fibrilación ventricular, con lo que el número de casos estudiados se vio reducido a 8 animales. En un animal del grupo control no se pudo inducir la fibrilación ventricular ya que se sobrepasó el número de intentos establecidos para provocar la misma (10).

3.5. Flujo coronario.

En la tabla 3.7 pueden verse los valores de flujo coronario obtenidos en las 4 mediciones realizadas: al inicio del experimento, antes de infundir atropina, tras la infusión de atropina y al final del experimento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre estas 4 determinaciones en ninguno de los grupos experimentales. De igual forma, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al flujo coronario normalizado por el peso de los corazones entre los 3 grupos experimentales.

FLUJO CORONARIO ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	Inicio	Pre-atropina	Post-atropina	Fin
Control (n)	3,47±0,9 (9)	3,10±0,9 (9)	2,99±0,9 (9)	2,79±0,9 (9)
Entrenado (n)	3,36±0,9 (10)	3,05±1,1 (10)	2,92±0,9 (10)	2,79±1,1 (10)
Falso operado (n)	3,42±0,9 (6)	3,05±0,8 (6)	2,92±0,8 (6)	2,71±0,6 (6)

Tabla 3.7. Flujo coronario de los corazones normalizado por el peso. Los valores son medias \pm desviación típica; número de experimentos entre paréntesis.

3.6. Peso de los animales y de los corazones

En cuanto al peso de los animales, éste fue significativamente mayor en el grupo falso operado, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y entrenado. En lo referente al peso de los corazones, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos experimentales (tabla 3.8).

	Peso animal (Kg)	Peso corazón (g)
Control (n)	3,63±0,25 (11)	14,23±2,7 (11)
Entrenado (n)	3,60±0,29 (11)	14,41±2,1 (11)
Falso operado (n)	3,96±0,32* [†] (10)	15,36±2,7 (10)

Tabla 3.8. Peso del animal y de los corazones. Los valores son medias ± desviación típica; número de experimentos entre paréntesis. *p<0,05 frente a control; [†]p<0,05 frente a entrenado.

Capítulo 4.

DISCUSIÓN

4.1. CONSIDERACIONES GENERALES.

En este trabajo se ha estudiado el papel del sistema nervioso parasimpático intrínseco cardíaco sobre las modificaciones que el entrenamiento físico produce en varias propiedades electrofisiológicas del corazón como el automatismo, la conducción y la refractariedad.

Se trata, por tanto, de un trabajo de marcado carácter básico, centrado en la investigación de la naturaleza de las modificaciones que el entrenamiento físico produce en un órgano tan importante para el ser humano como es el corazón. La pregunta a la que se ha intentado responder es, acerca de la naturaleza de los efectos que el entrenamiento físico produce sobre la electrofisiología cardíaca, ¿se trata de modificaciones ligadas únicamente al control del sistema nervioso parasimpático o existen otros mecanismos intrínsecos subyacentes independientes del control nervioso? Esta cuestión ha sido debatida por diversas investigaciones durante los últimos 30 años y ha generado opiniones contrapuestas.

Para tratar de responder este interrogante se eligió un modelo de corazón aislado que permite diferenciar si los cambios en las propiedades anteriormente citadas son propios del corazón (y, por tanto, no sometidos a control nervioso ni humoral), algo que las investigaciones llevadas a cabo en modelos *in vivo* no permiten concluir. En este sentido, sigue una de las líneas de trabajo del grupo investigador que ha dado como fruto varias publicaciones al respecto entre artículos (Such y cols., 2002; 2008) y tesis doctorales (Orts, 2007; López, 2008; Pelechano, 2008), trabajos en los que se concluyó que el entrenamiento físico modifica las propiedades eléctricas miocárdicas en el corazón aislado y, por tanto, no sometido a influencias nerviosas ni humorales. No obstante, la existencia de un complejo sistema nervioso intracardíaco que puede regular, incluso desconectado de los centros superiores de control nervioso, la función cardíaca, plantea una serie de cuestiones sobre la naturaleza de los cambios observados.

Aunque este marcado carácter básico sea el predominante, el trabajo realizado también presenta interés en lo que respecta al conocimiento aplicado, sobre todo derivado de estudios recientes realizados sobre la prevención que, a través de la realización de ejercicio físico, puede obtenerse ante determinados tipos de arritmias

cardíacas que están implicadas en la mortalidad de origen cardíaco (Paffenbarger y Hale, 1975, Ekelund y cols., 1988; Blair y cols., 1996). De hecho, la muerte súbita de origen cardíaco, causada en la mayoría de casos por la fibrilación ventricular, es la principal causa de muerte en los países desarrollados (Billman, 2009).

Por las razones anteriormente expuestas, entre ellas el aporte de nuevo conocimiento, además de la proyección aplicada, este trabajo resulta, a nuestro entender, especialmente relevante.

4.2. CONSIDERACIONES SOBRE LOS MÉTODOS EMPLEADOS.

4.2.1. El modelo experimental.

A) Respecto a la preparación experimental.

Se ha utilizado una preparación de corazón aislado con el fin de excluir influencias nerviosas y/o humorales sobre el mismo y, por tanto, sobre los resultados obtenidos en el estudio. Esta preparación es empleada comúnmente para el estudio de los efectos electrofisiológicos directos o intrínsecos de fármacos o de diversas manipulaciones como pueden ser el estiramiento miocárdico, las lesiones por radiofrecuencia, las variaciones térmicas, la hipoxia/isquemia global o regional y el ejercicio físico (Chorro y cols., 1997; 1999; 2000; 2005; Such y cols., 2002; 2008).

Por otro lado, el modelo de corazón aislado de conejo solamente requiere para su perfusión líquidos de fácil disponibilidad y preparación como el Tyrode, lo que representa una ventaja si lo comparamos con el corazón de otros animales como el perro, que requiere sangre para su perfusión; además, el conejo es un animal de fácil manipulación, lo que le otorga también ventajas respecto al corazón de animales más pequeños como el de la rata o la cobaya. Otros animales como el ratón, que tiene una masa ventricular muy pequeña y una frecuencia cardíaca muy elevada, presentan alteraciones electrofisiológicas como una duración más corta del potencial de acción, por lo que no se trata del modelo más adecuado para este tipo de estudios. En este animal es, además, 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 establecen en estos animales (Billman, 2002).

Finalmente, el hecho de haber utilizado una preparación tipo Langendorff, sin postcarga y con una ligerísima precarga (no se trata, por tanto, de una preparación de *working heart*), nos permite asegurar que las diferencias observadas entre los grupos no pueden atribuirse a diferencias en el trabajo cardíaco, sino al efecto de la intervención, en este caso, el entrenamiento físico. La ligerísima precarga anteriormente mencionada se refiere al ventrículo derecho, debido al Tyrode que perfunde el árbol coronario y que

retorna a dicho ventrículo. No obstante, esto no supone ninguna limitación importante puesto que la refractariedad ha sido analizada en el ventrículo izquierdo.

B) Respecto al modelo animal utilizado.

La elección del modelo animal adecuado es particularmente importante para el estudio de la respuesta del corazón ante el ejercicio. En este sentido, la mayoría de estudios realizados sobre la respuesta metabólica, contráctil y celular del corazón al ejercicio se han realizado, generalmente, utilizando un modelo animal de rata, debido a que presenta una constitución genética bien definida, un bajo coste económico y la posibilidad de ser entrenados varios animales simultáneamente.

No obstante, para nuestros objetivos, éste no es el modelo más adecuado para estudiar el efecto del entrenamiento sobre la respuesta cardíaca, ya que es bien conocido que el corazón de rata es anómalo en muchos aspectos importantes al compararlo con otras especies (Meng y Pierce, 1990). Por ejemplo, las células cardíacas de la rata tienen un potencial de acción más corto sin apenas fase de meseta (Vaughan-Williams, 1987), una relación atípica en cuanto al intervalo de estimulación y la fuerza de contracción, dominada por una tendencia a la disminución de la fuerza de contracción al aumentar la frecuencia de estimulación (Blesa y cols., 1970, Langer y cols., 1975) y una mayor dependencia de las reservas de Ca^{2+} intracelular para la generación de fuerza que otras especies de animales más grandes como el conejo o el perro (Bers y cols., 1981; Rich y cols., 1988). A todo esto se le añade su alta frecuencia cardíaca, que dificulta los estudios dependientes de ésta y un tamaño cardíaco muy pequeño, que va en perjuicio de una instrumentalización prolongada (Schaible y Scheuer, 1985) y, en este caso, de la utilización de determinado instrumental para el cumplimiento de nuestros objetivos como la placa multielectrodo de registro.

En cuanto al uso de los perros, avala su utilización el hecho de que pueden ser instrumentalizados para realizar estudios longitudinales y que su respuesta al entrenamiento físico es similar a la que se produce en el ser humano, (Schaible y Scheuer, 1985). No obstante, como ya se ha comentado anteriormente, el trabajo en corazón aislado supone una complejidad mucho mayor.

Respecto al conejo, se trata de un animal considerado por muchos autores idóneo para estudios sobre los efectos del entrenamiento físico, 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 (Di Carlo y cols., 1990). Además, las características electrofisiológicas del corazón de conejo son muy similares a las del corazón humano (Panfilov, 2006; Gao y cols., 2007; Gaustad y cols., 2010). En siguiente apartado (4.2.2) se tratarán con más detalle los aspectos relacionados con los protocolo de entrenamiento en estos animales.

C) Respecto al fármaco utilizado.

La sustancia utilizada para realizar el bloqueo farmacológico del sistema nervioso parasimpático ha sido la atropina (como sal de sulfato), un antagonista competitivo del receptor muscarínico, con una concentración de 1 μM . Las concentraciones atropina utilizadas en la literatura varían de 0,1 a 10 μM , habiendo sido demostrado que con una concentración de 0,5 μM es suficiente para realizar un bloqueo total y efectivo de los receptores muscarínicos en el corazón de conejo (Habermeier-Muth y Muscholl, 1988; Accili y Di Francesco, 1996). Se escogió 1 μM para tener un margen de seguridad de estar efectuando el bloqueo colinérgico y a la vez no utilizar una concentración demasiado elevada del fármaco.

4.2.2. El protocolo de entrenamiento físico.

Una de las mayores limitaciones a la hora de abordar el tema del entrenamiento físico en animales pudiese ser que la mayoría de trabajos experimentales que se han realizado han tomado como modelo de estudio la rata, hecho que es particularmente importante cuando hablamos de la respuesta del corazón al ejercicio físico, como ya se ha mencionado en el apartado anterior.

Los trabajos sobre entrenamiento físico llevado a cabo en conejos son más escasos y existe una gran diversidad en cuanto a los métodos de entrenamiento utilizados, pudiendo encontrarse tanto protocolos continuos (Chen y Li, 1993; Carroll, 2003; Becker y cols., 2004; de Moraes y cols., 2008) como interválicos (Meng y Pierce, 1990; Such y cols., 2002; 2008) con un rango de intensidades variable entre estudios.

También existen discrepancias en cuanto a la predisposición de los conejos Nueva Zelanda para la carrera, de forma que algunos autores han encontrado dificultades para hacer correr a los animales durante más de 1-2 minutos a una modesta velocidad de $13 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ (Faris y cols. 1982). Jover y cols. (1987) observaron que los conejos de laboratorio disponen de una capacidad limitada para realizar ejercicio de forma aeróbica, ya que a partir de 2 minutos y medio de carrera desarrollan signos visibles de agotamiento y a una velocidad de $20 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ no son capaces de correr durante más de 2,5 minutos; sin embargo, los conejos utilizados en este estudio eran de una raza cruzada inglesa y la muestra muy reducida. Otros autores, por contra, han publicado que los conejos Nueva Zelanda son capaces de realizar carrera continua en cinta rodante a una velocidad de $15\text{-}18 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ hasta 60 minutos (Gao y cols. 2007, De Moraes y cols. 2008). Se desconocen las razones a las que podría deberse esta disparidad acerca del comportamiento del conejo al correr en el tapiz rodante, pero podrían estar relacionadas con la raza utilizada, por factores comportamentales del propio animal (es posible que se nieguen a correr más rápido porque no toleran bien la fatiga), porque las velocidades utilizadas se encuentran en un punto muy próximo al umbral anaeróbico o simplemente por el tipo de manipulación a la que son sometidos, ya que son animales extremadamente sensibles y pueden estresarse con facilidad.

La efectividad del protocolo de entrenamiento utilizado en el presente estudio ya ha sido discutida en trabajos anteriores (Such y cols., 2008; Pelechano, 2008). A continuación expondremos los principales hallazgos al respecto, según describe Pelechano (2008):

- El protocolo de entrenamiento físico produce un descenso de la frecuencia cardíaca en reposo, tanto *in vivo* como *in vitro*, en el grupo de animales entrenados (Such y cols., 2008; Pelechano, 2008). La modificación de este parámetro se ha considerado tradicionalmente como uno de los sellos característicos del entrenamiento aeróbico (Blomqvist y Saltin, 1983).
- En cuanto a la concentración de lactato, también se ha registrado un descenso de la concentración de lactato en sangre, cuyo valor en la última serie de la sesión en la sexta semana de entrenamiento no es diferente del valor basal, indicando una estabilización en la concentración de lactato similar a los valores de reposo tras el aumento inicial en la concentración en las series primera y tercera, tal y como puede observarse en la tabla siguiente:

	Basal	Toma 1	Toma 2	Toma 3
Semana 1	3,32±0,84 (19)	6,18±2,4* (17)	7,11±4,09* (16)	6,52±4,22* (14)
Semana 4	3,59±1,35 (20)	6,15±2,08* (19)	5,23±2,17* (19)	4,68±2,08* (15)
Semana 6	3,64±1,31 (17)	6,06±2,36* (17)	6,29±2,20* (16)	3,98±1,47 (11)

Tabla 4.1. Concentración plasmática de lactato en la primera, cuarta y sexta semana de aplicación del protocolo de entrenamiento, modificado de Pelechano (2008). Los valores son medias ± desviación típica, expresados en mm·L⁻¹. Número de experimentos entre paréntesis. Toma 1 = determinación tras la primera serie; toma 2 = determinación tras la tercera serie; toma 3 = determinación tras la sexta serie; cuyo valor en la última serie de la sesión. * p<0,05 respecto a basal.

Los resultados de la sexta semana de entrenamiento muestran que se produce un aumento en la concentración de lactato plasmático respecto al basal en la primer medición (tras la primera serie) y la segunda medición (al finalizar la tercera serie), mientras que en la tercera toma (tras la sexta serie) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al basal. Estos resultados son coincidentes con lo

expuesto por Astrand (1992) y García Manso y cols. (1996), quienes mostraron que, con el entrenamiento aeróbico, tras el inicio de la actividad se produce una respuesta inicial en la que aumenta la concentración de lactato y, transcurrido un tiempo, éste retorna a valores similares al reposo. Este retorno a los valores iniciales es debido a la adecuada aportación de oxígeno a los músculos y se puede considerar como una adaptación al protocolo de entrenamiento.

