

VNIVERSITAT E VALÈNCIA

FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

Departament de Fisiologia

Programa de Doctorado en Fisiología



Estudio del remodelado eléctrico cardiaco producido en un modelo experimental de síndrome metabólico y su implicación en la génesis de arritmias.

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Óscar Julián Arias Mutis

Dirigida por:

Dr. D. Manuel Zarzoso Muñoz

Dr. D. Conrado Javier Calvo Saiz

Tutor académico:

Dr. D. Luis Such Belenguer

Valencia, enero 2023

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN FISIOLOGIA

TESIS DOCTORAL

**Estudio del remodelado eléctrico cardíaco producido en un
modelo experimental de síndrome metabólico y su
implicación en la génesis de arritmias.**

Presentada por:

Óscar Julián Arias Mutis

Dirigida por:

Dr. D. Manuel Zarzoso Muñoz

Dr. D. Conrado Javier Calvo Saiz

Tutor académico:

Dr. D. Luis Such Belenguer

Valencia, enero de 2023

D. **Manuel Zarzoso Muñoz**, Profesor Titular del Departamento de Fisioterapia de la Universitat de València.

D. **Conrado Javier Calvo Saiz**, Profesor Asociado del Departamento de Fisiología de la Universitat de València

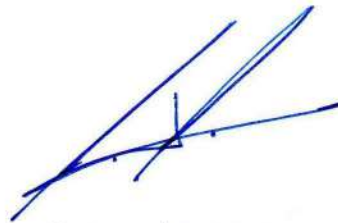
CERTIFICAN:

Que la presente memoria, titulada “Estudio del remodelado eléctrico cardiaco producido en un modelo experimental de síndrome metabólico y su implicación en la génesis de arritmias”, corresponde al trabajo realizado bajo su dirección por D. Óscar Julián Arias Mutis, para su presentación como Tesis Doctoral en el Programa de Doctorado en Fisiología de la Universitat de València.

Y para que conste firman el presente certificado en Valencia, a 16 enero de 2023.



Fdo. Manuel Zarzoso Muñoz



Fdo. Conrado J. Calvo Saiz

Este trabajo de investigación ha sido subvencionado por el Instituto de Salud Carlos III (CB16/11/00486), por la Generalitat Valenciana (GV2015-062) y por la Universitat de València (UV-INV-PRECOMP14-20637).

*A Carol y los niños, por comprender y posibilitar mis ausencias
durante tanto tiempo, consciente de haber perdido momentos que
no volverán...*

A mi querida abuela

Cada día sabemos más y entendemos menos.

Albert Einstein

Agradecimientos:

A Dios por no dejarme caer, por darme fuerzas para continuar, por ayudarme a nunca perder la fe.

A mis directores de tesis:

A Manolo, por abrirme las puertas de su casa y darme la oportunidad de conocer desde dentro el mundo de la investigación. Por su constante apoyo, desinterés y generosidad.

A Conrado, por su absoluta indispensable ayuda para hacer esto posible.

A Luis, por acogerme en el grupo y transmitirme la pasión por la investigación y la docencia.

A mi grupo de investigación:

A Javier, por su extraordinaria capacidad de trabajo, todo sin perder un ápice de humildad en el trato.

A Antonio, por estar siempre dispuesto ayudar con sus ingeniosas ideas. Por enseñarme la importancia del trabajo bien hecho.

A Luis Jr., por sus consejos y ayuda durante todo el proyecto.

A Irene, Carlos, Germán y Johan, por su ayuda y apoyo durante este recorrido.

A Álvaro y Toni, por su total entrega en esos días arduos de trabajo.

A mi familia:

A mi mujer, por su paciencia y apoyo sin los que nada de lo importante tendría sentido.

A mis hijos, por ser el motor de mi vida y hacerme inmensamente feliz.

A mis padres, porque desde la distancia han sufrido y entendido mi ausencia.

A mis suegros, por su confianza y apoyo incondicional.

A la familia Roca Roca, mi otra familia, por dármele todo y guiarme, sin ellos no sería la persona que soy.

A Patricia, por ser parte de mi familia, por ese afecto sincero y desprendido basado en el respeto, por creer y crecer a mi lado todos estos años.

A Alexandra, porque detrás de un gran hombre hay una gran mujer y en este caso una excelente investigadora.

A todos mis familiares y amigos que me han ayudado, apoyado, y animado constantemente.

A los que ya no están, mi abuela y mi amigo Ángel, vuestro recuerdo siempre permanecerá en mi corazón.

A todas aquellas personas que han trabajado y me han ayudado durante este recorrido:

A Álvaro Niño, por confiar en mi desde el principio y permitirme iniciar este viaje.

A Ana y Eva, por su profesionalidad y entrega desde el primer momento, sin ellas este proyecto no hubiera sido lo mismo.

A todo el grupo de técnicos del Animalario de la UCIM por su excelente disposición a ayudarme en mi día a día como investigador.

A Marta, por su incondicional ayuda. Por su implicación en la preparación y cuidadosa supervisión de los experimentos

A Toni, por sus consejos y constante ánimo. Por su capacidad de materializar las ideas.

A todo el Departamento de Fisiología de la Universitat de València, técnicos, secretarias, becarios, doctores y profesores.

A todos los profesores del Grado de Medicina de la Universitat de València, por su paciencia y comprensión durante todos estos años.

A mis compañeros de grado, muchos de ellos ya médicos, por su constante apoyo.

A Amparo Ruiz, por enseñarme a ser riguroso, meticuloso y a cuidar los pequeños detalles.

A Javi, por su apoyo y sincera amistad, por recordarme mis raíces.

A Álgvar, Ana, Lola y Rosa, con vosotros el trabajo diario se hace más llevadero.

A la Universitat de València, a la Generalitat Valenciana, al Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA y al Instituto de Salud Carlos III, por su organización, infraestructura y personal, permitiendo el adecuado desarrollo del presente manuscrito.

A todas aquellas personas que por algún motivo haya pasado por alto y que han aportado su granito de arena para la realización de este proyecto, muchas gracias.

Resumen

El síndrome metabólico (SM) afecta a aproximadamente un cuarto de la población en los países industrializados y a más del 40% de la población de 50 o más años, habiéndose convertido en los últimos años en una de las principales preocupaciones para la Salud Pública debido a su relación con la enfermedad cardiovascular. Se trata de una entidad nosológica frecuente y compleja, que representa un conjunto de alteraciones cardiovasculares y metabólicas como la obesidad, la hipertensión, la hiperglucemia, unos niveles elevados de triglicéridos y una reducción de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). El impacto y los riesgos adversos en el sistema cardiovascular aumentan en consonancia con el número de componentes del SM presentes, produciéndose un deterioro de la función vascular y causando daños irreversibles en diversos órganos, como es el caso del corazón. Además, se ha evidenciado un aumento del riesgo de muerte súbita de origen cardíaco mayor que el incremento del riesgo de sufrir infarto de miocardio en pacientes obesos y diabéticos, por lo que se ha sugerido la importancia de las complicaciones relacionadas con eventos arrítmicos no isquémicos. En efecto, los diferentes componentes del SM se han relacionado, de forma individual, con un incremento en la incidencia de arritmias ventriculares, pero los mecanismos subyacentes no son del todo conocidos. Asimismo, las investigaciones que han estudiado el efecto de la combinación de sus componentes sobre el remodelado eléctrico cardíaco son prácticamente inexistentes. El objetivo principal de la

presente tesis doctoral es doble: por un lado, desarrollar un modelo experimental de SM en conejo y estudiar la progresión de sus diferentes manifestaciones durante el periodo de administración de una dieta alta en grasas y azúcares; por otro lado, investigar el impacto que la combinación de los diferentes componentes del síndrome metabólico ejerce sobre el remodelado estructural, funcional y eléctrico cardíaco, y su implicación en los procesos de instauración, mantenimiento y cese de la actividad arrítmica y fibrilatoria. Para ello, utilizamos un grupo de conejos de raza blanca Nueva Zelanda que fueron alimentados durante 28 semanas con una dieta alta en grasas y azúcares (n=13). Se utilizó un grupo control (n=12) que fue estabulado durante el mismo periodo de tiempo. Estudiamos el comportamiento de los componentes del síndrome metabólico durante las 28 semanas a través del registro de la presión arterial, la actividad electrocardiográfica, el peso y el análisis de diversos metabolitos en sangre (glucosa, colesterol y triglicéridos, entre otros), evaluando además la función cardíaca y algunas de las características electrofisiológicas del corazón “in vivo”. Después de las 28 semanas se analizaron las propiedades eléctricas ventriculares y la dinámica, la complejidad y las características de los episodios arrítmicos en un modelo de corazón aislado (tipo Langendorff) gracias a la utilización del mapeo óptico epicárdico de la actividad eléctrica cardíaca. Los resultados obtenidos en el primer subproyecto mostraron que la administración de una dieta alta en grasas y sacarosa durante 28 semanas indujo 1) obesidad central, 2) un estado de prediabetes caracterizado por una alteración de la glucosa en ayunas e intolerancia a la glucosa, 3) hipertensión leve, 4) alteraciones en el

perfil lipídico, reveladas por un aumento de los triglicéridos y el colesterol LDL con una disminución de HDL (sin cambios en el colesterol total), 5) daño hepático, como lo demuestra el aumento de GOT-AST, relación GOT/GPT, ácidos biliares y bilirrubina, y 6) esteatosis hepática. De este modo, estos resultados corroboran el desarrollo de un modelo animal relevante y económico de SM inducido por la dieta que imita los principales cambios que ocurren en los seres humanos. En cuanto al segundo subproyecto, por lo que respecta al remodelado morfológico, funcional y eléctrico cardíaco “in vivo”, el estudio ecocardiográfico reveló una hipertrofia ventricular izquierda ya evidente en la semana 14 de administración de la dieta, a expensas de un aumento del grosor del septo interventricular y la pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole, así como la masa normalizada del ventrículo izquierdo del grupo de animales con SM. También se encontró un aumento significativo en el diámetro de la aorta que suele acompañar a la hipertrofia ventricular. El estudio electrocardiográfico evidenció, además, un incremento en la duración de los intervalos PQ, QRS, QT corregido (QTc) y la onda T en el grupo de animales con SM, la mayoría de ellos ya evidentes en la semana 14 del protocolo experimental. Se observa, por tanto, un remodelado patológico con alteraciones en la conducción aurículo-ventricular y ventricular, así como en la repolarización ventricular, habiéndose relacionado algunos de ellos con una mayor predisposición a padecer eventos arrítmicos y muerte súbita cardíaca. Posteriormente, estudiamos el remodelado patológico en el órgano aislado y, por tanto, no sujeto a factores nerviosos y/o humorales extrínsecos, para investigar las

modificaciones electrofisiológicas intrínsecas cardíacas que guardan estrecha relación con los procesos de desencadenamiento, instauración y mantenimiento de la actividad arrítmica y fibrilatoria. El mapeo óptico simultáneo de los ventrículos derecho e izquierdo nos permitió encontrar un acortamiento de la duración del potencial de acción óptico al 90% de la repolarización en el ventrículo derecho en el grupo de animales con SM, una mayor triangulación del mismo, así como una disminución en la longitud de onda del proceso de activación, lo cual podría ser considerado como un mecanismo electrofisiológico básico que promovería la actividad arrítmica y fibrilatoria. Por último, analizamos la dinámica y características de los procesos fibrilatorios, lo que nos permitió identificar un aumento en la frecuencia dominante del ventrículo derecho en el grupo de animales con SM, consecuencia del acortamiento de la refractariedad ventricular derecha, que mostró también una correspondiente disminución en la duración del intervalo VV al efectuar el análisis en el dominio del tiempo. Además, el gradiente fisiológico de frecuencias que se da entre los ventrículos derecho e izquierdo fruto de las diferencias regionales en la refractariedad se vio abolido en el grupo de animales con SM, lo cual podría tener importantes implicaciones en los procesos de instauración y mantenimiento de procesos arrítmicos y fibrilatorios.

Índice

Abreviaturas	VIII
Lista de figuras	IX
Lista de tablas	XIII

1. INTRODUCCIÓN **3**

1.1. OBJETIVOS	3
1.2. JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS	4
1.2.1. EL SÍNDROME METABÓLICO. GENERALIDADES	4
1.2.2. FISIOPATOLOGÍA DEL SÍNDROME METABÓLICO	15
1.2.3. CONSIDERACIONES ESPECIALES RESPECTO AL REMODELADO CARDIACO	21
1.2.3.1. Alteraciones morfológicas del corazón	21
1.2.3.2. Alteraciones funcionales del corazón	27
1.2.3.3. Alteraciones electrofisiológicas cardíacas	31
1.3. RESUMEN DE LA JUSTIFICACIÓN DE LOS OBJETIVOS E HIPÓTESIS	38
1.4. PLAN DE TRABAJO	40

2. MATERIAL Y MÉTODOS **45**

2.1. MATERIALES	45
2.1.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	45
2.1.2. DIETA	46
2.1.3. REACTIVOS	48
2.1.3.1. Estudio “in vivo”	48
2.1.3.2. Estudio “in vitro” en corazón aislado	50
2.1.4. APARATOS	52
2.1.4.1. Aparatos para la realización de los procedimientos “in vivo”	52
2.1.4.2. Aparatos para la realización de los procedimientos “in vitro”	54
2.1.5. PROGRAMAS INFORMÁTICOS	56
2.2. MÉTODOS	57
2.2.1. GRUPOS DE ESTUDIO	57
2.2.2. ESTUDIO “IN VIVO”	57
2.2.2.1. Monitorización diaria de la ingesta y pesaje	57
2.2.2.2. Variables morfológicas	58
2.2.2.3. Glucemia y test de tolerancia a la glucosa	59
2.2.2.4. Presión arterial	60
2.2.2.5. Ecocardiografía	62
2.2.2.6. Electrocardiografía	65

2.2.2.7.	Muestras de sangre y determinación de metabolitos	67
2.2.3.	ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO “IN VITRO”	68
2.2.3.1.	Preparación experimental	71
2.2.3.2.	Parámetros electrofisiológicos básicos:	74
2.2.3.3.	Estudio de las características de la fibrilación ventricular	80
2.2.4.	ESTUDIO HISTOLÓGICO	83
2.2.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	84
2.2.6.	LEGISLACIÓN	84

3. RESULTADOS **88**

3.1. CARACTERIZACIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME METABÓLICO	88
3.1.1.	INGESTA 88
3.1.2.	PESO DE LOS ANIMALES 89
3.1.3.	ESTUDIO MORFOLÓGICO 90
3.1.4.	GLUCEMIA 91
3.1.5.	METABOLITOS PLASMÁTICOS 94
3.1.6.	PRESIÓN ARTERIAL 97
3.1.7.	ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LA FIBROSIS HEPÁTICA 99
3.2. ANÁLISIS DE LAS MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS, FUNCIONALES Y ELECTROCARDIOGRÁFICAS	100
3.2.1.	ESTUDIO ECOCARDIOGRÁFICO 100
3.2.2.	ESTUDIO ELECTROCARDIOGRÁFICO 104
3.3. ESTUDIO DE LAS MODIFICACIONES ELECTROFISIOLÓGICAS CARDÍACAS EN CORAZÓN AISLADO	108
3.3.1.	MODIFICACIONES INTRÍNSECAS DEL AUTOMATISMO, LA CONDUCCIÓN AURÍCULO-VENTRICULAR Y LA REFRACTARIEDAD VENTRICULAR 108
3.3.1.1.	Modificaciones intrínsecas del automatismo 108
3.3.1.2.	Modificaciones de la conducción aurículo-ventricular 109
3.3.1.3.	Modificaciones de la refractariedad ventricular 109
3.4. ESTUDIO DE LA DURACIÓN Y LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL POTENCIAL DE ACCIÓN ÓPTICO	110
3.4.1.	VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN DEL IMPULSO ELÉCTRICO CARDÍACO Y LONGITUD DE ONDA DEL PROCESO DE ACTIVACIÓN 113
3.5. ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA FV INDUCIDA EN NORMOXIA	115
3.5.1.	ANÁLISIS EN EL DOMINIO DE LA FRECUENCIA 115
3.5.2.	ANÁLISIS EN EL DOMINIO DEL TIEMPO 116
3.5.3.	HETEROGENEIDAD ELECTROFISIOLÓGICA 118

4. DISCUSIÓN **122**

4.1. CARACTERIZACIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME METABÓLICO EN CONEJO	122
4.2. MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS, FUNCIONALES Y ELECTROGRÁFICAS CARDÍACAS	129
4.3. REMODELADO ELÉCTRICO INTRÍNSECO CARDÍACO	133
4.4. IMPLICACIONES TRASLACIONALES DE LOS MODELOS ANIMALES DE SM	139
4.5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	141
 5. CONCLUSIONES	 147
 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 153
 7. PUBLICACIONES	 176
 7.1. PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL	 176
7.1.1. ARTÍCULOS CIENTÍFICOS	176
7.2. CONGRESOS CIENTÍFICOS	176

Abreviaturas

SM: Síndrome metabólico
IMC: Índice de masa corporal
RI: Resistencia a la insulina
HDL: Lipoproteína de alta densidad
cHDL: Colesterol unido a la lipoproteína de alta densidad
AGL: Ácidos grasos libres
LDL: Lipoproteína de baja densidad
VI: Ventrículo izquierdo
VD: Ventrículo derecho
BSA: Área de superficie corporal (*Body Surface Area*)
QTc: Intervalo QT corregido
ECG: electrocardiograma
TTG: Test de tolerancia a la glucosa
AUC: Área bajo la curva (*Area Under Curve*)
PAM: Presión arterial media
GGT: Gamma-glutamyl transpeptidasa
CPK: Creatina fosfoquinasa
DPA ó ADP: Duración del potencial de acción óptico
VC: Velocidad de conducción
LCS: Longitud del ciclo sinusal
TEEV: Test del extraestímulo ventricular
FV: Fibrilación ventricular
ms: Milisegundos
St: Estímulo
PREVI: Período refractario efectivo del ventrículo izquierdo
PRFVI: Período refractario funcional del ventrículo izquierdo
LO: Longitud de onda
FD: Frecuencia dominante
IR: Índice de regularidad

Lista de figuras

Figura 1. 1 Criterios clínicos del síndrome metabólico.	23
Figura 1. 2 Fisiopatología del síndrome metabólico (resistencia a la insulina).	26
Figura 1. 3. Relación entre la sensibilidad y la liberación de la insulina por el páncreas.	28
Figura 1. 4. Esquema de las características fisiopatológicas del síndrome metabólico.	32
Figura 1. 5. Tejido adiposo alrededor del corazón e imagen de resonancia magnética nuclear (ventana pericárdica).	34
Figura 1. 6. Efectos deletéreos del síndrome metabólico.	38
Figura 1. 7. Parámetros de electrocardiograma en relación con la puntuación del síndrome metabólico.	43
Figura 2. 1. Rack de jaulas individuales para la estabulación de los animales.	51
Figura 2. 2. Ejemplo de los diferentes tipos de pienso correspondientes a las dietas control y experimental.	52
Figura 2. 3. Preparación de la bebida con sacarosa.	53
Figura 2. 4. Determinación de algunas variables morfológicas.	65
Figura 2. 5. Materiales empleados para la determinación de la glucosa en sangre.	66
Figura 2. 6. Ejemplo de la determinación de la presión arterial.	68
Figura 2. 7. Ejemplo de un procedimiento ecocardiográfico.	70
Figura 2. 8. Ejemplo de un registro electroecardiográfico realizado.	71

Figura 2. 9. Ejemplo de un registro electroecocardiográfico.	73
Figura 2. 10. Preparación experimental del mapeo óptico epicárdico.	76
Figura 2. 11. Esquema del protocolo electrofisiológico realizado en el presente trabajo.	78
Figura 2. 12. Determinación del intervalo V-V en un electrograma ventricular.	80
Figura 2. 13. Ejemplo del test del extraestímulo ventricular.	81
Figura 2. 14. Determinación del periodo refractario efectivo y funcional del ventrículo izquierdo.	82
Figura 2. 15. Representación esquemática del intervalo de duración del potencial de acción.	83
Figura 2. 16. Representación esquemática de la determinación de la frecuencia dominante.	86
Figura 3. 1. Ingesta energética en los diferentes grupos experimentales.	92
Figura 3. 2. Evolución del peso durante el periodo experimental.	93
Figura 3. 3. Glucemia en ayunas.	95
Figura 3. 4. Regulación de la glucosa en sangre.	96
Figura 3. 5. Representación del área bajo la curva del test de tolerancia a la glucosa.	97
Figura 3. 6. Metabolitos plasmáticos.	98
Figura 3. 7. Marcadores de daño hepático.	100
Figura 3. 8. Modificaciones de la presión arterial.	101
Figura 3. 9. Estudio histológico hepático.	102

Figura 3. 10. Características morfológicas del septo interventricular.	103
Figura 3. 11. Características morfológicas de la pared posterior del ventrículo izquierdo.	104
Figura 3. 12. Características morfológicas de la masa del ventrículo izquierdo.	105
Figura 3. 13. Análisis del intervalo PQ.	107
Figura 3. 14. Análisis del intervalo QRS.	108
Figura 3. 15. Análisis del intervalo QT.	109
Figura 3. 16. Análisis de la onda T.	110
Figura 3. 17. Análisis del intervalo RR.	110
Figura 3. 18. Automatismo intrínseco analizado con el intervalo RR.	111
Figura 3. 19. Análisis de la longitud del intervalo AV.	112
Figura 3. 20. Análisis del periodo refractario efectivo y funcional ventricular.	113
Figura 3. 21. Análisis de la duración del potencial de acción óptico al 90% de la repolarización.	114
Figura 3. 22. Velocidad de despolarización del ventrículo derecho e izquierdo.	115
Figura 3. 23. Coeficiente de triangulación del ventrículo derecho e izquierdo.	116
Figura 3. 24. Velocidad de conducción del ventrículo derecho e izquierdo.	117
Figura 3. 25. Análisis de la longitud de onda del ventrículo derecho e izquierdo.	117
Figura 3. 26. Análisis de la frecuencia dominante.	119

Figura 3. 27. Análisis de los intervalos VV.	120
Figura 3. 28. Análisis del índice de regularidad.	121

Lista de tablas

Tabla 1. 1. Clasificación del tipo de obesidad según los valores del índice de masa corporal. 21

Tabla 1. 2. Definición de síndrome metabólico según la NCEP. 21

Tabla 2. 1. Componentes y valor calórico de los distintos alimentos empleados en el estudio. 54

Tabla 2. 2. Composición de las dietas utilizadas (pienso y bebida) 65

Tabla 2. 3. Descripción de los parámetros ecocardiográficos. 70

Tabla 3. 1. Características morfológicas. 95

Tabla 3. 2. Bioquímica plasmática. 100

Tabla 3. 3. Parámetros ecocardiográficos. 107

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Objetivos

El objetivo principal de este proyecto es doble: por un lado, desarrollar un modelo experimental de síndrome metabólico en conejo y estudiar la progresión de sus diferentes manifestaciones durante el periodo de administración de una dieta alta en grasas y azúcares; por otro lado, investigar el impacto que la combinación de los diferentes componentes del síndrome metabólico ejerce sobre el remodelado estructural, funcional y eléctrico cardíaco, y su implicación en los procesos de instauración, mantenimiento y cese de la actividad arrítmica y fibrilatoria. Todo ello se desarrollará a través de los siguientes objetivos específicos:

1. Caracterizar el modelo experimental de síndrome metabólico a través del estudio de la evolución de sus diferentes componentes antes, en la semana 14 y en la semana 28 de la administración de la dieta experimental.
2. Analizar el efecto producido por la administración de la dieta alta en grasas y azúcares sobre la morfología, función y actividad eléctrica cardíaca “in vivo” en los diferentes instantes temporales de estudio.
3. Determinar, en un modelo de corazón aislado, el impacto de las alteraciones producidas por los diferentes componentes del síndrome metabólico en: a) el automatismo y la conducción aurículoventricular, b) la velocidad de conducción del impulso eléctrico, c) la refractariedad ventricular, d) la duración y las

1. Introducción

características morfológicas del potencial de acción óptico y e) la longitud de onda del proceso de activación.

