



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD MONTERREY

ESTUDIO DEL EFECTO DEL RUIDO EXTRÍNSECO EN LA
RESPUESTA MECÁNICA DEL CORAZÓN

Tesis que presenta

Mario Alberto Peña Romo

Para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Con especialidad en

Ingeniería y Física Biomédicas

Director de la Tesis:

Dr. Jesús Guadalupe Rodríguez González

Monterrey, Nuevo León

Agosto, 2018

The moon spins in perfect resonance with its orbit around the Earth; millions of neurons fire together to control our breathing; every night along the tidal rivers of Malaysia, thousands of fireflies flash in silent, hypnotic unison. All of these astonishing feats of synchrony occur spontaneously as if the universe had an overwhelming desire for order.

The tendency to synchronize may be the most mysterious and pervasive drive in all of nature.

Steven Strogatz. "Sync: How order emerges from chaos in the universe, nature and daily life" (Hachette Books, 2003).

Si alguna vez nos encontramos y te interesaste sobre mi necia determinación de lo que me apasiona en la vida sin censurar mis vicios, si descubriste que mi inclinación al aislamiento social se convirtió en afición a la literatura, si lograste arrancarme una sonrisa con un juego de palabras... si tu cara no pudo disimular la incredulidad cuando te conté que algo tan caprichoso y delicado como el ruido puede tener repercusiones benéficas en la biología en contraposición a toda creencia, este trabajo es para ti.

Agradecimientos

La vida es un frágil equilibrio entre los sueños que nacen en nosotros y la realidad cuando despertamos. Sin embargo, la realidad también puede ser extraordinaria si materializas todo aquello que en su momento le confiabas secretamente a la almohada. Poner en práctica mis conocimientos para obtener un doctorado era una insistente determinación que tenía desde que era un estudiante universitario. Siete años después me encuentro sentado bajo un árbol pensando acerca del pasado y tratando imparcialmente de juzgar lo bueno y lo malo en lo que a mí concierne y cuyas causas convergieron para finalmente despertar mi interés por la ciencia del letargo de la incertidumbre propia de la adolescencia tardía e inspirado también por la pasión que conlleva la curiosidad de explicar el sorprendente mundo que nos rodea. Tengo a buen momento retribuir mediante estas palabras y con la mayor humildad posible a todas aquellas personas que me permitieron llegar hasta este punto sin retorno y con esto revelar la emoción y felicidad que me siento por las circunstancias que me llevaron a concluir este proyecto y que no son fáciles de disimular. Para todos ustedes, no puedo dejar traslucir otro sentimiento que la gratitud:

A Mario Peña y Laura Romo por prevenirme de un futuro destinado a las vicisitudes y desencantos. Gracias por proveerme de todas las herramientas necesarias para poder distinguir entre la calidad de los principios y la obstinación de la voluntad. Todo conflicto y todo sacrificio que han desempeñado en beneficio de mis circunstancias los ennoblecen a mis ojos. Es un verdadero privilegio ser su hijo. A Arturo, Diana y Liliana Peña por ser mis compañeros de juego desde niños. Muchas veces, por seguir los impulsos de mis caprichos, mis palabras no corren parejas con mis acciones y aún así no encontraron abiertamente alguna deficiencia en mis modales durante todas las mañanas que vivimos juntos. A Ángel y Laura Durán por ser mis primeros pasos a seguir cuando era muy joven. El suyo es un ejemplo de tenacidad ante las adversidades de la vida y por ustedes siento una respetuosa admiración de la cual no soy insensible. A Ma. de los Ángeles Toledano por mirarme siempre con orgullo cuando te abrazo. Los años que le dan peso a tu estoicismo fortalecen siempre mi carácter. A Lourdes Piñera y Ma. de los Ángeles Romo por mantener la cabeza en alto cuando de sobrevenir a las dificultades se trata. Su buena voluntad y atenciones desinteresadas para conmigo no han disminuido con el tiempo. A Eduardo Ramírez por ser una gran inspiración en mi vida, por ser la mayor fuente constante de afecto que he tenido nunca, por adivinar con certeza las palabras que no siempre puedo pronunciar, por entender mis silencios. Porque el estar contigo es un buen motivo para ser mejor que ayer. De todos ustedes, mi familia, todas las muestras de afecto, de esperanza, del poder conciliador que me devuelve el sueño en la madrugada las llevo siempre conmigo a todos los lugares a los que me dirige el destino.

Al Dr. Jesús Rodríguez por permitirme realizar este trabajo bajo su dirección, por sus acertados consejos y por ser más un amigo que un tutor. Por su amplia flexibilidad de criterio al

arriesgarse a explorar áreas de la biología que pocas personas están dispuestas a estudiar. También por su originalidad de pensamiento al ampliar mi vocabulario con frases que juegan con las inflexiones de lo ortodoxo, muy útiles para la vida diaria. A Amelia Ríos y al Dr. Bruno Escalante por su interés genuino en este proyecto al involucrarse desde el principio, por confiar que un ingeniero en mecatrónica pudiera realizar un estudio de electro-cardiología y, en definitiva, también por todas las facilidades que me proporcionaron, un lugar en su laboratorio y la adquisición de todos los equipos necesarios para los montajes experimentales y que no se contaba con ellos antes de mi propuesta. Al Dr. Moisés Santillán por introducirme con afabilidad al mundo de los osciladores biológicos así como por su extraordinaria manera de transmitir conocimientos complejos de la manera más sencilla posible. Al Dr. Daniel Sánchez por ser mi primer mentor en la biología aquella mañana cuando aprendí por vez primera lo que era un *potencial de acción* y ese primer confrontamiento entre el vocabulario de la biología y de la ingeniería. Al Dr. Carlos Villalón, Eduardo Rivera y Belinda Villanueva del Cinvestav Sede Sur así como a Miguel Romero de la Universidad de McGill por su invaluable ayuda en el aprendizaje de una nueva técnica experimental. A los doctores Alvin Shrier, Gil Bub, Michael Guevara y André Longtin por las charlas particulares que tuve con cada uno de ustedes en la Universidad de McGill. Fue un experiencia única el conocer personalmente a mis héroes académicos. Sus ponderables aportaciones me permitieron dilucidar más el fenómeno que estoy estudiando así como sus potenciales repercusiones para trabajos futuros. A la Dra. Griselda Quiroz por su retroalimentación tan importante para este trabajo. A la Dra. Dania Gutiérrez y al resto del colegio de profesores del Cinvestav Monterrey por su apoyo constante en mi formación como investigador y por consolidar mi interés en la ciencia. A todos ustedes, gracias por permitirme disfrutar del beneficio del conocimiento adquirido a lo largo de su trayectoria académica con un robusto sentido de la integridad.

Me despreciaría a mí mismo si creyera que la constancia y el afecto son patrimonio exclusivo de la familia sanguínea. Mi profundo agradecimiento va dirigido también a todos los amigos que la realización de este trabajo me permitió conocer. A Abraham Serrano, Alejandra Lozano, Daniel Elizondo, Isabel Pérez, José Guerrero, Maricarmen Ríos, Omar Castillo, Oscar Gallardo, Rubén Guzmán y Salomé Gutiérrez porque quiso la casualidad de juntarnos en una misma habitación presidida por un pizarrón de gises aquella calurosa mañana de verano del 2012. Sé que hay en algunas personas una rapidez de percepción que mi experiencia no alcanza a sincronizar con la misma destreza y ustedes han sido pilares esenciales en favorecer el desarrollo continuo de mi trabajo. Con ustedes sé que el valor de la amistad no se desvanece conforme pasan los días en el calendario y, comprometiendo a continuación mis emociones académicas, no imagino el resto de mi vida sin ustedes liderando mis juicios basados como resultado de la irreflexión y de la imprudencia y que, en definitiva, le dan un sentido aventurero a la existencia. A mis *parces* Laura Sánchez, Carlos Díaz y Mauricio Castaño así como a David Orozco, Daniela Nevárez, Sarahí Aguilar y especialmente a Pamela Vázquez por las risas y por los consejos acompañados de riesgos y certezas sin jamás traicionar nuestra confianza. A Misael Hernández al despertar en mí una profunda admiración desde aquella conversación en la que me confiaste el origen de la cicatriz en tu rostro. Muchas veces vale más un carácter persuasivo que la firmeza de un carácter resuelto, lo cual es una deferencia hacia tu buen criterio. Al resto de la comunidad del

Cinvestav Monterrey por permitirme sentir que pertenezco a un extraordinario ambiente académico y cultural.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por los fondos económicos destinados para la realización de este proyecto y por persuadir el desarrollo de avances científicos tan necesarios en un México próspero. El talento mexicano, tan elogiado en otros países, no debe pasar desapercibido por nuestros compatriotas.

Finalmente, si al aportar estos conocimientos a la ciencia lograrse algún día mejorar la calidad de vida de otra persona, la mayor de las recompensas a la que pudiera aspirar estaría de sobra satisfecha.

Sinceramente,

Alberto Peña

Universidad de McGill
Montreal, Canadá
Jueves 2. agosto 2018
18:34 hrs

Contenido

Resumen	XIX
Abstract	XX
Capítulo 1	
Introducción.....	1
1.1 Marco teórico.....	5
1.1.1 Ruido en sistemas biológicos.....	5
1.1.2 Resonancia estocástica.....	5
1.1.3 Corazón.....	6
1.1.4 Actividad eléctrica del corazón.....	8
1.1.5 Actividad mecánica del corazón.....	11
1.1.6 Frecuencia cardiaca.....	13
1.1.7 Arritmias cardiacas y fibrilación ventricular.....	14
1.1.8 Electrocardiograma.....	15
1.1.9 Inervación del corazón por el sistema nervioso autónomo.....	17
1.1.10 El corazón como oscilador biológico.....	29
1.2 Antecedentes.....	33
1.2.1 Ruido en sistemas biológicos.....	33
1.2.2 El corazón como oscilador biológico: patrones de sincronización.....	35
1.2.3 Ruido en el modelo de corazón aislado.....	36
1.2.4 Patrones de disparo neuronales debidos al ruido.....	38
Capítulo 2	
Planteamiento del problema.....	41
Planteamiento del problema.....	43
Capítulo 3	
Hipótesis y objetivos.....	51
3.1 Hipótesis.....	53
3.2 Objetivos.....	54

Capítulo 4	Estudio del efecto del ruido en el modelo de corazón aislado.....	55
	Estudio del efecto del ruido en el modelo de corazón aislado.....	57
4.1	Metodología y desarrollo experimental.....	59
4.1.1	Extracción del corazón.....	59
4.1.2	Técnica de Langendorff para corazón aislado.....	61
4.1.3	Estimulación eléctrica externa.....	63
4.1.4	Umbral de patologías cardiacas.....	66
4.1.5	Métodos estadísticos.....	67
4.2	Resultados.....	68
4.2.1	Validación del montaje experimental: experimentos control....	68
4.2.2	Identificación de patrones de sincronización en el acoplamiento excitación-contracción debido a estímulos eléctricos sin ruido inducido.....	70
4.2.3	Presencia de diversos patrones de sincronización debido a estimulación eléctrica con ruido inducido.....	73
Capítulo 5	Estudio del efecto del ruido en la interacción entre el sistema nervioso autónomo y el corazón como órgano objetivo.....	79
	Estudio del efecto del ruido en la interacción entre el sistema nervioso autónomo y el corazón como órgano objetivo.....	81
5.1	Metodología y desarrollo experimental.....	84
5.1.1	Destrucción del sistema nervioso central.....	86
5.1.2	ECG y presión arterial sistémica.....	86
5.1.3	Parámetros de medición en el montaje <i>in vivo</i>	87
5.1.4	Electro-estimulación con ruido inducido.....	91
5.1.5	Métodos estadísticos.....	92
5.2	Resultados.....	93
5.2.1	Caracterización de ECG.....	93
5.2.2	Validación del montaje experimental.....	95
5.2.3	Efecto del ruido en la respuesta cardiaca en la interacción del sistema nervioso simpático y el corazón como órgano objetivo	97
5.2.4	Medida del desempeño del corazón como bomba ante la presencia de ruido: gasto cardiaco.....	101

5.2.5	Análisis de ECG y su repercusión en la respuesta mecánica del corazón.....	103
Capítulo 6	Discusión.....	109
	Ruido en sistemas biológicos: presencia de resonancia estocástica....	111
	Ruido en el corazón aislado: presencia de patrones de sincronización.....	112
	Ruido en la interacción entre el sistema nervioso autónomo y el corazón como órgano objetivo.....	119
Capítulo 7	Conclusiones.....	125
Capítulo 8	Limitaciones del estudio y perspectivas.....	129
8.1	Limitaciones del estudio.....	131
8.2	Perspectivas.....	132
Capítulo 9	Referencias.....	133
Capítulo 10	Material suplementario.....	143
10.1	Síntesis de acetilcolina y noradrenalina.....	145
10.1.1	Síntesis de acetilcolina.....	145
10.1.2	Síntesis de noradrenalina.....	145
10.2	Receptores adrenérgicos.....	147
10.3	Perfiles de velocidad de la sangre fluyendo en distintas arterias del árbol cardiovascular.....	148
10.4	Medición de variables del perfil de velocidad del flujo de sangre en el arco aórtico.....	149
10.4.1	Tiempo de pre-eyeción.....	149
10.4.2	Tiempo de subida.....	150
10.4.3	Velocidad pico.....	150
10.4.4	Distancia de eyección (<i>stroke distance</i>).....	151
10.5	Análisis vectorial de ECG.....	152

Lista de Figuras

Figura	Descripción	Página
1.1	Curva típica de resonancia estocástica.	6
1.2	Estructura del corazón y trayecto del flujo sanguíneo a través de las cavidades y válvulas cardíacas.	7
1.3	Naturaleza interconectada “sincitial” de las fibras del músculo cardíaco.	8
1.4	Representación esquemática de la organización del tejido de conducción de la actividad eléctrica del corazón.	9
1.5	Fases del potencial de acción cardíaco.	10
1.6	Mecanismos de liberación de calcio por calcio inducido.	12
1.7	Nervios simpáticos y parasimpáticos cardíacos.	13
1.8	Electrocardiograma normal.	16
1.9	Interrelación entre el potencial de acción cardíaco y el ECG.	17
1.10	Neurona.	18
1.11	Potencial de acción nervioso.	19
1.12	Umbral para el inicio del potencial de acción.	20
1.13	Sinapsis química.	21
1.14	Efectos del impulso excitador o inhibidor en la sinapsis química.	22
1.15	Sistema nervioso central.	23
1.16	Distribución de las fibras simpáticas desde la médula espinal a los órganos efectores.	25
1.17	Distribución de las fibras parasimpáticas a los órganos efectores.	26
1.18	Inervación simpática y parasimpática del corazón.	28
1.19	El corazón como oscilador biológico.	31
1.20	Acoplamiento y sincronización.	32
1.21	Curva de resonancia estocástica para la estimulación de mecanorreceptores de cangrejo de río.	33
1.22	Presencia de resonancia estocástica en la sinapsis neuronal.	34
1.23	Generación de patrones anormales de sincronización en células embrionarias autoexcitables.	36

Figura	Descripción	Página
1.24	Efecto del ruido en el nodo SA sobre la frecuencia cardiaca en el modelo de corazón aislado.	37
1.25	Patrones de sincronización en la actividad neuronal debidos al ruido.	38
2.1	Resonancia estocástica en la detectabilidad de información en neuronas.	43
2.2	Procesos detrás de la respuesta contráctil del corazón debido a la innervación por el sistema simpático.	44
2.3	Registro de potenciales de acción cardiacos.	45
2.4	Automatismo en la actividad eléctrica del nodo SA	46
2.5	Fuentes de ruido en el modelo de corazón aislado.	47
2.6	Patrones de sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico en el modelo de corazón aislado debidos a la presencia de ruido.	48
4.1	Representación del estudio de la actividad mecánica del corazón aislado debido a una estimulación eléctrica externa.	58
4.2	Perfusión retrógrada en el modelo de corazón aislado.	60
4.3	Técnica de Langendorff para corazón aislado.	61
4.4	Montaje experimental para modelo de corazón aislado.	63
4.5	Estimulación eléctrica externa.	64
4.6	Interfaz gráfica del generador de funciones desarrollado en LabView para la electro-estimulación.	65
4.7	Estímulo eléctrico con ruido inducido.	65
4.8	Registro de la señal eléctrica que estimula al corazón aislado a 2V y 10Hz con diferentes intensidades de ruido.	66
4.9	Respuesta contráctil del corazón aislado sin ruido inducido en el estímulo.	68
4.10	Intensidad de fuerza contráctil para experimentos sin ruido.	69
4.11	Frecuencia cardiaca de respuesta ante valores críticos de electro-estimulación (2V, 7V) sin ruido inducido.	70
4.12	Patrones de sincronización encontrados en el modelo de corazón aislado sin ruido inducido.	72
4.13	Estrategia de cuantificación de la presencia de patrones de sincronización en el modelo de corazón aislado.	73
4.14	Efecto del ruido en la IFC para los valores críticos de electro-estimulación.	74
4.15	Patrones de sincronización encontrados en el modelo de corazón aislado ante la presencia de ruido inducido en la electro-estimulación.	75
4.16	Mapas de interacción entre la frecuencia e intensidad de estimulación para todos los niveles de ruido.	76

Figura	Descripción	Página
4.17	Curva de resonancia estocástica en el modelo de corazón aislado ante la presencia de ruido.	77
5.1	Aproximaciones experimentales de electro-estimulación para estudiar el efecto del ruido en la respuesta contráctil del corazón debida al sistema nervioso simpático.	82
5.2	Representación de la inervación del corazón debido a la actividad neuronal y el efecto del ruido.	83
5.3	Inervación del corazón por medio del sistema nervioso simpático mediante electro-estimulación en la médula espinal.	84
5.4	Inervación simpática en la respuesta cardiovascular mediante una estimulación eléctrica en segmentos de la médula espinal bajo el modelo de descerebración y desmedulación.	85
5.5	Registro de ECG y presión arterial sistémica para validar el montaje experimental.	87
5.6	Registro de la actividad eléctrica del corazón en el modelo <i>in vivo</i> .	88
5.7	Análisis ECG.	89
5.8	Registro de la actividad mecánica del corazón en el modelo <i>in vivo</i> .	90
5.9	Perfil de velocidad de la sangre fluyendo a través del arco aórtico en un evento sistólico ventricular.	91
5.10	Pulsos eléctricos para el modelo <i>in vivo</i> .	92
5.11	ECG de animal anestesiado, ventilado mecánicamente y descerebrado y desmedulado.	94
5.12	Registros representativos temporales de la respuesta cardiovascular ante estímulos eléctricos en la médula espinal (T7 a T9).	96
5.13	Inervación simpática independiente del corazón y del sistema vasoconstrictor arterial.	97
5.14	Cambios en la respuesta cardiaca como consecuencia de una electro-estimulación.	98
5.15	Incrementos en la frecuencia cardiaca debidos a electro-estimulaciones a diferentes frecuencias en la médula espinal.	99
5.16	Incrementos en la frecuencia cardiaca (taquicárdicos) como respuesta a electro-estimulaciones a distintas frecuencias y distintas intensidades de ruido.	100
5.17	Tiempos de relajación cardiaca.	101
5.18	Variables para calcular el gasto cardiaco.	102
5.19	Incrementos en el gasto cardiaco debidos a electro-estimulaciones con distintas intensidades de ruido.	103
5.20	Interrelación entre un evento eléctrico y su respuesta mecánica.	104

Figura	Descripción	Página
5.21	Interrelación entre un evento eléctrico y su respuesta mecánica con altas intensidades de ruido en la electro-estimulación.	105
5.22	Alternancias en la despolarización y repolarización ventricular debidas a flujos anómalos de potasio y calcio.	107
5.23	Patrones electrocardiográficos en la hipopotasemia e hiperpotasemia.	107
5.24	Registros ECG de un animal electro-estimulado con 20% de ruido inducido	108
10.1	Síntesis de acetilcolina.	145
10.2	Síntesis de noradrenalina.	146
10.3	Perfiles de velocidad del flujo de sangre en distintos sectores del árbol cardiovascular.	148
10.4	Estadística para el cálculo de tiempo de pre-eyección para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación.	149
10.5	Estadística para el cálculo de tiempo de subida para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación.	150
10.6	Estadística para el cálculo de tiempo de velocidad pico para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación.	150
10.7	Estadística para el cálculo de distancia de eyección para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación.	151
10.8	Vector de despolarización cardiaco.	152
10.9	Sistema hexaxial.	153
10.10	Cálculo del vector cardiaco.	153

Lista de tablas

Tabla	Descripción	Página
5.1	Parámetros de ECG de animales anestesiados con pentobarbital sódico	93
5.2	Parámetros de ECG cuando el animal es anestesiado, ventilado y descerebrado y desmedulado	95
10.1	Efectos colinérgicos y adrenérgicos del sistema nervioso autónomo según la activación de los receptores adrenérgicos.	147

Resumen

El ruido es un fenómeno inherente en cualquier sistema biológico. Diversos investigadores han encontrado evidencias que afirman que el ruido no siempre es perjudicial en una función biológica. Este interesante fenómeno conocido como *resonancia estocástica* se define como un fenómeno no lineal en donde la adición de una interferencia aleatoria puede mejorar la detección de información contenida en una señal, mientras que otros incrementos en la intensidad de ruido sólo degradan la capacidad de detección de la información contenida.

En este trabajo se estudia el efecto del ruido en la respuesta mecánica del corazón. La principal motivación surge a partir de recientes descubrimientos en el laboratorio en donde, a escala de órgano completo, el ruido (blanco) inducido en estímulos periódicos externos en el nodo sinoatrial incrementa el ancho de banda de sincronización 1:1 en el acoplamiento eléctrico-mecánico de corazón aislado. En condiciones normales, la presencia del patrón de sincronización 1:1 es un indicativo del buen desempeño del corazón. No obstante, en condiciones patológicas no siempre se cumple. Los resultados de este estudio mostraron evidencia de la presencia de diversos patrones de sincronización anómalos en el acoplamiento eléctrico-mecánico debidos al ruido.

Por otro lado, puesto que el corazón es un órgano que está inervado por el sistema nervioso autónomo, mediante un modelo de experimentación *in vivo* se estudian los cambios en la respuesta contráctil cuando el corazón es estimulado desde la médula espinal con señales eléctricas perturbadas con ruido blanco. Ante bajas intensidades de ruido, se presentaron incrementos taquicárdicos superiores comparados con los experimentos control y tiempos de relajación más cortos, así como un aumento del gasto cardíaco. No obstante, debido a estímulos con altas intensidades de ruido, se presentaron cambios en la etapa de repolarización ventricular que provocaron contracciones sostenidas afectando a su vez el gasto cardíaco.

Los resultados obtenidos permiten concluir que bajas intensidades de ruido inducido en la electro-estimulación conducen al máximo desempeño en la respuesta mecánica. Por otro lado, incrementar la intensidad del ruido reduce la eficacia en la respuesta debido a alteraciones en el acoplamiento eléctrico-mecánico que induce la generación de patrones de sincronización anómalos en corazón aislado y contracciones sostenidas en modelo *in vivo*. Por consiguiente, el ruido juega un papel importante en el análisis y prevención de contracciones anormales en el corazón.

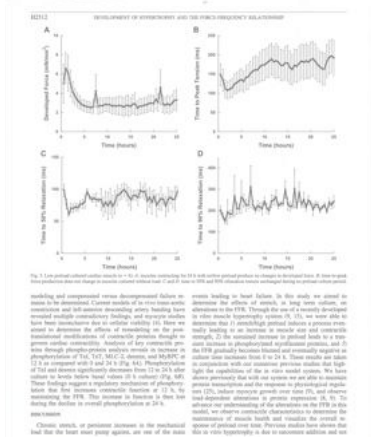
Abstract

Noise is an inherent phenomenon in any biological system. Several researchers have found evidence that noise is not always detrimental in a biological function. This interesting phenomenon termed *stochastic resonance* is defined as a non-linear phenomenon where the addition of a random interference can improve the detection of the information contained in a signal, while other increases in the noise intensity only degrade the capacity of detection of the information contained in the signal.

In this project, the effect of noise on the mechanical response of the heart is studied. The main motivation arises from recent discoveries in the laboratory where, at full organ scale, the addition of white noise in external periodic stimuli on the sinoatrial node increases the bandwidth of 1:1 synchronization in the excitation-contraction coupling in the isolated heart model. Under normal conditions, the presence of the 1:1 pattern of synchronization is an indication of the optimal performance of the heart. However, under pathological conditions, it is not always fulfilled. The results of this study showed evidence of the presence of different abnormal patterns of synchronization in the excitation-contraction coupling due to noise.

On the other hand, since the heart is an organ that is innervated by the autonomic nervous system, the changes in the contractile response are studied in an *in vivo* model where the heart is stimulated from the spinal cord with electrical signals disturbed by Gaussian white noise. At low noise intensities, higher tachycardic increases were observed as well as shorter recovery times, compared with control experiments. However, abnormal sustained contractions are observed due to higher intensities of noise, where the cardiac output was diminished.

The results show that low intensities of noise induced in the electro-stimulation leads to a maximum performance in the mechanical response of the heart. On the other hand, increasing the intensity of noise reduces the efficiency in the cardiac response due to alterations in the excitation-contraction coupling that induces the generation of abnormal patterns of synchronization in the isolated heart model and, on the other hand, sustained contractions in the *in vivo* model. Therefore, noise plays a key role in the analysis and prevention of abnormal contractions in the heart.



Capítulo 1

Introducción

Marco teórico
Antecedentes

Introducción

El mundo vivo está conformado por una interacción continua entre las leyes determinísticas y aleatorias (*Tsimring, 2014*). En el pasado, los biólogos aprendieron a lidiar con las fluctuaciones e incertidumbre proponiendo conclusiones cualitativas a partir de profundas observaciones. Sin embargo, en las últimas tres décadas la situación comenzó a cambiar con el nacimiento de campos emergentes en la biología cuantitativa (*Tsimring, 2014*). Una nueva generación de físicos biológicos, muchos de ellos con experiencia en dinámica no lineal y física estadística empezaron a interesarse en aquellas fluctuaciones, no como una irregularidad que dificulta la interpretación de los experimentos, sino como un interesante fenómeno que valía la pena estudiar. A partir de entonces, investigadores de todo el mundo han encontrado evidencias de que el ruido no siempre es perjudicial para una función biológica ya que la evolución puede sintonizar los sistemas de manera tal que ellos pueden tomar ventaja de estas fluctuaciones estocásticas naturales (*Tsimring, 2014*).

Este trabajo pretende aportar los conocimientos adquiridos (mediante la experimentación) a la literatura enfocada en las repercusiones del papel del ruido en un sistema biológico, particularmente, en un órgano ampliamente estudiado: el corazón. La apuesta principal es que el ruido inducido en el sistema cardiaco repercute en la respuesta mecánica. Para entender qué hay detrás de esta idea, en este capítulo se hará mención de algunos conceptos fisiológicos afines con este sistema y, por otro lado, algunos antecedentes orientados a fundamentar las bases de este estudio. En el Capítulo 2 se explicará con más detalle el planteamiento del problema que da origen a la hipótesis y objetivos (redactados en el Capítulo 3) propuestos para responderla.

Tratar de demostrar experimentalmente el papel del ruido en la respuesta mecánica del corazón no es una tarea sencilla. Siendo este el primer trabajo orientado a estudiar este interesante fenómeno en el corazón, se propusieron dos montajes experimentales. El primero de ellos se explica detalladamente en el Capítulo 4. Se trata del modelo de corazón aislado mediante la técnica de Langendorff, con la cual se logró alterar la ritmicidad del corazón de ratón con trenes de pulsos eléctricos perturbados con ruido y se registró la actividad contráctil del tejido cardiaco. Los resultados son interesantes. Se encontró que ante la presencia de bajas intensidades de ruido, la sincronización 1:1 (un evento eléctrico que induce un evento mecánico, condición normal) se presentó en más ocasiones que en experimentos control. Sin embargo, al incrementar la intensidad de ruido en el estímulo eléctrico se presentaron patrones de sincronización complejos.

Por otro lado, siendo el corazón un órgano inervado por el sistema nervioso autónomo, se propuso investigar también la interacción que existe entre el sistema nervioso simpático y la respuesta mecánica del corazón debida al ruido, en un modelo *in vivo*, cuyo montaje

experimental y resultados se detallan en el Capítulo 5. Se encontró un incremento en el gasto cardiaco debido a la presencia del ruido, comparado con los experimentos control. Sin embargo, altas intensidades de ruido deterioran la conducción eléctrica del corazón, ocasionando contracciones sostenidas que repercuten en la cantidad de sangre que es eyectada del corazón tras un evento sistólico.

La discusión de los resultados arrojados por ambos montajes experimentales y las conclusiones se encuentra en los Capítulos 6 y 7, respectivamente. Las limitaciones del estudio así como las perspectivas propuestas se encuentran redactadas en el Capítulo 8. Todas las referencias de este trabajo se encuentran en listadas en el Capítulo 9 y todos los materiales suplementarios en el Capítulo 10.

Se define a la resonancia estocástica como un fenómeno no lineal en la cual la adición de una interferencia aleatoria puede mejorar el desempeño de un sistema. Este fenómeno es ubicuo y conspicuo compatible con diversos sistemas biológicos excitables (*Moss et al, 2004*). No obstante, la evidencia disponible en la literatura sugiere una interpretación cautelosa de los resultados, pero justifica el desarrollo de la investigación del ruido en sistemas biológicos y alienta a las nuevas generaciones a investigar más este interesante fenómeno.

1.1 Marco teórico

1.1.1 Ruido en sistemas biológicos

De acuerdo a la definición que se encuentra en el Diccionario Oxford de la Lengua Inglesa, *ruido* se define como (Faisal et al, 2008):

“Todas aquellas fluctuaciones o perturbaciones aleatorias o irregulares que no son parte de una señal...”

De forma más general, ruido es

“...cualquier distorsión o adición que interfiera con la respuesta de un sistema.”

Ahora bien, tratando de converger esta amplia percepción de *ruido* a los sistemas biológicos, se debe hacer mención de una verdad universal: en biología, el ruido permea en todos los niveles, desde los procesos moleculares más elementales, hasta la dinámica de tejidos, órganos, organismos y poblaciones. Incluso en aquellos casos en los cuales las mediciones a nivel poblacional son regulares y reproducibles, las mediciones a nivel celular usualmente presentan un heterogeneidad significativa (Rao et al, 2002). Aún más, estas observaciones sugieren que los eventos moleculares subyacentes a la fisiología celular están sujetos a fluctuaciones y han llevado a la propuesta de un modelo estocástico para la expresión génica y bioquímica en general (Rao et al, 2002). Son precisamente todas estas interacciones bioquímicas que por su naturaleza altamente aleatoria las que definen al ruido en un sistema biológico.

1.1.2 Resonancia estocástica

La presencia de ruido en los sistemas biológicos no fue motivo de asombro para los biólogos. Desde que pudieron hacer registros de un fenómeno biológico con el desarrollo de aparatos de medición pudieron percatarse de ciertas irregularidades en los registros. Por más sofisticado que sea el equipo de medición, siempre van a existir fluctuaciones en el resultado. Indiferentes a la fenomenología que había detrás de estas fluctuaciones, de sus observaciones pudieron arrojar conclusiones “a pesar” del ruido presente. No fue sino hasta la década de los 80’s cuando científicos en el área de la neurología comenzaron a preguntarse qué papel juega la presencia del ruido en un sistema biológico y aún más importante, pudieron cuantificar ese fenómeno.

El ruido se encuentra presente en todos los sistemas biológicos, ya sea en los sistemas *per sé* o en el medio que los rodea y en algunos casos se ha observado que este ruido a bajas proporciones altera la respuesta de sistemas no lineales, aumentando su desempeño (McDonnell & Abbott, 2009). La terminología empleada para explicar esto es *resonancia*

estocástica, la cual se define como un fenómeno no lineal en donde la adición de una interferencia aleatoria (universalmente conocida como “variabilidad” ó “ruido”) puede mejorar la detección de información contenida en una señal (Moss *et al*, 2004). Una cantidad óptima de ruido inducido da como consecuencia el máximo desempeño en la respuesta, mientras que otros incrementos en la intensidad de ruido sólo degradan la capacidad de detección de la información contenida (McDonnell & Abbott, 2009) (Figura 1.1). Dicho con otras palabras, la resonancia estocástica es la cantidad adecuada de aleatoriedad que hace a la no linealidad menos perjudicial a una señal (Moss *et al*, 2004). Este fenómeno no ocurre estrictamente en sistemas lineales, en donde la adición de ruido, ya sea al mismo sistema o bien al estímulo, sólo degrada la calidad de las mediciones en la respuesta (Benzi *et al*, 1981; Wlesefeld & Moss, 1995).

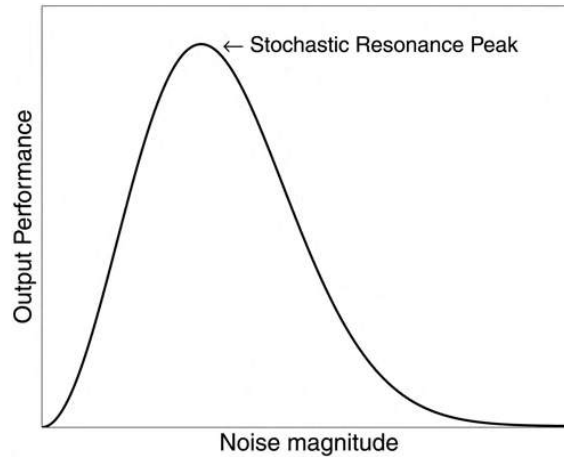


Figura 1.1 Curva típica de resonancia estocástica (McDonnell & Abbott, 2009). El máximo desempeño en la respuesta de un sistema biológico se obtiene debido a la presencia de bajas intensidades de ruido. No obstante, altas intensidades de ruido únicamente degradan el desempeño del sistema.

Si bien este fenómeno ha sido ampliamente estudiado en modelos de células autoexcitables como neuronas (Moss *et al*, 2004) en donde la presencia de ruido incrementa la cantidad de disparos (y por ende una mayor actividad neuronal), este principio también puede aplicarse a otro modelo biológico conformado por células excitables: el corazón.

1.1.3 Corazón

El corazón es un órgano cuyo constituyente principal es el tejido muscular (miocardio) el cual consta de células alargadas unidas en puntos específicos conocidos como *sincitios* de manera tal que cuando el corazón se contrae lo hace como si fuera una sola unidad, desempeñando dos funciones principales: proveer de oxígeno y nutrientes a todas las células del organismo a través de la sangre y la de recolectar el dióxido de carbono que estas arrojan y liberarlo a la atmósfera mediante el sistema respiratorio (Conti, 2010). Por este motivo, el corazón es comúnmente homologado como una bomba.

Fisiología del corazón

En la Figura 1.2 se muestra un diagrama de la anatomía del corazón, el cual está dividido en dos estructuras principales (Guyton & Hall, 2006). Cada una de estas estructuras es una bomba bicameral pulsátil formada por una aurícula y un ventrículo. Cada una de las aurículas es una bomba débil de cebado del ventrículo, que contribuye a transportar sangre hacia el ventrículo correspondiente. Los ventrículos después aportan la principal fuerza del bombeo que impulsa la sangre hacia la circulación pulmonar por el ventrículo derecho o hacia la circulación periférica por el ventrículo izquierdo.

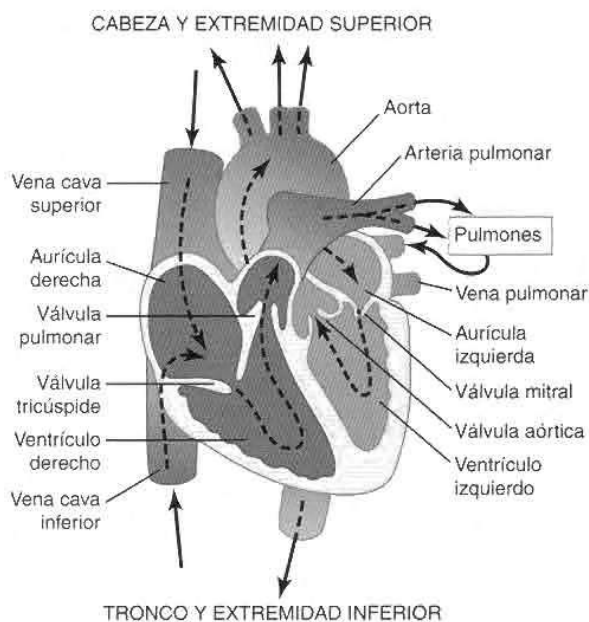


Figura 1.2 Estructura del corazón y trayecto del flujo sanguíneo a través de las cavidades y válvulas cardiacas (Guyton & Hall, 2006). El corazón es usualmente homologado como dos bombas que proveen sangre a la circulación pulmonar y a la circulación sistémica.

Músculo cardiaco

El corazón está formado por tres tipos principales de músculo cardiaco: músculo auricular, músculo ventricular y fibras musculares especializadas de excitación y de conducción. Los músculos auricular y ventricular se contraen de manera muy similar al músculo esquelético, excepto que la duración de la contracción es mucho mayor. Por el contrario, las fibras especializadas de excitación y de conducción se contraen sólo débilmente porque contienen pocas fibras contráctiles; en cambio, presentan descargas eléctricas rítmicas automáticas en forma de potenciales de acción que se propagan por todo el corazón, formando así un sistema excitador que controla el latido rítmico cardiaco.

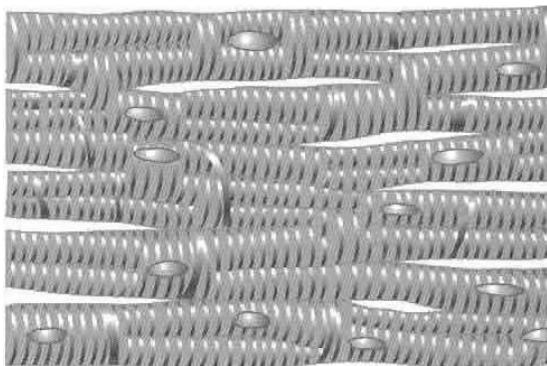


Figura 1.3. Naturaleza interconectada “sincitial” de las fibras del músculo cardiaco (Guyton & Hall, 2006). Debido a las conexiones (*gap junctions*) que existen entre las células, éstas se comportan como si fueran una sola unidad.

La Figura 1.3 muestra una representación histológica típica del músculo cardiaco, donde se representan las fibras musculares cardíacas, de modo que las fibras se dividen, se vuelven a combinar y se separan de nuevo (Guyton & Hall, 2006). Se puede observar que el músculo cardiaco es estriado y que tiene las miofibrillas típicas que contienen filamentos de actina y miosina igual que el músculo esquelético. Sin embargo, las zonas oscuras que atraviesan las fibras musculares cardíacas (denominadas discos intercalados) realmente son membranas celulares que separan las células musculares cardíacas individuales entre sí; es decir, las fibras musculares cardíacas están formadas por muchas células individuales interconectadas en serie y en paralelo. En cada uno de los discos intercalados las membranas celulares se fusionan de manera tal que forman uniones comunicantes permeables que permiten una difusión de iones casi totalmente libre, de modo que los potenciales de acción viajan fácilmente desde una célula muscular cardíaca a la siguiente. Por tanto, el músculo cardiaco es un *sincitio* de muchas células cardíacas y cuando una de ellas se excita, el potencial de acción se propaga a todas.

1.1.4. Actividad Eléctrica del Corazón

El corazón está dotado de un sistema especial para generar impulsos eléctricos rítmicos (y así producir la contracción rítmica del músculo cardiaco) y conducir estos estímulos rápidamente por toda la fibra cardíaca. El proceso de activación de la musculatura cardíaca tiene su origen en las células especializadas del tejido de conducción conocido como *nodo sinoauricular* (nodo SA) que, gracias a la intensa presencia de una conductancia de membrana específica (canales de corriente marcapaso), se despolarizan en reposo hasta alcanzar el umbral de disparo del potencial de acción y entonces descargan de manera automática y rítmica.

Las características de la actividad eléctrica cardíaca determinan tanto la frecuencia cardíaca como la velocidad de propagación del impulso, así como el retardo de propagación del impulso entre aurícula y ventrículo, la duración de la despolarización y, en consecuencia, el ingreso de

calcio (Ca^{2+}), la intensidad, velocidad y duración de la contracción muscular. La regulación de la corriente marcapaso (I_f) y la modulación de la actividad de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje representan la principal influencia de estas características eléctricas. Los niveles de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), como consecuencia de la activación de los sistemas simpático y parasimpático, controlan ambos procesos. Sin embargo, los controles hormonal (adrenalina) y nervioso (noradrenalina por los nervios cardiacos, acetilcolina por el nervio vago) intervienen para regular la ritmicidad.

Características de la actividad eléctrica de las células cardiacas

El sistema de generación y propagación del impulso eléctrico en el corazón (Figura 1.4) está constituido por cuatro etapas (Conti, 2010):

1. *Nodo sinoauricular (nodo SA)*, cuyas células tienen destacada actividad marcapaso y establecen el ritmo de la contracción cardiaca.
2. *Nodo auriculoventricular (nodo AV)*, caracterizado por la propagación muy lenta del impulso y cuyas células poseen también una relevante actividad marcapaso de manera que, en caso de la ausencia del impulso en el nodo SA, éste es capaz de mantener una contracción rítmica y funcionalmente eficaz del ventrículo.
3. *Fascículo de His* (también conocido como *Haz de His*), atraviesa el tabique auriculoventricular y se divide en dos ramas del sistema de conducción ventricular y termina en las fibras de Purkinje.
4. *Fibras de Purkinje*, caracterizadas por la escasa actividad marcapaso y rápida velocidad de propagación del impulso.

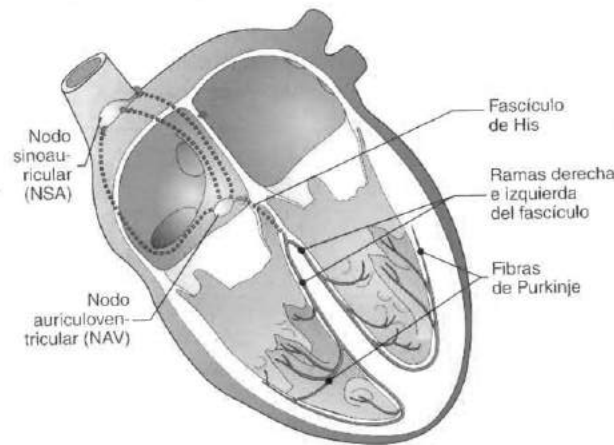


Figura 1.4. Representación esquemática de la organización del tejido de conducción de la actividad eléctrica del corazón (Guyton & Hall, 2006). El corazón consta básicamente de cuatro marcapasos que estabilizan su ritmicidad, sin embargo, es el nodo SA el que, por su naturaleza más rápida, domina sobre los otros tres.

Potencial de Acción Cardíaco

La actividad eléctrica de las células cardíacas es más compleja respecto a otras células excitables como las neuronas y las fibras musculares esqueléticas, ya que manifiestan un notable número de conductancias dependientes del voltaje, con características cinéticas variadas que permiten a la célula misma dar lugar a variaciones del potencial de membrana como consecuencia de la activación de los distintos canales iónicos, generando potenciales de acción de formas muy distintas y con diferentes consecuencias funcionales (Conti, 2010).

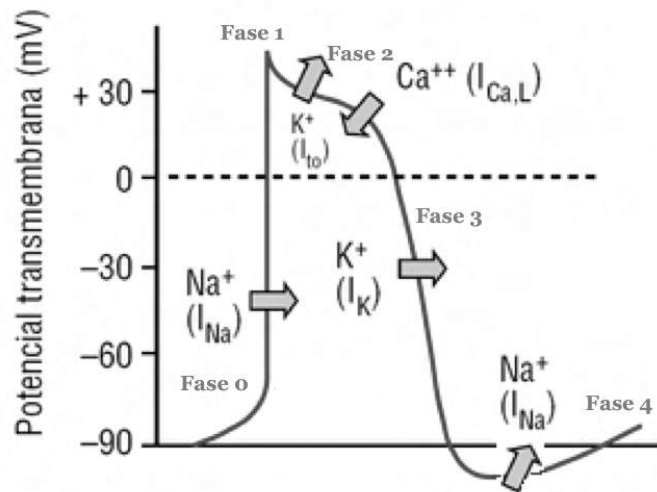


Figura 1.5. Fases del potencial de acción cardíaco (modificado de Guyton & Hall, 2006). El potencial de acción cardíaco ventricular es un cambio súbito en el potencial de membrana y su posterior restablecimiento, debido al flujo continuo de iones entrando y saliendo de la célula.

El potencial de acción que se registra en una fibra muscular ventricular tiene una amplitud promedio de 120mV (pico a pico) aproximadamente, lo que significa que el potencial intracelular aumenta desde un valor muy negativo (-85mV) hasta un valor positivo (+35mV) durante cada latido (Guyton & Hall, 2006). Esquemáticamente, en la descripción del potencial de acción cardíaco se distinguen cinco fases: despolarización rápida, repolarización parcial lenta, meseta, repolarización rápida e hiperpolarización, como se muestra en la Figura 1.5.

1. *Despolarización Rápida (Fase 0).* En respuesta a la superación del umbral (-75mV) por la apertura de canales de sodio (Na^+), esta fase es sostenida por la intensa corriente de Na^+ y es autolimitante, como sucede en las neuronas, por la vía de inactivación rápida de los mismos canales. Esta fase sólo se presenta en células cardíacas que muestran significativos niveles de conductancia de Na^+ y se conocen como células veloces.
2. *Repolarización parcial lenta (Fase 1).* Está determinada por la concomitancia de la inactivación de los canales de Na^+ con una activación transitoria de una corriente de potasio (K^+), también conocida como corriente de salida transitoria.

3. *Meseta (Fase 2)*. Está determinada por la activación de las conductancias de Ca^{2+} dependientes de voltaje que generan una corriente de entrada lenta, contrabalanceadas por la activación también lenta y hacia el exterior de la célula de las conductancias de K^{+} dependientes del voltaje; es decir, se produce un equilibrio relativamente prolongado entre las conductancias de Ca^{2+} que tienden a depolarizar la membrana, y las conductancias de K^{+} que en cambio tienden a repolarizarla.
4. *Repolarización rápida (Fase 3)*. Se lleva a cabo cuando, por la gradual inactivación de las conductancias de Ca^{2+} y contrapuesta por el aumento gradual de las corrientes de K^{+} , la situación de equilibrio momentáneo da lugar a un proceso de repolarización rápida.
5. *Hiperpolarización (Fase 4)*. Según el grado de expresión de una conductancia catiónica conocida como corriente marcapaso (I_f), de los niveles de potencial alcanzados por la repolarización y de la eventual modulación del proceso por parte de cAMP, la célula puede mostrar una gradual depolarización relativamente marcada que puede alcanzar el umbral y determinar el inicio de un nuevo potencial de acción, principalmente debida a una corriente entrante de Na^{+} .

1.1.5. Actividad Mecánica del Corazón

Como respuesta a un impulso eléctrico se tiene una respuesta mecánica en la cual dependiendo de la ritmicidad impuesta por el marcapasos, el corazón se contrae. Por este motivo, la activación de la contracción cardiaca no se debe a la acción de los nervios motores sino que es determinada por la producción rítmica de potenciales de acción en la zona marcapaso del tejido cardiaco. Desde aquí, los potenciales de acción abarcan todo el miocardio de forma sincronizada a través de las uniones celulares y del sistema de conducción. Sin embargo, el sistema nervioso autónomo es capaz de regular la frecuencia cardiaca. Si la frecuencia aumenta, la duración del potencial de acción disminuye, pero ya que la duración de la descarga eléctrica disminuye de manera simultánea, la imposibilidad de sumar descargas se preserva por sí misma.

Acoplamiento excitación-contracción

El término “acoplamiento excitación-contracción” se refiere al mecanismo mediante el cual el potencial de acción hace que el músculo cardiaco se contraiga. Los mecanismos que determinan la contracción cardiaca después de la activación eléctrica son los mismos del músculo esquelético: el aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular, la unión de Ca^{2+} con las fibras de los sarcómeros (contracción) y su final expulsión de la célula (relajación). Sin embargo, el aumento de Ca^{2+} intracelular necesario para la activación de las proteínas contráctiles se obtiene por mecanismos que difieren de los del músculo esquelético, como se menciona a continuación.

Liberación de calcio inducida por calcio (CICR)

Durante el potencial de acción, particularmente durante la fase de la meseta, el Ca^{2+} exterior entra en la célula a través de los canales de calcio dependientes de voltaje tipo L que se encuentran en la membrana plasmática. Esta entrada de Ca^{2+} por sí sola no es suficiente para

activar el mecanismo contráctil, empero provoca la liberación de una mayor cantidad de Ca^{2+} de los sitios de acumulación del retículo sarcoplasmático al activarse los receptores cardiacos de rianodina (RyR-2) por lo cual el Ca^{2+} intracelular alcanza la concentración necesaria para la contracción, como se muestra en la Figura 1.6 (Conti, 2010).

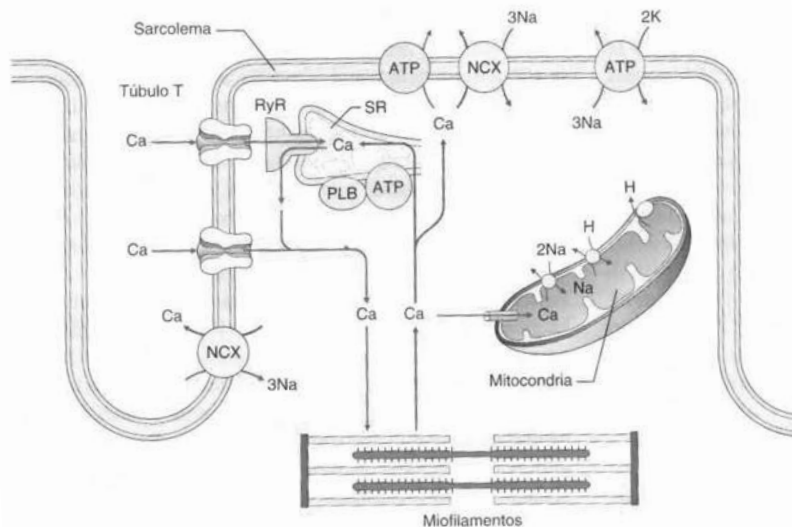


Figura 1.6. Mecanismos de liberación de calcio por calcio inducido (Conti, 2010). El calcio en el citoplasma disponible para unirse a sarcómeros e inducir una contracción cardíaca depende de la liberación de calcio almacenado en el retículo sarcoplasmático, debido a la entrada de calcio a la célula.

La posterior relajación se lleva a cabo cuando se da el cierre de los canales RyR-2 y con la rápida remoción de Ca^{2+} citoplasmático producida por la acción simultánea de la bomba ATP-asa de Ca^{2+} (bomba SERCA) que vuelve a acumular Ca^{2+} en el retículo sarcoplasmático, y del intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX), que expelle el calcio al medio extracelular. A éstos se suma un pequeño efecto debido a la bomba citoplasmática de Ca^{2+} (PMCA). El Ca^{2+} también se acumula en las mitocondrias, pero este mecanismo tiene efectos intrascendentes en el tiempo que transcurre entre un latido y otro. En condiciones normales, el Ca^{2+} que se recupera y el que la célula expulsa durante la relajación equivale exactamente al que ingresa del exterior más el que libera el retículo durante la activación, de modo que al final de cada ciclo de contracción-relajación la cantidad de Ca^{2+} libre en el citoplasma es siempre la misma.

Ley de Frank- Starling para la contracción cardíaca

Establece que el corazón posee una capacidad intrínseca de adaptarse a volúmenes crecientes de flujo sanguíneo, es decir, cuanto más se llena de sangre un ventrículo durante la diástole, mayor será el volumen de sangre expulsado durante la subsecuente contracción sistólica (Conti, 2010). Esto significa que la fuerza de contracción aumentará a medida que el corazón es llenado con mayor volumen de sangre y ello es consecuencia directa del efecto que tiene el incremento de carga sobre la fibra muscular.

Gasto cardiaco

El gasto cardiaco es la cantidad de sangre que cada uno de los dos ventrículos bombea durante un minuto en las respectivas arterias. Este se deriva del producto de la frecuencia cardiaca (número de latidos por minuto) por el volumen sistólico (cantidad de sangre expulsada por cada latido). Ambos parámetros pueden ser regulados por el sistema nervioso autónomo.

1.1.6. Frecuencia Cardiaca

En condiciones de reposo normales, el corazón tiene una frecuencia cardiaca basal promedio de 60 latidos por minuto (lpm) en humanos. Sin embargo, la frecuencia cardiaca también depende de la actividad que el sistema nervioso simpático y parasimpático ejercen sobre el corazón, como se muestra en la Figura 1.7 (Guyton & Hall, 2006). Para niveles dados de presión auricular de entrada, la cantidad de sangre que se bombea cada minuto (gasto cardiaco) usualmente se puede aumentar más de un 100% por la estimulación simpática. Por el contrario, el gasto se puede disminuir hasta un valor tan bajo como cero o casi cero por la estimulación vagal (parasimpática). Los nervios parasimpáticos se distribuyen principalmente en los nodos SA y AV, en mucho menor grado al músculo de las dos aurículas y muy poco directamente al músculo ventricular. Por el contrario, los nervios simpáticos se distribuyen en todas las regiones del corazón, con una intensa inervación en el músculo ventricular.

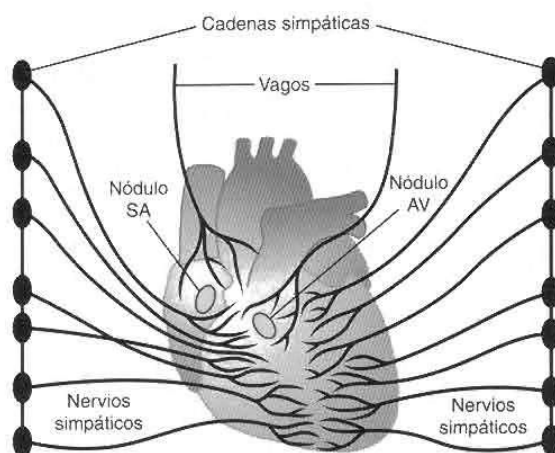


Figura 1.7. Nervios simpáticos y parasimpáticos cardiacos (Guyton & Hall, 2006). La ritmicidad del corazón puede alterarse debido a una perturbación externa por parte del sistema nervioso simpático y parasimpático. Los nervios simpáticos inervan tanto al nodo SA, nodo AV, así como a la zona ventricular, mientras que el nervio vago (parasimpático) inerva únicamente a los nodos SA y AV.

Mecanismos de excitación del corazón por los nervios simpáticos

La estimulación simpática intensa puede aumentar la frecuencia cardiaca en seres humanos adultos desde la frecuencia basal de 60 lpm hasta 180 lpm y raras veces incluso a 250 lpm. Además, la estimulación simpática aumenta la fuerza de contracción cardiaca hasta el doble de lo normal, aumentando de esta manera el volumen de sangre que se bombea y aumentando a su vez la presión de eyección.

Por el contrario, la inhibición de los nervios simpáticos que inervan al corazón puede disminuir la función de bomba del corazón en un grado moderado de la siguiente manera: en condiciones normales, las fibras nerviosas simpáticas que llegan al corazón descargan continuamente a una frecuencia baja que mantiene el bombeo aproximadamente un 30% por encima del que habría sin estimulación simpática. Por lo tanto, cuando la actividad del sistema nervioso simpático disminuye por debajo de lo normal, este fenómeno produce reducción tanto de la frecuencia cardiaca como de la fuerza de contracción del músculo ventricular, reduciendo de esta manera el nivel de bombeo cardiaco hasta en 30% por debajo de lo normal.