- La aplicación del protocolo de entrenamiento modifica la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la proteína de choque térmico HSP60 (Such y cols., 2008). En este trabajo se obtuvo un incremento del $35 \pm 10 \%$ en el contenido de HSP60 y un $51 \pm 9 \%$ en el contenido de iNOS en el grupo de animales entrenados. Gómez-Cabrera y cols. (2005) relacionaron el aumento en la expresión de proteínas como las anteriormente mencionadas con las adaptaciones producidas por el entrenamiento físico utilizando dos protocolos de diferentes intensidades. Asimismo, un estudio realizado por Husain y Hazelrigg (2002) mostró un incremento en la expresión de la enzima iNOS y del óxido nítrico en el miocardio de ratas sometidas a entrenamiento físico.

Por tanto, a la vista de los anteriores resultados, puede decirse que el protocolo de entrenamiento utilizado produce modificaciones en una serie de marcadores de entrenamiento, tanto específicos como inespecíficos del entrenamiento físico de tipo aeróbico, por lo que consideramos que se trata de un protocolo adecuado para la realización del estudio.

4.3. RESPECTO A LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

4.3.1. El automatismo.

En cuanto al efecto del bloqueo colinérgico sobre el automatismo sinusal, la administración de atropina no modificó el intervalo V-V en el grupo control ni en el grupo entrenado, por lo que puede concluirse que el sistema nervioso parasimpático intrínseco no media la depresión del cronotropismo sinusal producida por el entrenamiento físico en el corazón aislado.

La visión tradicional respecto a la disminución de la frecuencia cardíaca por el entrenamiento aeróbico consiste en que dicha disminución se debe a un incremento de la actividad parasimpática en reposo. En efecto, la liberación de acetilcolina (ACh) desde las terminales parasimpáticas postganglionares provoca una apertura de los canales de salida de K^+ ($I_{K_{ACh}}$) dependientes de ACh, mediada por los receptores muscarínicos. Esto resulta en un aumento de la corriente de salida de K^+ que produce la hiperpolarización de las células marcapasos del nodo SA (Jalife y cols., 2009). La ACh también afecta a otras corrientes, disminuyendo la corriente lenta de entrada de Ca^{2+} (I_{Ca-L}), lo que conduce a una disminución de la corriente de entrada responsable tanto de la fase 0 (despolarización rápida) como de la fase 4 del potencial de acción. La combinación de este incremento en $I_{K_{ACh}}$ y el descenso en I_{Ca-L} resulta en un enlentecimiento de la frecuencia de disparo de las células marcapasos (Carmeliet y Mubagwa, 1998; Snyders, 1999) y con ello en la disminución de la frecuencia cardíaca.

No obstante, los resultados presentados por diversas investigaciones en las que se ha efectuado el bloqueo farmacológico de ambas ramas del sistema nervioso autónomo tras el período de entrenamiento, o comparando deportistas de resistencia con sujetos sedentarios, reflejan un descenso de la frecuencia cardíaca de los sujetos entrenados (Lewis y cols., 1980; Katona y cols., 1982; Stein y cols., 2002), sugiriendo un papel de una adaptación intrínseca en esta modificación. En este 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 pueden ejercer efectos sobre él. En este sentido, las propiedades electrofisiológicas que exhibe el corazón *in situ* probablemente sean la

resultante de todos los factores citados más el concurso del sistema nervioso extrínseco y todos los factores intrínsecos, incluidos también los nerviosos. Es importante hacer esta consideración para justificar la ventaja del modelo experimental utilizado frente a aquéllos que para realizar estudios de las modificaciones electrofisiológicas intrínsecas del ejercicio recurren al bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo, en el corazón *in situ*, y que por lo tanto no pueden obviar las posibles influencias de tipo humor-hormonal.

Al no haber encontrado ningún efecto del bloqueo colinérgico sobre el automatismo, no se confirma la hipótesis de partida de este estudio, según la cual los cambios que el entrenamiento físico produce sobre el automatismo sinusal en corazón aislado están mediados por el sistema nervioso parasimpático cardíaco. En este caso, ¿cómo puede explicarse el mecanismo intrínseco de la bradicardia del individuo entrenado? Autores como Lewis y cols. (1980) relacionaron este componente intrínseco de la bradicardia en los sujetos entrenados con el agrandamiento de las dimensiones cardíacas y con el estiramiento tónico de la zona de las células marcapasos del nodo SA, que podría estar provocado por la dilatación auricular que acontece en los individuos altamente entrenados en deportes de resistencia. Otros autores han sugerido una modificación en el metabolismo de los miocitos que podría resultar en una utilización y generación más eficiente de la energía (Katona y cols., 1982). Incluso se ha relacionado la bradicardia con una enfermedad del nodo SA (Northcote y cols., 1989). La respuesta podría hallarse también en una alteración de otras corrientes iónicas que produzca como resultado una disminución en la frecuencia de disparo del nodo SA, ya sea por una hiperpolarización del potencial de membrana en reposo o por incremento en la duración del PA. A este respecto, se sabe que el entrenamiento físico produce una serie de modificaciones en algunas corrientes iónicas de salida de K^+ relacionadas con la repolarización (Jew y cols., 2001).

Asimismo, los resultados presentados sobre el efecto del entrenamiento sobre el automatismo sinusal han reproducido los obtenidos por estudios previos (Such y cols., 2008; Pelechano, 2008) y contribuyen a asentar que el entrenamiento provoca cambios de carácter intrínseco en corazón aislado y, por lo tanto, no sometido a influencias nerviosas ni humorales.

4.3.2. La conducción.

En relación con el efecto del bloqueo colinérgico sobre la depresión de la conducción auriculoventricular producida por el entrenamiento físico, no hemos encontrado diferencias en la longitud de ciclo de Wenckebach (parámetro con el que analizamos el dromotropismo) tras la administración de atropina, lo cual parece indicar que esta adaptación intrínseca miocárdica no depende tampoco de la actividad o adaptaciones en el sistema nervioso parasimpático cardíaco.

Los efectos depresores del entrenamiento sobre la conducción AV se han atribuido tradicionalmente a un aumento del tono vagal (Northcote y cols., 1989; Bjorstad y cols., 1993). Efectivamente, la estimulación de los nervios colinérgicos proporciona estímulos inhibidores, de forma que varios mecanismos se combinan para, en última instancia, inhibir la corriente de entrada de calcio, produciendo como resultado una respuesta dromotrópica negativa en la conducción auriculoventricular.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, utilizando un modelo de corazón aislado sometido al bloqueo farmacológico del sistema nervioso parasimpático, parecen indicar que el anteriormente citado no es el único mecanismo por el que se produce como respuesta adaptativa al entrenamiento físico una depresión de la conducción A-V, evidenciada por el incremento de la longitud de ciclo de Wenckebach. Como posibles explicaciones no vinculadas a la acción del sistema nervioso de esta depresión de la conducción, algunos autores apoyan la hipótesis de que los bloqueos en el deportista entrenado están provocados por el daño miocárdico (Bjornstad y cols., 1991). Por otro lado, otros estudios indican que cambios en el entorno mecánico del corazón son capaces de influir tanto el inicio como la expansión de la excitación cardíaca a través de vías que son intrínsecas al propio corazón (Kohl y cols., 1999). Stein y cols. (2002), en referencia a la controversia sobre determinantes autonómicos *versus* no autonómicos en la adaptación del deportista, proponen que los programas de entrenamiento a corto plazo pueden provocar adaptaciones dependientes del sistema nervioso autónomo, como una reducción en la actividad parasimpática y un incremento de la actividad simpática. Por su parte, el entrenamiento de tipo aeróbico a largo plazo, acompañado de cambios anatómicos como la dilatación auricular y ventricular, podría crear la retroalimentación

mecanoeléctrica necesaria para inducir las adaptaciones electrofisiológicas intrínsecas, fue demostrado en éste y otros estudios (Lewis y cols., 1980; Katona y cols., 1982).

Las diferencias obtenidas en la longitud del ciclo de Wenckebach entre los grupos control y entrenado son coincidentes con estudios previos realizados. Así, Such y cols. (2002) evidenciaron la presencia de una depresión de la conducción auriculoventricular con el incremento en la longitud de ciclo de Wenckebach, con lo que en el presente estudio se reproducen los mismos resultados empleando un protocolo de entrenamiento de menor intensidad. Estos resultados son coincidentes con investigaciones que han demostrado *in situ* la existencia de una depresión de la conducción auriculoventricular en deportistas, en los que era frecuente la aparición de bloqueos de tipo I y, ocasionalmente, de tipo II (Talan y cols., 1982, Viitasalo y cols., 1982 y Viitasalo y cols., 1984). A pesar de las explicaciones anteriormente mencionadas, las modificaciones encontradas no están ligadas a una hipertrofia miocárdica, ya que no existieron diferencias en el peso de los corazones entre los animales control y los entrenados, ni existen evidencias que nos hagan sospechar de un daño miocárdico producido por el estrés oxidativo, puesto que con un protocolo de mayor intensidad no hubo variaciones en los marcadores de estrés oxidativo (Such y cols., 2002), así como tampoco podemos atribuir dichos cambios a variaciones en el flujo coronario, ya que éste no fue diferente entre ambos grupos, control o entrenado ni, asimismo, modificado por la administración de atropina.

Respecto al intervalo A-V, no se encontraron diferencias entre el grupo control y el grupo entrenado. Este parámetro nos indica el tiempo transcurrido entre la despolarización auricular y su correspondiente despolarización ventricular, lo que sería equivalente al intervalo P-R del electrocardiograma. Los resultados obtenidos son coincidentes con Boraita y Serratosa (1998) quienes publicaron que el intervalo P-R de los deportistas se encuentra dentro de los límites establecidos como normales (0,12 a 0,20 s), siendo el valor medio que obtuvieron de 155 ± 55 ms. Resultados similares obtuvieron Stein y cols. (2002), quienes reportaron valores de 168 ± 15 ms en deportistas de resistencia (corredores de fondo) frente a 156 ± 16 ms en sujetos control. No obstante, en deportes con predominio del entrenamiento de tipo aeróbico es frecuente encontrar un intervalo PR en el límite alto de la normalidad.

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud del ciclo de Wenckebach retrógrado, parámetro que evalúa la conducción ventriculoaricular, entre los grupos control y entrenado. Estos resultados coinciden parcialmente con los obtenidos por Such y cols. (2002), quienes no encontraron diferencias en la longitud del ciclo de Wenckebach retrógrado. No obstante, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, encontraron una tendencia al incremento en el grupo de animales entrenados, lo cual podría estar vinculado a las diferencias en el protocolo de entrenamiento. Llama la atención el haber encontrado diferencias en este parámetro en el grupo de animales control tras el bloqueo colinérgico, produciéndose un incremento indicativo de que el bloqueo en la conducción aparecía a una frecuencia de estimulación menor. Es por ello que este efecto no parece estar relacionado con la administración de atropina, ya que en caso de haber ejercido algún efecto, debería haber sido la disminución de la longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado. Como es bien sabido, la ACh deprime la conducción nodal y, por tanto, al administrar atropina debería facilitarse la conducción, apareciendo con ello el bloqueo a una frecuencia de estimulación mayor. Apoya esta hipótesis el hecho de que en el grupo de animales falsos operados también se encontraron diferencias estadísticamente significativas en este parámetro entre las dos mediciones realizadas (antes y después de la infusión de Tyrode filtrado), apuntando a un posible efecto relacionado con el transcurso del tiempo, la repetición del protocolo electro-fisiológico o alguna maniobra realizada durante el mismo.

4.3.3. La refractariedad.

A) La refractariedad auricular.

Los efectos de la ACh sobre el período refractario auricular son bien conocidos, de forma que la estimulación parasimpática a través de la ACh activa la corriente de salida de potasio regulada por ACh ($I_{K_{ACh}}$), lo cual produce un acortamiento de la refractariedad, de la duración del potencial de acción y la dispersión del período refractario (Zipes y cols., 1974; Vigmond y cols., 2004). Estas modificaciones electrofisiológicas facilitan la inducción y mantenimiento de la fibrilación auricular, cuya incidencia es elevada en los deportistas de resistencia altamente entrenados. Mont y cols. (2009) concluyeron que el deporte de resistencia prolongado y de elevada intensidad incrementa entre 2 y 10 veces la probabilidad de padecer fibrilación auricular, sugiriendo como posibles mecanismos una serie de cambios inflamatorios, latidos ectópicos, cambios en el tamaño de las aurículas, la aparición de fibrosis o un elevado tono vagal, aunque éste último facilitaría la aparición de la arritmia, más que ser la causa de la misma.

El estudio de la refractariedad auricular se planteó en vista de la disparidad presente en la literatura acerca de los efectos del entrenamiento físico sobre dicho parámetro. Así, pueden encontrarse estudios que atribuyen un incremento de la refractariedad auricular como consecuencia del entrenamiento físico en un grupo de sujetos con el síndrome de Wolff-Parkinson-White (Mezzani y cols., 1990), mientras que otras investigaciones no encontraron modificación alguna en sujetos sanos sometidos a un protocolo de entrenamiento (Brorson y cols., 1976). En cuanto a estudios experimentales sobre el efecto del entrenamiento sobre la refractariedad auricular intrínseca, también se dispone de poca información. López (2008) no encontró diferencias en la refractariedad auricular intrínseca de corazones procedentes de animales entrenados en comparación con animales control. En la misma línea, Such y cols. (2008), utilizando un protocolo de entrenamiento de menor intensidad, no observaron ningún cambio en el período refractario efectivo ni funcional auricular en el grupo de animales entrenados.

En el presente estudio, al igual que en los anteriores, no se encontró modificación alguna de la refractariedad auricular por efecto del entrenamiento físico. Además, el bloqueo de los receptores muscarínicos con atropina no alteró el período refractario

efectivo ni funcional auricular en ambos grupos experimentales según el protocolo e intensidad descritos. Por lo tanto, los resultados obtenidos indican que el entrenamiento físico no modifica la refractariedad auricular en el corazón aislado y que tampoco existe una liberación tónica de ACh desde las terminales postganglionares del miocardio auricular que ejerza influencia sobre la refractariedad.

B) La refractariedad del sistema de conducción auriculo-ventricular.

El bloqueo colinérgico no ejerció ninguna influencia sobre el incremento del período refractario funcional producido por el entrenamiento físico, ya que no se encontraron modificaciones en dicho parámetro tras la administración de atropina. Estos resultados siguen la línea de los obtenidos en otras propiedades electrofisiológicas como el automatismo y la conducción y parecen apuntar a que el entrenamiento modifica la refractariedad intrínseca del sistema de conducción auriculoventricular a través de una acción independiente del sistema nervioso parasimpático.

En esta misma línea, Stein y cols. (2002) encontraron un incremento del período refractario del nodo auriculoventricular en deportistas de resistencia sometidos al bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo presentaron una modificación de la refractariedad intrínseca en el sistema de conducción auriculoventricular respecto a los sujetos control, siendo el período refractario del nodo AV mayor en el grupo de sujetos entrenados. En cuanto a estudios experimentales, Such y cols. (2002) no encontraron diferencias en la refractariedad del sistema de conducción auriculoventricular, pero tanto el protocolo (mayor intensidad) como la metodología utilizada (sistema de grabación analógico y un sólo tren de estimulación), eran diferentes. En un estudio posterior (López, 2008), utilizando una metodología para el registro y análisis más moderno y sofisticado, así como una exploración más exhaustiva de la refractariedad a través de la aplicación de diferentes trenes de estimulación, tampoco encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y entrenado, aunque el valor medio del período refractario funcional del sistema de conducción AV era mayor en grupo entrenado.