4. Investigar la inducibilidad y las características de las arritmias ventriculares, inducidas y mantenidas en condiciones de normoxia, a través del análisis en los dominios del tiempo, de la frecuencia y de la heterogeneidad electrofisiológica.

1.2. Justificación de los objetivos

1.2.1. El síndrome metabólico. Generalidades

El síndrome metabólico (SM) lleva siendo objeto de estudio más de 80 años puesto que autores como Kylin en 1923 ya describieron la agrupación de hipertensión, hiperglucemia y gota (Kylin, 1923). A continuación, en la década de 1940, Vague documentó la asociación entre adiposidad central, diabetes, aterosclerosis y gota (Vague, 1956; 1996; Balkau *et al.*, 2007). Posteriormente, en 1988, propuso argumentos fisiopatológicos sobre la noción de que la resistencia a la insulina (RI) no solo era un defecto fundamental que incrementaba el riesgo a desarrollar diabetes tipo 2, sino que también señaló que era una causa prevalente de enfermedad cardiovascular (1988). Este concepto supuso un cambio de paradigma puesto que la medicina cardiovascular para entonces centraba sus esfuerzos en el manejo de factores de riesgo como el colesterol. Por tanto, Reaven fue el primero en proponer que la RI era un componente central de un grupo de anomalías que incluían hiperinsulinemia, disglucemia, triglicéridos altos, colesterol HDL bajo y presión arterial elevada. Por lo que, según la teoría de este

autor, esta agrupación de anomalías no solo incrementaría el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2, sino que también sería un factor de riesgo complejo para las enfermedades cardiovasculares, incluso en ausencia de diabetes tipo 2 (Lemieux y Després, 2020).

Por todo ello, los investigadores propusieron la existencia de una condición fisiopatológica única denominada síndrome “metabólico” o de “resistencia a la insulina”, concepto introducido por Reaven. En un principio dicho autor se refirió a esta condición como síndrome X de Reaven, añadiendo el término ‘metabólico’, para distinguirlo del síndrome X pre-existente en cardiología (Chen TO 2006). El síndrome también es conocido como síndrome metabólico, síndrome de resistencia a la insulina, síndrome plurimetabólico y el cuarteto mortal (Novo *et al.*, 2017).

El conjunto de anomalías metabólicas que atañen al SM incluye intolerancia a la glucosa (diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa o glucemia en ayunas alterada), RI, obesidad, dislipidemia e hipertensión. Todos ellos son factores de riesgo bien documentados de enfermedad cardiovascular, por lo que cuando estas condiciones coexisten en un individuo, al agruparse se asocian con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (Eckel *et al.*, 2005).

La descripción del síndrome por Reaven hizo que se convirtiese en un tema importante de investigación y de interés para la salud pública. A pesar de haber aceptado el concepto de síndrome metabólico y sus componentes, no fue hasta 1998 cuando el término de “síndrome metabólico” (SM) fue definido e institucionalizado por

1. Introducción

la Organización Mundial de la Salud (WHO Consultation, 1999). Posteriormente, el Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP: ATP III, 2001) y el Grupo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina (Balkau y Charles, 1999), así como otras organizaciones, desarrollaron definiciones similares. Estas definiciones coinciden en los componentes esenciales que son la intolerancia a la glucosa, la obesidad, la hipertensión y la dislipidemia. Sin embargo, difieren en la selección de los puntos de corte, así como en la medida de la obesidad (Eckel *et al.*, 2005; Dekker *et al.*, 2005; Novo *et al.*, 2017).

Por este motivo, para diagnosticar el SM es necesario establecer los criterios de valoración de cada uno de los componentes que lo constituye. El primer criterio empleado para definir esta patología es la obesidad central, que puede estimarse mediante diferentes técnicas como son la determinación del índice de masa corporal (IMC), la medición del diámetro de cintura mediante la colocación de una cinta métrica en el punto más cercano al borde superior de la cresta iliaca (Cornier *et al.*, 2011; Fryar *et al.*, 2018), o la estimación del índice cintura-cadera que se realiza midiendo el nivel más ancho del perímetro alrededor de los glúteos (Dekker *et al.*, 2005; Cornier *et al.*, 2011). Además, para el diagnóstico del SM se emplea la medida de la presión arterial y se lleva a cabo una analítica de sangre donde se determinan parámetros bioquímicos como son el nivel de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Como se ha comentado, el IMC es utilizado para clasificar uno de los componentes más relevantes del SM, la obesidad central. Por tanto, es importante detallar sus puntos de corte para entender el diagnóstico de obesidad (tabla 1.1) (Belanger-Ducharme *et al.*, 2005; Abel *et al.*, 2008).

Clasificación	Valor IMC
Bajo peso	$< 20 \text{ kg/m}^2$
Peso normal	$20\text{-}25 \text{ kg/m}^2$
Sobrepeso	$25\text{-}30 \text{ kg/m}^2$
Obesidad grado 1	$30\text{-}35 \text{ kg/m}^2$
Obesidad grado 2	$35\text{-}40 \text{ kg/m}^2$
Obesidad grado 3	$>40 \text{ kg/m}^2$

Tabla 1. 1. Clasificación del tipo de obesidad según los valores del Índice de masa corporal (IMC) (Abel *et al.*, 2008).

A continuación, en la tabla 1.2 se resumen los criterios utilizados por 4 de las asociaciones de salud más importantes a nivel mundial. Dichos criterios confirman la presencia o no de SM al existir al menos dos de los criterios principales de diagnóstico del SM, sumados a la presencia de obesidad (Dekker *et al.*, 2005).

1. Introducción

Clinical Measure	Criteria					Diagnosis
	Central Obesity	Blood Glc	High TG	Low HDL	High BP	
AHA/ NHLBI (2009) [4]	• WC • >40" (men) or >35" (women)		• ≥150 mg/dL or on TG txt	• <40 mg/dL (men) or <50 mg/dL (women) or on HDL txt	• ≥130 mmHg systolic and/or ≥85 mmHg diastolic or on HTN txt	≥3 criteria
IDF (2005) [5,6]	• WC • >37" (men) or >32" (women) or BMI >30 kg/m²	• IFG or on high blood Glc txt or T2DM dx				≥3 criteria one of which should be central obesity
ATPIII (2001) [7]	• WC • >40" (men) or >35" (women)			• <40 mg/dL (men) or <50 mg/dL (women)	• ≥130 mmHg systolic and ≥85 mmHg diastolic or on HTN txt	≥3 criteria
EGIR (1999) [8]	• WC • >37" (men) or >32" (women)	• IFG or IGT	• ≥150 mg/dL	• <39 mg/dL (men and women)	• ≥140 mmHg systolic and ≥90 mmHg diastolic or on HTN txt	≥3 criteria one of which should be IR *
WHO (1998) [1]	• Waist/hip ratio > 0.9 (men) or > 0.85 (women) or BMI > 30 kg/m²	• IFG orx IIGT or T2DM dx		• <35 mg/dL (men) or <39 mg/dL (women)	• ≥140 mmHg systolic and ≥90 mmHg diastolic	≥3 criteria one of which should be IR **

Tabla 1.2. Definición de síndrome metabólico según la AHA (American Heart Association), ATPIII (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III), WHO: OMS (Organización Mundial de la Salud), la EGIR (*European Group for the Study of Insulin Resistance*) y IDF (International Diabetes Federation). IFG se define como 110 mg/dL en 2001 pero se modificó en 2004 para ser 100 mg/dL, IGT se define como glucosa a las 2 h >140 mg/dL. * EGIR IR se define como niveles de insulina en plasma $>$ percentil 75. ** OMS IR se define como presencia de IR o IFG o IGT. Abreviaturas: AHA: American Heart Association, ATPIII: National Cholesterol Programa de Educación Panel de Tratamiento de Adultos III; dx: diagnóstico; EGIR: Grupo europeo para el estudio de la resistencia a la insulina; Glc: glucosa; HDL: lipoproteína de alta densidad; HTA: hipertensión; RI: resistencia a la insulina; FID: Diabetes Internacional Federación; IGT: alteración de la tolerancia a la glucosa; IFG: alteración de la glucosa en ayunas; NHLBI: Nacional del Corazón, los Pulmones y Instituto de Sangre; TG: triglicéridos; txt: tratamiento; CC: circunferencia de la cintura; OMS: Organización Mundial de la Salud (Fahed *et al.*, 2022).

1. Introducción

En el caso del NCEP (*National Cholesterol Education Program*), su definición considera que el SM está presente con al menos 3 de los siguientes criterios: glucosa en ayunas elevada, triglicéridos elevados, HDL bajo, presión arterial alta o circunferencia de la cintura mayor o igual a 102 cm en hombres y 88 cm en mujeres. Sin embargo, la definición de la OMS (Organización Mundial de la Salud) determina el síndrome con resistencia a la insulina en el cuartil superior de la población y/o alteración de la regulación de la glucosa en combinación con al menos 2 criterios de dislipidemia (triglicéridos elevados o HDL bajo), hipertensión arterial u obesidad (ratio de cintura-cadera elevado o alto IMC).

Por otra parte, la EGIR (*European Group for the Study of Insulin Resistance*) considera que el síndrome está presente en aquellos sujetos que tengan la insulina en ayunas en el cuartil superior de la distribución poblacional, en presencia de al menos 2 de estos factores de riesgo: glucosa en ayunas elevada, dislipidemia (triglicéridos elevados o HDL bajo), hipertensión arterial o la circunferencia de cintura elevada. Finalmente, la definición propuesta por el ACE (*American College of Endocrinology*) considera que el síndrome se encuentra presente con 2 o más anomalías en cuanto a la glucosa en ayunas o poscarga elevada, triglicéridos elevados, HDL bajo o presión arterial elevada, en sujetos que presentan un alto riesgo de ser resistentes a la insulina. Además, el alto riesgo de ser resistente a la insulina se asocia a la presencia de al menos uno de los siguientes criterios: diagnóstico de enfermedad cardiovascular, hipertensión, síndrome de ovario poliquístico,

1. Introducción

enfermedad del hígado graso no alcohólico o *acantosis nigricans*; antecedentes familiares de diabetes tipo 2, hipertensión o enfermedad cardiovascular; antecedentes de diabetes gestacional o intolerancia a la glucosa; etnia no blanca; estilo de vida sedentario; IMC mayor de 25 kg/m² o circunferencia de cintura de 94 cm para hombres y 80 cm para mujeres (Dekker *et al.*, 2005).

Por otro lado, la *American Association of Clinical Endocrinologists* (AACE) también incluye como criterio diagnóstico el incremento de los valores de la glucemia dos horas posteriores a la sobrecarga de glucosa y además incluye el historial clínico familiar como un factor importante teniendo en cuenta la posible predisposición genética (Grundy *et al.*, 2004).

Por todo ello, el consenso mundial de la *International Diabetes Federation* (IDF) propone la estandarización de la definición del síndrome metabólico para su uso en la práctica clínica. Por su parte, esta definición incluye la presencia de obesidad central tomando la medida de la circunferencia de la cintura según la etnia, en el caso de la población europea es de ≥ 94 cm en el caso de las mujeres y ≥ 80 cm para los hombres. Este criterio sumado a dos de los siguientes factores: triglicéridos elevados (>150 mg/dL o con tratamiento específico), reducción de HDL (< 50 mg/dL en mujeres y < 40 mg/dL en hombres o con tratamiento específico), presión arterial sistólica ≥ 130 mmHg o diastólica ≥ 85 mmHg o con tratamiento específico previo diagnóstico de hipertensión arterial,

1. Introducción

elevación de la glucosa preprandial en plasma (≥ 100 mg/dL) o el diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2 (Alberti *et al.*, 2005).

El SM es, por tanto, una entidad nosológica que supone la combinación de una amplia variedad de trastornos metabólicos incluyendo la obesidad central, la regulación anormal de la glucosa, la dislipidemia aterogénica y la hipertensión arterial (figura 1.1). Esto incrementa la predisposición a desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2 (Cuesta *et al.*, 2020).

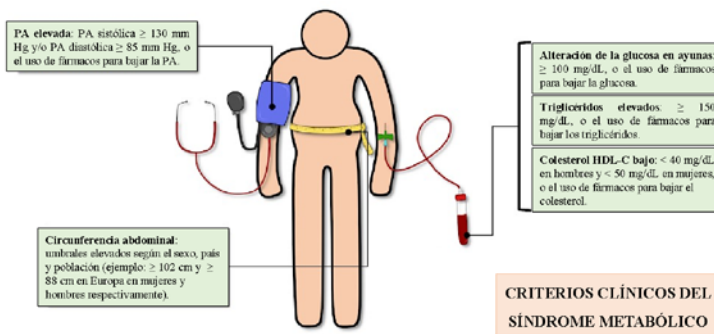


Figura 1. 1 Criterios clínicos del síndrome metabólico. PA: presión arterial. Figura tomada y traducida de Tirandi *et al.*, 2022.

Actualmente, esta enfermedad no transmisible se ha convertido en uno de los mayores peligros para la salud del mundo moderno. A pesar de haberse iniciado en el mundo occidental, hoy en día se ha convertido en un problema de salud pública a nivel global. La prevalencia del SM suele ser mayor en la población urbana de algunos países en desarrollo que en sus homólogos occidentales. Las dos fuerzas principales que favorecen esta enfermedad son el incremento del consumo de comida rápida alta en calorías y baja en fibra, y un estilo de vida sedentario, esto es, la disminución de la

1. Introducción

actividad física debido a los transportes mecanizados y a la forma sedentaria de actividades de tiempo libre y/o trabajo. Como se ha comentado, la presencia de al menos un componente incrementa el riesgo de desarrollar SM (Nolan *et al.*, 2017). Por otro lado, la relevancia del SM radica en que duplica el riesgo de enfermedad cardiovascular entre 5 y 10 años tras el diagnóstico y aparición de diabetes tipo 2 a los 5 años (Saklayen, 2018).

La prevalencia del SM en España alcanzó algo más del 42% en los hombres y el 32% en las mujeres en el año 2010 (Cuesta *et al.*, 2020). Fernández-Bergés *et al.*, en el año 2012 realizaron un estudio en el que incluyeron 24.670 participantes de 10 comunidades autónomas. En su conjunto el total de la población de dichas comunidades autónomas equivale aproximadamente al 70% de la población española con edades comprendidas entre los 35 y 74 años. Observaron que en conjunto 7.832 personas padecían SM, con una prevalencia del 32% en varones (IC95%, 29-35) y del 29% en mujeres (IC95%, 25-33). Entre los varones con SM fueron más frecuentes la elevación de la glucemia y triglicéridos. Sin embargo, entre las mujeres predominaron la obesidad abdominal y el colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL). Además, observaron que las personas con SM mostraron un riesgo coronario moderado, pero mayor que la población sin SM (Fernández-Bergés *et al.*, 2012).

Por otra parte, en Norteamérica, en el año 2006 la prevalencia del SM sobrepasó el 34%. Esta misma tendencia se ha observado en el resto de América y en Asia (Yach *et al.*, 2004; Mozundar *et al.*, 2011). Al relacionar el SM con otras comorbilidades como es el caso de la diabetes tipo 2, la prevalencia puede llegar a alcanzar valores de hasta el 70%, teniendo en cuenta que los individuos con SM tienen 5 veces más probabilidad de desarrollar diabetes tipo 2. A pesar de ello, esta patología puede preceder al SM durante años (Tentolouris *et al.*, 2008; Mohammadbeigi *et al.*, 2017). En este sentido la prevalencia del SM crece en paralelo con la incidencia de la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (Saklayen, 2018). En el caso de la obesidad, su incidencia se ha incrementado globalmente en grupos etarios de niños y adolescentes (entre 6 y 19 años) del 11 al 15%. En estos últimos años las cifras de obesidad en países como la India se han ido incrementando de manera alarmante (de 3,5 a 9,7%) en escolares entre los 6 y los 15 años (Mahbuba *et al.*, 2018).

En el año 2005 UNICEF (*United Nations International Children's Emergency Fund*) realizó un estudio junto con la Oficina de Estadística de Bangladesh en el que informó de una prevalencia del 1,4% de sobrepeso entre los niños menores de 5 años (Mahbuba *et al.*, 2018). En relación con la obesidad infantil y adolescente, una estimación reciente de su prevalencia en los Estados Unidos en niños desde los 2 años hasta adolescentes de 19 años en el periodo comprendido entre 2011 y 2014 mostró una prevalencia acumulada de obesidad del 17%, y de obesidad extrema del 5,8%. Específicamente se observó que la prevalencia de obesidad en el

1. Introducción

grupo de niños de 2 a 5 años fue del 8,9%, del 17,5% en el grupo de niños de 6 a 11 años y del 20,5% en el grupo de 12 a 19 años. Los resultados mostraron un ascenso exponencial anualmente hasta el año 2014 en comparación con los resultados obtenidos de las prevalencias analizadas desde el año 1999 tanto para la clasificación de obesidad como para la obesidad extrema (Ogden *et al.*, 2016).

Recientemente se ha observado que la prevalencia del SM ha ido aumentando desde el año 2009 con valores significativos de hasta el 27,5% en la población de oriente medio, cuando antes del año 2006 era tan solo del 13% en los países comprendidos entre China e Irán. Además, se consideró que el SM es el responsable de la aparición de enfermedad cardiovascular y accidente cerebrovascular en un 11,7% y 16,23% respectivamente (Ansarimoghaddam *et al.*, 2017). En los últimos 20 años se ha estimado que la mortalidad relacionada con el SM ha aumentado del 20% al 45% (Mokhayeri *et al.*, 2017). Otros estudios han revelado que la prevalencia del SM en Irán está entre el 23% y el 28% más elevada que en países como Qatar, Turquía, Pakistán, Kuwait, Arabia Saudita, América latina y Canadá, pero sin embargo menor que en Corea y Estados Unidos (Mohammadbeigi *et al.*, 2017; Mokhayeri *et al.*, 2017; Ansarimoghaddam *et al.*, 2018). Se estima que para el año 2025, unos 300 millones de personas sufran las consecuencias del consumo de dietas con un alto contenido calórico y un estilo de vida sedentario, desarrollando obesidad, SM y otros trastornos asociados (Schmerbach y Patzak, 2014; Reuter y Mrowka, 2015).

1.2.2. Fisiopatología del síndrome metabólico

El SM actualmente es reconocido como una entidad nosológica con entidad propia y caracterizada por la convergencia de varios factores de riesgo cardiovascular en la misma persona, con un marcado carácter de alteración metabólica subyacente (Pocoví-Mieras y Ferreira-Montero, 2010). En la fisiopatología del SM se articulan varias alteraciones relacionadas con el metabolismo glucolipídico, la presión arterial y la obesidad. Se considera que el nexo entre dichas alteraciones es la RI la cual se ve favorecida por el incremento de ácidos grasos libres (AGL) que muchas veces puede relacionarse con el sobrepeso. Dicho estado provoca trastornos en la utilización de la glucosa celular, así como desregulación de su producción hepática. Además, esta RI hace que el metabolismo lipídico también se vea afectado dando lugar a las alteraciones características del SM: hipertriglicemia e hipercolesterolemia HDL (Laclaustra Gimeno *et al.*, 2005) (figura 1.2).

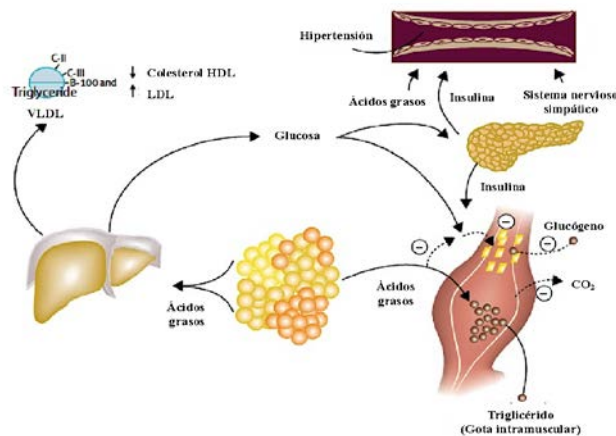


Figura 1. 2 Fisiopatología del síndrome metabólico (resistencia a la insulina).
Figura tomada y traducida de Eckel *et al.*, 2005.

1. Introducción

Se podría considerar a la obesidad como el punto de partida del SM que creará un estado de RI considerada el denominador común de todas las alteraciones características de dicho síndrome (Laclaustra Gimeno *et al.*, 2005 y Pocoví-Mieras y Ferreira-Montero, 2010). Años atrás se pensaba que el tejido graso carecía de cualquier función, pero hoy en día se sabe que es un órgano activo, de hecho, se debe considerar al tejido adiposo abdominal como un órgano endocrino que libera a la circulación un exceso de ácidos grasos libres nocivos, angiotensina II y adipocinas, involucradas en el mantenimiento del peso y en el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular (Opie, 2007; Pocoví Mieras y Ferreira Montero 2010).