Estimulación parasimpática (vagal) del corazón

La estimulación intensa de las fibras nerviosas parasimpáticas de los nervios vagos que llegan al corazón puede interrumpir el latido cardiaco durante algunos segundos e inmediatamente después el corazón habitualmente late a una frecuencia de 20 a 40 lpm mientras continúe la estimulación parasimpática. Además, la estimulación vagal intensa puede reducir la fuerza de contracción del músculo cardiaco entre 20 y 30% (*Guyton & Hall, 2006*).

Las fibras vagales se distribuyen principalmente por las aurículas en comparación de los ventrículos, en los cuales se produce la contracción del corazón. Esto explica el efecto de la estimulación vagal sobre la reducción de la frecuencia cardiaca y combinada con una ligera reducción de la fuerza de contracción, puede reducir el bombeo ventricular en un 50% o más.

1.1.7. Arritmias cardiacas y Fibrilación Ventricular

Algunos de los tipos más alarmantes de alteraciones de la función cardiaca se producen, no como consecuencia del daño en un músculo cardiaco, sino por un ritmo cardiaco anómalo debido a una ritmicidad anormal del marcapasos. Una arritmia es un trastorno de la frecuencia cardiaca, ya sea por latidos demasiado rápidos, demasiado lentos o bien con un patrón irregular.

Taquicardia

El término *taquicardia* significa frecuencia cardiaca rápida, que habitualmente se define en una persona adulta como más de 100 lpm. Las causas generales de taquicardia incluyen aumento en

la temperatura corporal, estimulación del corazón por los nervios simpáticos y enfermedades tóxicas del corazón.

Bradycardia

El término *bradycardia* se refiere a una frecuencia cardiaca lenta, que en promedio se define como menos de 60 lpm. Cualquier reflejo circulatorio que estimule los nervios vagos produce liberación de acetilcolina en las terminaciones vagales del corazón, dando lugar de esta manera a un efecto parasimpático.

Fibrilación Ventricular

La arritmia cardiaca más grave es la fibrilación ventricular ya que si no es interrumpida en un plazo máximo de cinco minutos, es casi invariablemente mortal. Este fenómeno se debe a estímulos eléctricos que se producen de manera errática en el interior de la masa muscular ventricular, ocasionando que algunas porciones del mismo músculo se contraigan al mismo tiempo mientras que otras se relajan, impidiendo que se lleve a cabo una contracción coordinada de todo el músculo, la cual es necesaria para un correcto ciclo de bombeo. Múltiples factores pueden desencadenar el inicio de una fibrilación ventricular, algunos de ellos son (*Guyton & Hall, 2006*):

1. Ritmicidad anormal del marcapasos.
2. Choque eléctrico súbito del corazón.
3. Isquemia del músculo cardiaco, de su sistema especializado de conducción o de ambos.
4. Vías anormales de transmisión del impulso a través del corazón.

1.1.8 Electrocardiograma (ECG)

Cuando el impulso cardiaco atraviesa el corazón, la corriente eléctrica también se propaga desde el corazón hacia los tejidos adyacentes que lo rodean. Una pequeña parte de la corriente se propaga hacia la superficie corporal. Si se colocan electrodos en la piel en lados opuestos del corazón se pueden registrar los potenciales eléctricos que se generan por la corriente. Este registro se conoce como electrocardiograma (*Guyton & Hall, 2006*).

Un registro de un electrocardiograma normal se muestra en la Figura 1.8. Este registro está conformado por una serie de deflexiones positivas y negativas con respecto a una línea isoeletrica: una onda P, un complejo QRS y una onda T.

La onda P es producida por los potenciales eléctricos que se generan cuando se despolarizan las aurículas antes del comienzo de la contracción auricular. El complejo QRS está formado por los potenciales que se generan cuando se despolarizan los ventrículos antes de su contracción, es

decir, a medida que la onda de despolarización se propaga por los ventrículos. Por la tanto, tanto la onda P como los componentes del complejo QRS son las ondas de despolarización. La onda T es producida por los potenciales que se generan cuando los ventrículos se recuperan del estado de despolarización. La onda T se conoce, entonces, como onda de repolarización. Así, el electrocardiograma está formado por ondas tanto de despolarización como de repolarización.

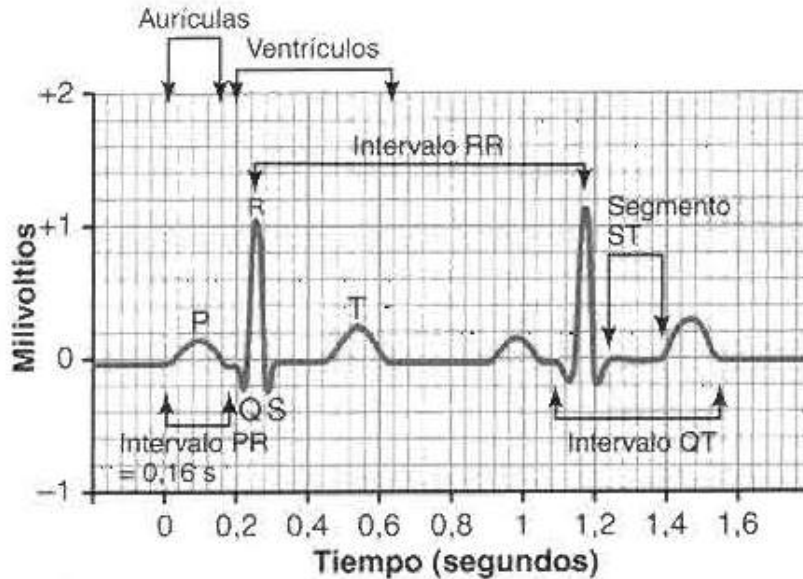


Figura 1.8. Electrocardiograma normal (Guyton & Hall, 2006). Un electrocardiograma es la representación gráfica de la actividad eléctrica del corazón. Está conformado por reflexiones positivas y negativas con respecto a una línea isoeletrica.

El tiempo que transcurre entre el comienzo de la onda P y el comienzo del complejo QRS es el intervalo que hay entre el inicio de la excitación eléctrica de las aurículas y el inicio de la excitación de los ventrículos. Este periodo se denomina intervalo PR. La contracción del ventrículo dura casi desde el comienzo de la onda Q hasta el final de la onda T. Este intervalo se denomina intervalo QT. Entonces, por simplicidad, se puede analizar la actividad eléctrica del corazón en dos eventos importantes, el evento auricular (intervalo PR) y el evento ventricular (intervalo QT). Una alteración del electrocardiograma normal está relacionado con una patología cardíaca.

Determinación de la frecuencia cardíaca a partir del electrocardiograma

La frecuencia del latido cardíaco se puede determinar fácilmente a partir del electrocardiograma porque la frecuencia cardíaca es el recíproco del intervalo de tiempo entre dos latidos cardíacos sucesivos. Si el intervalo entre dos latidos es de un segundo, la frecuencia cardíaca es de 60 lpm.

Interrelación entre ECG y potencial de acción cardiaco

La imagen de la Figura 1.5 representa la actividad de eléctrica de una célula excitable cardiaca mientras que la Figura 1.8 representa la actividad eléctrica de todo el tejido cardiaco. Para analizar anomalías en el ECG asociadas a una alteración en el flujo iónico a nivel celular, existe una interrelación entre esas dos escalas de fenomenología eléctrica, que se muestra en la Figura 1.9. Dependiendo de la región de análisis, se observa que existe una interrelación entre el potencial de acción y el ECG. Por ejemplo, la repolarización ventricular depende de los flujos de repolarización asociados a potasio y a calcio.

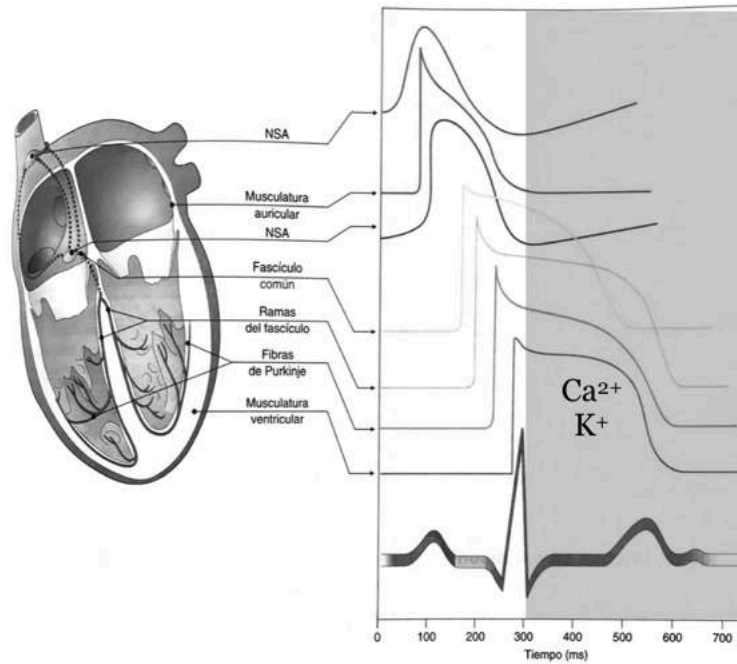


Figura 1.9 Interrelación entre el potencial de acción cardiaco y el ECG (Conti, 2010). Es posible explicar anomalías en un ECG en términos de las corrientes iónicas que hay detrás en la generación de un potencial de acción cardiaco. En el caso de la repolarización ventricular, al analizar el potencial de acción de una célula ventricular se observa que la onda T depende de las corrientes iónicas de potasio y calcio.

1.1.9 Inervación del corazón por el sistema nervioso autónomo

Anteriormente se explicó cómo el sistema nervioso autónomo altera la ritmicidad (cronotropismo) y fuerza de contracción (inotropismo) del corazón. A continuación se explica más a detalle esta fenomenología.

Sistema nervioso

La unidad fundamental del sistema nervioso son las neuronas, las cuales son células especializadas en la recepción y generación de señales eléctricas (Guyton & Hall, 2006). Tienen cuatro dominios funcionales: *soma*, que es el cuerpo principal de la neurona, el único *axón*, que

se extiende desde el soma hacia un nervio periférico para abandonar la médula espinal, las *dendritas* que constituyen una gran cantidad de prolongaciones ramificadas del soma y las *terminales presinápticas*, en donde se da la comunicación con otra neurona (Figura 1.10).

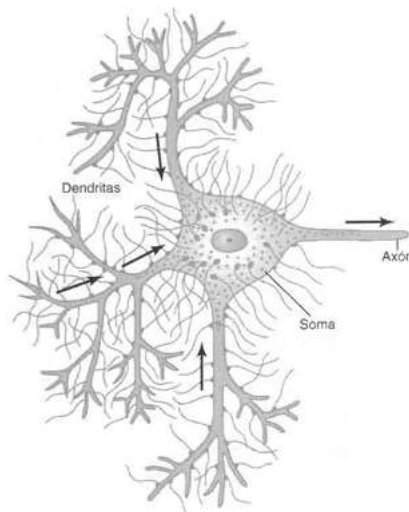


Figura 1.10. Neurona (Guyton & Hall, 2006). La unidad fundamental del sistema nervioso es la neurona. Está conformada por un cuerpo celular (soma), una prolongación alargada (axón), así como por zonas de interacción con otras neuronas (dendritas).

Potencial de acción nervioso

Las señales nerviosas se transmiten mediante potenciales de acción que son rápidos cambios del potencial de membrana que se extienden rápidamente a lo largo de la membrana de la fibra nerviosa. Cada potencial de acción comienza con un cambio súbito desde el potencial de membrana negativo en reposo normal hasta un potencial positivo y después termina con un cambio casi igual de rápido de nuevo hasta el potencial negativo. Para conducir una señal nerviosa, el potencial de acción se desplaza a lo largo de la fibra nerviosa hasta que llega al extremo de la misma. En la Figura 1.11 se muestran gráficamente los cambios sucesivos del potencial de membrana durante unas pocas diezmilésimas de segundo, ilustrando el inicio explosivo del potencial de acción y la recuperación, que es casi igual de rápida.

Refiérase, por favor, al potencial de acción cardiaco en la Figura 1.5 para observar que la principal diferencia entre los dos tipos de actividad eléctrica radica en su duración. Los potenciales de acción neuronales constan básicamente de tres fases:

1. *Fase de reposo.* Éste es el potencial de membrana en reposo antes del comienzo del potencial de acción. Se dice que la membrana está polarizada durante esta fase debido al potencial de membrana negativo de -90mV .
2. *Fase de despolarización.* En este momento la membrana se hace muy permeable a los iones sodio, lo que permite que un número muy grande de iones sodio con carga positiva difunda hacia el interior del axón. El estado polarizado normal de -90mV se neutraliza

inmediatamente por la entrada de sodio y el potencial aumenta rápidamente en dirección positiva.

3. *Fase de repolarización.* En un plazo de algunas diezmilésimas de segundo después de que la membrana se haya hecho muy permeable a iones sodio, los canales de sodio comienzan a cerrarse y los canales de potasio dependientes de voltaje se abren más de lo normal. De esta manera, la rápida difusión de iones potasio hacia el exterior de la célula restablece el potencial de membrana en reposo negativo normal.

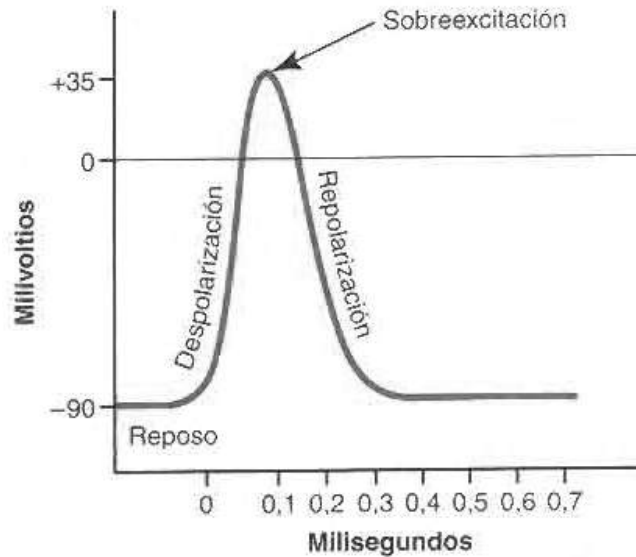


Figura 1.11 Potencial de acción nervioso (Guyton & Hall, 2006). El potencial de acción nervioso es un cambio abrupto en el potencial de membrana (y su posterior restablecimiento) de corta duración en una neurona, debido a un flujo de iones sodio y potasio.

Entonces, los potenciales de acción neuronales dependen únicamente de la dinámica de iones sodio y potasio. Además, los potenciales de acción neuronales no presentan la característica de automatismo, propias de las células cardiacas, que inducen a una autoexcitabilidad.

Umbral para el inicio del potencial de acción

No se producirá un potencial de acción hasta que el aumento inicial del potencial de membrana sea lo suficientemente grande como dar origen a una apertura súbita de canales sodio activados por el voltaje. Esto se produce cuando el número de iones sodio que entran en la fibra supera al número de iones potasio que salen de la misma. Habitualmente es necesario un aumento súbito del potencial de membrana de 15 a 30mV. Por lo tanto, un aumento del potencial de membrana en una fibra nerviosa grande desde -90mV hasta aproximadamente -65mV habitualmente da lugar a la aparición de un potencial de acción. Se dice que este nivel de -65mV es el *umbral* para la estimulación (Figura 1.12). Todos los cambios en el potencial de membrana que no superen el umbral de detección, se denominan potenciales subliminales agudos.

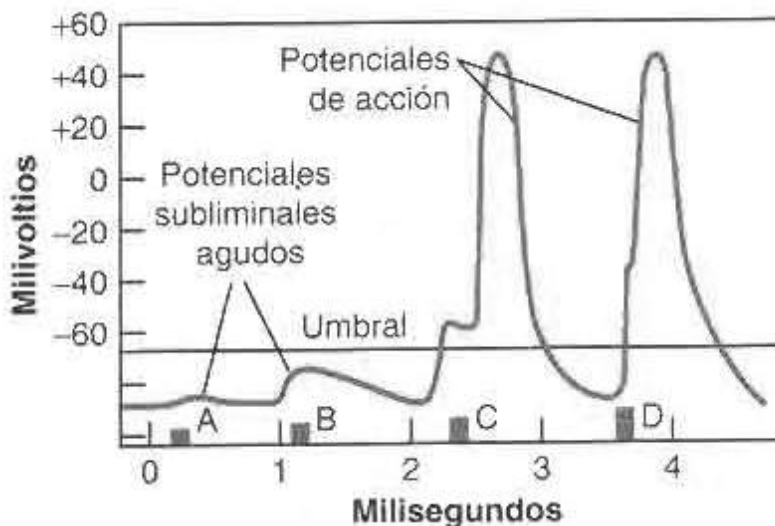


Figura 1.12. Umbral para el inicio del potencial de acción (Guyton & Hall, 2006). Una perturbación en el potencial de membrana neuronal debe ser lo suficientemente fuerte para superar un umbral de detección y desencadenar un potencial de acción. Aquellos cambios en el potencial de membrana que no superan el umbral de detección son considerados como potenciales subliminales agudos.

Una vez que se ha originado un potencial de acción en cualquier punto de la membrana de una fibra nerviosa, el proceso de despolarización viaja por toda la membrana si las condiciones son las adecuadas, o no viaja en absoluto si no lo son. Esto se denomina *principio del todo o nada* y se aplica a todos los tejidos excitables.

Sinapsis química neuronal

La información recorre el sistema nervioso bajo la forma de potenciales de acción nerviosos, llamados simplemente *impulsos nerviosos*, a través de una sucesión de neuronas, una después de la otra. La *sinapsis* es el punto de unión de una neurona con la siguiente o bien, la unión entre una neurona con un órgano objetivo. Casi todas las sinapsis utilizadas para la transmisión de señales en el sistema nervioso central son sinapsis químicas. En ellas, la primera neurona segrega un producto químico denominado *neurotransmisor* a nivel de la terminación nerviosa, que a su vez actúa sobre las proteínas receptoras (también llamados *receptores*) presentes en la membrana de la neurona siguiente para excitarla, inhibirla ó modificar su sensibilidad.

Las sinapsis químicas poseen una característica sumamente importante: siempre conducen las señales en un solo sentido, es decir, la neurona que segrega la sustancia transmisora, denominada *neurona presináptica*, hasta la neurona sobre la que actúa el neurotransmisor (*neurona postsináptica*). Es debido a esta unidireccionalidad que es posible enviar señales eléctricas dirigidas hacia objetivos específicos.

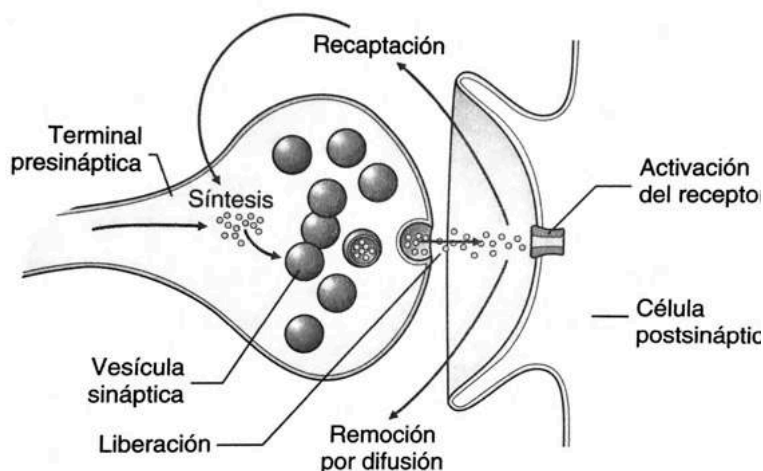


Figura 1.13. Sinapsis química (Conti, 2010). El proceso de comunicación entre neuronas se da a través de una sinapsis, que consta de la liberación de neurotransmisores desde la neurona presináptica al espacio existente entre dos neuronas y posteriormente la unión de éstos a receptores localizados en la membrana de la neurona efectora.

En la Figura 1.13 se ejemplifican los procesos que hay detrás de una sinapsis química. Estos procesos involucran la síntesis del neurotransmisor, el proceso de liberación hacia la hendidura sináptica (espacio entre dos neuronas), la unión del neurotransmisor con un receptor en la terminal postsináptica y el proceso de remoción del neurotransmisor de la hendidura. A continuación se explican más a detalle estos procesos.

La Figura 1.13 ofrece la estructura básica de una sinapsis con solamente una terminal presináptica emplazada sobre la superficie de la membrana de una neurona postsináptica. La terminal está separada del soma neuronal postsináptico por una hendidura sináptica cuya anchura suele medir de 200 a 300 Angstroms (Guyton & Hall, 2006). En esta estructura existen dos estructuras internas de importancia para la función excitatoria o inhibitoria de la sinapsis: las vesículas transmisoras y las mitocondrias. Las vesículas transmisoras contienen los transmisores que, cuando se liberan a la hendidura sináptica, excita o inhibe la neurona postsináptica (excita si la membrana neuronal posee receptores excitadores e inhibe si tiene receptores inhibidores). Las mitocondrias aportan trifosfato de adenosina (ATP), que a su vez suministra energía para sintetizar más neurotransmisores.

Cuando se propaga un potencial de acción hacia una terminal presináptica, la despolarización de su membrana hace que una pequeña cantidad de vesículas viertan su contenido hacia la hendidura. Por su parte, el neurotransmisor liberado provoca un aumento inmediato en las características de permeabilidad de membrana neuronal postsináptica y esto origina la excitación o la inhibición de la célula, en función de las propiedades del receptor neuronal. La membrana postsináptica contiene una gran cantidad de proteínas receptoras que, a su vez, inducen la apertura de canales iónicos catiónicos (excitadores) que transportan iones sodio dotados de carga positiva, así como de canales aniónicos (inhibidores) hiperpolarizando la neurona postsináptica e impidiendo, a su vez, la propagación de la información (potencial de acción), como se muestra en la Figura 1.14.

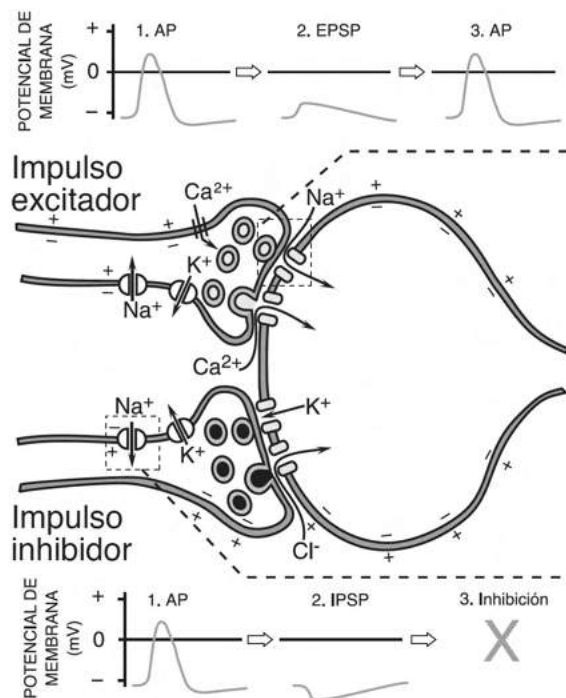


Figura 1.14. Efectos del impulso excitador o inhibitorio en la sinapsis química (Goodman & Gilman, 2007). En una sinapsis química, puede ocurrir un efecto excitador con la neurona eefectora, así como una inhibición, impidiendo la propagación de un potencial de acción.

La membrana presináptica contiene una enorme cantidad de canales de calcio dependientes de voltaje. Cuando un potencial de acción la despolariza, estos canales se abren y permiten la entrada de iones calcio. Debido a esto, la membrana de las vesículas que contiene a los neurotransmisores se fusiona con la membrana de la terminal presináptica, permitiendo la liberación de su contenido. La cantidad de neurotransmisores que sale a continuación hacia la hendidura sináptica desde la terminal es directamente proporcional al total de iones calcio que entran. A este proceso también se le conoce como *exocitosis calcio-dependiente*. Una vez unidos los neurotransmisores a las proteínas receptoras de la neurona postsináptica, tras unos segundos estos se separan por difusión y pueden ser recaptados a la terminal presináptica por medio de proteínas transportadoras o bien, metabolizados a elementos constitutivos más elementales por medio de enzimas.

Sistema nervioso central

Anatómicamente hablando, el sistema nervioso se divide en sistema nervioso central y sistema nervioso periférico.

El sistema nervioso central contiene más de 100 millones de neuronas (Guyton & Hall, 2006). Está conformado por el encéfalo (protegido por el cráneo) y la médula espinal (protegida por la

columna vertebral). Se encarga de procesar la información proveniente del sistema nervioso periférico y ejecutar órdenes, como si de una computadora se tratase (Figura 1.15).

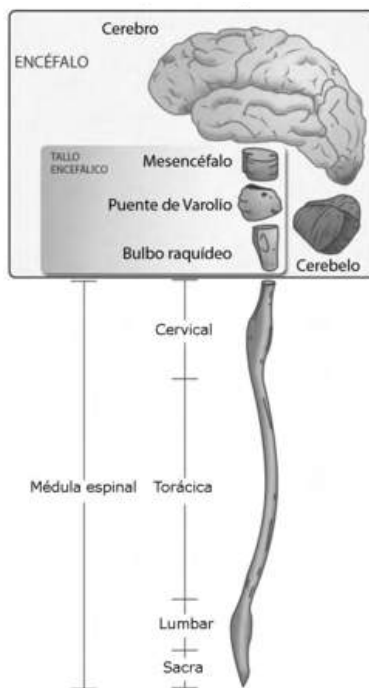


Figura 1.15. Sistema nervioso central (Snell, 2003). El sistema nervioso central está conformado por el encéfalo (cerebro y tronco encefálico) y por la médula espinal, conformada por las zonas cervical, torácica, lumbar y sacra.

Sistema nervioso periférico

El sistema nervioso periférico conecta al sistema nervioso central con el resto del cuerpo. Tiene dos estructuras anatómicas: nervios, conformado por los axones de las neuronas, y ganglios, conformado por los somas (conjunto de cuerpos neuronales). Del encéfalo salen doce pares de nervios craneales, mientras que de la médula salen treinta y uno. Las vías de comunicación pueden ser:

1. *Aferente (sensorial)*. Desde la periferia al sistema nervioso central.
2. *Eferente (motoras)*. Órdenes del sistema nervioso central a la periferia.

Por otro lado, el sistema nervioso también puede clasificarse de acuerdo a su división funcional en sistema nervioso somático y sistema nervioso autónomo o vegetativo.

Sistema nervioso somático

Relacionado con los movimientos voluntarios, el sistema nervioso somático se encarga de llevar a cabo la contracción del músculo esquelético como respuesta a un estímulo por parte de los sentidos (vista, oído, olfato, gusto y tacto). Está conformado por:

1. *Vía aferente*. Relacionado a los estímulos proporcionados por los sentidos.
2. *Vía eferente*. Relacionado con la contracción de músculos esqueléticos como respuesta al estímulo.

Sistema nervioso autónomo

Es en esencia un sistema efector que dirige el comportamiento de la musculatura lisa, cardíaca y funciones glandulares. Ejerce una función moduladora en el gasto cardíaco y la presión arterial. Dependiendo de su funcionalidad, el sistema nervioso autónomo se divide en *simpático* y *parasimpático*.

Anatomía del sistema nervioso simpático

La Figura 1.16 muestra la organización general de las porciones periféricas del sistema nervioso simpático. Las fibras nerviosas simpáticas nacen en la médula espinal junto a los nervios raquídeos entre los segmentos medulares T1 y L2. Los nervios simpáticos son diferentes de los nervios motores esqueléticos (sistema nervioso somático) por el hecho de que cada vía simpática que se dirige desde la médula hasta el órgano estimulado está compuesta por dos células, una neurona preganglionar y una neurona postganglionar, a diferencia de la única neurona existente en la vía motora esquelética (*Guyton & Hall, 2006*). El soma celular de cada neurona preganglionar está situado en el asta intermediolateral de la médula espinal y sus fibras van por una raíz anterior de la médula hasta llegar al nervio raquídeo correspondiente. Nada más salir el nervio raquídeo del conducto raquídeo, las fibras simpáticas preganglionares lo abandonan y se encaminan a través de un ramo comunicante blanco hacia uno de los ganglios de la cadena simpática. A continuación las fibras hacen sinapsis con neuronas simpáticas posganglionares en el ganglio al que llegan. Posteriormente, las fibras posganglionares viajan a sus destinos en los diversos órganos efectores (para el caso particular del corazón, refiérase a la Figura 1.18).

Anatomía del sistema nervioso parasimpático

El sistema nervioso parasimpático está representado en la Figura 1.17 donde se observa que las fibras parasimpáticas salen del sistema nervioso central a través de los pares craneales III, VII, IX y X; otras fibras parasimpáticas distintas abandonan la parte más inferior de la médula espinal por medio del segundo y tercer nervio raquídeo sacro. Casi el 75% de todas las fibras

parasimpáticas están en el nervio vago (par craneal X) llegando a todas las regiones torácicas y abdominales del tronco. Estos nervios vagos suministran fibras parasimpáticas al corazón.

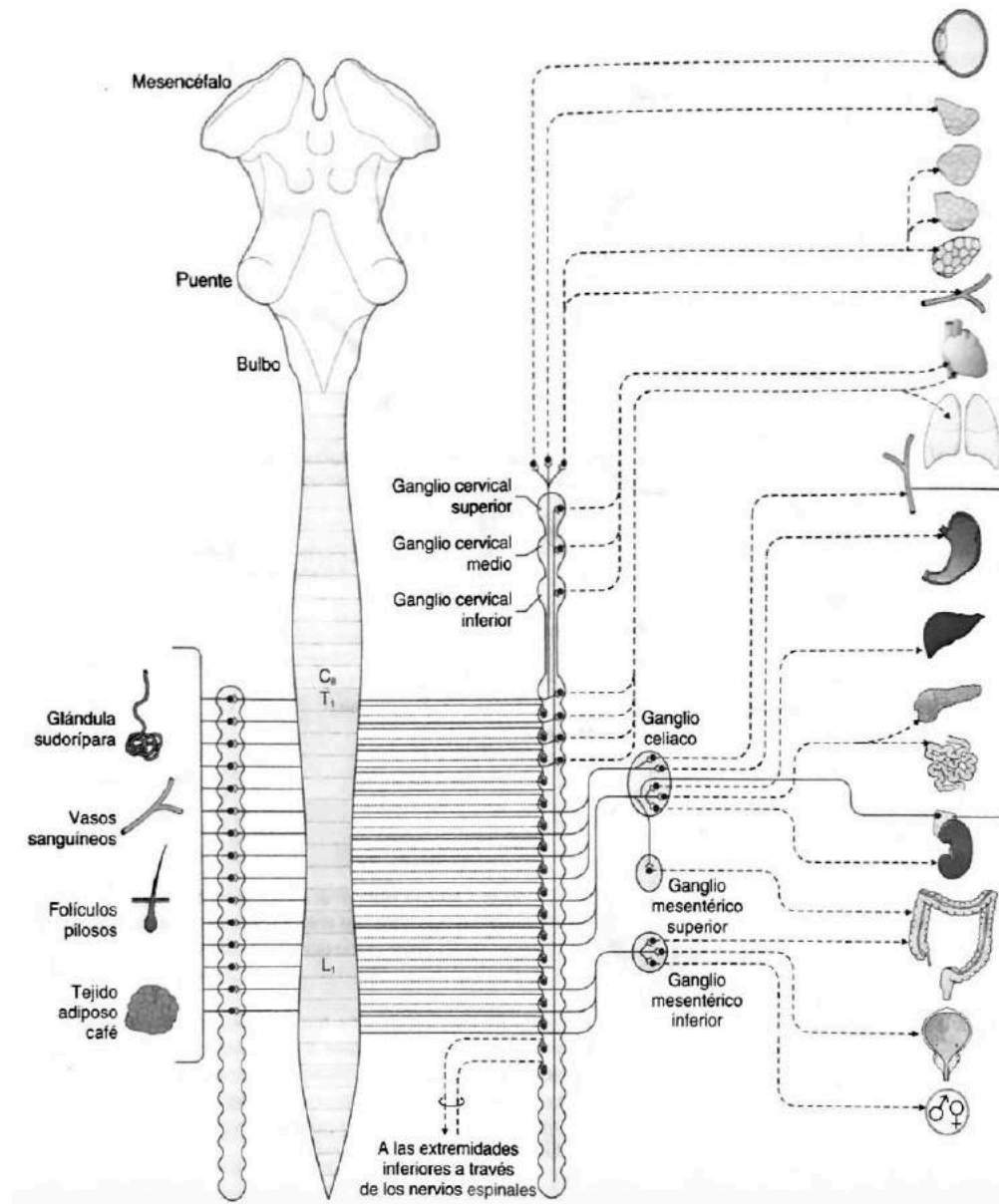


Figura 1.16. Distribución de las fibras simpáticas desde la médula espinal a los órganos efectorios (Conti, 2010). Los nervios simpáticos que inervan al corazón se localizan en la parte inferior de la zona cervical (pares nerviosos C7) y superior de la zona torácica (T1).

El sistema parasimpático, al igual que el simpático, posee neuronas preganglionares y postganglionares. Sin embargo, las fibras parasimpáticas preganglionares recorren sin interrupción todo el trayecto hasta el órgano que van a controlar, en cuya pared están situadas las neuronas postganglionares. Las fibras preganglionares hacen sinapsis con ellas y unas fibras postganglionares cortísimas las abandonan para inervar los tejidos del órgano.

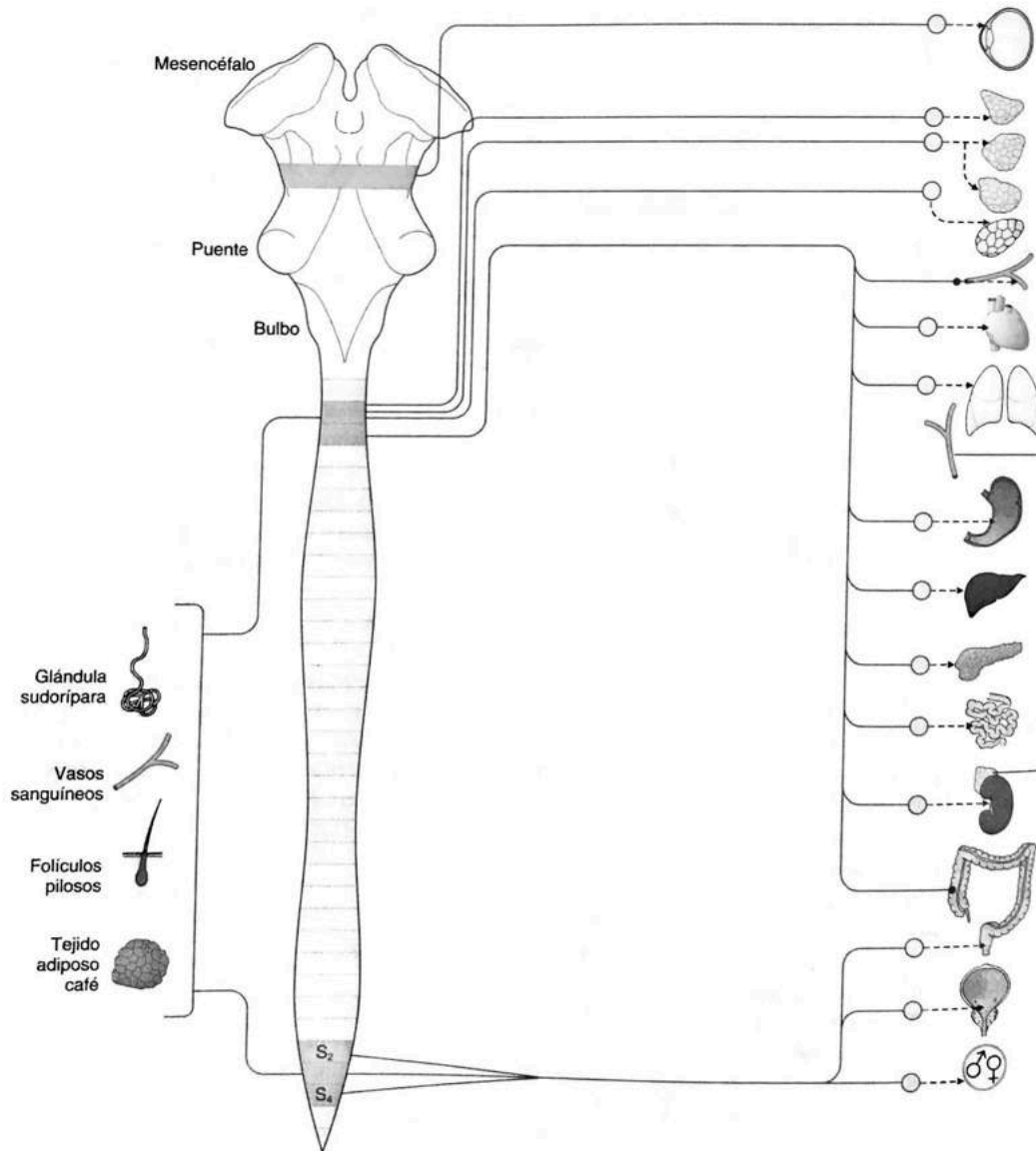


Figura 1.17. Distribución de las fibras parasimpáticas a los órganos efectores (Conti, 2010). El corazón es inervado a través del sistema simpático por medio del nervio vago, localizado en la zona del bulbo del sistema nervioso central. A diferencia del sistema simpático, los ganglios de los nervios parasimpáticos se encuentran localizados muy cerca de los órganos objetivo. Por consiguiente, se tienen estímulos más focalizados.

Características básicas del funcionamiento simpático y parasimpático

Las fibras nerviosas simpáticas y parasimpáticas segregan básicamente una de las dos sustancias transmisoras de la sinapsis: *acetilcolina* o *noradrenalina*. Aquellas fibras que liberan acetilcolina se llaman *colinérgicas* y las que liberan noradrenalina se llaman *adrenérgicas*.

Todas las neuronas preganglionares son colinérgicas tanto en el sistema nervioso simpático como parasimpático. Todas las neuronas postganglionares del sistema parasimpático también son colinérgicas. En cambio, las neuronas postganglionares simpáticas son adrenérgicas. Así pues, todas las terminaciones nerviosas finales del sistema parasimpático segregan acetilcolina (ACh). Por el contrario, las terminaciones nerviosas simpáticas segregan noradrenalina (NaN). Estas hormonas, a su vez, actúan sobre los distintos órganos para generar los efectos excitatorios (simpáticos) o relajadores (parasimpáticos). Por lo tanto, a la ACh se le denomina *transmisor parasimpático* y a la NaN *transmisor simpático*.

La esquematización de la síntesis de los neurotransmisores simpático y parasimpático se encuentra en el material suplementario de este trabajo.

Efectos simpáticos y parasimpáticos en el sistema cardiovascular

El sistema vascular está conformado por el corazón y los vasos sanguíneos sistémicos. A continuación se explica brevemente el efecto que el sistema nervioso autónomo ejerce sobre cada uno de estos componentes.

1. Corazón.

En general, la estimulación simpática aumenta la actividad global del corazón. Esto se produce mediante un incremento en la frecuencia cardíaca y en la fuerza de contracción. Para ello, los neurotransmisores simpáticos en la terminal sináptica se unen a receptores tipo beta 1 adrenérgicos ubicados en la membrana cardíaca postsináptica. Como consecuencia, se induce la apertura de canales sodio dependientes de voltaje (Figura 1.14), aumentando la ritmicidad cardíaca mediante un aumento de la corriente I_f (dependiente de sodio) de las células marcapaso, acelerando a su vez la generación de potenciales de acción cardíacos.

La estimulación parasimpática, por otro lado, provoca básicamente los efectos opuestos: descenso de la frecuencia cardíaca y de la fuerza de contracción. Por consiguiente, la estimulación simpática incrementa la eficacia del corazón en su condición de bomba, necesaria durante la realización de un ejercicio intenso, mientras que la estimulación parasimpática reduce esta faceta, lo que permite descansar entre los episodios de actividad extenuante.

La representación gráfica de la inervación del corazón por las fibras simpáticas y parasimpáticas se muestra en la Figura 1.18. Tanto el bulbo como la médula espinal, pertenecientes al sistema nervioso central se encuentran representados en la zona con la línea punteada. Las fibras preganglionares que salen de la médula espinal simpática viajan a los ganglios de la cadena simpática y posteriormente, las fibras postganglionares al corazón. Las fibras postganglionares inervan tanto a los nodos SA y AV así como a las fibras conductoras en la zona ventricular. Por su parte, el nervio vago preganglionar proveniente de la zona del bulbo viaja a los ganglios ubicados en una zona muy proximal al corazón, afectando principalmente la actividad eléctrica

de los nodos SA y AV sin repercutir en la zona ventricular (para más detalle, refiérase a la Figura 1.7).

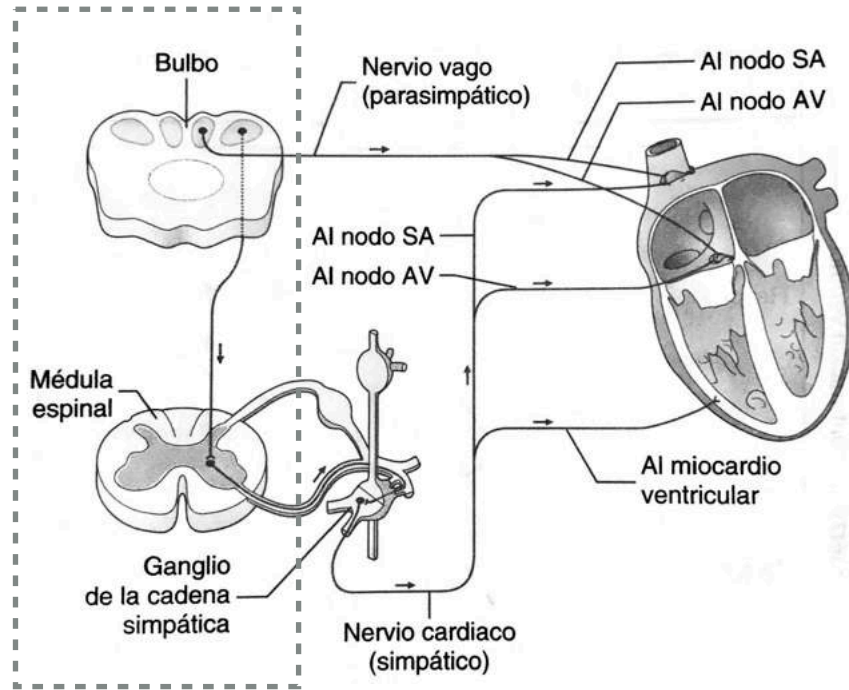


Figura 1.18. Inervación simpática y parasimpática del corazón (Conti, 2010). El corazón es inervado a través del sistema simpático y parasimpático a través de nervios periféricos. La zona punteada representa el sistema nervioso central. Del bulbo sale el nervio vago para la inervación parasimpática que estimula los nodos SA y AV del corazón, mientras que de la médula espinal, en la transición entre la zona cervical y torácica salen los nervios simpáticos que inervan tanto al nodo SA, nodo AV y la región ventricular.

2. Vasos sanguíneos sistémicos.

La mayoría de los vasos sanguíneos de la circulación sistémica se contraen con la estimulación simpática al activar los receptores alfa adrenérgicos. La estimulación parasimpática prácticamente carece de efectos sobre gran parte de los vasos excepto su dilatación en ciertas zonas restringidas como en la región del rubor facial.

La presión arterial está determinada por dos factores: la propulsión de sangre por el corazón y la resistencia a su flujo a través de los vasos sanguíneos periféricos. La estimulación simpática aumenta tanto la propulsión cardíaca como la resistencia a flujo, lo que suele ocasionar un ascenso brusco de la presión arterial. En cambio, una estimulación parasimpática moderada a través de los nervios vagos reduce el bombeo cardíaco, pero prácticamente carece de efectos sobre la resistencia vascular periférica.

1.1.10 El corazón como oscilador biológico

Los ritmos fisiológicos son esenciales para la vida (Glass, 2001). Todos estamos conscientes de la existencia del latido periódico de nuestros corazones, el movimiento de nuestras extremidades cuando caminamos, nuestro ciclo diario de vigilia y sueño (ritmo circadiano) así como los ciclos menstruales en las mujeres. Existen también otros ritmos no tan familiares pero igual de importantes como la liberación de hormonas que regulan el crecimiento y el metabolismo así como la digestión de la comida. Desde la bacteria más primitiva y hasta las formas más sofisticadas de vida, la ritmicidad juega un papel vital en la comunicación intercelular, la locomoción y la regulación del comportamiento (Friesen & Block, 1984). Aunque la presencia de ritmos biológicos ha sido reconocida desde la antigüedad, solo recientemente se ha tratado sistemáticamente de estudiar el origen de estos ritmos.

Una oscilación es un cambio cíclico en una cantidad medible y que exhibe una forma de onda y periodicidad relativamente constante (Friesen & Block, 1984). La característica más importante de una oscilación es su período, que es simplemente el intervalo entre dos puntos de referencia idénticos en la forma de onda. Las características que tienen los osciladores biológicos se muestran a continuación (Pikovsky et al, 2001):

1. *Son sistemas autónomos.*

La propiedad universal de un sistema biológico oscilatorio es que son sistemas activos debido a que poseen una fuente de energía interna que compensa la disipación en el sistema y que se transduce en un comportamiento oscilatorio. Si son aislados, continúan oscilando a su propio ritmo.

2. *Su ritmicidad está determinada por los parámetros del sistema.*

La morfología de las oscilaciones así como su periodicidad son propias, según las características biológicas que conforman al sistema.

3. *Las oscilaciones regresan de nuevo a sus condiciones basales cuando termina la interacción con una fuerza periódica externa.*

Los osciladores biológicos pueden ser perturbados sin alterar sus propiedades intrínsecas hasta cierto nivel fisiológico, como prueba de su robustez. Al interactuar con una fuerza periódica externa puede acoplar su ritmicidad.

4. *No es posible alterar la ritmicidad de un oscilador biológico cardiaco cuando la frecuencia de la perturbación es inferior a su frecuencia basal.*

Aunque muchas células en el cuerpo muestran una ritmicidad intrínsecamente espontánea, su función biológica se deriva de las interacciones de estas células entre sí (así como de perturbaciones externas) para generar los ritmos esenciales para la vida (Glass, 2001). Por ejemplo, el latido del corazón es generado por el nodo sinoauricular, una pequeña región en la aurícula derecha del corazón compuesto por miles de células marcapasos que interactúan entre

ellas para establecer el ritmo cardíaco normal. Sin embargo, la ritmicidad del corazón a la escala de órgano completo se ve afectada por un estímulo externo, proveniente del sistema nervioso autónomo. Entonces, el estudio del corazón como oscilador biológico depende de la escala de análisis, como se describe a continuación.

Acoplamiento de osciladores biológicos

Como se mencionó anteriormente, un oscilador biológico es un sistema autónomo, pero puede alterar su ritmicidad cuando entra en contacto con otro oscilador, o bien, con una fuerza periódica externa. Cuando la dinámica de un oscilador cambia debido a la interacción con otro oscilador, se dice que existe un *acoplamiento* entre estos dos sistemas (*Pikovsky et al, 2001*). Existen dos tipos de acoplamiento en osciladores biológicos:

1. *Mutuo*. Cuando la interacción de dos osciladores se da en ambos sentidos; es decir, existe una reciprocidad en la alteración de ritmos en ambos osciladores.
2. *Maestro-esclavo*. Cuando existe una unidireccionalidad en la perturbación del sistema: un oscilador maestro (o perturbación maestra) puede afectar la ritmicidad del oscilador esclavo, pero el oscilador afectado no puede alterar la ritmicidad de la fuerza perturbadora.

En la Figura 1.19 se muestra una representación del corazón y su análisis bajo la perspectiva de un oscilador biológico. El corazón se encuentra aislado del cuerpo. Se sabe que el corazón no pierde su propiedad autoexcitable cuando se encuentra fuera de un organismo vivo (*Pikovsky et al, 2001*). Se puede observar que las células que conforman al nodo SA, el *marcapasos maestro* del corazón, son células autoexcitables y especializadas en transmitir el estímulo eléctrico. Cada una de estas células es un pequeño oscilador biológico. Cuando se encuentran disgregadas en un cultivo, laten a su propia ritmicidad. Sin embargo, en conjunto son capaces de sincronizar su ritmicidad con las células vecinas para comportarse como una unidad. Dado que la interacción entre estas células es recíproca, debido a las conformación biológica (*gap junctions*) en que se encuentran, entonces, a escala de nivel celular el acoplamiento entre osciladores es *mutuo*.

Ahora bien, analizando al corazón en la escala de órgano completo, se puede alterar su ritmicidad por medio de una estimulación periódica externa mediante un tren de pulsos eléctricos. Bajo esta modalidad, el corazón responde a la frecuencia del estímulo y tratará de ajustar su ritmicidad a la ritmicidad de la perturbación (siempre y cuando la frecuencia de la perturbación sea superior a la frecuencia basal del corazón) hasta un nivel de tolerancia fisiológica. No obstante, el corazón no puede alterar la periodicidad de la señal perturbadora. Entonces se trata de un acoplamiento *maestro-esclavo*.

Sincronización

Hasta el momento, se ha hecho mención varias veces de la palabra *sincronización* en osciladores biológicos. Vamos a explicar más a detalle este concepto.

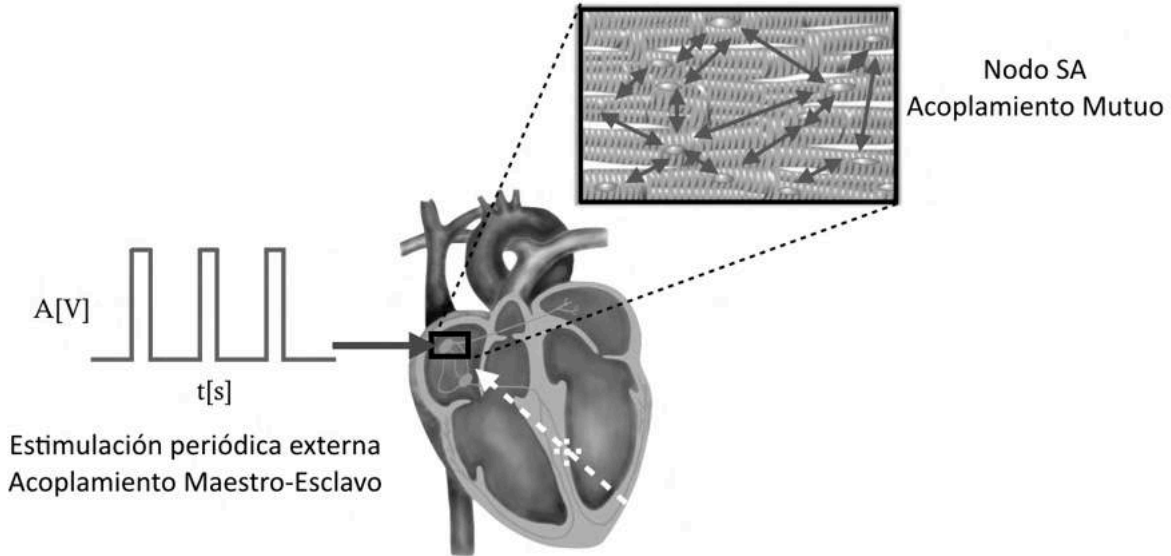


Figura 1.19. El corazón como oscilador biológico. Dependiendo de la escala de análisis, el acoplamiento de osciladores en el corazón aislado se puede estudiar como mutuo (nivel celular en el nodo SA) o maestro-esclavo (escala de órgano completo).

Se define a la *sincronización* como un ajuste de ritmos de dos o más sistemas oscilatorios debido a una interacción que existe entre ellos. Para ejemplificar lo anterior, considere observar la Figura 1.20, la cual representa dos registros temporales obtenidos en nuestro laboratorio: la respuesta mecánica del corazón aislado (medida en gramos- fuerza, gF) en la modalidad maestro- esclavo (señal azul), debida a una perturbación periódica externa (medida en volts, V) (señal verde) ante dos frecuencias de estimulación.

Si analizamos la ventana de interacción debida a una estimulación periódica de 11Hz vemos que la respuesta mecánica es periódica, con una amplitud constante y sigue una proporción 1 a 1 con respecto a la ritmicidad de la señal perturbadora (1 estímulo eléctrico origina 1 evento contráctil). Por otro lado, la interacción a 12Hz es diferente. La respuesta mecánica no es periódica, al contrario, presenta un comportamiento completamente desordenado, con sobreimpulsos y no es evidente definir un patrón con respecto al número de eventos eléctricos en la estimulación. Ahora bien, en el registro de la respuesta mecánica del corazón se puede observar primeramente una transición entre un comportamiento basal y un aumento en su periodicidad (acompañado también por una reducción en su amplitud) debido a la interacción con la señal eléctrica que lo perturba. Una vez retirado el estímulo, el corazón regresa a sus condiciones basales. Tanto para 11 y 12Hz, existe un acoplamiento, pues la dinámica del corazón cambia debido a la interacción con la perturbación. Sin embargo, el fenómeno de sincronización sólo está presente para 11Hz.

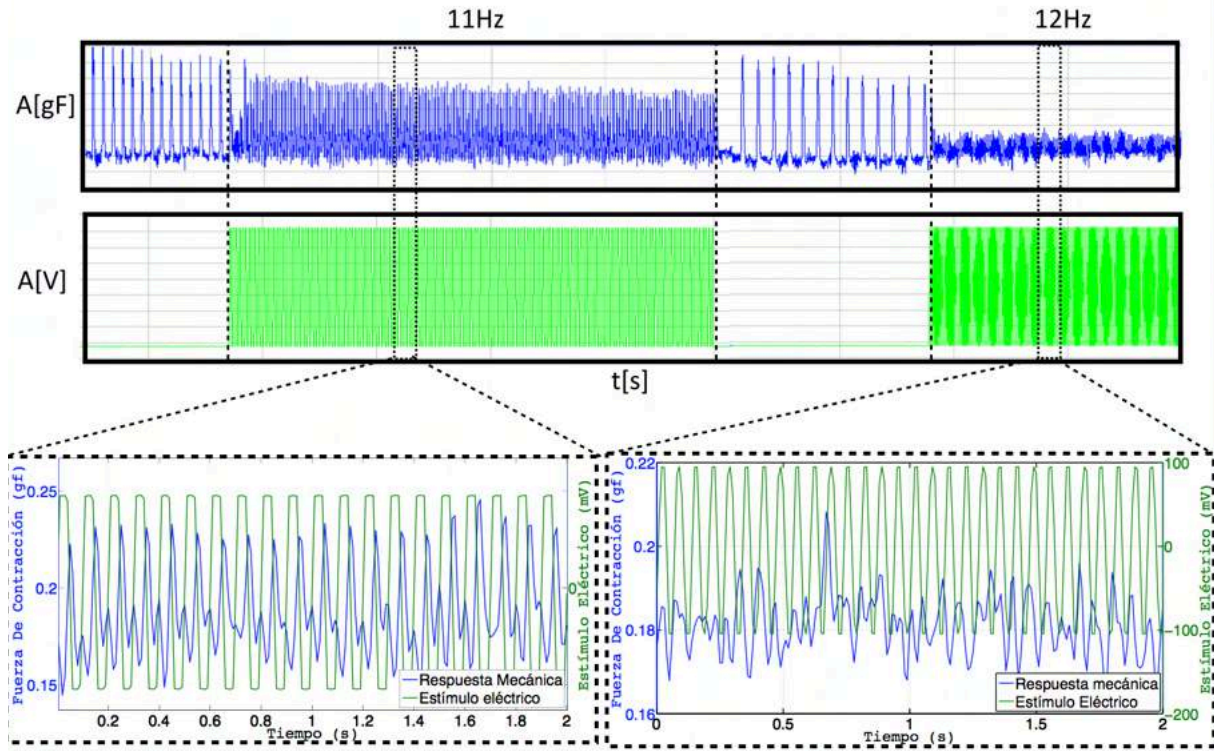


Figura 1.20 Acoplamiento y sincronización. La dinámica en la respuesta mecánica del corazón aislado cambia debido a una perturbación eléctrica externa. Tras el acoplamiento entre el oscilador cardiaco con una perturbación periódica, puede o no presentarse el fenómeno de sincronización.