Los resultados presentados en este trabajo son coincidentes con los obtenidos por Pelechano (2008) quien, utilizando el mismo protocolo de entrenamiento y la misma

metodología para el estudio de la refractariedad, encontró un incremento del período refractario del sistema de conducción A-V en el grupo de animales entrenados.

En cuanto a los mecanismos subyacentes en este incremento de la refractariedad, aunque en este trabajo no se han estudiado las posibles modificaciones de los canales iónicos implicados en la excitabilidad miocárdica, ha sido descartado el papel del sistema nervioso parasimpático intrínseco, a través de la activación de la corriente de salida de K^+ dependiente de ACh, como ya se ha comentado.

C) La refractariedad del sistema de conducción ventriculo-auricular.

Los resultados obtenidos por éste y por trabajos previos (Such y cols., 2002; López, 2008; Pelechano, 2008) parecen indicar que el entrenamiento físico no modifica la refractariedad del sistema de conducción ventriculoauricular. El bloqueo colinérgico tampoco modificó este parámetro, indicando que no se produce liberación alguna de ACh durante los tests realizados que pueda afectar a la refractariedad del sistema de conducción retrógrado, al igual que ocurre con otros parámetros estudiados.

D) La refractariedad ventricular.

Como ha podido verse en el capítulo de resultados, el incremento de la refractariedad ventricular producido por el entrenamiento físico no se vio modificado por la administración de atropina, por lo que demostramos que se puede excluir la participación del sistema nervioso parasimpático intracardíaco en tales modificaciones.

Resultados previos de diversas investigaciones que estudiaron el efecto de la ACh sobre la refractariedad ventricular mostraron un incremento de la misma como consecuencia de la acción de la estimulación parasimpática (Martins y Zipes 1980; Prystowsky y cols., 1981; Inoue y Zipes 1987; Morady y cols., 1988; Litovsky y Antzelevitch 1990;; Ellenbogen y cols., 1990; Shimizu y cols., 1994). Es por ello que planteamos como hipótesis de trabajo que el incremento de la refractariedad ventricular observado en el corazón aislado de animales entrenados podía estar mediado por la acción del sistema

nervioso parasimpático intrínseco a través de su acción sobre la corriente de salida de potasio dependiente de ACh (I_{KACH}). Los resultados obtenidos nos hacen rechazar dicha hipótesis y, aunque no han sido estudiados otros mecanismos básicos, varias podrían ser las razones que explicasen este fenómeno sobre la base de otros estudios realizados.

Por un lado, Jew y cols. (2001), estudiando a través de *patch-clamp* las características electrofisiológicas de miocitos ventriculares aislados de ratas sometidas a entrenamiento físico, encontraron que la densidad de las corrientes repolarizantes de K^+ de inactivación lenta estaba reducida en el grupo de animales entrenados, lo cual puede contribuir a explicar el alargamiento de la duración del potencial de acción en los miocitos aislados de animales entrenados (Tibbits y cols., 1981; Gwathmey y cols., 1990; Natali y cols., 2002). Aunque estos autores no determinaron el período refractario ventricular, se ha comprobado que existe una correspondencia o correlación directa entre el período refractario y el potencial de acción bajo normal oxigenación del corazón, aunque se pierde en condiciones de isquemia (Sutton y cols., 2000). Asimismo, Jew y cols. (2001) también encontraron un incremento en la rapidez en la cual se alcanza el pico de la corriente I_{to} , corriente transitoria de salida de K^+ que es responsable de la fase 1 del potencial de acción, la repolarización rápida, junto con un ligero (pero significativo) aumento en la densidad de la misma.

Los movimientos de calcio a través de la membrana también podrían estar implicados en el alargamiento de la duración del potencial de acción miocárdico producido por el entrenamiento físico. Con este fin, Mokolke y cols. (1997) intentaron determinar si el entrenamiento producía cambios a nivel de la corriente lenta de entrada de calcio (I_{Ca-L}), tal y como parecían indicar las alteraciones en el movimiento general de Ca^{2+} de los miocitos aislados del ventrículo izquierdo de ratas sometidas a entrenamiento físico (Tibbits y cols., 1981; Gwathmey y cols., 1990; Moore y cols., 1993). Tras estudiar las características electrofisiológicas de esta corriente encontraron que dichas características no fueron afectadas por el programa de entrenamiento, descartando la participación de I_{Ca-L} en el alargamiento del potencial de acción.

Otra posible explicación de la prolongación del potencial de acción producida por el entrenamiento físico podría encontrarse en la actividad del intercambiador Na^+/Ca^{2+} , que

tiene propiedades electrogénicas. Efectivamente, un incremento en la actividad de este intercambiador electrogénico, que tiende a incrementar la electropositividad intracelular durante su funcionamiento habitual (no la forma reversa), produciría un alargamiento de la refractariedad miocárdica. Así, Mace y cols. (2003) llevaron a cabo un estudio para analizar los efectos del entrenamiento y de la edad en dicho intercambiador en un modelo animal de rata. Aunque sí encontraron modificaciones por el efecto del envejecimiento, el entrenamiento físico no alteró la actividad del intercambiador iónico $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, por lo que no parece contribuir al incremento de la duración del potencial de acción.

Finalmente, podría implicarse a la corriente rectificadora de entrada de K^+ , I_{K1} . Esta corriente es responsable, principalmente, de la fase de repolarización final del potencial de acción (fase 3) y de la fase 4, del mantenimiento del potencial de membrana en reposo (Tamargo y cols., 2003). Por lo tanto, la modulación de I_{K1} puede tener un profundo efecto en la excitabilidad cardíaca y la arritmogénesis (Dhamoon y Jalife, 2005), sobre todo en el ventrículo, donde su densidad es unas 6 veces mayor que en el territorio auricular (Schram y cols., 2002). Es por ello que cambios en el comportamiento de esta corriente podrían contribuir a las modificaciones encontradas, tanto en el incremento de la refractariedad registrado a través del período refractario, como a través del descenso de la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular. A este respecto Noujaim y cols. (2007), en un estudio en el que utilizaron ratones modificados genéticamente para sobreexpresar la proteína Kir 2.1 (que codifica el canal I_{K1}), encontraron que en estos ratones los valores de la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular eran mucho mayores (33 Hz en los animales control frente a 60 Hz en los animales transgénicos).

Por otro lado, se han reproducido los resultados obtenidos por un trabajo previo utilizando el mismo protocolo de entrenamiento (Such y cols., 2008), con lo que se contribuye a asentar que el entrenamiento físico incrementa la refractariedad ventricular. La importancia de este fenómeno puede verse en relación con la aparición y mantenimiento de las arritmias por reentrada. La refractariedad es uno de los componentes que definen la longitud de onda del proceso de activación, que es el producto de la velocidad de conducción del impulso eléctrico por el período refractario

(Wiener y cols., 1946). Por ejemplo, el acortamiento de la longitud de onda miocárdica, bien disminuyendo la refractariedad (Rensma y cols., 1988), o bien enlenteciendo la velocidad de conducción (Lammers y cols., 1988), tienden a producir un incremento en la incidencia de la fibrilación auricular inducida, mientras que los fármacos que alargan la longitud de onda, como la atropina, la quinidina y el d-sotalol, poseen propiedades antifibrilatorias (Lammers y cols., 1988, Rensma y cols., 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 reentrantes (Wijffels y cols., 1995). Es por ello que este incremento de la refractariedad ventricular registrado podría ejercer un efecto protector frente a la aparición de arritmias reentrantes en el ventrículo.

4.3.4. La frecuencia de la fibrilación ventricular.

La fibrilación ventricular puede ser utilizada como herramienta metodológica para el estudio de la excitabilidad miocárdica. Cabe destacar que la fibrilación ventricular, en el presente trabajo, se indujo y mantuvo en condiciones de normal oxigenación y, aunque es diferente de la fibrilación ventricular que suele provocar la mayoría de casos de muerte súbita de origen cardíaco (que suele producirse como consecuencia de episodios isquémicos), es igualmente indicativa de variables electro-fisiológicas

Así, se ha estudiado el efecto del entrenamiento sobre la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular inducida mediante estimulación ventricular a frecuencias crecientes. Como ya ha sido comentado en el apartado de Métodos, se realizó un análisis espectral de la fibrilación ventricular para evaluar los cambios en la frecuencia dominante bajo condiciones normóxicas. La frecuencia dominante es un parámetro que se puede utilizar para expresar la información morfológica y periódica contenida en un trazado fibrilatorio, siendo utilizado para conocer las características espectrales de la misma. La transformación del dominio del tiempo al dominio de la frecuencia se realiza mediante la aplicación de la transformada rápida de Fourier, permitiendo examinar la energía contenida en la señal como función de la frecuencia. Se trata de un método muy aceptado y que ha sido utilizado por distintos autores en estudios electrofisiológicos cardíacos (Chorro y cols., 2000; Ropella, 2001).

En el modelo experimental de corazón aislado y perfundido en condiciones normóxicas, la frecuencia dominante de la fibrilación ventricular está relacionada con la excitabilidad miocárdica, concretamente con los períodos refractarios (Chorro y cols., 2000). Así, el análisis de la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular puede ser investigada como un instrumento para conocer indirectamente la refractariedad, de forma que entre ambas se da una relación de proporcionalidad inversa (a mayor frecuencia dominante le corresponde un menor período refractario).

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que el descenso de la frecuencia dominante registrado en los corazones de los animales entrenados no depende de mecanismos nerviosos intrínsecos, descartándose así la participación del sistema nervioso parasimpático en esta modificación. Asimismo, hemos obtenido los

mismos resultados que Pelechano (2008), aunque la metodología utilizada ha sido más exhaustiva, ya que analizamos segmentos consecutivos de 4 s desde el desencadenamiento de la arritmia hasta el final de los 5 minutos de fibrilación ventricular, frente a una sola medida al transcurso de los 5 minutos del mencionado estudio.

Los resultados obtenidos son consistentes con los registrados en la refractariedad ventricular medida con el test del estraestímulo. De este modo, era de esperar que la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular no sufriese modificación alguna tras el bloqueo colinérgico, conocida la relación entre ambos parámetros.

Por último, cabe destacar que en el grupo de animales entrenados se produjo una reversión espontánea de la fibrilación ventricular a ritmo sinusal en tres corazones. El que este grupo presentara valores menores de frecuencia dominante media podría estar relacionado con la finalización espontánea de dicha arritmia.

4.3.5. El grupo de animales falsos operados.

La realización de esta serie de experimentos suponía un apoyo importante a la validez interna de la investigación, ya que era necesario comprobar si el transcurso del tiempo, la repetición del protocolo experimental o la ejecución de alguna de las maniobras del mismo podrían afectar de forma significativa los diferentes parámetros de estudio.

Los resultados obtenidos en este grupo experimental indican que, a excepción de la longitud de ciclo de Wenckebach retrógrado, ninguno de los parámetros estudiados se ven afectados por el transcurso del tiempo, la repetición del protocolo electrofisiológico o alguna de las maniobras realizadas durante el mismo. Esto podría habernos permitido, en caso de existir, atribuir las posibles modificaciones obtenidas a la acción del sistema nervioso parasimpático intrínseco, excluyendo los factores anteriormente citados.

4.4. Consideraciones finales respecto a los resultados.

En resumen, los hallazgos presentados por el presente trabajo demuestran que las modificaciones electrofisiológicas producidas por el entrenamiento físico no están mediadas por la actividad del sistema nervioso parasimpático intrínseco. Puesto que el bloqueo parasimpático no modificó dichas propiedades en corazón aislado, otras modificaciones de carácter intrínseco deben tenerse en consideración. Es necesario un posterior estudio para tratar de dilucidar los mecanismos básicos sobre los que se asientan las modificaciones que el entrenamiento físico produce sobre el automatismo, la conducción y la refractariedad miocárdicas.

4.5. Limitaciones del estudio.

En cuanto a la metodología, la falta de definición del protocolo de entrenamiento utilizado es una limitación a considerar. Como ya se ha discutido, la eficacia del protocolo de entrenamiento físico no es cuestionable, se trata de un protocolo que produce una serie de adaptaciones características del entrenamiento de resistencia aeróbica. No obstante, podría definirse con una mayor precisión si la intensidad del mismo se refiriese al VO_{2max} . A este respecto, es destacable y a la vez sorprendente la falta de estudios relacionados con los métodos de entrenamiento en este modelo animal, lo que deja una vía abierta para futuras investigaciones. El poder estudiar el impacto de diferentes protocolos de entrenamiento sobre las características, ya no sólo electrofisiológicas, sino también sobre las modificaciones morfológicas, celulares y bioquímicas que se producen en el corazón podría ofrecer una valiosa información sobre el proceso de adaptación al ejercicio físico y los mecanismos por los cuales puede ejercer su efecto protector frente a la aparición de arritmias letales, o conocer las razones por las cuales podría proporcionar un sustrato determinante para la aparición de las mismas como ha sido demostrado por estudios recientes (Benito y cols., 2011). De este modo, con una definición más precisa de los protocolos de entrenamiento podría determinarse qué tipo de ejercicio es más beneficioso para la salud, hasta el punto de que el entrenamiento de resistencia aeróbica es considerado para algunos autores como "una maniobra antiarrítmica no

farmacológica" (Billman, 2002) y a partir de qué punto el ejercicio físico puede ser perjudicial.

En cuanto al instrumental utilizado, aunque la placa multielectrodo de registro es suficiente para el estudio de los parámetros analizados en la presente tesis doctoral, el estudio de la refractariedad podría mejorarse con la utilización de un electrodo formado por varios electrodos de estimulación y registro para poder así analizar la refractariedad de varias zonas diferentes, ya que con el método actual sólo puede obtenerse el valor de la refractariedad de la zona en la que se realiza la estimulación eléctrica.

En cuanto a algunas de las maniobras realizadas durante la preparación experimental, la apertura de un orificio en la aurícula izquierda para hacer insuficiente la válvula mitral podría haber influido en los resultados obtenidos en cuanto a la refractariedad auricular, ya que el electrodo de estimulación se colocaba en una zona muy próxima a dicha apertura.

Otra limitación considerada por nosotros ha sido el método usado para la determinación de los períodos refractarios efectivo y funcional del sistema de conducción auriculoventricular y ventriculoauricular retrógrado. Este aspecto ha sido comentado en apartado de resultados sobre la refractariedad del sistema de conducción. Efectivamente, el uso del test del extraestímulo auricular para la determinación de la citada refractariedad, tiene el inconveniente de que si se alcanza antes el período refractario auricular, no es posible determinar el período refractario efectivo de este sistema y, en ocasiones, tampoco el período refractario funcional. Por otra parte, y sobre la base de una consideración similar, el uso del test del extraestímulo ventricular presenta el mismo inconveniente para estudiar la refractariedad del sistema de conducción retrógrado.

Finalmente, respecto al sistema de perfusión utilizado, aunque es un buen modelo para reproducir con garantías las condiciones del corazón *in vivo* (como lo demuestra la abundante bibliografía existente que hace uso de este modelo experimental), se podrían conseguir unas condiciones más parecidas a las fisiológicas que reconstruyesen con mayor exactitud las condiciones reales de trabajo miocárdico. Esto se podría conseguir

con un sistema de perfusión tipo Langendorff forzando al miocardio a realizar trabajo (*working heart*).