En condiciones fisiológicas el tejido adiposo modula el metabolismo mediante la actuación de los ácidos grasos libres, glicerol y hormonas como la leptina y adiponectina, así como citoquinas proinflamatorias. Sin embargo, en el SM se incrementa la síntesis de estos productos. La tendencia fisiológica es almacenar los ácidos grasos y triglicéridos en adipocitos periféricos pequeños, no obstante, cuando la capacidad de estas células se sobrepasa, se produce un almacenamiento disfuncional en el tejido intraabdominal o visceral. Debido a esta modificación de los depósitos fisiológicos se crea una nueva reserva en el tejido muscular, causando la RI de dicho tejido. El incremento del tejido adiposo intraabdominal o visceral da lugar a un aumento del flujo de AGL. Dicho flujo se dirigirá a la circulación esplácnica mientras que el procedente del tejido subcutáneo evitará su paso por la circulación hepática

1. Introducción

produciendo un aumento en la síntesis de glucosa y lípidos (Laclaustra Gimeno *et al.*, 2005).

La insulina es una hormona polipeptídica secretada por las células beta de los islotes pancreáticos de Langerhans y actúa a través de receptores de glicoproteínas ubicados principalmente en los tejidos diana del hígado, músculo esquelético y adipocitos (McCracken *et al.*, 2017). En individuos sanos se produce un intercambio de señales entre los tejidos insulinosensibles y las células beta, de tal forma que éstas incrementan la secreción de insulina en respuesta a las demandas del hígado, músculo y tejido adiposo. La relación entre la sensibilidad a la insulina y la liberación de la insulina por el páncreas es inversa e hiperbólica (figura 1.3). Sin embargo, los individuos con SM y resistentes a la insulina presentan una mayor secreción, así como un menor aclaramiento hepático de insulina que aquellos individuos sensibles a la insulina (Pocoví Mieras y Ferreira Montero 2010).

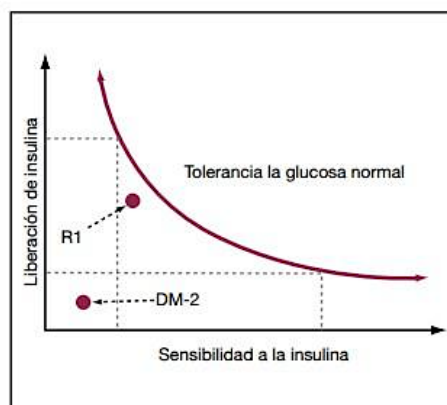


Figura 1. 3. Relación entre la sensibilidad y la liberación de la insulina por el páncreas (Pocoví-Mieras y Ferreira-Montero, 2010).

1. Introducción

En las células beta pancreáticas, la glucosa estimula la secreción de insulina a través de su metabolismo oxidativo dando lugar a un incremento de la relación ATP/ADP. Esto va a producir el cierre de los canales K^+ /ATP con la consiguiente despolarización de la membrana plasmática y el aumento de la concentración de Ca^{2+} a través de la activación de los canales de calcio, induciendo la exocitosis de gránulos que contienen la insulina. (Barrett, 2017). En condiciones en las que la demanda de insulina se ve incrementada, el metabolismo de la glucosa por las células beta puede incrementarse a través de diversos mecanismos: 1) mediante la activación de la enzima glucocinasa; 2) reponiendo los intermediarios del ciclo de Krebs mediante anaplerosis (Pocoví-Mieras y Ferreira-Montero, 2010).

Por tanto, se piensa que la RI está mediada por el incremento de los ácidos grasos libres circulantes. La insulina aumenta la captación de glucosa en los músculos y el hígado e inhibe la lipólisis y la gluconeogénesis hepática. La RI en el tejido adiposo altera la inhibición de la lipólisis mediada por la insulina, lo que da lugar a un incremento de los AGL circulantes que inhiben aún más el efecto antilipolítico de la insulina. Los AGL inhiben la activación de la proteína quinasa en el músculo, reduciendo la captación de glucosa. Por otra parte, aumentan la activación de la proteína quinasa en el hígado lo que promueve la gluconeogénesis y la lipogénesis. El efecto neto que esto supone es la creación de un estado hiperinsulinémico para mantener la euglucemia. Finalmente, la compensación falla y la secreción de insulina disminuye (Rochlani *et*

al., 2017). Los AGL también son lipotóxicos para las células del páncreas, provocando una disminución de la secreción de insulina. Por tanto, aunque el páncreas produce insulina adicional, no hay suficiente para contrarrestar la hiperglucemia que se produce. Esto explica la paradoja de la hiperglucemia en ayunas a pesar del incremento de los niveles de insulina en plasma. Este fenómeno es lo que se conoce como RI (Opie, 2007; Rochlani *et al.*, 2017). La RI también contribuye al desarrollo de hipertensión debido a la pérdida del efecto vasodilatador de la insulina y a la vasoconstricción causada por los AGL. Mecanismos adicionales incluyen una mayor activación simpática y reabsorción del sodio en los riñones. Además, la RI también provoca un aumento de la viscosidad sérica, la inducción de un estado protrombótico y la liberación de citoquinas proinflamatorias del tejido adiposo que contribuyen a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (Rochlani *et al.*, 2017). El aumento de los AGL conduce a un aumento de la síntesis de triglicéridos y la producción de apolipoproteína B que contiene lipoproteína de muy baja densidad rica en triglicéridos en el hígado. Este incremento del colesterol LDL y la reducción del colesterol HDL son efectos indirectos de la RI causada por alteración del metabolismo de los lípidos en el hígado (Rochlani *et al.*, 2017).

La dislipemia en el SM se caracteriza por la elevación de los triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), el descenso de lipoproteínas de alta (HDL) y baja (LDL) densidad. Este fenómeno se ha denominado fenotipo lipoproteínico aterogénico. El metabolismo lipídico normal incluye la liberación de AGL desde los

1. Introducción

adipocitos a la sangre circulante, hacia el hígado y el músculo. En el hígado, una parte es oxidada y la mayoría reesterificada a triglicéridos. Hay un transporte continuo de AGL entre el tejido adiposo y el hígado. Sin embargo, si el proceso de reesterificación se satura, la acumulación de triglicéridos puede dar lugar al hígado graso. En presencia de insulinoresistencia, el flujo aumentado de AGL al hígado produce un incremento de la síntesis de triglicéridos y de VLDL ricas en triglicéridos y apolipoproteína B. Sin embargo, en condiciones normales, la insulina inhibe la secreción de VLDL a la circulación. En el tejido adiposo y en músculo se produce un descenso de la actividad lipoproteinlipasa, por lo que no se aclaran los triglicéridos de las VLDL y favorece la acumulación de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y LDL. Por lo que el aumento de la liberación de AGL y la síntesis de triglicéridos son los puntos clave en las alteraciones lipídicas del SM (Laclaustra Gimeno *et al.*, 2005).

A pesar de que los AGL puedan estimular la secreción de insulina, si su concentración es excesiva pueden provocar disminución de la secreción de insulina por diversos mecanismos lipotóxicos y favorecer así la diabetes (Laclaustra Gimeno *et al.*, 2005).

1.2.3. Consideraciones especiales respecto al remodelado cardiaco

1.2.3.1. Alteraciones morfológicas del corazón

Cada componente del SM es un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular, por lo que la combinación de estos factores de riesgo eleva las tasas y la gravedad de la enfermedad cardiovascular entre las que se incluyen la disfunción microvascular, aterosclerosis coronaria y calcificación, disfunción cardíaca, infarto de miocardio e insuficiencia cardíaca. Por este motivo la atención se ha centrado recientemente en el SM como una herramienta epidemiológica relacionada con el riesgo de enfermedad cardiovascular. Está bien aceptado que estas comorbilidades representan un estado patológico que incrementa sustancialmente el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular aterosclerótica (Cordero *et al.*, 2010; Tune *et al.*, 2018) (figura 1.4).

1. Introducción

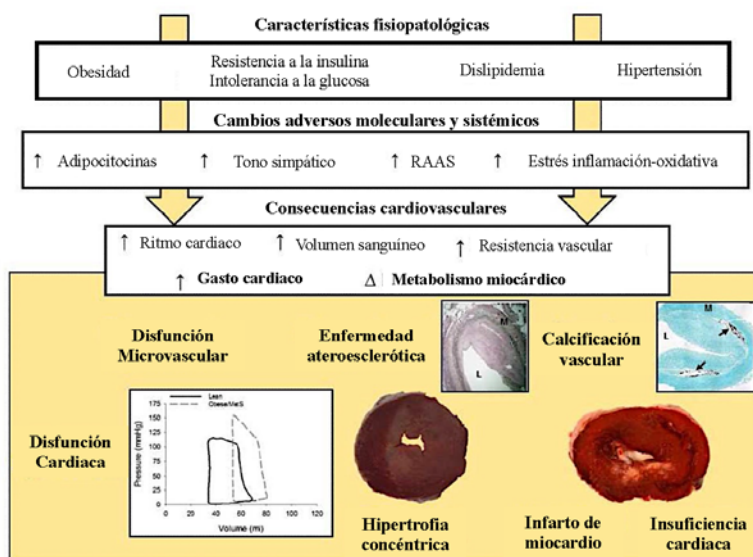


Figura 1. 4. Esquema de las características fisiopatológicas, los cambios adversos moleculares y sistémicos y las consecuencias cardiovasculares del síndrome metabólico. RAAS: sistema renina-angiotensina-aldosterona. Figura tomada y traducida de Tune *et al.*, 2017.

La obesidad es capaz de producir una gran variedad de alteraciones hemodinámicas que pueden predisponer a cambios en la morfología y función ventricular. Estas alteraciones, además, pueden contribuir en el desarrollo de insuficiencia cardíaca. Dichas características son más pronunciadas en aquellos individuos que presentan una obesidad severa, pero también se ha visto que pueden ocurrir, en menor medida, en adultos, adolescentes y niños con sobrepeso y obesos leves o moderados (Wong *et al.*, 2007; Alpert *et al.*, 2014). En personas que desarrollan una obesidad severa, tales alteraciones pueden predisponer a insuficiencia cardíaca incluso en ausencia de comorbilidades como pueden ser la hipertensión

sistémica o enfermedad coronaria. Esta condición se conoce comúnmente como miocardiopatía por obesidad (Alpert *et al.*, 2016).

Originalmente se pensó que los cambios producidos en la morfología cardíaca asociados a la obesidad eran consecuencia de cambios hemodinámicos y comorbilidades. Sin embargo, con los años se ha visto que, estos efectos por sí mismos, no explican completamente los cambios que se producen en la morfología cardíaca y que están asociados a la obesidad. Por otro lado, hay estudios experimentales que sugieren que diversas anomalías neurohormonales y metabólicas asociadas a la obesidad son los factores que pueden contribuir a la alteración de la morfología cardíaca (Alpert, 2001; Wong y Marwick., 2007; Lavie *et al.*, 2013;). Además, las técnicas no invasivas de imagen cardíaca como la ecocardiografía y la resonancia magnética cardíaca han permitido el reclutamiento de poblaciones de estudio más grandes que las de los estudios *post mortem* que se realizaban antiguamente. Esto ha facilitado el análisis de la morfología cardíaca en la obesidad mediante la comparación con individuos control de peso normal, mediante la evaluación de los factores que contribuyen a los cambios en la morfología cardíaca y la evaluación longitudinal de los cambios en la estructura cardíaca (figura 1.5) (Alpert *et al.*, 2016).

Además, durante la última década se han desarrollado técnicas ecocardiográficas que permiten la cuantificación de los índices de función diastólica miocárdica relativamente independientes de la carga. Dichas técnicas se basan principalmente

1. Introducción

en imágenes Doppler tisulares, un método que permite registrar con alta resolución temporal la velocidad y amplitud de los movimientos cardiacos (Abel *et al.*, 2008).

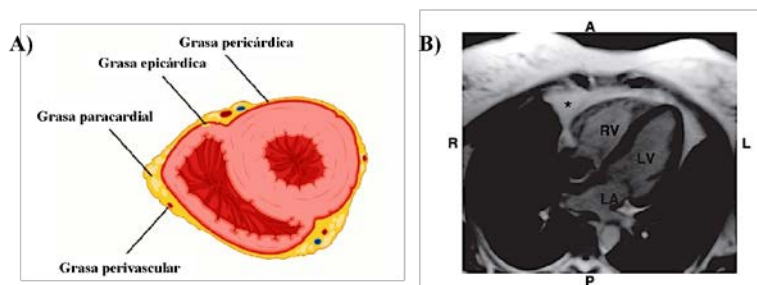


Figura 1.5. A) Tejido adiposo alrededor del corazón. **B)** Imagen de resonancia magnética nuclear, ventana pericárdica. *: Grasa epicárdica acumulada en la región anterior; RV: ventrículo derecho; LV: ventrículo izquierdo; LA: aurícula izquierda; A: anterior; P: posterior; R: derecha; L: izquierda. Figura tomada y traducida de: A) Konwerski *et al.*, 2022 y B) Abel *et al.* 2008.

Entre los cambios que se producen en el corazón se pueden encontrar la hipertrofia del VI, el agrandamiento de la aurícula izquierda y el deterioro subclínico de la función sistólica y diastólica del VI, que además son precursores de disfunción e insuficiencia cardiaca. Por tanto, una obesidad mantenida en el tiempo puede conducir a insuficiencia cardiaca (Abel *et al.*, 2008). La alteración más frecuente en la morfología cardiaca de la obesidad es el incremento de la masa del VI, incluida la hipertrofia del VI (Aurigemma *et al.*, 2013; Alpert *et al.*, 2016). En cuanto a la masa del VI, son numerosos los estudios que comparan diferentes índices de masa del VI en pacientes obesos y con peso normal. Dichos estudios han incluido a sujetos de todas las clases de obesidad. En casi todos los trabajos, los índices de masa del VI fueron mayores en

los pacientes con obesidad que en los pacientes de peso normal. Además, estas diferencias se han observado en ambos, pacientes normotensos e hipertensos (Jen *et al.*, 1992).

Por su parte, la hipertrofia cardíaca se define normalmente como el incremento de tamaño de todo el corazón o más específicamente de una de las cámaras cardíacas en relación con el tamaño del cuerpo. Clásicamente se utilizaba como medida el área de superficie corporal (BSA, de sus siglas en inglés), se tomaba como índice para analizar el tamaño o la masa del corazón. Sin embargo, cuando nos encontramos ante una obesidad significativa, el peso de VI/BSA es a menudo normal o inferior puesto que de por sí el BSA aumenta más que el peso del VI. Por esta razón, actualmente se realiza indexando el tamaño del corazón a la masa corporal magra, a la altura o a la altura^{2/7} (De Simone *et al.*, 2005; Abel *et al.*, 2008). De hecho, el último método es un factor de corrección alométrico óptimo que minimiza las diferencias que puede haber entre el género en el tamaño y la geometría del corazón (Abel *et al.*, 2008).

Se ha observado que, en personas normotensas con obesidad severa, la presión arterial sistólica se correlaciona positiva y significativamente con el porcentaje de sobrepeso, al igual que el estrés de la pared del VI al final de la sístole (Alpert *et al.*, 1994; Alpert y Alexander., 1998). Esta relación remarca la importancia de la poscarga como determinante de la masa del VI y de la hipertrofia del VI en pacientes obesos, incluso en ausencia de hipertensión arterial. El tamaño de la cámara del VI en la diástole suele aumentar,

1. Introducción

aunque no invariablemente en la obesidad grave, y puede servir también como un posible índice indirecto de precarga. El tamaño de la cámara en diástole del VI, también se correlaciona positiva y significativamente con la masa del VI en dichos pacientes (Alpert *et al.*, 2016). Por tanto, las condiciones de carga del VI parecen jugar un papel clave en el desarrollo de la hipertrofia ventricular izquierda en pacientes obesos (Reis *et al.*, 2014). También se ha demostrado que la duración de la obesidad se correlaciona directamente con el tamaño de la cámara diastólica del VI, el grosor de la pared del VI y la masa del VI en aquellos sujetos que presentan obesidad de clase II y III (Alpert *et al.*, 1996).

Sin embargo, el grado de contribución de la obesidad en la hipertrofia del VI no está del todo claro puesto que hay autores que concluyen que la obesidad se asocia de forma independiente con la hipertrofia del VI (Grandi *et al.*, 2000; Morricone *et al.*, 2002; Peterson *et al.*, 2004; Avelar *et al.*, 2007). Sin embargo, también hay estudios que sugieren que la masa del VI puede verse incrementada a raíz de la obesidad, pero que el aumento es apropiado para el tamaño corporal en cuestión si nos encontramos ante una obesidad que no lleve asociada comorbilidades (Iacobellis, 2004; Iacobellis *et al.*, 2004). Por este motivo es necesario realizar estudios ecocardiográficos que permitan el análisis del tamaño cardíaco, la geometría y la función del corazón. Así mismo, los resultados indican que tanto el tamaño de la cavidad del VI como el grosor de la pared aumentan en aquellos sujetos obesos respecto a los sujetos controles de la misma edad (Iacobellis *et al.*, 2004; Heckbert *et al.*, 2006;

Avelar *et al.*, 2007). El grosor de la pared suele aumentar en mayor medida que el tamaño de la cavidad. Por este motivo parece que predomina la hipertrofia cardíaca concéntrica (incremento del grosor de la pared en relación con el tamaño de la cámara) en comparación con un patrón excéntrico de hipertrofia (el agrandamiento de la cámara es mayor que el incremento del grosor de la pared) (Abel *et al.*, 2008).

1.2.3.2. Alteraciones funcionales del corazón

Está bien establecido que la obesidad influye en la morbilidad y mortalidad cardiovascular. De hecho, a mediados del siglo XX se observó por primera vez una asociación entre la obesidad severa y la disfunción ventricular izquierda (Smith, 1933). Más tarde mediante estudios clínicos y de necropsias sobre obesidad mórbida se confirmó la entidad de una cardiomiopatía obesa, caracterizada por una sobrecarga de volumen y modificaciones de la contractilidad que conducían frecuentemente a insuficiencia cardíaca congestiva (Alauddin *et al.*, 1990; Kasler *et al.*, 1992). En el año 2003, Pascual *et al.* realizaron un estudio para documentar la relación entre la obesidad y las alteraciones en la función diastólica, así como el impacto de los diferentes grados de obesidad en la estructura y función cardíacas. Observaron que la disfunción diastólica del ventrículo izquierdo subclínica está presente en todos los grados de obesidad aislada, se correlaciona con el IMC y además se asocia con un aumento de la función sistólica en las primeras etapas de la obesidad (Pascual *et al.*, 2003).

1. Introducción

Son muchos los estudios experimentales que muestran que la obesidad está relacionada con cambios estructurales y funcionales en el corazón, tanto en modelos humanos como animales (Wong *et al.*, 2004; Abel *et al.*, 2008; Broussard *et al.*, 2016). También hay estudios experimentales que demuestran una correlación directa entre la masa grasa epicárdica y visceral con la disfunción diastólica (de Farkhondeh *et al.*, 2020). Muchos de estos cambios, como la hipertrofia del ventrículo izquierdo, el agrandamiento de la aurícula izquierda y el deterioro subclínico de la función sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo, son precursores de disfunción e insuficiencia cardíaca. Generalmente, se asume, por tanto, que la obesidad a largo plazo finalmente conducirá a insuficiencia cardíaca (Abel *et al.*, 2008). Se ha observado que las personas con obesidad grave presentan una forma de cardiomiopatía atribuida a una sobrecarga de volumen crónica, caracterizada por la dilatación del ventrículo izquierdo, el incremento de la tensión de la pared del ventrículo izquierdo y la hipertrofia ventricular izquierda compensatoria (excéntrica). También se ha observado que el deterioro de la función cardíaca se correlaciona con el IMC y la duración de la obesidad (Wong *et al.*, 2004) (figura 1.6). Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual la obesidad conduce a esta disfunción cardíaca sigue sin estar del todo dilucidado.

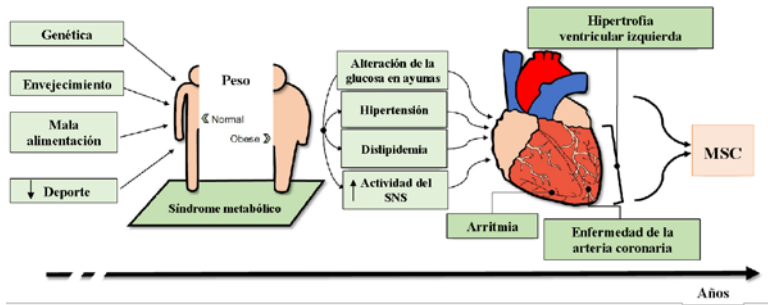


Figura 1. 6. Efectos deletéreos del síndrome metabólico en el corazón. Figura tomada y traducida de Tirandi *et al.*, 2022.

En sujetos que presentan obesidad severa, así como obesidad e hipertensión, también es frecuente la disfunción diastólica del ventrículo izquierdo. Entre los pacientes obesos con insuficiencia cardíaca, la mayoría tiene una fracción de eyección del VI preservada (Lavie *et al.*, 2013; Alpert *et al.*, 2014). Numerosos estudios han analizado los índices de función diastólica del VI en sujetos obesos (todas las clases de obesidad) respecto a sujetos control con peso normal. En la mayoría de estos estudios, los índices de la función diastólica del VI mostraron un deterioro del llenado o la relajación diastólica del VI en comparación con los sujetos control (Pascual *et al.*, 2003; Alpert *et al.*, 2016).

Es posible que el factor más importante que contribuye a la función diastólica del VI sea la hipertrofia del ventrículo izquierdo (Alpert *et al.*, 2016). Aun así, otros factores que pueden contribuir a la función diastólica del VI en individuos obesos incluyen la hipertensión arterial, la enfermedad coronaria, las condiciones de carga adversas (como puede ser el incremento de la poscarga y la

1. Introducción

precarga, incluso en ausencia de hipertensión arterial) y la duración de la obesidad (Wong *et al.*, 2007; Lavie *et al.*, 2013; Reis *et al.*, 2014). Respecto a los factores que contribuyen a la disfunción sistólica del VI en la obesidad también incluyen condiciones adversas de carga del VI, duración de la obesidad, incremento de la masa del VI y quizás también, y de lo más importante, comorbilidades como la enfermedad coronaria, la hipertensión y la diabetes mellitus. También se ha postulado que la leptina, la resistina, la adiponectina, e incretinas, como el péptido similar al glucagón (GLP, de sus siglas en inglés) y el polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP, de sus siglas en inglés), pueden influir en la relación entre la obesidad y la función sistólica del VI (Alpert y Pritchett, 2016).