Del caso anterior es importante resaltar lo siguiente: la alteración de los ritmos biológicos más allá de una tolerancia fisiológica está asociada a una patología. En el caso del corazón, a una arritmia, que va desde un cambio en el patrón normal entre en el número de eventos mecánicos con respecto al número de eventos eléctricos de la estimulación (proporción diferente al 1:1), hasta una fibrilación (pérdida completa de sincronización).

1.2 Antecedentes

1.2.1 Ruido en sistemas biológicos

Particularmente en biología, uno de los primeros experimentos en el cual se demostró la presencia de resonancia estocástica fue en el sistema de evitación de depredadores del cangrejo de río en la década de los 90's (*Douglass et al, 1993*), observando que estos animales pueden percibir una mejoría de la información disponible en el sistema sensorial periférica con la adición de ruido externo, y que pueden hacer uso de esta información de ruido mejorada, por ejemplo, para la búsqueda de alimentos o el escape de depredadores (*Bahar & Moss, 2003*). En la Figura 1.21 se muestra la curva de resonancia estocástica para este experimento. Se aislaron los mecanorreceptores de estos animales y, en un cultivo celular, se estimularon con señales eléctricas perturbadas con ruido blanco. Se encontró que, bajo la presencia de bajas intensidades de ruido, la detectabilidad de la señal eléctrica de los mecanorreceptores (cuantificada como la relación señal a ruido, SNR) es mayor comparada con aquellos experimentos sin ruido.

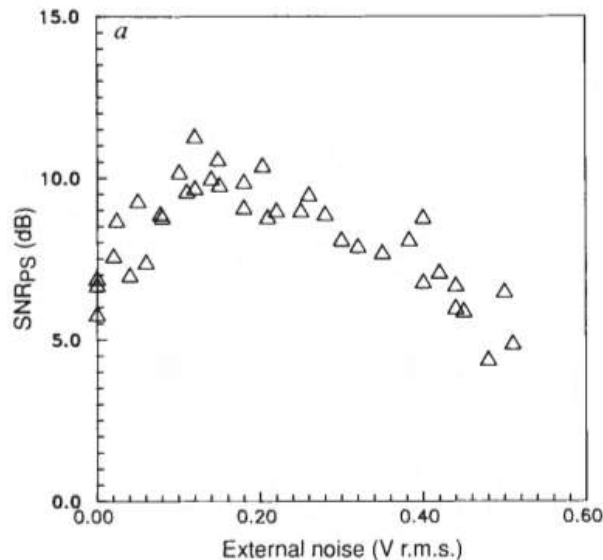


Figura 1.21. Curva de resonancia estocástica para la estimulación de mecanorreceptores de cangrejo de río (*Douglass et al, 1993*). Bajo la presencia de bajas intensidades de ruido en el sistema, la detectabilidad (cuantificada como relación señal a ruido) es mayor comparada con experimentos control.

En otro trabajo se mostró que el papel de las neuronas en el procesamiento de información usualmente depende de la no linealidad del sistema (*Koch & Segev, 2000*) y, por consiguiente, el paradigma de la resonancia estocástica es compatible con los modelos celulares, convergiendo en el desarrollo de diversos estudios de modelos neuronales de células aisladas (*Bulsara et al, 1991; Naud et al, 2017*).

La presencia de ruido también puede extenderse a los canales iónicos, cuando su dinámica se describe en modelos simples de dos estados (*Bezrukov & Vodyanoy, 1995*). El ruido es un aspecto fundamental de apertura y cierre de canales iónicos, pues se origina a partir de fuentes tales como las fluctuaciones en los neurotransmisores liberados por las terminales nerviosas, también por el número de receptores postsinápticos activados así como por concentraciones de iones, conductancias de la membrana plasmática, efectos de los potenciales de acción anteriores, etc (*White et al, 2000; Koch & Segev, 2000; Moss et al, 2004*).

La presencia de ruido también favorece el proceso de sinapsis (*Stacey & Durand, 2001*). La transmisión sináptica (un proceso no estacionario y no lineal debido a las diferentes contribuciones de despolarización y corrientes de hiperpolarización) es ruidoso. En este experimento, lograron aislar neuronas del hipocampo en ratas y mediante la técnica patch-clamp inyectaron una corriente de distintas intensidades con el objetivo de incrementar la cantidad de ruido molecular en la sinapsis. Los resultados son similares que en el experimento de Douglass et al en 1993, en donde la detectabilidad de la respuesta neuronal (más disparos) se da bajo la presencia de ruido (Figura 1.22).

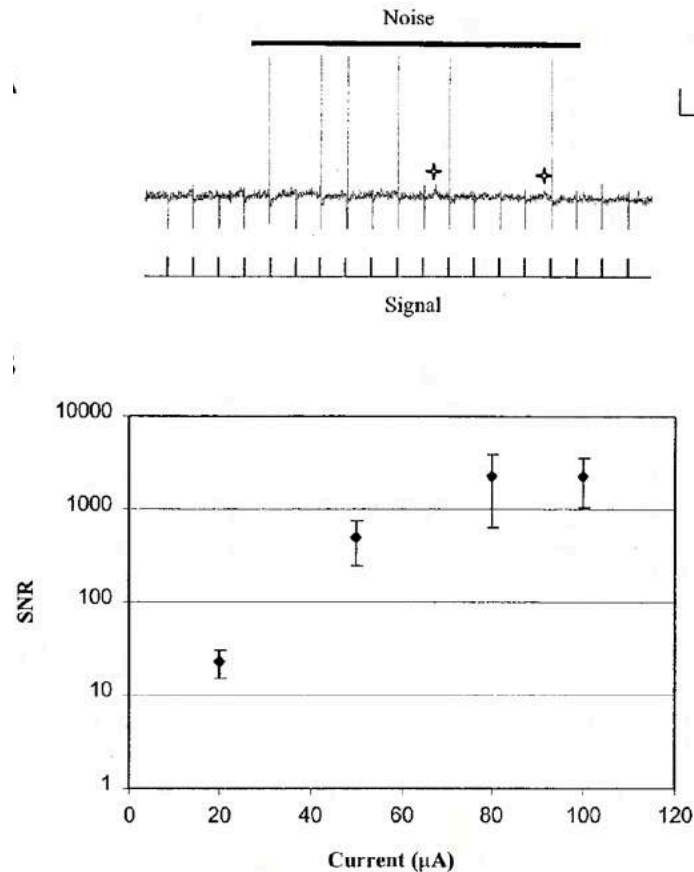


Figura 1.22. Presencia de resonancia estocástica en la sinapsis neuronal (*Stacey & Durand, 2001*). Bajo la presencia de ruido en el sistema, la cantidad de disparos es mayor (**imagen superior**). Conforme incrementa la cantidad de ruido, la detectabilidad (cuantificada como SNR) es mayor (**imagen inferior**).

El ruido sináptico afecta a los sistemas neuronales relativamente simples, como la descarga de las neuronas motoras en función de las contribuciones ponderadas de múltiples entradas e incluso pequeñas cantidades de ruido sináptico de las sinapsis dendríticas mejoran la respuesta a estímulos subliminales independientes.

La resonancia estocástica también se encuentra presente en aplicaciones biomédicas, como en implantes cocleares, los cuales han podido restablecer la audición a la sordera profunda por la estimulación electrónica directa del nervio auditivo mediante un conjunto de electrodos implantados quirúrgicamente (*Dorman & Wilson, 2004*). La idea general es que varias fuentes de variabilidad impredecible presente en las fibras del nervio auditivo durante la audición normal está ausente en oídos sordos (*Hudspeth, 1989*); entonces se plantea la hipótesis de que un componente aleatorio bien controlado de las señales eléctricas de salida de los implantes cocleares podrían estimular las fibras nerviosas de una manera más natural y por ende conducir a una mejor audición.

En todos estos modelos, el ruido usualmente interfiere con la detección e identificación de una señal, mediante un proceso conocido como enmascaramiento (*Moss et al, 2004*), donde se ha reportado que a bajos niveles de intensidad de ruido, es fácil detectar la señal original en presencia del enmascaramiento que sin ella, cuando ambas señales (original y ruido) son aditivas. Por otro lado, con altas intensidades de enmascaramiento usualmente se presenta el fenómeno de alta interferencia, haciendo la detección de la señal más complicada: el sistema está dominado por el ruido.

1.2.2 El corazón como oscilador biológico: patrones de sincronización

Estudiar al corazón como un oscilador biológico no es algo nuevo. Reportes que datan de la década de los 80's han permitido dilucidar muchos conceptos detrás de este fenómeno, como la presencia de acoplamiento y sincronización en cardiomiocitos. Uno de los primeros estudios experimentales en cardiomiocitos de embriones de pollo logró reproducir algunas arritmias conocidas por bloqueo (*Guevara et al, 1981*). Para ello, registraron potenciales de acción mediante la técnica patch-clamp (Figura 1.23). Las células que recolectaron, según el estado embrionario, conformaban al nodo SA, las cuales son autoexcitables. Posteriormente estimularon a las células con corrientes eléctricas de distintas intensidades con el objetivo de cambiar el potencial de membrana y, por consiguiente, alterar la generación de potenciales de acción. Observaron que cambiando la intensidad del estímulo, así como su frecuencia, se generan distintos patrones de sincronización entre el estímulo eléctrico y la generación de potenciales de acción cardiacos. Por otro lado, también se han llevado a cabo algunos modelos teóricos para reproducir la dinámica de los potenciales de acción cardiacos y la generación de arritmias (*Glass, 1991; Glass et al, 1983; Herrera-Valdez & Lega, 2011*).

El evento final tras una actividad eléctrica en el corazón es su contracción. Para llevar a cabo un evento contráctil es necesaria la liberación de calcio del retículo sarcoplasmático tras la llegada de un potencial de acción (*Conti, 2010*). Mediante un estudio teórico, se han podido reproducir

también patrones de sincronización anormales entre la actividad eléctrica y la dinámica oscilatoria de calcio en un modelo de célula excitable (*Kusters et al, 2008*). Otro estudio llevó a cabo un análisis de alternancias en el proceso de repolarización ventricular debidas a una dinámica anormal de la liberación de calcio por calcio inducido, mediante un modelo teórico con células cardíacas (*Livshitz & Rudy, 2007*).

Hoy en día, es de vital importancia una interacción continua entre investigadores teóricos y experimentales con personal clínico para la identificación, tratamiento y prevención de arritmias, a partir de la identificación de patrones anormales de sincronización (o la pérdida total de sincronización) que pudieran resultar fatales en un paciente (*Christini & Glass, 2002*).

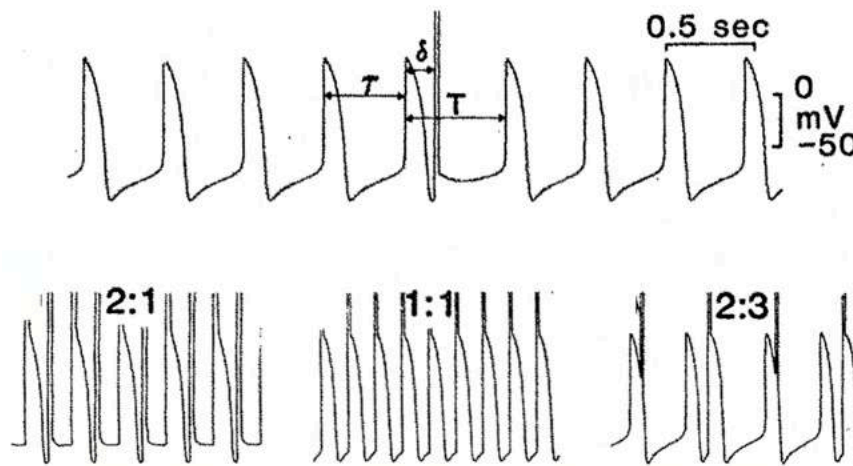


Figura 1.23. Generación de patrones anormales de sincronización en células embrionarias autoexcitables (*Guevara et al, 1981*). La generación de subsecuentes potenciales de acción se ve alterada por una perturbación eléctrica externa (**imagen superior**) alterando, por consiguiente, la periodicidad de la actividad eléctrica. Por otro lado, induciendo una perturbación periódica y variando la frecuencia de perturbación, se presentan patrones de sincronización entre el número de estímulos y la cantidad de potenciales de acción generados (**imagen inferior**).

1.2.3 Ruido en el modelo de corazón aislado

Recientemente en nuestro laboratorio se demostró que la presencia de ruido blanco aditivo en el nodo SA favorece la respuesta contráctil en el modelo de corazón aislado (*Peña-Romo et al, 2016*). Para ello, se aislaron corazones de ratón que fueron perfundidos retrógradamente en el sistema de Langendorff (para más información, consultar el capítulo 4 de este trabajo). Posteriormente, los corazones fueron estimulados eléctricamente en el nodo SA con trenes de pulsos eléctricos periódicos perturbados con cierta cantidad de ruido blanco Gaussiano y se obtuvieron registros temporales de la respuesta contráctil. Los resultados mostraron que, ante la presencia de bajas intensidades de ruido, la presencia del patrón de sincronización 1:1 (un

evento eléctrico que induce un evento mecánico) se presentaba en un ancho de banda de frecuencias de electro-estimulación más amplio, comparado con el grupo control (corazones estimulados eléctricamente sin ruido inducido en el estímulo) (Figura 1.24) y, por consiguiente, se obtuvo la primera evidencia experimental de la presencia de resonancia estocástica en el corazón en el modelo de órgano completo.

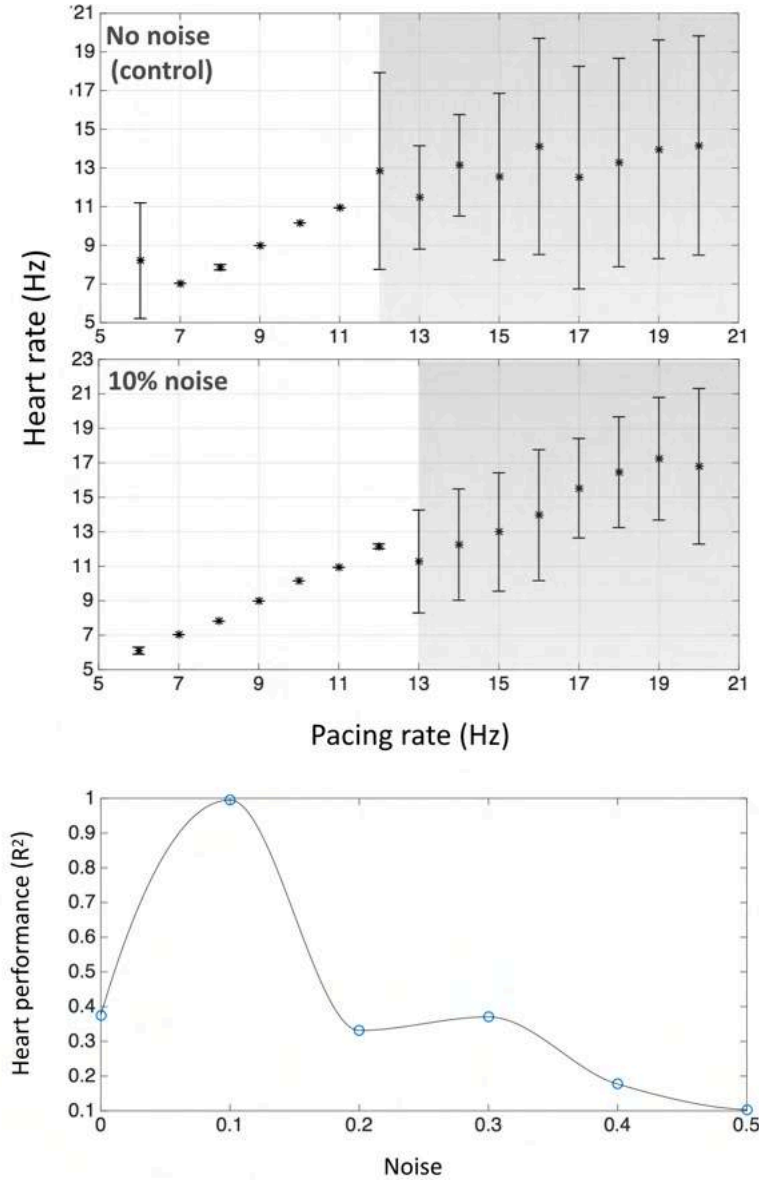


Figura 1.24. Efecto del ruido en el nodo SA sobre la frecuencia cardiaca en el modelo de corazón aislado (modificado de Peña-Romo et al, 2016). La presencia de bajas intensidades de ruido (10%) en la electro-estimulación (imagen central) aumenta el ancho de banda de frecuencias de estimulación donde se presenta la sincronización 1:1 con respecto a la frecuencia de respuesta cardiaca, comparado con experimentos control (imagen superior), demostrando la presencia de resonancia estocástica en el modelo de corazón aislado (imagen inferior).

1.2.4 Patrones de disparo neuronal debidos al ruido

Un interesante estudio teórico permitió demostrar que la presencia de ruido en la actividad neuronal puede desencadenar patrones de sincronización entre una estimulación periódica y la cantidad de disparos obtenidos (Longtin, 2000). Para ello, se hizo un ajuste al modelo matemático desarrollado por FitzHugh-Nagumo en 1961 (FitzHugh, 1961) sobre la actividad eléctrica neuronal añadiendo un término aditivo de ruido (Figura 1.25). En este modelo teórico, se estimuló a una neurona con una señal eléctrica senoidal. Por cada ciclo, se obtuvo un disparo como respuesta. Ahora bien, añadiendo ruido aditivo a la perturbación (parámetro denominado como *densidad de ruido*, D) se obtuvieron más disparos por cada ciclo. Sin embargo, incrementando la cantidad de ruido en la perturbación, no es posible determinar una sincronización clara con la respuesta neuronal; el sistema está dominado por el ruido.

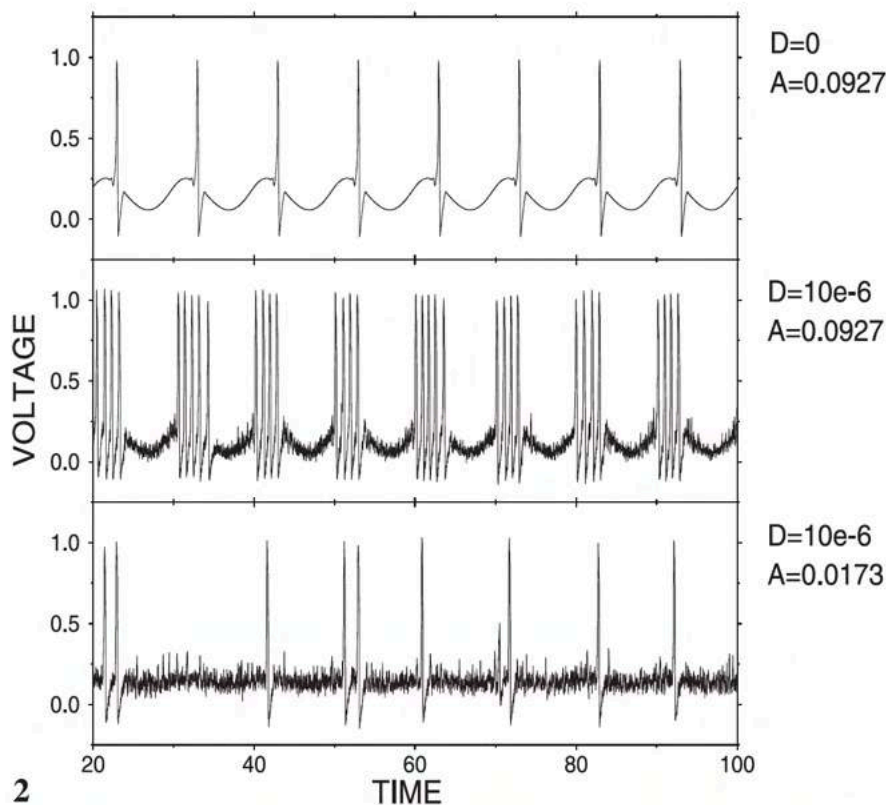


Figura 1.25. Patrones de sincronización en la actividad neuronal debidos al ruido (Longtin, 2000). La neurona es perturbada por una señal senoidal con una amplitud A . Como respuesta, se tiene un disparo por cada ciclo (**imagen superior**). Añadiendo ruido aditivo a la perturbación (parámetro D), se obtienen más disparos por ciclo (**imagen central**). Sin embargo, disminuyendo la amplitud de la señal senoidal y dejando fijo el parámetro de ruido, el sistema está dominado por el ruido y no es posible determinar un patrón de sincronización claro (**imagen inferior**).

Aunque se tienen muchos antecedentes sobre el estudio del ruido en la actividad neuronal, hasta la fecha hay pocos estudios experimentales relacionados a estudiar el efecto de ruido en la respuesta contráctil del corazón. La mayoría de estos estudios son teóricos a nivel celular y enfocados en la dinámica de calcio debido a la estocasticidad de la apertura y cierre de los canales iónicos. Sólo hay un estudio en la escala de órgano completo. Sin embargo, se tiene evidencia de que variando tanto la frecuencia como la intensidad en la perturbación, se pueden presentar patrones de sincronización anómalos en la actividad del nodo SA y, por consiguiente, podría repercutir en la escala de órgano completo. Por otro lado, la presencia de ruido en neuronas induce también patrones de sincronización. Entonces existe evidencia suficiente para utilizar técnicas electrofisiológicas con el objetivo de explorar el efecto del ruido en la respuesta contráctil del corazón y la presencia de patrones de sincronización anómalos. Se verá más a detalle esto en el siguiente capítulo.



Capítulo 2

Planteamiento del problema

Planteamiento del problema

Las últimas tres décadas han aportado valiosa información cuantitativa sobre las propiedades del ruido en la respuesta de sistemas biológicos (*Tsimring, 2014*). Estos resultados han sido ampliamente estudiados en neuronas donde se demostró que en muchos casos, la presencia de ruido proporciona ventajas en la detectabilidad de la señal de respuesta, induciendo más disparos asociados a una mayor actividad neuronal, y explicados a través de la resonancia estocástica (*Moss et al, 2004*). La Figura 2.1 proporciona una interpretación más clara de este fenómeno.

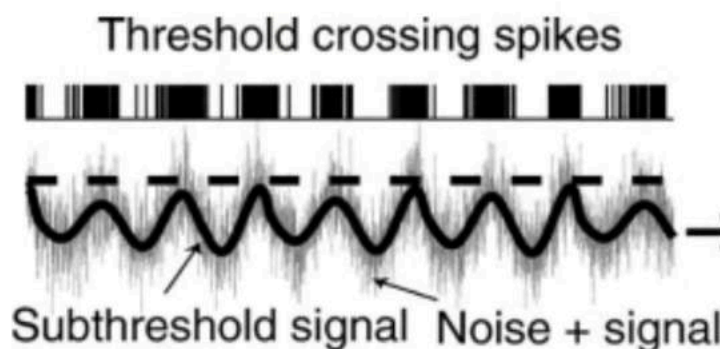


Figura 2.1 Resonancia estocástica en la detectabilidad de información en neuronas (*Moss et al, 2004*). La presencia de ruido en una perturbación en el potencial de membrana, favorecerá la detección de dicha señal al superar el umbral de detección y, por consiguiente, la generación de más potenciales de acción.

Como se mencionó en el Capítulo anterior (Sección 1.1.9) para que se lleve a cabo un potencial de acción neuronal es necesario que exista un estímulo que cambie el potencial de membrana basal (-90mV, aproximadamente) más allá de un umbral de detección (-75mV, aproximadamente) (*Guyton & Hall, 2006*). Podrá perturbarse la membrana con una señal eléctrica pero si esta perturbación no supera el umbral de detección, no habrá actividad neuronal. Ahora bien, si se induce una cierta cantidad de ruido a esta perturbación, la combinación de la señal más el ruido aditivo podrían sensibilizar el potencial de membrana de la neurona de manera tal que desencadenen más disparos al superar el umbral de detección. Entonces, la presencia de ruido favorece la detectabilidad de la señal perturbadora incrementando la actividad neuronal. Eso es resonancia estocástica.

La presencia de diversas fuentes de ruido pueden alterar significativamente los patrones de disparo de cualquier célula excitable (*Longtin, 2000*). La presencia de ruido intrínseco en modelos celulares tiene implicaciones positivas en una mejora en el procesamiento de información debido a la presencia de resonancia estocástica (*Moss et al, 2004*). En el sistema neuronal, las terminales nerviosas, la activación de receptores postsinápticos, las concentraciones iónicas así como la conductancia membranal, entre otras, son consideradas fuentes de ruido (*Moss et al, 2004*). Entonces, la justificación de la presencia de ruido en el

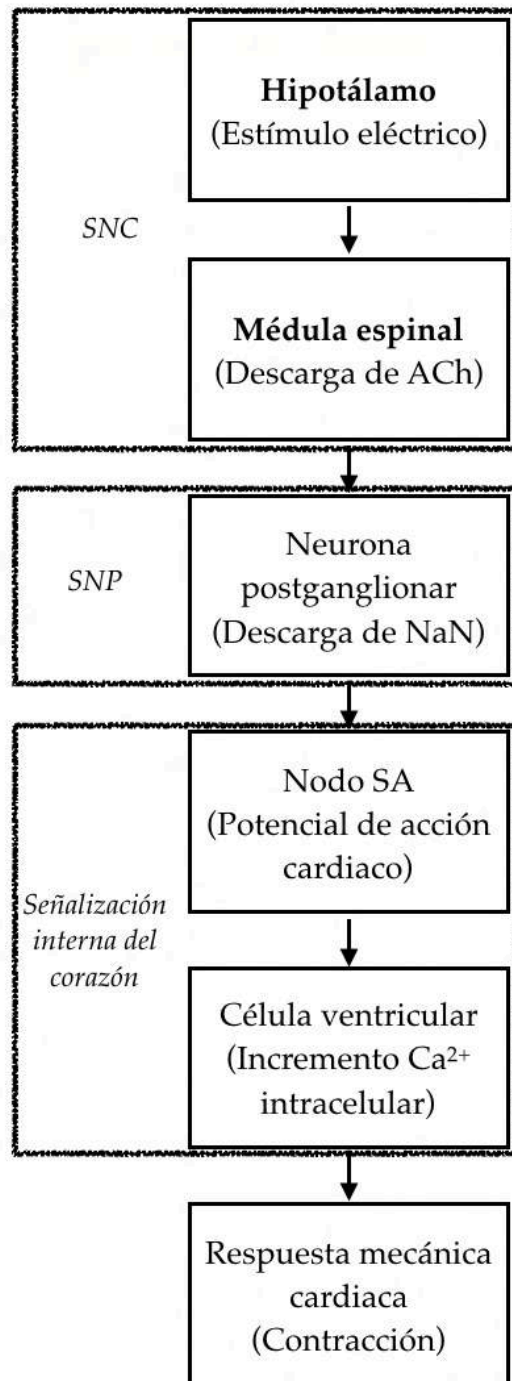


Figura 2.2 Procesos detrás de respuesta contráctil del corazón debido a la inervación por el sistema simpático. El estímulo eléctrico tiene su origen en el hipotálamo que induce una descarga de acetilcolina (ACh) hacia los pares nerviosos simpáticos C7 a T1 que inervan al corazón en el sistema nervioso central (SNC). Posteriormente, se lleva a cabo la sinapsis ganglionar que induce una descarga de noradrenalina (NaN) que converge en la fibra cardíaca a través del sistema nervioso periférico (SNP). La subsecuente apertura masiva de canales de sodio dependientes de voltaje en el nodo SA induce cambios en la generación de potenciales de acción cardíacos, acelerando la ritmicidad del corazón. Al propagarse los potenciales de acción cardíacos por la circuitería específica conformada por células especializadas en transmitir el impulso, se lleva a cabo un aumento en el calcio intracelular de las células ventriculares adyacentes (liberación de calcio por calcio inducido), induciendo cambios a su vez en la respuesta contráctil del corazón.

estímulo que induce la generación de más potenciales de acción neuronales radica, precisamente, en las fuentes de ruido que hay en el sistema biológico. Esto es debido a que los potenciales de acción no son más que el promedio de un flujo de iones entrando y saliendo de una célula, y estos eventos moleculares son altamente estocásticos.

Estos principios de ruido y resonancia estocástica pueden extrapolarse también a otros modelos conformados por células excitables, como es el caso del corazón. El corazón es un sistema autónomo (Guyton & Hall, 2006). Posee la particularidad de estimularse a sí mismo debido a las corrientes marcapaso que tienen las células autoexcitables que conforman al nodo SA. Sin embargo, su ritmicidad puede verse alterada por una estimulación eléctrica externa que proviene del hipotálamo a través del sistema nervioso autónomo, como se mencionó en el Capítulo anterior (secciones 1.1.6 y 1.1.9).

En la Figura 2.2 se muestra un diagrama a bloques que especifica todos los procesos que se llevan a cabo en la interacción entre el sistema nervioso simpático y el corazón. Si nos enfocamos en la generación de potenciales de acción en el nodo SA (para más detalle consultar la sección 1.1.4 del capítulo anterior), vemos que el automatismo puede verse afectado por una apertura masiva de iones sodio a través de canales dependientes de voltaje debido a un proceso sináptico entre el sistema nervioso simpático y el corazón.

Los potenciales de acción cardiacos, así como los potenciales de acción neuronales, son ruidosos. En la Figura 2.3 se muestra el registro de un potencial de acción en la aurícula cardiaca de una rana *in vivo* (Franz, 1991), en la cual se puede observar que, pese a que los pulsos mantienen cierta amplitud y periodicidad, éstos no son perfectamente simétricos. Esto es debido a las fuentes de ruido inherentes que hay en el sistema biológico.



Figura 2.3 Registro de potenciales de acción cardiacos (Franz, 1991). Registro obtenido mediante la utilización de electrodos colocados directamente sobre la fibra cardiaca en un modelo *in vivo* en el corazón de rana.

Ahora bien, el automatismo cardiaco depende también de que las células marcapaso que conforman al nodo SA superen un umbral de detección. Esto depende de una despolarización gradual de la membrana debida a la corriente I_f dependiente de sodio, como se muestra en la Figura 2.4.

Es evidente la comparativa que puede existir en la generación de potenciales de acción entre neuronas y células marcapaso cardiacas. En ambos sistemas es necesario superar un umbral de detección y ambos sistemas son ruidos. Por consiguiente, los mismos principios de resonancia estocástica en neuronas pueden aplicarse en el sistema cardiaco, con la particularidad adicional

que la génesis y propagación de potenciales de acción se transducen en eventos contráctiles. Entonces, la presencia de ruido en la generación de potenciales de acción cardiacos en el nodo SA podría repercutir en la contractilidad del corazón. Esa es la idea central de este trabajo.

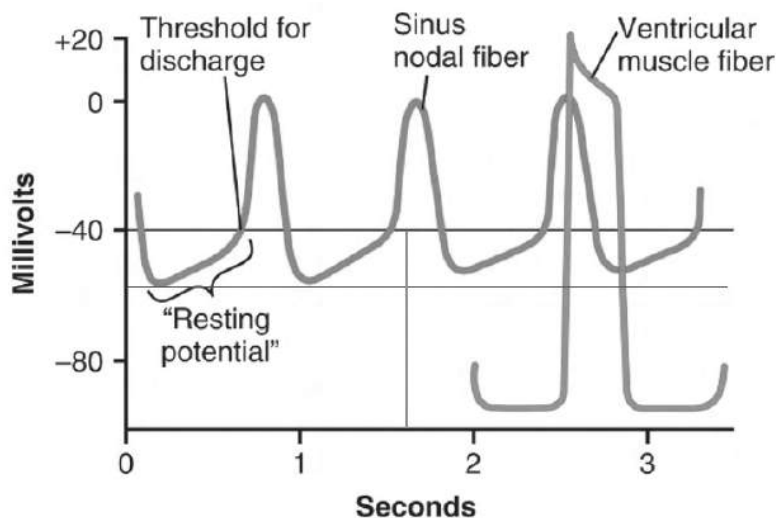


Figura 2.4 Automatismo en la actividad eléctrica del nodo SA (Guyton & Hall, 2006). Para que se lleve a cabo el automatismo en la fibra cardiaca, la membrana de las células marcapaso se despolariza gradualmente debido a la corriente I_f dependiente de sodio hasta superar un umbral de detección (-40mV para células cardiacas marcapaso, aproximadamente).

Es sabido que el corazón preserva la habilidad de contraerse rítmicamente cuando es aislado de un organismo vivo. Si el órgano es perfundido continuamente con una solución fisiológica rica en sales y oxígeno, la actividad del marcapasos del nodo SA continúa llevando a cabo disparos periódicos (Pikovsky et al, 2001).

La principal motivación de este trabajo surge a partir de recientes descubrimientos en nuestro laboratorio en donde, a escala de órgano completo, se demostró que la presencia de ruido inducido en estímulos periódicos externos directamente en el nodo SA incrementan el ancho de banda de sincronización 1:1 en el acoplamiento eléctrico-mecánico de corazón aislado (Peña-Romo et al, 2016). La respuesta contráctil fue medida mediante un tensiómetro conectado al ápice cardiaco; por consiguiente, es una aproximación de la fuerza de contracción ventricular (refiérase al Capítulo 4 de este trabajo para más información). La presencia de ruido en el estímulo eléctrico emula todas fuentes de ruido asociadas a la actividad neuronal, como se muestra en la Figura 2.5. Sin embargo, el corazón *per sé* también tiene fuentes de ruido intrínsecas, las cuales no son consideradas en este estudio.

En condiciones normales, la presencia del patrón de sincronización 1:1 es un indicativo del buen desempeño del corazón. No obstante, en condiciones patológicas no siempre se presenta (Farraj et al, 2011). En la sección 1.2 del Capítulo anterior se mostraron algunos antecedentes en donde se observó que, para células autoexcitables del nodo SA que son estimuladas eléctricamente,

variar la frecuencia así como la intensidad del estímulo puede desencadenar patrones de sincronización anómalos en la generación de potenciales de acción cardiacos (*Guevara et al, 1981*). Esta generación anómala de potenciales de acción puede verse reflejada en la respuesta contráctil del corazón.

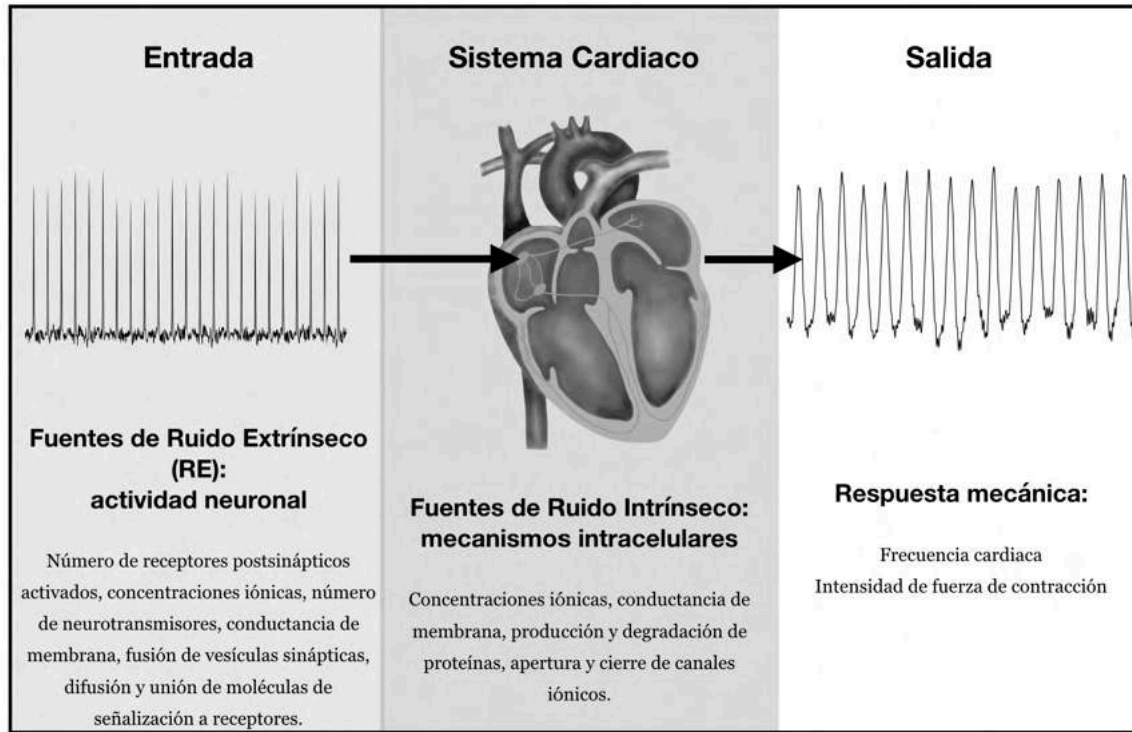


Figura 2.5. Fuentes de ruido en el modelo de corazón aislado. Todos aquellos mecanismos moleculares intracelulares, así como aquellos que se dan en la comunicación célula-célula son considerados fuentes de ruido intrínseco al corazón. Sin embargo, al estimularlo eléctricamente con una señal con ruido blanco inducido, se emulan todas aquellas fuentes de ruido asociadas a la actividad neuronal. Debido a esta estimulación, es posible cuantificar sus efectos en la respuesta mecánica del corazón: el número de eventos contráctiles (frecuencia cardíaca) así como su amplitud, la cual es una aproximación de la fuerza de contracción. Las fuentes de ruido intrínsecas del corazón no son consideradas en este estudio.

Del estudio previo en nuestro laboratorio (Figura 1.24, Capítulo 1) se observa una transición drástica entre una frecuencia de respuesta cardíaca normal (1 a 1 con respecto a la frecuencia del estímulo eléctrico) y la pérdida de esta sincronización (barras de desviación estándar grandes) a partir de una frecuencia de quiebre. Para los experimentos control, este umbral fue de 12Hz. En la Figura 2.6 se muestran ventanas temporales de 2 segundos donde se puede observar la relación que existe entre los eventos eléctricos de la estimulación (señal verde) a 12Hz y los eventos contráctiles como respuesta a este estímulo (señal azul), para distintos niveles de ruido inducido. Analizando a detalle los resultados observamos algo interesante. Algunos corazones, no perdieron completamente una sincronización con el estímulo eléctrico, sino que continuaron latiendo periódicamente pero con una frecuencia diferente a la de la estimulación. Entonces, la presencia de ruido en el estímulo podría estar induciendo patrones de sincronización anormales en el acoplamiento eléctrico-mecánico.

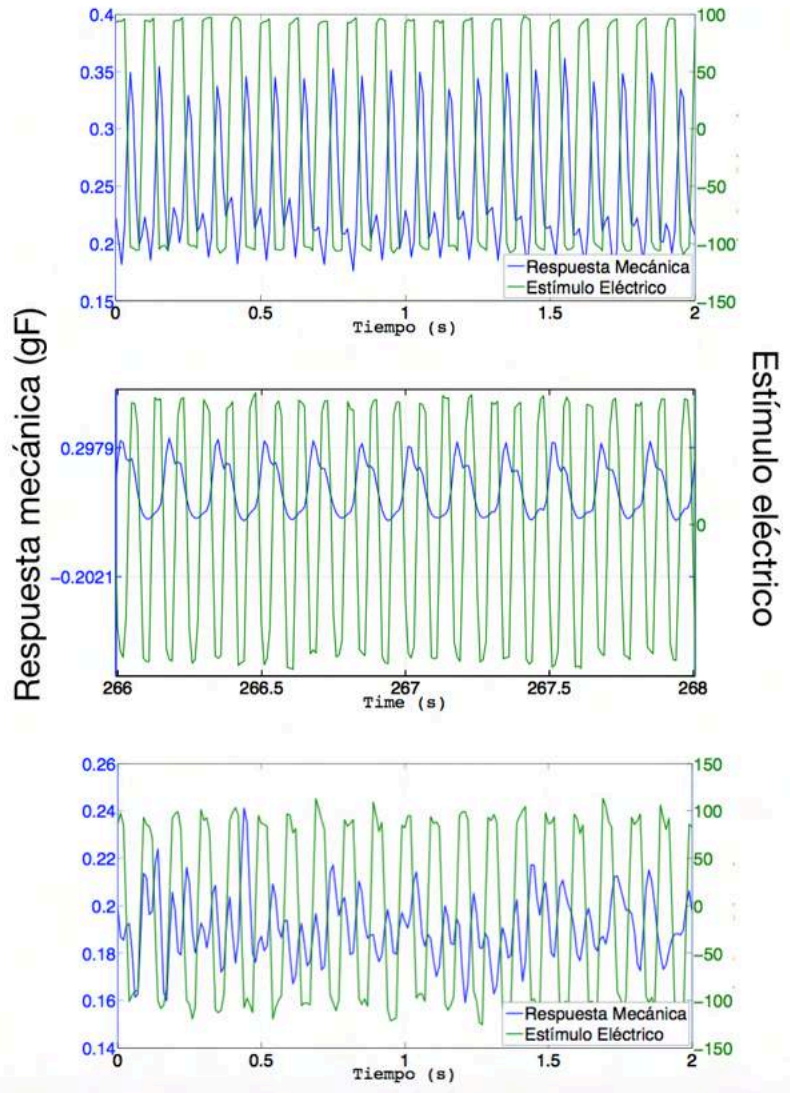


Figura 2.6 Patrones de sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico en el modelo de corazón aislado debido a la presencia de ruido (modificado de Peña-Romo et al, 2016). Bajo la presencia de bajas intensidades de ruido se mantiene el patrón de sincronización 1:1 (1 evento eléctrico que induce 1 evento mecánico, **imagen superior**). Sin embargo, algunos corazones presentaron un patrón de sincronización diferente debido al ruido inducido en el estímulo (2:1, **imagen central**). Bajo la presencia de altas intensidades de ruido en el estímulo, existe la pérdida completa de sincronización (**imagen inferior**).

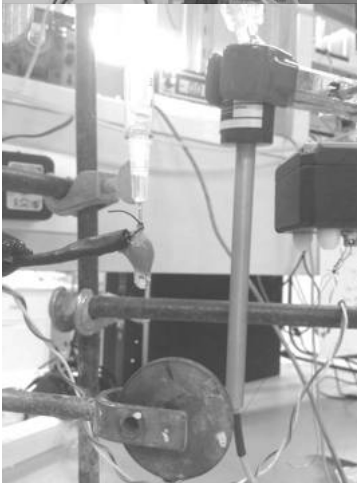
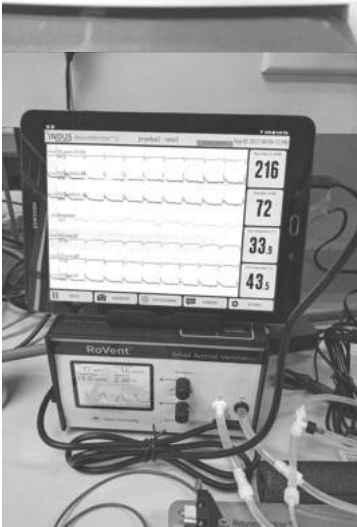
Se ha observado que en modelos neuronales (Longtin, 2000), la presencia de ruido induce $n:m$ patrones periódicos estímulo-respuesta (n estímulos desencadenando m disparos). Entonces, aplicando este principio al corazón (conformado también por células excitables), se pueden emplear técnicas electrofisiológicas donde variando la frecuencia y la intensidad de una estimulación periódica al modelo de corazón aislado, añadiendo también distintas intensidades de ruido como una variable adicional, se puede determinar la presencia de patrones de sincronización anómalos. De esta manera, se puede caracterizar más la respuesta contráctil del

corazón con más detalle bajo la presencia de ruido. Esta serie de experimentos conforman el primer bloque de este proyecto y se discuten más a detalle en los Capítulos 4 y 6.

Ahora hablaré brevemente del segundo bloque de este proyecto. Se tienen antecedentes suficientes para afirmar que la presencia de ruido afecta la actividad neuronal induciendo más disparos. Por otro lado, se tiene evidencia de que la presencia de ruido extrínseco al corazón repercute en la respuesta contráctil en el modelo de corazón aislado. Dado que el sistema nervioso autónomo está conformado por neuronas y éstas inervan al corazón induciendo cambios en su respuesta contráctil del (Figura 2.2), se propuso llevar a cabo una serie de experimentos en los cuales se pudiera estudiar el efecto del ruido blanco inducido en una electro-estimulación directamente desde el sistema nervioso central y ver su repercusión en la respuesta del corazón como órgano objetivo.

Para poder estudiar el efecto del ruido sobre la respuesta contráctil del corazón debido a la actividad neuronal, se llevaron a cabo electro-estimulaciones desde la médula espinal sobre aquellos pares nerviosos simpáticos que inervan directamente al corazón. Para monitorear la respuesta cardiaca debida a una inervación neuronal, se obtuvieron registros de ECG que proporcionan información sobre la conducción eléctrica de la fibra cardiaca y, por otro lado, perfiles de velocidad de la sangre fluyendo a través del arco aórtico debido a un evento sistólico ventricular, como una medición aproximada de la respuesta contráctil. El protocolo experimental de este montaje se describe con detalle en el Capítulo 5 y los resultados obtenidos se discuten en el Capítulo 6.

Para finalizar este Capítulo se mencionará nuevamente que el interés central de este trabajo gira en torno al efecto del ruido sobre la respuesta contráctil del corazón. Se proponen dos montajes experimentales para estudiarlo y que dependen de la escala de análisis: corazón aislado y la interacción entre el sistema nervioso y el corazón como órgano objetivo. En el siguiente Capítulo se muestran formalmente la hipótesis y los objetivos planteados para responderla, que dependen precisamente de estas dos escalas de análisis.



Capítulo 3

Hipótesis y objetivos

3.1 Hipótesis

El ruido extrínseco, asociado a la actividad neuronal que inerva al corazón, repercute en la respuesta mecánica cardíaca al aumentar su desempeño contráctil bajo la presencia de resonancia estocástica.

3.2 Objetivos

3.2.1 General

Estudiar el efecto del ruido extrínseco inducido en una electro-estimulación eléctrica periódica sobre la actividad mecánica del corazón.

3.2.2 Particulares

1. Estudiar la actividad mecánica cardíaca debida a estímulos eléctricos periódicos externos perturbados con ruido, variando tanto la frecuencia como la intensidad del estímulo, en el modelo de corazón aislado.
2. Estudiar la actividad mecánica del corazón debida al efecto del ruido inducido en la electro-estimulación, en la interacción entre el sistema nervioso autónomo y el corazón como órgano objetivo.



Capítulo 4

Estudio del efecto del ruido en el modelo de corazón aislado

Metodología y desarrollo experimental

Resultados

Estudio del efecto del ruido en el modelo de corazón aislado

El corazón, pese a que es un sistema autónomo, su regulación depende de otros sistemas con los cuales está interdependientemente comunicado, como son el sistema nervioso autónomo, sistema respiratorio, sistema renina-angiotensina entre otros (*Guyton & Hall, 2006*). Para llevar a cabo un estudio del efecto del ruido (inherente a la actividad neuronal) que altera la respuesta mecánica del corazón, de manera tal que cualquier cambio reflejado en las contracciones sea como consecuencia únicamente de la presencia del ruido, es necesario aislar al corazón.

Identificación de patrones de sincronización anómalos

Es ya de conocimiento general que cuando el corazón es removido del cuerpo y ante la ausencia de los eventos de precarga y postcarga, el órgano no pierde su propiedad contráctil. Si este órgano es perfundido continuamente con una solución fisiológica, la actividad del marcapasos de nodo sinoauricular continúa imperando en la generación de los latidos, preservando así la habilidad de llevar a cabo contracciones rítmicas (*Pikovsky et al, 2001*). Podemos homologar el montaje experimental de corazón aislado, como un oscilador cardíaco autónomo que está siendo perturbado continuamente por un señal eléctrica periódica (para más detalle, refiérase al Capítulo 1, sección 1.1.10). Bajo la escala de órgano completo, se tiene un acoplamiento maestro-esclavo entre la perturbación eléctrica periódica y la respuesta contráctil del corazón (Figura 4.1). Del registro de la actividad mecánica (y oscilatoria) del corazón se desprenden dos variables: frecuencia cardíaca e intensidad de fuerza contráctil. Puesto que el corazón se encuentra trabajando al vacío (no hay precarga ni postcarga) no puede considerarse este registro como una medición fidedigna de la fuerza de contracción (léase ley de Frank-Starling en el Capítulo 1, sección 1.1.5) si no únicamente como una aproximación de la fuerza de contráctil, dependiendo de qué tanto se distiende y se relaja la fibra cardíaca debida a un evento eléctrico.

Con esta perspectiva, se puede observar el funcionamiento del corazón bajo la presencia de ruido en la electro-estimulación con más detalle y, asimismo, encontrar que este sistema consiste en miles de pequeños osciladores normalmente sincronizados y autónomos que en conjunto tratan de acoplarse a la ritmicidad impuesta por una perturbación. Por lo tanto, el fenómeno de sincronización es muy importante en el funcionamiento del corazón.

En condiciones normales, la presencia del patrón de sincronización 1:1 en el acoplamiento eléctrico-mecánico es un indicativo del buen desempeño del corazón. No obstante, en condiciones patológicas no siempre se presenta. Una alteración en la propagación del pulso eléctrico a través de la fibra cardíaca puede desencadenar arritmias. En el Capítulo 2 se mostró que bajo el montaje de corazón aislado, se tiene evidencia de la presencia de patrones de sincronización diferentes del 1:1 (Figura 2.6).

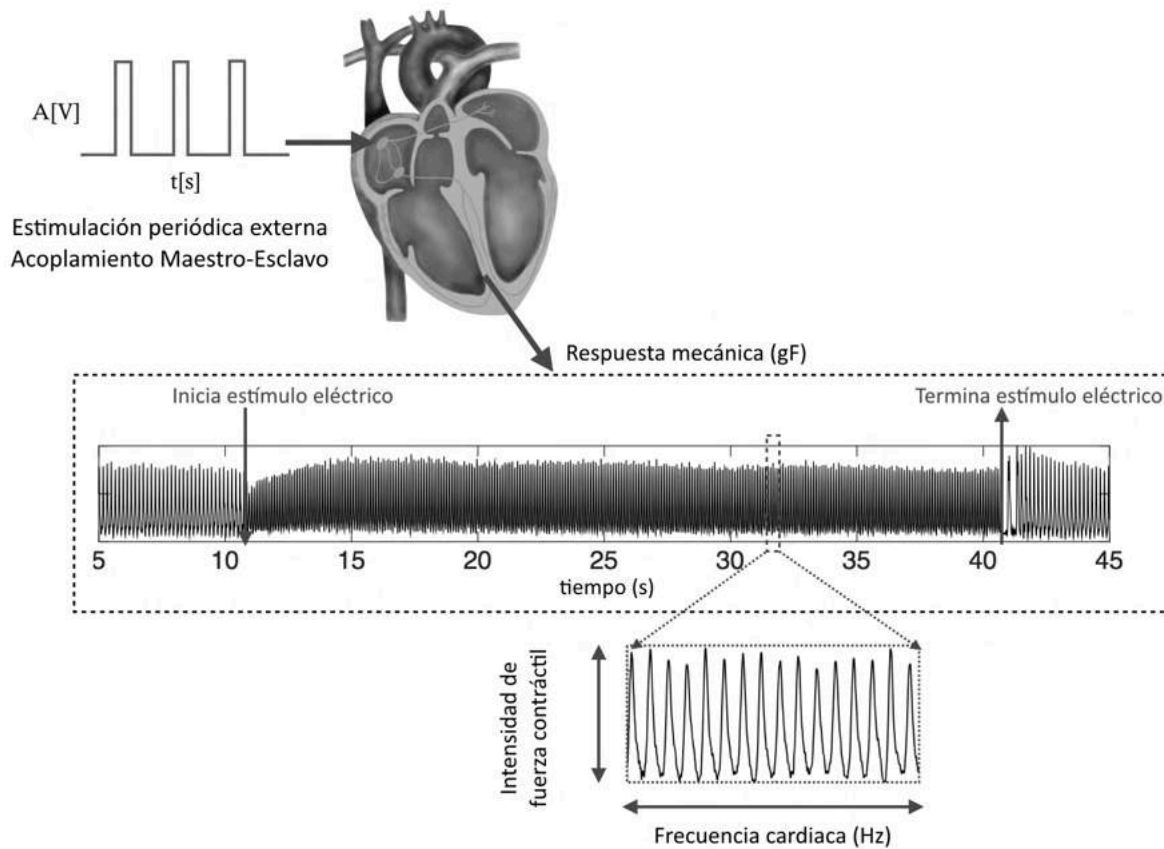


Figura 4.1 Representación del estudio de la actividad mecánica del corazón aislado debido a una estimulación eléctrica externa. En el modelo de corazón aislado, se puede homologar al corazón como un oscilador cardíaco que está siendo perturbado por una señal eléctrica periódica, a través de un acoplamiento tipo maestro-esclavo. Los registros de la respuesta mecánica permiten demostrar que las contracciones son oscilatorias, de las cuales se pueden obtener dos variables: la cantidad de eventos contráctiles en un intervalo de tiempo (frecuencia cardíaca) y la intensidad de la fuerza contráctil (qué tanto se distiende y se relaja el tejido) como una aproximación de la fuerza de contracción.

Las variables de frecuencia cardíaca e intensidad de fuerza contráctil a partir de registros de la actividad mecánica del corazón (Figura 4.1) proporcionan la información suficiente para identificar patrones de sincronización anormales debidos a una estimulación eléctrica externa con y sin ruido blanco inducido. No obstante, en este estudio no es tomada en cuenta la posible dependencia de la estimulación eléctrica a nivel celular (ni por consiguiente los mecanismos intracelulares involucrados), así como tampoco las propiedades refractarias que juegan un papel importante para valores supra de frecuencia de estimulación. La perspectiva es únicamente en la respuesta mecánica a la escala de órgano completo, equiparando al corazón aislado como una caja negra. En un modelo de caja negra, se desconoce todo lo concerniente a la estructura interna del sistema. De forma general, se maniobra aplicando un estímulo conocido (denominado entrada) al sistema y registrando la respuesta generada (salida), la cual es simplemente consecuencia de los mecanismos activados por el estímulo cuando ingresa al sistema (Figura 2.5).

4.1 Metodología y desarrollo experimental

Para los fines de este bloque del proyecto, se utilizó el montaje de perfusión de Langendorff para obtener dos variables: intensidad de fuerza contráctil y frecuencia cardíaca de corazones aislados de ratón. Los corazones fueron estimulados en la aurícula derecha desde un valor de frecuencia de electro-estimulación similar a la frecuencia cardíaca basal, hasta una frecuencia máxima de 20 Hz. Todos los procedimientos animales fueron llevados a cabo de acuerdo con las Regulaciones Federales para la Experimentación Animal y Cuidado y fueron aprobados por el Comité de Cuidado de Animales de Cinvestav (Cinvestav Zacatenco, D.F., México).

4.1.1 Extracción del corazón

Para el proyecto se utilizaron ratones macho de la cepa CD1 de 6 semanas de edad con una masa corporal aproximada entre 30 y 40g. Los animales se obtuvieron del Centro de Cuidado de Animales Experimentales de Cinvestav-IPN México y fueron aclimatados durante una semana previa a la experimentación en jaulas metabólicas (Nalgene, USA) en una habitación dentro del bioterio de Cinvestav Unidad Monterrey con una temperatura controlada (22°C) y ciclo de luz-oscuridad de 12 hrs.