Capítulo 5.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha realizado un estudio para determinar el papel del sistema nervioso parasimpático intrínseco en las modificaciones que el entrenamiento físico produce sobre el automatismo, la conducción y la refractariedad miocárdicas, utilizando un modelo de corazón de conejo aislado y nutrido con un medio de perfusión normalmente oxigenado.

A la luz de los resultados obtenidos, en nuestro modelo experimental de corazón aislado, las conclusiones más relevantes que pueden extraerse son:

- 1.** La bradicardia producida por el entrenamiento físico no está mediada por la acción del sistema nervioso parasimpático cardíaco.
- 2.** Las neuronas parasimpáticas postganglionares no median la respuesta dromotrópica negativa producida como consecuencia de la adaptación al entrenamiento físico.
- 3.** El mecanismo por el cual se produce un incremento de la refractariedad ventricular y del sistema de conducción AV como consecuencia del entrenamiento físico no está mediado por la actividad de las neuronas parasimpáticas postganglionares.
- 4.** El descenso de la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular producido por el entrenamiento físico no está mediado por la acción del sistema nervioso parasimpático intrínseco.
- 5.** En el corazón aislado y sometido al protocolo electrofisiológico aplicado en este estudio, no existe una liberación de acetilcolina que modifique los parámetros analizados.
- 6.** La repetición del protocolo electrofisiológico no parece modificar el automatismo, la conducción AV y la refractariedad miocárdicas.

- 7.** Se contribuye a asentar que el entrenamiento físico produce una serie de modificaciones intrínsecas en el corazón como son la depresión del cronotropismo sinusal y la conducción AV, el incremento de la refractariedad ventricular y del sistema de conducción AV y una disminución de la frecuencia dominante media de la fibrilación ventricular.

Se ha descartado el papel del sistema nervioso parasimpático intrínseco en la modificación de las propiedades electrofisiológicas cardíacas anteriormente mencionadas, por lo que es necesario seguir investigando los mecanismos básicos por los que se producen.

Capítulo 6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abildskov, J. A. (1994). Additions to the wavelet hypothesis of cardiac fibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 5(6), 553-559.
- Accili, E. A., & DiFrancesco, D. (1996). Inhibition of the hyperpolarization-activated current (if) of rabbit SA node myocytes by niflumic acid. *Pflugers Archiv : European Journal of Physiology*, 431(5), 757-762.
- Aizer, A., Gaziano, J. M., Cook, N. R., Manson, J. E., Buring, J. E., & Albert, C. M. (2009). Relation of vigorous exercise to risk of atrial fibrillation. *The American Journal of Cardiology*, 103(11), 1572-1577.
- Akhtar, M., Damato, A. N., Caracta, A. R., Batsford, W. P., Josephson, M. E., & Lau, S. H. (1974). Electrophysiologic effects of atropine on atrioventricular conduction studied by his bundle electrogram. *The American Journal of Cardiology*, 33(3), 333-343.
- Allesie, M. A., Kirchhof, C. J., & Konings, K. T. (1996). Unraveling the electrical mysteries of atrial fibrillation. *European Heart Journal*, 17 Suppl C, 2-9.
- Anderson, R. H., Smith, A., & Wilkinson, J. L. (1976). Right juxtaposition of the auricular appendages. *European Journal of Cardiology*, 4(4), 495-503.
- Angelakos, E. T. (1965). Regional distribution of catecholamines in the dog heart. *Circulation Research*, 16, 39-44.
- Armour, J. A., Pace, J. B., & Randall, W. C. (1970). Interrelationship of architecture and function of the right ventricle. *The American Journal of Physiology*, 218(1), 174-179.
- Armour, J. A. (1973). Physiological behavior of thoracic cardiovascular receptors. *The American Journal of Physiology*, 225(1), 177-185.
- Armour, J. A., & Hopkins, D. A. (1990a). Activity of canine in situ left atrial ganglion neurons. *The American Journal of Physiology*, 259(4 Pt 2), H1207-15.
- Armour, J. A., & Hopkins, D. A. (1990b). Activity of in vivo canine ventricular neurons. *The American Journal of Physiology*, 258(2 Pt 2), H326-36.
- Armour, J. A., Murphy, D. A., Yuan, B. X., Macdonald, S., & Hopkins, D. A. (1997). Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system. *The Anatomical Record*, 247(2), 289-298.
- Armour, J. A. (2004). Cardiac neuronal hierarchy in health and disease. *American Journal of Physiology.Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287(2), R262-71.
- Arora, R. C., Hirsch, G. M., Johnson Hirsch, K., Hancock Friesen, C., & Armour, J. A. (2001). Function of human intrinsic cardiac neurons in situ. *American Journal of Physiology.Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280(6), R1736-40.

- Asmussen, E. (1981). Similarities and dissimilarities between static and dynamic exercise. *Circulation Research*, 48(6 Pt 2), 13-10.
- Astrand, P. O. (1992). Physical activity and fitness. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55(6 Suppl), 1231S-1236S.
- Astrand P. O., Rodahl K., Dahl H. A. & Stromme S. B. (2003). *Textbook of work physiology: Physiological bases of exercise* (4 th ed). Illinois: Human Kinetics. 2003.
- Atchison, D. J., & Ackermann, U. (1993). The interaction between atrial natriuretic peptide and cardiac parasympathetic function. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 42(1), 81-88.
- Becker, V., Gonzalez-Serratos, H., Alvarez, R., Baermann, M., Irlles, C., & Ortega, A. (2004). Effect of endurance exercise on the Ca²⁺ pumps from transverse tubule and sarcoplasmic reticulum of rabbit skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 97(2), 467-474.
- Bedford, T. G., & Tipton, C. M. (1987). Exercise training and the arterial baroreflex. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 63(5), 1926-1932.
- Bell, D., & McDermott, B. J. (1996). Calcitonin gene-related peptide in the cardiovascular system: Characterization of receptor populations and their (patho)physiological significance. *Pharmacological Reviews*, 48(2), 253-288.
- Benito, B., Gay-Jordi, G., Serrano-Mollar, A., Guasch, E., Shi, Y., Tardif, J. C., . . . Mont, L. (2011). Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training. *Circulation*, 123(1), 13-22.
- Bergmann, O., Bhardwaj, R. D., Bernard, S., Zdunek, S., Barnabe-Heider, F., Walsh, S., . . . Frisen, J. (2009). Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* (New York, N.Y.), 324(5923), 98-102.
- Berkowitz, W. D., Wit, A. L., Lau, S. H., Steiner, C., & Damato, A. N. (1969). The effects of propranolol on cardiac conduction. *Circulation*, 40(6), 855-862.
- Bers, D. M. (2002). Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*, 415(6868).
- Bers, D. M., Philipson, K. D., & Langer, G. A. (1981). Cardiac contractility and sarcolemmal calcium binding in several cardiac muscle preparations. *The American Journal of Physiology*, 240(4), H576-83.
- Bexton, R. S., Nathan, A. W., Hellestrand, K. J., Cory-Pearce, R., Spurrell, R. A., English, T. A., & Camm, A. J. (1984). The electrophysiologic characteristics of the transplanted human heart. *American Heart Journal*, 107(1), 1-7.
- Braunwald E. (2009). *Tratado de Cardiología* (8^a ed). Philadelphia: Elsevier-Saunders.

- Biffi, A., Pelliccia, A., Verdile, L., Fernando, F., Spataro, A., Caselli, S., . . . Maron, B. J. (2002). Long-term clinical significance of frequent and complex ventricular tachyarrhythmias in trained athletes. *Journal of the American College of Cardiology*, 40(3), 446-452.
- Billman, G. E. (2002). Aerobic exercise conditioning: A nonpharmacological antiarrhythmic intervention. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 92(2), 446-454.
- Billman, G. E. (2009). Cardiac autonomic neural remodeling and susceptibility to sudden cardiac death: Effect of endurance exercise training. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 297(4), H1171-93.
- Bjornstad, H., Storstein, L., Meen, H. D., & Hals, O. (1991). Electrocardiographic findings in athletic students and sedentary controls. *Cardiology*, 79(4), 290-305.
- Bjornstad, H., Storstein, L., Meen, H. D., & Hals, O. (1993). Electrocardiographic findings of left, right and septal hypertrophy in athletic students and sedentary controls. *Cardiology*, 82(1), 56-65.
- Bjornstad, H., Storstein, L., Meen, H. D., & Hals, O. (1994). Electrocardiographic findings of repolarization in athletic students and control subjects. *Cardiology*, 84(1), 51-60.
- Blair, S. N., Kampert, J. B., Kohl, H. W., 3rd, Barlow, C. E., Macera, C. A., Paffenbarger, R. S., Jr, & Gibbons, L. W. (1996). Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in men and women. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 276(3), 205-210.
- Blesa, E. S., Langer, G. A., Brady, A. J., & Serena, S. D. (1970). Potassium exchange in rat ventricular myocardium: Its relation to rate of stimulation. *The American Journal of Physiology*, 219(3), 747-754.
- Blomqvist, T. M., Priola, D. V., & Romero, A. M. (1987). Source of intrinsic innervation of canine ventricles: A functional study. *The American Journal of Physiology*, 252(3 Pt 2), H638-44.
- Blomqvist, C. G., Lewis, S. F., Taylor, W. F., & Graham, R. M. (1981). Similarity of the hemodynamic responses to static and dynamic exercise of small muscle groups. *Circulation Research*, 48(6 Pt 2), 187-92.
- Blomqvist, C. G., & Saltin, B. (1983). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annual Review of Physiology*, 45, 169-189.
- Bonaduce, D., Petretta, M., Cavallaro, V., Apicella, C., Ianniciello, A., Romano, M., . . . Marciano, F. (1998). Intensive training and cardiac autonomic control in high level athletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30(5), 691-696.

- Boraita Perez, A., & Serratosa Fernandez, L. (1998). "The athlete's heart": Most common electrocardiographic findings]. ["El corazon del deportista": hallazgos electrocardiograficos mas frecuentes] *Revista Espanola de Cardiologia*, 51(5), 356-368.
- Brorson, L., Conradson, T. B., Olsson, B., & Varnauskas, E. (1976). Right atrial monophasic action potential and effective refractory periods in relation to physical training and maximal heart rate. *Cardiovascular Research*, 10(2), 160-168.
- Brundin, T. (1978). Effects of beta-adrenergic receptor blockade on metabolic rate and mixed venous blood temperature during dynamic exercise. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 38(3), 229-232.
- Buja, M., Krueger, R. F., Netter, G. (2006). *Anatomía patológica*. Philadelphia: Elsevier-Saunders.
- Butler, C. K., Smith, F. M., Cardinal, R., Murphy, D. A., Hopkins, D. A., & Armour, J. A. (1990). Cardiac responses to electrical stimulation of discrete loci in canine atrial and ventricular ganglionated plexi. *The American Journal of Physiology*, 259(5 Pt 2), H1365-73.
- Cantin, M., Thibault, G., Haile-Meskel, H., Ding, J., Milne, R. W., Ballak, M., . . . Garcia, R. (1989). Atrial natriuretic factor in the impulse-conduction system of rat cardiac ventricles. *Cell and Tissue Research*, 256(2), 309-325.
- Carlisle, E. J., Allen, J. D., Kernohan, W. G., Anderson, J., & Adgey, A. A. (1990). Fourier analysis of ventricular fibrillation of varied aetiology. *European Heart Journal*, 11(2), 173-181.
- Carmeliet, E., & Mubagwa, K. (1998). Antiarrhythmic drugs and cardiac ion channels: Mechanisms of action. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 70(1), 1-72.
- Carroll, J. F. (2003). Isolated heart responsiveness to beta-stimulation after exercise training in obesity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(4), 548-554.
- Carroll, J. F. (2003). Isolated heart responsiveness to beta-stimulation after exercise training in obesity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(4), 548-554.
- Caspersen, C. J., Powell, K. E., & Christenson, G. M. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: Definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports (Washington, D.C.: 1974)*, 100(2), 126-131.
- Cha, Y. M., Birgersdotter-Green, U., Wolf, P. L., Peters, B. B., & Chen, P. S. (1994). The mechanism of termination of reentrant activity in ventricular fibrillation. *Circulation Research*, 74(3), 495-506.
- Charlton, G. A., & Crawford, M. H. (1997). Physiologic consequences of training. *Cardiology Clinics*, 15(3), 345-354.

- Chen, H. I., & Li, H. T. (1993). Physical conditioning can modulate endothelium-dependent vasorelaxation in rabbits. *Arteriosclerosis and Thrombosis : A Journal of Vascular Biology / American Heart Association*, 13(6), 852-856.
- Chiou, C. W., Eble, J. N., & Zipes, D. P. (1997). Efferent vagal innervation of the canine atria and sinus and atrioventricular nodes. the third fat pad. *Circulation*, 95(11), 2573-2584.
- Chorro, F. J., Ruiz-Granell, R., Casadan, E., Garcia-Civera, R., Such, L., & Lopez-Merino, V. (1988). Mathematical descriptions of AV nodal function curves in dogs. *Pacing and Clinical Electrophysiology : PACE*, 11(6 Pt 1), 679-686.
- Chorro, F. J., Sanchis, J., Such, L., Artal, L., Llavador, J. J., Llavador, E., . . . Lopez-Merino, V. (1997). Modification of atrioventricular nodal electrophysiology by selective radiofrequency delivery on the anterior or posterior approaches. *Pacing and Clinical Electrophysiology : PACE*, 20(5 Pt 1), 1261-1273.
- Chorro, F. J., Guerrero, J., Canoves, J., Martinez-Sober, M., Mainar, L., Sanchis, J., . . . Lopez-Merino, V. (1998). Quantification of the modifications in the dominant frequency of ventricular fibrillation under conditions of ischemia and reperfusion: An experimental study. *Pacing and Clinical Electrophysiology : PACE*, 21(9), 1716-1723.
- Chorro, F. J., Mainar, L., Sanchis, J., Canoves, J., Porres, J. C., Guerrero, J., . . . Such, L. (1999). The activation patterns during atrial fibrillation in an experimental model]. [Patrones de activacion durante la fibrilacion auricular en un modelo experimental] *Revista Espanola De Cardiologia*, 52(5), 327-338.
- Chorro, F. J., Canoves, J., Guerrero, J., Mainar, L., Sanchis, J., Such, L., & Lopez-Merino, V. (2000). Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol: An experimental study. *Circulation*, 101(13), 1606-1615.
- Chorro, F. J., Trapero, I., Guerrero, J., Such, L. M., Canoves, J., Mainar, L., . . . Alberola, A. (2005). Modification of ventricular fibrillation activation patterns induced by local stretching. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 16(10).
- Clemo, H. F., & Belardinelli, L. (1986). Effect of adenosine on atrioventricular conduction. I: Site and characterization of adenosine action in the guinea pig atrioventricular node. *Circulation Research*, 59(4), 427-436.
- Clusin, W. T., Buchbinder, M., Ellis, A. K., Kernoff, R. S., Giacomini, J. C., & Harrison, D. C. (1984). Reduction of ischemic depolarization by the calcium channel blocker diltiazem. correlation with improvement of ventricular conduction and early arrhythmias in the dog. *Circulation Research*, 54(1), 10-20.
- Convertino, V. A. (1983). Heart rate and sweat rate responses associated with exercise-induced hypervolemia. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 15(1), 77-82.