En relación con la diabetes, se puede observar en pacientes diabéticos dos formas distintas de insuficiencia cardíaca. La primera de ellas es una disfunción sistólica consecuencia de la enfermedad coronaria sin grandes diferencias con la población general. Sin embargo, la segunda es una manifestación específica de la diabetes mellitus y que solo se ha observado en este tipo de pacientes. Ésta es conocida como cardiomiopatía diabética. El fenotipo típico de esta patología se caracteriza por una enfermedad restrictiva con hipertrofia ventricular izquierda y disfunción diastólica. Se reconocen dos etapas: una etapa temprana caracterizada por hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo, incremento de la rigidez del miocardio, aumento de las presiones de llenado y deterioro de la función diastólica; y una etapa tardía caracterizada por la aparición de fibrosis cardíaca, deterioro de la función diastólica y

disfunción sistólica (Gargiulo *et al.*, 2020). En un informe realizado por Seferović *et al.* (2018) propusieron que, con esta clasificación, utilizada en la actualidad, probablemente nos encontremos ante dos fenotipos distintos de miocardiopatía diabética en lugar de dos estadios sucesivos de la misma patología. Uno de ellos sería un fenotipo restrictivo/insuficiencia cardiaca con fracción de eyección conservada (HFpEF) y otro fenotipo dilatado/insuficiencia cardiaca con fracción de eyección reducida (HFrEF) (Seferović *et al.*, 2018).

1.2.3.3. Alteraciones electrofisiológicas cardíacas

Son muchos los estudios que relacionan la obesidad con una variedad de anomalías eléctricas en el corazón, entre las que se incluyen: alteraciones de la onda P, un intervalo QT prolongado y el incremento de su dispersión, así como una mayor incidencia de complejos ventriculares prematuros. Estos cambios podrían relacionarse con la aparición de arritmias, tanto auriculares como ventriculares, que llegasen a originar la muerte súbita cardiaca (Fraley *et al.*, 2005; Kosar *et al.*, 2008; Lau *et al.*, 2017). Ya en 1982, Frank y colaboradores, realizaron un estudio en 1029 pacientes que presentaban obesidad en el que observaron desnivel del segmento ST, aplanamiento de la onda T, cambios en la repolarización (incrementos > 20 segundos) y disminución (< 12 segundos) del intervalo PR, prolongación y bajo voltaje del complejo QRS, incremento del intervalo QT corregido (QTc), desplazamiento del vector del QRS a la izquierda, aumento del voltaje QRS en proporción al incremento del IMC y el subsecuente aumento de la frecuencia cardiaca, indicando por tanto una correlación lineal directa con el peso. Estos cambios

1. Introducción

fueron independientes de la edad, el sexo y la presión arterial (Frank *et al.*, 1986). De hecho, en el año 2000, Alpert *et al.*, observaron en un estudio las mismas características en una población obesa sin HTA. Además, registraron un aumento de la duración de la onda P, un aplanamiento e inversión de la onda T y una reducción del voltaje en el complejo QRS como consecuencia de los cambios estructurales asociados a la hipertrofia ventricular (Frank *et al.*, 1986; Alpert *et al.*, 2000).

Además, es importante destacar que este remodelado patológico se puede agravar en función de la presencia de más componentes del SM, como puede ser la hipertensión arterial (Linz *et al.*, 2012) y la diabetes. Como se ha comentado, ésta última produce una prolongación del intervalo QT, predisponiendo así a la aparición de arritmias que pueden ocasionar la muerte súbita cardiaca (Messerli *et al.*, 1987; Christensen *et al.*, 2000). Además, la prolongación del intervalo QT también es frecuente encontrarla en pacientes con neuropatía diabética por diabetes tipo 1, así como en sujetos con diabetes tipo 2 también se observa un incremento de la dispersión del intervalo QT (Rossing *et al.*, 2001). Hay estudios en los que se ha observado una asociación positiva entre el intervalo QT y el IMC, lo cual es un predictor de la muerte súbita cardiaca, incluso en individuos aparentemente sanos (Lavie *et al.*, 2009). Por tanto, es frecuente la aparición de arritmias ventriculares en aquellos individuos que presenten obesidad.

Asimismo, el riesgo de arritmias cardíacas se incrementa durante los periodos de estimulación simpática, con un aumento de la frecuencia cardíaca y, paradójicamente, con un incremento del intervalo QTc. En los estudios realizados por Naas *et al.*, y Sawicki *et al.*, referenciados por Rossing *et al.*, (2001), observaron que la dispersión del QTc es un buen predictor de mortalidad cardiovascular en presencia de diabetes tipo 2 y además la duración del intervalo QTc predice la aparición de enfermedad isquémica o incremento del remodelado cardíaco en presencia de diabetes tipo 1 (Rossing *et al.*, 2001).

Por otro lado, las enfermedades que afectan al metabolismo energético cardíaco e incrementan las reservas de lípidos de los cardiomiocitos, como la diabetes y la obesidad, se relacionan frecuentemente con una función mecánica y eléctrica alterada en el corazón, este síndrome se denomina miocardiopatía lipotóxica. Por tanto, ambas patologías confieren un mayor riesgo de muerte súbita cardíaca y se asocian con propiedades eléctricas de los cardiomiocitos alteradas, manifestadas por la prolongación del complejo QRS y el intervalo QT (Morrow *et al.*, 2011) (figura 1.7). Se ha visto que la obesidad y sus comorbilidades causan un remodelado eléctrico predisponiendo por tanto al desencadenamiento de arritmias cardíacas. Además, el tejido adiposo está asociado con la acumulación de grasa subcutánea y visceral, las cuales tienen diferentes mecanismos de señalización. Por lo que también puede haber diferencias funcionales en la distribución regional de los

1. Introducción

depósitos de grasa, en los canales iónicos o en la expresión de las proteínas del manejo del calcio (Aromolaran y Boutjdir, 2017).

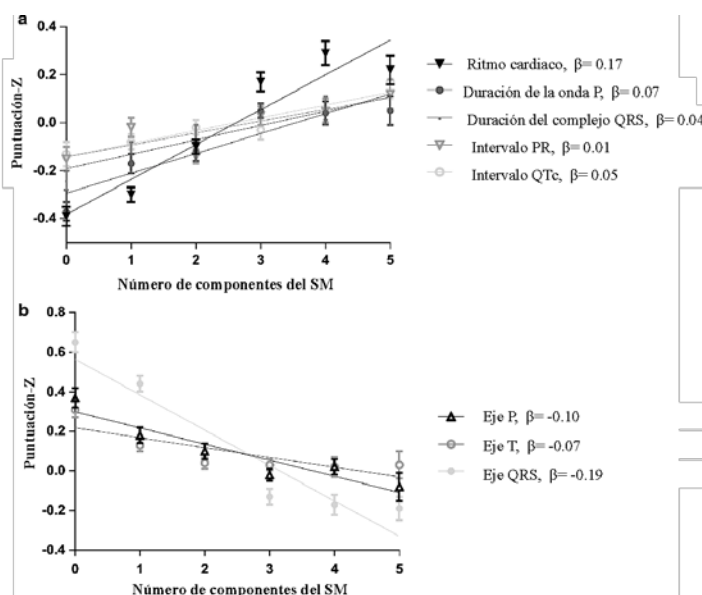


Figura 1. 7. Parámetros de electrocardiograma (ECG) en relación con la puntuación del síndrome metabólico. Se muestran líneas de regresión para los diferentes parámetros de ECG. Los parámetros de ECG se expresan en puntuaciones estandarizadas (Z). A) Parámetros de ECG que aumentaron con el aumento del número de componentes del síndrome metabólico. B) Parámetros de ECG que disminuyeron con el aumento del número de componentes del síndrome metabólico. Figura tomada y traducida de Elffers *et al.*, 2017.

Estudios en población obesa identifican como cambios más frecuentes anomalías en la onda T, la desviación a la izquierda del eje eléctrico cardiaco y caídas de voltaje del complejo QRS (Fraley *et al.*, 2005; Kosar *et al.*, 2008). También se ha observado un incremento de la duración de la onda P y su dispersión, cambios relacionados la prolongación de la duración de la conducción,

dilatación e incremento de la presión auricular izquierda. Es importante remarcar que el tono autonómico en esta población es anormal y de predominio simpático, lo que puede inducir cambios en la velocidad de propagación del impulso y afectar al intervalo PQ, incrementando así el riesgo de arritmias como la fibrilación auricular (Kosar *et al.*, 2008).

Además, la diabetes mellitus (tipo 1 y 2) también se relaciona con alteraciones en el electrocardiograma, como la prolongación del intervalo QT y aumento de su dispersión (Christensen *et al.*, 2000). Dicha prolongación del intervalo QT se asocia con una predisposición a la muerte súbita cardíaca, considerándose por tanto arritmogénico dicho cambio (Rossing *et al.*, 2001). Sin embargo, se desconoce por qué en individuos con diabetes la prevalencia de un intervalo QT prolongado es mayor, aunque podría estar asociado con anomalías eléctricas que podrían derivar de la isquemia miocárdica, del remodelado ventricular o de la neuropatía diabética (Christensen *et al.*, 2000).

La obesidad se relaciona con alteraciones en las propiedades eléctricas de los cardiomiocitos, como puede ser la alteración en la repolarización, que se manifiesta por una prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma. Se asocia también con otras anomalías en el electrocardiograma como el incremento de la dispersión del intervalo QT y una mayor incidencia de complejos ventriculares prematuros, tal y como hemos mencionado anteriormente.

1. Introducción

En su conjunto, los cambios estructurales y eléctricos observados en el SM pueden constituir un sustrato potencial para el desencadenamiento de arritmias ventriculares letales. Sin embargo, los mecanismos que subyacen al incremento del riesgo de arritmias y muerte súbita cardíaca asociada al aumento del peso corporal siguen sin estar del todo dilucidados (Zarzoso *et al.*, 2014).

La principal causa de muerte súbita cardíaca es la fibrilación ventricular (Jalife, 2016). Son numerosos los estudios que sugieren que aquellos sujetos que presentan alteraciones metabólicas tienen una mayor predisposición a sufrir muerte súbita cardíaca, siendo su incidencia el doble que la de la población normal y el triple en presencia de diabetes (Hookana *et al.*, 2011). Cabe destacar, además, que hay estudios en los que se ha evidenciado un incremento del riesgo de muerte súbita cardíaca mayor que el incremento del riesgo de sufrir un infarto de miocardio, sugiriendo que las complicaciones relacionadas con eventos arrítmicos incrementan con respecto a las complicaciones coronarias en sujetos que presentan obesidad y diabetes (Hookana *et al.*, 2011).

La fibrilación ventricular es un tipo de arritmia que se inicia tras una activación cardíaca extrema, incrementando de manera exagerada la frecuencia cardíaca, y donde la secuencia de activación del músculo cardíaco no sigue la secuencia normal de contracción, sino que las ondas eléctricas se comportan de manera turbulenta y desordenada. Debido a este comportamiento de la actividad eléctrica, se reduce la capacidad de contracción, esto es, de bombeo cardíaco,

por lo que la presión arterial disminuye drásticamente, cesa de manera significativa el flujo sanguíneo cerebral y se produce la pérdida de conocimiento. Este proceso puede revertirse mediante la aplicación de una descarga eléctrica (desfibrilación) que restablece el comportamiento eléctrico del tejido ventricular. Si no se aplica dicha descarga eléctrica, es cuando se produce la muerte del individuo (Jalife, 2016 y Fernández-Lozano *et al.*, 2018).

Por otro lado, existen varias líneas de evidencia en las que el depósito anormal de lípidos en los cardiomiocitos juega un importante papel fisiopatológico (Huang *et al.*, 2013). En condiciones fisiológicas en el corazón los AGL en suero pueden variar entre 0,2 y 0,8 mM. Sin embargo, como resultado de un incremento de los depósitos de adipocitos que se produce en la obesidad, los AGL pueden llegar a incrementar en más de 1 mM. Estos niveles tan elevados de AGL pueden generar en pacientes obesos sobrecarga del miocardio, miocardiopatía lipotóxica, disfunción de los canales iónicos y arritmias (Aromolaran *et al.*, 2016). De hecho, Morrow *et al.* (2011) observaron un fenotipo arritmogénico en un modelo transgénico de cardiomiopatía lipotóxica en ratón, en el que evidenciaron una alteración de la repolarización debido a una disminución en los niveles de proteínas del canal de potasio, dando lugar a taquicardia ventricular y muerte súbita cardíaca (Morrow *et al.*, 2011).

1. Introducción

Si bien se han logrado avances en la comprensión de la etiología y las consecuencias de este complejo trastorno, los mecanismos fisiopatológicos subyacentes siguen sin comprenderse completamente y no está del todo claro cómo estos factores de riesgo concurrentes actúan en conjunto para producir la variedad de enfermedades cardiovasculares adversas asociadas a la obesidad (Tune *et al.*, 2018).

Se ha sugerido también que el SM puede deteriorar la función cardíaca y aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular y la mortalidad más que las diferentes manifestaciones de la enfermedad por separado (Schillacci *et al.* 2004; Cuspidi *et al.* 2008; Mottillo *et al.* 2010). Sin embargo, los efectos que la combinación de dichos factores tiene sobre el remodelado eléctrico cardíaco, en la actualidad, no son del todo conocidos.

1.3. Resumen de la justificación de los objetivos e hipótesis

El SM es capaz de producir un remodelado cardíaco patológico, resultado de la adaptación morfológica del músculo cardíaco en respuesta a los cambios funcionales que suponen ciertas condiciones como la obesidad, entre otros componentes del SM. En individuos con SM es común la progresión hacia el fallo cardíaco, siendo resultado de los cambios estructurales (hipertrofia ventricular concéntrica), funcionales (alteraciones en el llenado ventricular y en la diástole) y eléctricos del miocardio (alteraciones del intervalo QT, entre otras). En conjunto, estos cambios estructurales y eléctricos en el

corazón podrían constituir un sustrato potencial para el desarrollo de arritmias ventriculares letales causantes de la muerte súbita cardiaca, pero los mecanismos subyacentes no son del todo conocidos. Se deben buscar los orígenes de la actividad arrítmica y fibrilatoria en los cambios de las propiedades activas y pasivas del tejido miocárdico que producen una formación del impulso y/o propagación anormales. Dichos cambios están generalmente causados tanto por una integridad comprometida del tejido (por ejemplo, el aumento de la fibrosis miocárdica), como por la disfunción de los canales iónicos cardíacos, que alteran las propiedades electrofisiológicas del tejido miocárdico (Nattel 2002; Jalife 2011).

Además, es importante destacar que las complicaciones relacionadas con eventos arrítmicos no isquémicos incrementan con respecto a las complicaciones coronarias en personas obesas y diabéticas, sugiriendo la importancia del remodelo estructural y/o electrofisiológico en pacientes que presentan SM. Sin embargo, a día de hoy, el sustrato arrítmico implicado en los procesos de instauración y mantenimiento de la actividad fibrilatoria en sujetos con SM se desconoce (Balkau., 2005; Zarzoso *et al.*, 2014; Jalife, 2016).

Es por ello, que en la presente tesis doctoral se ha investigado el remodelado estructural, funcional y eléctrico que el SM produce en el corazón y su potencial arritmogénico, por un lado, para ampliar el conocimiento sobre qué es lo que sucede y cuáles son las consecuencias a nivel cardíaco de esta patología y, por otro lado, para

1. Introducción

poder buscar y diseñar terapias que intenten actuar sobre dichas alteraciones e incluso identificar marcadores de uso clínico y pre-clínico asociados al riesgo de desarrollar fenómenos arritmogénicos y de afectación cardiovascular.

Nuestra hipótesis de trabajo es que el SM opera, por un lado, sobre la integridad del tejido cardíaco produciendo una hipertrofia ventricular concéntrica e incremento de la fibrosis miocárdica y, por otro, sobre las propiedades electrofisiológicas cardíacas a través de cambios en la velocidad de conducción, los patrones de transmisión del impulso eléctrico cardíaco y la refractariedad miocárdicas, provocando un remodelado eléctrico anormal que constituye un sustrato arritmogénico favorecedor del desencadenamiento, instauración y mantenimiento de arritmias ventriculares y fibrilación ventricular.

1.4. Plan de trabajo

Para comprobar la hipótesis se ha planteado el siguiente plan de trabajo:

Desarrollar un modelo de síndrome metabólico en conejos mediante la administración de una dieta alta en grasas y azúcares durante 28 semanas, durante las cuales se realizan las diferentes pruebas *in vivo* para la caracterización del modelo experimental. Al cabo de las 28 semanas, se realiza un estudio electrofisiológico a través del mapeo óptico epicárdico en corazón aislado y perfundido para analizar las principales propiedades electrofisiológicas del miocardio ventricular. Finalizadas las determinaciones y obtenidos los

1. Introducción

correspondientes resultados en los grupos de estudio control y SM, se aplican los test de inferencia estadística correspondientes.

Capítulo 2

MATERIAL Y MÉTODOS

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Animales de experimentación

En el presente estudio se utilizaron 31 conejos macho (*Oryctolagus cuniculus*) de raza blanca Nueva Zelanda en edad adulta. Al inicio del protocolo experimental los animales tenían entre 16 y 18 semanas de edad, con un peso de $4,55 \pm 0,18$ Kg. Los animales fueron adquiridos de la granja San Bernardo S.L. (Navarra-España), empresa registrada como centro de cría y suministrador de animales de laboratorio. Se alojaron en *racks* de jaulas individuales (figura 2.1) en el animalario de la Unidad Central de Investigación en Medicina (UCIM) de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia, en una habitación bajo condiciones controladas y constantes de temperatura ($20 \pm 1,5$ °C), humedad relativa (50 ± 5 %) y ciclos de luz artificial-oscuridad de 12 h.



2. Material y métodos

Figura 2. 1. Rack de jaulas individuales para la estabulación de los animales

2.1.2. Dieta

Los animales fueron alimentados con un pienso estándar para conejos (V2333-000, Ssniff, Soest, Alemania) y con un pienso alto en grasas compuesto por un 10% de aceite de coco hidrogenado y manteca de cerdo al 5% (S9052-E020, Ssniff, Soest, Alemania, figura 2.2).



Figura 2. 2. Ejemplo de los diferentes tipos de pienso. En la parte superior se muestra la dieta control y en la inferior la dieta experimental alta en grasas.

En la tabla 2.1 pueden observarse con más detalle la composición y valor calórico de los diferentes componentes de la dieta empleada en el presente estudio.

2. Material y métodos

Alimento	Calorías (Kcal)	Carbohidratos	Proteínas	Grasas
Pienso estándar (V2333-000)	2,7	65,50%	23,40%	11,10%
Pienso alto en grasas (S9052-E020)	3,7	41,20%	15,70%	43,10%
Solución con sacarosa (S0389) 15%	0,5	100%	0%	0%

Tabla 2. 1. Alimentos, valor calórico y composición de los distintos componentes de la dieta de los animales utilizados en el estudio. Estos valores corresponden a 100 g de pienso y 100 ml de solución con sacarosa.

Respecto a la bebida, se administró *ad libitum* una solución con sacarosa (S0389, Sigma-Aldrich) al 15% y agua en el grupo experimental SM. Para su preparación se utilizó una solución madre con sacarosa al 60 % lo cual facilitaba su elaboración y posterior distribución en los dispensadores de agua. En la figura 2.3 se muestra la preparación de dicha solución.

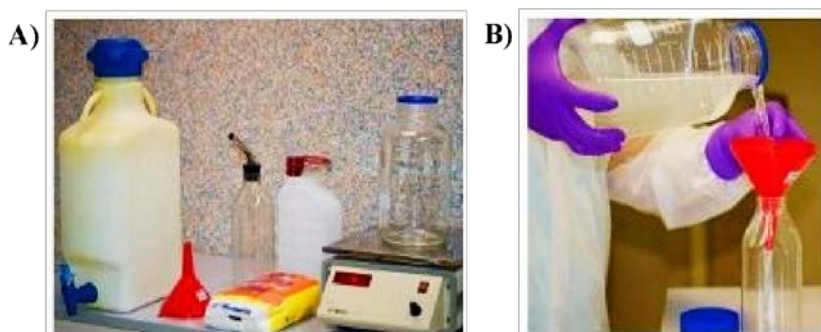


Figura 2. 3. Bebida con sacarosa. (A) Materiales necesarios para la preparación de la solución con sacarosa. (B) Llenado del dispensador de agua con la solución madre de sacarosa.

2. Material y métodos

2.1.3. Reactivos

2.1.3.1. Estudio “in vivo”

Los reactivos empleados para la realización de los diferentes protocolos experimentales detallados en el apartado 2.2.2 son los siguientes:

- Anestésico local: Lidocaína 25 mg/g + Prilocaína 25 mg/g - EMLA[®] crema (Aspen Pharmacare España).
- Propofol: Propofol Lipuro[®] 10 mg/ml vial de 20 ml (B.Braun).
- Isoflurano: IsoFlo[®] 100% (Zoetis).
- Pentobarbital sódico: Dolethal 200 mg/ml vial de 200 ml (Vétoquinol).
- Suero fisiológico: FisioVet[®] NaCl 0,9% de 500 ml (B.Braun).
- Thrombocid 1 mg/g (Lacer S.A.).
- Gel oftálmico, Carbómero 0,2 % p/p: Xilin gel (Nicox).
- Antiséptico: Povidona Yodada 10% 905-1295 (Henry Schein).
- Mascarilla de anestesia: ST2 59-8202 (Harvard Apparatus).
- Electrodo para ECG desechable: Ambu[®] WhiteSensor 4500M-H (Ambu).
- Gel de contacto para electrodos (Henry Schein).
- Gel de ultrasonidos (Henry Schein).
- Llave de tres vías (Henry Schein).

2. Material y métodos

- Tubo de extensión para equipos de infusión (Henry Schein).
- Esparadrapo: Askina[®] Film Vet 1,25 y 2,50 cm x 5m (B.Braun).
- Jeringa de dos cuerpos: Jeringa Injekt[®] de 10 y 20 ml (B.Braun).
- Catéter intravenoso: Introcan[®] Certo 18G Verde, 20G Rosa, 22G Azul (B.Braun).
- Aguja hipodérmica: Sterican[®] 21G Verde (B.Braun).
- Compresas de gasa estéril: Askina[®] Mullkompressen de 7,5 x 7,5 cm (B.Braun).
- Empapadores: Núcleo absorbente de celulosa 60 x 90 cm (Henry Schein).
- Tiras reactivas glucosa: Contour[®] Next test strips (Bayer).
- Dispositivo de punción: Microlet[®] Next (Bayer).
- Lanceta: Microlet[®] Lancet (Bayer).
- Tubo para extracción de sangre: 4 ml - K2 EDTA 7,2 mg - BD Vacutainer[®] (BD).
- Rack para conejo: Sistema de 6 jaulas individuales para conejos de más de 5 Kg con comedero y botella de bebida (Sodispan Research).
- Cepo para conejos en polipropileno: Referencia 3045601 - ZOONLAB[®].
- Cuencos de acero inoxidable: 20 y 24 cm de diámetro – ZWILLING.