Anestesia y ventilación

Los animales fueron anestesiados vía intraperitoneal con 120/6mg/kg de una solución conformada por ketamina/xylacina (*Skrzypiec-Spring et al, 2007*). Posteriormente fueron inyectados también vía intraperitoneal con 100µl de heparina de una solución 5000U/ml para evitar la generación de trombos intracoronarios. Acto seguido, se practicó una traqueostomía y se indujo ventilación mecánica con un ventilador (Ugo Basile 2802, Italy), adaptado en el laboratorio de farmacología del Cinvestav Unidad Monterrey para animales pequeños, con un volumen corriente de 0.6ml y una frecuencia de 110 ciclos por minuto.

Incisión en planos y extracción del corazón

Una vez anestesiado el animal, se llevó a cabo una incisión en la línea media desde el abdomen hasta el cuello, retirando piel y músculo. Posterior a eso se cortó el diafragma y se retiró el esternón por completo exponiendo toda la cavidad torácica. Se reconocieron las venas cavas superior e inferior así como la aorta y se identificó ésta última con un hilo de seda. Rápidamente se retiró el corazón de la cavidad, teniendo especial cuidado de cortar la aorta en un punto distal a la primera rama del cayado de manera que se pueda introducir una cánula de perfusión, sin riesgo de ocluir el orificio de las coronarias o atravesar la válvula aórtica (*Skrzypiec-Spring et al, 2007*). La cánula tiene una longitud de 15mm y diámetro de 0.95mm (*Sutherland & Hearse, 2000*).

Después de introducir la cánula con ayuda de un microscopio estereoscópico, ésta se fijó con una pinza arterial lo cual facilita la colocación definitiva de dos suturas, una distal y otra proximal, en la oliva de la cánula. Desde la remoción completa del corazón hasta el inicio de la perfusión transcurren aproximadamente entre 30 y 90 segundos. La actividad cardiaca se normaliza a los pocos segundos.

Perfusión retrógrada

La solución para perfundir al corazón extraído es un búffer de Krebs el cual está conformado por NaCl 118.5 mM, NaHCO₃ 25.0 mM, KCl 4.7 mM, MgSO₄ 1.2 mM, KH₂PO₄, 1.2 mM, glucosa 11mM y CaCl₂ 2.5 mM y oxigenado con carbógeno a un pH de 7.4 y una temperatura de 37 °C (*Broadley, 1979; Bell et al, 2011*). Esta técnica se conoce como perfusión retrógrada debido a que el flujo de nutrientes va en sentido contrario al fisiológico, esto es, en lugar de salir del corazón por la aorta, entra a través de ésta y al ejercer una presión contraria, la válvula aórtica permanece cerrada, haciendo que la solución de perfusión fluya directamente hacia las coronarias, manteniendo al tejido cardiaco irrigado, como se muestra en la en la Figura 4.2. La presión de perfusión coronaria se mantiene dentro de un rango constante (60-110 mmHg, *Bell et al, 2011*) lo cual permite una variación de flujo de acuerdo con los mecanismos de autorregulación.

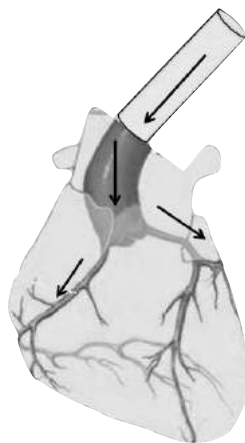


Figura 4.2 Perfusión retrógrada en el modelo de corazón aislado (modificado de *Guyton & Hall, 2006*). Al canular la aorta e introducir un flujo continuo de nutrientes, se ejerce una presión negativa en dirección contraria al flujo sanguíneo fisiológico, ocasionando que la válvula aórtica permanezca cerrada y direccionando los nutrientes hacia las coronarias, manteniendo al tejido irrigado.

Para mantener un flujo continuo de nutrientes a través de las coronarias y por ende mantener irrigada la fibra cardiaca de manera constante, el corazón aislado es montado en el sistema de perfusión de Langendorff, el cual se describe a continuación.

4.1.2 Técnica de Langendorff para corazón aislado

La preparación de Langendorff es una técnica experimental de órgano aislado. Su principio básico consiste en perfundir las arterias coronarias a través de una cánula de perfusión retrógrada insertada en la aorta. Cuando se alcanza una presión adecuada del líquido nutriente se cierra la válvula aórtica y se desvía el flujo hacia las coronarias, de modo que se perfunde la masa ventricular y el corazón late en vacío. El médico y fisiólogo alemán Oscar Langendorff describió la técnica en 1895 (*Langendorff, 1895*).

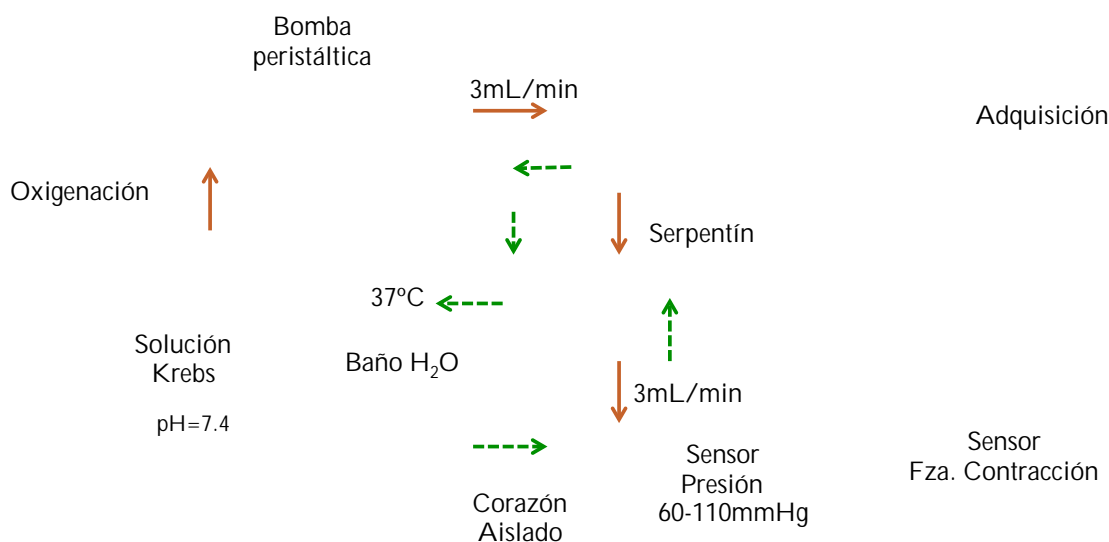


Figura 4.3. Técnica de Langendorff para corazón aislado. El corazón aislado recibe continuamente los nutrientes a través de una perfusión continua de una solución salina oxigenada a 37°C. El ápice cardíaco se conecta a un tensiómetro por medio de una polea para registrar cambios en la distensión del tejido asociados a eventos contráctiles. Un transductor de presión registra continuamente la presión en las coronarias, para monitorear el estado del corazón. Ambas señales son procesadas mediante un sistema de adquisición de datos y posteriormente analizadas en una computadora.

En la Figura 4.3 se muestra un esquema representativo de la técnica de perfusión de Langendorff. La solución de perfusión se encuentra contenida en un reservorio a un pH de 7.4 y oxigenada con carbógeno (*Larsen et al, 1999*). La solución viaja a un flujo de 3mL/min hasta la cánula de perfusión retrógrada con ayuda de una bomba peristáltica (*Masterflex*) (*Bell et al, 2011*). Para mantener la temperatura constante de 37°C, se hace circular agua desde una cámara controladora de temperatura (*PolyScience*) a través de un serpentín en un circuito de recirculación.

No es particularmente sorprendente que la preparación es comparativamente bradicárdica en comparación con el modelo *in vivo* porque el corazón aislado de ratón perfundido tiene una frecuencia promedio de 380 lpm en comparación con los 580- 600 lpm *in vivo* (*Bell et al, 2011*).

Todos los experimentos fueron llevados a cabo cuidadosamente, asegurándose de que la temperatura del tejido se mantuviera de manera confiable a una temperatura constante de 37°C.

Medición de la presión coronaria

Para monitorear el estado actual del corazón se lleva a cabo la medición de presión de perfusión en las coronarias, la cual debe estar entre 60 y 100 mmHg (*Bell et al, 2011*). Ésta se registra mediante una salida lateral de la cánula de perfusión a un sensor (Mirom 1050.1, CA) con una sensibilidad de 5uV/Volt que permite obtener una medición de presión en cmH₂O (la cual se convierte luego a mmHg) y simultáneamente, a un transductor electrónico de presión previamente calibrado en mmHg (Stoelting, Co., IL, USA). Finalmente la señal adquirida es procesada por una interfaz de adquisición de datos (Lab-Trax-4/24T) para analizarla en un software especializado (Data-Trax2) en una computadora.

Medición de la respuesta contráctil del corazón

Para medir la fuerza y frecuencia de contracción, un tensiómetro (Kent, USA) previamente calibrado en un rango de 10g es conectado al ápice del corazón aislado por medio de una polea sin fricción con un hilo de sutura de seda calibre 6 (Johnson & Johnson, Brasil) (Figura 4.3). La tensión basal fue ajustada a 0.5gF. Los registros son procesados también por la misma interfaz de adquisición de datos (Lab-Trax-4/24T) y posteriormente analizados en el software Data-Trax2. La frecuencia de muestreo para ambas señales (presión y respuesta cardíaca) es de 100 datos por segundo.

Haciendo un análisis del registro de la respuesta cardíaca se obtiene información de la frecuencia cardíaca y de la magnitud de la fuerza contráctil. La amplitud de las señales (asociada a la intensidad de la fuerza contráctil) fue calculada como la diferencia del promedio de todos los puntos máximos menos el promedio de los mínimos en cada ciclo contráctil y, con fines estadísticos, los datos fueron normalizados con respecto a la amplitud de la respuesta basal del corazón. Por otro lado, para calcular el valor de la frecuencia cardíaca como respuesta a cada frecuencia de estimulación eléctrica se obtuvieron los espectros de potencia mediante la transformada de Fourier y de esta manera se identificó la frecuencia característica de la señal.

En la Figura 4.4 se presenta una fotografía del montaje experimental donde se observa la localización de los sensores empleados. En la amplificación correspondiente al corazón aislado se puede observar que los electrodos para la estimulación eléctrica se colocaron superficialmente sobre la aurícula derecha (región donde se localiza el nodo SA) con el objetivo de no dañar el tejido. Una vez montado el corazón aislado en el sistema de perfusión Langendorff, se dejó que latiera a su frecuencia de reposo basal (6.33Hz, aproximadamente) durante treinta minutos y posteriormente se levó a cabo la estimulación eléctrica externa, como se describe a continuación.

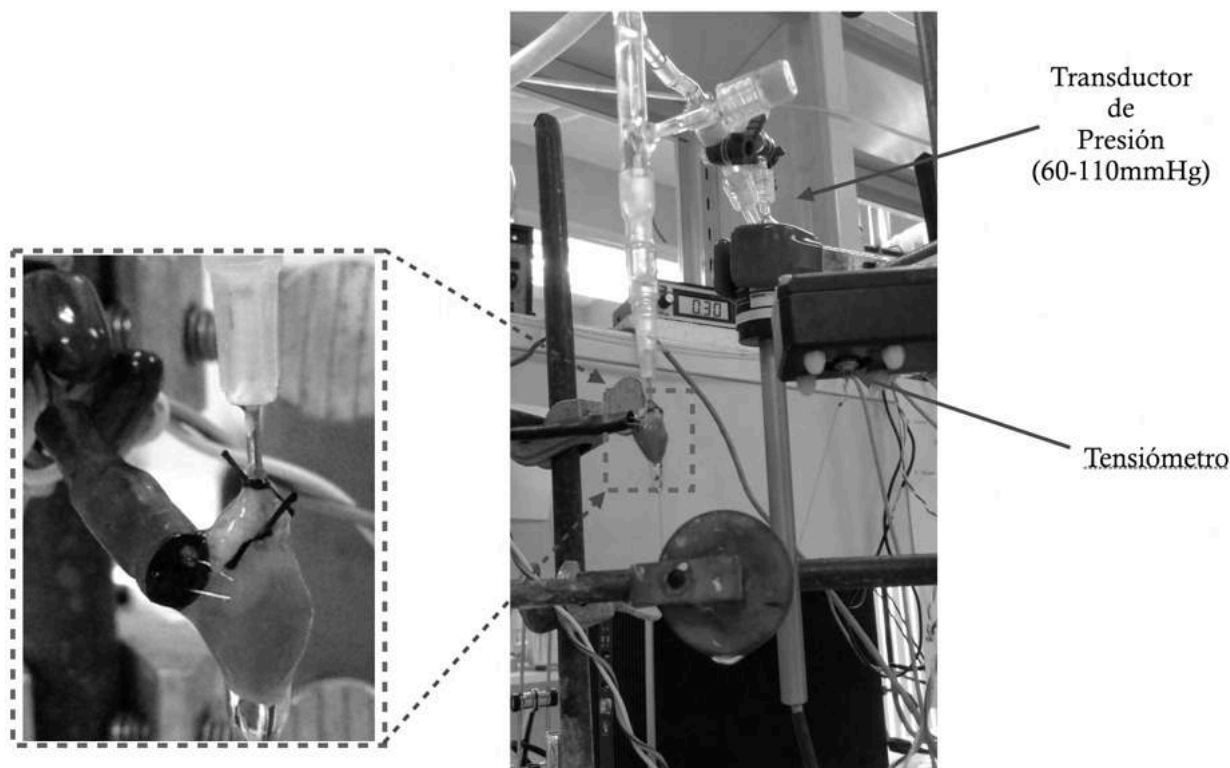


Figura 4.4. Montaje experimental para modelo de corazón aislado. El corazón es perfundido continuamente con solución fisiológica para poder llevar a cabo un estudio de su actividad mecánica debido a una estimulación eléctrica externa. Los electrodos de electro-estimulación son colocados superficialmente sobre la aurícula derecha, con el objetivo de no dañar el tejido. Para obtener registros de los cambios en la distensión del tejido, un tensiómetro se conecta al ápice cardiaco con ayuda de una polea. El estado estable del corazón se monitorea por medio de registros de presión coronaria. Una medición entre 60-110mmHg determina que el corazón está en condiciones óptimas para poder llevar a cabo registros confiables.

4.1.3 Estimulación eléctrica externa

La estimulación para el modelo de corazón aislado podría llevarse a cabo de dos distintas maneras, una de forma bioquímica, induciendo en el sistema fármacos que regulan la dinámica de los canales iónicos dependientes de voltaje y otra mediante señales eléctricas que despolarizan directamente la membrana de las células cardiacas en el nodo SA. Dadas las complicaciones que podría desencadenar el casi nulo control del ruido inducido por medio de fármacos, se optó por estimular la fibra cardiaca mediante un tren de pulsos eléctricos. Posteriormente esta señal eléctrica es perturbada por otra señal de ruido blanco cuya amplitud puede ser controlada (permitiendo manipular, con esto, el porcentaje de ruido inducido).

La estimulación para cada corazón aislado consistió en un tren de pulsos eléctricos periódicos con una amplitud variable desde 2V hasta un valor máximo de 7V (*Knollmann et al, 2006*). La morfología de dicha señal es del 5% de duración del ciclo en alto y 95% en bajo para evitar una

perturbación durante periodos refractarios. Debido a que la frecuencia basal de corazones aislados de ratón es en promedio de 380 lpm (6.33Hz) (Bell et al, 2011), la frecuencia de estimulación eléctrica inicial fue establecida en 6Hz con incrementos de 1Hz hasta una máxima de 17Hz. El tiempo de estimulación para cada rango de frecuencia fue de 30s con un tiempo de relajación sin estímulo de 10s entre cada ventana, como se esquematiza en la Figura 4.5.

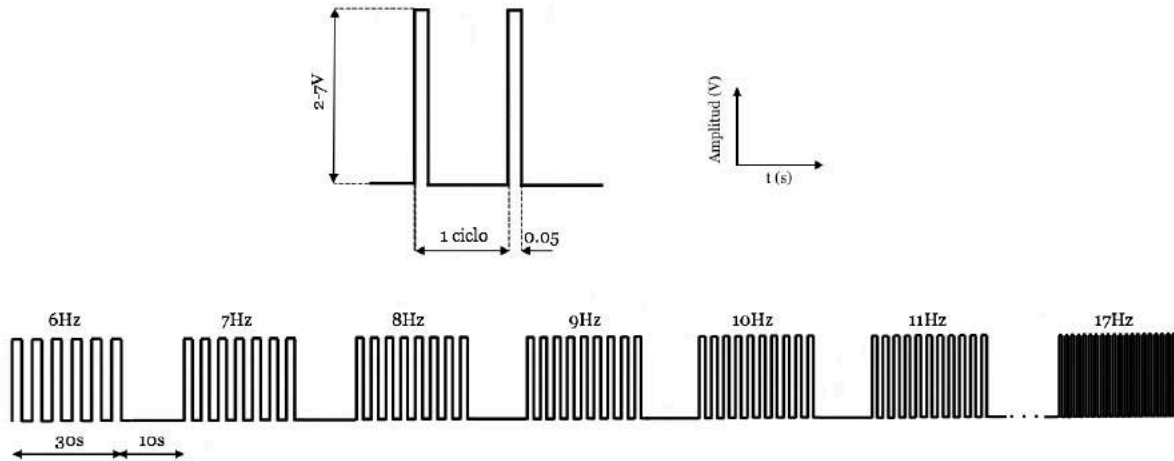


Figura 4.5. Estimulación eléctrica externa. La estimulación consiste en trenes de pulsos periódicos con 5% de la duración total del ciclo en alto, con el objetivo de evitar posibles efectos refractarios. La frecuencia de estimulación mínima es cercana a la frecuencia cardiaca basal para corazón aislado (6.33Hz) hasta una máxima de 17Hz, mediante ventanas de 30 segundos de estimulación y 10 segundos de reposo.

Para llevar a cabo lo anterior se desarrolló un generador de funciones en LabView (National Instruments, USA) cuya interfaz gráfica se muestra en la Figura 4.6. En esta interfaz es posible modificar el tipo de señal así como su frecuencia y amplitud. Posteriormente la señal es transmitida directamente sobre la aurícula derecha del corazón aislado por medio de dos electrodos de platino (Aldrich Chemistry) con diámetro de 0.25mm colocados superficialmente sobre el tejido, comunicando a la computadora con el sistema cardiaco a través de una tarjeta de adquisición de datos (NI SCB-68).

Estimulación eléctrica con ruido blanco inducido

Para la estimulación con ruido, se llevó a cabo el mismo protocolo experimental descrito con anterioridad con la diferencia de que se indujo ruido blanco aditivo a la señal con una amplitud equivalente al 10% con respecto a la señal original, esto es, se tiene el tren de pulsos eléctricos el cual es perturbado por otra señal ruidosa de amplitud variable; la suma de estas dos señales da como resultado el estímulo que excita a las células marcapaso en la aurícula derecha del corazón (Figura 4.7).

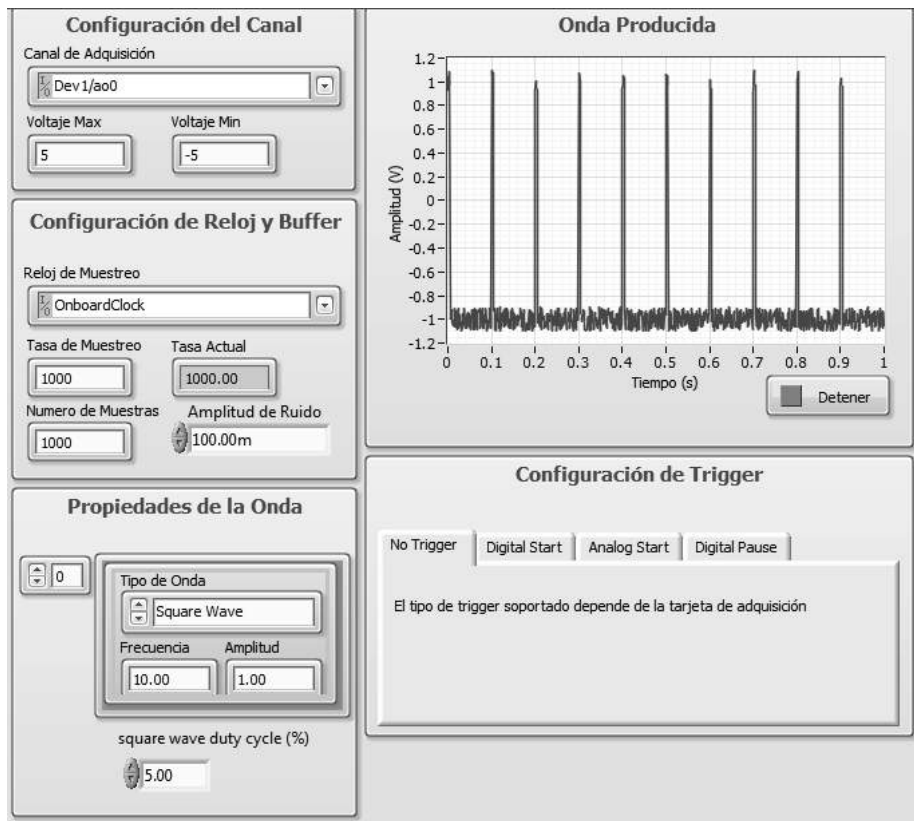


Figura 4.6. Interfaz gráfica del generador de funciones desarrollado en LabView para la electro-estimulación. Desde esta plataforma es posible controlar la frecuencia e intensidad de los pulsos eléctricos, así como la intensidad de ruido blanco inducido en la señal.

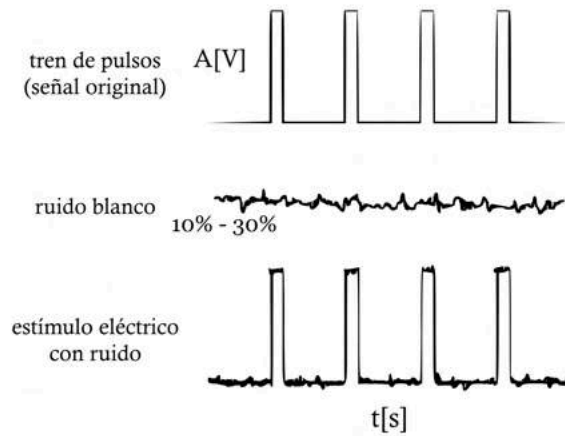


Figura 4.7. Estímulo eléctrico con ruido inducido. La señal original de tren de pulsos es perturbada por una señal de ruido blanco aditivo con 10, 20 y 30% de amplitud con respecto a la señal original. La suma de estas dos señales conforman el estímulo eléctrico perturbado con ruido.

Posteriormente se hicieron registros incrementando la amplitud del ruido blanco en 10% de amplitud con respecto a la señal original, hasta obtener una variabilidad máxima de 30%. En la Figura 4.8 se muestran algunas mediciones de la señal registradas con un osciloscopio digital (Tektronix TDS 1012B). Dichas señales con ruido también se muestran en la interfaz del

generador de funciones desarrollado en LabView. Se puede observar que la periodicidad de la señal original no se pierde, aún con la máxima intensidad de ruido inducido (30%). No obstante, las amplitudes de los pulsos, tanto en estado bajo como en alto, son irregulares entre sí. Se puede observar también que incluso la señal sin ruido, no es una señal perfectamente limpia, debido principalmente a efectos de impedancias en los equipos de medición. Sin embargo, esta señal difiere considerablemente con a la señal inducida con la mínima intensidad de ruido, el cual corresponde al 10% de amplitud con respecto a la amplitud de la señal original. Entonces, los efectos de impedancia se consideran despreciables.

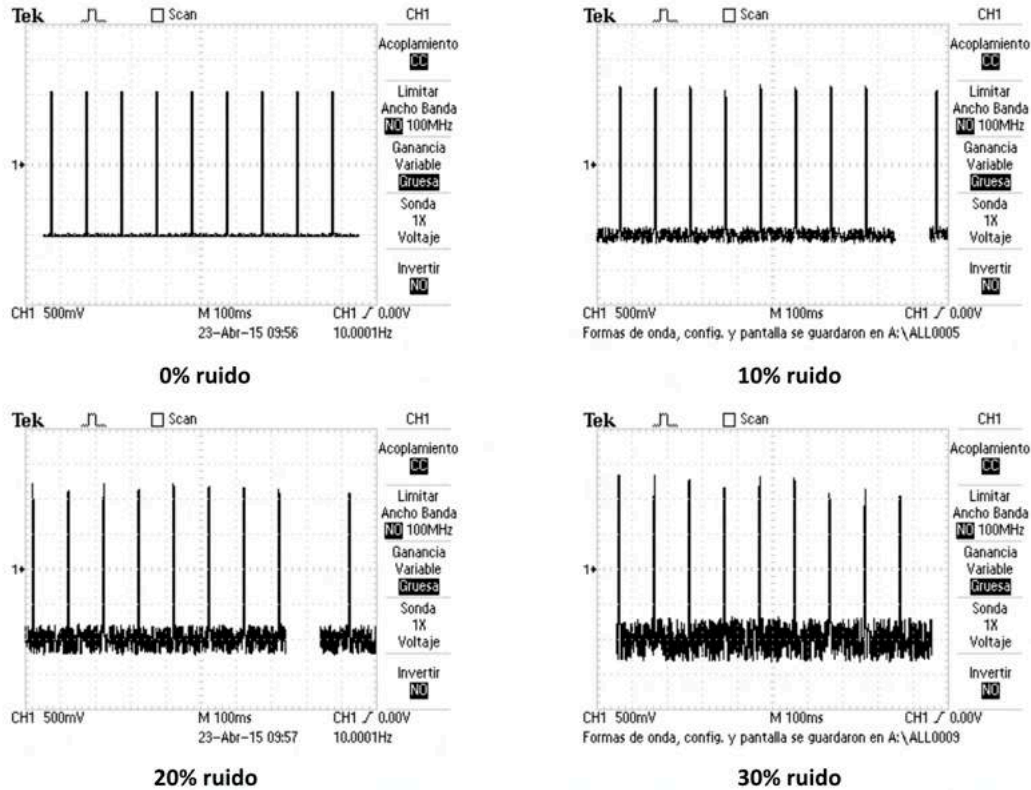


Figura 4.8. Registros de la señal eléctrica que estimula al corazón aislado a 2V y 10Hz con diferentes intensidades de ruido. La periodicidad de la señal original no se pierde, aún con altas intensidades de ruido inducido. Los efectos de impedancia en los equipos de medición se consideran despreciables.

4.1.4 Umbral de patologías cardiacas

En estudios previos de corazón aislado de ratón con estimulación eléctrica se ha determinado un umbral a partir del cual el corazón pierde la sincronización 1:1 de su respuesta con dicho estímulo, el cual está en función de la masa corporal del ratón (*Kass et al, 1998*). Dicha relación se muestra a continuación:

$$H.R._{max} = \frac{450}{m^{0.15}}$$

En donde $H.R._{max}$ es la máxima frecuencia cardiaca en latidos por minuto (lpm) antes de que se presente la pérdida de sincronización y m es la masa corporal del ratón en kilogramos (kg). Para el protocolo experimental propuesto con ratones con masa corporal entre 30 y 40g, el umbral es de 12Hz de estimulación eléctrica, aproximadamente. Este valor será de utilidad para validar el montaje experimental, lo cual se discutirá más adelante en este capítulo.

4.1.5 Métodos estadísticos

Los valores en este trabajo se informan como valor promedio \pm desviación estándar. Las comparaciones estadísticas se realizaron usando ANOVA de una o dos vías, seguido de la prueba *post hoc* de Tukey. Un valor de $P < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

Para estudiar el contenido espectral de la fuerza contráctil se usaron técnicas de procesamiento de señal estándar (véase sección 4.1.2 de este Capítulo). El análisis espectral se realizó usando la transformada rápida de Fourier (FFT). Todo el análisis fue llevado a cabo en MATLAB (The MathWorks, Natick, MA).

4.2 Resultados

Las variables de intensidad de fuerza contráctil (IFC) y frecuencia cardiaca (FC) proporcionan la información suficiente para identificar patrones de sincronización anormales debidos a una estimulación eléctrica externa con y sin ruido blanco inducido. No obstante, en este estudio no es tomada en cuenta la posible dependencia de la estimulación eléctrica a nivel celular (ni por consiguiente los mecanismos intracelulares involucrados), así como tampoco las propiedades refractarias que juegan un papel importante para valores supra de frecuencia de estimulación. La perspectiva es únicamente en la respuesta mecánica a la escala de órgano completo.

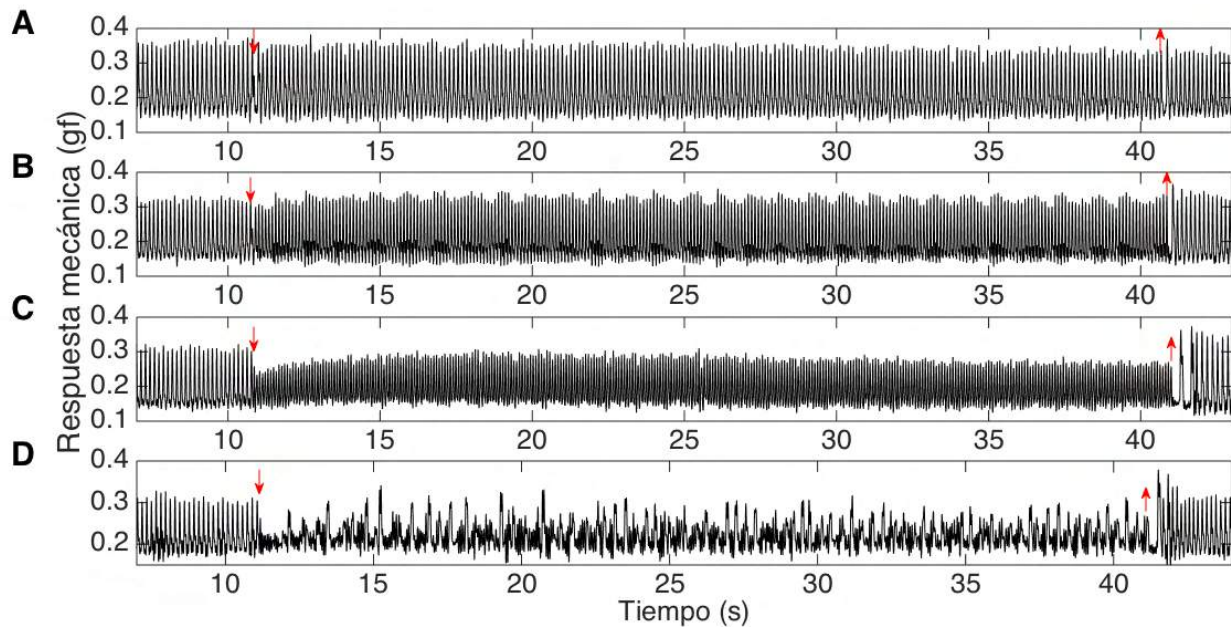


Figura 4.9. Respuesta contráctil del corazón aislado sin ruido inducido en el estímulo. Se muestran registros de la respuesta mecánica ante diferentes valores de frecuencia de estimulación a 2V. Para bajos valores de frecuencia en el estímulo **(A)** 7Hz, **(B)** 9Hz y **(C)** 11Hz, la amplitud de la respuesta cardiaca permanece constante durante la ventana de estimulación, mientras que para altos valores de frecuencia de estimulación **(D)** 17Hz, se presenta una dinámica irregular con sobreimpulsos no periódicos donde se presume que se pierde la sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico, probablemente asociado a una patología cardiaca. Los corazones recuperaron su comportamiento basal cuando se terminó la estimulación. Las flechas rojas hacia abajo indican el momento en que se inició el estímulo y las flechas rojas hacia arriba el fin de la estimulación.

4.2.1 Validación del montaje experimental: experimentos control

En la Figura 4.9 se muestran registros representativos de la respuesta mecánica de un corazón aislado estimulado eléctricamente ante diferentes frecuencias con el mínimo valor de voltaje (2V) sin ruido inducido. La amplitud de las señales se mantiene constante durante la ventana de estimulación (Figuras 4.9A-C) y tiende a decrecer conforme aumenta la frecuencia del estímulo (7 Hz 0.2404 gf, 9 Hz 0.2087 gf, 11 Hz 0.1438 gf). No obstante, para altos valores de frecuencia

(>12Hz) se presenta un comportamiento irregular y no periódico en la respuesta contráctil que pudiera estar asociado a una condición patológica (Figura 4.9D, 17Hz). Una vez terminada la estimulación externa, la respuesta mecánica se restablece a su frecuencia basal.

Con el objetivo de asegurar la fiabilidad del montaje experimental, se hicieron mediciones de la respuesta contráctil de corazones aislados debida a una estimulación eléctrica externa sin ruido inducido. La Figura 4.10 muestra los resultados de IFC (normalizada con respecto a la amplitud de la respuesta basal) para siete corazones diferentes. Para todos los valores de electro-estimulación (2-7V) puede observarse que la IFC tiende a decrecer conforme incrementa el valor de la frecuencia del estímulo. La relación que existe entre la fuerza de contracción y la frecuencia cardiaca es algo ampliamente estudiado, donde se establece que la amplitud de la respuesta mecánica tiende a decrecer conforme incrementa la frecuencia. Esto se debe a que los tiempos de relajación ventricular son cada vez más cortos (*Janssen & Periasamy, 2007*). Los resultados de este montaje experimental coinciden con los de otros estudios ya publicados para corazón aislado de ratón (*Janssen & Periasamy, 2007; Slabaugh et al, 2012*). De los resultados de IFC, hay una diferencia estadística para los grupos con los valores críticos de electro-estimulación (2V vs. 7V) ($P=0.0122$). Sin embargo, entre 2V-6V no se encontró diferencia significativa alguna ($P<0.05$).

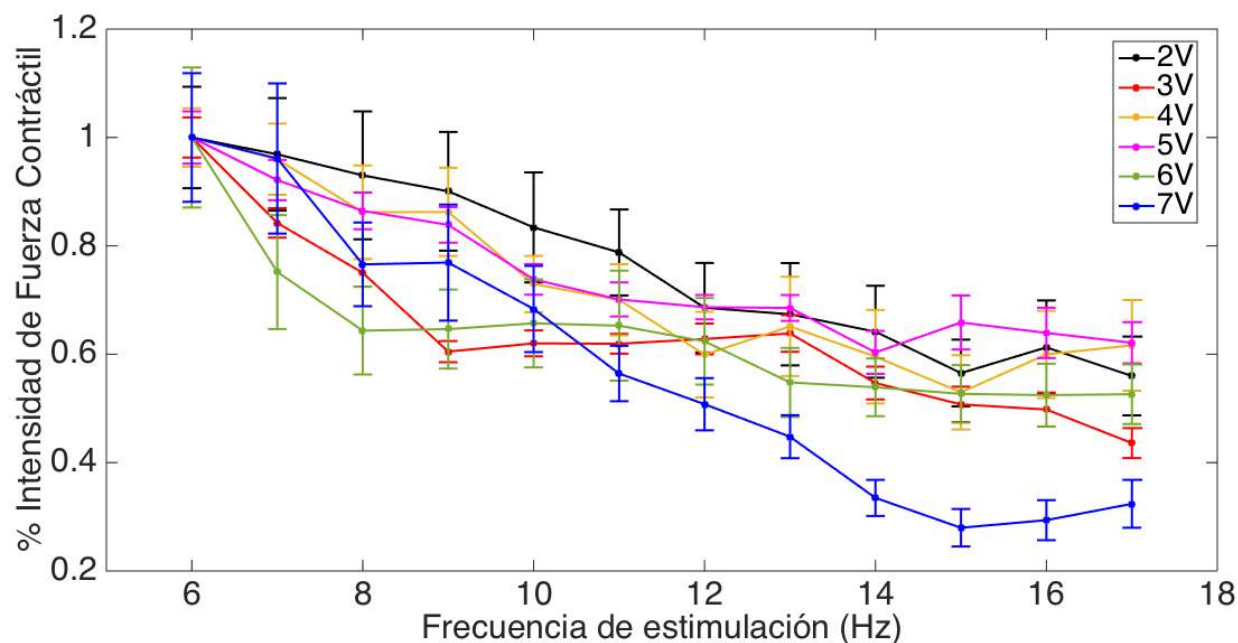


Figura 4.10. Intensidad de fuerza contráctil para experimentos sin ruido. La IFC está normalizada con respecto a la amplitud de la respuesta basal. Conforme incrementa la frecuencia de estimulación, la amplitud de la respuesta cardiaca tiende a decrecer para todas las intensidades de estimulación. (2V vs 3V $P=0.2479$, 2V vs 4V $P=0.9848$, 2V vs 5V $P=0.9997$, 2V vs 6V $P=0.2128$, **2V vs 7V $P=0.0122$** , 3V vs 4V $P=0.6615$, 3V vs 5V $P=0.4153$, 3V vs 6V $P=1.0000$, 3V vs 7V $P=0.8706$, 4V vs 5V $P=0.9990$, 4V vs 6V $P=0.6112$, 4V vs 7V $P=0.0990$, 5V vs 6V $P=0.3683$, 5V vs 7V $P=0.0318$, 6V vs 7V $P=0.9010$). Los resultados se muestran como valor promedio \pm desviación estándar ($n=7$). El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

Los resultados del análisis de la frecuencia cardiaca (FC) debido a valores ascendentes de frecuencia de electro-estimulación ante los voltajes críticos ($2V$, $7V$) sin ruido inducido se muestran en la Figura 4.11. Para experimentos concernientes a siete corazones diferentes a $2V$ (Figura 4.11A) pueden observarse una ventana a bajas frecuencias ($6-11Hz$) en la cual los corazones respondieron adecuadamente a la misma frecuencia de estimulación. Por otro lado, superando el umbral de $12Hz$, ocurre una transición drástica entre una respuesta ordenada y lineal a otra en la cual se presenta un comportamiento irregular en la repuesta mecánica y en donde la proporción 1:1 (1 evento eléctrico y consecuentemente 1 evento mecánico) aparentemente se pierde. Este valor umbral de frecuencia asociado a la pérdida de sincronización 1:1 coincide con el reportado por otro estudio de corazón aislado (*Kass et al., 1998*).

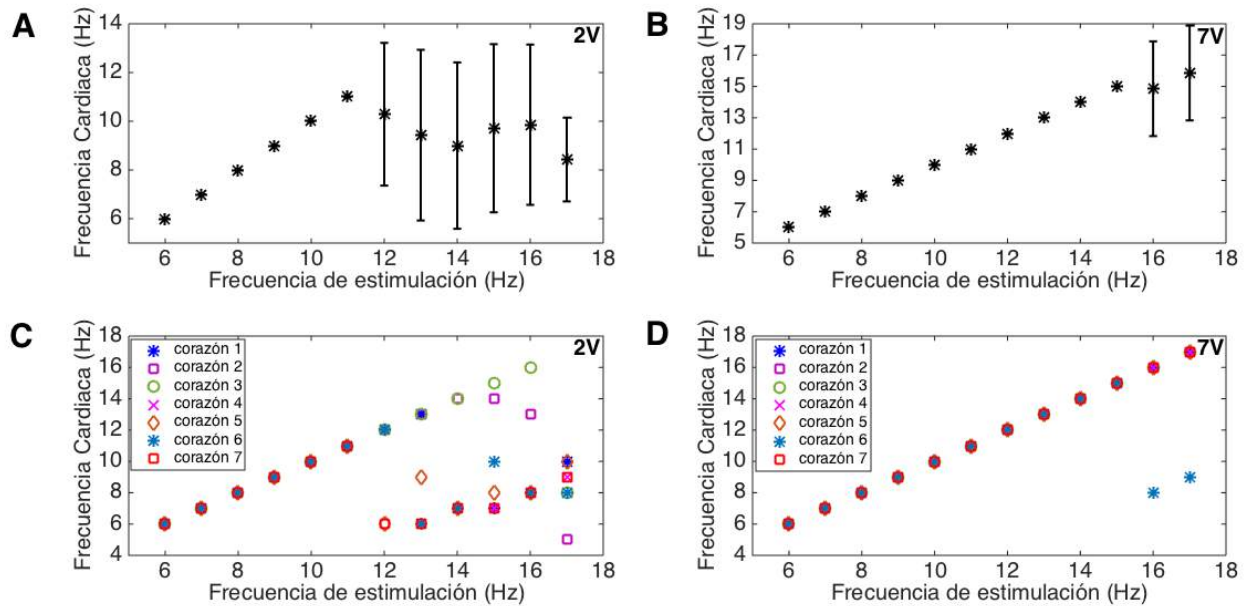


Figura 4.11 Frecuencia cardiaca de respuesta ante valores críticos de electro-estimulación ($2V$, $7V$) sin ruido inducido. (A) Resultados de frecuencia de respuesta cardiaca a $2V$. El patrón de sincronización se presenta entre 6 a $11Hz$ mientras que la aparente pérdida de sincronización se encuentra entre para altos valores de frecuencia de estimulación ($>12Hz$). (B) Frecuencias de respuesta para cada corazón aislado a $7V$. Los corazones mantuvieron el patrón de sincronización 1:1 entre 6 y $15Hz$. (C) Algunos resultados muestran que en el régimen de la pérdida de sincronización 1:1 a $2V$, algunos corazones continuaron latiendo periódicamente, pero a una frecuencia diferente a la de la estimulación. (D) Frecuencias de respuesta individuales para cada corazón aislado a $7V$. Los resultados para (A) y (B) se muestran como valor promedio \pm desviación estándar ($n=7$)

4.2.2 Identificación de patrones de sincronización en el acoplamiento excitación-contracción debido a estímulos eléctricos sin ruido inducido

Analizando a detalle los datos independientes para cada corazón (Figura 4.11C) es posible observar que arriba de $11Hz$, no todos los corazones fallaron en responder al estímulo eléctrico

(el número de eventos mecánicos no corresponde con el número de picos eléctricos de la estimulación) sino que oscilaron periódicamente con la mitad del valor en frecuencia del estímulo y, por consiguiente, se presenta un patrón anormal de sincronización 2:1 (2 eventos eléctricos por 1 mecánico). Por otro lado, al analizar los resultados de corazones estimulados con 7V (Figuras 4.11B,D) se observa que casi todos los corazones mantuvieron el régimen de sincronización 1:1 en casi todos los valores de frecuencia de estimulación (6-15Hz). Entonces, un aumento en la intensidad de la estimulación eléctrica es necesaria para compensar el valor de la frecuencia basal del corazón aislado a altas frecuencias (*Pikovsky et al, 2001*).

El modelo de corazón aislado de ratón perfundido retrógradamente determina una frecuencia basal promedio de 380 lpm (6.33Hz, *Bell et al., 2011*). Los resultados experimentales arrojados en este estudio determinaron que es casi imposible obtener una sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico cuando la frecuencia de estimulación es menor a la frecuencia basal.

Los patrones de sincronización $n:m$ fueron analizados de la siguiente manera: se aplicó la transformada de Fourier a los registros experimentales para cada una de las ventanas de electroestimulación mediante Matlab (The MathWorks, Natick, MA). Se determinaron valores:

$$c = n/m$$

en donde \mathbf{n} es la frecuencia del estímulo eléctrico y \mathbf{m} el valor de la frecuencia de respuesta contráctil del corazón; \mathbf{n} y \mathbf{m} no tienen común divisor. El arreglo experimental restringe a \mathbf{n} con valores entre 6-17Hz y \mathbf{m} está biológicamente restringido a tomar valores entre 6 Hz a un límite de frecuencia de respuesta fisiológica tolerable antes de perder completamente la sincronización. En este estudio se determinó que los corazones no presentan ningún tipo de sincronización con el estímulo eléctrico si el cociente de ambas frecuencias (valor de \mathbf{c}) no se encuentra entre los siguientes valores: $c=1$ (1:1), $c=2$ (2:1), $c=3$ (3:1), $c=0.5$ (1:2) y $c=1.5$ (3:2). La periodicidad de la respuesta cardiaca también se verificó llevando a cabo un análisis visual de los registros temporales.

En este estudio fueron identificados diversos patrones de sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico para corazones estimulados sin ruido. En la Figura 4.12 se muestra detalladamente la relación que existe entre los eventos mecánicos generados por estímulos eléctricos periódicos (ventanas de 2 segundos) y en donde pueden ser observados los diferentes patrones de sincronización que se presentaron frecuentemente: 1:1 (Figura 4.12A), 2:1 (Figura 4.12B) y 1:2 (Figura 4C). Por otro lado, en la Figura 4.12D se muestra el caso en el cual no existe un patrón de sincronización claro (la señal mecánica presenta sobre impulsos irregulares con un comportamiento no periódico).

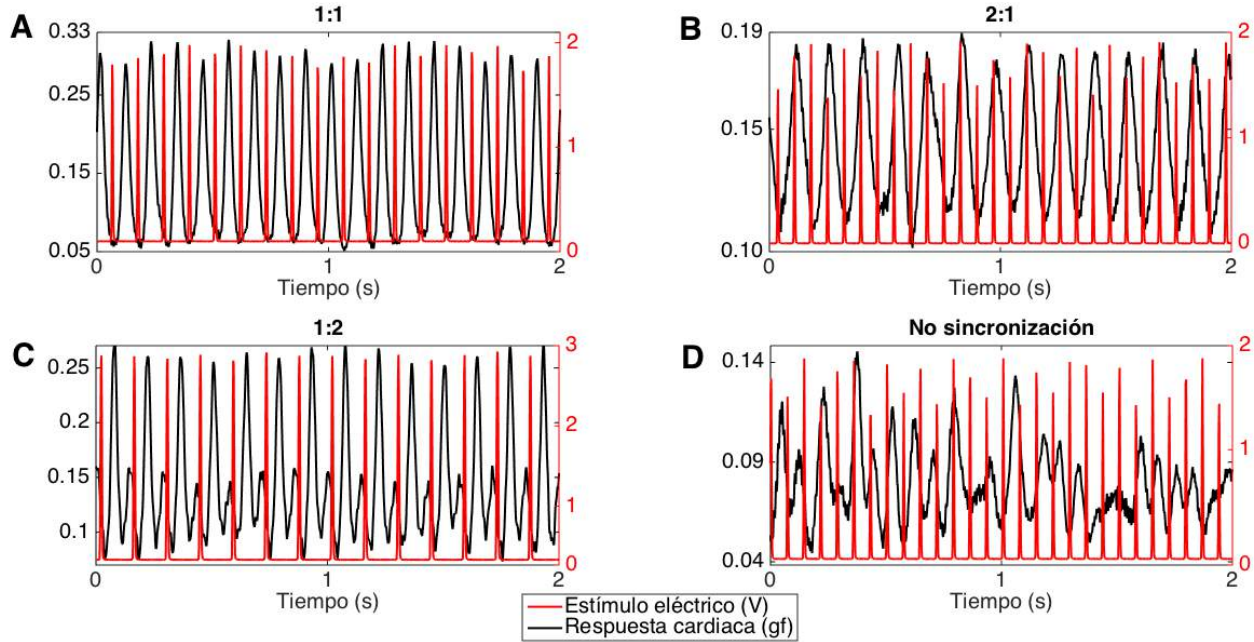


Figura 4.12. Patrones de sincronización encontrados en el modelo de corazón aislado sin ruido inducido. Los registros representativos corresponden a ventanas de 2s en donde es posible observar la proporción que existe entre los pulsos eléctricos de la estimulación (señal roja) y los subsiguientes eventos contráctiles (señal negra) **(A)** 1:1, **(B)** 2:1, **(C)** 1:2 y **(D)** no sincronización.

Estrategia de cuantificación de experimentos que presentaron un comportamiento periódico asociado a un patrón de sincronización

Para las siete repeticiones concernientes a cada intensidad y frecuencia de estimulación, los resultados experimentales fueron agrupados en arreglos hexagonales con el objetivo de cuantificar la presencia de diversos modos de sincronización (Figura 4.13A). Un hexágono corresponde al resultado de un experimento de un corazón diferente. Para fines visuales, para cada patrón de sincronización identificado en este estudio, se asignó un color diferente: azul (1:1), anaranjado (2:1), magenta (3:1), rojo (1:2), verde (3:2) y blanco, cuando no fue posible identificar un patrón de sincronización. Posteriormente, estos arreglos hexagonales fueron agrupados con el objetivo de formar *mapas de interacción* (entre la frecuencia y voltaje de estimulación) y en donde regiones asociadas a la presencia de modos de sincronización bajo las condiciones experimentales son claramente visibles (Fig. 4.13B).

El mapa de interacción correspondiente a los experimentos control (experimentos sin ruido inducido en el estímulo) se muestra en la Figura 4.16A. Pese a que se puede apreciar la robustez del corazón para mantener el régimen 1:1 (aún más, conforme incrementa la intensidad de estimulación, hay un incremento en el número de experimentos que mantienen la sincronización 1:1), en este mapa es posible identificar la presencia de diversos grupos asociados a diversos patrones de sincronización.

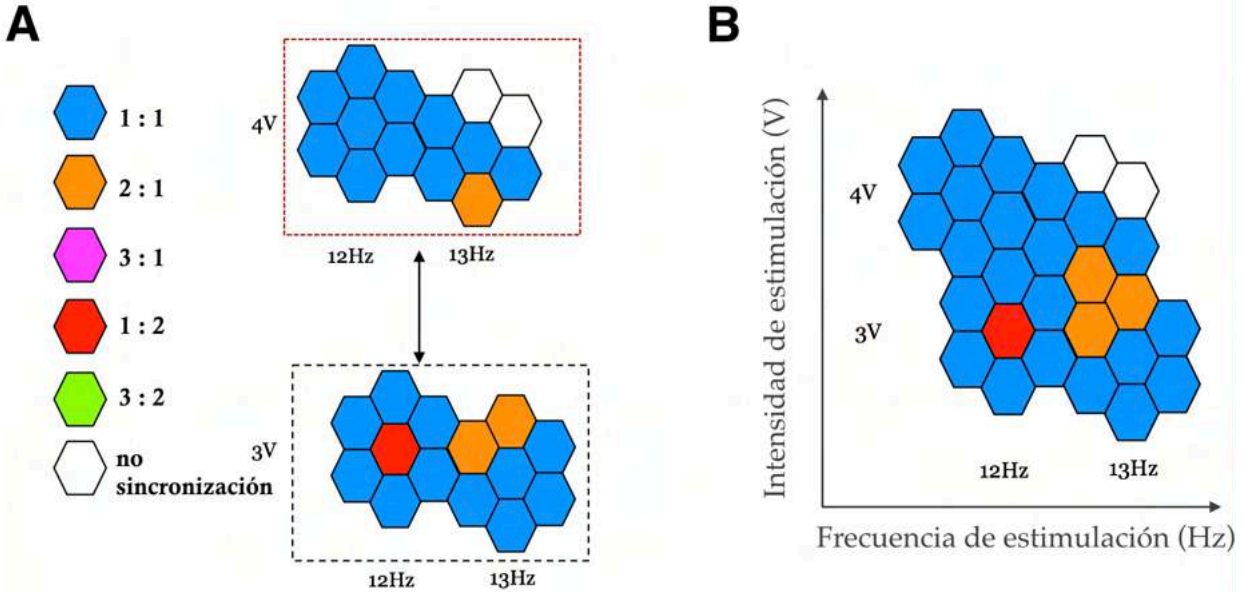


Figura 4.13. Estrategia de cuantificación de la presencia de patrones de sincronización en el modelo de corazón aislado. (A) Para fines visuales, la presencia de cada patrón de sincronización encontrado en los experimentos fue asociado a un color (azul 1:1, anaranjado 2:1, magenta 3:1, rojo 1:2 y verde 3:2) mientras que la ausencia de sincronización está representada de color blanco. Posteriormente, los resultados para las siete repeticiones con la mismas condición de frecuencia e intensidad de estimulación fueron agrupados en un arreglo hexagonal. (B) Los arreglos hexagonales para cada frecuencia e intensidad de estimulación fueron a su vez agrupados para formar un gráfico denominado *mapa de interacción* entre la intensidad y la frecuencia del estímulo. Esos gráficos permiten demostrar la presencia de patrones de sincronización para todos los experimentos.

Se considera como grupo asociado a un modo de sincronización a aquel en el cual al menos tres experimentos presentan el mismo patrón periódico bajo las mismas condiciones de intensidad y frecuencia de estimulación. En la Figura 4.16A se observa que para experimentos llevados a cabo con 2V y 12-16Hz, es posible observar el patrón de sincronización 2:1 (hexágonos anaranjados). Por otro lado, existen dos grupos asociados al patrón de sincronización 1:2 (hexágonos rojos) para bajas frecuencias de estimulación (6-10Hz) e intensidades entre 3-6V. Existen también experimentos que arrojaron un modo de sincronización 3:2 (hexágonos verdes) para 2V, 15Hz y 3:1 para 15Hz con intensidades de 4 y 6V (hexágonos magentas). No obstante, estos últimos no se encuentran dentro de un grupo y por consiguiente son considerados como casos aislados.

4.2.3 Presencia de diversos patrones de sincronización debido a estimulación eléctrica con ruido inducido.

Una vez que el montaje experimental fue validado al poder identificar la presencia de diversos patrones de sincronización en corazón aislado, se analizó la influencia de estímulos perturbados con ruido en la respuesta contráctil. Una señal de ruido blanco Gaussiano con diferentes intensidades (10, 20 y 30% de amplitud con respecto a la señal eléctrica original) fue añadida a la señal de estimulación y se obtuvieron registros de la respuesta mecánica. Los resultados para

IFC debida a estímulos con ruido en los valores críticos de electro-estimulación se muestran en la Figura 4.14. Como puede observarse, independientemente de la intensidad de ruido inducido, la IFC (normalizada con respecto a la respuesta basal) decrementa conforme incrementa la frecuencia de estimulación. No se encontró ninguna diferencia significativa entre el grupo control (experimentos sin ruido) y grupos con diversas intensidades de ruido, tanto para 2V como para 7V ($P < 0.05$).