- Corr, L. (1992). Neuropeptides and the conduction system of the heart. *International Journal of Cardiology*, 35(1), 1-12.
- Crawford, M. H., Petru, M. A., & Rabinowitz, C. (1985). Effect of isotonic exercise training on left ventricular volume during upright exercise. *Circulation*, 72(6), 1237-1243.
- Currens, J. H., & White, P. D. (1961). Half a century of running. clinical, physiologic and autopsy findings in the case of clarence DeMar ("mr. marathon"). *The New England Journal of Medicine*, 265, 988-993.
- Dail, W. G., Jr, & Palmer, G. C. (1973). Localization and correlation of catecholamine-containing cells with adenylyl cyclase and phosphodiesterase activities in the human fetal heart. *The Anatomical Record*, 177(2), 265-287.
- Dastur, D. K., Vevaina, S. C., & Manghani, D. K. (1989). Fine structure of A: Autonomic nerve fibers and terminals in human myocardium; and B: Myocardial changes in congenital heart disease. *Ultrastructural Pathology*, 13(4), 413-431.
- de Bold, A. J., Borenstein, H. B., Veress, A. T., & Sonnenberg, H. (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sciences*, 28(1), 89-94.
- de Moraes, R., Valente, R. H., Leon, I. R., Trugilho, M. R., Nobrega, A. C., Perales, J., & Tibirica, E. (2008). Chronic dynamic exercise increases apolipoprotein A-I expression in rabbit renal cortex as determined by proteomic technology. *British Journal of Sports Medicine*, 42(5), 386-388.
- Dhamoon, A. S., & Jalife, J. (2005). The inward rectifier current (IK1) controls cardiac excitability and is involved in arrhythmogenesis. *Heart Rhythm : The Official Journal of the Heart Rhythm Society*, 2(3), 316-324.
- DiCarlo, S. E., & Bishop, V. S. (1990). Exercise training enhances cardiac afferent inhibition of baroreflex function. *The American Journal of Physiology*, 258(1 Pt 2), H212-20.
- Dickerson, L. W., Rodak, D. J., Fleming, T. J., Gatti, P. J., Massari, V. J., McKenzie, J. C., & Gillis, R. A. (1998). Parasympathetic neurons in the cranial medial ventricular fat pad on the dog heart selectively decrease ventricular contractility. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 70(1-2), 129-141.
- Diffie, G. M., Seversen, E. A., & Titus, M. M. (2001). Exercise training increases the Ca²⁺ sensitivity of tension in rat cardiac myocytes. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 91(1), 309-315.
- Dirix A., Knuttgen H. G., Tittel K. (1988). *The Olympic book of sports medicine*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

- Ector, J., Ganame, J., van der Merwe, N., Adriaenssens, B., Pison, L., Willems, R., . . . Heidbuchel, H. (2007). Reduced right ventricular ejection fraction in endurance athletes presenting with ventricular arrhythmias: A quantitative angiographic assessment. *European Heart Journal*, 28(3), 345-353.
- Efimov, I. R., Sidorov, V., Cheng, Y., & Wollenzier, B. (1999). Evidence of three-dimensional scroll waves with ribbon-shaped filament as a mechanism of ventricular tachycardia in the isolated rabbit heart. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 10(11), 1452-1462.
- Eggenreich, U., Fleischmann, P. H., Stark, G., & Wach, P. (1996). Effects of propafenone on the median frequency of ventricular fibrillation in Langendorff perfused guinea-pig hearts. *Cardiovascular Research*, 31(6), 926-931.
- Ehsani, A. A., Ogawa, T., Miller, T. R., Spina, R. J., & Jilka, S. M. (1991). Exercise training improves left ventricular systolic function in older men. *Circulation*, 83(1), 96-103.
- Ekelund, L. G., Haskell, W. L., Johnson, J. L., Whaley, F. S., Criqui, M. H., & Sheps, D. S. (1988). Physical fitness as a predictor of cardiovascular mortality in asymptomatic north american men. the lipid research clinics mortality follow-up study. *The New England Journal of Medicine*, 319(21), 1379-1384.
- Eliakim, A., Brasel, J. A., Mohan, S., Barstow, T. J., Berman, N., & Cooper, D. M. (1996). Physical fitness, endurance training, and the growth hormone-insulin-like growth factor I system in adolescent females. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81(11), 3986-3992.
- Ellenbogen, K. A., Smith, M. L., & Eckberg, D. L. (1990). Increased vagal cardiac nerve traffic prolongs ventricular refractoriness in patients undergoing electrophysiology testing. *The American Journal of Cardiology*, 65(20), 1345-1350.
- Ellison, J. P., & Hibbs, R. G. (1974). Catecholamine-containing cells of the guinea pig heart: An ultrastructural study. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 6(1), 17-26.
- Esler, M., Kaye, D., Lambert, G., Esler, D., & Jennings, G. (1997). Adrenergic nervous system in heart failure. *The American Journal of Cardiology*, 80(11A), 7L-14L.
- Farges, J. P., Ollagnier, M., & Faucon, G. (1977). Influence of acetylcholine, isoproterenol, quinidine and ouabain on effective refractory periods of atrial and ventricular myocardium in the dog. *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie*, 227(2), 206-219.
- Faris, I. B., Jamieson, G. G., & Ludbrook, J. (1982). Effect of exercise on gain of the carotid-sinus reflex in rabbits. *Clinical Science (London, England : 1979)*, 63(2), 115-119.
- Ferrero, J. A. (1990). Cuantificación del fenómeno de fatiga en el nodo auriculoventricular del perro. Tesis doctoral. Universitat de València.

- Fitzsimons, D. P., Bodell, P. W., Herrick, R. E., & Baldwin, K. M. (1990). Left ventricular functional capacity in the endurance-trained rodent. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 69(1), 305-312.
- Fletcher, G. F., Balady, G. J., Amsterdam, E. A., Chaitman, B., Eckel, R., Fleg, J., . . . Bazzarre, T. (2001). Exercise standards for testing and training: A statement for healthcare professionals from the american heart association. *Circulation*, 104(14), 1694-1740.
- Francis, G. S. (1988). Modulation of peripheral sympathetic nerve transmission. *Journal of the American College of Cardiology*, 12(1), 250-254.
- Franco-Cereceda, A., Bengtsson, L., & Lundberg, J. M. (1987). Inotropic effects of calcitonin gene-related peptide, vasoactive intestinal polypeptide and somatostatin on the human right atrium in vitro. *European Journal of Pharmacology*, 134(1), 69-76.
- Furlan, R., Pagani, M., & Malliani, A. (1993). Effects of exercise and training on control of heart rate. *Cardiovascular Research*, 27(12), 2286-2287.
- Gabella, G. (1995). Fine structure of post-ganglionic nerve fibers and autonomic neuroeffector junctions. En Burnstock, G. & Hoyle, C. H. V., (eds) *Autonomic neuroeffector mechanisms* (1-31). New Jersey: Harwood Academic Publishers.
- Ganong W.F. (2004). *Fisiología médica*. Méjico: El Manual Moderno.
- Gao, L., Wang, W., Liu, D., & Zucker, I. H. (2007). Exercise training normalizes sympathetic outflow by central antioxidant mechanisms in rabbits with pacing-induced chronic heart failure. *Circulation*, 115(24), 3095-3102.
- Garcia, R., Lachance, D., & Thibault, G. (1990). Positive inotropic action, natriuresis and atrial natriuretic factor release induced by endothelin in the conscious rat. *Journal of Hypertension*, 8(8), 725-731.
- García Manso J. M., Navarro Valdivieso M. & Ruiz Caballero J. A. (1996). *Bases teóricas del entrenamiento deportivo. Principios y aplicaciones*. Madrid: Gymnos.
- Gatti, P. J., Johnson, T. A., Phan, P., Jordan, I. K., 3rd, Coleman, W., & Massari, V. J. (1995). The physiological and anatomical demonstration of functionally selective parasympathetic ganglia located in discrete fat pads on the feline myocardium. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 51(3), 255-259.
- Gatti, P. J., Johnson, T. A., & Massari, V. J. (1996). Can neurons in the nucleus ambiguus selectively regulate cardiac rate and atrio-ventricular conduction? *Journal of the Autonomic Nervous System*, 57(1-2), 123-127.

- Gaustad, S. E., Rolim, N., & Wisloff, U. (2010). A valid and reproducible protocol for testing maximal oxygen uptake in rabbits. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation: Official Journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*, 17(1), 83-88.
- Gazmuri, R. J., Ayoub, I. M., Hoffner, E., & Kolarova, J. D. (2001). Successful ventricular defibrillation by the selective sodium-hydrogen exchanger isoform-1 inhibitor cariporide. *Circulation*, 104(2), 234-239.
- Gisbert, M. P., & Fischmeister, R. (1988). Atrial natriuretic factor regulates the calcium current in frog isolated cardiac cells. *Circulation Research*, 62(4), 660-667.
- Gomez-Cabrera, M. C., Borrás, C., Pallardo, F. V., Sastre, J., Ji, L. L., & Vina, J. (2005). Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *The Journal of Physiology*, 567(Pt 1), 113-120.
- Gray, A. L., Johnson, T. A., Ardell, J. L., & Massari, V. J. (2004). Parasympathetic control of the heart. II. A novel interganglionic intrinsic cardiac circuit mediates neural control of heart rate. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 96(6), 2273-2278.
- Gray, R. A. (1999). What exactly are optically recorded "action potentials"? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 10(11), 1463-1466.
- Gray, R. A., Pertsov, A. M., & Jalife, J. (1998). Spatial and temporal organization during cardiac fibrillation. *Nature*, 392(6671), 75-78.
- Guyton A. C. & Hall J. E. (2006). *Tratado de Fisiología Médica*. Madrid: McGraw-Hill.
- Gwathmey, J. K., Slawsky, M. T., Perreault, C. L., Briggs, G. M., Morgan, J. P., & Wei, J. Y. (1990). Effect of exercise conditioning on excitation-contraction coupling in aged rats. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 69(4), 1366-1371.
- Habermeier-Muth, A., & Muscholl, E. (1988). Short- and long-latency muscarinic inhibition of noradrenaline release from rabbit atria induced by vagal stimulation. *The Journal of Physiology*, 401, 277-293.
- Habuchi, Y., Lu, L. L., Morikawa, J., & Yoshimura, M. (1995). Angiotensin II inhibition of L-type Ca²⁺ current in sinoatrial node cells of rabbits. *The American Journal of Physiology*, 268(3 Pt 2), H1053-60.
- Hackney, A. C., Sinning, W. E., & Bruot, B. C. (1988). Reproductive hormonal profiles of endurance-trained and untrained males. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 20(1), 60-65.
- Hall, Z. W. (1973). Multiple forms of acetylcholinesterase and their distribution in endplate and non-endplate regions of rat diaphragm muscle. *Journal of Neurobiology*, 4(4), 343-361.

- Hamra, M., & McNeil, R. S. (1997). Accentuated antagonism in canine subendocardium is not altered by chronic exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29(8), 1013-1020.
- Hansson, M., & Forsgren, S. (1995). Immunoreactive atrial and brain natriuretic peptides are co-localized in purkinje fibres but not in the innervation of the bovine heart conduction system. *The Histochemical Journal*, 27(3), 222-230.
- Hartley, L. H., Grimby, G., Kilbom, A., Nilsson, N. J., Astrand, I., Bjure, J., . . . Saltin, B. (1969). Physical training in sedentary middle-aged and older men. Cardiac output and gas exchange asubmaximal and maximal exercise. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 24(4), 335-344.
- Hartley, L. H., Mason, J. W., Hogan, R. P., Jones, L. G., Kotchen, T. A., Mougey, E. H., . . . Ricketts, P. T. (1972). Multiple hormonal responses to prolonged exercise in relation to physical training. *Journal of Applied Physiology*, 33(5), 607-610.
- Hassall, C. J., & Burnstock, G. (1986). Intrinsic neurones and associated cells of the guinea-pig heart in culture. *Brain Research*, 364(1), 102-113.
- Heisler, B. E., & Ferrier, G. R. (1996). Proarrhythmic actions of flecainide in an isolated tissue model of ischemia and reperfusion. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 279(1), 317-324.
- Hepp, A., Hansis, M., Gulch, R., & Jacob, R. (1974). Left ventricular isovolumetric pressure-volume relations, "diastolic tone", and contractility in the rat heart after physical training. *Basic Research in Cardiology*, 69(5), 516-532.
- Hespel, P., Lijnen, P., Van Hoof, R., Fagard, R., Goossens, W., Lissens, W., . . . Amery, A. (1988). Effects of physical endurance training on the plasma renin-angiotensin-aldosterone system in normal man. *The Journal of Endocrinology*, 116(3), 443-449.
- Hillsley, R. E., Wharton, J. M., Cates, A. W., Wolf, P. D., & Ideker, R. E. (1994). Why do some patients have high defibrillation thresholds at defibrillator implantation? answers from basic research. *Pacing and Clinical Electrophysiology : PACE*, 17(2), 222-239.
- Hirsch, E. F., & Borghard-Erdle, A. M. (1961). The innervation of the human heart. I. the coronary arteries and the myocardium. *Archives of Pathology*, 71, 384-407.
- Hopkins, D. A., & Armour, J. A. (1984). Localization of sympathetic postganglionic and parasympathetic preganglionic neurons which innervate different regions of the dog heart. *The Journal of Comparative Neurology*, 229(2), 186-198.
- Howarth, F. C., Levi, A. J., & Hancox, J. C. (1996). Characteristics of the delayed rectifier K current compared in myocytes isolated from the atrioventricular node and ventricle of the rabbit heart. *Pflugers Archiv : European Journal of Physiology*, 431(5), 713-722.

- Huang, M. H., Horackova, M., Negoescu, R. M., Wolf, S., & Armour, J. A. (1996). Polysensory response characteristics of dorsal root ganglion neurones that may serve sensory functions during myocardial ischaemia. *Cardiovascular Research*, 32(3), 503-515.
- Huang, H. H., Friend D. S., Sunday M. E., Singh K., Haley K., Austen K. F., Kelly R. A., Smith T. W. (1996). An intrinsic adrenergic system in mammalian heart. *Journal of Clinical Investigation*, 98(6), 1298-1303.
- Huang M. H., Bahl J. J., Wu Y., Hu F., Larson D. F., Roeske W. R., Ewy G. A. (2005). Neuroendocrine properties of intrinsic cardiac adrenergic cells in fetal rat heart. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 288(2), H497-503.
- Husain, K., & Hazelrigg, S. R. (2002). Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: Effect of regular exercise on the heart. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1587(1), 75-82.
- Huttunen, J. K., Lansimies, E., Voutilainen, E., Ehnholm, C., Hietanen, E., Penttila, I., . . . Rauramaa, R. (1979). Effect of moderate physical exercise on serum lipoproteins. A controlled clinical trial with special reference to serum high-density lipoproteins. *Circulation*, 60(6), 1220-1229.
- Iida, H., Wang, L., Nishii, K., Ookuma, A., & Shibata, Y. (1996). Identification of rab12 as a secretory granule-associated small GTP-binding protein in atrial myocytes. *Circulation Research*, 78(2), 343-347.
- Inoue, H., & Zipes, D. P. (1987). Changes in atrial and ventricular refractoriness and in atrioventricular nodal conduction produced by combinations of vagal and sympathetic stimulation that result in a constant spontaneous sinus cycle length. *Circulation Research*, 60(6), 942-951.
- Jacobowitz, D. (1967). Histochemical studies of the relationship of chromaffin cells and adrenergic nerve fibers to the cardiac ganglia of several species. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 158(2), 227-240.
- Jalife J., Delmar M., Anumonwo J., Berenfeld O. y Kalifa J. (2009). *Basic cardiac electrophysiology for the clinician* (2^a ed). Oxford: Wiley-Blackwell.
- James, D. E., Kraegen, E. W., & Chisholm, D. J. (1985). Effects of exercise training on in vivo insulin action in individual tissues of the rat. *The Journal of Clinical Investigation*, 76(2), 657-666.
- Janes, R. D., Brandys, J. C., Hopkins, D. A., Johnstone, D. E., Murphy, D. A., & Armour, J. A. (1986). Anatomy of human extrinsic cardiac nerves and ganglia. *The American Journal of Cardiology*, 57(4), 299-309.
- Jew, K. N., Olsson, M. C., Mokolke, E. A., Palmer, B. M., & Moore, R. L. (2001). Endurance training alters outward K⁺ current characteristics in rat cardiocytes. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 90(4), 1327-1333.