2. Material y métodos

- Pala para pienso de aluminio: Referencia 10308 - COPELE®.
- Colador de acero inoxidable: 20 cm de diámetro - ZWILLING.
- Embudo de boquilla ancha: 200 mm de diámetro y boquilla cónica de 28 mm - BT-Ingenieros®.
- Cinta ergonómica para medir circunferencias: Referencia 201 - SECA®.
- Enriquecimiento ambiental: Aspen Bricks CS3C10 (Sodispan Research S.L.).
- Tiopental sódico: Tiobarbital 1g vial de 20 ml Braun (B.Braun).
- Heparina: Heparina sódica 25.000 UI/ml (Laboratorios farmacéuticos ROVI, S.A.).
- Palomilla de infusión 21G Verde (Henry Schein).

2.1.3.2. Estudio “in vitro” en corazón aislado

- Solución de Tyrode:
 - Glucosa: D (+)-Glucose anhydrous (USP, BP, Ph. Eur.) pure, pharma grade (AppliChem Panreac ITW Companies).
 - NaH₂CO₃: Sodium Hydrogen Carbonate for analysis, ACS, ISO (AppliChem Panreac ITW Companies).
 - NaCl: Sodium Chloride for analysis, ACS, ISO (AppliChem Panreac ITW Companies).

2. Material y métodos

- CaCl_2 : Calcium Chloride 2-hydrate powder for analysis, ACS (AppliChem Panreac ITW Companies).
- MgCl_2 : Magnesium chloride hexahydrate (VWR Chemicals).
- KCl : Potassium Chloride PA-ACS-ISO (AppliChem Panreac ITW Companies).
- NaH_2PO_4 : Sodium di-Hydrogen Phosphate 1-hydrate (Reag.Ph.Eur.) for analysis, ACS (AppliChem Panreac ITW Companies).
- El agua destilada utilizada para las distintas soluciones preparadas se obtiene de un sistema de destilación de agua Millipore (Billerica, MA, E.E.U.U).
- Bala de carbógeno: mezcla de 95% O_2 y 5% CO_2 (Praxair España S.L.: Nippon Gases España, S.L.U.).
- Pipeta: 100 - 1.000 uL Eppendorf Reference[®] 2 (EU-IVD).
- Tubo de microcentrífuga: 0,5 ml - Eppendorf Safe-Lock, Eppendorf Quality[™].
- Formaldehído 4% estabilizado, buffered (pH 7,0 $\pm$ 0,2) (VWR Chemicals).
- Tinte potenciométrico para el mapeo óptico de voltaje: Di-4-ANEPPS - D8064 (University of Connecticut Health Center, USA).

2. Material y métodos

- Desacoplante electromecánico: Blebbistatin - B0560 (Sigma-Aldrich).
- Jeringa Hamilton 250 uL (HAMILTON®).
- Filtro de 5 micras (Millipore, Billerica, MA, EE.UU.).

2.1.4. Aparatos

2.1.4.1. Aparatos para la realización de los procedimientos “in vivo”

Para los procedimientos in vivo, que comprendían los estudios electrocardiográficos, ecocardiográficos, de registro invasivo de presión arterial y el test de tolerancia a la glucosa, se utilizaron los siguientes aparatos:

Estudio electrocardiográfico y ecocardiográfico:

- Sistema de anestesia con isoflurano: ST2 72-6467 (Pan lab, S.L. / Harvard Apparatus Spain), utilizado para la anestesia inhalatoria mediante mascarilla facial.
- Cortapelos para animales 0,25 mm: ST2 34-0207 Oster® Golden A5® (Pan lab, S.L. / Harvard Apparatus Spain), utilizado para la preparación del campo mediante rasurado del pelo.
- Almohadilla térmica 33 x 58,5 cm: ST2 72-0493 (Pan lab, S.L. / Harvard Apparatus Spain), utilizado para mantener la temperatura corporal durante la anestesia.

2. Material y métodos

- Lámpara de infrarrojos: 920-5189 Bombilla de 275W (Covetrus), utilizado para la termorregulación intra-procedimientos.
- Ecógrafo Vivid S5 (GE Healthcare), utilizado para el estudio funcional cardíaco.
- Transductor para ultrasonidos 10S-RS (GE Healthcare): Frecuencia 4.5 - 11.5 MHz, dispositivo utilizado para la captura de imágenes del corazón.

Test de tolerancia a la glucosa:

- Bascula de pesaje veterinario: Referencia 7858 (SOEHNLE®), utilizado para el control del peso corporal durante el protocolo experimental.
- Glucómetro: Contour® Next meter (Bayer), utilizado para medir la glucosa en sangre capilar.
- Centrífuga refrigerada: SIGMA 2-16KL (SciQuip), utilizada para la sedimentación, separando el plasma y el suero sanguíneo.

Registro invasivo de presión arterial:

- Transductor de presión arterial: MA1 72-4497 (Harvard Apparatus), utilizado para la monitorización invasiva y continua de la presión arterial
- Amplificador o Hardware de adquisición de datos: PowerLab 2/26 (AD Instruments), utilizado para la adquisición de datos.

2. Material y métodos

- Amplificador biológico diferencial de alto rendimiento: Animal Bio Amp (AD Instruments), utilizado para medir diferentes tipos de señales biológicas (ECG, presión arterial...) con diferentes opciones de adquisición y filtrado de la señal.

2.1.4.2. Aparatos para la realización de los procedimientos “*in vitro*”

Para los procedimientos *in vitro*, que comprendían el estudio de mapeo óptico epicárdico y el estudio anatomopatológico, se utilizaron los siguientes aparatos:

- Sistema de soporte metabólico para corazón aislado: Sistema de perfusión retrograda tipo Langendorff, utilizado para perfundir de forma retrógrada las arterias coronarias de modo que perfunde la masa ventricular.
- Bomba peristáltica: Referencia BT100-2J (LongerPump®), utilizada para el desplazamiento de los fluidos.
- Baño termostático circulante: Anova C6 – 547902 (Anova Industries, Inc.), utilizado para mantener una temperatura constante en el sistema.
- Balanza verificada serie PCE-ESM (CLASE III): PCE Ibérica S.L, utilizada para el pesaje de reactivos.

Sistema de mapeo óptico epicárdico:

- Cámaras Evolve[®] 128 EMCCD (Photometrics[®]), Cámara con sistema CCD multiplicador de electrones con extrema sensibilidad para baja luz y elevada frecuencia de muestreo.
- Filtros ópticos paso bajo (590 ± 15 nm) y paso alto (>700 nm) (Thorlabs, Newton, Nueva Jersey), utilizados para transmitir una banda de luz de longitud de onda bien definida.
- Emisores de luz LED para la iluminación. Dos fuentes de iluminación LED se ubicaron a ambos lados de las cámaras, orientados hacia el corazón, para iluminar las aurículas y ventrículos tras la infusión del tinte potenciométrico sensible a voltaje. Cada fuente de luz contaba con su correspondiente filtro de excitación (619-631 nm).
- Estimulador Grass S88[®] (Grass Instruments[®], Inc., Quincy, M.A., U.S.A.) provisto de una unidad de aislamiento de estímulo (SIU5), permite emitir pulsos rectangulares de corriente, con un amplio rango de duraciones, pudiendo controlar parámetros tales como frecuencia de estimulación, intensidad y tiempo de duración del estímulo.
- Electrodo bipolares de acero inoxidable para la estimulación eléctrica miocárdica ventricular. Tienen un diámetro de 0,125 mm y una separación interelectrodo de 1 mm.

2. Material y métodos

- Electrodo bipolar de plata cloruro de plata para el registro del auriculograma. Con un diámetro de 0,5 mm y una separación entre electrodos de 1 mm.
- Electrodo bipolar de registro ventricular

Estudio anatomopatológico:

- Microscopio óptico con luz polarizada: Leica DMD 108 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania).

2.1.5. Programas informáticos

- Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Rockville, MD, EE. UU.), utilizado para la medición y recuento de los datos del estudio.
- MATLAB R2020a (MathWorks), es un *software* que ofrece un entorno de desarrollo integrado con un lenguaje de programación propio, sobre el que se desarrollan los códigos necesarios para el tratamiento de los datos del estudio.
- LabChart vers.6 (AD Instruments), para el registro y análisis de datos fisiológicos que permite adquirir señales y cuantificar señales biológicas.
- PClamp 10.2 (Molecular Devices), es un *software* de monitorización y registro de datos electrofisiológicos que permite adquirir señales y cuantificarlas.

- IBM SPSS® Statistics 25, utilizado para el análisis de los datos del estudio.
- Microsoft Office 2019, utilizado para la recogida de datos y la realización del presente manuscrito.

2.2. Métodos

2.2.1. Grupos de estudio

Los animales fueron asignados aleatoriamente en dos grupos experimentales: el grupo control, formado por 15 animales y el grupo al que se le administró la dieta alta en grasas y azúcares al que denominaremos síndrome metabólico (SM), formado por 16 animales.

2.2.2. Estudio “in vivo”

2.2.2.1. Monitorización diaria de la ingesta y pesaje

Los animales fueron sometidos a 4 semanas de aclimatación previa al inicio del protocolo de aplicación de la dieta experimental. El grupo control fue alimentado con una dieta estándar a razón de 120 g/día y agua *ad libitum*, manteniendo el mismo régimen dietético durante todo el estudio. Dicho régimen ha demostrado ser el apropiado para el mantenimiento de un animal adulto (Carroll *et al.*, 1996).

El grupo SM fue alimentado *ad libitum* durante 28 semanas (tras las 4 semanas de aclimatación) con una dieta alta en grasas y una solución con un 15% de sacarosa. Durante el periodo de

2. Material y métodos

aclimatación a la dieta alta en grasas y azúcares, se comenzó con un 50% de dieta estándar y un 50% de dieta alta en grasa, aumentando progresivamente hasta el 100% de dieta alta en grasa al final del periodo de aclimatación. Respecto a los azúcares se procedió de igual manera, iniciando con una disolución de sacarosa al 5% y aumentando hasta el 15%. Los detalles de la progresión realizada durante la aclimatación al régimen dietético pueden observarse en la tabla 2.2.

Aclimatación	Pienso estándar (V2333-000)	Pienso alto en grasas (S9052-E020)	Solución con sacarosa (S0389)
Semana 1	35%	65%	5%
Semana 2	25%	75%	9%
Semana 3	15%	85%	12%
Semana 4	0%	100%	15%

Tabla 2. 2. Composición dietas. Detalle de la composición de las dietas utilizadas (pienso y bebida) en las diferentes semanas de aclimatación. Estos valores corresponden a 100 g de pienso y 100 ml de solución con sacarosa.

La ingesta de los alimentos se registró diariamente y se calculó a partir de la diferencia del peso del pienso ingerido y del volumen de la solución de bebida consumida. El valor calórico diario se calculó según los valores proporcionados en la tabla 2.1.

2.2.2.2. Variables morfológicas

Las variables morfológicas utilizadas fueron: el peso, la talla, la longitud corporal, la longitud tibial, la circunferencia abdominal, la relación circunferencia abdominal / longitud corporal y el índice de

2. Material y métodos

masa corporal (IMC), definido como el cociente entre el peso y el producto de la altura por la longitud (Nelson *et al.*, 1990). Se utilizó la cinta métrica y la balanza para la obtención de las variables corporales antes de la administración de la dieta experimental y en las semanas 14 y 28. En la figura 2.4 se muestra la determinación del IMC.



Figura 2. 4. Determinación de algunas variables morfológicas en el animal anestesiado.

2.2.2.3. Glucemia y test de tolerancia a la glucosa

Las determinaciones de la glucosa en ayunas se realizaron antes de la administración de la dieta, en la semana 14 y en la semana 28 al finalizar el protocolo de administración de la dieta experimental. Los animales fueron puestos en ayunas durante 7 horas, posteriormente fueron inmovilizados en un cepo y se procedió a localizar la vena marginal de la oreja. Una vez ubicada y mediante un pinchazo con una lanceta se obtuvo la muestra de sangre para el medidor de glucosa. En la figura 2.5 se muestran los materiales utilizados para la determinación de la glucemia en ayunas.

2. Material y métodos



Figura 2. 5. Materiales empleados para la determinación de la glucosa en sangre.

Para la evaluación del metabolismo de la glucosa, se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa (TTG), siguiendo un protocolo similar al descrito previamente para la determinación de la glucemia en ayunas. Una vez canulada la vena marginal se administró por ésta un bolo de solución de glucosa al 60% (0,6 g/Kg), se tomaron muestras de sangre antes y en diferentes momentos después de la administración de la glucosa intravenosa (15, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos). La glucosa en sangre se midió con un medidor de glucosa. Se calculó el área bajo la curva (AUC) multiplicando la altura media acumulada de glucosa (mg/dL) por el tiempo (horas) (Liu *et al.*,2005).

2.2.2.4. Presión arterial

Las determinaciones de la presión arterial se realizaron durante las semanas 14 y 28 de administración de la dieta. Los animales fueron inmovilizados en un cepo y, una vez localizada la arteria central de la oreja, se le aplicó un anestésico tópico tras lo cual

2. Material y métodos

se procedió a canular la arteria auricular (figura 2.6A). Posteriormente, durante un periodo de 30 minutos se aflojaron las sujeciones del cepo, dejando al animal en silencio para su estabilización. Finalizado este tiempo se conectó el catéter al transductor de presión ubicado a la altura del corazón del animal. La señal del transductor se amplificó y se envió a una unidad *Power Lab*.

Se registró en *Labchart* (AdInstruments) con una frecuencia de muestreo de 1 KHz (figura 2.6B). Se procedió al registro de la presión arterial durante 20 minutos de forma continua y se analizaron los últimos 5 minutos utilizando un *software* programado “ad hoc” para el proyecto, obteniendo así los valores de la presión arterial sistólica, diastólica y media (PAM). Para mantener un registro de la presión arterial libre de interferencias, debido a la coagulación sanguínea que se pueda formar en el catéter, se inyectó a través de la llave de tres vías un bolo de 1-2 ml de solución salina. En la figura 2.6 se muestra el procedimiento para la determinación de la presión arterial.

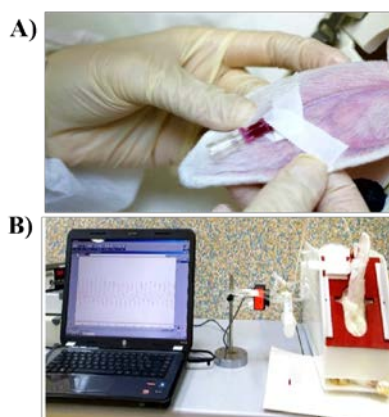


Figura 2. 6. Determinación de la presión arterial. (A) Canulación de la arteria central de la oreja. (B) Ejemplo de un registro de la presión arterial.

2. Material y métodos

2.2.2.5. Ecocardiografía

La determinación de los parámetros morfológicos del corazón correspondientes a la forma, el tamaño, la fuerza, el movimiento, el grosor de sus paredes y el funcionamiento de sus válvulas se realizó mediante ecocardiografía transtorácica. El estudio ecocardiográfico se realizó previamente a la administración de la dieta, y en las semanas 14 y 28. Se utilizó una frecuencia de 4.5 - 11.5 MHz, con los protocolos Doppler, modo M y 2D. Los parámetros analizados se distribuyeron en 4 bloques (hemodinámicos, función sistólica, función diastólica y parámetros morfológicos), tal y como puede verse resumido en la tabla 2.3.

2. Material y métodos

PARÁMETROS	
HEMODINÁMICOS	
FC (lpm)	Frecuencia cardiaca
VS (mL)	Volúmen sistólico: $VS = VDF - VSF$
GC (mL/min)	Gasto cardiaco= $VS \times FC$
FUNCIÓN SISTÓLICA	
FEVI (%)	Fracción de eyección del VI $(VDF - VSF/VDF) \times 101$
VDF (mL)	Volumen diastólico final $[7/ (2,4 + DdVI)] \times DdVI132$
VSF (mL)	Volumen sistólico final $[7/ (2,4 + DsVI)] \times DsVI132$
FA (%)	Fracción de acortamiento del VI $(DdVI - DsVI / DdVI) \times 100$
DdVI (mm)	Diámetro diastólico del VI
DsVI (mm)	Diámetro sistólico del VI
FUNCIÓN DIASTÓLICA	
Onda E (cm / seg)	Velocidad de llenado precoz
Onda A (cm / seg)	Velocidad de llenado tardío
Cociente E / A	Relación onda E / onda A
TRIV (ms)	Tiempo de relajación isovolumétrica
MORFOLÓGICOS	
SIVd (mm)	Grosor septo interventricular en diástole
SIVs (mm)	Grosor septo interventricular en sístole
PPVId (mm)	Grosor de la pared posterior VI en diástole
PPVIs (mm)	Grosor de la pared posterior VI en sístole
MVI (mg)	Masa del ventrículo izquierdo $1,053 \times [(DdVI + PPVId + SIVd)^3 - DdVId^3]$
MVI * Altura (g*m)	Masa del ventrículo izquierdo por altura
DAo (mm)	Diámetro de la Aorta
DPm (mm)	Diámetro de la Arteria Pulmonar
IVT aórtico	Integral de la velocidad del tracto
IVT pulmonar	Integral de la velocidad del tracto

Tabla 2. 3. Descripción de los parámetros ecocardiográficos.

2. Material y métodos

Los animales fueron inmovilizados en un cepo, se procedió a localizar la vena marginal de la oreja y una vez ubicada se canuló con una aguja estéril. Para la inducción anestésica se administró un bolo de Propofol 10 mg/kg y una vez sedado se procedió al rasurado del tórax. A continuación, mediante un sistema de isoflurano se mantuvo la anestesia inhalatoria con mascarilla facial durante el procedimiento. Al finalizar se realizó la reversión anestésica mediante la disrupción de ésta.

La pérdida de calor corporal debido al anestésico fue compensada mediante una unidad de calentamiento tipo manta térmica. Durante todo estudio ecocardiográfico el animal se mantuvo en una posición decúbito lateral. En la figura 2.7 se muestra un ejemplo del estudio ecocardiográfico realizado.

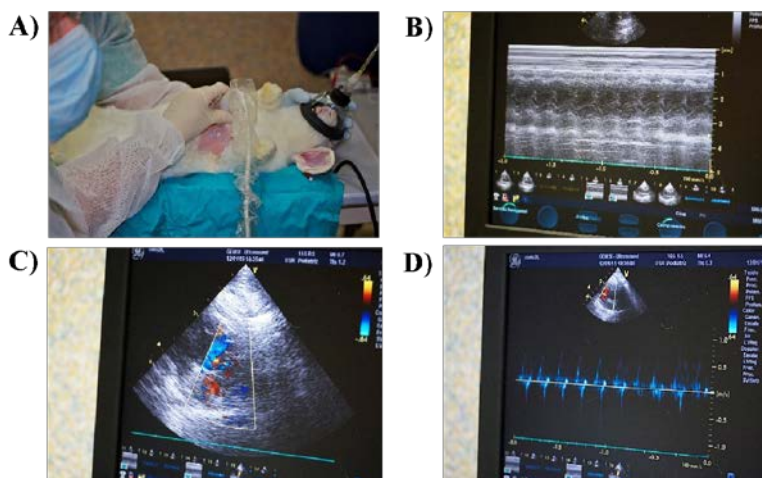


Figura 2. 7. Procedimiento ecocardiográfico. (A) Ejemplo de la posición decúbito lateral durante el estudio ecocardiográfico. (B) Captura en la que se muestra la adquisición en modo M. (C y D) Capturas en la que se muestra la adquisición en modo Doppler.

2.2.2.6. Electrocardiografía

Se realizaron registros de 15 minutos de la actividad eléctrica cardíaca en animal anestesiado mediante un electrocardiograma (ECG) ubicando el polo negativo en la pata delantera derecha, el polo positivo en la pata delantera izquierda y la toma de tierra en la pata trasera izquierda, conformando la derivación estándar bipolar D1 de Einthoven. En la figura 2.8B se muestra un ejemplo de la ubicación de los electrodos para el registro electrocardiográfico. Los electrodos estaban conectados a los amplificadores *Animal Bio Amp* y *PowerLab 2/26*. Se utilizó el programa *LabChart vers.6* para el almacenamiento de los registros. Para la realización del estudio electrocardiográfico se utilizó el mismo protocolo anestésico descrito en el apartado anterior (2.2.2.5.).

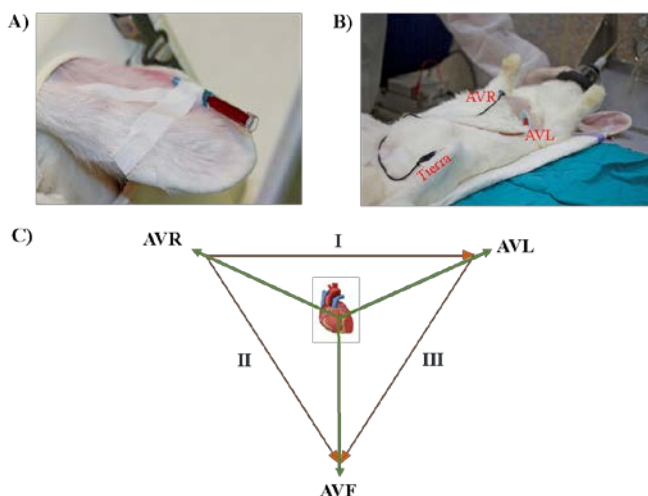


Figura 2. 8. Registro electrocardiográfico realizado. (A) Ejemplo de la canulación de la vena marginal de la oreja. (B) Disposición de los electrodos en derivación D1 para el estudio electrocardiográfico. (C) Esquema de las derivaciones bipolares del triángulo de Einthoven (I, II y III).

2. Material y métodos

Para el estudio electrocardiográfico se analizaron los siguientes parámetros estándar (figura 2.9):

- Intervalo R-R: Es la distancia entre dos ondas R, desde el inicio de una hasta el inicio de la siguiente.
- Intervalo QRS: Es el tiempo total de despolarización ventricular, desde el comienzo de la onda Q hasta el final de la onda S.
- Segmento QT: Representa el intervalo entre el comienzo de la activación ventricular y el final de la recuperación ventricular, se mide desde el inicio del complejo QRS hasta el final de la onda T. El intervalo QT corregido (QTc) se calculó de acuerdo con la fórmula: $QTc = QT - [0.175 \cdot (RR - 300)]$ descrita Carlsson *et al.* (1993) para conejo.
- Duración de la onda T: Representa la repolarización de los ventrículos, se mide desde el inicio de la onda T hasta el final de la onda T.