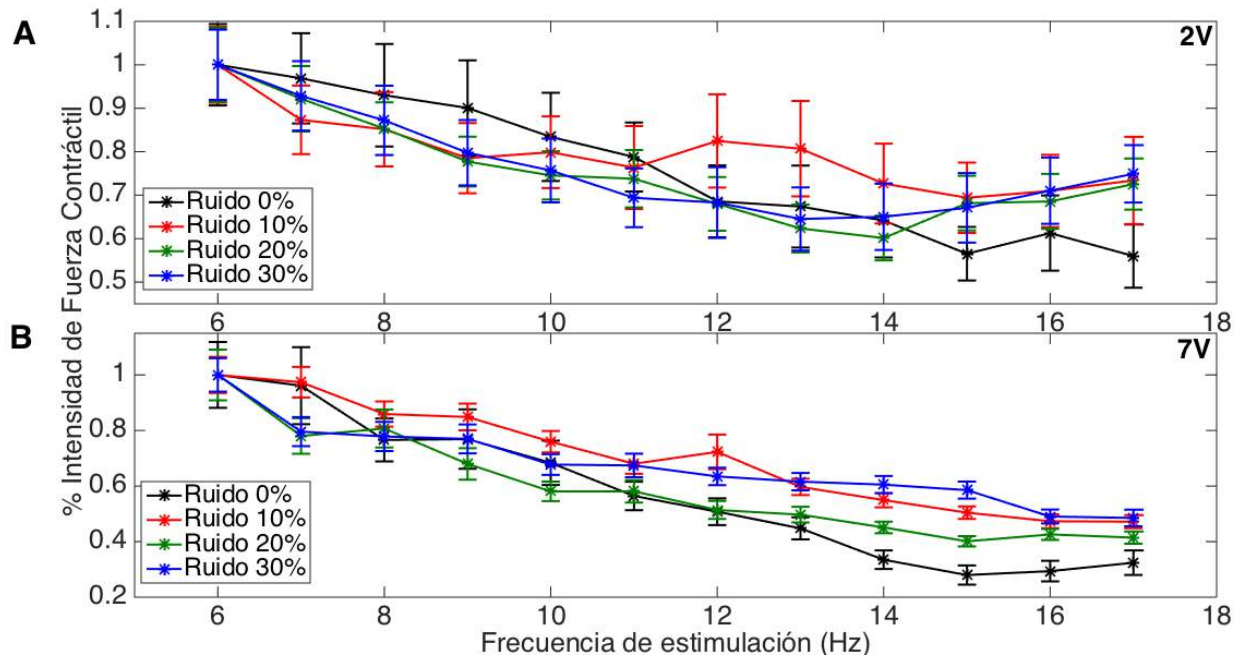


Figura 4.14. Efecto del ruido en la IFC para los valores críticos de electro-estimulación. Conforme incrementa la frecuencia de estimulación, la amplitud de la respuesta cardíaca tiende a decrecer. **(A)** Estadística para 2V (control vs 10% ruido, $P=0.9627$, control vs 20% ruido $P=0.9988$, control vs 30% ruido $P=1$). **(B)** Estadística para 7V (control vs 10% ruido, $P=0.0597$, control vs 20% ruido $P=0.9873$, control vs 30% ruido $P=0.2040$). Los resultados se muestran como valor promedio \pm desviación estándar ($n=7$). El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

Registros representativos donde es posible apreciar los diversos modos de sincronización encontrados en experimentos con ruido se muestran en la Figura 4.15. Adicionalmente del patrón de sincronización 1:1 (10% ruido, Figura 4.15A), puede observarse el patrón 1:2 (10% ruido, Figura 4.15B) así como 2:1 (10% ruido, Figura 4.15C), similares a los encontrados en los experimentos control. Adicionalmente, se presentaron los patrones: 3:1 (20% ruido, Figura 4.15D) y 3:2 (20% ruido, Figura 4.15E). La ausencia de sincronización se presentó mayormente en experimentos con altas intensidades de ruido inducido (30% ruido, Figura 4.15F).

Los mapas de interacción correspondientes a experimentos con ruido se muestran en las Figuras 4.16B-D. Como puede observarse en la Figura 4.16B, en los resultados con 10% de ruido hay más experimentos que presentaron el patrón 1:1 comparado con experimentos control (Figura 4.16 A). Además, bajo las mismas condiciones de frecuencia e intensidad de estimulación, se

presentaron las mismas regiones asociadas a patrones de sincronización 2:1 y 1:2 pero estos grupos son más pequeños que aquellos encontrados en los controles. Asimismo, un grupo asociado al patrón 3:1 puede ser observado a 5V y 15Hz.

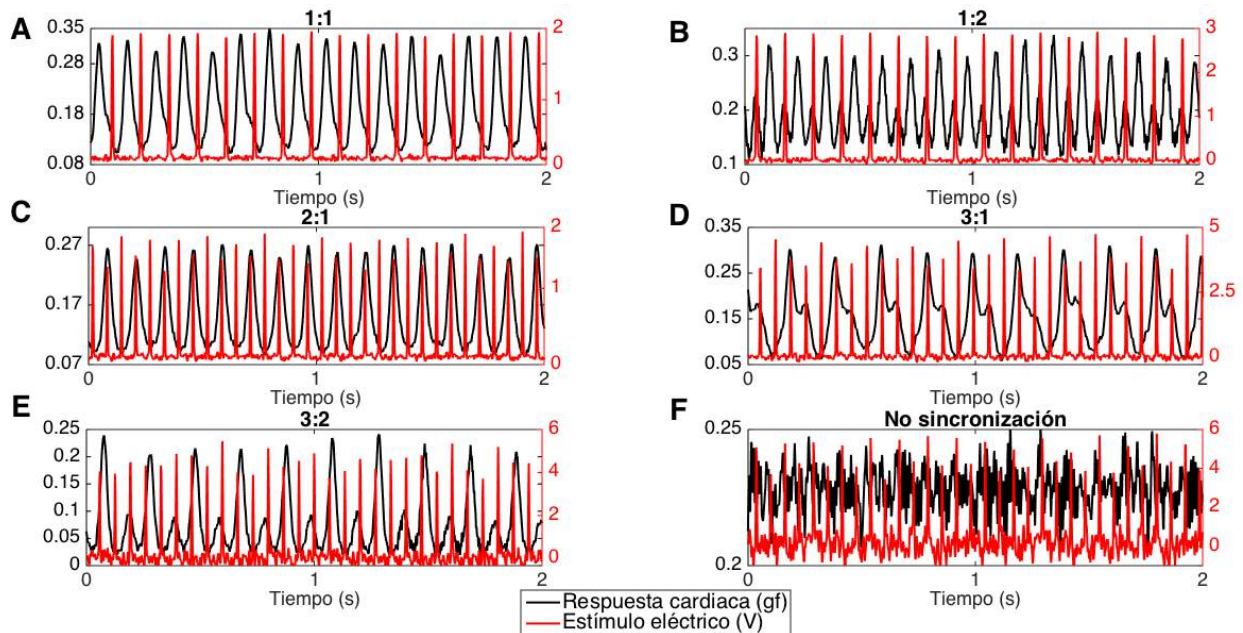


Figura 4.15. Patrones de sincronización encontrados en el modelo de corazón aislado ante la presencia de ruido inducido en la electro-estimulación. Los registros representativos corresponden a ventanas de 2s en donde es posible observar la proporción que existe entre los pulsos eléctricos de la estimulación (señal roja) y los subsecuentes eventos contráctiles (señal negra) para distintas intensidades de ruido (A) 1:1, 10% ruido, (B) 1:2, 10% ruido, (C) 2:1, 10% ruido, (D) 3:1, 10% ruido y (E) 3:2, 20% ruido. Para altas intensidades de ruido, la mayoría de los experimentos no presentaron una sincronización clara (F) no sincronización, 30% ruido.

Por otro lado, en la Figura 4.16 C se muestra el mapa de interacción para experimentos con 20% de ruido. Aquí se presentan más grupos asociados a diferentes patrones de sincronización diferentes del 1:1 con respecto a los controles: tres grupos pertenecientes al régimen 1:2 (2V, 4V y 6V, entre 8-10Hz), dos grupos pertenecientes al patrón 2:1 (2V, 6V, 12-16Hz) y un grupo asociado al patrón de sincronización 3:2 (16Hz, 4V). La ausencia de sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico se presentó con más frecuencia en experimentos con 30% de ruido (Figura 4.16D), no obstante, se presentaron tres patrones de sincronización diferentes: 2:1 (2V, 4V, 11-14Hz), 1:2 (2V, 4V, 6V, 7-9Hz) y 3:1 (6V, 9-10 Hz).

Debido a que el patrón de sincronización 1:1 está asociado con un acoplamiento eléctrico-mecánico fisiológicamente normal, el porcentaje de estos eventos para los experimentos llevados a cabo en cada mapa de interacción fue cuantificado como una métrica del desempeño del corazón. La Figura 4.17 muestra el desempeño del corazón para cada intensidad de ruido. Como puede observarse, el máximo desempeño se obtuvo con experimentos con 10% ruido inducido (80.55% vs. control 73.01%), mientras que para 30% ruido, el desempeño fue menor que el obtenido en experimentos control (63.88%). Para experimentos con 20% ruido, el desempeño fue de 78.77%.

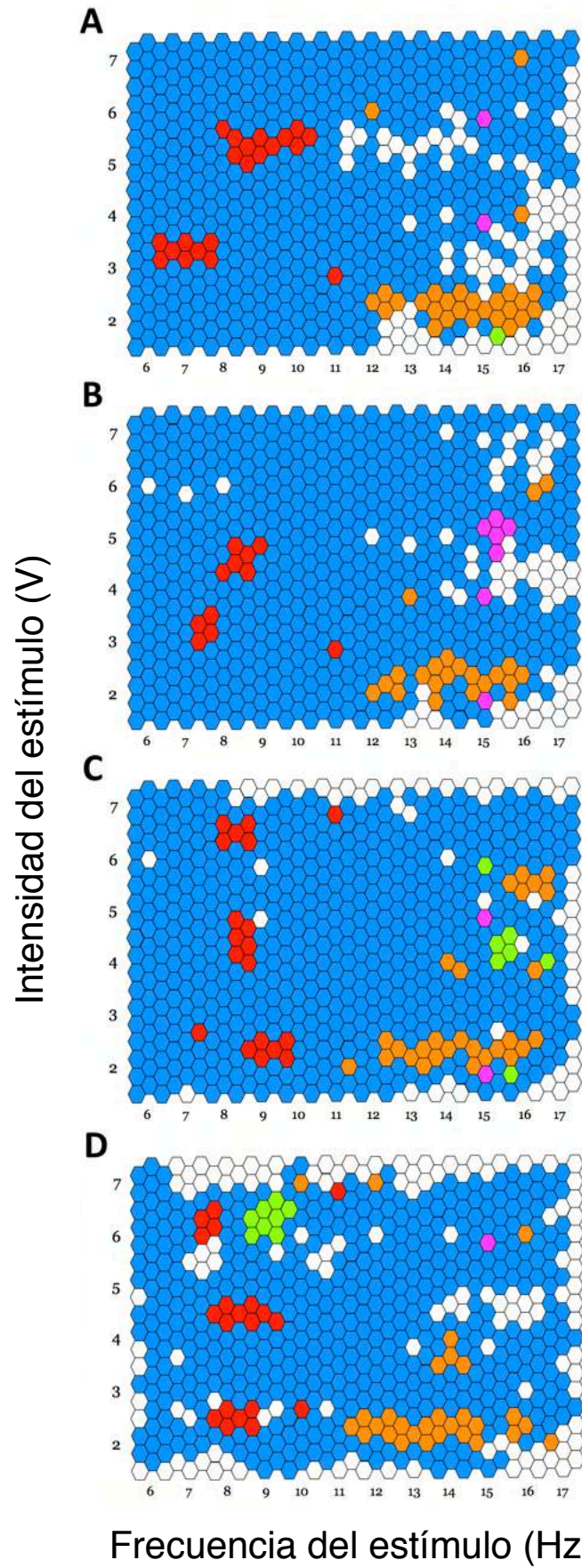


Figura 4.16 Mapas de interacción entre la frecuencia e intensidad de estimulación para todos los niveles de ruido (página anterior). Cada hexágono representa el resultado de un experimento diferente (azul 1:1, anaranjado 2:1, magenta 3:1, rojo 1:2, verde 3:2 y blanco no sincronización) **(A)** Mapa de interacción para experimentos control (sin ruido). La robustez del corazón en mantener el patrón de sincronización 1:1 (hexágonos azules) es evidente para experimentos sin ruido inducido, sobre todo cuando la intensidad del estímulo incrementa. No obstante, dos grupos asociados a los patrones de sincronización 2:1 (hexágonos anaranjados) y 1:2 (hexágonos rojos) son evidentes. **(B)** Mapa de interacción con 10% ruido. Comparado con el grupo control, más experimentos presentaron el patrón de sincronización 1:1 y, por otro lado, los grupos asociados a patrones de sincronización anormales son más pequeños. **(C)** Mapa de interacción con 20% ruido. La presencia de más grupos asociados a patrones de sincronización anormales es evidente, comparado con los encontrados en el grupo control. **(D)** Mapa de interacción con 30% ruido. La pérdida de sincronización se presentó con más asiduidad en los experimentos que se llevaron a cabo con 30% ruido.

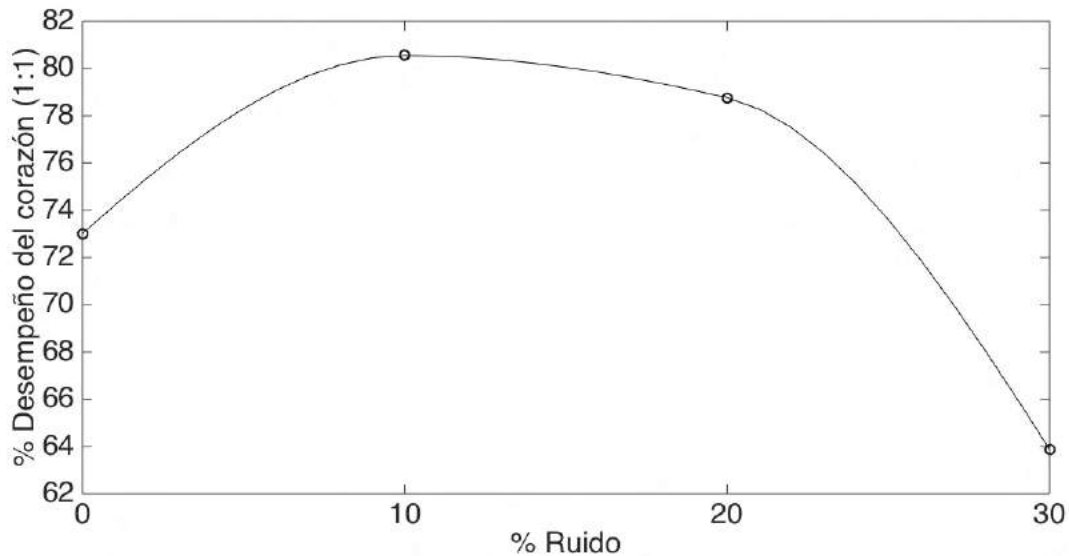
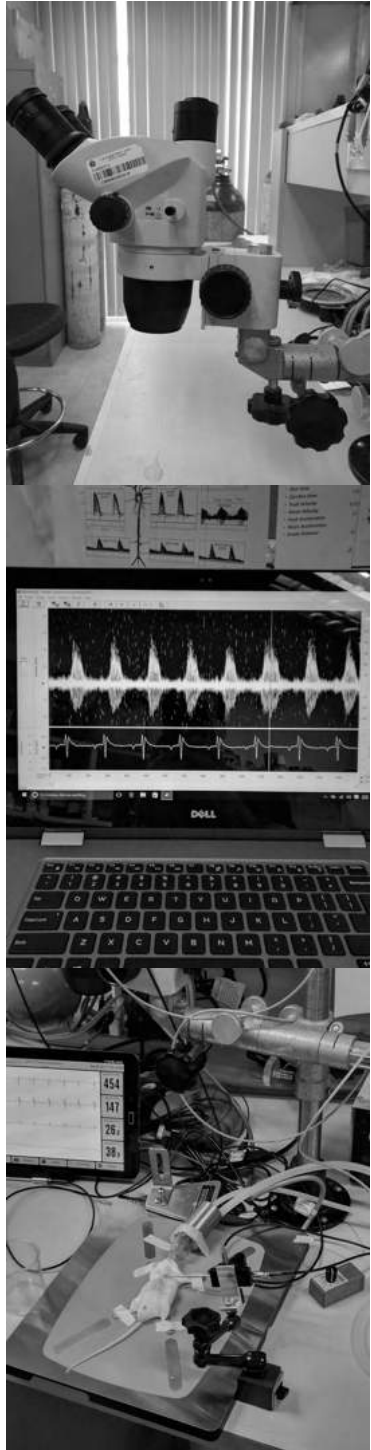


Figura 4.17 Curva de resonancia estocástica en el modelo de corazón aislado ante la presencia de ruido. Se calculó el porcentaje de experimentos que presentaron el patrón de sincronización 1:1 para cada mapa de interacción, como una medida del desempeño del corazón en su respuesta contráctil. El máximo desempeño se obtuvo ante la presencia de 10% ruido, mientras que para 30% ruido, el desempeño fue menos que el grupo control. Control: 73.0158%, 10% ruido 80.5555%, 20% ruido 78.7698% y 30% ruido 63.8888%.

La discusión a detalle de estos resultados se encuentra en el Capítulo 6.



Capítulo 5

Estudio del efecto del ruido en la interacción entre el sistema nervioso autónomo y el corazón como órgano objetivo

Metodología y desarrollo experimental

Resultados

Estudio del efecto del ruido en la interacción entre el sistema nervioso autónomo y el corazón como órgano objetivo

A pesar de que múltiples factores pueden influir en la actividad cardíaca y en las funciones vasculares, el control ejercido por el sistema nervioso autónomo concerniente a la presión arterial, al gasto cardíaco y su distribución, juega un papel preponderante. A partir de sus mediadores, los sistemas simpático y parasimpático actúan sobre los diversos órganos de manera antagónica. Por lo regular, los dos presentan una actividad tónica; por ello, es suficiente la variación del tono de uno o de otro para provocar las modificaciones funcionales de los órganos que controlan (Conti, 2010). Justamente gracias a las intervenciones de naturaleza contraria estos son capaces de estimular o inhibir, con base en las exigencias del organismo, la función del corazón.

El sistema nervioso autónomo ejerce un efecto directo sobre la respuesta mecánica del corazón, tanto en la frecuencia cardíaca como en la fuerza de contracción. En el Capítulo 2 se mostró un diagrama a bloques en donde se esquematizan los procesos que hay detrás de estos efectos regulatorios para el sistema simpático (Figura 2.2). En el desarrollo de este trabajo se ha planteado, mediante dos técnicas experimentales, emular la acción simpática y su repercusión en la respuesta contráctil del corazón mediante técnicas electro-fisiológicas. En la Figura 5.1, como una modificación de la Figura 2.2, se muestra la interpretación que existe entre la vía fisiológica y las electro-estimulaciones propuestas para el control de la respuesta contráctil del corazón mediante la vía simpática. Ambos estímulos emulan la actividad eléctrica que tiene su origen en el hipotálamo. Para el modelo de corazón aislado, el estímulo eléctrico que converge en el nodo SA prescinde de muchos procesos biológicos que hay detrás, como la propagación del impulso desde el sistema nervioso central, el proceso sináptico y la actividad neuronal periférica. Por consiguiente, se propuso llevar una serie de experimentos en los cuales sea posible estudiar la interacción del sistema nervioso simpático y el corazón como órgano objetivo (y de esta manera, considerar condiciones fisiológicas más acordes a la realidad biológica) con la particularidad de añadir un parámetro más a esta interacción: el ruido.

El ruido permea en todos los niveles del sistema nervioso, desde la percepción de las señales sensoriales hasta la generación de respuestas motoras, y plantea un interesante punto de análisis para el procesamiento de la información. En los últimos años, se ha estudiado de manera cuantitativa el alcance a los cuales el ruido está presente y cómo el ruido da forma a la estructura y función del sistema nervioso. Sin embargo, no se tiene evidencia de cómo el ruido asociado a la actividad neuronal pudiera repercutir en el corazón.

En el Capítulo 1 (en la sección 1.2) se mostraron algunos antecedentes en los cuales se ha demostrado que el ruido juega un papel importante en la actividad neuronal y también se mostró el primer estudio enfocado en analizar el rol del ruido en la respuesta contráctil de

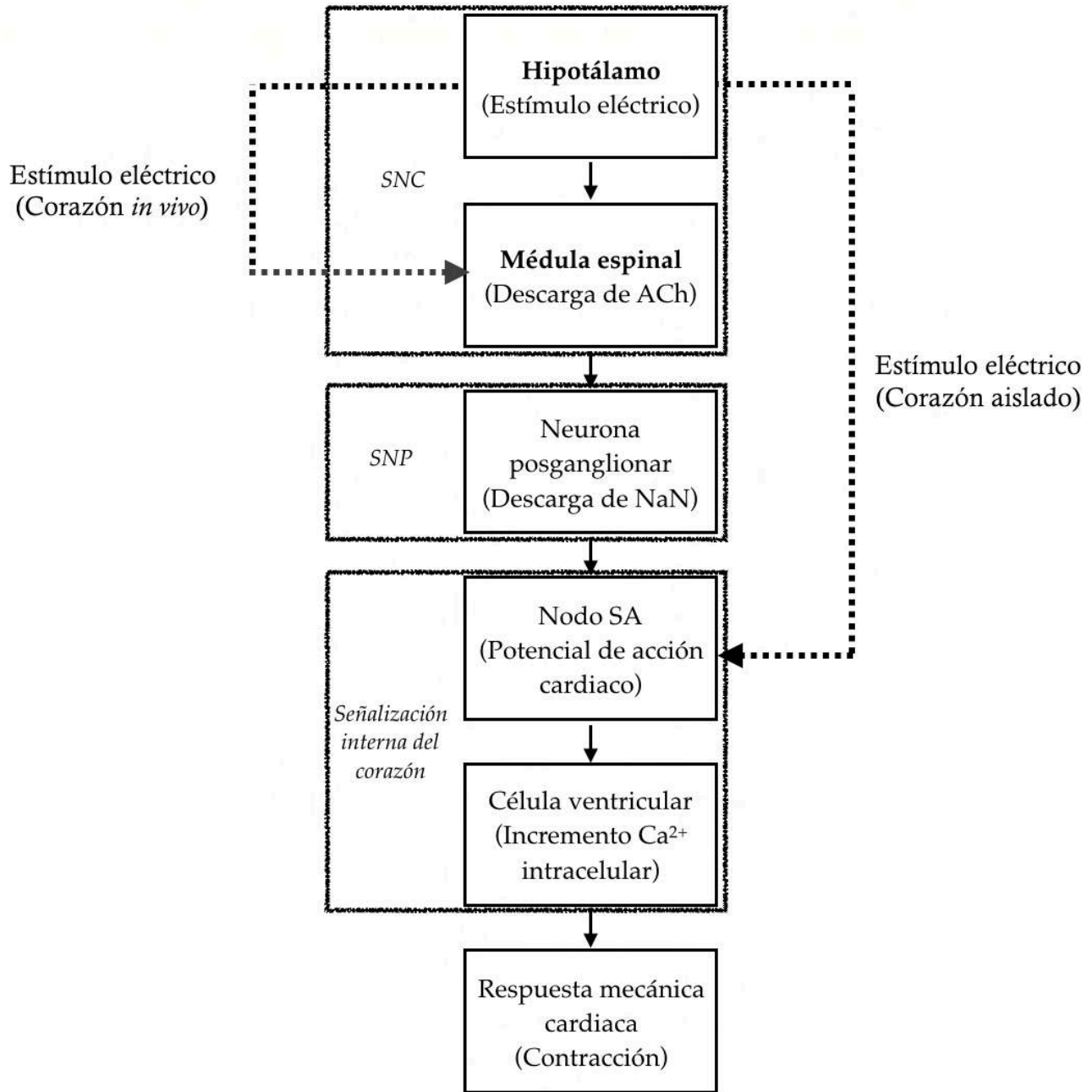


Figura 5.1 Aproximaciones experimentales de electro-estimulación para estudiar el efecto del ruido en la respuesta contráctil del corazón debida al sistema nervioso simpático. Emulando los procesos fisiológicos que hay detrás de la actividad neuronal en la inervación del corazón, se llevaron a cabo procesos de electro-estimulación con ruido inducido a dos escalas diferentes: estímulos directamente en el nodo SA (modelo de corazón aislado) y estímulos desde la médula espinal sobre las fibras nerviosas simpáticas que inervan al corazón (corazón *in vivo*).

corazón aislado. En ambos escenarios, se demostró que la resonancia estocástica está presente. En el Capítulo 4 se demostró nuevamente la presencia de resonancia estocástica en el modelo de corazón aislado, al variar tanto la intensidad y frecuencia de la electro-estimulación con diferentes intensidades de ruido inducido. En este Capítulo se presenta la metodología propuesta para llevar a cabo el estudio del ruido (asociado a la actividad neuronal) sobre la respuesta mecánica del corazón debida a electro-estimulaciones con ruido inducido directamente desde la médula espinal sobre los pares nerviosos simpáticos que inervan al corazón (Figura 5.2) así como los resultados obtenidos.

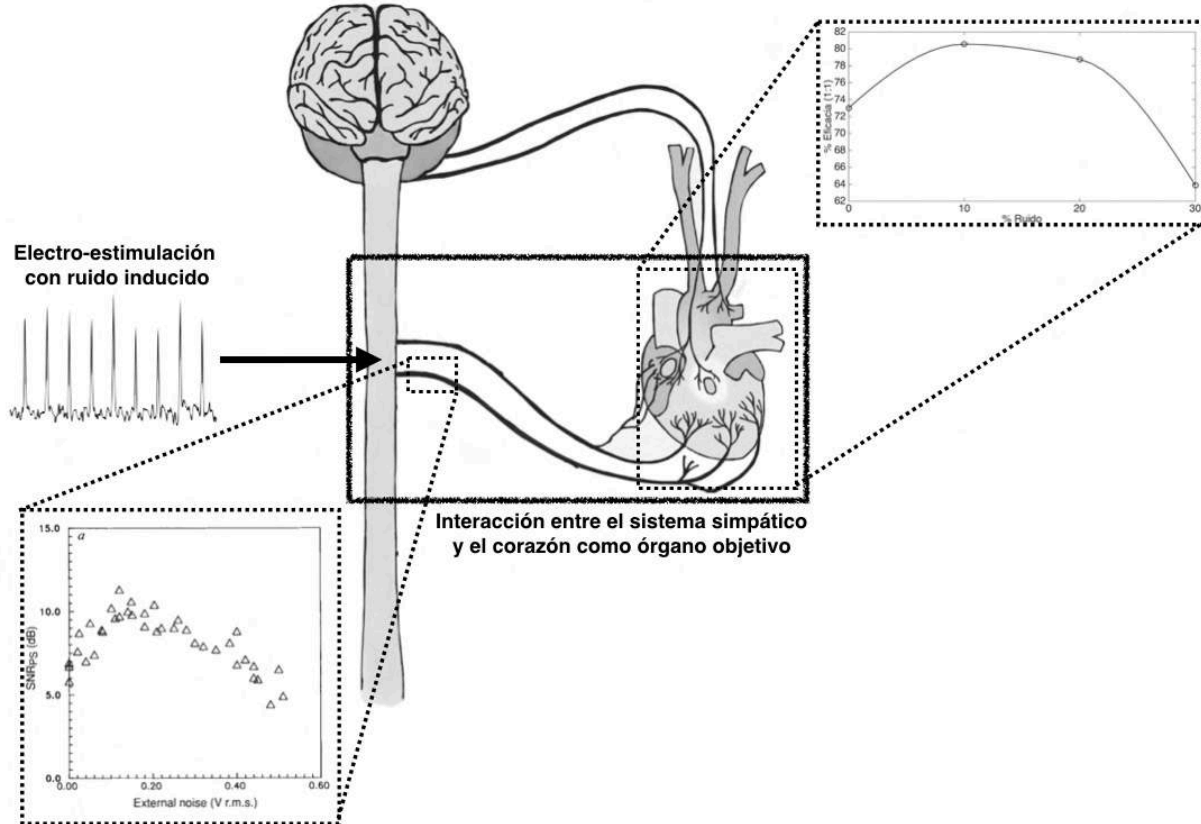


Figura 5.2. Representación de la inervación del corazón debido a la actividad neuronal y el efecto del ruido. A nivel neuronal así como en la escala de órgano completo, se ha demostrado la presencia de resonancia estocástica. En esta parte del trabajo se propone estudiar la interacción del sistema nervioso simpático y el corazón como órgano objetivo, debido a una electro-estimulación con ruido inducido, directamente sobre la médula espinal en los pares nerviosos simpáticos que inervan al corazón (curva de resonancia estocástica neuronal obtenida de *Douglass et al, 1993*; representación del sistema nervioso central y el corazón, dibujadas específicamente para este trabajo por *Oscar Gallardo, 2018*).

5.1 Metodología y desarrollo experimental

El corazón está en constante comunicación con otros sistemas que regulan su actividad, como el sistema nervioso central así como por los sistemas respiratorio y sistema renina-angiotensina, y ambos a su vez son inervados por el sistema nervioso central. Para poder llevar a cabo el estudio de la interacción del sistema nervioso simpático con el corazón debida al ruido, es necesario *destruir* el sistema nervioso central y, de esta manera, desconectar al corazón con los demás sistemas. El animal queda en un estado vegetativo, esto es, no puede responder voluntariamente a estímulos externos y únicamente entrarán en juego los mecanismos autorreguladores del corazón. Para poder llevar a cabo la destrucción del sistema nervioso central, es necesario romper primeramente la retroalimentación que existe entre el corazón con el sistema nervioso autónomo. Este proceso se conoce como vagotomía bilateral. Posteriormente, destruir el sistema nervioso central *per sé*, mediante un proceso conocido como descerebración y desmedulación (*Pithed Rat*). Importante resaltar que en este montaje experimental, no entra en juego el sistema parasimpático (Figura 5.3). Por consiguiente, el restablecimiento del corazón a sus condiciones basales se da por medios homeostáticos.

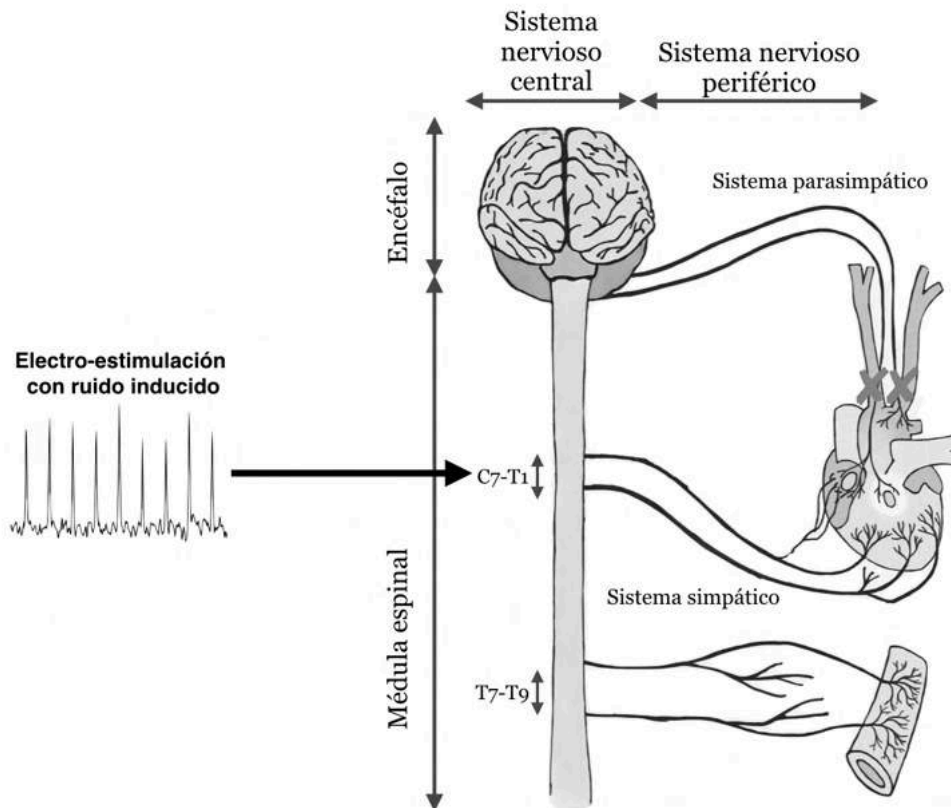


Figura 5.3 Inervación del corazón por medio del sistema nervioso simpático mediante electro-estimulación en la médula espinal. Al desconectar al corazón del sistema nervioso central y, posteriormente, destruir el sistema nervioso central *per sé*, el animal queda en un estado vegetativo. En este montaje experimental, únicamente entrará en juego el sistema nervioso simpático debido a la electro-estimulación. El corazón recupera nuevamente sus condiciones basales por medios homeostáticos.

Método de descerebración y desmedulación (Pithed rat)

El modelo de descerebración y desmedulación fue descrito originalmente en 1947 por Shipley y Tilden para estudiar los efectos de diversos fármacos vasoconstrictores sobre la presión arterial (Shipley & Tilden, 1947). Posteriormente, fue modificado en 1967 por Gillespie y colaboradores para investigar los efectos de la estimulación simpática en arterias en la variación de la presión arterial en un modelo in vivo. Ellos demostraron que la estimulación eléctrica desde la médula espinal puede producir un aumento en la presión arterial al inervar los pares nerviosos T7 a T9 de la zona torácica, que corresponden a los nervios vasoconstrictores (Gillespie & Muir, 1967).

En este protocolo experimental, pueden estimularse selectivamente otros segmentos de la médula espinal para producir una respuesta específica en un órgano objetivo (Gillespie et al, 1970). Por ejemplo, limitándonos al sistema cardiovascular, al estimular los segmentos T7 a T9 se produce un incremento significativo en la presión arterial periférica sin alterar significativamente la frecuencia cardíaca (Figura 5.4). De la misma manera, una estimulación selectiva de los pares nerviosos C7 a T1 (transición entre la zona cervical y la zona torácica) produce incrementos en la frecuencia cardíaca sin modificar significativamente la presión arterial.

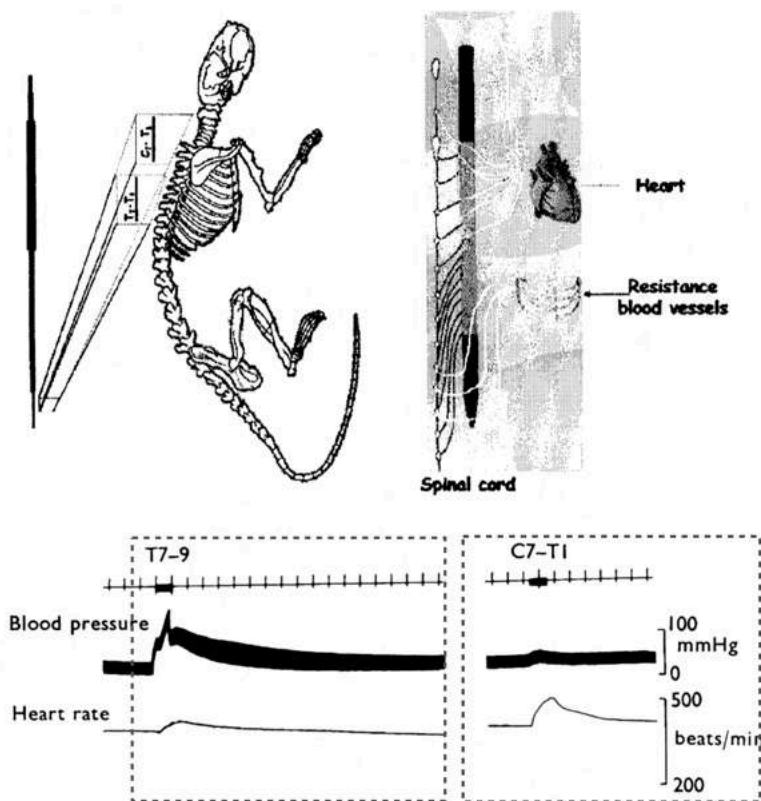


Figura 5.4. Inervación simpática en la respuesta cardiovascular mediante una estimulación eléctrica en segmentos de la médula espinal bajo el modelo de descerebración y desmedulación (modificado de Gillespie et al, 1970). Al estimular la zona torácica inferior (T7 a T9) se observa un aumento en la presión arterial sin ver cambios significativos en la frecuencia cardíaca. Similarmente, una estimulación en los pares nerviosos C7 a T1 producirá un aumento considerable en la frecuencia cardíaca sin observar cambios significativos en la presión arterial.

Debido a las complejidades experimentales que involucra la realización de estos experimentos, se optó por utilizar ratas de la cepa Wistar. Todos los procedimientos animales fueron llevados a cabo de acuerdo con las Regulaciones Federales para la Experimentación Animal y Cuidado y fueron aprobados por el Comité de Cuidado de Animales de Cinvestav (Cinvestav Zacatenco, D.F., México).

5.1.1 Destrucción del sistema nervioso central

Para el proyecto se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar entre 7 y 8 semanas de edad con una masa corporal controlada entre 250 y 300g. Los animales se obtuvieron del Centro de Cuidado de Animales Experimentales de Cinvestav-IPN México y fueron aclimatados durante una semana previa a la experimentación en jaulas metabólicas (Nalgene, USA) en una habitación dentro del bioterio de Cinvestav Unidad Monterrey con una temperatura controlada (22°C) y ciclo de luz-oscuridad de 12 hrs.

Los animales fueron anestesiados vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (60mg/kg) (*Rivera-Mancilla et al, 2017*). Posteriormente fueron inyectados también vía intraperitoneal con 500µl de heparina de una solución 5000 U/ml para evitar la generación de trombos intracoronarios. Acto seguido, se practicó una traqueostomía y se indujo ventilación mecánica con un ventilador (RoVent, Kent Scientific, USA), adaptado en el laboratorio de farmacología del Cinvestav Unidad Monterrey para roedores, con un volumen corriente de 20ml/kg y una frecuencia de 56 ciclos por minuto (*Villalón et al, 1998*). Dado que los estímulos eléctricos se dan directamente desde la médula espinal, algunos mecanismos neuromotores del sistema nervioso somático pueden activarse. Para evitar las contracciones involuntarias del músculo esquelético (espasmos musculares) se suministró galamina (25mg/kg) vía femoral mediante una inyección en bolo intravenoso (*Avilés-Rosas et al, 2017*).

Mediante una incisión en planos, se llevó a cabo la sección cervical de ambos nervios vagos que se localizan paralelos a las arterias carótidas con el objetivo de impedir la activación del sistema reflejo barorreceptor prescindiendo, a su vez, de la inervación parasimpática (*Centurión et al, 2009*). Posteriormente, se introdujo un estilete fino de acero inoxidable a través del globo ocular hasta la zona cerebral y posteriormente se introdujo a través de la columna vertebral, desde la zona cervical hasta la zona sacra, con el objetivo de romper todos los pares nerviosos de la médula espinal y, de esta manera, inhabilitar el sistema nervioso central (*Gillespie et al, 1970*).

5.1.2 ECG y presión arterial sistémica

Tras acondicionar al animal 20 minutos después de la descerebración y desmedulación para establecer condiciones basales, se propuso obtener registros de ECG y de presión arterial con el objetivo de validar el montaje experimental (Figura 5.5). Para lograr esto, se llevó a cabo una canulación en la carótida derecha con una tubo de poliestireno PE50 (Intramedic, USA) conectado a un transductor de presión (Biopac SS13L) y para el registro de ECG se colocaron

electrodos de aguja unipolares (Biopac: EL450, EL451, EL452) en las extremidades del animal para obtener, por convención, la segunda derivación (*Farraj et al, 2011*). Ambas señales fueron procesadas simultáneamente mediante un sistema de adquisición de datos (Biopac MP36, USA) y analizadas mediante el software Biopac BSL 4.1.

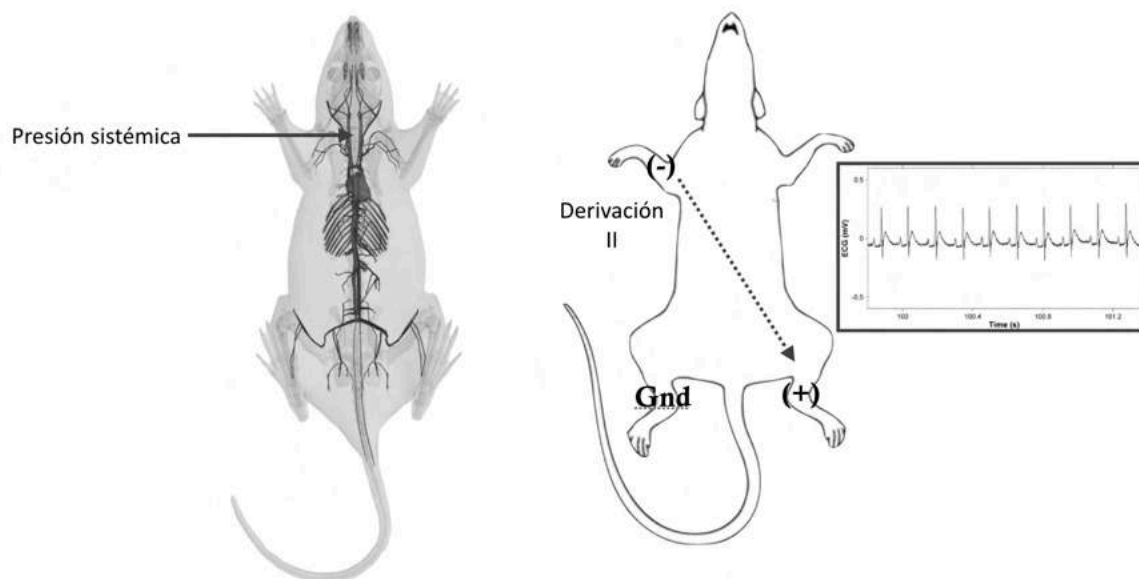


Figura 5.5. Registro de ECG y presión arterial sistémica para validar el montaje experimental. Mediante registros simultáneos de incrementos en la presión arterial sistémica y de la frecuencia cardíaca debidos a estímulos eléctricos en distintos segmentos de la médula espinal, es posible observar que la interdependencia de ambos sistemas no existe en el protocolo experimental de descerebración y desmedulación.

Con este protocolo experimental es posible corroborar de manera efectiva que, al inervar los pares nervios simpáticos del corazón, se pueden ver cambios en la frecuencia cardíaca sin observar cambios significativos en la presión arterial ya que el sistema nervioso central está inhabilitado, así como los mecanismos de retroalimentación cardiovascular.

5.1.3 Parámetros de medición en montaje *in vivo*

Independientemente de las variables registradas para validar el montaje experimental, con el objetivo de monitorear la respuesta mecánica del corazón debida estímulos eléctricos con ruido inducido desde la médula espinal, se optó por registrar nuevamente la actividad eléctrica del corazón mediante ECG II y, correspondiente a la actividad mecánica, la velocidad del flujo de sangre a través del arco aórtico como consecuencia de un evento sistólico ventricular.

Registro de ECG

Para obtener esta variable el animal es montado en una plataforma con terminales conductoras (Indus Instruments, USA) para las extremidades del animal (Figura 5.6). El animal es colocado

en posición supina y sus extremidades son adheridas a las terminales conductoras. De esta manera, es posible registrar de manera fidedigna la actividad eléctrica del corazón. La plataforma tiene, a su vez, una superficie térmica que permite mantener una temperatura corporal de 37°C. Este sistema permite registrar en tiempo real la actividad eléctrica del corazón en sus tres derivaciones frontales, así como la temperatura corporal y la frecuencia respiratoria. Los registros de temperatura corporal y de frecuencia respiratoria son útiles para monitorear el estado actual del corazón (Mouse Monitor, USA); una temperatura corporal de 37°C y una frecuencia respiratoria entre 60-80 eventos respiratorios por minuto son indicativos de buenas condiciones.

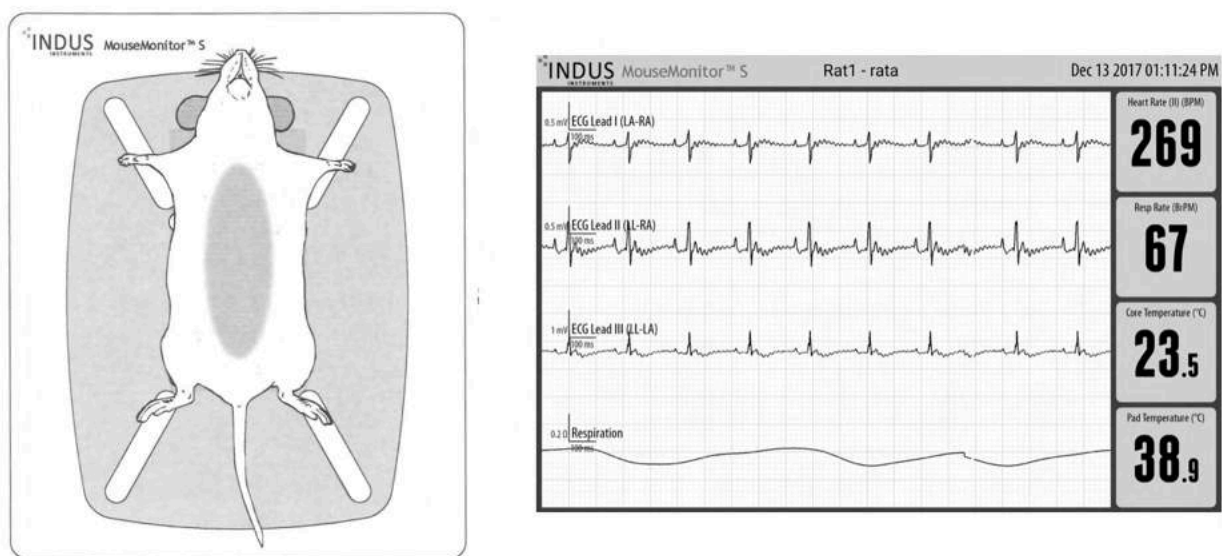


Figura 5.6 Registro de la actividad eléctrica del corazón en el modelo *in vivo* (del manual de usuario Indus Instruments, USA). El animal es montado en una superficie térmica con terminales conductoras. Este sistema permite monitorear en tiempo real las tres derivaciones frontales de ECG así como la frecuencia respiratoria y la temperatura corporal.

Análisis ECG

Para analizar los parámetros más importantes de un ECG (frecuencia cardiaca, intervalo PR (asociado a un evento auricular), complejo QRS e intervalo QT (asociado a un evento ventricular)) se consideró una ventana de análisis que incluyera un evento cardiaco (Figura 5.7A) y se hizo un barrido sobre todo el registro para obtener un gráfico promedio de todo el registro, conocido comúnmente como *waterfall plot*. Posteriormente, se cuantificó la duración de los parámetros antes mencionados.

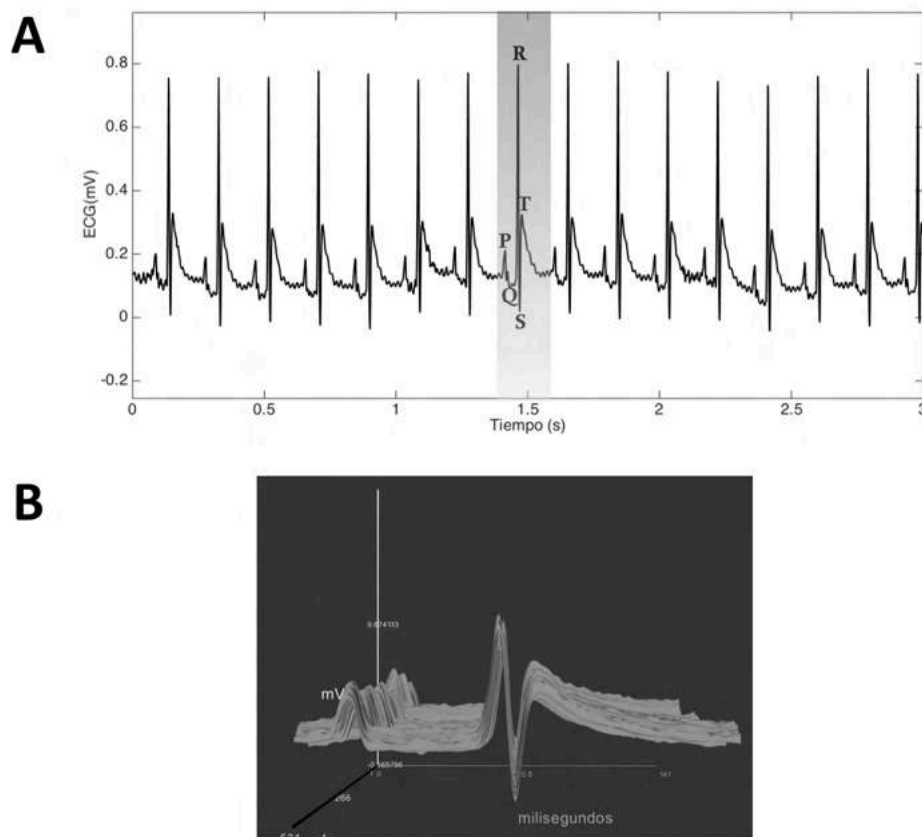


Figura 5.7. Análisis ECG. (A) Registro de un ECG de rata anestesiada con pentobarbital sódico. Para el análisis se selecciona la ventana correspondiente a un evento eléctrico (despolarización y repolarización de la fibra cardiaca). Posteriormente se hace un barrido de todo el registro con esta ventana como referencia. (B) *Waterfall plot*. Resultado promedio de todos los eventos eléctricos encontrados en un registro de ECG.

Registro de perfiles de velocidad de flujo aórtico

Por otro lado, para monitorear la actividad mecánica del corazón se utilizó un método no invasivo mediante la técnica *Doppler* que consiste en medir la velocidad del flujo de sangre a través del arco aórtico como consecuencia de un evento sistólico ventricular. Para lograr esto, se coloca superficialmente una sonda ultrasónica de 10cm de longitud cerca de la zona correspondiente al arco aórtico. Esta sonda mide mide la velocidad de la sangre al detectar la diferencia de frecuencia entre una ráfaga de ultrasonido (10 MHz) y los ecos de retorno de la sangre fluyendo a través de la pared aórtica (*Hartley et al, 2002*). Esta diferencia en frecuencia es transducida posteriormente a perfiles de velocidad mediante un sistema de adquisición de datos (Indus Instruments, USA), como se muestra en la Figura 5.8. De esta manera es posible obtener en tiempo real y simultáneamente registros de la actividad cardiaca tanto eléctrica como mecánica.

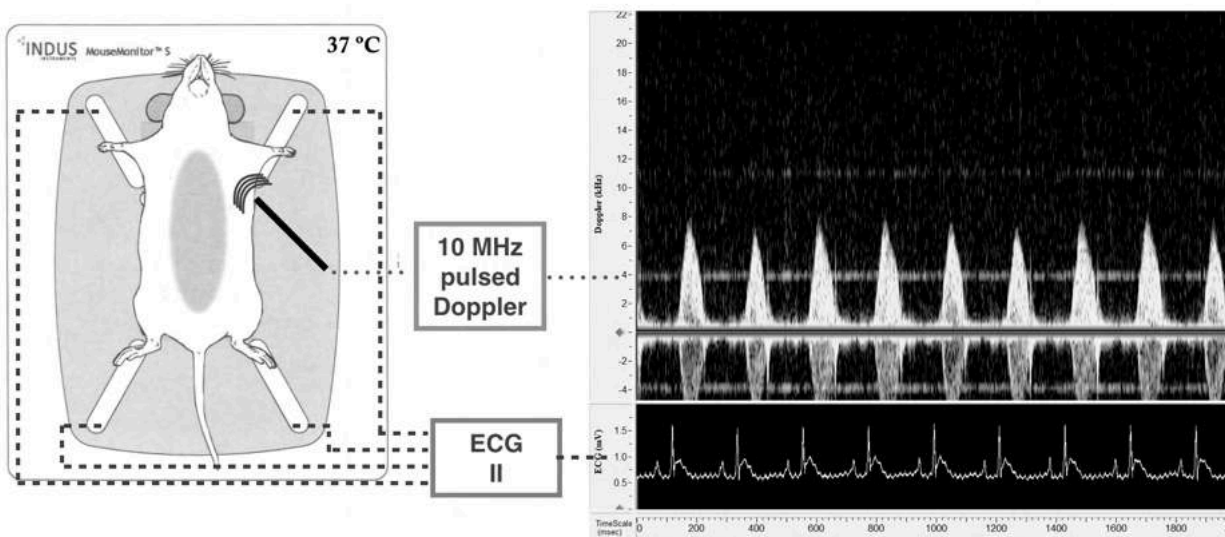


Figura 5.8. Registro de la actividad mecánica del corazón en el modelo *in vivo* (del manual de usuario *Indus Instruments, USA*). Mediante la técnica Doppler, se obtienen registros de la velocidad de la sangre fluyendo a través del arco aórtico como consecuencia de un evento contráctil. Una sonda ultrasónica se coloca superficialmente sobre el animal, que registra la diferencia en frecuencia entre una ráfaga ultrasónica de 10MHz y los ecos de retorno de la sangre fluyendo a través de la pared aórtica.

Este sistema permite medir la velocidad de la sangre fluyendo en cualquier arteria del organismo. La morfología de los perfiles de velocidad es característica de cada arteria. El proveedor del equipo proporciona una esquematización de la morfología del perfil de las ondas, dependiendo la zona arterial de análisis (refiérase a los materiales suplementarios en el Capítulo 10). La morfología del perfil de velocidad de la sangre fluyendo a través del arco aórtico se muestra en la Figura 5.9. Se puede observar que hay una sincronización entre el electrocardiograma y el perfil de velocidad pues, a fin de cuentas, un evento contráctil es la consecuencia de un evento eléctrico. Se pueden observar también distintas variables, las cuales se describen a continuación:

- A. Tiempo de pre-eyección [ms]. Este parámetro representa el tiempo que transcurre desde la despolarización ventricular (onda R) hasta el inicio de la eyección de la sangre.
- B. Tiempo de subida [ms]. Tiempo que transcurre desde que inicia la eyección de la sangre hasta que alcanza la velocidad máxima.
- C. Velocidad pico [cm/s]. Representa la velocidad máxima de la sangre eyectada a través del arco aórtico.
- D. Distancia de eyección (*stroke distance*) [cm]. Es el área bajo la curva de los perfiles de velocidad, desde que inicia el evento contráctil hasta que termina. También es considerada una medida indirecta de la cantidad de sangre eyectada.
- E. Tiempo de eyección [ms]. Tiempo total que dura la eyección de la sangre en un evento sistólico.

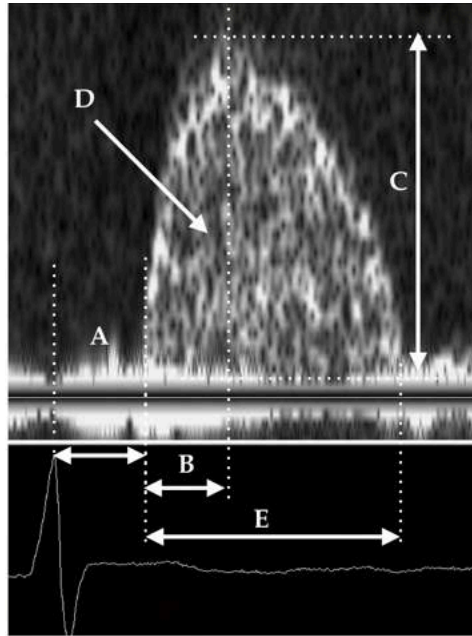


Figura 5.9. Perfil de velocidad de la sangre fluyendo a través del arco aórtico en un evento sistólico ventricular. Distintas variables pueden ser consideradas de interés al estudiar los perfiles de velocidad en un evento sistólico: (A) tiempo de pre-eyección, (B) tiempo de subida, (C) velocidad pico, (D) distancia de eyección y (E) tiempo de eyección.

La interrelación entre ECG y los perfiles de velocidad son analizados en el software Doppler Signal Processing Workstation, desarrollado por el fabricante del sistema.

5.1.4 Electro-estimulación con ruido inducido

Para este montaje experimental se utilizaron pulsos eléctricos periódicos (2 ms de duración) con incrementos logarítmicos en frecuencia (0.1Hz, 0.3Hz, 1Hz, 3Hz y 10Hz) y 40V, durante ventanas de 10 segundos de electro-estimulación, como se muestra en la Figura 5.10. La adición de ruido blanco a distintas intensidades así como el desarrollo del generador de funciones es el mismo que en montaje experimental del modelo de corazón aislado (refiérase a la sección 4.1.3 del Capítulo 4 para más detalle).

Una vez descerebrado el animal, se reemplazó el estilete por un electrodo elaborado de un material aislante de 10 cm de longitud, a excepción de 1cm en la punta, correspondiente a una zona conductiva (platino), colocado en el segmento torácico de la médula espinal correspondiente a los pares nerviosos C7 a T1 que inervan al corazón. El segmento correspondiente a los pares nerviosos del corazón se encuentran, aproximadamente, a 7cm del globo ocular. Por consiguiente, el tamaño del animal es muy importante para poder llevar a cabo estímulos específicos del corazón. Tras una electro-estimulación, no se llevó a cabo otro estímulo hasta que el corazón regresó a sus condiciones basales de frecuencia cardiaca.