- Jin, H., Yang, R., Li, W., Lu, H., Ryan, A. M., Ogasawara, A. K., . . . Paoni, N. F. (2000). Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 279(6), H2994-3002.
- Johnson, T. A., Gray, A. L., Lauenstein, J. M., Newton, S. S., & Massari, V. J. (2004). Parasympathetic control of the heart. I. an interventriculo-septal ganglion is the major source of the vagal intracardiac innervation of the ventricles. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 96(6), 2265-2272.
- Johnston, B. D. (1968). Nerve endings in the human endocardium. *The American Journal of Anatomy*, 122(3), 621-629.
- Jover, B., McGrath, B. P., & Ludbrook, J. (1987). Haemodynamic and metabolic responses of laboratory rabbits to near-maximal treadmill exercise. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 14(11-12), 811-823.
- Katona, P. G., McLean, M., Dighton, D. H., & Guz, A. (1982). Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 52(6), 1652-1657.
- Kawano, H., Okada, R., & Yano, K. (2003). Histological study on the distribution of autonomic nerves in the human heart. *Heart and Vessels*, 18(1), 32-39.
- Kember, G. C., Fenton, G. A., Armour, J. A., & Kalyaniwalla, N. (2001). Competition model for aperiodic stochastic resonance in a fitzhugh-nagumo model of cardiac sensory neurons. *Physical Review.E, Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 63(4 Pt 1), 041911.
- Kemi, O. J., Haram, P. M., Loennechen, J. P., Osnes, J. B., Skomedal, T., Wisloff, U., & Ellingsen, O. (2005). Moderate vs. high exercise intensity: Differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovascular Research*, 67(1), 161-172.
- Kent, K. M., Epstein, S. E., Cooper, T., & Jacobowitz, D. M. (1974). Cholinergic innervation of the canine and human ventricular conducting system. anatomic and electrophysiologic correlations. *Circulation*, 50(5), 948-955.
- Kiens, B., Jorgensen, I., Lewis, S., Jensen, G., Lithell, H., Vessby, B., . . . Schnohr, P. (1980). Increased plasma HDL-cholesterol and apo A-1 in sedentary middle-aged men after physical conditioning. *European Journal of Clinical Investigation*, 10(3), 203-209.
- Kingwell, B. A., Dart, A. M., Jennings, G. L., & Korner, P. I. (1992). Exercise training reduces the sympathetic component of the blood pressure-heart rate baroreflex in man. *Clinical Science (London, England : 1979)*, 82(4), 357-362.
- Kjaer, M., Farrell, P. A., Christensen, N. J., & Galbo, H. (1986). Increased epinephrine response and inaccurate glucoregulation in exercising athletes. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 61(5), 1693-1700.

- Kleber, A. G., & Rudy, Y. (2004). Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiological Reviews*, 84(2), 431-488.
- Klocke, F. J., & Ellis, A. K. (1980). Control of coronary blood flow. *Annual Review of Medicine*, 31, 489-508.
- Kobayashi, M., Furukawa, Y., & Chiba, S. (1978). Positive chronotropic and inotropic effects of angiotensin II in the dog heart. *European Journal of Pharmacology*, 50(1), 17-25.
- Kohl, P., Hunter, P., & Noble, D. (1999). Stretch-induced changes in heart rate and rhythm: Clinical observations, experiments and mathematical models. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 71(1), 91-138.
- Kubo, T., Fukuda, K., Mikami, A., Maeda, A., Takahashi, H., Mishina, M., . . . Kangawa, K. (1986). Cloning, sequencing and expression of complementary DNA encoding the muscarinic acetylcholine receptor. *Nature*, 323(6087), 411-416.
- Kukanova, B., & Mravec, B. (2006). Complex intracardiac nervous system. *Bratislavské Lekárske Listy*, 107(3), 45-51.
- Kwan, Y. Y., Fan, W., Hough, D., Lee, J. J., Fishbein, M. C., Karagueuzian, H. S., & Chen, P. S. (1998). Effects of procainamide on wave-front dynamics during ventricular fibrillation in open-chest dogs. *Circulation*, 97(18), 1828-1836.
- Lamb D. R. (1989). *Fisiología del Ejercicio. Respuestas y adaptaciones (2ª Ed)*. Madrid: Pila Teleña.
- Lambert, C., Godin, D., Fortier, P., & Nadeau, R. (1991). Direct effects in vivo of angiotensins I and II on the canine sinus node. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 69(3), 389-392.
- Lammers, W. J., Allesie, M. A., & Bonke, F. I. (1988). Reentrant and focal arrhythmias in low potassium in isolated rabbit atrium. *The American Journal of Physiology*, 255(6 Pt 2), H1359-69.
- Langer, G. A., Brady, A. J., Tan, S. T., & Serena, D. (1975). Correlation of the glycoside response, the force staircase, and the action potential configuration in the neonatal rat heart. *Circulation Research*, 36(6), 744-752.
- Laughlin, M. H. (1994). Effects of exercise training on coronary circulation: Introduction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26(10), 1226-1229.
- Lauschke, J., & Maisch, B. (2009). Athlete's heart or hypertrophic cardiomyopathy? *Clinical Research in Cardiology: Official Journal of the German Cardiac Society*, 98(2), 80-88.

- Lee, J. J., Kamjoo, K., Hough, D., Hwang, C., Fan, W., Fishbein, M. C., . . . Chen, P. S. (1996). Reentrant wave fronts in wiggers' stage II ventricular fibrillation. characteristics and mechanisms of termination and spontaneous regeneration. *Circulation Research*, 78(4), 660-675.
- Lei, M., Zhang, H., Grace, A. A., & Huang, C. L. (2007). SCN5A and sinoatrial node pacemaker function. *Cardiovascular Research*, 74(3), 356-365.
- Levine, B. D., Lane, L. D., Buckey, J. C., Friedman, D. B., & Blomqvist, C. G. (1991). Left ventricular pressure-volume and frank-starling relations in endurance athletes. implications for orthostatic tolerance and exercise performance. *Circulation*, 84(3), 1016-1023.
- Levy, W. C., Cerqueira, M. D., Harp, G. D., Johannessen, K. A., Abrass, I. B., Schwartz, R. S., & Stratton, J. R. (1998). Effect of endurance exercise training on heart rate variability at rest in healthy young and older men. *The American Journal of Cardiology*, 82(10), 1236-1241.
- Lewis, S. F., Nylander, E., Gad, P., & Areskog, N. H. (1980). Non-autonomic component in bradycardia of endurance trained men at rest and during exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, 109(3), 297-305.
- Litovsky, S. H., & Antzelevitch, C. (1990). Differences in the electrophysiological response of canine ventricular subendocardium and subepicardium to acetylcholine and isoproterenol. A direct effect of acetylcholine in ventricular myocardium. *Circulation Research*, 67(3), 615-627.
- Liu, J. X., Tanonaka, K., Yamamoto, K., & Takeo, S. (1993). Propafenone and disopyramide enhance post-ischemic contractile and metabolic recovery of perfused hearts. *European Journal of Pharmacology*, 250(3), 361-369.
- Loffelholz, K., & Pappano, A. J. (1985). The parasympathetic neuroeffector junction of the heart. *Pharmacological Reviews*, 37(1), 1-24.
- López L. (2008). Efectos del ejercicio físico crónico sobre la excitabilidad intrínseca miocárdica. Estudio experimental. Tesis doctoral. Universitat de València.
- López-Chicharro J. & Fernández A. (2006). Fisiología del ejercicio. Madrid: Panamericana.
- Lundberg, J. M. (1996). Pharmacology of cotransmission in the autonomic nervous system: Integrative aspects on amines, neuropeptides, adenosine triphosphate, amino acids and nitric oxide. *Pharmacological Reviews*, 48(1), 113-178.
- MacArdle W. D., Katch F. I. & Katch W.C. (1991). *Exercise Physiology: Energy, Nutrition and Human Performance*. Philadelphia: Lea & Febiger.

- MacRae, H. S., Dennis, S. C., Bosch, A. N., & Noakes, T. D. (1992). Effects of training on lactate production and removal during progressive exercise in humans. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 72(5), 1649-1656.
- Marn-Pernat, A., Weil, M. H., Tang, W., Pernat, A., & Bisera, J. (2001). Optimizing timing of ventricular defibrillation. *Critical Care Medicine*, 29(12), 2360-2365.
- Martin, G., Cosin, J., Such, M., Hernandez, A., & Llamas, P. (1986). Relation between power spectrum time course during ventricular fibrillation and electromechanical dissociation. Effects of coronary perfusion and nifedipine. *European Heart Journal*, 7(7), 560-569.
- Martins, J. B., & Zipes, D. P. (1980). Effects of sympathetic and vagal nerves on recovery properties of the endocardium and epicardium of the canine left ventricle. *Circulation Research*, 46(1), 100-110.
- Mazzeo, R. S. (1991). Catecholamine responses to acute and chronic exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23(7), 839-845.
- Mazzeo, R. S., Brooks, G. A., Schoeller, D. A., & Budinger, T. F. (1986). Disposal of blood [1-13C]lactate in humans during rest and exercise. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 60(1), 232-241.
- McAllen, R. M., & Spyer, K. M. (1976). The location of cardiac vagal preganglionic motoneurons in the medulla of the cat. *The Journal of Physiology*, 258(1), 187-204.
- Meng, H., & Pierce, G. N. (1990). Metabolic and physiological response of the rabbit to continuous and intermittent treadmill exercise. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 68(7), 856-862.
- Mezzani, A., Giovannini, T., Michelucci, A., Padeletti, L., Resina, A., Cupelli, V., & Musante, R. (1990). Effects of training on the electrophysiologic properties of atrium and accessory pathway in athletes with wolff-parkinson-white syndrome. *Cardiology*, 77(4), 295-302.
- Mitchell, J. H., & Blomqvist, G. (1971). Maximal oxygen uptake. *The New England Journal of Medicine*, 284(18), 1018-1022.
- Mitchell, J. H., Haskell, W., Snell, P., & Van Camp, S. P. (2005). Task force 8: Classification of sports. *Journal of the American College of Cardiology*, 45(8), 1364-1367.
- Mitchell, J. H., Kaufman, M. P., & Iwamoto, G. A. (1983). The exercise pressor reflex: Its cardiovascular effects, afferent mechanisms, and central pathways. *Annual Review of Physiology*, 45, 229-242.
- Mitchell, J. H., Schibye, B., Payne, F. C., 3rd, & Saltin, B. (1981). Response of arterial blood pressure to static exercise in relation to muscle mass, force development, and electromyographic activity. *Circulation Research*, 48(6 Pt 2), I70-5.

- Moe, G. K., & Mendez, C. (1962). Basis of pharmacotherapy of cardiac arrhythmias. *Modern Concepts of Cardiovascular Disease*, 31, 739-744.
- Mokolke, E. A., Palmer, B. M., Cheung, J. Y., & Moore, R. L. (1997). Endurance training does not affect intrinsic calcium current characteristics in rat myocardium. *The American Journal of Physiology*, 273(3 Pt 2), H1193-7.
- Mole, P. A. (1978). Increased contractile potential of papillary muscles from exercise-trained rat hearts. *The American Journal of Physiology*, 234(4), H421-5.
- Moore, R. L., Musch, T. I., Yelamarty, R. V., Scaduto, R. C., Jr, Semanchick, A. M., Elensky, M., & Cheung, J. Y. (1993). Chronic exercise alters contractility and morphology of isolated rat cardiac myocytes. *The American Journal of Physiology*, 264(5 Pt 1), C1180-9.
- Moore, R. L., & Korzick, D. H. (1995). Cellular adaptations of the myocardium to chronic exercise. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 37(6), 371-396.
- Morady, F., Kadish, A. H., Toivonen, L. K., Kushner, J. A., & Schmaltz, S. (1988). The maximum effect of an increase in rate on human ventricular refractoriness. *Pacing and Clinical Electrophysiology: PACE*, 11(12), 2223-2234.
- Mountcastle V. (1970). *Fisiología Médica*. Méjico: Fournier.
- Mujika, I., Chatard, J. C., & Geysant, A. (1996). Effects of training and taper on blood leucocyte populations in competitive swimmers: Relationships with cortisol and performance. *International Journal of Sports Medicine*, 17(3), 213-217.
- Munk, A. A., Adjemian, R. A., Zhao, J., Ogbaghebriel, A., & Shrier, A. (1996). Electrophysiological properties of morphologically distinct cells isolated from the rabbit atrioventricular node. *The Journal of Physiology*, 493 (Pt 3)(Pt 3), 801-818.
- Napolitano, I. M., Willman, V. L., Hanlon, C. R., & Cooper, T. (1965). Intrinsic innervation of the heart. *The American Journal of Physiology*, 208, 455-458.
- Natali, A. J., Wilson, L. A., Peckham, M., Turner, D. L., Harrison, S. M., & White, E. (2002). Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. *The Journal of Physiology*, 541(Pt 3), 863-875.
- Negrao, C. E., Moreira, E. D., Santos, M. C., Farah, V. M., & Krieger, E. M. (1992). Vagal function impairment after exercise training. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 72(5), 1749-1753.
- Neumar, R. W., Brown, C. G., Robitaille, P. M., & Altschuld, R. A. (1990). Myocardial high energy phosphate metabolism during ventricular fibrillation with total circulatory arrest. *Resuscitation*, 19(3), 199-226.
- Newell, K.M. (1990). Physical activity, knowledge types and degree programs. *Quest*, 42, 243-268.