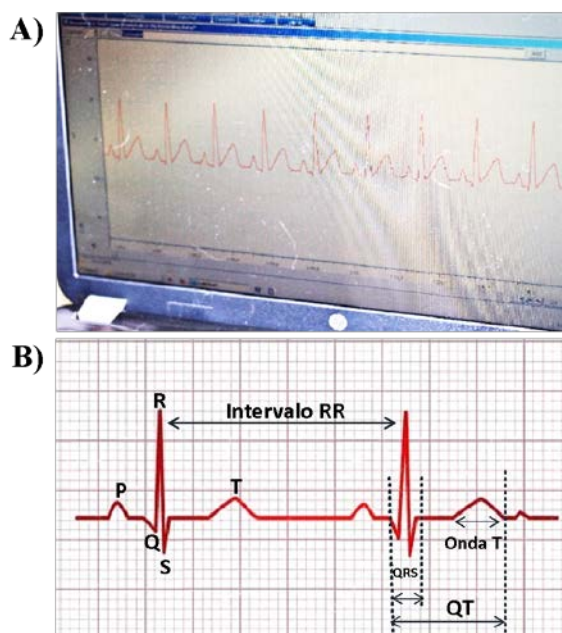


Figura 2. 9. Ejemplo de un registro electrocardiográfico. (A) Ejemplo de un registro electrocardiográfico obtenido mediante el programa PowerLab 2/26. (B) Detalle de los parámetros electrocardiográficos analizados sobre un trazado estándar en primera derivación D1.

Se realizaron registros de 15 minutos de duración y, mediante un programa realizado *ad hoc*, que permite la detección de los diferentes intervalos, se cuantificaron de manera automática los diferentes parámetros.

2.2.2.7. Muestras de sangre y determinación de metabolitos

Se tomaron muestras en las semanas 14 y 28, tras un periodo de ayuno de 7 horas. Los animales fueron inmovilizados en un cepo y se procedió a localizar la vena marginal de la oreja. Una vez ubicada se canuló con una aguja estéril. Las muestras se recolectaron a partir

2. Material y métodos

de la segunda gota de sangre desechando siempre la primera gota en tubos con EDTA, que posteriormente fueron almacenados a 4°C. Una vez recogidas las muestras, se centrifugaron durante 15 min a 4°C y 1500 G, obteniendo así alícuotas de plasma de 250 µL las cuales se almacenaron a -80°C.

El análisis lo llevó a cabo un laboratorio externo (Immunovet, Barcelona) mediante procedimientos enzimáticos estándar para los siguientes marcadores: triglicéridos, colesterol total, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), transaminasas, gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT), ácido biliar, bilirrubina, creatinina, urea, proteína total, albúmina, glucosa y creatina fosfoquinasa (CPK).

2.2.3. Estudio electrofisiológico “in vitro”

2.2.3.1. Preparación experimental

Una vez finalizadas las 28 semanas de administración de la dieta alta en grasas y azúcares, los animales fueron sacrificados mediante sobredosis de anestesia. Para ello, se inmovilizaron en un cepo y a través de la vena marginal de la oreja se administró un bolo eutanásico (tiopental sódico 60 mg/kg junto con heparina sódica 0,2 ml). Una vez sacrificado el animal se realizó una toracotomía medio esternal y una pericardiotomía tras la cual se extrajo el corazón, seccionándolo por su pedículo vascular y sumergiéndolo en una solución de Tirode frío (1-4 °C). A continuación, se seccionó la arteria pulmonar y se disecó la arteria aorta; a través de la cual se

2. Material y métodos

ubicó en un sistema de soporte metabólico de tipo Langendorff. Se fijó al sistema mediante un hilo de seda (1-2 mm de diámetro), una vez ubicado se perfundió retrógradamente con la solución de Tirode a $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una presión constante de 60 mmHg. Dicha solución contiene en concentración mM: 130 NaCl; 4,7 KCl; 2,2 CaCl_2 ; 0,6 MgCl_2 ; 24,2 NaH_2PO_4 ; y 12 glucosa. La oxigenación y soporte de pH (7,4) de la solución de Tirode se efectuó con carbógeno (95% O_2 y 5% CO_2). Una vez ubicado en el sistema, se procedió a eliminar los restos de los tejidos adyacentes (pericardio, pulmón, tráquea, etc.)

En un depósito exterior se oxigenó el líquido de perfusión, el cual fue impulsado por medio de una bomba peristáltica hasta la parte más elevada del sistema de Langendorff, que previamente ha de pasar por unos filtros para evitar el paso de partículas de excesivo tamaño que pudiesen obstruir los vasos coronarios. Una vez en el sistema y durante su descenso hacia el corazón, el líquido se calienta hasta alcanzar una temperatura de 37°C en la raíz de la aorta. Tras un periodo de estabilización de 15 minutos se ubicaron los electrodos de estimulación y registro, primero en la aurícula izquierda y posteriormente en el ventrículo izquierdo. También se ubicaron 4 luces LED y dos cámaras de alta velocidad enfocadas en ambos ventrículos para la realización de los experimentos de mapeo óptico epicárdico, tal y como puede observarse en la figura siguiente:

2. Material y métodos

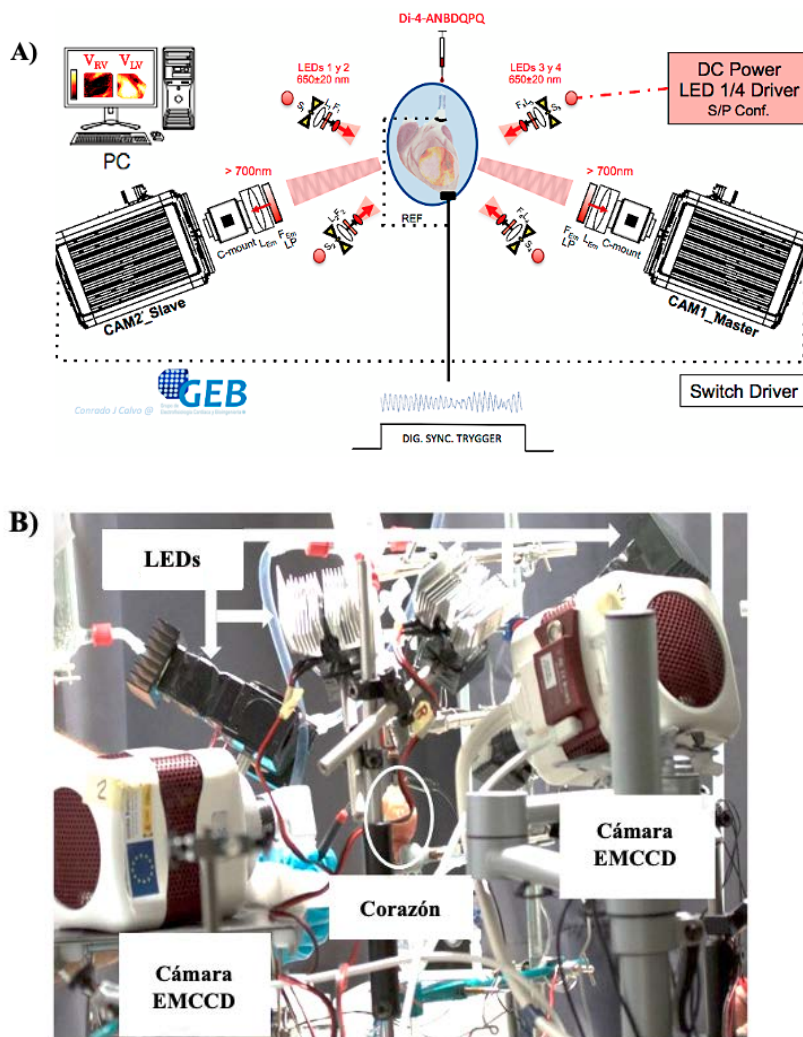


Figura 2. 10. Mapeo óptico epicárdico. (A) Esquema de la preparación experimental. (B) Montaje in situ del sistema de adquisición óptico.

2.2.3.2 Protocolo experimental

El protocolo experimental llevado a cabo fue el mismo para el grupo control y el grupo de animales con SM (figura 2.11). Tras un periodo de estabilización de 15 minutos se ubicaron los electrodos de estimulación y registro en la aurícula y el ventrículo izquierdo, las luces led y las cámaras de alta velocidad enfocadas a las regiones de interés en los ventrículos (ventrículo derecho, VD, y ventrículo izquierdo, VI). Se utilizó *blebbistatin* como desacoplante electromecánico y el tinte potenciométrico Di-4-ANBDQPPQ para registrar los cambios de voltaje. Se procedió a realizar una estimulación del ventrículo izquierdo a frecuencia fija, con una intensidad doble al umbral diastólico, utilizando diferentes frecuencias de estimulación (con una longitud de ciclo un 10% menor a la longitud de ciclo sinusal, con 250, 225, 200, 175 y 150 milisegundos), para registrar la duración del potencial de acción (DPA o APD, de sus siglas en inglés) óptico y la velocidad de conducción (VC) del impulso eléctrico en los ventrículos izquierdo y derecho.

Posteriormente, se realizó el test del extra-estímulo ventricular con diferentes longitudes de ciclo de estimulación para evaluar la refractariedad del ventrículo izquierdo, consistente en la aplicación de trenes de 10 estímulos a los que se les acopla un extra-estímulo que se va acortando a razón de 5 ms por tren. Tras la aplicación del test del extra-estímulo se procedió a la inducción de la fibrilación ventricular mediante estimulación a frecuencia creciente con una intensidad

2. Material y métodos

cuádruple del umbral diastólico. Se realizaron registros de la inducción, entrada en fibrilación ventricular y los 6 minutos posteriores de fibrilación mantenida. No se interrumpió la perfusión durante la arritmia.

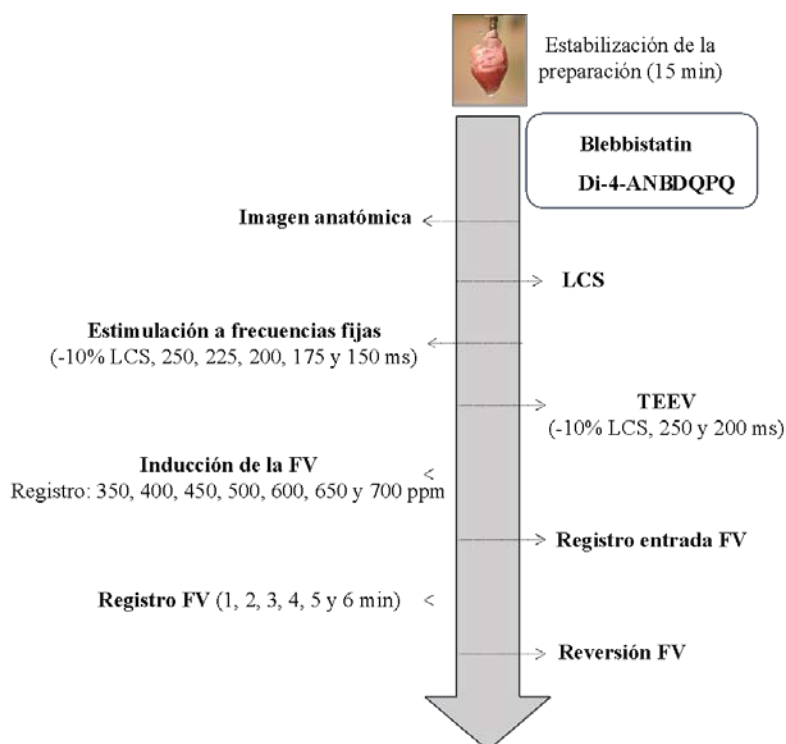


Figura 2. 11. Esquema del protocolo electrofisiológico realizado en el presente trabajo.

A continuación, se describirá de forma detallada cada una de las partes que componían el protocolo electrofisiológico utilizado:

2. Material y métodos

1. Imagen anatómica.
2. Ritmo sinusal - Determinación de la longitud de ciclo sinusal (LCS).
3. Determinación del umbral de estimulación ventricular (ventrículo izquierdo).
4. Estimulación a frecuencia fija (10% menor LCS).
5. Estimulación a frecuencia fija 4 Hz (250 ms).
6. Estimulación a frecuencia fija 4,4 Hz (225 ms).
7. Estimulación a frecuencia fija 5 Hz (200 ms).
8. Estimulación a frecuencia fija 5,7 Hz (175 ms).
9. Estimulación a frecuencia fija 6,7 Hz (150 ms).
10. Test del extra-estímulo ventricular (TEEV) un 10% menos que la LCS desde 170 ms.
11. TEEV con el ciclo base de 250 ms desde 170 ms.
12. Inducción de la fibrilación ventricular (FV) mediante estimulación a frecuencia creciente.
13. Registro de la inducción a 350, 400, 450, 500, 600, 650, 700 pulsos por minuto (ppm).
14. Registro entrada de la FV.
15. Registro minutos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 de la FV.
16. Reversión FV.

2. Material y métodos

2.2.3.2. Parámetros electrofisiológicos básicos:

Automatismo sinusal

El automatismo sinusal se determinó mediante la longitud de ciclo sinusal (intervalo V-V, figura 2.12) siendo el tiempo que existe entre una despolarización ventricular espontánea y la siguiente, expresando en milisegundos. Este parámetro tiene una relación inversa con la frecuencia cardíaca. Se comprobó que todos los registros analizados fueran realizados en ritmo sinusal.

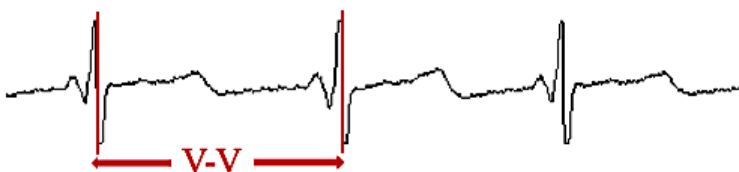


Figura 2. 12. Intervalo V-V. Determinación del intervalo V-V en un electrograma ventricular en ritmo sinusal registrado en un experimento del presente trabajo.

Conducción aurículo-ventricular

Se determinó la conducción aurículo-ventricular (intervalo A-V) como el tiempo que existe entre una despolarización auricular y la despolarización ventricular correspondiente, expresado en milisegundos (ms).

Refractariedad ventricular

La refractariedad hace referencia a una propiedad relacionada con un hecho característico de las células excitables consistente en que, una vez excitada la célula tras la aplicación de un estímulo, ésta no puede volverse a excitar durante un tiempo inmediatamente posterior a la aplicación del estímulo. Se determinó la refractariedad del miocardio ventricular mediante la aplicación del test del extra-estímulo ventricular (TEEV), a partir del cual se determinó el período refractario efectivo (PRE) y el período refractario funcional (PRF) del ventrículo izquierdo.

El TEEV consiste en la aplicación de un tren base de estímulos a una frecuencia fija y un extra-estímulo por tren cuyo intervalo de acoplamiento se va acortando periódicamente hasta conseguir que dicho extra-estímulo deje de originar una respuesta ventricular. Cada estímulo (St) se identifica por su correspondiente artefacto o espícula y a éste le sucede la despolarización que da lugar al correspondiente electrograma ventricular (V). Los extra-estímulos se aplican cada 10 estímulos del tren base como se observa en el registro de la figura 2.13. En el momento en el que el extra-estímulo coincide con el PRE deja de aparecer la respuesta ventricular:

2. Material y métodos

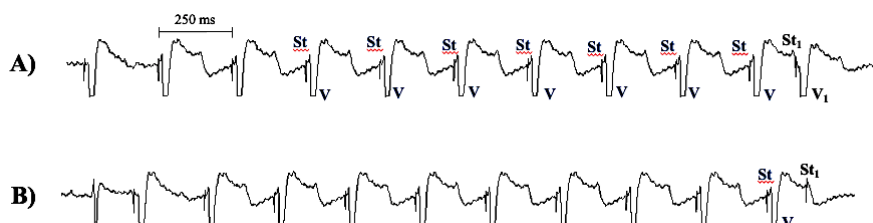


Figura 2. 13. Test del extraestímulo ventricular. (A) Electrograma ventricular registrado en un experimento durante el test del extraestímulo ventricular. St se corresponde con los estímulos consecutivos del tren base; V hace referencia a la respuesta ventricular provocada por el estímulo; St1 se corresponde con el extraestímulo y V1 se refiere a la respuesta ventricular producida por el extraestímulo. (B) Corresponde al tren de estimulación que sigue al presentado en A, en el que el acoplamiento del extraestímulo ya no genera respuesta ventricular. El ciclo base del tren mostrado en las figuras A y B es de 250 ms.

En el presente trabajo se realizó el test del extraestímulo con diferentes longitudes de ciclo de estimulación y estímulos con una intensidad doble al umbral diastólico y 2 ms de duración del pulso de corriente. Para ello, se utilizaron trenes de 10 estímulos a los que se iba acoplando un extraestímulo a razón de 5 ms por tren. Las longitudes de ciclo de estimulación de los diferentes trenes fueron de un 10% inferior a la longitud de ciclo sinusal espontánea, de 250, 225, 200, 175 y 150 ms para cada una de las determinaciones de refractariedad miocárdica estudiada.

Para evaluar la refractariedad miocárdica ventricular se determinaron los siguientes parámetros:

- Período refractario efectivo del ventrículo izquierdo (PREVI): es el máximo intervalo de acoplamiento del

extraestímulo ventricular (St-St1) sin captura ventricular (St1 sin V1) (figura 2.14A).

- Período refractario funcional del ventrículo izquierdo (PRFVI): es el mínimo intervalo de acoplamiento entre el electrograma ventricular producido por el último estímulo del tren base ventricular y el desencadenado con el extraestímulo (mínimo intervalo V-V1) (figura 2.14B).

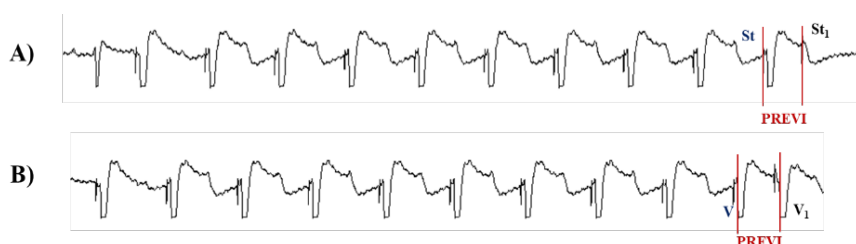


Figura 2. 14. Periodo refractario. (A) Medida del periodo refractario efectivo del ventrículo izquierdo (PREVI) y (B) medida del periodo refractario funcional del ventrículo izquierdo (PRFVI), determinados a partir de la aplicación del test del extraestímulo ventricular.

Duración del potencial de acción óptico

Los siguientes parámetros se determinaron tanto en el ventrículo izquierdo (VI) como en el ventrículo derecho (VD). La duración del potencial de acción óptico (DPA) se define como el intervalo de tiempo transcurrido entre el instante de máxima despolarización del miocardio y el retorno al estado de reposo, es decir, el final de la repolarización (figura 2.15A). Se calculó la DPA al 30, 50, 80 y 90 % de la repolarización (figura 2.15B). Las determinaciones se realizaron en cada una de las frecuencias de

2. Material y métodos

estimulación utilizadas (un 10% inferior a la longitud de ciclo sinusal, de 250, 225, 200, 175 y 150 ms).

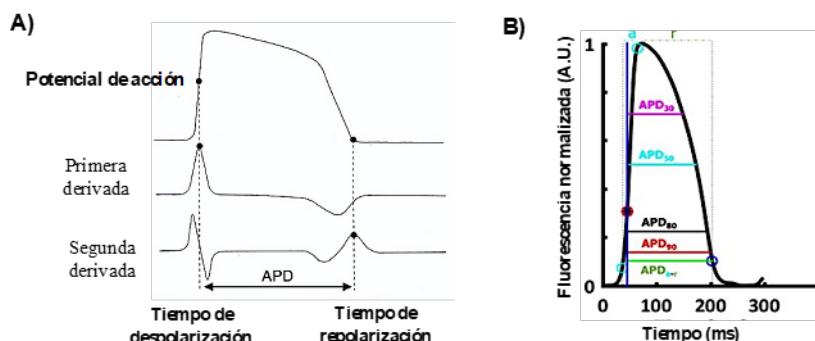


Figura 2. 15. DPA. Representación esquemática del intervalo de duración del potencial de acción (DPA). Figura tomada y modificada de Kenneth *et al.* (2001). **(B)** Ejemplo de los diferentes análisis de DPAs determinados en el presente trabajo.

Velocidad de despolarización

La despolarización máxima del potencial de acción está causada por el flujo de iones a través de canales específicos de sodio Na^+ sensibles a voltaje. La despolarización máxima, o pendiente máxima de despolarización en esta fase, se produce en el punto de mayor flujo de iones Na^+ , representando en parte la disponibilidad funcional de canales de sodio para la excitación. Se determina como la tasa de cambio máxima de voltaje por unidad de tiempo en la fase de despolarización del potencial de acción y establece la rapidez con la que la célula cardíaca se despolariza. Específicamente, en registros ópticos, la velocidad máxima de despolarización ($dVdt_{\text{max}}$ o $dFdt_{\text{max}}$), se obtuvo a partir del máximo en la primera derivada del transitorio

normalizado de fluorescencia proporcional al voltaje y correspondiente la fase 0 del potencial de acción (Laughner *et al.* 2012; O'Shea *et al.* 2019). En la figura 2.15 (A, B), se ilustra la correlación entre el máximo de la primera derivada del potencial de acción y el instante en la fase de despolarización donde esta se produce, y que sirve de referencia para la medición de otros parámetros electrofisiológicos.

Coefficiente de triangularización

El coeficiente de triangularización del potencial de acción se emplea como una medida de riesgo pro-arritmico obtenida a partir de medidas de activación-repolarización del potencial de acción (Hondeghem *et al.* 2001). A pesar de existir distintas definiciones, tradicionalmente, se ha determinado a partir de los cambios de pendiente en el potencial de acción sobre la fase 3, o fase de repolarización (Shah *et al.* 2005). Específicamente, se obtuvo en porcentaje, como la diferencia temporal entre los niveles 30% y 90% de repolarización desde la máxima despolarización, respecto a la duración del potencial de acción al 90% de repolarización.

Velocidad de conducción (VC)

Expresa la rapidez con la que se propaga la onda de despolarización a través del tejido miocárdico y se define de forma general como la distancia recorrida por la onda de despolarización a lo largo del miocardio ventricular en una dirección (expresada en cm) por unidad de tiempo. Específicamente, la velocidad de conducción

2. Material y métodos

local (VC), se obtuvo a partir de los mapas de tiempos de activación local para cada píxel como se ha descrito anteriormente (Campbell *et al.* 2012). Brevemente, la distribución local de tiempos de activación en cada vecindario 5x5, es ajustada a un plano, empleando resolución sub-píxel y ajuste por mínimos cuadrados, y los gradientes de activación locales en cada dirección (ejes x e y) son obtenidos determinando tanto la magnitud como direccionalidad (ángulo) de los vectores de velocidad de conducción obtenidos.