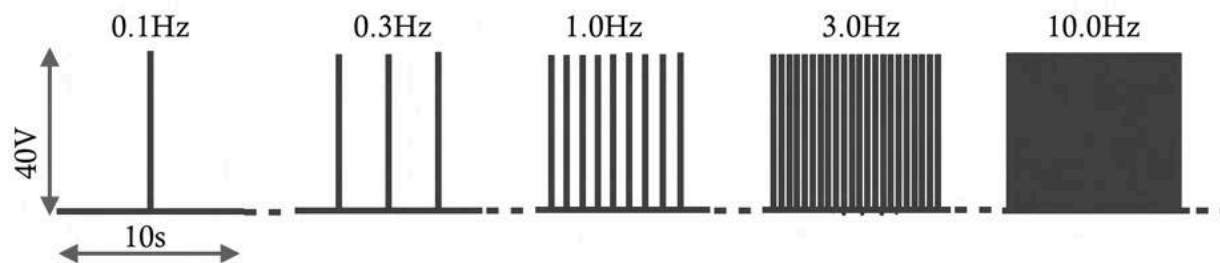


Figura 5.10. Pulsos eléctricos para el modelo *in vivo*. La electro-estimulación consistió en pulsos eléctricos periódicos de 2 ms de duración a 40V con incrementos logarítmicos en frecuencia (0.1-10Hz).

5.1.5 Métodos estadísticos

Los valores en este trabajo se informan valor promedio \pm error estándar. Las comparaciones estadísticas se realizaron usando ANOVA de una o dos vías seguido de la prueba *post hoc* de Tukey. Un valor de $P < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. Todo el análisis fue llevado a cabo en MATLAB (The MathWorks, Natick, MA).

5.2 Resultados

El modelo de descerebración y desmedulación (*Pithed rat*) es una preparación útil y versátil para estudiar los efectos cardiovasculares de una amplia gama de medicamentos y su mecanismo de acción (*Centurion et al, 2009*). En este montaje pueden estimularse selectivamente diversos pares nerviosos simpáticos en la médula espinal para analizar la respuesta de cierto órgano objetivo debido a estímulos eléctricos. Sin embargo, la principal limitación radica en que esta preparación excluye aquellos mecanismos centrales (como el sistema reflejo barocerreceptor) que pueden modificar considerablemente la respuesta del corazón (*Gillespie et al, 1970*). A pesar de esta limitación, este modelo experimental es útil para explorar el efecto del ruido inducido en la electro-estimulación sobre la respuesta contráctil del corazón, como órgano objetivo.

5.2.1 Caracterización de ECG

Cuando el animal es anestesiado su frecuencia cardíaca basal disminuye considerablemente (350 lpm, aproximadamente) comparada cuando está consciente (600 lpm, aproximadamente) y estos cambios se ven reflejados en el electrocardiograma (*Konopelski & Ufnal, 2016*). Cuando el animal es descerebrado y desmedulado, su frecuencia cardíaca disminuye aún más, hasta 300 latidos por minuto, en promedio (*Villalón et al, 1998*). Para asegurar una buena medición de la actividad eléctrica del corazón, el primer paso consistió en reproducir los resultados obtenidos por otro estudio. En la Tabla 5.1 se muestra el resultado promedio de diez animales que fueron anestesiados con pentobarbital sódico vía intraperitoneal (refiérase a la sección 5.1.1 para más detalle). Los resultados son comparados con un estudio previo (*Konopelski & Ufnal, 2016*).

Tabla 5.1 Parámetros de ECG de animales anestesiados con pentobarbital sódico. Se muestran los resultados promedio de los parámetros relevantes en un ECG para diez animales diferentes que fueron anestesiados con pentobarbital sódico.

Parámetro ECG	Konopelski & Ufnal, 2016	Lab. Farmacología de Cinvestav Mty
Frecuencia cardíaca (lpm)	334 - 349	348.40
Intervalo PR (ms)	-	51.26
Complejo QRS (ms)	18 - 19.6	13.60
Intervalo QT (ms)	95 - 120	122.86

Los resultados obtenidos en la Tabla 5.1 permiten demostrar que el protocolo empleado en el laboratorio cumple con los resultados reportados previamente por otro grupo de investigación. Por otro lado, para caracterizar un ECG *normal* bajo las condiciones experimentales propuestas, se propuso llevar a cabo una serie de registros de ECG bajo tres condiciones: cuando el animal es anestesiado con pentobarbital sódico, cuando es ventilado y posteriormente cuando es descerebrado y desmedulado. La Figura 5.11 muestra los ECG promedio de un animal que se sometió a las tres condiciones experimentales antes mencionadas, mientras que la Tabla 5.2 muestra los resultados cuantitativos de los parámetros de ECG para diez animales diferentes.

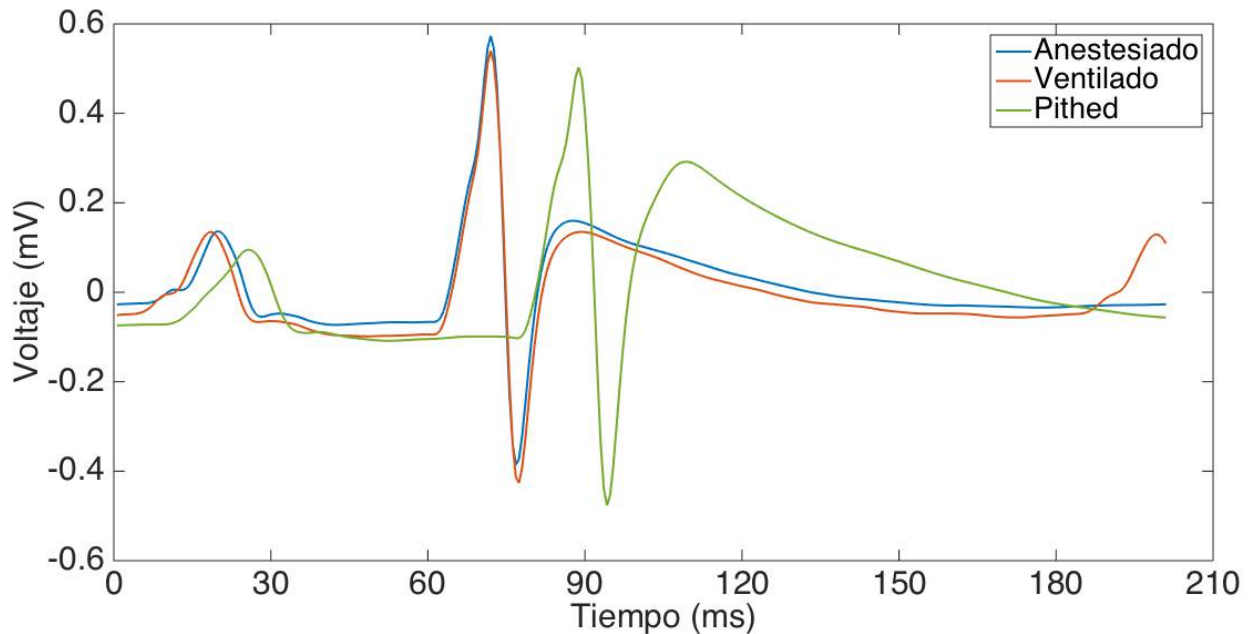


Figura 5.11. ECG de animal anestesiado, ventilado mecánicamente y descerebrado y desmedulado. ECG promedio de un animal sometido a anestesia con pentobarbital sódico (azul), ventilación mecánica (anaranjado) y descerebración y desmedulación (*pithed*, verde). Cuando el animal es descerebrado y desmedulado se observa un cambio considerable en la duración de los intervalos PR y QT debido a que la frecuencia cardíaca disminuye, comparada cuando el animal es anestesiado.

Cuando el animal es ventilado, su frecuencia cardíaca aumenta ligeramente con respecto al animal cuando es anestesiado con pentobarbital sódico. Sin embargo, los parámetros promedio de ECG no varían considerablemente. La principal diferencia se observa cuando el animal es descerebrado y desmedulado, pues se observan respuestas bradicárdicas (310 lpm, en promedio) comparadas cuando el animal es anestesiado (348 lpm, en promedio), haciendo que los intervalos PR y QT sean más largos. No obstante, los ECG obtenidos cuando el animal es descerebrado y desmedulado cumplen con la morfología de un ECG normal, sirviéndose de referencia para compararlos cuando el animal es electro-estimulado con y sin ruido inducido.

Tabla 5.2. Parámetros de ECG cuando el animal es anestesiado, ventilado y descerebrado y desmedulado. Resultados promedio de diez animales cuando el animal es anestesiado con pentobarbital sódico, ventilado mecánicamente y descerebrado y desmedulado.

Parámetro ECG	Anestesia	Ventilación mecánica	Descerebrado y desmedulado
Frecuencia cardiaca (lpm)	348.40	400.33	310.50
Intervalo PR (ms)	51.26	51.43	56.57
Complejo QRS (ms)	13.60	13.53	14.50
Intervalo QT (ms)	122.86	95.60	147.57

5.2.2 Validación del montaje experimental

Como se mencionó en la sección 5.1, al descerebrar y desmedular al animal, el sistema nervioso central no ejerce más el control sobre los órganos efectores. Como consecuencia, no existe una retroalimentación que regule sus funciones y de esta manera, todos siguen llevando a cabo sus funciones de manera independiente. En cuanto al sistema cardiovascular, el sistema reflejo activado por los barorreceptores no volverá a regular la presión arterial ni la función contráctil del corazón.

La manera de asegurar que el protocolo experimental cumple con estimular selectivamente las fibras nerviosas que inervan al corazón, consiste en corroborar los resultados reportados en otros estudios (*Gillespie et al, 1970*). Como se muestra en la Figura 5.4, se propuso llevar a cabo electro-estimulaciones con distintas frecuencias (refiérase a la sección 5.1.4 correspondiente al protocolo de estimulación eléctrica) sin ruido en los pares nerviosos C7 a T1, asociada a la inervación del corazón como órgano efector, con el objetivo de ver cambios en la frecuencia de respuesta cardiaca sin observar cambios significativos en la presión sistémica. Por otro lado, se procedió a llevar a cabo electro-estimulaciones en la zona torácica inferior (pares nerviosos T7 a T9) para observar cambios en la presión sistémica sin ver cambios significativos en la presión arterial. El protocolo experimental para la obtención de estos parámetros se encuentra en la sección 5.1.2.

La Figura 5.12 muestra dos registros representativos de la frecuencia cardiaca y de la presión arterial sistémica tras la inervación simpática de los pares nerviosos que estimulan la vasoconstricción arterial (pares nerviosos T7 a T9) para las diferentes frecuencias de electro-estimulación. Como es de esperarse, al estimular la zona asociada a la inervación arterial, los cambios en la frecuencia cardiaca (trazo verde) para todas las frecuencias de estimulación no son significativos, comparados con los incrementos en la presión (trazo azul). Para cuantificar los incrementos tanto de la presión como de la frecuencia cardiaca, se restó el máximo valor

alcanzado tras la estimulación para cada uno de los parámetros menos el promedio de la respuesta basal justo antes del estímulo. Tras diez segundos de estimulación, ambos sistemas comienzan a regresar a sus condiciones basales por medios homeostáticos.

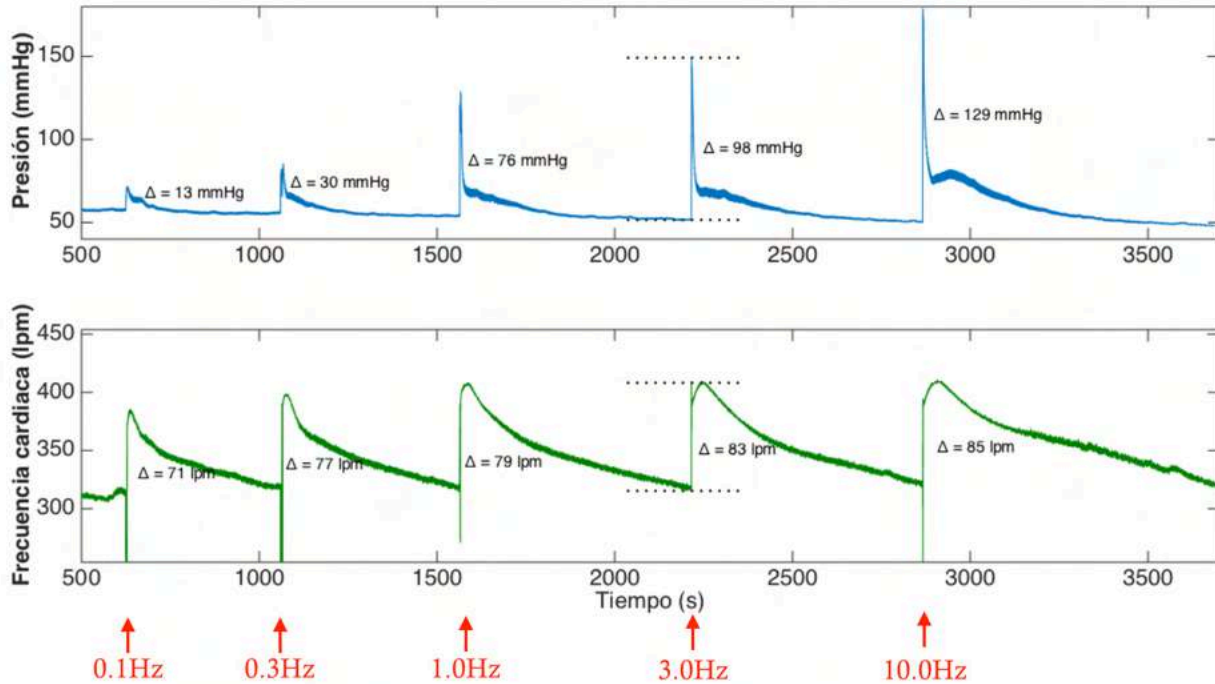


Figura 5.12. Registros representativos temporales de la respuesta cardiovascular ante estímulos eléctricos en la médula espinal (T7 a T9). El registro azul (**imagen superior**) muestra los cambios en la presión periférica mientras que el registro verde muestra los incrementos en la frecuencia cardíaca (**imagen inferior**), debidos a estímulos eléctricos con distintas frecuencias. Las flechas rojas indican el inicio de la electro-estimulación. La recuperación de la frecuencia cardíaca así como de la presión arterial de nuevo a condiciones basales se da por medios homeostáticos.

La estadística de los resultados de los incrementos tanto de la presión como la frecuencia cardíaca en función del segmento de electro-estimulación en la médula espinal se muestran en la Figura 5.13. En la Figura 5.13A se muestran los incrementos tanto de la presión arterial sistémica (azul) como los de la frecuencia cardíaca (roja) para cada una de las frecuencias de electro-estimulación, cuando se inervan los pares nerviosos simpáticos (C7-T1) del corazón. Se puede observar que no hay cambios significativos en el incremento de presión con respecto a las condiciones basales para todos los valores de frecuencia del estímulo. No obstante, para la frecuencia cardíaca se observan incrementos cada vez más significativos conforme incrementa la frecuencia de estimulación, hasta llegar a un límite fisiológico a partir de 3Hz de electro-estimulación, con incrementos superiores a 100 latidos por minuto con respecto a la frecuencia basal.

Por otro lado, al inervar los pares nerviosos vasoconstrictores (Figura 5.13B) se observan incrementos significativos en la presión con respecto a la presión basal, mientras que no se

observan incrementos considerables en la frecuencia cardiaca. Al comparar particularmente las curvas azules de ambas figuras, se observa claramente que tanto el sistema vasoconstrictor como el corazón operan de manera independiente. Los incrementos de presión coinciden con estudios previos de descerebración y desmedulación (Villalón *et al*, 1998; Rivera-Mancilla *et al*, 2017). Por consiguiente, se puede afirmar que se está llevando a cabo una inervación selectiva de los pares nerviosos del corazón, sin ver repercusiones considerables en el sistema vasoconstrictor.

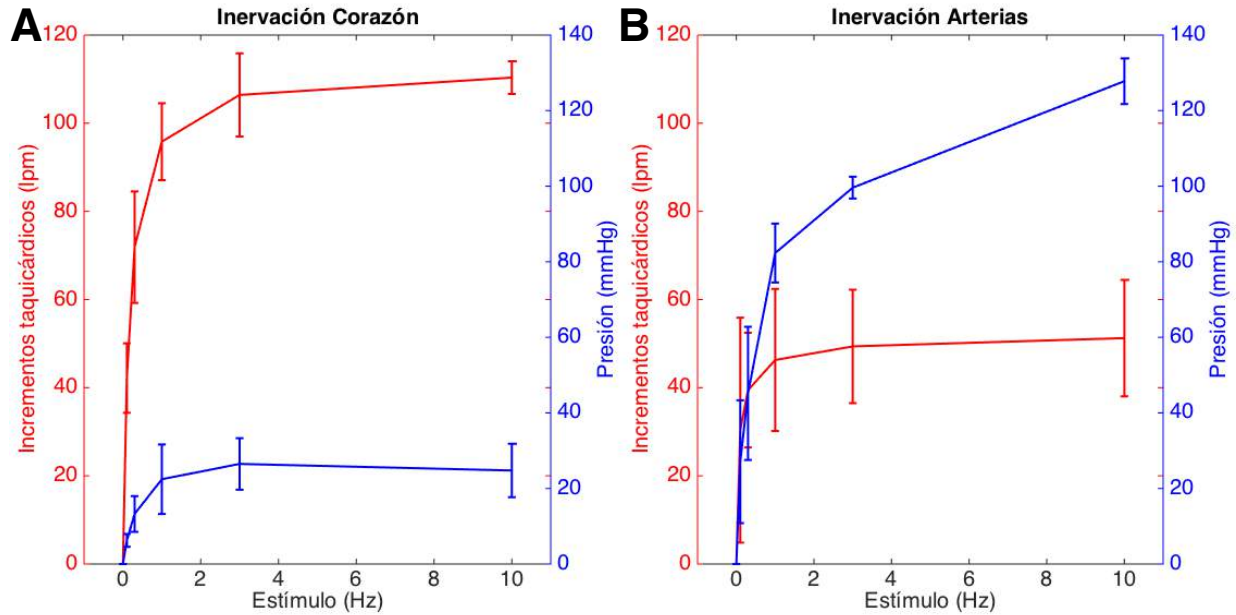


Figura 5.13. Inervación simpática independiente del corazón y del sistema vasoconstrictor arterial. (A) Inervación de los pares nerviosos (C7-T1) del corazón. Se observan incrementos graduales en la frecuencia cardiaca (rojo) como consecuencia de distintas intensidades de electro-estimulación hasta un límite fisiológico, mientras que la presión arterial sistémica no cambia considerablemente (azul). (B) Inervación de los pares nerviosos (T7-T9) vasoconstrictores. A diferencia de la inervación en el corazón, al estimular el sistema vasoconstrictor se observan cambios significativos en la presión arterial mientras que no se observan incrementos considerables en la frecuencia cardiaca. (FC = frecuencia cardiaca; P = presión arterial: **FC(C7-T1) vs FC(t7-t9) P=0.0000, PA(C7-T1) vs PA(t7-t9) P=0.0000**). Los resultados se muestran como valor promedio \pm desviación estándar (n=5). El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 1 vía, seguido de una prueba Tukey.

5.2.3 Efecto del ruido en la respuesta cardiaca en la interacción del sistema nervioso simpático y el corazón como órgano objetivo

Una vez validado el montaje experimental, se procedió a tomar registros de la respuesta eléctrica (ECG) y mecánica del corazón (espectrogramas de velocidad flujo aórtico) debidas a electro-estimulaciones con ruido inducido. En la Figura 5.14 se muestran registros representativos tanto de la actividad eléctrica como de la eyección de la sangre a través del arco aórtico como consecuencia de un evento sistólico ventricular. En la Figura 5.14A se muestran las condiciones

basales del animal mientras que en la Figura 5.14B los cambios en la respuesta debido a una electro-estimulación. En el ECG se observan cambios únicamente en la duración del intervalo QT, lo cual es fisiológicamente normal ya que al aumentar la frecuencia cardiaca, como consecuencia de una liberación de noradrenalina debida a los estímulos eléctricos, los eventos contráctiles son más rápidos. En cuanto a los perfiles de velocidad, se observan cambios morfológicos en los perfiles de respuesta: más angostos y de mayor amplitud asociada a una mayor velocidad de eyección de la sangre. Una vez retirado el estímulo, el corazón regresa de manera gradual a sus condiciones basales.

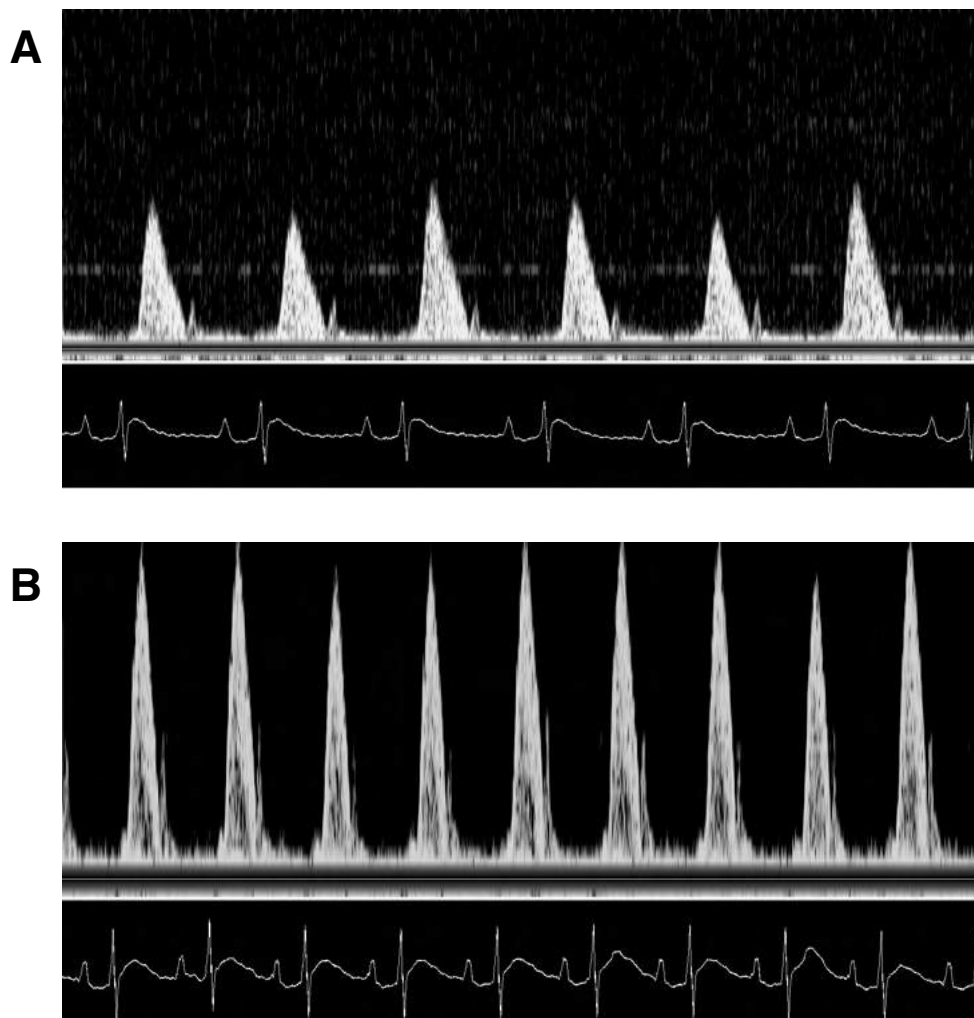


Figura 5.14. Cambios en la respuesta cardiaca como consecuencia de una electro-estimulación en la médula espinal. (A) Se muestra un registro representativo de la actividad eléctrica (ECG) y mecánica (perfiles de velocidad de flujo aórtico) de un animal cuando se encuentra en condiciones basales. **(B)** Cambios morfológicos debidos a una electro-estimulación. Se observan perfiles de velocidad más angostos y de mayor amplitud, asociados a una mayor velocidad de flujo, mientras que en el ECG se observan cambios en el intervalo QT.

Primeramente, para observar cambios en la ritmicidad y relajación del corazón debidos a estímulos provenientes de la médula espinal, se obtuvieron registros de la frecuencia de respuesta cardiaca a partir de los intervalos R-R de los ECG, como se muestra en la Figura 5.15.

De estas curvas se obtienen dos parámetros: incrementos en la frecuencia cardiaca con respecto a la basal (ΔFC) y el tiempo de relajación (tiempo que demoran los corazones en regresar a sus condiciones basales, t_r).

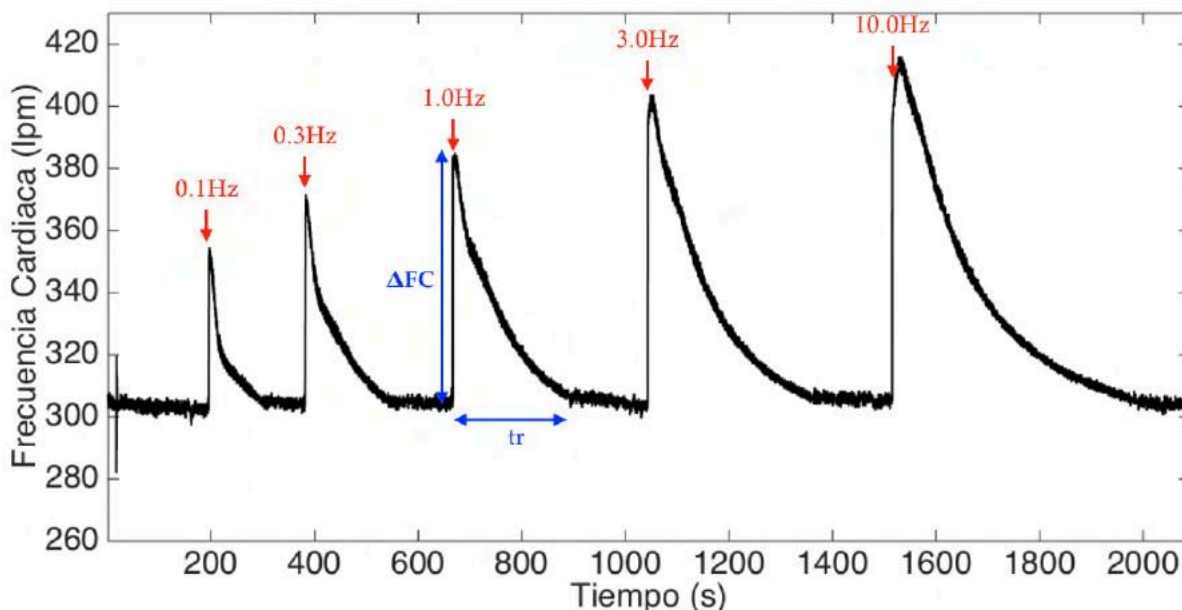


Figura 5.15. Incrementos en la frecuencia cardíaca debidos a electro-estimulaciones a diferentes frecuencias en la médula espinal. Los parámetros de interés son: incrementos en frecuencia cardíaca (ΔFC) y tiempo de relajación (t_r). Las flechas rojas indican el inicio de la electro-estimulación para cada una de las frecuencias.

Incrementos taquicárdicos debido a electro-estimulaciones con ruido

La Figura 5.16 muestra la estadística de los incrementos de frecuencia cardíaca debidas a electro-estimulaciones con distintas frecuencias y distintas intensidades de ruido, para siete animales diferentes. En el grupo control (azul) como era de esperarse, existe un aumento gradual en los incrementos de frecuencia cardíaca conforme incrementa la frecuencia del estímulo. Sin embargo, ya desde 3Hz de electro-estimulación se observa que comienza a alcanzarse un límite fisiológico máximo de frecuencia cardíaca. Estos resultados coinciden con otros estudios experimentales de descerebración y desmedulación (Sánchez-López *et al*, 2003; Centurion *et al*, 2009). La estadística para 10% de ruido se muestra en la curva magenta. Para bajas frecuencias de estimulación (0.1 y 0.3Hz) se observan respuestas taquicárdicas superiores con respecto a los controles. De manera interesante, los corazones alcanzaron el límite de saturación fisiológica de frecuencia cardíaca desde 1Hz y este límite fisiológico es mayor comparado con los experimentos control. Los incrementos taquicárdicos para 20% de ruido se muestran en el trazo verde. Se puede observar nuevamente que para bajas frecuencias de electro-estimulación, se tienen incrementos taquicárdicos superiores con respecto a los controles y que se alcanza el límite de saturación fisiológica desde 0.3Hz. Sin embargo, esta

saturación está por debajo de la saturación de los grupos control. Con 30% de ruido sucede algo similar que con 20% de ruido (anaranjado). Los corazones electro-estimulados con bajas frecuencias alcanzan respuestas taquicárdicas superiores con respecto al grupo control y se alcanza un límite de saturación fisiológica desde 0.3Hz. Sin embargo, dos animales no sobrevivieron a electro-estímulos superiores a 1Hz. El valor promedio para los resultados a 3Hz y 10Hz corresponden únicamente a 5 animales. Por consiguiente, para esos cinco animales el límite taquicárdico es inferior al grupo control. Para los grupos con ruido, hubo diferencia significativa con respecto al control.

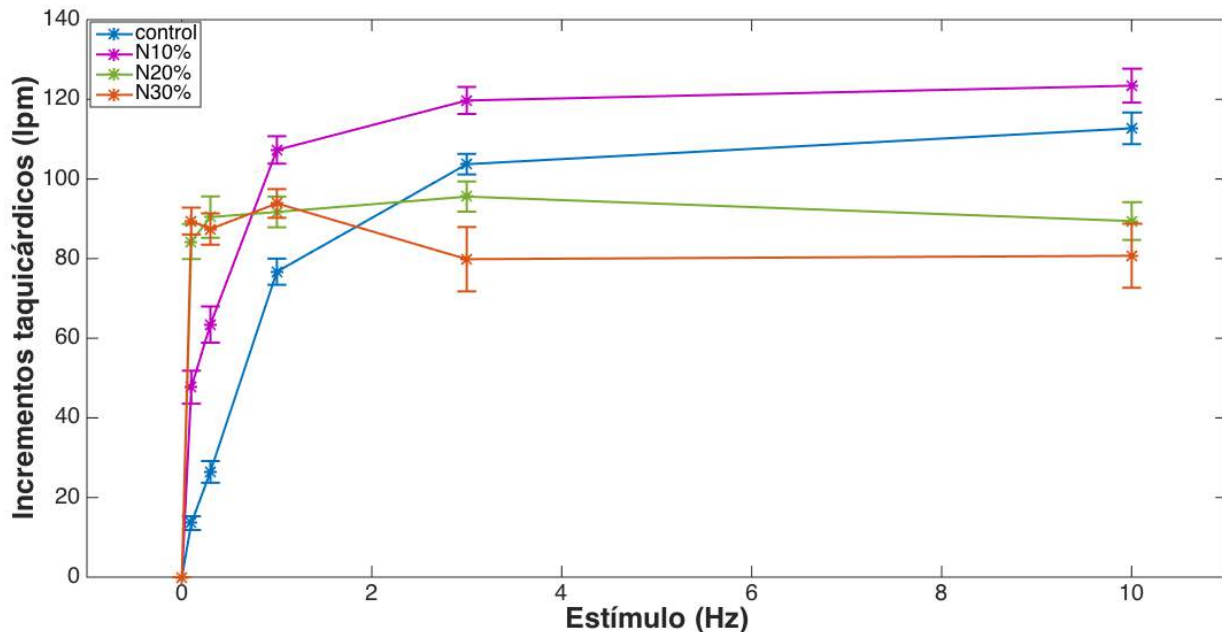


Figura 5.16. Incrementos en la frecuencia cardíaca (taquicárdicos) como respuesta a electro-estimulaciones a distintas frecuencias y distintas intensidades de ruido. El trazo azul corresponde al grupo control, y magenta, verde y anaranjado para 10%, 20% y 30% de ruido, respectivamente. Con 10% de ruido, se obtienen respuestas taquicárdicas superiores comparadas con el grupo control. Sin embargo, con 20% y 30% de ruido los incrementos taquicárdicos son menores para altas frecuencias de electro-estimulación (**control vs 10% ruido $P=0.0040$, control vs 20% ruido $P=0.0096$, 10% ruido vs 20% ruido $P=0.9928$**). Los resultados se muestran como valor promedio \pm error estándar. El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

Tiempos de relajación debido a electro-estimulaciones con ruido

La estadística para los tiempos de relajación (tiempo que demoraron los corazones en regresar a su frecuencia basal) tras una electro-estimulación a se muestra en la Figura 5.17, para las distintas intensidades de ruido inducido en el estímulo. En el trazo azul se muestran los resultados para el grupo control. **Se observa que al incrementar el valor de la frecuencia del estímulo y por ende más incrementos taquicárdicos, los corazones requieren cada vez más tiempo para regresar a su frecuencia cardíaca basal. Con 10% de ruido inducido en el estímulo, se observa que para bajas frecuencias de electro-estimulación los corazones demoran casi el mismo tiempo que los controles en regresar a su frecuencia basal. No obstante, para 3Hz y 10Hz**

los corazones restablecieron su frecuencia basal en menos tiempo. Por otro lado, para 20% y 30% de ruido, para bajas frecuencias de electro-estimulación los corazones requieren mas tiempo para regresar a sus condiciones basales, comparado con el control. Sin embargo, para 3Hz y 10Hz, al igual que el grupo con 10% de ruido, los corazones restablecen su periodicidad basal más rápido que los controles.

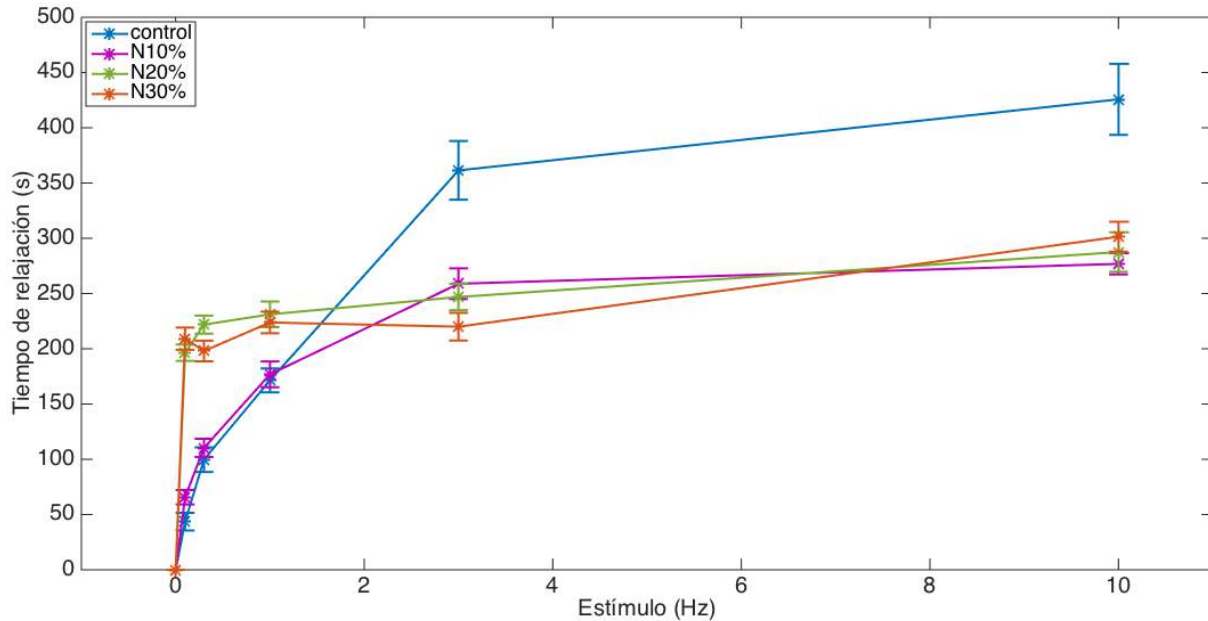


Figura 5.17 Tiempos de relajación cardíaca. El trazo azul corresponde al grupo control, magenta para el grupo con 10% de ruido inducido en el estímulo, verde y anaranjado para 20% y 30% de ruido, respectivamente. Ante la presencia de ruido, para altas frecuencias de electro-estimulación los tiempos de relajación son menores comparados con el grupo control. (**control vs 10% ruido P=0.0488, control vs 20% ruido P=0.0100, 10% ruido vs 20%ruido P=0.8220**). Los resultados se muestran como valor promedio \pm error estándar. El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

5.2.4 Medida del desempeño del corazón como bomba ante la presencia de ruido: gasto cardíaco

El interés particular de este trabajo es estudiar cambios en la respuesta contráctil del corazón debidos a la presencia de ruido en la electro-estimulación en la espina dorsal. El gasto cardíaco es la cantidad de sangre que se bombea desde el corazón en cierto intervalo de tiempo, y este parámetro es una medida del desempeño del corazón como bomba.

Para calcular una aproximación del gasto cardíaco con las variables que se obtienen de este montaje experimental, se hace uso de la siguiente ecuación alométrica (*Hartley et al, 2002*):

$$\text{Gasto cardíaco} = (\text{Distancia de eyección, "stroke distance"}) (\text{Frecuencia cardíaca})$$

Ambos parámetros se obtienen de los registros de ECG y de los perfiles de velocidad, como se muestra en la Figura 5.18. El parámetro correspondiente a la distancia de eyección se obtiene de calcular el área bajo la curva de los perfiles de velocidad de la sangre fluyendo a través del arco aórtico, normalizado con respecto a la duración de la eyección (tiempo de eyección). Por otro lado, la frecuencia cardiaca se calcula a partir de la distancia entre los picos R-R de los registros de ECG.

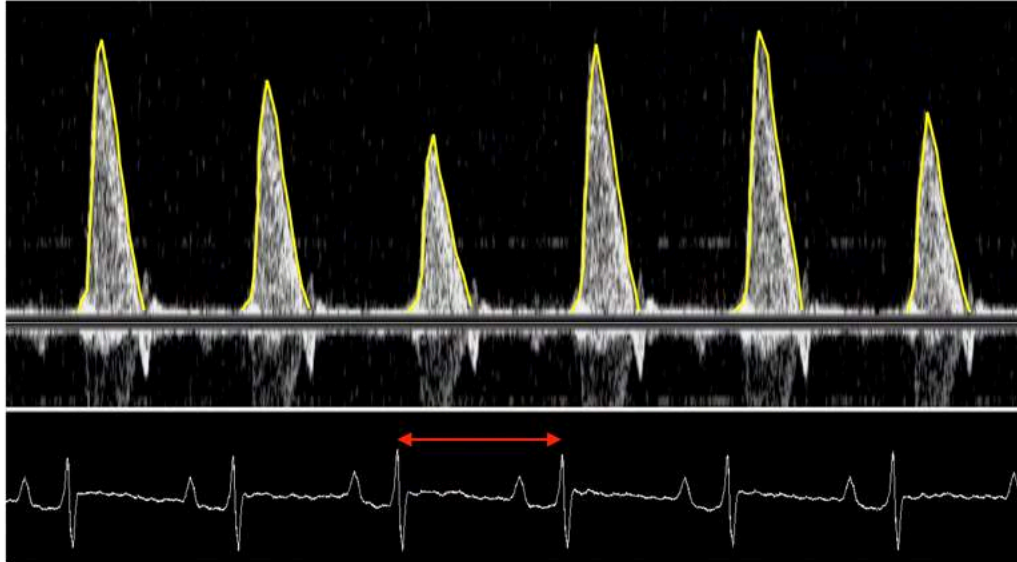


Figura 5.18. Variables para calcular el gasto cardiaco. El área bajo la curva de los perfiles de velocidad corresponde a la distancia de eyección mientras que la frecuencia cardiaca se obtiene de la distancia entre los picos R-R de los registros ECG.

La Figura 5.19 muestra los resultados obtenidos del promedio del gasto cardiaco (normalizado con respecto al gasto cardiaco en condiciones basales) ante la presencia de distintas intensidades de ruido en la electro-estimulación para siete animales diferentes. La curva azul corresponde a los resultados control. Se observa que al incrementar la frecuencia de electro-estimulación, existe un aumento gradual en el gasto cardiaco con respecto al gasto cardiaco basal, hasta un límite fisiológico alcanzado a partir de 3Hz. De manera sorprendente, ante la presencia de 10% de ruido inducido en el estímulo (trazo magenta), el gasto cardiaco aumenta considerablemente comparado con el grupo control, para todas las frecuencias de electro-estimulación. Con 20% de ruido ocurre lo contrario (verde). Si bien es cierto que para 0.1Hz de electro-estimulación existe un aumento en el gasto cardiaco superior con respecto al grupo control, conforme incrementa la frecuencia de electro-estimulación el gasto cardiaco tiende a disminuir hasta valores muy cercanos al grupo control para 3Hz y 10Hz. Con 30% de ruido ocurre algo similar que con 20% de ruido (trazo anaranjado). Sin embargo, sabiendo de antemano que dos animales no sobrevivieron al protocolo de electro-estimulación más allá de 1Hz, el valor promedio para 3Hz y 10Hz corresponde a cinco animales. De haber sobrevivido todos los animales, probablemente la tendencia hubiera sido muy similar que con 20% de ruido.

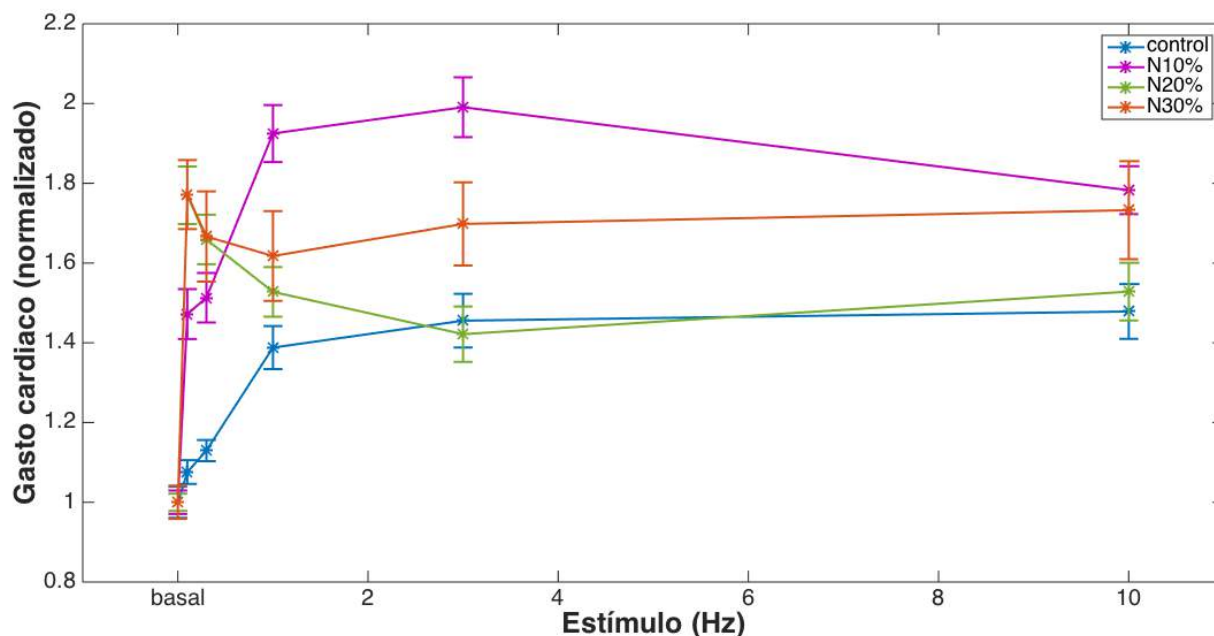


Figura 5.19. Incrementos en el gasto cardíaco debidos a electro-estimulaciones con distintas intensidades de ruido. El trazo azul corresponde al grupo control. Se observa que al incrementar la frecuencia de electro-estimulación, el gasto cardíaco incrementa gradualmente desde un valor basal hasta alcanzar un límite fisiológico. Con 10% de ruido (magenta) se obtienen incrementos superiores que los controles. Con 20% (verde) y 30% (anaranjado) de ruido, se obtienen incrementos superiores de gasto cardíaco a 0.3Hz de electro-estimulación con respecto al grupo control, pero el gasto cardíaco tiende a disminuir conforme incrementa la frecuencia del estímulo. El gasto cardíaco está normalizado con respecto al gasto cardíaco en condiciones basales. (**Control vs 10% ruido $P=0.0012$** , control vs 20% ruido $P=0.0596$, 10% ruido vs 20%ruido $P=0.4147$). Los resultados se muestran como valor promedio \pm error estándar. El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vía, seguido de una prueba Tukey.

De la gráfica anterior, resalta el hecho de que para 20% y 30% de ruido, el gasto cardíaco tiende a disminuir conforme incrementa la frecuencia de electro-estimulación. Para dilucidar a qué se debe lo anterior, se analizaron los ECG y su repercusión en la eyección de sangre en el arco aórtico. Los resultados se muestran en la siguiente sección.

5.2.5 Análisis de ECG y su repercusión en la respuesta mecánica del corazón

Las Figuras 5.20 y 5.21, muestran registros representativos tanto ECG como perfiles de velocidad de la eyección de la sangre a través del arco aórtico, tanto en condiciones basales como con 0.1Hz, 1 Hz y 10Hz para las distintas intensidades de ruido inducido en la electro-estimulación. El experimento control y el experimento con 10% de ruido inducido se muestran en la Figura 5.20, mientras que para 20% de ruido y 30% de ruido en la Figura 5.21. Se observa que tanto para los controles (Figura 5.20A) y para experimentos con 10% de ruido inducido en

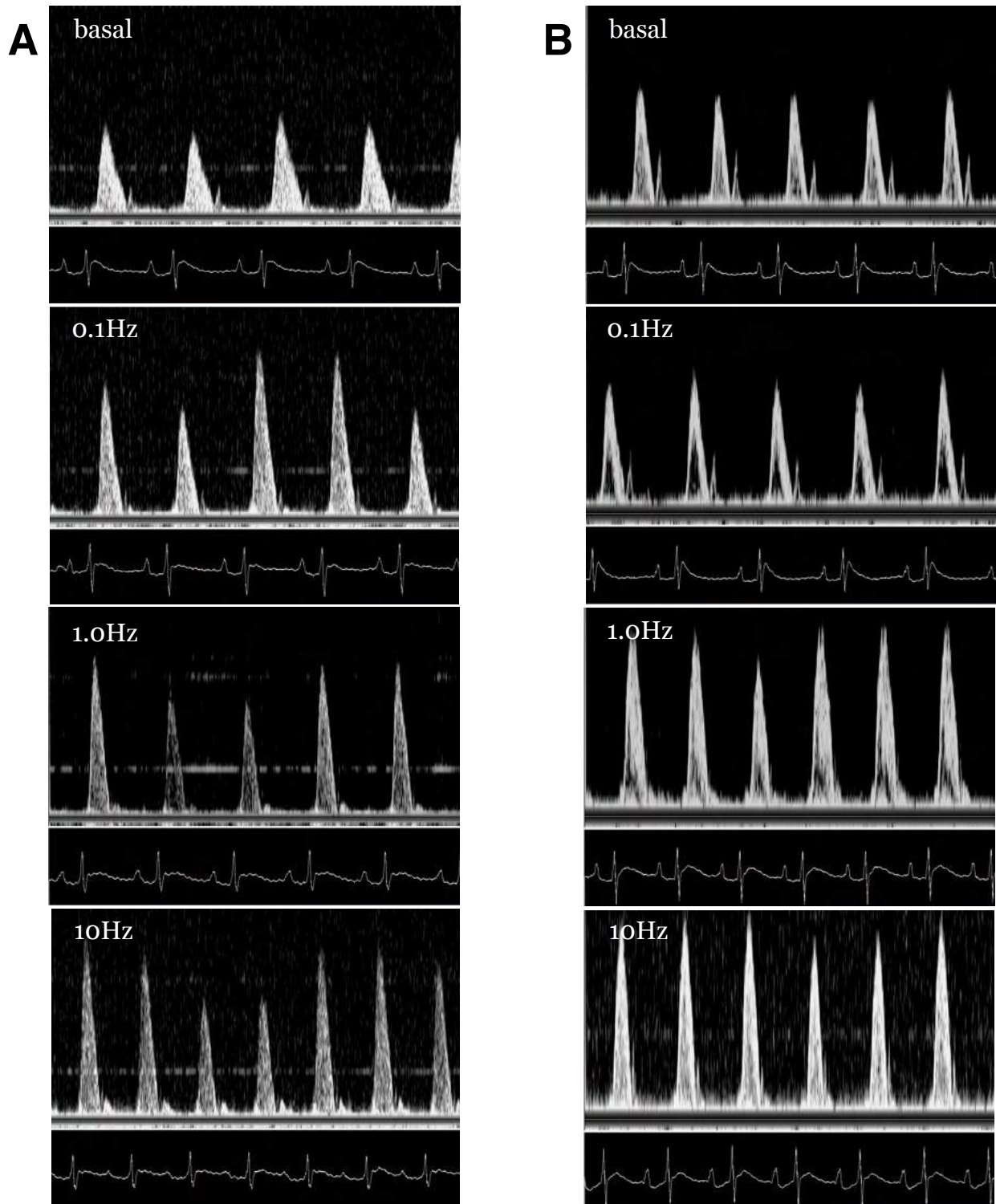


Figura 5.20. Interrelación entre un evento eléctrico y su respuesta mecánica. (A) Experimento control. **(B)** Experimento con 10% de ruido en la electro-estimulación. Sin la presencia de ruido en la electro-estimulación, así como con 10% de ruido inducido, se observa que conforme incrementa la frecuencia de electro-estimulación, la duración del intervalo QT disminuye sin verse cambios en la duración del intervalo QT. Como respuesta, se tienen contracciones mecánicas más rápidas.

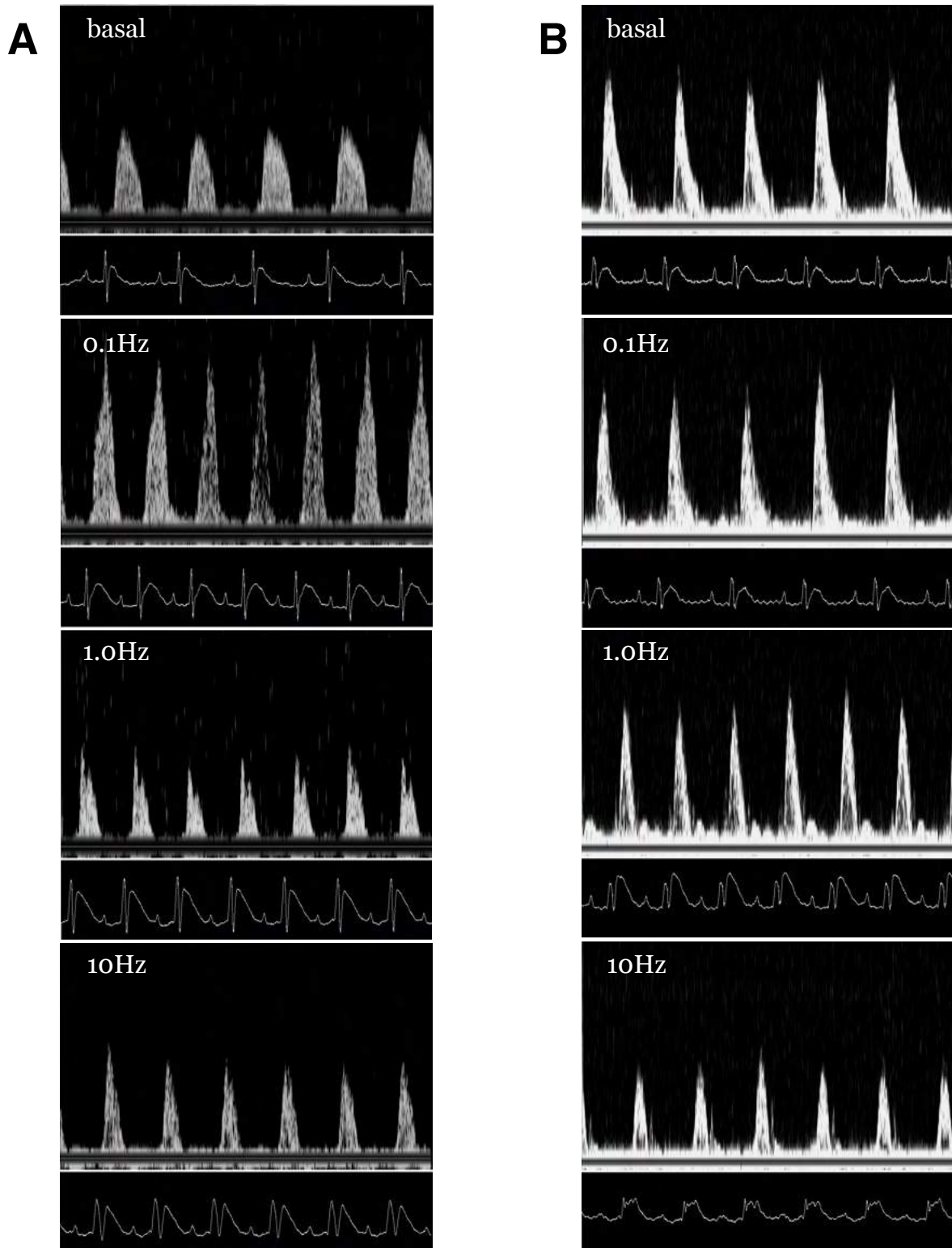


Figura 5.21. Interrelación entre un evento eléctrico y su respuesta mecánica con altas intensidades de ruido en la electro-estimulación. (A) Experimento con 20% de ruido en la electro-estimulación. **(B)** Experimento con 30% de ruido. Conforme incrementa la frecuencia de electro-estimulación, se observan irregularidades en el ECG: aumento en la duración del complejo QRS y una alternancia en la onda T, que se ven reflejadas en un déficit en la respuesta contráctil, con una disminución drástica en la velocidad y en la cantidad de la sangre eyectada.

la electro-estimulación (Figura 5.20B), conforme incrementa la frecuencia del estímulo, hay un aumento en la frecuencia cardiaca, en donde la duración del intervalo QT se hace cada vez más corto sin ver modificaciones en la duración del intervalo PR ni del complejo QRS. Esto es fisiológicamente normal, pues al incrementar la frecuencia cardiaca, los eventos contráctiles de los ventrículos son cada vez más rápidos. Asimismo, al analizar los eventos contráctiles como respuesta al evento eléctrico, se observa que el perfil de onda es más alargado y más angosto, para compensar el aumento en la frecuencia cardiaca, la velocidad de la sangre eyectada de los ventrículos es mayor.

Por otro lado, con altas intensidades de ruido inducido en el estímulo se observan irregularidades en el ECG. Para experimentos con 20% de ruido inducido (Figura 5.21A) y 30% de ruido (Figura 5.21B) se observa una alternancia progresiva en la onda T conforme incrementa la frecuencia de electro-estimulación. Al comparar los ECG con respecto a las condiciones basales, se observa que la amplitud de la onda T es cada vez más grande y que la duración del complejo QRS es mayor. Como consecuencia, se tiene eventos contráctiles angostos pero de baja amplitud, lo que se traduce en una disminución considerable en la velocidad de eyección de la sangre. Siendo el área bajo la curva una medida aproximada de la cantidad de sangre eyectada, se observa que se tienen contracciones sostenidas de baja intensidad que repercuten en el desempeño del corazón como bomba.

En la Figura 5.9 se mostraron todos los parámetros de interés en el perfil de velocidad de la sangre fluyendo a través del arco aórtico. La estadística correspondiente a cada uno de ellos se encuentra en la sección de material suplementario (Capítulo 10).

Déficit en la contractilidad del corazón: hiperpotasemia

De los ECG de la Figura 5.21 se observa que ante la presencia de altas intensidades de ruido se tienen irregularidades en la duración del complejo QRS así como alteraciones en la morfología de la onda T, asociadas a una despolarización y repolarización ventricular anormales. La duración del intervalo PR no se ve afectado por la presencia de altas intensidades de ruido en el estímulo, por consiguiente se determina que el daño en la respuesta contráctil del corazón es meramente ventricular. Como consecuencia de ello se tienen contracciones sostenidas y de baja intensidad.