- Nikkila, E. A., Taskinen, M. R., Rehunen, S., & Harkonen, M. (1978). Lipoprotein lipase activity in adipose tissue and skeletal muscle of runners: Relation to serum lipoproteins. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 27(11), 1661-1667.
- Nikolski, V. P., Jones, S. A., Lancaster, M. K., Boyett, M. R., & Efimov, I. R. (2003). Cx43 and dual-pathway electrophysiology of the atrioventricular node and atrioventricular nodal reentry. *Circulation Research*, 92(4), 469-475.
- Noma, A., Irisawa, H., Kokobun, S., Kotake, H., Nishimura, M., & Watanabe, Y. (1980). Slow current systems in the A-V node of the rabbit heart. *Nature*, 285(5762), 228-229.
- Norberg, K. A. (1964). Adrenergic innervation of the intestinal wall studied by fluorescence microscopy. *International Journal of Neuropharmacology*, 3, 379-382.
- Norris, J. E., Lippincott, D., & Wurster, R. D. (1977). Responses of canine endocardium to stimulation of the upper thoracic roots. *The American Journal of Physiology*, 233(6), H655-9.
- Northcote, R. J., Canning, G. P., & Ballantyne, D. (1989). Electrocardiographic findings in male veteran endurance athletes. *British Heart Journal*, 61(2), 155-160.
- Noujaim, S. F., Pandit, S. V., Berenfeld, O., Vikstrom, K., Cerrone, M., Mironov, S., . . . Jalife, J. (2007). Up-regulation of the inward rectifier K⁺ current (I_{K1}) in the mouse heart accelerates and stabilizes rotors. *The Journal of Physiology*, 578(Pt 1), 315-326.
- Nozdrachev, A. D., Kotel'nikov, S. A., Mazhara, I., & Naumov, K. M. (2005). A view on the cardiac rhythm control: [Intracardial regulation]. *Fiziologija Cheloveka*, 31(2), 116-129.
- Nylander, E., Sigvardsson, K., & Kilbom, A. (1982). Training-induced bradycardia and intrinsic heart rate in rats. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 48(2), 189-199.
- Opie L. H. (2004). *The heart: Physiology, from Cell to Circulation*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.
- Orts, L. (2007). Efectos del ejercicio físico crónico sobre la refractariedad miocárdica ventricular, la Velocidad de conducción y el patrón Fibrilatorio ventricular intrínsecos, tras la Oclusión arterial coronaria aguda: un Estudio experimental Tesis doctoral. Universitat de València.
- Paffenbarger, R. S., & Hale, W. E. (1975). Work activity and coronary heart mortality. *The New England Journal of Medicine*, 292(11), 545-550.
- Page, P. L., Dandan, N., Savard, P., Nadeau, R., Armour, J. A., & Cardinal, R. (1995). Regional distribution of atrial electrical changes induced by stimulation of extracardiac and intracardiac neural elements. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 109(2), 377-388.

- Palatini, P., Maraglino, G., Sperti, G., Calzavara, A., Libardoni, M., Pessina, A. C., & Dal Palu, C. (1985). Prevalence and possible mechanisms of ventricular arrhythmias in athletes. *American Heart Journal*, 110(3), 560-567.
- Palmiter, R. D. (1996). New adrenergic cells stimulate heart research. *Nature Medicine*, 2(11), 1194-1195.
- Panfilov, A. V. (2006). Is heart size a factor in ventricular fibrillation? or how close are rabbit and human hearts? *Heart Rhythm: The Official Journal of the Heart Rhythm Society*, 3(7), 862-864.
- Papka, R. E. (1976). Studies of cardiac ganglia in pre- and postnatal rabbits. *Cell and Tissue Research*, 175(1), 17-35.
- Pardini, B. J., Patel, K. P., Schmid, P. G., & Lund, D. D. (1987). Location, distribution and projections of intracardiac ganglion cells in the rat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 20(2), 91-101.
- Pauza, D. H., Pauziene, N., Pakeltyte, G., & Stropus, R. (2002). Comparative quantitative study of the intrinsic cardiac ganglia and neurons in the rat, guinea pig, dog and human as revealed by histochemical staining for acetylcholinesterase. *Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger: Official Organ of the Anatomische Gesellschaft*, 184(2), 125-136.
- Pelechano, F. (2008). Efectes electrofisiològics miocàrdics intrínsecs sobre l'automatisme, la conducció i la refractarietat produïts per la realització d'un protocol d'entrenament. Estudi experimental. Tesis doctoral. Universitat de València.
- Pelliccia, A., Maron, B. J., Spataro, A., Proschan, M. A., & Spirito, P. (1991). The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly trained elite athletes. *The New England Journal of Medicine*, 324(5), 295-301.
- Penpargkul, S., & Scheuer, J. (1970). The effect of physical training upon the mechanical and metabolic performance of the rat heart. *The Journal of Clinical Investigation*, 49(10), 1859-1868.
- Penpargkul, S., Repke, D. I., Katz, A. M., & Scheuer, J. (1977). Effect of physical training on calcium transport by rat cardiac sarcoplasmic reticulum. *Circulation Research*, 40(2), 134-138.
- Petrecca, K., Amellal, F., Laird, D. W., Cohen, S. A., & Shrier, A. (1997). Sodium channel distribution within the rabbit atrioventricular node as analysed by confocal microscopy. *The Journal of Physiology*, 501 (Pt 2)(Pt 2), 263-274.
- Petrecca, K., Miller, D. M., & Shrier, A. (2000). Localization and enhanced current density of the Kv4.2 potassium channel by interaction with the actin-binding protein filamin. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(23), 8736-8744.

- Pierpont, G. L., DeMaster, E. G., & Cohn, J. N. (1984). Regional differences in adrenergic function within the left ventricle. *The American Journal of Physiology*, 246(6 Pt 2), H824-9.
- Pluim, B. M., Zwinderman, A. H., van der Laarse, A., & van der Wall, E. E. (2000). The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation*, 101(3), 336-344.
- Poliner, L. R., Dehmer, G. J., Lewis, S. E., Parkey, R. W., Blomqvist, C. G., & Willerson, J. T. (1980). Left ventricular performance in normal subjects: A comparison of the responses to exercise in the upright and supine positions. *Circulation*, 62(3), 528-534.
- Priola, D. V., O'Brien, W. J., & Anagnostelis, C. (1978). Chromaffin cell participation in the intrinsic neural regulation of the heart. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 21, 117-122.
- Priola, D. V., O'Brien, W. J., & Anagnostelis, C. (1978). Chromaffin cell participation in the intrinsic neural regulation of the heart. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 21, 117-122.
- Prystowsky, E. N., Grant, A. O., Wallace, A. G., & Strauss, H. C. (1979). An analysis of the effects of acetylcholine on conduction and refractoriness in the rabbit sinus node. *Circulation Research*, 44(1), 112-120.
- Prystowsky, E. N., Jackman, W. M., Rinkenberger, R. L., Heger, J. J., & Zipes, D. P. (1981). Effect of autonomic blockade on ventricular refractoriness and atrioventricular nodal conduction in humans. evidence supporting a direct cholinergic action on ventricular muscle refractoriness. *Circulation Research*, 49(2), 511-518.
- Prystowsky, E. N., Naccarelli, G. V., Jackman, W. M., Rinkenberger, R. L., Heger, J. J., & Zipes, D. P. (1983). Enhanced parasympathetic tone shortens atrial refractoriness in man. *The American Journal of Cardiology*, 51(1), 96-100.
- Quan, K. J., Lee, J. H., Van Hare, G. F., Biblo, L. A., Mackall, J. A., & Carlson, M. D. (2002). Identification and characterization of atrioventricular parasympathetic innervation in humans. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 13(8), 735-739.
- Raffel, D. M., & Wieland, D. M. (2001). Assessment of cardiac sympathetic nerve integrity with positron emission tomography. *Nuclear Medicine and Biology*, 28(5), 541-559.
- Randall W.C., Randall D.C., & Ardell J.L. (1991). Autonomic regulation of myocardial contractility. En Zucker I. H. & Gilmore J. P. (eds.), *Reflex Control of the Circulation*. Boston: CRC.
- Randall, D. C., Brown, D. R., McGuirt, A. S., Thompson, G. W., Armour, J. A., & Ardell, J. L. (2003). Interactions within the intrinsic cardiac nervous system contribute to chronotropic regulation. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285(5), R1066-75.

- Ranger, S., & Nattel, S. (1995). Determinants and mechanisms of flecainide-induced promotion of ventricular tachycardia in anesthetized dogs. *Circulation*, 92(5), 1300-1311.
- Rardon, D. P., & Bailey, J. C. (1983). Parasympathetic effects on electrophysiologic properties of cardiac ventricular tissue. *Journal of the American College of Cardiology*, 2(6), 1200-1209.
- Reindell, H., Roskamm, H., & Steim, H. (1960). The heart and blood circulation in athletes]. *Die Medizinische Welt*, 31, 1557-1563.
- Rensma, P. L., Allesie, M. A., Lammers, W. J., Bonke, F. I., & Schalij, M. J. (1988). Length of excitation wave and susceptibility to reentrant atrial arrhythmias in normal conscious dogs. *Circulation Research*, 62(2), 395-410.
- Restivo, M., Yin, H., Caref, E. B., Patel, A. I., Ndrepepa, G., Avitable, M. J., . . . el-Sherif, N. (1995). Reentrant arrhythmias in the subacute infarction period. the proarrhythmic effect of flecainide acetate on functional reentrant circuits. *Circulation*, 91(4), 1236-1246.
- Rich, T. L., Langer, G. A., & Klassen, M. G. (1988). Two components of coupling calcium in single ventricular cell of rabbits and rats. *The American Journal of Physiology*, 254(5 Pt 2), H937-46.
- Richardson, K. C. (1964). The fine structure of the albino rabbit iris with special reference to the identification of adrenergic and cholinergic nerves and nerve endings in its intrinsic muscles. *The American Journal of Anatomy*, 114, 173-205.
- Richardson, R. J., Grkovic, I., & Anderson, C. R. (2003). Immunohistochemical analysis of intracardiac ganglia of the rat heart. *Cell and Tissue Research*, 314(3), 337-350.
- Rigel, D. F., & Lathrop, D. A. (1990). Vasoactive intestinal polypeptide facilitates atrioventricular nodal conduction and shortens atrial and ventricular refractory periods in conscious and anesthetized dogs. *Circulation Research*, 67(6), 1323-1333.
- Roberts, D. E., Hersh, L. T., & Scher, A. M. (1979). Influence of cardiac fiber orientation on wavefront voltage, conduction velocity, and tissue resistivity in the dog. *Circulation Research*, 44(5), 701-712.
- Roden, D. M., Balser, J. R., George, A. L., Jr, & Anderson, M. E. (2002). Cardiac ion channels. *Annual Review of Physiology*, 64, 431-475.
- Roeske, W. R., O'Rourke, R. A., Klein, A., Leopold, G., & Karliner, J. S. (1976). Noninvasive evaluation of ventricular hypertrophy in professional athletes. *Circulation*, 53(2), 286-291.
- Rogers, J. M., Huang, J., Smith, W. M., & Ideker, R. E. (1999). Incidence, evolution, and spatial distribution of functional reentry during ventricular fibrillation in pigs. *Circulation Research*, 84(8), 945-954.

- Ropella, K. M. (2001). Frequency domain analysis of endocardial signals. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, 37(3), 351-359.
- Rysevaite, K., Saburkina, I., Pauziene, N., Noujaim, S. F., Jalife, J., & Pauza, D. H. (2011a). Morphologic pattern of the intrinsic ganglionated nerve plexus in mouse heart. *Heart Rhythm: The Official Journal of the Heart Rhythm Society*, 8(3), 448-454.
- Rysevaite, K., Saburkina, I., Pauziene, N., Vaitkevicius, R., Noujaim, S. F., Jalife, J., & Pauza, D. H. (2011b). Immunohistochemical characterization of the intrinsic cardiac neural plexus in whole-mount mouse heart preparations. *Heart Rhythm : The Official Journal of the Heart Rhythm Society*, doi:10.1016/j.hrthm.2011.01.013
- Sable, D. L., Brammell, H. L., Sheehan, M. W., Nies, A. S., Gerber, J., & Horwitz, L. D. (1982). Attenuation of exercise conditioning by beta-adrenergic blockade. *Circulation*, 65(4), 679-684.
- Saburkina, I., Rysevaite, K., Pauziene, N., Mischke, K., Schauerte, P., Jalife, J., & Pauza, D. H. (2010). Epicardial neural ganglionated plexus of ovine heart: Anatomic basis for experimental cardiac electrophysiology and nerve protective cardiac surgery. *Heart Rhythm : The Official Journal of the Heart Rhythm Society*, 7(7), 942-950.
- Saffitz, J. E., Kanter, H. L., Green, K. G., Tolley, T. K., & Beyer, E. C. (1994). Tissue-specific determinants of anisotropic conduction velocity in canine atrial and ventricular myocardium. *Circulation Research*, 74(6), 1065-1070.
- Said, S. I., & Mutt, V. (1970). Polypeptide with broad biological activity: Isolation from small intestine. *Science (New York, N.Y.)*, 169(951), 1217-1218.
- Saito, A., Kimura, S., & Goto, K. (1986). Calcitonin gene-related peptide as potential neurotransmitter in guinea pig right atrium. *The American Journal of Physiology*, 250(4 Pt 2), H693-8.
- Saito, K., Gutkind, J. S., & Saavedra, J. M. (1987). Angiotensin II binding sites in the conduction system of rat hearts. *The American Journal of Physiology*, 253(6 Pt 2), H1618-22.
- Saltin, B., Blomqvist, G., Mitchell, J. H., Johnson, R. L., Jr, Wildenthal, K., & Chapman, C. B. (1968). Response to exercise after bed rest and after training. *Circulation*, 38(5 Suppl), VII1-78.
- Sasaki, A., Kida, O., Kangawa, K., Matsuo, H., & Tanaka, K. (1986). Involvement of sympathetic nerves in cardiosuppressive effects of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP) in anesthetized rats. *European Journal of Pharmacology*, 120(3), 345-349.
- Schaible, T. F., & Scheuer, J. (1985). Cardiac adaptations to chronic exercise. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 27(5), 297-324.

- Schaible, T. F., & Scheuer, J. (1981). Cardiac function in hypertrophied hearts from chronically exercised female rats. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 50(6), 1140-1145.
- Schalij, M. J., Lammers, W. J., Rensma, P. L., & Allessie, M. A. (1992). Anisotropic conduction and reentry in perfused epicardium of rabbit left ventricle. *The American Journal of Physiology*, 263(5 Pt 2), H1466-78.
- Scheinman, M. M. (1993). Atrioventricular nodal conduction and refractoriness. *Pacing and Clinical Electrophysiology: PACE*, 16(3 Pt 2), 592-598.
- Scheuer, J., & Tipton, C. M. (1977). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annual Review of Physiology*, 39, 221-251.
- Schlack, W., & Thamer, V. (1996). Unilateral changes of sympathetic tone to the heart impair left ventricular function. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 40(2), 262-271.
- Schram, G., Pourrier, M., Melnyk, P., & Nattel, S. (2002). Differential distribution of cardiac ion channel expression as a basis for regional specialization in electrical function. *Circulation Research*, 90(9), 939-950.
- Seals, D. R., & Chase, P. B. (1989). Influence of physical training on heart rate variability and baroreflex circulatory control. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 66(4), 1886-1895.
- Secher N.H., Johansen S.H. (1976). Heart rate at onset of exercise in curarized and uncurarized muscles. *Acta Physiol Scand* 440S:174.
- Shah, A. M. (1996). Paracrine modulation of heart cell function by endothelial cells. *Cardiovascular Research*, 31(6), 847-867.
- Shi, X., Stevens, G. H., Foresman, B. H., Stern, S. A., & Raven, P. B. (1995). Autonomic nervous system control of the heart: Endurance exercise training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(10), 1406-1413.
- Shimizu, W., Tsuchioka, Y., Karakawa, S., Nagata, K., Mukai, J., Yamagata, T., . . . Matsuura, Y. (1994). Differential effect of pharmacological autonomic blockade on some electrophysiological properties of the human ventricle and atrium. *British Heart Journal*, 71(1), 34-37.
- Singh, S., Johnson, P. I., Javed, A., Gray, T. S., Lonchyna, V. A., & Wurster, R. D. (1999). Monoamine- and histamine-synthesizing enzymes and neurotransmitters within neurons of adult human cardiac ganglia. *Circulation*, 99(3), 411-419.
- Sinha, S. N., Yelich, M. R., Keresztes-Nagy, S., & Frankfater, A. (1979). Regional distribution of acetylcholinesterase in the right atria of humans and dogs. *Pediatric Research*, 13(11), 1217-1221.