Longitud de onda del proceso de activación (LO)

La longitud de onda del proceso de activación miocárdico se define como la distancia recorrida por la onda de despolarización durante la duración de su período refractario. Representa, por tanto, la longitud que recorrerá la onda en el tiempo que tarda el tejido en volver a ser excitable. Se calculó como el producto de la duración del potencial de acción al 90% por la velocidad de conducción, como se ha descrito anteriormente (Lou *et al.* 2011).

$$LO = APD90 \times \text{Velocidad de conducción}$$

2.2.3.3. Estudio de las características de la fibrilación ventricular

El análisis de la fibrilación ventricular (FV) se efectuó manteniendo la perfusión coronaria, lo que permitió el mantenimiento de un estado metabólico adecuado durante el desarrollo de la arritmia. En los registros de FV se realizó un análisis de la fibrilación en el dominio de la frecuencia.

2. Material y métodos

La FV se indujo mediante la estimulación a frecuencias crecientes desde 4 Hz hasta su desencadenamiento. El incremento de la frecuencia fue de 2 pulsos por segundo cada 3 segundos y la intensidad de estimulación fue el cuádruple del umbral diastólico.

Análisis en el dominio de la frecuencia

La frecuencia dominante (FD) es la frecuencia que presenta el pico máximo en el espectro de potencia de la señal fibrilatoria. Tras la descomposición de la señal fibrilatoria ventricular mediante la transformada de Fourier en sus distintos armónicos, la frecuencia del armónico que presenta mayor amplitud es lo que denominamos frecuencia dominante. El concepto puede verse ilustrado en la figura 2.16.

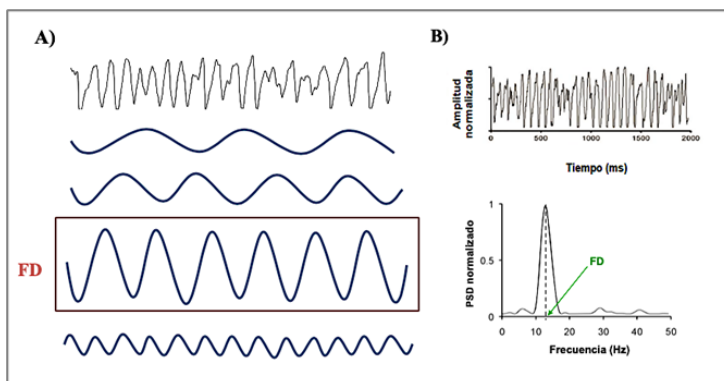


Figura 2. 16. Frecuencia dominante. A) Ejemplo de descomposición de la señal fibrilatoria en sus distintos armónicos mediante la transformada de Fourier, correspondiendo la de mayor amplitud a la FD. B) Señal temporal de un trazado fibrilatorio con su correspondiente espectro de potencia. Abreviaturas: PSD = densidad espectral de potencia; ms = milisegundos; Hz = hertzios; FD= frecuencia dominante (Genovés, 2021).

2. Material y métodos

La frecuencia dominante media se calculó para cada segmento (durante los 6 minutos de mantenimiento de la arritmia), utilizando el periodograma modificado de Welch para obtener el espectro de potencia de las señales registradas. El mencionado periodograma se calculó para segmentos de 4 segundos, fragmentado este intervalo en 8 segmentos con un solapamiento del 50%, aplicando la ventana de Hamming.

Análisis en el dominio del tiempo

Se analizó mediante la cuantificación del intervalo V-V promedio, midiendo el tiempo entre dos complejos ventriculares durante fibrilación ventricular. Para la obtención de los intervalos, se realizó una detección automática de los ciclos de activación de la señal fibrilatoria, que se basa en la identificación de los puntos con máxima pendiente negativa de los transitorios ópticos. El marcado se realizó a lo largo de intervalos de 10 segundos en cada uno de los instantes temporales después de iniciada la arritmia. Al proceder al análisis de la arritmia en el dominio del tiempo, se determinó la media de los intervalos V-V y cada uno de los instantes temporales determinados durante la FV.

Heterogeneidad electrofisiológica. Índice de regularidad (IR)

Uno de los mecanismos que facilita la inducción y perpetuación de la FV se asienta en la heterogeneidad electrofisiológica. El estudio de esta propiedad permite ampliar el conocimiento entorno a la precipitación de la arritmia en nuestro modelo experimental. La

heterogeneidad se ha evaluado mediante el análisis del coeficiente de variación de distintos parámetros electrofisiológicos y mediante el índice de regularidad.

El índice de regularidad (IR), es un parámetro que describe cómo se distribuyen las diferentes frecuencias de la FV alrededor de la frecuencia dominante. El IR se definió como la relación entre la potencia de la FD y la potencia total (Kalifa *et al.* 2006). La potencia de la FD se calculó sumando los valores de potencia en el pico más alto y sus valores adyacentes (banda fija de $\sim 0,50$ Hz), y la potencia total se calculó como la suma en el rango de 1 a 35 Hz.

2.2.4. Estudio histológico

Para el estudio de la esteatosis hepática no alcohólica se tomaron muestras de hígado de 5 animales (control $n = 3$, SM $n = 2$). Tras el sacrificio del animal, descrito en el apartado 2.2.3. en la preparación experimental, se obtuvieron las muestras de hígado y se sumergieron en una solución de formaldehído al 4%. Posteriormente las muestras se incluyeron en parafina y se seccionaron con un grosor de 5 μm . Para el estudio morfométrico se tiñeron con hematoxilina y eosina (HE). Se realizaron 5 fotos por cada animal en la zona de las venas centrales, mediante un microscopio DMD108 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) y con objetivo de 40x. Se cuantificaron mediante el programa Image-Pro-Plus 7.0, los siguientes parámetros: número de hepatocitos, área y número de hepatocitos con contenido de vacuola lipídica.

2. Material y métodos

2.2.5. Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizaron diversos tests estadísticos en función de las características de las variables analizadas. Previamente a la aplicación de los tests de estadística inferencial, se realizó un análisis exploratorio de los datos y las correspondientes pruebas de normalidad con el test de Shapiro-Wilk.

Por lo que respecta a las pruebas de estadística inferencial, se utilizaron la prueba t para muestras independientes y el ANOVA factorial mixto, en función del tipo de comparación. Se aplicó la corrección de Bonferroni para las comparaciones por parejas. Las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0,05$.

2.2.6. Legislación

El cuidado de los animales y los protocolos experimentales utilizados en este estudio cumplieron con la directiva de la UE 2010/63 y el RD 53/2013 sobre la protección de los animales utilizados con fines científicos, y fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Valencia (2015/VSC/PEA/00049).

Capítulo 3

RESULTADOS

3. Resultados

3. RESULTADOS

3.1. Caracterización del modelo experimental de síndrome metabólico

3.1.1. Ingesta

Los animales del grupo SM, transcurridas las 4 semanas de aclimatación, presentaron una buena adaptación a la dieta rica en grasas y sacarosa y no tuvo que excluirse ningún animal del estudio por el rechazo de la dieta. Durante las 28 semanas de administración de la dieta, la ingesta diaria fluctuó en los animales del grupo SM (entre 716 y 374 kcal/día) mientras que en el grupo control se mantuvo constante (322 kcal/día), tal y como puede observarse en la figura 3.1(A). En la figura 3.1(B), se muestra el valor medio de la ingesta durante las 28 semanas, obteniendo un 66,7 % más de kcal ingeridas en el grupo de SM respecto al grupo control (537 ± 41 vs. 322 ± 8 kcal/día, $p < 0,05$).

En la figura 3.1(C), se muestra en el grupo SM el aporte relativo de las diferentes fuentes de energía (pienso alto en grasas y solución con sacarosa). Se observó un cambio en el equilibrio del aporte calórico correspondiente a las kilocalorías aportadas por la solución con sacarosa hacia un aumento a las aportadas por el pienso alto en grasas alrededor de la semana 20.

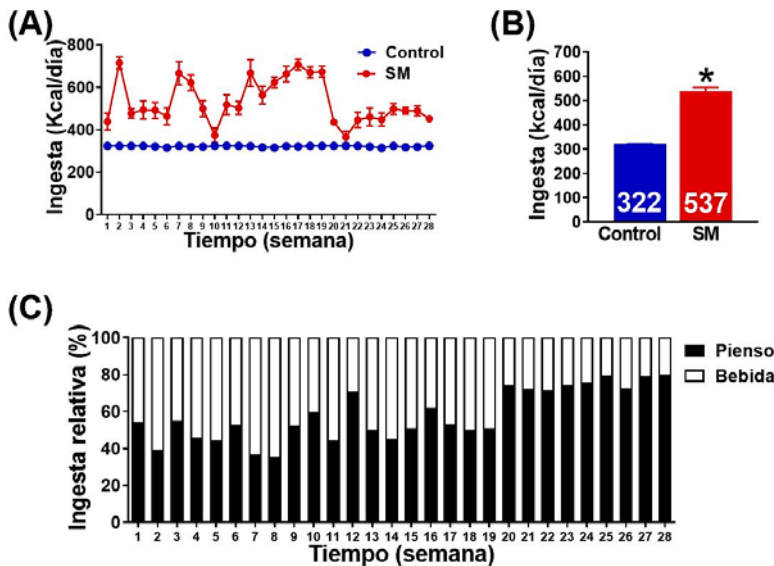


Figura 3. 1. Ingesta energética en los grupos experimentales. (A) Representación de la evolución de la ingesta semanal durante las 28 semanas del periodo experimental. (B) Ingesta calórica media. (C) Ingesta relativa en porcentaje de kcal del pienso alto en grasas y la solución con sacarosa. Grupo control (n=6) y SM (n=8), *p<0,05 vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.1.2. Peso de los animales

En la figura 3.2(A) se observa la evolución del peso en ambos grupos experimentales, evidenciando el grupo SM un aumento progresivo desde la primera semana de adaptación a la dieta hasta el final del protocolo experimental.

En la semana 14, los animales del grupo SM mostraron un incremento del peso corporal del 17,8% en comparación con el grupo control ($5,26 \pm 0,2$ vs. $4,5 \pm 0,2$ kg, $p < 0,05$). Al final del protocolo experimental, en la semana 28 dicho aumento alcanzó el 23,9%

3. Resultados

($5,66 \pm 0,4$ vs. $4,6 \pm 0,3$ kg, $p < 0,05$). Estos resultados se observan en la figura 3.2(B).

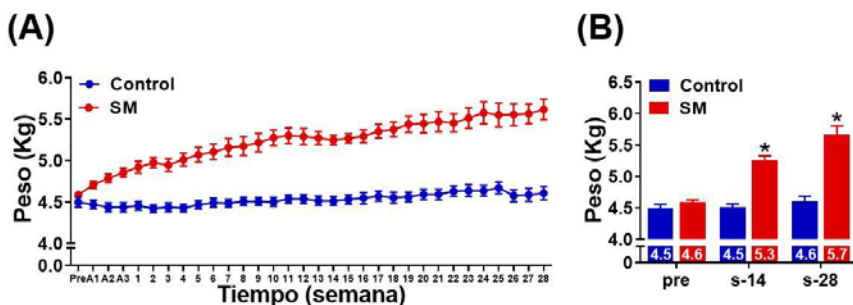


Figura 3. 2. Evolución del peso durante el periodo experimental. (A) Medida del peso semanal. (B) Comparación del incremento del peso en las semanas 14 y 28. Grupo control (n=12) y SM (n=13), A= semana de aclimatación, * $p < 0,05$ vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.1.3. Estudio morfológico

En cuanto a los parámetros morfológicos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud corporal, la altura y la longitud de la tibia, entre los distintos grupos experimentales ni al realizar las comparaciones entre los diferentes instantes temporales entre los grupos, como era esperable al haber utilizado conejos en edad adulta en el presente estudio (tabla 3.1). Sin embargo, la circunferencia abdominal, la relación circunferencia abdominal / longitud y el IMC aumentaron en el grupo SM en comparación al grupo control en las semanas 14 y 28 (tabla 3.1). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas dentro del grupo control entre la medida tomada antes de iniciar el protocolo de

3. Resultados

dieta experimental (pre-dieta) y las semanas 14 y 28, mientras que estos parámetros se vieron incrementados en el grupo SM (tabla 3.1).

Parámetros	Pre-dieta		Semana 14		Semana 28	
	Control	SM	Control	SM	Control	SM
Longitud (cm)	53,6±1,9	53,4±2,1	53,5±1,8	53,9±1,7	53,8±1,1	54,4±1,9
Altura (cm)	25,9±0,8	25,7±1,4	26,2±0,5	26,2±0,5	26,1±1,3	25,9±1,4
Circ. abdominal (cm)	41,5±2,1	41,6±2,1	41,1±2,1	47,2±2,1* [#]	40,0±1,2	49,0±3,1* [#] ^{\$}
Longitud tibial (cm)	16,5±0,6	16,5±0,6	16,8±0,6	16,7±0,3	16,8±0,3	16,8±0,5
Circ. Abd./longitud (cm)	0,77±0,04	0,77±0,04	0,75±0,08	0,87±0,05* [#]	0,72±0,1	0,89±0,01* [#]
IMC (Kg/m²)	32,4±1,7	32,8±2,5	32,3±1,2	37,6±1,9* [#]	32,9±2,5	40,2±4,2* [#] ^{\$}

Tabla 3. 1. Características morfológicas. Evolución de los parámetros morfológicos en los diferentes instantes temporales del protocolo experimental (pre-dieta, semana 14 y semana 28). Grupo control (n=11) y SM (n=13), *p<0,05 vs. control; [#]p<0,05 vs. pre-dieta; ^{\$}p<0,05 vs. semana 14. Se muestra la media ± desviación típica.

3.1.4. Glucemia

Los niveles de glucosa en ayunas fueron similares entre los grupos control y SM antes de la administración de la dieta (102±10 vs. 102±13 mg/dL). Una vez administrada la dieta alta en grasas y sacarosa los niveles de glucosa en ayunas se incrementaron el grupo SM respecto con el grupo control en las semanas 14 (115±10 vs.102±7 mg/dL, p<0,05) y 28 (117±11 vs.101±10 mg/dL, p<0,05, figura 3.3).

3. Resultados

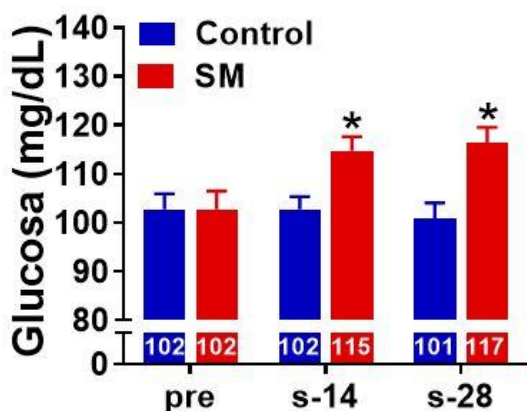


Figura 3. 3. Glucemia en ayunas. Las muestras fueron tomadas antes de la administración de dieta (pre) y en las semanas 14 y 28. Grupo control (n=12) y SM (n=13), *p<0,05 vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

Mediante el test de tolerancia a la glucosa (TTG) analizamos la regulación de la glucemia, siendo los niveles plasmáticos en ayunas mayores en el grupo SM respecto al grupo control (117 ± 11 vs. 105 ± 8 mg/dL en la semana 14 y 110 ± 12 vs. 96 ± 6 mg/dL en semana 28, $p < 0,05$, figura 3.4).

El grupo SM, tanto en la semana 14 como en la 28, mostró valores de glucosa en sangre elevados y una tasa de aclaramiento de la glucosa en sangre más lenta respecto al grupo control, en todos los instantes temporales estudiados, incluso después de pasadas 3 horas desde el inicio de la prueba. (Fig. 3.4).

En el grupo control los niveles plasmáticos de glucosa alcanzaron valores similares a los basales transcurridos 180 minutos de la administración del bolo de glucosa (102 ± 12 vs. 105 ± 8 mg/dL en la semana 14 y 104 ± 9 vs. 96 ± 6 mg/dL en la semana 28, figura

3. Resultados

3.4). Por otro lado, en el grupo SM este parámetro se mantuvo elevado transcurridos los 180 minutos tanto en la semana 14 (126 ± 21 vs. 117 ± 11 mg/dL, $p < 0,05$ vs. basal) como en la 28 (127 ± 21 vs. 106 ± 12 mg/dL, $p < 0,05$ vs. basal, figura 3.4).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles plasmáticos de glucosa en respuesta al TTG entre la semana 14 y 28 cuando se hicieron las comparaciones dentro de cada grupo.

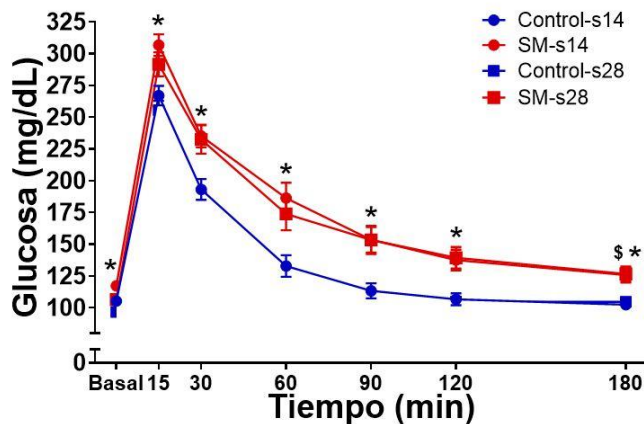


Figura 3. 4. Regulación de la glucosa en sangre. Medidas tomadas antes de la administración del bolo (basal) y tras la administración (15, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos). Grupo control ($n=12$) y SM ($n=13$), $*p < 0,05$ vs. control, $\$p < 0,05$ vs. basal. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3. Resultados

El área bajo la curva (ABC) se calculó a partir del test de tolerancia a la glucosa (TTG). Encontramos un incremento en el ABC en el grupo SM en las semanas 14 (2062 ± 330 vs. 1627 ± 184 u.a., $p < 0,05$) y 28 (2019 ± 381 vs. 1570 ± 99 u.a., $p < 0,05$, figura 3.5), al comparar los valores respecto al grupo control.

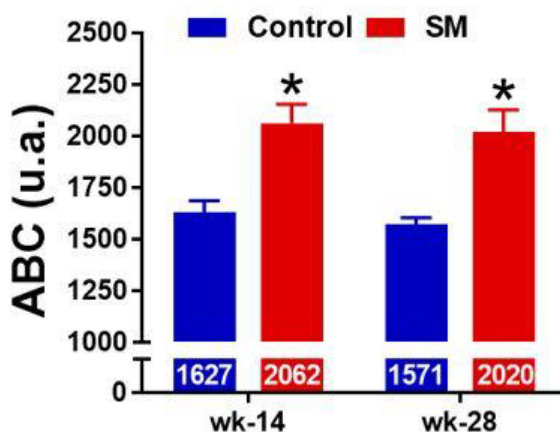


Figura 3. 5. Representación del Área bajo la curva (ABC) del test de tolerancia a la glucosa (TTG). Las pruebas fueron realizadas en las semanas 14 y 28. Grupo control (n=12) y SM (n=13), * $p < 0,05$ vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.1.5. Metabolitos plasmáticos

Tras analizar diferentes metabolitos plasmáticos se observaron modificaciones en los componentes del perfil lipídico del grupo SM. Se encontró un incremento tanto del LDL como de los triglicéridos y una disminución del HDL en las semanas 14 y 28. Respecto al colesterol total, no se encontraron cambios estadísticamente significativos (figura 3.6).

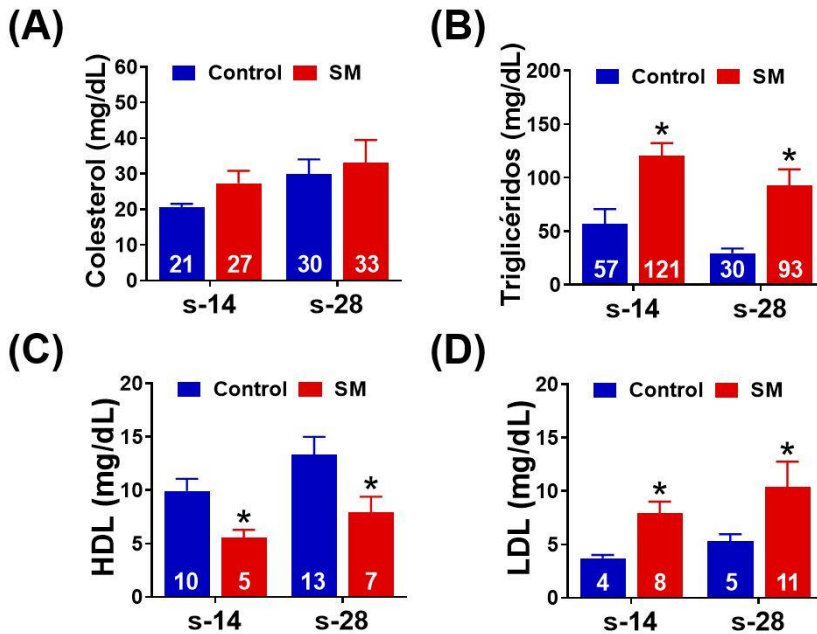


Figura 3. 6. Metabolitos plasmáticos. (A) Colesterol total (B) HDL (C) LDL (D) Triglicéridos. Medidas tomadas en las semanas 14 y 28. Grupo control (n=11) y SM (n=13), *p<0,05 vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

Además, se observó un incremento de la proteína total en los animales del grupo SM en las semanas 14 y 28 respecto a los animales del grupo control. En cuanto a la CPK, ésta aumentó en el grupo SM en comparación con el grupo control en la semana 28. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la creatinina, sin embargo, la urea disminuyó en el grupo SM en las semanas 14 y 28 respecto al grupo control (tabla 3.2).

3. Resultados

Parámetros	Semana 14		Semana 28	
	Control	SM	Control	SM
Albúmina (g/dL)	4,1±0,2	4,1±0,3	4,1±0,1	4,1±0,3
Proteína total (g/dL)	5,9±0,4	6,5±0,5*	5,9±0,3	6,6±0,7*
CPK (IU/L)	686±264	958±700	436±197	703±365*
Creatinina (mg/dL)	1,21±0,2	1,24±0,3	1,31±0,1	1,28±0,2
Urea (mg/dL)	30,8±3,5	24,4±3,6*	30,9±3,5	25,5±3,9*

Tabla 3. 2. Bioquímica plasmática. Los metabolitos han sido analizados en los grupos control (n=10) y SM (n=11) en las semanas 14 y 28. *p<0,05 vs. control. Se muestra la desviación típica.