Como se mencionó en el Capítulo 1 (sección 1.1.8) es posible determinar alternancias en el ECG desde la perspectiva de flujos iónicos. Dado que las alteraciones en el ECG debidas al ruido se encuentran en la etapa asociada a un evento ventricular, de la Figura 1.9 podemos observar que dichas anomalías pueden deberse a una alteración de los flujos iónicos de potasio y calcio.

En la literatura clínica se ha encontrado que una alteración en el flujo de calcio induce una alteración en el intervalo QT pero sin ver una alteración en la amplitud de la onda T (Figura 5.22). Un acortamiento anómalo del intervalo QT es debido a una hipercalcemia mientras que una prolongación en el intervalo QT es debida a una hipocalcemia (*Bronsky et al, 1961*). En

ninguno de los dos casos, se observa una alteración en la duración del intervalo PR (*Schaferand & Shoback, 2013*). Por otro lado, en cuanto alteraciones en el flujo de potasio, existe una prolongación en el intervalo QT debida a una hipopotasemia en donde se observa una onda aplanada o en algunos casos negativa así como la posible aparición prominente de la onda U.

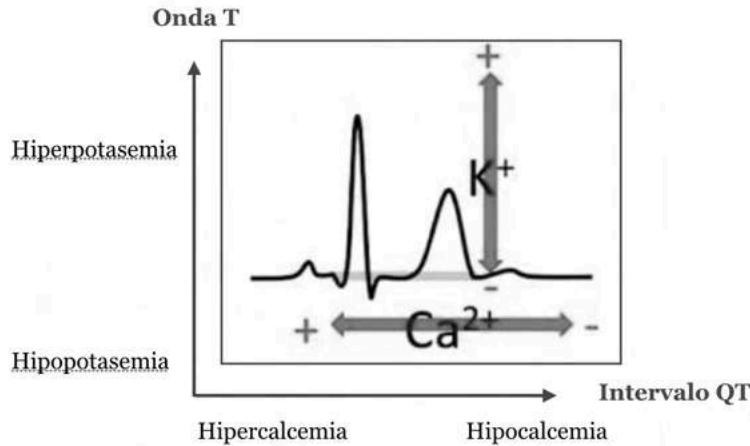


Figura 5.22. Alternancias en la despolarización y repolarización ventricular debidas a flujos anómalos de potasio y calcio (modificado de Guyton & Hall, 2006). Una alteración en el flujo de calcio se ve reflejada en una alteración en la duración del intervalo QT mientras que una alteración en el flujo de potasio induce cambios en la duración del complejo QRS y en la amplitud de la onda T.

Ante la presencia de hiperpotasemia, los cambios son más llamativos y pueden desencadenar en una arritmia mortal. Se presenta una onda T picuda y estrecha en los primeros escenarios de hiperpotasemia y al aumentar los niveles de potasio, el complejo QRS y la onda T se ensanchan. (Figura 5.23). En casos más severos, la onda P se prolonga, así como una severa prolongación en el intervalo PR (*Asmar et al, 2012*).

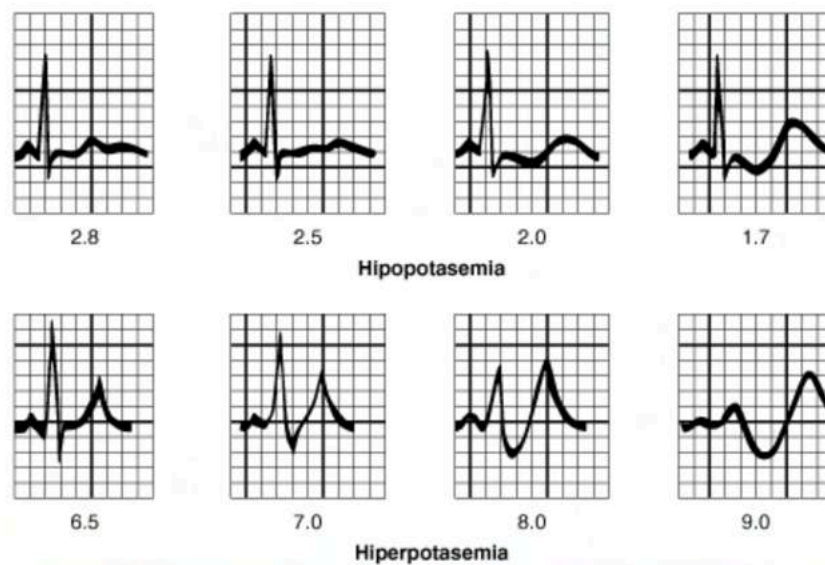


Figura 5.23. Patrones electrocardiográficos en la hipopotasemia e hiperpotasemia (Conti, 2010). Una alteración en la concentración de potasio en el *sérum*, debida a cambios anómalos en el flujo de potasio inducen cambios en la duración del complejo QRS así como en la amplitud de la onda T. La potasemia se expresa en mEq/L.

En la Figura 5.24 se muestran los registros de ECG de un animal electro-estimulado con 20% de ruido inducido, desde las condiciones basales, así como los ECG resultado de todos los valores de frecuencia de electro-estimulación. Al comparar la morfología de las ondas T, así como la duración de los complejos QRS con los patrones electrocardiográficos de la Figura 5.23, posiblemente la alteración en la respuesta contráctil del corazón sea debida a una hiperpotasemia. No obstante, se requiere llevar a cabo un análisis vectorial mediante el *sistema hexaxial* para calcular el vector cardíaco y, de esta manera, aseverar que es precisamente debido a una hiperpotasemia la causa de una disminución en el gasto cardíaco. En este montaje experimental no se obtuvieron los registros de las tres derivaciones frontales aumentadas (derivaciones monopolares) para poder llevar a cabo un análisis vectorial.

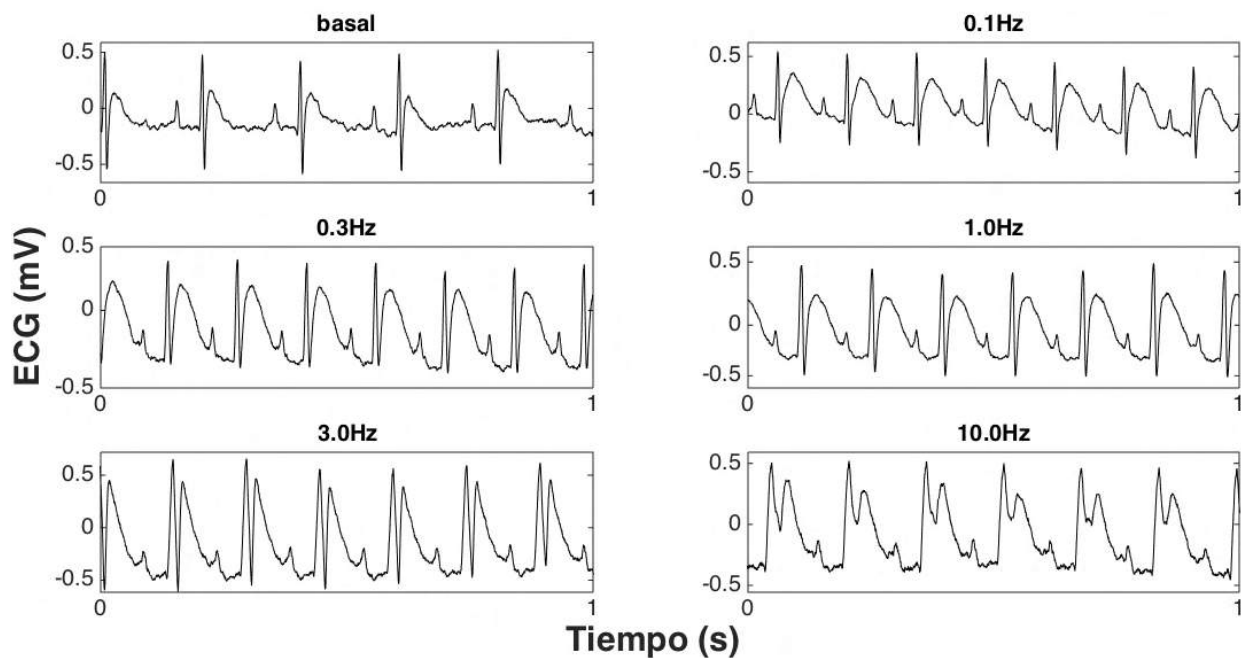


Figura 5.24. Registros ECG de un animal electro-estimulado con 20% de ruido inducido. Al incrementar la frecuencia de electro-estimulación, se observa un incremento en la amplitud de la onda T así como un ensanchamiento en el complejo QRS, comparado con las condiciones basales. Estos cambios pudieran deberse a una hiperpotasemia.

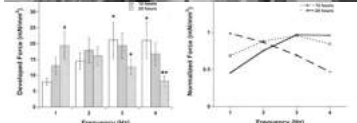


Fig. 2. Force frequency response (development force) in 6 Hz increments (10, 20, 30, and 40 Hz) in 10 trials at a frequency response of 20 Hz. Development force in response to 10 Hz increments (10, 20, 30, and 40 Hz) is shown in the left panel. Development force in response to 20 Hz increments (20, 30, and 40 Hz) is shown in the right panel.

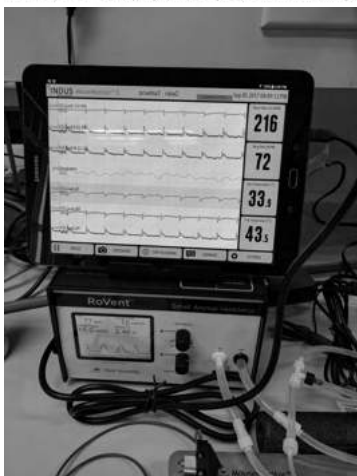
to obtain (9, 27), and when the muscle is kept at low or moderate preload, contractile parameters, including the force frequency relation, and protein concentrations, can be studied over time (1, 13, 23, 27, 28, 30). The current data suggest that we are able to measure a high preload-induced myofibrillar growth response in vivo. In this study, we used to quantify functional changes that would occur at the muscle level from a healthy young hypertrophic state. An assessment of force frequency changes in already hypertrophied muscle leads to preliminary artery based studies in which the force frequency relationship is already changed (14, 41) would allow us to generally follow the transition to end-stage failure. For this we designed a study beyond the scope of the current study. The effect of chronic stretch-induced growth and volume overload on the heart have been well documented (2, 9, 33). The final finding out of the heart failure due to stretch induced protein cross-linking developed force production (42). This is probably due to altered compliance properties leading to an increase in efficiency for calcium of SAC and causes an increase in cross-bridge formation (3, 40). The observed muscle state with prolonged preload and changes in contractile force suggest that continued increased preload leads to an increase in developed force. This effect is regardless of changes in muscle size, and similar to our previous study (9). In our current study, we aimed to determine alterations in contractile function that could serve as a marker for the early compensated state. We were able to show enhanced contractile kinetics measured as increases in the time-to-peak force production, and time to relaxation at 10% and 50% and an increase in basal contractile force (Fig. 2). Unlike basal contractile force, the time-to-peak force production, which was not substituted for the use of shortening, there is a consistent increase. Upon induction of higher frequency, increases in volume lead to an increase in rate of shortening (Fig. 3B), which is indicative of lower kinetics. This suggests an increase in contractile function that occurs solely due to the enhancement of contractile function that occurs solely due to high preload or stretch-induced at heart level.

The stretch effect on FFR is commonly used to determine the quality of cardiac muscle (9). Normally, when healthy myocardium is kept at gradually increasing frequencies, there is an increase in the contractile force produced by the muscle (26). Previous studies have shown a decreased force capacity when heart frequency is increased in failing muscles, as compared with ventricular muscles (16). A negative FFR is thought to reflect a decrease in sarcomeric relaxation calcium load (28, 37). In addition to altered calcium handling, the FFR also appears to be regulated at the myofilament level, as an increase in stimulation frequency, myofilament calcium sensitivity has been shown to be reduced in the rabbit (43), and this myofilament contribution can become disarticulated under pathological conditions (44). In our particular context, normal, stretched, and negative FFR can be detected during hypertrophic state in cardiac. At 10 Hz, we observe the typical positive frequency response. At 12 Hz, the contractile force is one eighth reduced, contractile function is reduced, and the FFR has become significantly negative. In vitro studies have shown that the force-generating capacity of failing muscle is not able to decline with increased frequency (16). Experimentally, we are able to better determine the point at which the muscle transitions from healthy state = 0 Hz, to compensating state = 12 Hz, to failing state = 24 Hz model. Although a negative FFR is often seen during end-stage failure, this study shows that changes in the FFR can be detected before our experimental failure model and seems to be anticipatory and sensitive, well before an increase in basal contractile force, and well before the actual developing hypertrophy.

Changing preload gradually leads to the reverse contractile force of healthy myocardium. In our present study, we aimed to determine the role of assumed presence of preload on FFR. Previous studies analysis of active preload muscle. Upon reducing for 24 h at low preload, there is no significant effect on developed force, TPE, or relaxation time. Experiments conducted on FFR on low preload muscle, show no change in contractile function induced by time. However, because in low load the FFR is negative, data analysis is not suitable for these experiments. Additionally, due to the same level of muscle contracting at low preload, analysis of twitch kinetics was almost impossible. Contractile assessment, at normal pre-

Capítulo 6

Discusión



Discusión

Ruido en sistemas biológicos: presencia de resonancia estocástica

El ruido está inevitablemente presente en sistemas biológicos (*Lindner et al, 2004*). En las reacciones químicas moleculares, el ruido está inducido por todas aquellas fluctuaciones rápidas y estocásticas, fundamentales para la vida. Particularmente, ha sido de especial interés el estudiar este *ruido de fondo* que existe en sistemas excitables y cómo se ven afectados estos sistemas bajo su presencia y en algunos casos, se ha observado que lejos de ser un factor evitable, hay sistemas que aprovechan la presencia del ruido para llevar a cabo sus funciones biológicas. De manera general, este principio es aplicable en aquellos sistemas excitables los cuales parten de un umbral virtual de detección y de la detectabilidad de una señal para su funcionamiento (la presencia de ruido en una señal favorece su detección). El grado en que una señal se beneficia depende en gran medida de agregar la cantidad justa de ruido aleatorio. Si se agrega muy poco ruido, la detectabilidad de la señal no incrementa significativamente. Del mismo modo, agregar demasiado ruido apantalla la señal mejorada. Por consiguiente, hay una cantidad óptima de ruido que transmite la mayor cantidad de información. A este fenómeno se le conoce como resonancia estocástica. Este hallazgo donde el ruido a veces es una ventaja más que una molestia ha provocado un interés reciente, no sólo en la física sino también en áreas biológicas, en donde se interrelacionan el ruido y los umbrales de detección (*Moss & Wiesenfeld, 1995*).

Las neuronas son notoriamente ruidosas, y en algunos aspectos actúan tanto como sistemas excitables como dependientes de un umbral de detección (*Wiesenfeld & Jaramillo, 1998*). En 1993, Douglas y colaboradores reportaron resultados de experimentos llevados a cabo con mecanorreceptores de cangrejo de río en donde notaron una notoria mejoría en la detección de impulsos eléctricos ante la presencia de ruido (*Dougllass et al, 1993*) gracias a técnicas electrofisiológicas mediante *patch-clamp*. Con esto, fue posible demostrar que estas células neuronales pueden traducir estas perturbaciones en el animal dependiendo de su intensidad, ya sea para huir de un depredador o bien en busca de alimento. Dos años más tarde Bezrukov y Vodyanoy reportaron la presencia de resonancia estocástica a nivel subcelular al estudiar la estocasticidad en la apertura y cierre de canales iónicos dependientes de voltaje (*Bezrukov & Vodyanoy, 1995*). Ellos reportaron una mayor diferencia de voltaje debido a la apertura de canales iónicos conformados por el péptido *alameticina* sobre una membrana lipídica, ante la presencia de ruido en electro-estimulaciones. La medición en la cual demostraron la presencia de resonancia estocástica fue a través de la relación señal a ruido la cual se define como la relación entre la potencia de una señal con la potencia del ruido que la corrompe. Cuanto más alto es la señal sobre el ruido, la señal es más clara y por ende más detectable. Debido a esto, frecuentemente la definición de resonancia estocástica se asoció a la existencia de un máximo en la relación señal a ruido como función de una entrada con ruido (*Wiesenfeld & Jaramillo, 1998*).

Aunque la relación señal a ruido se consideró como la opción estándar en diversas publicaciones en los 90's para cuantificar la presencia de resonancia estocástica en un sistema biológico excitable (dado que hasta ese entonces sólo había sido estudiado en el campo de la neurociencia), recientemente se ha debatido sobre su cuantificación en aquellos sistemas en los cuales no están actuando precisamente las neuronas. Algunos científicos prefieren llamar *facilitación estocástica* a la mejoría en el desempeño de un sistema biológico ante la presencia de ruido (McDonnell & Ward, 2011). No obstante, dado el creciente interés en demostrar que la mejoría del desempeño de un sistema biológico se debe universalmente hablando al concepto de resonancia estocástica, en este trabajo se ha optado también por llamar a este fenómeno en cualquier sistema biológico (McDonnell & Abbott, 2009).

En este estudio se utilizaron roedores como modelo animal para la experimentación bajo la supervisión de estrictos protocolos éticos. El uso de modelos animales es esencial para el desarrollo del conocimiento médico contemporáneo pues permite estudiar el cuerpo y sus funciones. Aunque la comprensión médica se deriva esencialmente de las observaciones clínicas y pruebas con pacientes humanos, es posible sustentar ese conocimiento primeramente mediante la experimentación animal a partir de sus similitudes anatómicas (Birke, 2012). Bajo esta perspectiva es posible mimetizar condiciones patológicas humanas en animales. Aún más importante, el uso de pruebas electrofisiológicas invasivas en humanos no solamente es poco ético sino ilegal.

Ruido en el corazón aislado: presencia de patrones de sincronización

El corazón es también un sistema excitable. Su autonomía como oscilador cardiaco depende del disparo de potenciales de acción cardiacos periódicos a partir de sobrepasar un umbral de detección dependiente del potencial de membrana, lo cual se logra a través de la permeabilidad de la membrana a iones sodio a través de canales iónicos dependientes de voltaje. No obstante, hay muy pocos trabajos relacionados a estudiar la presencia de resonancia estocástica en el sistema cardiaco; de hecho, el trabajo más orientado a estudiar siquiera la presencia de ruido se llevó a cabo a nivel celular para demostrar cómo la estocasticidad de canales dependientes de voltaje altera la liberación de calcio del retículo sarcoplasmático a través de los mecanismos de la liberación del calcio por calcio inducido (Wang et al, 2001). Entonces, la presencia del ruido intrínseco a nivel celular parece afectar el mecanismo fundamental de la contracción del músculo cardiaco. Sin embargo, a la escala de órgano completo no había un estudio enfocado en analizar la respuesta contráctil en la escala de órgano completo.

Como se mencionó en el Capítulo 2, la motivación de este trabajo surge a partir de recientes descubrimientos en nuestro laboratorio en donde, a escala de órgano completo, la presencia de ruido en una electro-estimulación extrínseca al corazón indujo una ventana de sincronización 1:1 entre el estímulo eléctrico y su consecuente evento mecánico mayor, comparada con experimentos llevados a cabo sin ruido (Peña-Romo et al, 2016). Sin embargo, al analizar la respuesta contráctil en aquellas regiones de frecuencia de electro-estimulación en donde aparentemente se pierde la sincronización, se observó que el corazón, en lugar de perder

completamente la sincronización con la estimulación, continuó latiendo periódicamente aunque a una frecuencia diferente que la del estímulo, incitando entonces la presencia de un patrón de sincronización anómalo. Por consiguiente, para continuar con la caracterización de la respuesta contráctil del corazón debida a estímulos eléctricos periódicos perturbados con distintas intensidades de ruido, en la primera parte de este trabajo se optó por llevar a cabo un análisis de la identificación de patrones de sincronización anómalos debidos al ruido.

La presencia de patrones de sincronización debidos al ruido en sistemas biológicos excitables no es un tema de investigación inexplorado. Se ha demostrado que la presencia de diversas fuentes de ruido inducen sincronización en neuronas, de acuerdo a estudios tanto teóricos como experimentales (*Moss et al, 2004; Faisal et al, 2008; McDonnell & Ward, 2011*). Aún más, se ha observado que en modelos neuronales, la presencia de ruido induce $n:m$ patrones de sincronización (n estímulos desencadenando m disparos) para diversas intensidades y frecuencias en la estimulación (*Longtin, 2000*). En las neuronas, el ruido surge de muchas fuentes diferentes, como la liberación casi aleatoria de neurotransmisores por las sinapsis, la conmutación aleatoria de los canales iónicos así como la entrada sináptica aleatoria de otras neuronas (*Moss et al, 2004*). Enfocándonos en el corazón, se tienen diversas fuentes de ruido intrínsecas al órgano en la escala celular como en la interacción célula-célula. No obstante, al ser un órgano inervado por el sistema nervioso autónomo, diversas fuentes de ruido extrínseco asociadas a la actividad neuronal pueden afectar el desempeño de este órgano. Entonces es posible explorar sistemáticamente el papel del ruido extrínseco sobre la contractilidad del corazón utilizando técnicas electro-fisiológicas.

Si bien es cierto que en el sistema cardiaco se ha demostrado que variando tanto la intensidad como la frecuencia de electro-estimulación en células excitables del nodo SA, es posible observar patrones de sincronización anómalos en la generación de potenciales de acción cardiacos (*Guevara et al, 1981*), no se había demostrado que la presencia del ruido es una variable adicional a tener en cuenta en la generación anómala de patrones de sincronización en el nodo SA ya que puede repercutir en la respuesta contráctil de todo el órgano. Se ha demostrado que el nodo SA no es una zona perfectamente homogénea (*Boyett et al, 2000*), esto es, la localización específica del nodo SA en la aurícula derecha puede variar entre un corazón y otro. El protocolo experimental para electro-estimular el nodo SA y con esto alterar la ritmicidad del corazón, consiste en colocar dos electrodos superficialmente sobre la aurícula derecha y, de esta manera, inducir un campo eléctrico lo suficientemente grande para asegurar la electro-estimulación del nodo SA, independientemente de su localización. No obstante, no se tiene un control específico sobre la posible inervación de fibras nerviosas parasimpáticas que pudieran quedar presentes en la fibra cardiaca en la zona del nodo SA debida a una estimulación, una vez que el corazón es aislado. Sin embargo, al observar únicamente incrementos taquicárdicos como respuesta a estímulos eléctricos periódicos, esta posible dependencia parasimpática se considera despreciable.

La mayoría de estudios experimentales en donde se demostró la presencia de resonancia estocástica, consistió en inducir ruido al sistema ya sea mediante la inducción de corrientes eléctricas que aumentaran la estocasticidad de los mecanismos moleculares (*Stacey & Durand,*

2001) o bien, mediante la inducción de ruido blanco Gaussiano en técnicas electro-fisiológicas (Douglass *et al*, 1993). En el modelo de corazón aislado, la incorporación de ruido también puede llevarse a cabo mediante dos técnicas, la inyección de fármacos que modifiquen la dinámica de los canales iónicos o bien, mediante pulsos eléctricos periódicos perturbados con ruido blanco. Ante el nulo control del ruido mediante técnicas farmacológicas, se optó por desarrollar un generador de funciones en donde sea posible controlar la amplitud (V) y la frecuencia de los pulsos eléctricos (Hz) así como la intensidad del ruido (mV). Estrictamente hablando, la señal de ruido blanco utilizado en estos experimentos es un ruido blanco acotado por una frecuencia de corte de 1KHz. No obstante, dado que las frecuencias fisiológicas en las cuales opera el corazón aislado de ratón oscilan entre 6 y 20Hz (Bell *et al*, 2011), podríamos considerar esta frecuencia de corte más que aceptable para seguir siendo considerada la señal como ruido blanco.

Los resultados concernientes a los experimentos llevados a cabo en el modelo de corazón aislado se encuentran en el Capítulo 4 (sección 4.2). En el Capítulo 1 (sección 1.1.10) se explicó que el corazón puede analizarse bajo la perspectiva de un oscilador cardiaco pues cumple las cuatro características fundamentales de un oscilador biológico, mismas que pueden comprobarse analizando los registros de la Figura 4.9. Primeramente, el corazón es un sistema autónomo. Posee su propia fuente de energía a partir de la metabolización de ATP y otros nutrientes que obtienen las células al ser continuamente perfundidas en el montaje experimental. Por otro lado, su ritmicidad está determinada por los parámetros del sistema. Se observa que, aún en estado basal, el corazón continúa latiendo de manera periódica y regular debido a los principios fisiológicos que hay detrás de su ritmicidad a partir de la permeabilidad de membrana en las células cardiacas del nodo SA a iones sodio. Por otro lado, la morfología de las oscilaciones es propia del sistema cardiaco al ser también determinada por un principio fisiológico propio: la liberación de calcio por calcio inducido en donde, al aumentar la frecuencia de electro-estimulación, la amplitud tiende a disminuir pues disminuyen a su vez los tiempos de relajación ventricular. Cuando se termina la electro-estimulación periódica, el corazón regresa nuevamente a sus condiciones basales tras unos segundos. Y finalmente, no es posible alterar la ritmicidad del corazón si la frecuencia de electro-estimulación se da por debajo de sus frecuencia cardiaca basal. El corazón aislado de ratón late, en promedio, a 380 lpm (6.33Hz). En los experimentos se observó que el límite mínimo necesario para inducir un cambio en la ritmicidad de los corazones fue de 6Hz. El límite máximo de frecuencia de electro-estimulación se determinó a partir de conocer previamente el valor umbral a partir del cual los corazones pierden la sincronización 1:1 con el estímulo (Kass *et al*, 1998) (12Hz), determinando el valor de 17Hz lo suficientemente elevado para encontrarse en una frecuencia supra de electro-estimulación.

En este trabajo, conceptos como acoplamiento y sincronización se pusieron a prueba bajo el modelo de corazón aislado. Se sabe que si la frecuencia de electro-estimulación es inferior a la 6Hz no se puede observar un acoplamiento entre el estímulo y el corazón. Por otro lado, para frecuencias de electro-estimulación superiores a 20Hz nunca existirá una sincronización dado que la diferencia en frecuencia entre el estímulo y la respuesta cardiaca es muy grande (Wakimoto *et al*, 2001). La determinación de los valores de intensidad de estimulación fue de manera heurística. Si bien está reportado que la ritmicidad del corazón aislado de ratón puede

perturbarse de manera óptima con 2V (*Knollmann et al, 2006*), era necesario establecer un margen en el cual fuera posible alterar la ritmicidad del corazón sin comprometer el desempeño contráctil. Valores de electro-estimulación mayores a 8V únicamente ocasionaban un deterioro en la fibra cardiaca. Por consiguiente, la ventana de intensidad de estimulación se determinó entre 2V a 6V con incrementos de 1V.

La elección de un modelo experimental depende en gran medida del problema que se va a examinar y de la hipótesis que se va a someter a prueba. La técnica de Langendorff para corazón aislado sigue siendo ampliamente utilizada en la actualidad aún cuando su descubrimiento data ya desde hace más de cien años (*Langendorff, 1895*). Gracias ella se han logrado importantes avances en la comprensión de la fisiología cardiaca, tales como la ley de Frank-Starling o el papel del calcio en la contracción cardiaca (*Gao et al, 2004*), entre otros. Dentro de las ventajas de este modelo experimental están su reproducibilidad, la cantidad de datos que puede aportar debido a la facilidad de realizar muchos experimentos con una sola preparación y su bajo costo. Como modelo de órgano aislado, tiene la gran ventaja de poder medir variables en la ausencia de factores derivados de la acción reguladora extrínseca, como por ejemplo, la circulación sistémica, los factores neurohumorales circulantes y las células sanguíneas (*Sutherland et al, 2003*). Asimismo, al poder controlar la composición del líquido de perfusión, se pueden llevar a cabo estudios precisos y exactos de dosis-respuesta a intervenciones metabólicas o farmacológicas (*Aistrup et al, 2006*). Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta preparación se deteriora rápidamente (en promedio 10% cada hora) (*Sutherland et al, 2003*), requiriendo estricto control de la temperatura y la presión de perfusión para ser viable al desarrollar una función contráctil adecuada y no falsear la interpretación en estudios de extensión de tejido infartado (*Gauthier et al, 1998*). En cuanto a la temperatura, se ha demostrado que a 37°C la solución de perfusión es más efectiva pues mantiene al tejido dentro del rango fisiológico aceptable (*Sutherland et al, 2003*). Por otro lado, los registros de presión obtenidos son utilizados únicamente para monitorear el estado actual del corazón y no tiene un análisis más detallado en este estudio. Para la elección de los ratones no es importante discernir entre sexos pues, pese a que los efectos hormonales en hembras debidas al ciclo estral podrían alterar los resultados in vivo, en un análisis de corazón aislado se prescinde de este problema.

Las variables de frecuencia cardiaca e intensidad de fuerza contráctil a partir de registros de la actividad mecánica del corazón proporcionan la información suficiente para identificar patrones de sincronización anormales debidos a una estimulación eléctrica externa con y sin ruido blanco inducido. Cabe resaltar que al no haber una precarga y una postcarga en el modelo de corazón aislado, la intensidad de fuerza contráctil es solamente una aproximación de la fuerza de contracción, tal y como se determina normalmente mediante la ley de Frank-Starling (*Endoh, 2004*). No obstante, permite conocer otra característica importante del corazón, como es su excitabilidad

Para validar el montaje experimental del corazón aislado, se reprodujeron resultados reportados por otros estudios, tanto para la intensidad de la fuerza contráctil como para la frecuencia cardiaca. Los resultados de la Figura 4.10 y 4.14 permiten corroborar que, para corazón aislado de ratón, la intensidad de la fuerza contráctil tiende a decrecer conforme incrementa la

frecuencia de estimulación, independientemente de la intensidad del estímulo así como de la intensidad de ruido inducido (*Sutherland & Hearse, 2000; Sutherland et al., 2003; Slabaugh et al, 2012*). Cuando se interrumpe la estimulación externa, las condiciones mecánicas del corazón se restablecen a sus condiciones basales (Figura 4.9). No se encontró una diferencia significativa entre los experimentos control para el análisis de amplitud de las señales de respuesta contráctil con distintas intensidades de ruido inducido ($P < 0.05$).

Diversos patrones de sincronización diferentes del 1:1 se encontraron en el modelo de corazón aislado sin y con la presencia de ruido en la electro-estimulación. Ante la ausencia de ruido, fueron observados diversos $m:n$ patrones de sincronización al variar tanto la amplitud como la frecuencia del estímulo eléctrico, de manera similar a estudios previos con células excitables como neuronas (*Longtin, 2000*) o cardiomiocitos (*Guevara et al, 1981; Glass, 2001*). El mínimo voltaje de electro-estimulación empleado en este estudio produce una transición entre diferentes patrones de sincronización. Para 2V, el patrón 1:1 se observa en un rango fisiológicamente estable (6-11Hz, Figuras 4.11A y 4.16A), mientras que al incrementar la frecuencia del estímulo a partir de 12Hz (*Kass et al., 1998*), la sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico se pierde (Figura 4.12A). Sin embargo, analizando los datos individualmente, es claro que algunos corazones cambiaron su patrón de sincronización en lugar de una total falta de sincronización (Figura. 4.11C). Detalladamente, los resultados para 2V y frecuencias de estimulación entre 12-16Hz mostraron un patrón de sincronización 2:1 (la frecuencia cardíaca disminuyó a la mitad del valor de la frecuencia del estímulo, Figura. 4.166A). Finalmente, para 2V y 17Hz, no es posible determinar una sincronización clara puesto que la respuesta mecánica presenta un comportamiento no periódico con sobreimpulsos irregulares (Figuras 4.9D, 4.12D y 4.16A). Por otro lado, con el máximo valor de electro-estimulación, el patrón 1:1 fue observado en un amplio rango de frecuencias de estimulación (6-15Hz, Figuras 4.11B, 4.11D y 4.16A). Estos resultados coinciden con el hecho de que para conservar el régimen 1:1 en el oscilador cardíaco, la intensidad del estímulo debe ser mayor para compensar la diferencia de la frecuencia basal (*Pikovsky et al, 2001*). Con esto se concluye que el montaje experimental propuesto es apropiado para identificar patrones de sincronización anormales en respuesta a estímulos eléctricos perturbados con ruido.

Independientemente de la intensidad y frecuencia de la estimulación, así como de la intensidad de ruido inducido, la presencia de los patrones de sincronización en la Figura 4.16 nos permite observar la robustez del corazón para mantener el régimen 1:1. Estos resultados coinciden con los publicados por Guevara y colaboradores para células cardíacas, en donde al incrementar la intensidad de perturbación en un oscilador cardíaco, se compensa la diferencia entre la frecuencia basal y altos valores de frecuencia de estimulación (*Guevara et al, 1981*). Aún más, la presencia de grupos experimentales asociados a diferentes patrones de sincronización, como consecuencia de estímulos eléctricos con diversas intensidades de ruido, es una evidencia de que estos comportamientos no se tratan de eventos aislados.

Los patrones de sincronización que se presentaron debido a estímulos con bajas intensidades de ruido se muestran en las Figuras 4.16B para 10% ruido y 4.16C para 20% ruido. En ambos casos, puede observarse el rol benéfico del ruido al mantener el régimen 1:1 en más experimentos,

comparado con los experimentos control (Figura 4.16A). Sin embargo, aunque se presentaron grupos experimentales asociados con patrones de sincronización 2:1 y 1:2 como en los controles, se registraron otros patrones. Para 10% ruido, se observó un grupo asociado al patrón 3:1. Interesantemente, el número de experimentos asociados a grupos que conforman los patrones 1:2 y 2:1 es menor comparado con los controles. Por otro lado, con 20% ruido pueden observarse grupos asociados a los patrones de sincronización 3:2, 2:1 y 1:2. No obstante, altas intensidades de ruido inducido en el estímulo (30% ruido) inducen severas irregularidades en la respuesta cardíaca. En la Figura 4.16D pueden observarse grupos asociados con los patrones 3:2 y 1:2, pero la total pérdida de sincronización está presente en la mayoría de los experimentos.

Los resultados para corazón aislado implican que la sincronización en el acoplamiento eléctrico-mecánico depende no sólo en la intensidad y frecuencia del estímulo, sino de ruido extrínseco como un parámetro adicional a ser considerado. El montaje experimental propuesto permite tener un control fino en los parámetros asociados con el ruido inducido. Las diferencias en las intensidades de ruido utilizadas en este estudio son probablemente asociadas a diferentes fuentes de ruido relacionadas con la actividad del sistema nervioso autónomo (para más detalle, refiérase a la Figura 2.5). El ruido eléctrico en neuronas causa fluctuaciones en el potencial de membrana, incluso ante la ausencia de impulsos sinápticos (Longtin, 2000). Este trabajo sugiere que el corazón, un órgano que está inervado por el sistema nervioso, también está siendo afectado por este fenómeno. Esto proporciona un ejemplo concreto en donde las nociones de patrones de sincronización y sintonización de ruido en células excitables pueden ser aplicados también en la escala de órgano completo. Se ha utilizado el término “pueden” a propósito puesto que los mecanismos involucrados en la noción de ruido intrínseco no fueron considerados en este estudio (no se llevaron a cabo registros de la actividad intracelular) y una pequeña fluctuación bioquímica o electroquímica puede afectar significativamente la respuesta a nivel celular (Faisal et al, 2008).

Trabajos anteriores han demostrado que los ritmos anormales del corazón son un foco de interés en la investigación biomédica, no sólo por su relevancia en el análisis y tratamiento de arritmias cardíacas, sino también por su importancia en la incorporación de conceptos físicos y matemáticos de su dinámica (Franz, 1991; Glass, 2001). La presencia del patrón de sincronización 1:1 está asociada a una respuesta fisiológicamente normal en el corazón. Esto se debe a que, al incrementar la ritmicidad de las células marcapaso, se sigue presentando el fenómeno de *supresión por marcha*. La ritmicidad de disparo de las células del nodo SA es de 60-100 despolarizaciones por minuto, mientras que las del nodo AV y células marcapaso ventriculares son 40-50 y 30-40 despolarizaciones por minuto, respectivamente. Al ser el nodo SA más rápidas que las demás, el nodo SA sigue imperando como el *marcapasos maestro* sobre otras células marcapaso en la circuitería eléctrica encargada de transmitir el impulso. Mientras se mantenga esta ritmicidad, en el corazón existirá un evento contráctil como respuesta a un evento eléctrico (Vasalle, 1977).

Explicar los mecanismos celulares que hay detrás de las contracciones anómalas como resultado de patrones de sincronización diferentes del 1:1 es complicado dado que en este trabajo no se tiene registro de la actividad eléctrica del corazón aislado. Registros *electrográmicos* (a

diferencia de un *electrocardiograma*, los *electrogramas* miden la actividad eléctrica del corazón directamente de la fibra cardiaca mediante dos electrodos monopolares y no mediante derivaciones en los miembros) podrían explicar el deterioro de la actividad eléctrica que desencadenan estas contracciones arrítmicas (Kolarova et al, 2010). No obstante, otros autores han demostrado que al cambiar la proporción entre un evento eléctrico y uno mecánico $n:m$, donde $n>1$ y a su vez $n>m$, se presenta el caso de una arritmia por bloqueo (patrones 2:1, 3:1, y 3:2). Tal es el caso de los ritmos Wenckebach, en los cuales el pulso eléctrico originario del nodo SA no se propaga hacia los ventrículos por un bloqueo en el nodo AV (comúnmente debido a una hiperpotasemia). Por consiguiente, se tienen más eventos auriculares que ventriculares (Levy et al, 1974; Guevara et al, 1981).

La situación es más extraña cuando se tienen más eventos ventriculares que eventos eléctricos en el nodo SA ($n:m$, donde $m>n$) como es el caso del patrón de sincronización encontrado 1:2. Una posible causa de este patrón de sincronización se debe al fenómeno de *latencia*. La fase de latencia en un potencial de acción cardiaco se encuentra en la región refractaria relativa (fase del periodo refractario en donde es posible inducir una nueva despolarización) y está caracterizada por el hecho de que en esta fase el músculo cardiaco responde a una electro-estimulación, pero con cierto retraso (Csapó, 1972). No obstante, esto se presenta ante elevadas frecuencias de estimulación y, al observar los resultados experimentales, ante la ausencia de ruido así como bajo la presencia de ruido inducido, este patrón de sincronización se encontró en bajas frecuencias de estimulación (7-10Hz). Por consiguiente, se considera que el efecto de latencia no es responsable de la generación de este patrón de sincronización. Por otro lado, algunos autores sugieren que la presencia latidos ventriculares prematuros (más eventos contráctiles ventriculares que auriculares) está asociada a impulsos ventriculares ectópicos que inducen tanto una taquicardia ventricular así como estadios tempranos de una fibrilación (Janse et al, 1980). En este escenario, en una contracción ventricular prematura el ventrículo no alcanza a llenarse adecuadamente de sangre y se tienen contracciones de menor intensidad. Analizando las ventanas de sincronización 1:2 (Figuras 4.12C y 4.15B) se observa que la morfología de la señal es una onda completa acompañada de una de menor intensidad. Posiblemente esto sea el reflejo de un evento contráctil prematuro. Es necesario llevar a cabo registros de electrograma para dilucidar con certeza la causa.

Para cada mapa de interacción de la Figura 4.16, se calculó el porcentaje de experimentos que presentaron el patrón de sincronización 1:1, al ser éste una métrica del desempeño de un corazón fisiológicamente sano. El máximo desempeño obtenido se logró para aquellos corazones que fueron estimulados con 10% de ruido inducido (Figura 4.17). El fenómeno de resonancia estocástica está presente en aquellos sistemas en donde bajas intensidades de ruido generan un aumento en el desempeño de la respuesta en lugar de disminuirlo (Moss et al, 2004). Puesto que bajas intensidades de ruido (10% y 20% ruido) proporcionan un óptimo desempeño en la respuesta cardiaca (comparado con experimentos control, 0% ruido) mientras que para altas intensidades de ruido inducido (30% ruido) la respuesta está dominada por el ruido (Faisal et al, 2008), se puede concluir que la resonancia estocástica está presente también en el modelo de corazón aislado. Esto abre ampliamente las posibilidades de estudiar el papel del ruido (tanto intrínseco como extrínseco) en el análisis y prevención de ritmos anómalos en el corazón.

Ruido en la interacción entre el sistema nervioso autónomo y el corazón como órgano objetivo

El segundo escenario de este proyecto consistió en estudiar el efecto del ruido en la inervación del corazón como órgano objetivo por el sistema nervioso autónomo mediante un modelo *in vivo*. Para lograr esto, fue necesario desconectar al corazón de otros sistemas que influyen en su autorregulación, mediante la descerebración y la desmedulación del animal. De esta manera es posible monitorear cambios en la actividad contráctil del corazón como respuesta únicamente a electro-estimulaciones con ruido inducido directamente sobre la actividad neuronal. Los resultados de este segundo bloque se encuentran en el Capítulo 5 (sección 5.2).

En este montaje experimental pueden ser estimulados diferentes segmentos de la médula espinal para producir una respuesta específica (Gillespie *et al*, 1970). Por ejemplo, una estimulación selectiva de los segmentos T7, T8 y T9 de la zona torácica inferior produce un incremento en la presión arterial sistémica sin modificar significativamente la frecuencia cardíaca. De la misma manera, una estimulación selectiva de los segmentos C7 y T1 produce incrementos en la frecuencia cardíaca sin modificar significativamente la presión arterial (Centurion *et al*, 2009). Los resultados de la Figura 5.13 permiten observar que al estimular selectivamente cada uno de estos sistemas (corazón y vasoconstricción arterial) no es posible evitar del todo la influencia de un sistema sobre el otro. En la Figura 5.13B se observa que al inervar el segmento asociado a la vasoconstricción arterial se observan también cambios en la frecuencia cardíaca, aunque estos cambios permanecen constantes para todos los valores de frecuencia de electro-estimulación. Esto se debe a que al utilizar un electrodo para inervar un segmento de la médula espinal se genera un campo eléctrico que, aunque es más fuerte en la zona de interés, puede afectar de manera indirecta otras regiones, sobre todo cuando la diferencia en longitud entre la zona torácica superior (corazón) e inferior (sistema vasoconstrictor) es apenas de 2cm en ratas. Sin embargo, al comparar los incrementos de presión arterial en ambos sistemas así como los incrementos en frecuencia cardíaca existe una diferencia significativa entre ambos y se puede concluir que se está llevando a cabo una inervación específica del corazón.

Aunque el modelo de descerebración y desmedulación es utilizado frecuentemente para investigar respuestas cardiovasculares mediadas por el flujo postganglionar autónomo, la inervación de los órganos efectores se da únicamente por el sistema simpático. De esta manera, el corazón pierde una propiedad muy importante que es la relajación ventricular mediada por la inervación parasimpática y subsecuentemente la retroalimentación por el sistema reflejo barorreceptor. Entonces, una de las principales limitaciones de este montaje experimental es la pérdida de la influencia del sistema nervioso central en la respuesta cardiovascular. No obstante, este sistema permite estudiar la interacción entre la actividad neuronal y la inervación del corazón, mediada por estímulos eléctricos con distintas intensidades de ruido inducido.

Una de las principales diferencias entre el modelo de descerebración y desmedulación con el sistema de corazón aislado radica en los tiempos de respuesta cardíaca por una electro-

estimulación. En el modelo de corazón aislado, se observan incrementos en la frecuencia cardíaca en apenas unos segundos después de que inicia el estímulo (Figura 4.9). Esto es debido a que la dinámica depende únicamente de la activación de canales iónicos dependientes de voltaje, los cuales son rápidos comparados con la liberación de neurotransmisores en el sistema nervioso autónomo. En el modelo de descerebración y desmedulación una electro-estimulación se traduce en una liberación de noradrenalina y, tras el fenómeno de sinapsis, se da la activación de canales iónicos dependientes de voltaje que alteran la respuesta cardíaca (Figura 5.1). Otra diferencia radica en que una vez retirado el estímulo, el corazón aislado regresa a sus condiciones basales en pocos segundos mientras que en el modelo de descerebración y desmedulación, ante la nula participación del sistema parasimpático, el corazón regresa a sus condiciones basales incluso algunos minutos después de haber terminado la electro-estimulación (Figura 5.15).

El uso de fármacos altera considerablemente la frecuencia basal del corazón (*Ho et al, 2011*). En el caso de pentobarbital, la frecuencia cardíaca cae en un rango promedio de 377 lpm comparada con los casi 600 lpm cuando el animal está consciente (*Ho et al, 2011*). Por consiguiente, es preferible llevar a cabo la anestesia con fármacos inhalatorios (*Murakami et al, 2014*), como isoflurano, donde la frecuencia cardíaca basal se encuentra alrededor de 450 lpm (*Ho et al, 2011*). Esto no es posible en este montaje experimental. Para el uso de anestésicos inhalatorios, se requiere un suministro constante del fármaco en el animal. Si se detiene el suministro, el animal estará consciente pasados unos segundos. Dado que la metodología empleada requiere que se lleve a cabo una descerebración y una desmedulación, es necesario tener un control estable del animal para llevar a cabo ese procedimiento. Por otro lado, tras la descerebración y desmedulación la frecuencia cardíaca basal cae hasta 310 lpm, en promedio (Tabla 5.2). No obstante, aún ante esta diferencia considerable en la frecuencia cardíaca, los registros de ECG permiten observar un comportamiento estable en la actividad eléctrica donde es posible determinar todos los elementos presentes en un electrocardiograma normal (Figura 5.11).

El registro de electrocardiograma entre un humano y un roedor posee ciertas diferencias, particularmente debidas a la frecuencia cardíaca. A diferencia de un electrocardiograma normal humano, en los roedores no siempre está presente la onda Q, no existe un segmento ST y la onda T es más puntiaguda (*Konopelski & Ufnal, 2016*). Esto se debe a que los eventos contráctiles son más rápidos. Dado que no hay muchos estudios enfocados en caracterizar un registro ECG para ratas de una cepa en particular, es necesario llevar a cabo una caracterización de los elementos que lo componen. Para este trabajo, los parámetros ECG para los animales utilizados se encuentran en la Tabla 5.2. Al tener una medición de la actividad eléctrica (ECG) y mecánica (perfiles de velocidad del flujo aórtico a través del arco aórtico) del corazón mediante métodos no invasivos proporciona ciertas ventajas: al tener el corazón intacto, no hay daño en el tejido debido a una posible incisión en planos errónea, existe una estabilización de la temperatura corporal y se evita una localización errónea de electrodos que pueden inducir un registro incorrecto.

Aunque el animal se encuentra en un estado vegetativo después de la descerebración y desmedulación y por ende no responde voluntariamente ante una perturbación, pueden

presentarse contracciones involuntarias del músculo esquelético (espasmos musculares) ante electro-estimulaciones desde la médula espinal que pueden inervar las vías del sistema somático y por consiguiente, afectar el registro de los parámetros de interés. A diferencia de otros bloqueadores neuromusculares, el fármaco *galamina* es utilizado ampliamente en el modelo de descerebración- desmedulación pues evita el bloqueo ganglionar que puede afectar la transmisión neuronal en las vías del sistema autónomo (*Elayan et al, 2008*). Si bien es cierto que la incorporación de fármacos a un sistema biológico induce variabilidad entre los distintos animales, no se demostró una diferencia considerable en las frecuencias basales entre los animales utilizados en este estudio.

En este montaje experimental se encontraron cambios en la respuesta cardiaca ante la presencia de ruido en la electro-estimulación. Para los experimentos control se observa que conforme incrementa la frecuencia de electro-estimulación, hay una mayor liberación de noradrenalina que se traduce en un mayor aumento en la frecuencia cardiaca (Figura 5.15). De los resultados en la Figuras 5.16 y 5.17 se puede observar que a diferencia del control, la presencia de 10% de ruido en la electro-estimulación induce más incrementos taquicárdicos y el restablecimiento a condiciones basales una vez retirado el estímulo se da en menor tiempo, asociado a un buen desempeño en la respuesta cardiaca. Por su parte, aunque con 20% y 30% de ruido los corazones regresan a sus condiciones basales más rápido que los controles, los incrementos taquicárdicos no son superiores comparados con los experimentos control. De hecho, se presenta una respuesta en la cual el límite fisiológico a una frecuencia cardiaca máxima es alcanzado con menos frecuencias de electro-estimulación pero este límite fisiológico es menor. La incorporación de altas intensidades de ruido en la electro-estimulación (30% de ruido) es perjudicial en la respuesta contráctil para altas frecuencias de electro-estimulación. Dos animales, pese a encontrarse bajo las mismas condiciones que los grupos control antes de la electro-estimulación, no sobrevivieron a estímulos superiores a 1Hz. Se tiene entonces un límite en la tolerancia del sistema cardiaco ante la presencia del ruido. Las comparativas entre los distintos niveles de ruido con el grupo control para determinar la presencia de diferencia significativa se llevó a cabo únicamente entre los grupos con 0%, 10% y 20% de ruido inducido, considerando que la presencia de 30% de ruido es perjudicial.

Para cuantificar el desempeño del corazón como bomba se obtuvo una aproximación del gasto cardiaco. En este montaje experimental, al desconectar todos los mecanismos reguladores del corazón, se pierde también una valiosa aportación al gasto cardiaco: el volumen sanguíneo de retorno. Las venas son consideradas *reservorios de sangre* que satisfacen la cantidad de sangre cuando hay un aumento en la frecuencia de contracción. Mediante una vasoconstricción (activada por el sistema reflejo barorreceptor) las venas se contraen introduciendo más sangre al interior de la bóveda cardiaca y compensando así la falta de sangre necesaria para mantener un flujo sanguíneo constante. Cuando se lleva a cabo una inervación simpática, el gasto cardiaco puede aumentar desde 5L/min (en humanos) hasta 20L/min (*Guyton & Hall, 2006*). Ante la pérdida del aporte sanguíneo por parte del sistema venoso, en este montaje experimental no es posible observar esos incrementos masivos en el gasto cardiaco. Por consiguiente, lo que se observa es más bien una aproximación al gasto cardiaco a diferencia del que se podría observar si el animal no fuera descerebrado ni desmedulado (*Bravo et al, 2004*).

De la Figura 5.19 se observa que con 10% de ruido se obtiene un mejor desempeño en la contractilidad del corazón al presentarse un aumento considerable en el gasto cardiaco comparado con el control, para todas las frecuencias de electro-estimulación. Esto significa que, bajo las mismas condiciones de frecuencia e intensidad de estimulación que el control, la cantidad de sangre que es eyectada del corazón como consecuencia de un evento sistólico es mayor únicamente debido a la presencia de ruido. Por consiguiente, el corazón es capaz de suplir de oxígeno y nutrientes en mayor volumen a todas las células que conforman al organismo vivo. No obstante, para 20% y 30% de ruido se observa un aumento en el gasto cardiaco para 0.1Hz y 0.3Hz de electro-estimulación, pero posteriormente tiende a decrecer conforme incrementa la frecuencia del estímulo. Este decremento en la respuesta contráctil del corazón se debe a una alteración en la repolarización ventricular (Figura 5.24). Los registros de ECG permiten demostrar una alternancia en la onda T que induce a la generación de contracciones sostenidas y de menor amplitud (Figura 5.21).

En la literatura está reportado que incrementos elevados en la frecuencia cardiaca inducen a su vez incrementos transitorios en el potasio extracelular (*Kunze, 1976*). Al existir un incremento masivo de potasio en el sérum sanguíneo se presentan anomalías en la propagación del impulso eléctrico. En la zona ventricular, esto induce alteraciones anormales en la despolarización y repolarización de la fibra cardiaca y por consiguiente, contracciones sostenidas y de baja intensidad. En el ECG, ante la presencia de una hiperpotasemia usualmente se encuentra una onda T puntiaguda y de gran amplitud, con un complejo QRS más ancho (*Asmar et al, 2012*). Los registros de ECG obtenidos en el montaje experimental para 20% y 30% de ruido inducido sugieren que la disminución en el gasto cardiaco se debe a una hiperpotasemia (Figuras 5.21 y 5.24). No obstante, en este estudio se maneja esta discusión con ciertas reservas pues hace falta llevar a cabo un análisis vectorial de ECG (mediante el sistema hexaxial) siguiendo protocolos de identificación de arritmias conocidas en la clínica (*Christini & Glass, 2002*) para determinar si efectivamente el daño se debe a una alteración en el flujo de potasio y no a una isquemia subendocárdica, por ejemplo. Hasta el momento no se cuentan con los registros suficientes para llevar a cabo un análisis vectorial pues, además de las tres derivaciones frontales, se requieren las tres derivaciones aumentadas monopares.

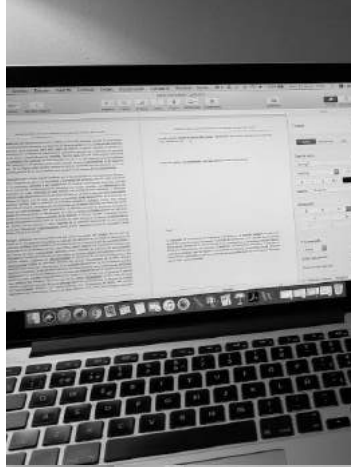
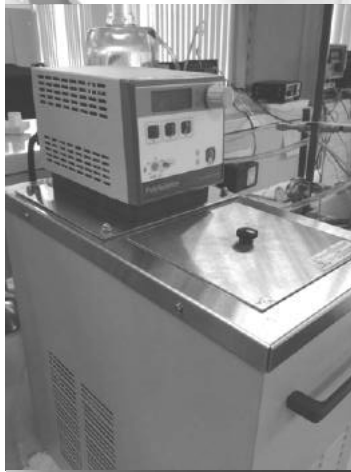
En la Figura 5.9 se hizo mención de las variables de interés en los perfiles de velocidad del flujo aórtico: tiempo de pre-eyección, tiempo de subida, velocidad pico y distancia de eyección; todas estas variables normalizadas con respecto al tiempo total de eyección. Si bien es cierto que existieron algunas diferencias significativas particularmente con la variable de velocidad pico para el grupo llevado a cabo con 10% de ruido, así como algunas tendencias fisiológicamente normales como una disminución en el tiempo de pre-eyección para los grupos control (como consecuencia de un aumento en la frecuencia cardiaca), al comparar los resultados entre los distintos grupos con ruido no se presentó ninguna diferencia significativa. Esto debido a las limitaciones en el desempeño de la actividad contráctil del corazón, como consecuencia de una descerebración y desmedulación, anteriormente explicadas. Los resultados pueden encontrarse en el material suplementario en el Capítulo 10.