- Skinner, J. S., Gaskill, S. E., Rankinen, T., Leon, A. S., Rao, D. C., Wilmore, J. H., & Bouchard, C. (2003). Heart rate versus %VO₂max: Age, sex, race, initial fitness, and training response--HERITAGE. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(11), 1908-1913.
- Slavikova, J. (1997). Distribution of peptide-containing neurons in the developing rat right atrium, studied using immunofluorescence and confocal laser scanning. *Neurochemical Research*, 22(8), 1013-1021.
- Slavikova, J., Kuncova, J., Reischig, J., & Dvorakova, M. (2003). Catecholaminergic neurons in the rat intrinsic cardiac nervous system. *Neurochemical Research*, 28(3-4), 593-598.
- Slavikova, J., & Tucek, S. (1982). Choline acetyltransferase in the heart of adult rats. *Pflugers Archiv : European Journal of Physiology*, 392(3), 225-229.
- Smith, F. M. (1999). Extrinsic inputs to intrinsic neurons in the porcine heart in vitro. *The American Journal of Physiology*, 276(2 Pt 2), R455-67.
- Snyders, D. J. (1999). Structure and function of cardiac potassium channels. *Cardiovascular Research*, 42(2), 377-390.
- Sonnenblick, E. H., Ross, J., Jr, & Braunwald, E. (1968). Oxygen consumption of the heart. newer concepts of its multifactoral determination. *The American Journal of Cardiology*, 22(3), 328-336.
- Spach, M. S., Miller, W. T., 3rd, Geselowitz, D. B., Barr, R. C., Kootsey, J. M., & Johnson, E. A. (1981). The discontinuous nature of propagation in normal canine cardiac muscle. evidence for recurrent discontinuities of intracellular resistance that affect the membrane currents. *Circulation Research*, 48(1), 39-54.
- Spina, R. J., Ogawa, T., Martin, W. H., 3rd, Coggan, A. R., Holloszy, J. O., & Ehsani, A. A. (1992). Exercise training prevents decline in stroke volume during exercise in young healthy subjects. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 72(6), 2458-2462.
- Spirito, P., Pelliccia, A., Proschan, M. A., Granata, M., Spataro, A., Bellone, P., . . . Maron, B. J. (1994). Morphology of the "athlete's heart" assessed by echocardiography in 947 elite athletes representing 27 sports. *The American Journal of Cardiology*, 74(8), 802-806.
- Steele, P. A., & Choate, J. K. (1994). Innervation of the pacemaker in guinea-pig sinoatrial node. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 47(3), 177-187.
- Steele, P. A., Gibbins, I. L., Morris, J. L., & Mayer, B. (1994). Multiple populations of neuropeptide-containing intrinsic neurons in the guinea-pig heart. *Neuroscience*, 62(1), 241-250.

- Stein, R., Moraes, R. S., Cavalcanti, A. V., Ferlin, E. L., Zimmerman, L. I., & Ribeiro, J. P. (2000). Atrial automaticity and atrioventricular conduction in athletes: Contribution of autonomic regulation. *European Journal of Applied Physiology*, 82(1-2), 155-157.
- Stein, R., Medeiros, C. M., Rosito, G. A., Zimmerman, L. I., & Ribeiro, J. P. (2002). Intrinsic sinus and atrioventricular node electrophysiologic adaptations in endurance athletes. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(6), 1033-1038.
- Stewart, A. J., Allen, J. D., Devine, A. B., & Adgey, A. A. (1996). Effects of blockade of fast and slow inward current channels on ventricular fibrillation in the pig heart. *Heart (British Cardiac Society)*, 76(6), 513-519.
- Stone, H. L. (1983). Control of the coronary circulation during exercise. *Annual Review of Physiology*, 45, 213-227. doi:10.1146/annurev.ph.45.030183.001241
- Stone, H. L., & Liang, I. Y. (1984). Cardiovascular response and control during exercise. *The American Review of Respiratory Disease*, 129(2 Pt 2), S13-6.
- Strohmeier, H. U., Lindner, K. H., & Brown, C. G. (1997). Analysis of the ventricular fibrillation ECG signal amplitude and frequency parameters as predictors of countershock success in humans. *Chest*, 111(3), 584-589.
- Such, L., Alberola, A. M., Such-Miquel, L., Lopez, L., Trapero, I., Pelechano, F., . . . Chorro, F. J. (2008). Effects of chronic exercise on myocardial refractoriness: A study on isolated rabbit heart. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 193(4), 331-339.
- Such, L., Rodriguez, A., Alberola, A., Lopez, L., Ruiz, R., Artal, L., . . . Chorro, F. J. (2002). Intrinsic changes on automatism, conduction, and refractoriness by exercise in isolated rabbit heart. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 92(1), 225-229.
- Sudoh, T., Minamino, N., Kangawa, K., & Matsuo, H. (1990). C-type natriuretic peptide (CNP): A new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 168(2), 863-870.
- Sutton, P. M., Taggart, P., Opthof, T., Coronel, R., Trimlett, R., Pugsley, W., & Kallis, P. (2000). Repolarisation and refractoriness during early ischaemia in humans. *Heart (British Cardiac Society)*, 84(4), 365-369.
- Sylvestre-Gervais, L., Nadeau, A., Nguyen, M. H., Tancrede, G., & Rousseau-Migneron, S. (1982). Effects of physical training on beta-adrenergic receptors in rat myocardial tissue. *Cardiovascular Research*, 16(9), 530-534.
- Tabata, I., Irisawa, K., Kouzaki, M., Nishimura, K., Ogita, F., & Miyachi, M. (1997). Metabolic profile of high intensity intermittent exercises. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29(3), 390-395.

- Takahashi, N., & Zipes, D. P. (1983). Vagal modulation of adrenergic effects on canine sinus and atrioventricular nodes. *The American Journal of Physiology*, 244(6), H775-81.
- Talan, D. A., Bauernfeind, R. A., Ashley, W. W., Kanakis, C., Jr, & Rosen, K. M. (1982). Twenty-four hour continuous ECG recordings in long-distance runners. *Chest*, 82(1), 19-24.
- Tamargo, J., Caballero, R., Gomez, R., Valenzuela, C., & Delpon, E. (2004). Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovascular Research*, 62(1), 9-33.
- Tanaka, K., Takanaga, A., Hayakawa, T., Maeda, S., & Seki, M. (2001). The intrinsic origin of nitric oxide synthase immunoreactive nerve fibers in the right atrium of the guinea pig. *Neuroscience Letters*, 305(2), 111-114.
- Taton, G., Chatelain, P., Delhay, M., Camus, J. C., De Neef, P., Waelbroeck, M., . . . Christophe, J. (1982). Vasoactive intestinal peptide (VIP) and peptide having N-terminal histidine and C-terminal isoleucine amide (PHI) stimulate adenylate cyclase activity in human heart membranes. *Peptides*, 3(6), 897-900.
- Tepperman, J., & Pearlman, D. (1961). Effects of exercise and anemia on coronary arteries of small animals as revealed by the corrosion-cast technique. *Circulation Research*, 9, 576-584.
- Tibbits, G. F., Barnard, R. J., Baldwin, K. M., Cugalj, N., & Roberts, N. K. (1981). Influence of exercise on excitation-contraction coupling in rat myocardium. *The American Journal of Physiology*, 240(4), H472-80.
- Tibbits, G. F., Nagatomo, T., Sasaki, M., & Barnard, R. J. (1981). Cardiac sarcolemma: Compositional adaptation to exercise. *Science (New York, N.Y.)*, 213(4513), 1271-1273.
- Tipton, C. M., Matthes, R. D., Tcheng, T. K., Dowell, R. T., & Vailas, A. C. (1977). The use of the langendorff preparation to study the bradycardia of training. *Medicine and Science in Sports*, 9(4), 220-230.
- Trautwein, W. (1963). Generation and conduction of impulses in the heart as affected by drugs. *Pharmacological Reviews*, 15, 277-332.
- Turgeon, J., Wisialowski, T. A., Wong, W., Altemeier, W. A., Wikswo, J. P., Jr, & Roden, D. M. (1992). Suppression of longitudinal versus transverse conduction by sodium channel block. effects of sodium bolus. *Circulation*, 85(6), 2221-2226.
- Vaseghi, M., & Shivkumar, K. (2008). The role of the autonomic nervous system in sudden cardiac death. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 50(6), 404-419.
- Vaughan Williams, E. M. (1987). Is phosphodiesterase inhibition arrhythmogenic? electrophysiologic effects in pithed rats and in normoxic and hypoxic rabbit atria of enoximone, a new cardiotonic agent. *Journal of Clinical Pharmacology*, 27(2), 91-100.

- Vigmond, E. J., Tsoi, V., Kuo, S., Arevalo, H., Kneller, J., Nattel, S., & Trayanova, N. (2004). The effect of vagally induced dispersion of action potential duration on atrial arrhythmogenesis. *Heart Rhythm: The Official Journal of the Heart Rhythm Society*, 1(3), 334-344.
- Viitasalo, M. T., Kala, R., & Eisalo, A. (1984). Ambulatory electrocardiographic findings in young athletes between 14 and 16 years of age. *European Heart Journal*, 5(1), 2-6.
- Viitasalo, M. T., Kala, R., & Eisalo, A. (1982). Ambulatory electrocardiographic recording in endurance athletes. *British Heart Journal*, 47(3), 213-220.
- Weir, L. L., Weir, J. P., Housh, T. J., & Johnson, G. O. (1997). Effect of an aerobic training program on physical working capacity at heart rate threshold. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 75(4), 351-356.
- Weiss, J. L., Weisfeldt, M. L., Mason, S. J., Garrison, J. B., Livengood, S. V., & Fortuin, N. J. (1979). Evidence of frank-startling effect in man during severe semisupine exercise. *Circulation*, 59(4), 655-661.
- Weiss, J. N., Garfinkel, A., Karagueuzian, H. S., Qu, Z., & Chen, P. S. (1999). Chaos and the transition to ventricular fibrillation: A new approach to antiarrhythmic drug evaluation. *Circulation*, 99(21), 2819-2826.
- Wenger, H. A., & Bell, G. J. (1986). The interactions of intensity, frequency and duration of exercise training in altering cardiorespiratory fitness. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 3(5), 346-356.
- West J. B. (1998). *Bases fisiológicas de la práctica médica* (12^a ed). Madrid: Panamericana.
- Wharton, J., Polak, J. M., Gordon, L., Banner, N. R., Springall, D. R., Rose, M., . . . Yacoub, M. H. (1990). Immuno-histochemical demonstration of human cardiac innervation before and after transplantation. *Circulation Research*, 66(4), 900-912.
- Wiener, N., & Rosenblueth, A. (1946). The mathematical formulation of the problem of conduction of impulses in a network of connected excitable elements, specifically in cardiac muscle. *Archivos Del Instituto De Cardiologia De Mexico*, 16(3), 205-265.
- Wijffels, M. C., Kirchhof, C. J., Dorland, R., & Allessie, M. A. (1995). Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*, 92(7), 1954-1968.
- Wilmore, J. H., Stanforth, P. R., Gagnon, J., Rice, T., Mandel, S., Leon, A. S., . . . Bouchard, C. (2001). Heart rate and blood pressure changes with endurance training: The HERITAGE family study. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(1), 107-116.

- Wirth, A., Holm, G., Lindstedt, G., Lundberg, P. A., & Bjorntorp, P. (1981). Thyroid hormones and lipolysis in physically trained rats. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 30(3), 237-241.
- Wisloff, U., Loennechen, J. P., Falck, G., Beisvag, V., Currie, S., Smith, G., & Ellingsen, O. (2001). Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. *Cardiovascular Research*, 50(3), 495-508.
- Wisloff, U., Ellingsen, O., & Kemi, O. J. (2009). High-intensity interval training to maximize cardiac benefits of exercise training? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 37(3), 139-146.
- Witkowski, F. X., Leon, L. J., Penkoske, P. A., Giles, W. R., Spano, M. L., Ditto, W. L., & Winfree, A. T. (1998). Spatiotemporal evolution of ventricular fibrillation. *Nature*, 392(6671), 78-82.
- Yuan, B. X., Ardell, J. L., Hopkins, D. A., & Armour, J. A. (1993). Differential cardiac responses induced by nicotine sensitive canine atrial and ventricular neurones. *Cardiovascular Research*, 27(5), 760-769.
- Yuan, B. X., Ardell, J. L., Hopkins, D. A., Losier, A. M., & Armour, J. A. (1994). Gross and microscopic anatomy of the canine intrinsic cardiac nervous system. *The Anatomical Record*, 239(1), 75-87. doi:10.1002/ar.1092390109
- Zaitsev, A. V., Guha, P. K., Sarmast, F., Kolli, A., Berenfeld, O., Pertsov, A. M., . . . Jalife, J. (2003). Wavebreak formation during ventricular fibrillation in the isolated, regionally ischemic pig heart. *Circulation Research*, 92(5), 546-553.
- Zavorsky, G. S. (2000). Evidence and possible mechanisms of altered maximum heart rate with endurance training and tapering. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 29(1), 13-26.
- Zhou, Q. Y., Quaife, C. J., & Palmiter, R. D. (1995). Targeted disruption of the tyrosine hydroxylase gene reveals that catecholamines are required for mouse fetal development. *Nature*, 374(6523), 640-643.
- Zhou, X., Ideker, R. E., Blitchington, T. F., Smith, W. M., & Knisley, S. B. (1995). Optical transmembrane potential measurements during defibrillation-strength shocks in perfused rabbit hearts. *Circulation Research*, 77(3), 593-602.
- Zipes, D. P. (1975). Electrophysiological mechanisms involved in ventricular fibrillation. *Circulation*, 52(6 Suppl), III120-30.
- Zipes, D. P., & Mendez, C. (1973). Action of manganese ions and tetrodotoxin on atrioventricular nodal transmembrane potentials in isolated rabbit hearts. *Circulation Research*, 32(4), 447-454.

- Zipes, D. P., Mihalick, M. J., & Robbins, G. T. (1974). Effects of selective vagal and stellate ganglion stimulation of atrial refractoriness. *Cardiovascular Research*, 8(5), 647-655.
- Zipes, D.P. & Inoue, H. (1988). Autonomic neural control of cardiac excitable properties. En Kulbertus, H.E.; Frank, G., (eds), *Neurocardiology* (787-796). New York: Futura.
- Zipes D.P. & Jalife J. (2006) *Arritmias: Electrofisiología cardíaca*. Madrid: Marban.