Hasta donde se tiene conocimiento, este es el primer trabajo experimental en el cual se estudia el efecto del ruido en la interacción entre el sistema nervioso y un órgano efector. Los resultados permiten demostrar que la presencia del ruido en la electro-estimulación llevada a cabo en la médula espinal induce cambios en la actividad neuronal que repercute, a su vez, en el corazón como órgano objetivo. Dilucidar la causa de estas alteraciones en el sistema nervioso periférico simpático no es una tarea fácil pues no es posible obtener registros de la actividad eléctrica de las neuronas en este montaje experimental. La aproximación se hace con un carácter especulativo. Sabiendo que estudios previos han demostrado que la presencia de ruido en sistemas excitables como neuronas cuya actividad depende de la detección de una señal en un umbral virtual induce un incremento en la cantidad de disparos, la presencia de ruido podría sensibilizar las neuronas al inducir cambios en su potencial de membrana mediante el principio de resonancia estocástica, discutido anteriormente. De esta manera, se tienen más disparos eléctricos que convergen en la sinapsis, liberando más noradrenalina y, por consiguiente, se tienen incrementos taquicárdicos superiores con respecto a la ausencia de ruido. No obstante, esta aproximación no es suficiente para explicar la presencia de aumentos taquicárdicos superiores ante la presencia de 10% de ruido y no así con 20% ni 30%. Aún más, la presencia de ruido pareciera acelerar los mecanismos en la sinapsis neuronal pues los corazones estimulados con ruido inducido regresaron a su ritmicidad basal en menos tiempo, comparado con el grupo control. Asimismo, aún permanece inconcluso por qué el ruido proveniente del estímulo en la médula espinal induce alteraciones en la actividad eléctrica del corazón para 20% y 30% de ruido como consecuencia de una elevación en la frecuencia de respuesta cardiaca, y no así para 10% de ruido, donde los incrementos taquicárdicos fueron incluso superiores. Un estudio farmacológico para analizar la liberación y recaptación de catecolaminas en la sinapsis simpática debidas al ruido podrían explicar estas posibles alteraciones. Por consiguiente, es necesario llevar a cabo estudios focalizados en estos aspectos para dilucidar la fenomenología que hay detrás de estas anormalidades.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren una implicación en aplicaciones biomédicas. Primeramente, el rol benéfico de la presencia del ruido en la respuesta contráctil del corazón es un aliciente para que se continúe la investigación para el potencial desarrollo de marcapasos inteligentes que incorporen la presencia del ruido con el objetivo de disminuir la generación de ritmos anormales en el corazón. Si bien este trabajo no pretende ser un tratamiento contra una arritmia cardiaca, al menos establece las bases para un potencial estudio en el futuro. Por otro lado, pareciera sorprendente que alteraciones en el flujo del ión potasio se encuentran presentes en ambos montajes experimentales ante altas intensidades de ruido en la electro-estimulación. Este trabajo puede ser un incentivo para que se lleve a cabo un estudio electro-fisiológico incorporando a su vez fármacos relacionados a la dinámica de potasio como un tratamiento preventivo contra arritmias por bloqueo que induce la generación de patrones de sincronización anómalos y por consiguiente contracciones anormales.

El estudio del ruido en sistemas biológicos y la búsqueda de la presencia de resonancia estocástica ha sido muy gratificante para la ciencia en general. El cambio de perspectiva en el contexto de las ciencias físicas aplicadas en las ciencias de la vida ha llevado a los investigadores a replantear incluso algunos fenómenos muy básicos, por ejemplo, la dinámica característica de

las neuronas como sistemas de activación de umbrales excitables para una descripción más detallada de su comportamiento biestable, así como todas las repercusiones que pueden tener en otros órganos esenciales para la vida, como el corazón.



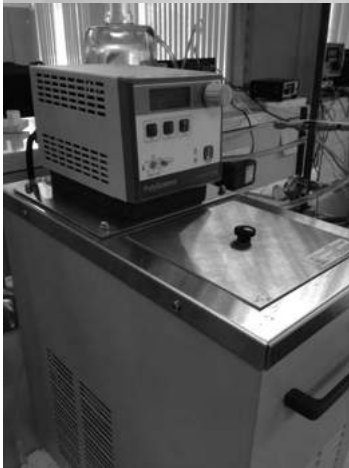
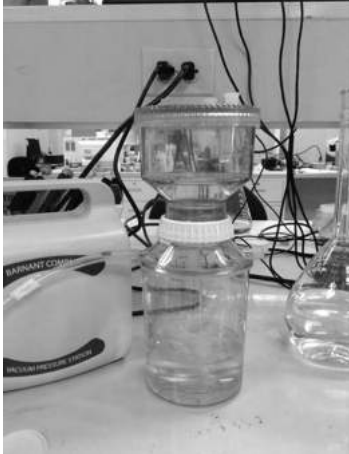
Capítulo 7

Conclusiones

Conclusiones

En este trabajo, se analizó el efecto del ruido inducido en la electro-estimulación sobre la respuesta mecánica del corazón. Los resultados arrojados permiten concluir que las técnicas electro-fisiológicas propuestas en este estudio posibilitan cuantificar el efecto del ruido en la respuesta contráctil. Bajas intensidades de ruido inducido en la electro-estimulación conducen al máximo desempeño en la respuesta mecánica. En el modelo de corazón aislado se demostró la presencia de resonancia estocástica al aumentar el desempeño del corazón al mantener el patrón de sincronización 1:1 en más experimentos, comparado con el grupo control. Por otro lado, los efectos adrenérgicos, como consecuencia de bajas intensidades de ruido inducido en el estímulo en el sistema nervioso simpático, favorece la respuesta del corazón como bomba al aumentar el gasto cardiaco.

Incrementar la intensidad del ruido en la electro-estimulación reduce la eficacia en la respuesta mecánica del corazón debido a alteraciones en el acoplamiento eléctrico-mecánico, que inducen la generación de contracciones anómalas. En el modelo de corazón aislado se presentaron diversos patrones de sincronización anómalos más complejos, así como a la total pérdida de sincronización debido a un incremento elevado en la intensidad de ruido en la electro-estimulación. Por su parte, la disminución en la eficacia en la respuesta cardiaca debida a altas intensidades de ruido en el modelo *in vivo* se debe a alteraciones anómalas en la etapa de repolarización ventricular, induciendo contracciones sostenidas y de baja intensidad, disminuyendo el gasto cardiaco.



Capítulo 8

Limitaciones del estudio y perspectivas

8.1 Limitaciones del estudio

Para sistemas experimentales es difícil llevar a cabo variaciones finas de los parámetros debido a las limitaciones fisiológicas. Aunque en este estudio se propone un protocolo experimental para identificar diversos patrones rítmicos en la respuesta mecánica de corazón aislado, los registros obtenidos son sólo una aproximación fisiológica. Es necesario llevar a cabo más experimentos posteriores para medir la presión intraventricular así como registros de ECG, con el objetivo de caracterizar los patrones de sincronización anómalos encontrados en este estudio y relacionarlos con una patología cardíaca, desde una arritmia conocida hasta hasta casos severos como la presencia de fibrilación ante la total pérdida de sincronización.

Por convención, el registro de la segunda derivación frontal de un electrocardiograma es útil para monitorear el estado actual de la actividad eléctrica en el corazón. Para caracterizar una arritmia, siguiendo procedimientos utilizados en la clínica, es necesario además llevar a cabo registros de las seis derivaciones frontales (bipolares y monopoles aumentadas). Con estos registros es posible dilucidar la extraordinaria dinámica de las arritmias cardíacas y establecer pautas para su posible prevención.

Por otro lado, el análisis teórico de los resultados obtenidos podrían dilucidar mejor la dinámica de los ritmos cardíacos, aprovechando a su vez el beneficio del papel del ruido en sistemas biológicos.

8.2 Perspectivas

Las perspectivas propuestas para este trabajo parten de las limitaciones del estudio, mencionadas en la sección anterior. Por consiguiente, se sugiere:

1. Obtener registro de electrogramas en el modelo de corazón aislado que permitan dilucidar la presencia de patrones de sincronización anómalos.
2. Aunque la incorporación de fármacos induce variabilidad en las mediciones entre distintos animales, se sugiere llevar a cabo un estudio farmacológico para analizar la liberación y recaptación de catecolaminas en la sinapsis simpática debidas al ruido.
3. Obtener registros de las tres derivaciones monopulares aumentadas en el plano frontal y con esto realizar un estudio vectorial de ECG en el modelo *in vivo* para la detección e identificación de arritmias conocidas en la clínica.
4. Llevar a cabo la identificación de variables a partir de datos experimentales que pudieran incorporarse a un modelo teórico.



Capítulo 9

Referencias

Referencias

- Aistrup, G. L., Kelly, J. E., Kapur, S., Kowalczyk, M., Sysman-Wolpin, I., Kadish, A. H., et al. (2006). Pacing-induced heterogeneities in intracellular Ca²⁺ signaling, cardiac alternans, and ventricular arrhythmias in intact rat heart. *Circ. Res.* 99. doi: 10.1161/01.RES.0000244087.36230.bf.
- Asmar, A., Mohandas, R., and Wingo, C. S. (2012). A physiologic-based approach to the treatment of a patient with hypokalemia. *Am. J. Kidney Dis.* 60, 492–497. doi: 10.1053/j.ajkd.2012.01.031.
- Avilés-Rosas, V. H., Rivera-Mancilla, E., Marichal-Cancino, B. A., Manrique-Maldonado, G., Altamirano-Espinoza, A. H., Maassen Van Den Brink, A., et al. (2017). Olcegepant blocks neurogenic and non-neurogenic CGRPergic vasodepressor responses and facilitates noradrenergic vasopressor responses in pithed rats. *Br. J. Pharmacol.* 174, 2001–2014. doi:10.1111/bph.13799.
- Bahar, S., and Moss, F. (2003). Stochastic phase synchronization in the crayfish mechanoreceptor/photoreceptor system. *Chaos* 13, 138–144. doi:10.1063/1.1501899.
- Bell, R. M., Mocanu, M. M., and Yellon, D. M. (2011). Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 50, 940–950. doi:10.1016/j.yjmcc.2011.02.018.
- Benzi, R., Sutera, A., and Vulpiani, A. (1981). The mechanism of stochastic resonance. *J. Phys. A. Math. Gen.* 14. doi:10.1088/0305-4470/14/11/006.
- Bezrukov, S. M. and Vodyanoy, I. (1995). Noise-induced enhancement of signal transduction across voltage-dependent ion channels. *Nature.* 378, 362-364.
- Birke, I. (2012). Animal bodies in the production of scientific knowledge: modeling medicine. *Body & Society.* 18 (384), 156-178. doi: 10.1177/1357034X12446379.
- Boyett, M. R., Honjo, H., and Kodama, I. (2000). The sinoatrial node, a heterogeneous pacemaker structure. *Cardiovasc. Res.* 47, 658–687. doi:10.1016/S0008-6363(00)00135-8.

- Bravo, G., Guizar-Sahagun, G., Ibarra, A., Centurion, D., and Villalon, C. (2004). Cardiovascular Alterations After Spinal Cord Injury: An Overview. *Curr. Med. Chem. Hematol. Agents* 2, 133–148. doi:10.2174/1568016043477242.
- Broadley, K. J. (1979). The Langendorff heart preparation-Reappraisal of its role as a research and teaching model for coronary vasoactive drugs. *J. Pharmacol. Methods*. doi:10.1016/0160-5402(79)90038-X.
- Bronsky, D., Dubin, A., Waldstein, S. S., and Kushner, D. (1961). Calcium and the electrocardiogram. *The American Journal of Cardiology*. 833-839.
- Bulsara, A., Jacobs, E. W., Zhou, T., Moss, F., and Kiss, L. (1991). Stochastic resonance in a single neuron model: theory and analog simulation. *J. Theor. Biol.* 152, 531–555. doi:10.1016/S0022-5193(05)80396-0.
- Centurion, D., Cobos-puc, L. E., and Ramirez-rosas, M. B. (2009). Pithed rat model for searching vasoactive drugs of the sympathetic and. *Model. Neuropharmacol.*, 91–97. doi:10.13140/2.1.2366.9768.
- Christini, D. J., and Glass, L. (2002). Introduction: Mapping and control of complex cardiac arrhythmias. *Chaos* 12, 732–739. doi:10.1063/1.1504061.
- Conti, F. (2010). Fisiología médica. McGraw Hill. México.
- Csapo, G. (1972). Clinical and electrophysiological importance of latency and supernormal phase of the heart. *British Heart Journal*. 34, 444–457.
- Dorman, M. F., and Wilson, B. S. (2004). The Design and Function of Cochlear Implants. *American Scientist*. 92, 436-445.
- Douglass, J.K., Wilkens, L., Pantazelou, E. and Moss, F. (1993). Noise engagement of information transfer in crayfish mechanoreceptors by stochastic resonance. *Nature*. 365, 337-340.
- Elayan, H. H., Sun, P., Milic, M., Liu, F., Bao, X., and Ziegler, M. G. (2008). Cardiovascular responses to electrical stimulation of sympathetic nerves in the pithed mouse. *Auton. Neurosci. Basic Clin*. 140, 49–52. doi:10.1016/j.autneu.2008.03.003.
- Endoh, M. (2004). Force-frequency relationship in intact mammalian ventricular myocardium: Physiological and pathophysiological relevance. *Eur. J. Pharmacol.* 500, 73–86. doi:10.1016/j.ejphar.2004.07.013.

- Faisal, A. A., Selen, L. P. J., and Wolpert, D. M. (2008). Noise in the nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 292–303. doi:10.1038/nrn2258.
- Farrar, A. K., Hazari, M. S., and Cascio, W. E. (2011). The utility of the small rodent electrocardiogram in toxicology. *Toxicol. Sci.* 121, 11–30. doi:10.1093/toxsci/kfr021.
- FitzHugh, R. (1961). Impulses and Physiological States in Theoretical Models of Nerve Membrane. *Biophys. J.* 1, 445–466. doi:10.1016/S0006-3495(61)86902-6.
- Franz, M. R. (1991). Method and theory of monophasic action potential recording. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 33, 347–368. doi:10.1016/0033-0620(91)90002-4.
- Friesen, W. O., and Block, G. D. (1984). What is a biological oscillator? *Am. J. Physiol.* 246, R847–R853. doi:10.1152/ajpregu.1984.246.6.R847.
- Gao, W. D., Perez, N. G., and Marban, E. (1998). Calcium cycling and contractile activation in intact mouse cardiac muscle. *J. Physiol.* 507, 175–184. doi:10.1111/j.1469-7793.1998.175bu.x.
- Gauthier, N. S., Matherne, G. P., Morrison, R. R., and Headrick, J. P. (1998). Determination of function in the isolated working mouse heart: Issues in experimental design. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 30, 453–461. doi:10.1006/jmcc.1997.0610.
- Gillespie, J. S., and Muir, T. C. (1967). Method of stimulating the complete sympathetic outflow from the spinal cord to blood vessels in the pithed rat. *Br. J. Pharmac. Chemother.* 30, 78–87.
- Gillespie, J. S., Maclaren, A., and Pollock, D. (1970). A method of stimulating different segments of the sympathetic and parasympathetic outflows from the spinal cord in the pithed cat and rat. *Br. J. Pharmacol.* 40, 257–267.
- Glass, L., Guevara, M. R. and Shrier, A. (1983). Bifurcation and chaos in a periodically stimulated cardiac oscillator. *Phys. D Nonlinear Phenom.* 7, 89–101. doi:10.1016/0167-2789(83)90119-7.
- Glass, L. (1991). Cardiac arrhythmias and circle maps - A classical problem. *Chaos* 1, 13–19. doi:10.1063/1.165810.
- Glass, L. (2001). Synchronization and rhythmic processes in physiology. *Nature* 410, 277–284. doi:10.1038/35065745.
- Goodman, L.S. and Gilman, A. (2010). *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. McGraw Hill.* Colombia.

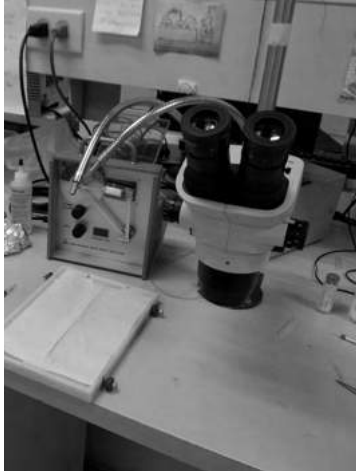
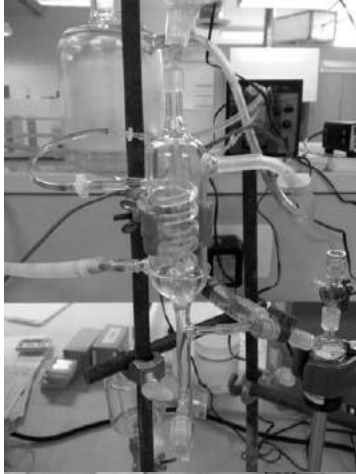
- Guevara, M. R., Glass, L., and Shrier, A. (1981). Phase Locking, Period-Doubling Bifurcations, and Irregular Dynamics in Periodically Stimulated Cardiac Cells. *Science*. 214, 1350-1353.
- Guyton, C. A., and Hall, J. E. (2006). Textbook of medical physiology. 1139. doi:10.1093/jhered/est132.
- Hartley, C. J., Taffet, G. E., Reddy, A. K., Entman, M. L., and Michael, L. H. (2002). Noninvasive cardiovascular phenotyping in mice. *ILAR J*. 43, 147–158. doi:10.1093/ilar.43.3.147.
- Herrera-Valdez, M. A., and Lega, J. (2011). Reduced models for the pacemaker dynamics of cardiac cells. *J. Theor. Biol.* 270, 164–176. doi:10.1016/j.jtbi.2010.09.042.
- Ho, D., Zhao, X., Gao, S., Hong, C., Vatner, D. and Vatner, S. (2011). Heart rate and electrocardiography monitoring in mice. *Curr Protoc Mouse Biol.* 1, 123-139. doi: 10.1002/9780470942390.mo100159.
- Hudspeth, A.J. (1989). How the ear's works work. *Nature*. 341, 397-404.
- Janse, M. J., van Capelle, F. J. L., Morsink, H., Kléber, A. G., Wilms-Schopman, F., Cardinal, R., et al. (1980). Flow of "injury" current and patterns of excitation during early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. Evidence for two different arrhythmogenic mechanisms. *Circ. Res.* 47, 151–165. doi:10.1161/01.RES.47.2.151.
- Janse, M.J., Van Capelle, F.J.L., Morsink, H., Kléber, A.G., Wilms-Schopman, F., Cardinal, R., Naumann D' Alnoncourt, C. and Durrer, D. (1980). Flow of "injury" current early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. *Circulation Research*. 47, 151-165. doi:10.1161/01.RES.47.2.151.
- Janssen, P. M. L., and Periasamy, M. (2007). Determinants of frequency-dependent contraction and relaxation of mammalian myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 43, 523–531. doi:10.1016/j.yjmcc.2007.08.012.
- Kass, D. A., Hare, J. M., and Georgakopoulos, D. (1998). Murine cardiac function: a cautionary tail. *Circ. Res.* 82, 519–522. doi:10.1161/01.RES.82.4.519.
- Knollmann, B. C., Schober, T., Petersen, A. O., Sirenko, S. G., and Franz, M. R. (2006). Action potential characterization in intact mouse heart: steady-state cycle length dependence and electrical restitution. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 292, H614–H621. doi:10.1152/ajpheart.01085.2005.

- Koch, C., and Segev, I. (2000). The role of single neurons in information processing. *Nat. Neurosci.* 3 Suppl, 1171–7. doi:10.1038/81444.
- Kolárová, J., Fialová, K., Janousek, O., Nováková, M., and Provazník, I. (2010). Experimental methods for simultaneous measurement of action potentials and electrograms in isolated heart. *Physiol. Res.* 59 Suppl 1, S71–S80.
- Konopelski, P., and Ufnal, M. (2016). Electrocardiography in Rats: a Comparison to Human Department of Experimental Physiology and Pathophysiology, Laboratory of Centre for Preclinical. 8408, 9973.
- Kunze, D. L. (1976). Rate-dependent changes in extracellular potassium in the rabbit atrium. *Circ. Res.* 41, 122–127. doi:10.1161/01.RES.41.1.122.
- Kusters, J. M. A. M., van Meerwijk, W. P. M., Ypey, D. L., Theuvenet, a P. R., and Gielen, C. C. a M. (2008). Fast calcium wave propagation mediated by electrically conducted excitation and boosted by CICR. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 294, C917–C930. doi:10.1152/ajpcell.00181.2007.
- Langendorff, O. (1895). Untersuchungen am überlebenden säugethierherzen. *Aus dem physiologischen Institut in Rostock.* 291-332.
- Larsen, T. S., Belke, D. D., Sas, R., Giles, W. R., Severson, D. L., Lopaschuk, G. D., and Tyberg, J.V. (1999). The isolated working mouse heart: methodological considerations. *Pflugers Arch* 437, 979–985. doi:94370979.424 [pii].
- Levy, M. N., Martin, P. J., Edelstein, J., and Goldberg, L. B. (1974). The AV nodal Wenckebach phenomenon as a positive feedback mechanism. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 16, 601–613. doi:10.1016/0033-0620(74)90020-6.
- Lindner, B., García-Ojalvo, J., Neiman, A., and Schimansky-Geier, L. (2004). Effects of noise in excitable systems. *Phys. Rep.* 392, 321–424. doi:10.1016/j.physrep.2003.10.015.
- Livshitz, L. M., and Rudy, Y. (2007). Regulation of Ca²⁺ and electrical alternans in cardiac myocytes: role of CAMKII and repolarizing currents. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 292, H2854–H2866. doi:10.1152/ajpheart.01347.2006.
- Longtin, A. (2000). Effect of noise on the tuning properties of excitable systems. *Chaos, solitons and fractals* 11, 1835–1848. doi:10.1016/S0960-0779(99)00120-4.

- McDonnell, M. D., and Abbott, D. (2009). What is stochastic resonance? Definitions, misconceptions, debates, and its relevance to biology. *PLoS Comput. Biol.* 5. doi:10.1371/journal.pcbi.1000348.
- McDonnell, M. D., and Ward, L. M. (2011). The benefits of noise in neural systems: Bridging theory and experiment. *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 415–425. doi:10.1038/nrn3061.
- Moss, F. and Wiesenfeld, K. (1995). The benefits of background noise. *Scientific American.* 273, 66-69.
- Moss, F., Ward, L. M., and Sannita, W. G. (2004). Stochastic resonance and sensory information processing: A tutorial and review of application. *Clin. Neurophysiol.* 115, 267–281. doi:10.1016/j.clinph.2003.09.014.
- Murakami, M., Niwa, H., Kushikata, T., Watanabe, H., Hirota, K., Ono, Kyoichi and Ohba, T. (2014). Inhalation anesthesia is preferable for recording rat cardiac function using an electrocardiogram. *Bio. Pharm. Bull.* 37, 834-839.
- Murakami, M., Niwa, H., Kushikata, T., Watanabe, H., Hirota, K., Ono, K., et al. (2014). Inhalation Anesthesia Is Preferable for Recording Rat Cardiac Function Using an Electrocardiogram. *Biol. Pharm. Bull.* 37, 834–839. doi:10.1248/bpb.b14-00012.
- Naud, R., Payeur, A., and Longtin, A. (2017). Noise gated by dendrosomatic interactions increases information transmission. *Phys. Rev. X* 7, 1–10. doi:10.1103/PhysRevX.7.031045.
- Peña-Romo, A., Gámez-Méndez, A. M., Ríos, A., Escalante, B. A., and Rodríguez-González, J. (2016). Noise enhanced the electrical stimulation-contractile response coupling in isolated mouse heart. *Int. J. Cardiol.* 221, 155–160. doi:10.1016/j.ijcard.2016.06.130.
- Pikovsky, A., Rosenblum, M., and Kurths, J. (2001). Synchronization: A Universal Concept in Nonlinear Sciences. *Cambridge Nonlinear Sci. Ser.* 12, 432. doi:10.1063/1.1554136.
- Rao, C. V., Wolf, D. M., and Arkin, A. P. (2002). Control, exploitation and tolerance of intracellular noise. *Nature* 420, 231–237. doi:10.1038/nature01258.
- Rivera-Mancilla, E., Avilés-Rosas, V. H., Manrique-Maldonado, G., Altamirano-Espinoza, A. H., Villanueva-Castillo, B., MaassenVanDenBrink, A., et al. (2017). The role of α 1- and α 2-adrenoceptor subtypes in the vasopressor responses induced by dihydroergotamine in ritanserin-pretreated pithed rats. *J. Headache Pain* 18. doi:10.1186/s10194-017-0812-4.

- Sánchez-López, A., Centurión, D., Vázquez, E., Arulmani, U., Saxena, P. R., and Villalón, C. M. (2003). Pharmacological profile of the 5-HT-induced inhibition of cardioaccelerator sympathetic outflow in pithed rats: Correlation with 5-HT 1 and putative 5-HT 5A/5B receptors. *Br. J. Pharmacol.* 140, 725–735. doi:10.1038/sj.bjp.0705489.
- Schafer, A. L., and Shoback, D. (2013). Hypocalcemia: Definition , Etiology , Pathogenesis , Diagnosis, and Management. *American Society for Bone and Mineral Research.* 71, 572–578.
- Shibley, R.E. and Tilden, J.H. (1947). A pithed rat preparation suitable for assaying pressor substances. *Lilly Laboratory for Clinical Research.* 453-455.
- Skrzypiec-Spring, M., Grotthus, B., Szlag, A., and Schulz, R. (2007). Isolated heart perfusion according to Langendorff-Still viable in the new millennium. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 55, 113–126. doi:10.1016/j.vascn.2006.05.006.
- Slabaugh, J. L., Brunello, L., Gyorke, S., and Janssen, P. M. L. (2012). Contractile parameters and occurrence of alternans in isolated rat myocardium at supra-physiological stimulation frequency. *AJP Hear. Circ. Physiol.* 302, H2267–H2275. doi:10.1152/ajpheart.01004.2011.
- Snell, R. (2003). Clinical neuroanatomy. *Statewide Agricultural Land Use Baseline.* Doi: 10.1017/CBO9781107415324.004
- Stacey, W. C., and Durand, D. M. (2001). Synaptic Noise Improves Detection of Subthreshold Signals in Hippocampal CA1 Neurons. *J. Neurophysiol.* 86, 1104–1112. doi:10.1152/jn.2001.86.3.1104.
- Strogatz, S. (2003). Sync: how order emerges from chaos in the universe, nature and daily life. *Hachette Books.* New York.
- Sutherland, F. J., and Hearse, D. J. (2000). The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacol. Res.* 41, 613–27. doi:10.1006/phrs.1999.0653.
- Sutherland, F. J., Shattock, M. J., Baker, K. E., and Hearse, D. J. (2003). Third International Mouse Symposium. Mouse iso and cautions. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 30, 867–878.
- Tsimring, L. S. (2014). Noise in biology. *Reports Prog. Phys.* 77, 1-29. Doi: 10.1088/0034-4885/77/2/026601.

- Vassalle, M. (1977). The relationship among cardiac pacemakers. *Circulation Research*. 41, 269-277. Doi:10.1161/01.RES.41.3.269.
- Villalón, C. M., Centurión, D., Rabelo, G., De Vries, P., Saxena, P. R., and Sánchez-López, A. (1998). The 5-HT₁-like receptors mediating inhibition of sympathetic vasopressor outflow in the pithed rat: Operational correlation with the 5-HT(1A), 5-HT(1B) and 5-HT(1D) subtypes. *Br. J. Pharmacol.* 124, 1001–1011. doi:10.1038/sj.bjp.0701907.
- Wakimoto, H., Maguire, C. T., Kovoov, P., Hammer, P. E., Gehrmann, J., Triedman, J. K., et al. (2001). Induction of atrial tachycardia and fibrillation in the mouse heart. *Cardiovasc. Res.* 50, 463–473. doi:10.1016/S0008-6363(01)00264-4.
- Wang, S.-Q., Song, L.-S., Lakatta, E. G., and Cheng, H. (2001). Ca²⁺ signalling between single L-type Ca²⁺ channels and ryanodine receptors in heart cells. *Nature* 410, 592–596. doi:10.1038/35069083.
- White, J.A. Rubinstein, J.T. and Kay, A.R. (2000). Channel noise in neurons. *TINS*. 23, 131-137.
- Wiesenfeld, K., and Jaramillo, F. (1998). Minireview of stochastic resonance. *Chaos* 8, 539–548. doi:10.1063/1.166335.
- Wiesenfeld, K. and Moss, F. (1995). Stochastic resonance and the benefits of noise: from ice ages to crayfish and SQUIDS. *Nature*. 373, 33-36.



Capítulo 10

Material suplementario

10.1 Síntesis de acetilcolina y noradrenalina

10.1.1 Síntesis de acetilcolina

La Figura 10.1 muestra los procesos que se llevan a cabo para la síntesis de acetilcolina. La acetilcolina se sintetiza a partir de la acetilcoenzima A y la colina mediante una reacción en extremo simple en la cual el grupo acetílico de la acetilcoenzima A se transfiere a la colina por acción de una enzima llamada acetiltransferasa de colina. Por lo tanto, tal enzima representa el marcador de elección de las neuronas colinérgicas (Conti, 2010).

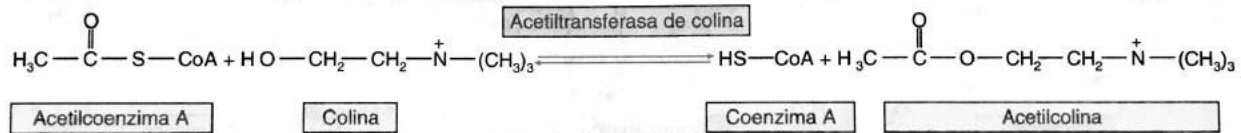


Figura 10.1. Síntesis de acetilcolina (Conti, 2010). La acetilcolina se sintetiza a partir de la unión de acetilcoenzima A y colina.

10.1.2 Síntesis de noradrenalina

Los procesos detrás de la síntesis de noradrenalina se encuentran en la Figura 10.2. La síntesis de noradrenalina ocurre en las terminaciones presinápticas a través de un número mayor de etapas que las de la síntesis de acetilcolina. Estas comienzan desde el aminoácido tirosina, a su vez derivado de la hidroxilación de la fenilalanina, captada por los líquidos corporales. La tirosina es hidroxilada a dihidroxifenilalanina (DOPA) por parte de la enzima hidroxilasa de tirosina. La DOPA es sucesivamente descarbolixada a dopamina, que es transportada al interior de las vesículas donde es hidroxilada otra vez a noradrenalina por obra de la enzima hidroxilasa beta de dopamina.

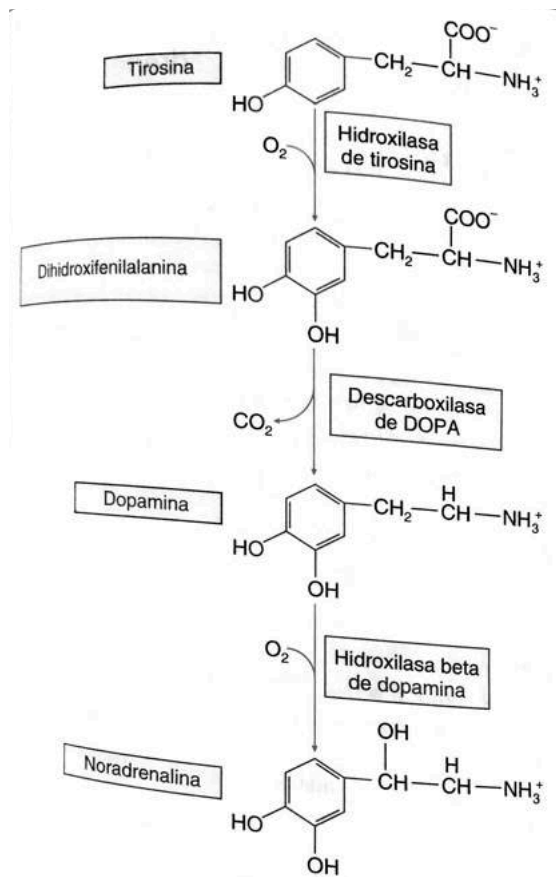


Figura 10.2. Síntesis de noradrenalina (Conti, 2010). A diferencia de la acetilcolina, la noradrenalina requiere más etapas para su síntesis desde tirosina a partir de varios procesos de hidroxilación y descaboxilación.

10.2 Receptores adrenérgicos

La Tabla 10.1 muestra los efectos inducidos en los órganos asociados al sistema cardiovascular por las acciones colinérgicas (acetilcolina, ACh) y adrenérgicas (noradrenalina, NA) del sistema nervioso autónomo.

Tabla 10.1. Efectos colinérgicos y adrenérgicos del sistema nervioso autónomo según la activación de los receptores adrenérgicos (Conti, 2010). Se muestran los efectos simpáticos y parasimpáticos asociados a la activación de los órganos asociados al sistema cardiovascular.

Órgano	Efectos		Receptores adrenérgicos
	ACh	NA	
Corazón: nodo SA	Disminución de la frecuencia cardíaca	Aumento de la frecuencia cardíaca	β_1, β_2
Corazón: nodo AV	Disminución de la velocidad de conducción	Aumento de la velocidad de conducción	β_1, β_2
Corazón: ventrículos	Escaso o ningún efecto	Aumento de la contractilidad	β_1, β_2
Vasos arteriales coronarios	Constricción	Constricción / Dilatación	$\alpha_1, \alpha_2 / \beta_2$
Venas sistémicas	Escaso o ningún efecto	Constricción / Dilatación	$\alpha_1, \alpha_2 / \beta_2$

10.3 Perfiles de velocidad de la sangre fluyendo en distintas arterias del árbol cardiovascular

La Figura 10.3 muestra la morfología de los perfiles de velocidad según el punto de análisis mediante tecnología Doppler. En este estudio fue de particular interés analizar el flujo de sangre a través del arco aórtico como consecuencia de un evento sistólico.

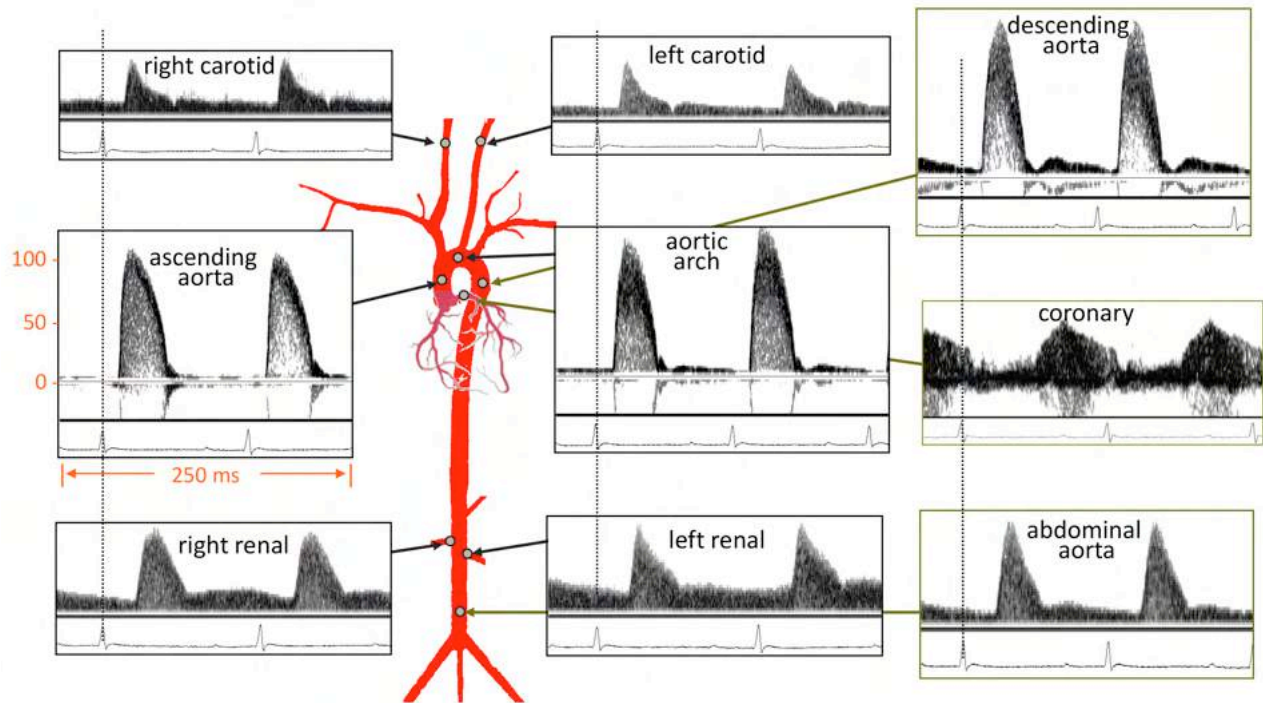


Figura 10.3. Perfiles de velocidad del flujo de sangre en distintos sectores del árbol cardiovascular (Hartley et al, 2002). La morfología de la señal depende de la arteria sobre la cual se hace el análisis.

10.4 Medición de variables del perfil de velocidad del flujo de sangre en el arco aórtico

A continuación se muestra la estadística obtenida en este estudio para las distintas variables de interés en el perfil de velocidad del flujo aórtico (refiérase a la Figura 5.9 del Capítulo 5 para más detalle). Los resultados están normalizados con respecto al tiempo total de eyección.

10.4.1 Tiempo de pre-eyección

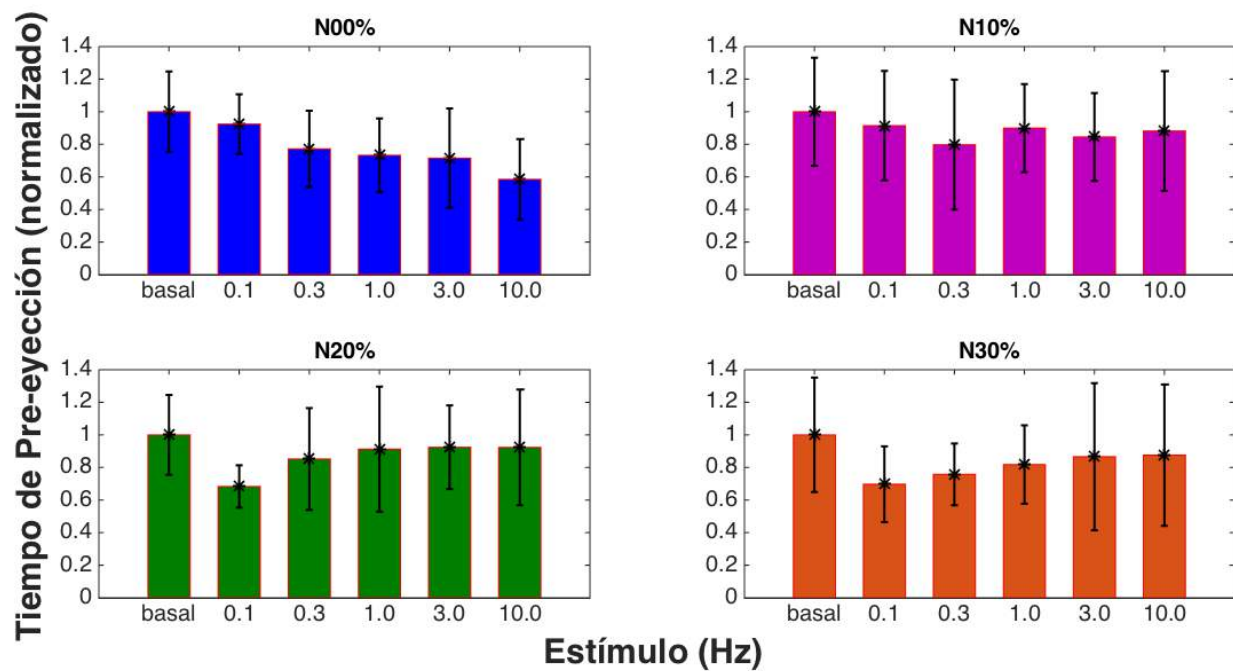


Figura 10.4. Estadística para el cálculo de tiempo de pre-eyección para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación. Los resultados se muestran como valor promedio \pm desviación estándar ($n=7$). El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

10.4.2 Tiempo de subida

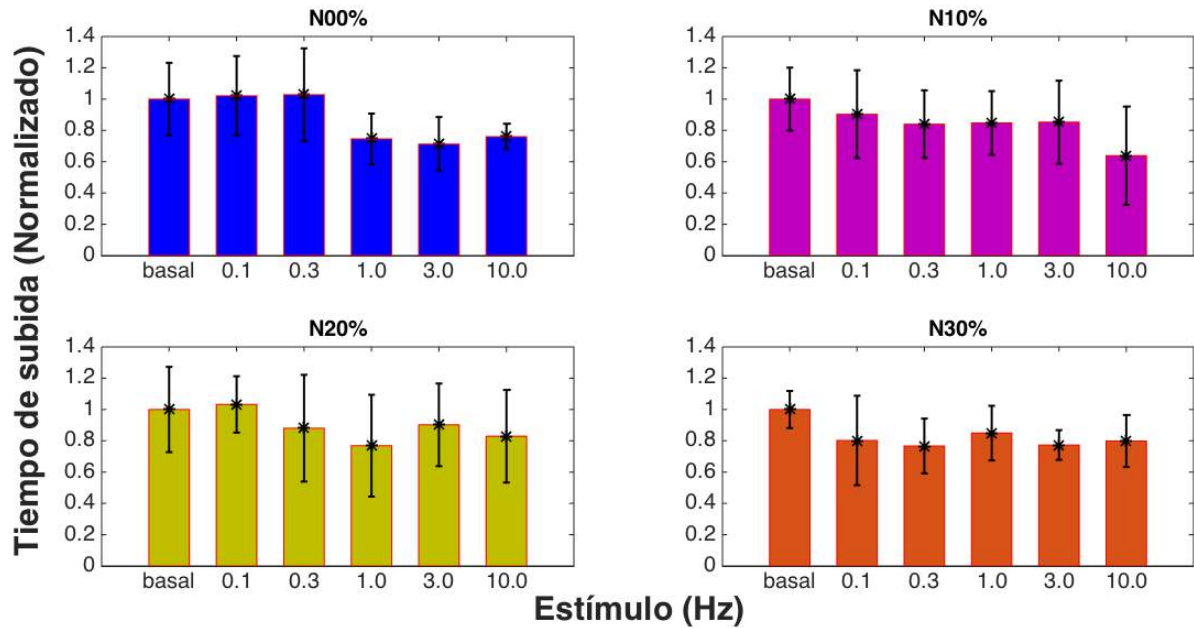


Figura 10.5. Estadística para el cálculo de tiempo de subida para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación. Los resultados se muestran como valor promedio \pm desviación estándar ($n=7$). El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

10.4.3 Velocidad pico

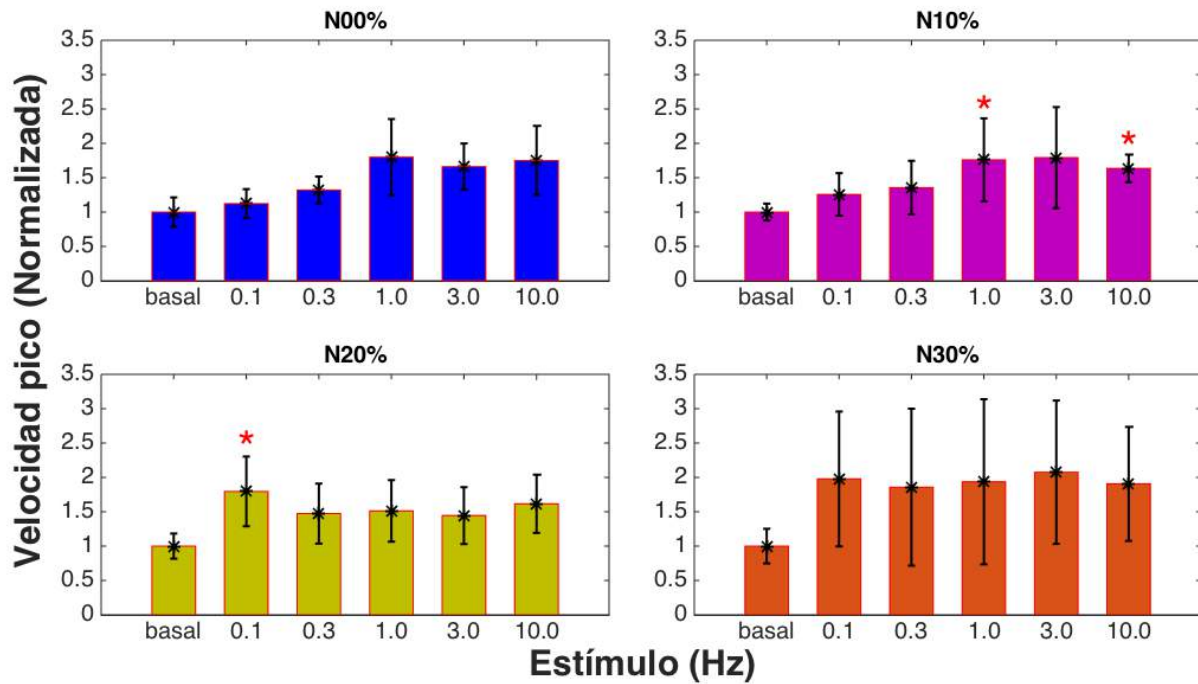


Figura 10.6. Estadística para el cálculo de velocidad pico para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación. Los resultados se muestran como valor promedio \pm desviación estándar ($n=7$). El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

10.4.4 Distancia de eyección (*stroke distance*)

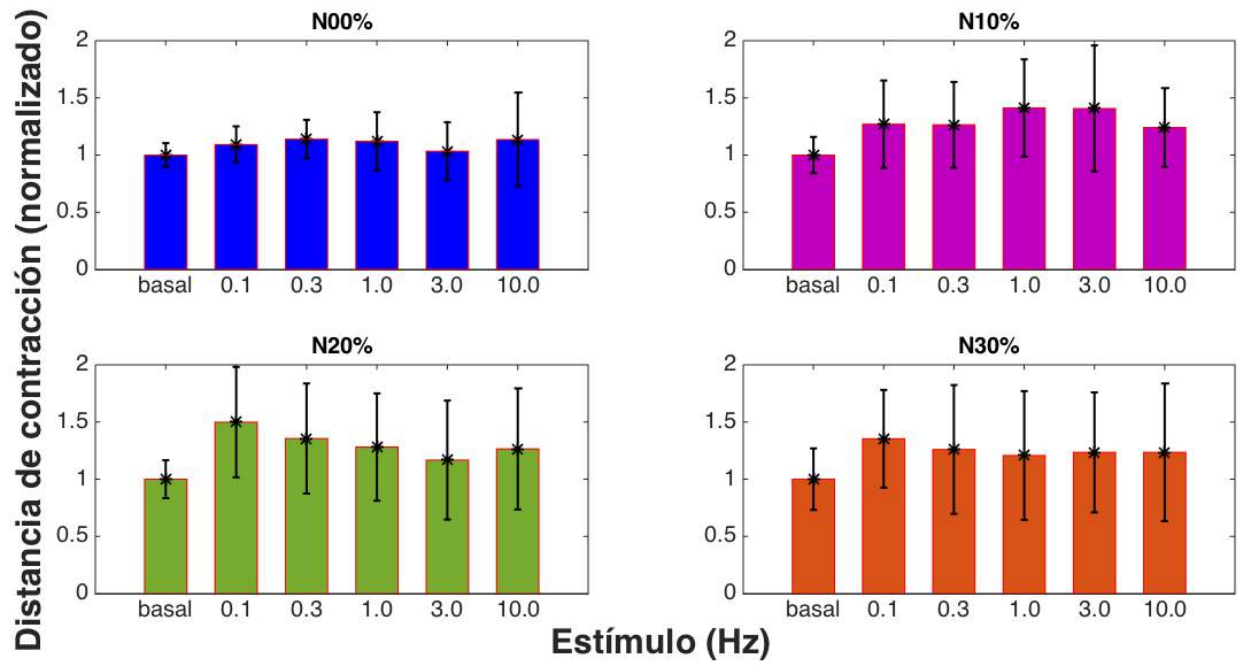


Figura 10.7. Estadística para el cálculo de distancia de eyección para todos los niveles de ruido inducido en la electro-estimulación. El análisis estadístico se llevó mediante ANOVA 2 vías, seguido de una prueba Tukey.

10.5 Análisis vectorial de ECG

El objetivo de llevar a cabo un análisis vectorial a partir de registros de ECG es encontrar el vector cardiaco (también llamado eje eléctrico), el cual determina la dirección de la despolarización de la fibra cardiaca a partir del análisis de las seis derivaciones en el plano frontal: tres monopoles estándar, I, II, III y tres monopoles aumentadas aVL, aVR y aVF (Figura 10.8). Una alteración en la dirección del vector cardiaco está asociado a una patología cardiaca, desde la identificación de una arritmia hasta la presencia de hipertrofia del músculo como consecuencia de una insuficiencia cardiaca. Existen muchas maneras estandarizadas para encontrar la dirección del vector. La más común se explica a continuación.

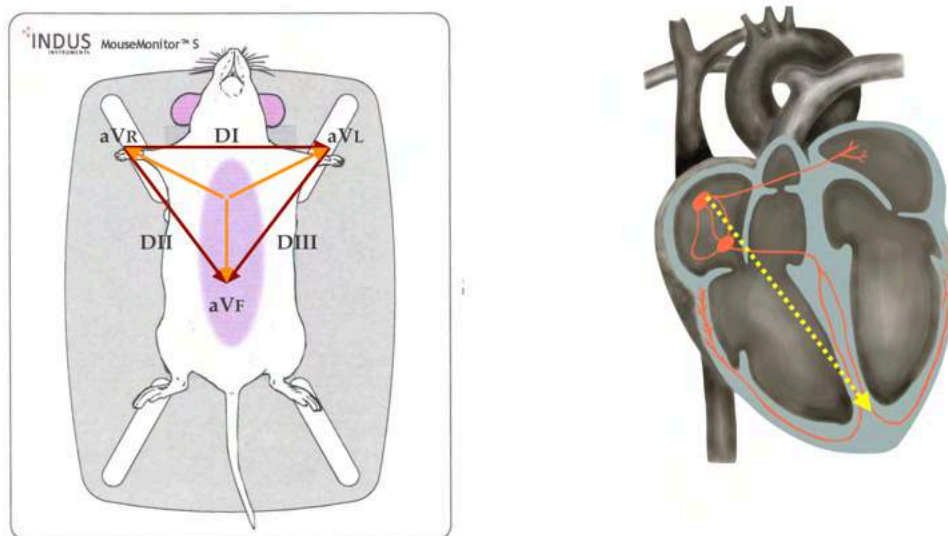


Figura 10.8. Vector de despolarización cardiaco. Determina la dirección de despolarización de la fibra cardiaca. Se obtiene a partir del análisis de las seis derivaciones en el plano frontal. Una alteración en la dirección de este vector está directamente relacionado a una patología cardiaca.

Sistema hexaxial

El sistema hexaxial consiste en obtener los vectores de dirección de las seis derivaciones frontales (Figura 10.8) y superponerlos a partir de un origen, como se muestra en la Figura 10.9. Se considera una dirección positiva a aquella en la cual el vector corresponde a la dirección fisiológica estándar para la obtención de ECG (líneas sólidas) y dirección negativa cuando va en sentido opuesto (líneas punteadas). De esta manera, es posible establecer los ángulos de dirección. Tomando como referencia el vector de la derivación frontal DI (0°), los ángulos son positivos cuando están por debajo del eje y negativos cuando están por encima de él.

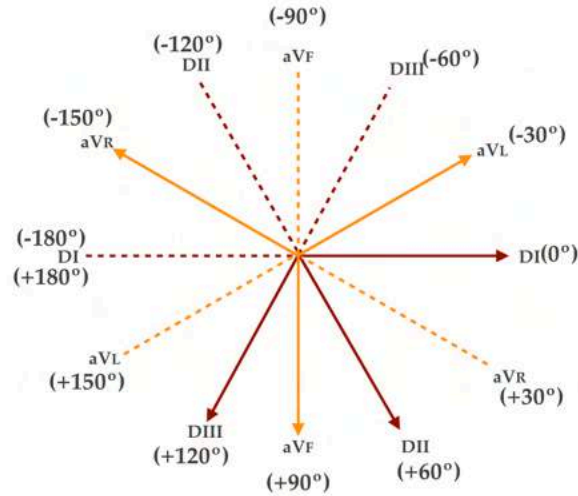


Figura 10.9. Sistema hexaxial. Se forma a partir de la superposición de los vectores de dirección de las seis derivaciones frontales. Tomando como referencia el eje de la primera derivación frontal (DI), los ángulos de dirección serán positivos si los vectores se encuentran por debajo de éste y negativos si están arriba.

Ahora bien, de los registros de ECG, se busca aquel en el cual la amplitud del complejo QRS es mayor y posteriormente se identifica el vector correspondiente a esa derivación en el sistema hexaxial (llámese *vector referencia*, para efectos ilustrativos). Si el registro del vector que se encuentra perpendicular al vector referencia presenta un comportamiento isobifásico en la onda R, será entonces la dirección del vector referencia la que determine la dirección del vector cardiaco de despolarización.

Sírvase del siguiente ejemplo para esclarecer lo anterior. En la Figura 10.10 se muestran registros de ECG de un evento cardiaco para las seis derivaciones frontales.

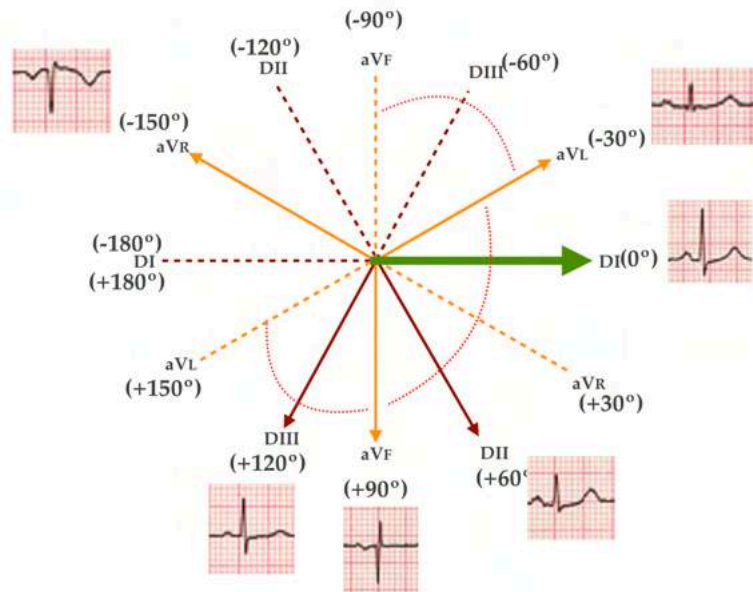


Figura 10.10. Cálculo del vector cardiaco. De este ejemplo, se observa que el vector cardiaco se encuentra orientado a 0° .

De los seis registros observamos que aquel que presenta la mayor amplitud del complejo QRS se encuentra en la derivación I (DI). Será entonces ese vector DI el vector referencia. El vector perpendicular a DI corresponde a la derivación aVF. El registro de aVF presenta una onda R isobifásica. Por consiguiente, se determina que el vector de despolarización cardíaco se encuentra orientado a 0° .

Según estandarizaciones clínicas, se determina una despolarización de la fibra cardíaca normal si el vector cardíaco se encuentra entre -30° y $+90^{\circ}$ (Guyton & Hall, 2006). Una patología cardíaca se verá reflejada en una dirección anormal del vector de despolarización. Se dice que existe una desviación hacia la izquierda cuando el vector cardíaco se encuentra entre -30° y -90° y una desviación hacia la derecha cuando se encuentra entre $+90^{\circ}$ y $+180^{\circ}$. Se considera un vector cardíaco indeterminado si se encuentra entre -90° y -180° .



Junio 2012 - Junio 2018

EL JURADO DESIGNADO POR LA UNIDAD MONTERREY, DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, APRUEBA LA TESIS:

ESTUDIO DEL EFECTO DEL RUIDO EXTRÍNSECO EN LA RESPUESTA MECÁNICA DEL CORAZÓN

QUE PRESENTA EL M. EN C. MARIO ALBERTO PEÑA ROMO PARA SU EXAMEN FINAL DE DOCTORADO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA Y FÍSICA BIOMÉDICAS EL DÍA DE AGOSTO DEL AÑO 2018.

DR. JESÚS GUADALUPE RODRÍGUEZ GONZÁLEZ

Director de la Tesis

DR. BRUNO ALFONSO ESCALANTE ACOSTA

Sinodal

DR. MOISÉS SANTILLÁN ZERÓN

Sinodal

DR. DANIEL PAULO SÁNCHEZ HERRERA

Sinodal

DRA. GRISELDA QUIROZ COMPEÁN

Sinodal externo