En cuanto a los marcadores de daño hepático en las semanas 14 y 28, se observó un incremento en la relación GOT-AST y GOT/GPT en el grupo SM (figura 3.7 A y C), mientras que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la relación GPT-ALT y GGT (figura 3.7 B y D). Los ácidos biliares y la bilirrubina aumentaron en el grupo SM en las semanas 14 y 28 respecto al grupo control (figura 3.7 E y F).

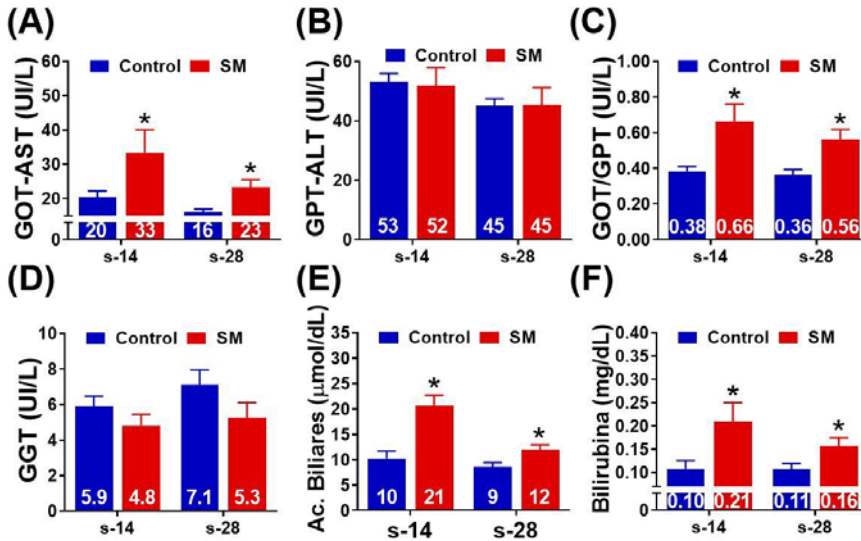


Figura 3. 7. Marcadores de daño hepático. (A-C) Transaminasas (GOT-AST, GPT-ALT y relación GOT / GPT). (D-F) Marcadores de la función hepática: gamma-glutamyl transferasa (GGT), los ácidos biliares y la bilirrubina. Control (n = 11), SM (n = 13), *p<0,05 vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.1.6. Presión arterial

Los animales del grupo SM desarrollaron hipertensión moderada. En la figura 3.8 (A), se muestra la presión arterial sistólica, que aumentó en el grupo SM respecto al grupo control tanto en la semana 14 (108,8±13,2 vs. 96,7±9,3 mmHg, p<0,05) como en la semana 28 (110,4±9,3 vs. 98,3±9,8 mmHg, p<0,05). La presión arterial diastólica (figura 3.8 B) también sufrió un incremento en el grupo de SM respecto al grupo control, tanto en la semana 14 (82,2±8,1 vs. 69,8±8,8 mmHg, p<0,05) como en la semana 28 (84,3±6,5 vs. 72,5±4,7 mmHg, p<0,05). Sin embargo, no se

3. Resultados

encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar las semanas 14 y 28 dentro de cada grupo.

En la figura 3.8 (C), puede observarse la presión arterial media (PAM), que aumentó significativamente en el grupo SM un 15,2% en la semana 14 ($92,0 \pm 8,4$ vs. $78,6 \pm 8,1$ mmHg, $p < 0,05$) y un 14,6 % en la semana 28 ($94,4 \pm 5,3$ vs. $82,1 \pm 3,2$ mmHg, $p < 0,05$) respecto al grupo control.

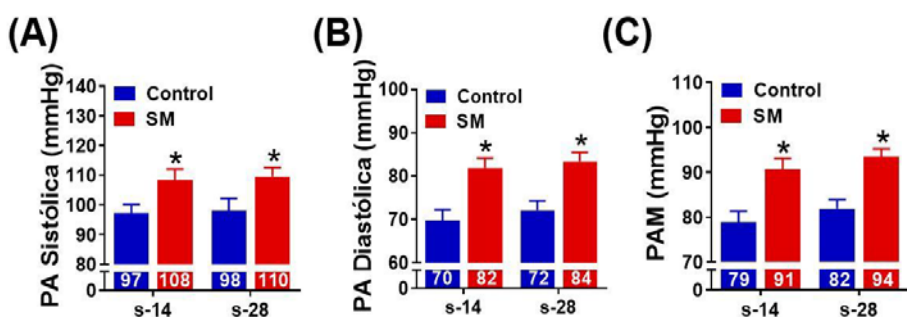


Figura 3. 8. Modificaciones de la presión arterial. (A) Presión arterial sistólica (B) Presión arterial diastólica (C) Presión arterial media (PAM). Medidas tomadas en las semanas 14 y 28. Grupo control (n=10) y SM (n=11), * $p < 0,05$ vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.1.7. Estudio histológico de la fibrosis hepática

El grupo SM presentó un incremento en el área de los hepatocitos del 40% (532 ± 24 vs. $381 \pm 32 \mu\text{m}^2$, $p < 0,01$, figura 3.9) observándose además un aumento del tamaño de las células hepáticas. Respecto al porcentaje de hepatocitos en los cuales aumentó la presencia de vacuolas lipídicas en su citoplasma fue mayor en el grupo SM ($84,7 \pm 3,3$ vs. $56,4 \pm 4,7\%$, $p < 0,001$, figura 3.9). Estos resultados sugieren el desarrollo de esteatosis hepática no alcohólica.

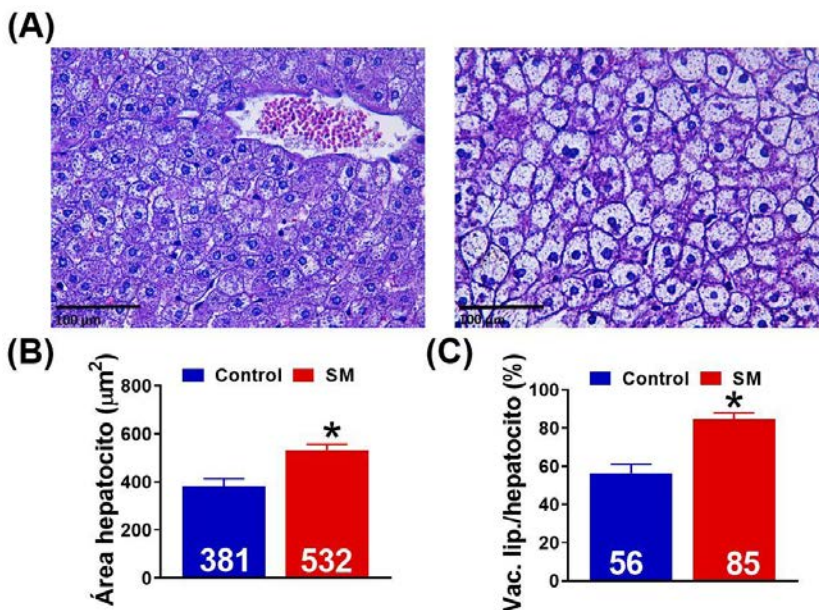


Figura 3. 9. Estudio histológico hepático. (A) imágenes representativas del área de las venas centrales teñidas con hematoxilina-eosina para el control (izquierda) y SM (derecha). (B) Cuantificación del área de hepatocito. (C) Cuantificación de la relación de vacuola lipídica/hepatocito. Grupo control (N=3, n=15) y SM (N=2, n=10), * $p < 0,05$ vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3. Resultados

3.2. Análisis de las modificaciones morfológicas, funcionales y electrocardiográficas

3.2.1. Estudio ecocardiográfico

Tras analizar los parámetros morfológicos, se encontraron cambios estadísticamente significativos en el ventrículo izquierdo (VI) indicativos de una hipertrofia ventricular izquierda. En efecto, por lo que respecta al grosor del septo interventricular en diástole (SIVd), éste fue significativamente mayor en el grupo SM respecto al grupo control tanto en la semana 14 ($p=0,013$) como en la semana 28 ($p=0,012$; Figura 3.10). Además, este parámetro en el grupo SM fue significativamente mayor en las semanas 14 y 28 (ambos $p<0,001$) respecto al momento pre-dieta. Respecto al grosor del septo interventricular en sístole (SIVs), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos experimentales (Figura 3.10 B).

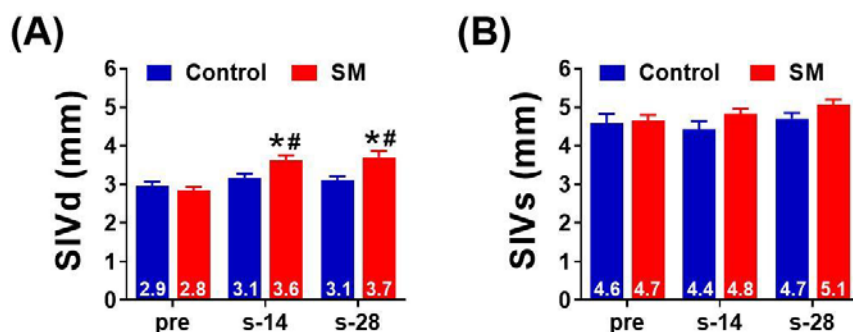


Figura 3. 10. Características morfológicas del septo interventricular. (A) Septo interventricular en diástole (SIVd). (B) Septo interventricular en sístole (SIVs). Grupo control (n=10) y SM (n=13), * $p<0,05$ vs. control; # $p<0,05$ vs. pre. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

Respecto al grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole (PPVId), ésta fue significativamente mayor en el grupo SM respecto al grupo control en las semanas 14 ($p=0,012$) y 28 ($p<0,001$). En el grupo SM, la PPVId también fue significativamente mayor en las semanas 14 y 28 respecto al momento pre (ambos $p<0,001$; figura 3.11 A). Sin embargo, en el grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo en sístole (PPVIs) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos experimentales (figura 3.11 B).

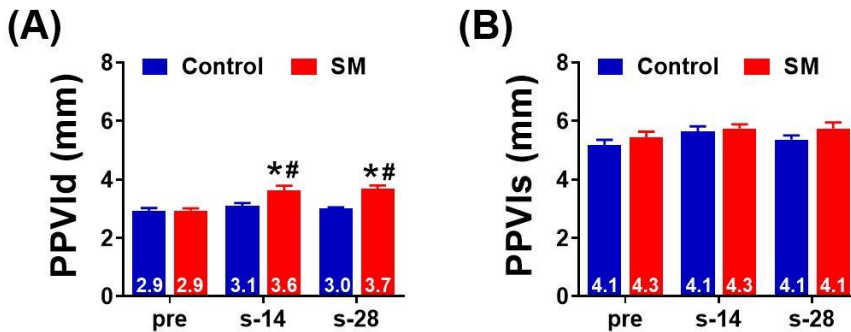


Figura 3. 11. Características morfológicas de la pared posterior del ventrículo izquierdo. (A) Pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole (PPVId). (B) Pared posterior del ventrículo izquierdo en sístole (PPVIs). Grupo control ($n=10$) y SM ($n=13$), * $p<0,05$ vs. control; # $p<0,05$ vs. pre. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

En la figura 3.12 A y B, se muestra la masa del ventrículo izquierdo (Masa VI) y la masa del ventrículo izquierdo indexada por la altura (Masa VI por altura^{2,7}) respectivamente. Ambos parámetros fueron significativamente mayores en el grupo SM respecto al grupo control tanto en la semana 14 ($p=0,015$ y $p=0,034$) como en la semana 28 ($p=0,016$ y $p=0,047$). También ambos parámetros en el grupo SM se incrementaron significativamente en la semana 14

3. Resultados

($p=0,030$ y $p=0,026$) y en la semana 28 ($p=0,005$ y $p=0,019$) respecto al momento pre.

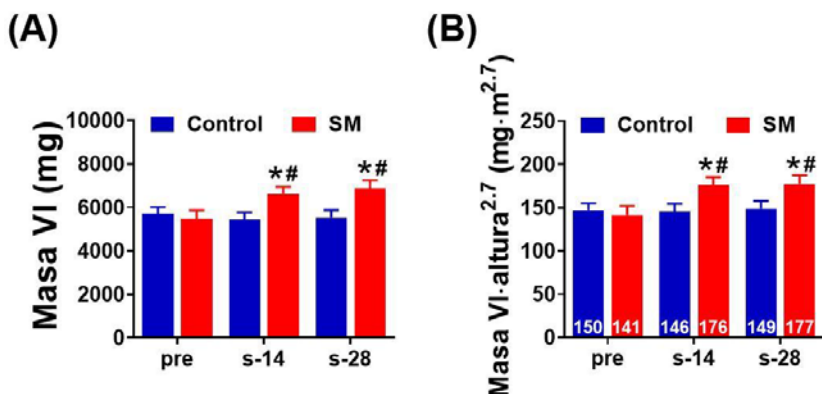


Figura 3. 12. Características morfológicas de la masa del ventrículo izquierdo. (A) Masa VI. (B) Masa VI*altura^{2.7}. Grupo control (n=10) y SM (n=13) * $p<0,05$ vs. control; # $p<0,05$ vs. pre. Masa VI = $1,053 \cdot ((LVID;d + LVPW;d + IVS;d)^3 - LVID;d^3)$. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

En la tabla 3.3, se muestra el resto de los parámetros ecocardiográficos analizados en el presente estudio, divididos en cuatro bloques: hemodinámica, función sistólica, función diastólica y parámetros morfológicos.

Respecto a los parámetros hemodinámicos como la frecuencia cardiaca, el volumen sistólico y el gasto cardiaco, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al realizar las comparaciones entre grupos y, dentro de cada grupo, entre los diferentes tiempos medidos. En cuanto a los parámetros de la función sistólica como la fracción de eyección, el volumen sistólico y diastólico, la fracción de acortamiento, el diámetro interno del

3. Resultados

ventrículo izquierdo en sístole y en diástole, se encontró la misma tendencia. Además, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al realizar las comparaciones entre grupos y, dentro de cada grupo, entre los diferentes tiempos medidos en los parámetros de la función diastólica como la velocidad de la onda E y la onda A, el coeficiente de relación de la onda E/A y el tiempo de relajación isovolumétrica o en otros parámetros morfológicos como la integral de la velocidad del tracto de salida aórtico y pulmonar.

	Aclimatación		Semana 14		Semana 28	
	Control	SM	Control	SM	Control	SM
Hemodinámica						
Frecuencia cardiaca (bpm)	254 ± 42	251 ± 32	256 ± 41	252 ± 32	258 ± 29	236 ± 21
Volumen sistólico (mL)	4.7 ± 1.7	4.6 ± 1.3	3.6 ± 0.9	3.6 ± 1.4	4.0 ± 0.9	3.7 ± 0.9
Gasto cardiaco (mL·min ⁻¹)	1163 ± 328	1121 ± 272	916 ± 246	880 ± 276	1020 ± 204	878 ± 254
Función sistólica						
Fracción de eyección (%)	79.5 ± 2.9	79.7 ± 3.4	80.0 ± 4.3	79.9 ± 3.4	82.3 ± 5.0	81.2 ± 4.4
Volumen diastólico VI (mL)	4.9 ± 2.0	4.6 ± 1.7	4.6 ± 1.3	4.6 ± 1.9	4.8 ± 1.5	4.6 ± 1.2
Volumen sistólico VI (mL)	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.4	1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.5	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.5
Fracción de acortamiento VI (%)	44.9 ± 3.2	45.1 ± 3.4	48.1 ± 8.2	45.2 ± 3.3	47.8 ± 3.7	46.6 ± 4.5
Diámetro diastólico VI (mm)	14.4 ± 1.2	14.2 ± 1.8	13.3 ± 1.3	13.3 ± 1.9	13.7 ± 1.1	13.3 ± 1.3
Diámetro sistólico VI (mm)	7.8 ± 0.8	7.8 ± 1.0	7.3 ± 0.9	7.3 ± 1.2	7.1 ± 0.8	7.1 ± 1.1
Función diastólica						
E onda vel. (cm·s ⁻¹)	0.67 ± 0.16	0.67 ± 0.11	0.57 ± 0.12	0.63 ± 0.09	0.60 ± 0.12	0.62 ± 0.12
A onda vel. (cm·s ⁻¹)	0.66 ± 0.17	0.67 ± 0.12	0.56 ± 0.12	0.68 ± 0.10	0.59 ± 0.13	0.67 ± 0.14
E/A	1.03 ± 0.26	1.03 ± 0.12	1.03 ± 0.19	0.93 ± 0.12	1.02 ± 0.20	0.94 ± 0.20
Tiempo de relajación isovolumétrica (ms)	31 ± 5	31 ± 5	37 ± 4	35 ± 7	39 ± 7	40 ± 8
Parámetros morfológicos						
Diámetro aórtico (mm)	9.4 ± 0.4	9.5 ± 0.4	9.1 ± 0.7	10.0 ± 0.8*	9.1 ± 0.6	10.7 ± 0.9 [§]
Diámetro arteria pulmonar (mm)	6.9 ± 0.5	6.8 ± 0.6	6.9 ± 0.8	7.2 ± 0.8	7.0 ± 0.5	7.8 ± 0.4
IVT aórtico	5.6 ± 1.1	5.7 ± 1.3	4.9 ± 1.1	5.7 ± 0.9	6.1 ± 1.1	6.6 ± 1.4
IVT pulmonar	5.1 ± 0.9	4.6 ± 0.8	4.5 ± 0.9	5.2 ± 0.6	5.4 ± 0.7	5.0 ± 0.7

Tabla 3. 3. Parámetros ecocardiográficos. Evolución de los parámetros morfológicos en los diferentes instantes temporales del protocolo experimental (pre-dieta, semana 14 y semana 28). Grupo control (n=11) y SM (n=13), *p<0,05 vs. control. Se muestra la desviación típica entre paréntesis. TRI = tiempo de relajación isovolumétrica.

3. Resultados

Por último, el diámetro de la aorta mostró un aumento estadísticamente significativo en las semanas 14 ($p=0,007$) y 28 ($p<0,001$) respecto al grupo control. Adicionalmente en el grupo SM este parámetro también se incrementó respecto al momento pre (semana 14 $p=0,037$ y semana 28 $p<0,001$) (tabla 3.3).

3.2.2. Estudio electrocardiográfico

Los animales del grupo SM presentaron un intervalo PQ de mayor duración en la semana 14 (66 ± 10 vs. 75 ± 9 ms; $p=0,048$) y en la semana 28 (66 ± 10 vs. 80 ± 9 ms; $p=0,001$) respecto al grupo control (figura 3.13). Además, el intervalo PQ en el grupo SM aumentó en la semana 28 respecto a sus valores basales previos a la administración de la dieta alta en grasas y azúcares (69 ± 7 vs. 80 ± 9 ; $p=0,010$), tal y como se observa en la figura 3.13.

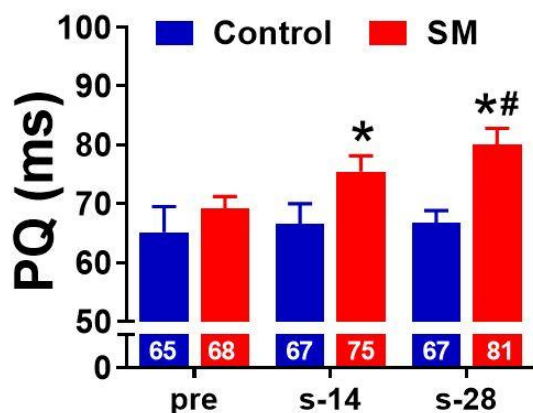


Figura 3. 13. Análisis del intervalo PQ. Se comparó en los grupos control ($n=10$) y SM ($n=13$) en los instantes temporales: previo a la administración de la dieta, semana 14 y semana 28. * $p<0,05$ vs. control, # $p<0,05$ vs. SM (Pre). Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3. Resultados

Por otra parte, la conducción ventricular también se modificó en el grupo SM puesto que la duración del intervalo QRS aumentó en la semana 14 (43 ± 9 vs. 37 ± 8 ms; $p<0,001$) y en la semana 28 (45 ± 9 vs. 37 ± 8 ; $p=0,001$) respecto a sus valores basales previos a la administración del pienso alto en grasas (figura 3.14). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar entre los grupos ni en el grupo control, entre los diferentes tiempos medidos.

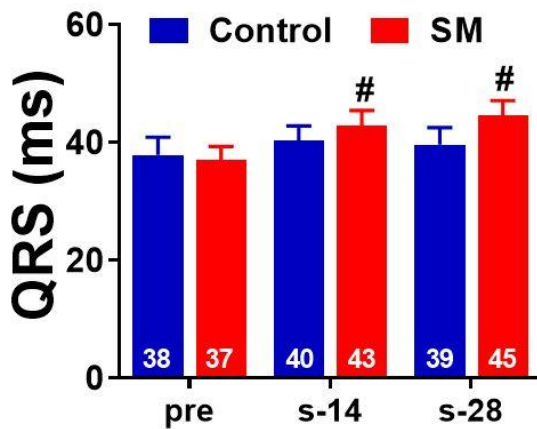


Figura 3. 14. Análisis del intervalo QRS. Se comparó los grupos control (n=10) y SM (n=13) en los instantes temporales: previo a la administración de la dieta, semana 14 y semana 28. # $p<0,05$ vs. SM (Pre). Las barras de error muestran el error estándar de la media.

Respecto al intervalo QT y QT corregido (QTc), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo SM en la semana 14 (QT: 134 ± 16 vs. 156 ± 18 ms y QTc: 147 ± 12 vs. 167 ± 15 ms; $p=0,008$ y $p=0,004$, respectivamente) y en la semana 28 (QT: 144 ± 17 vs. 158 ± 11 y QTc: 156 ± 15 vs. 166 ± 10 ms; $p=0,032$ y $p=0,050$, respectivamente). Además, cuando

3. Resultados

se compararon dichos parámetros en el grupo SM se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la semana 14 (QT: 145 ± 13 vs. 156 ± 18 y QTc: 156 ± 12 vs. 167 ± 15 ms; $p=0,038$ y $p=0,035$, respectivamente) y en la semana 28 (QT: 145 ± 13 vs. 158 ± 11 y QTc: 156 ± 12 vs. 166 ± 10 ms; $p=0,008$ y $p=0,032$, respectivamente) respecto a sus valores basales previos a la administración de la dieta experimental (figura 3.15).

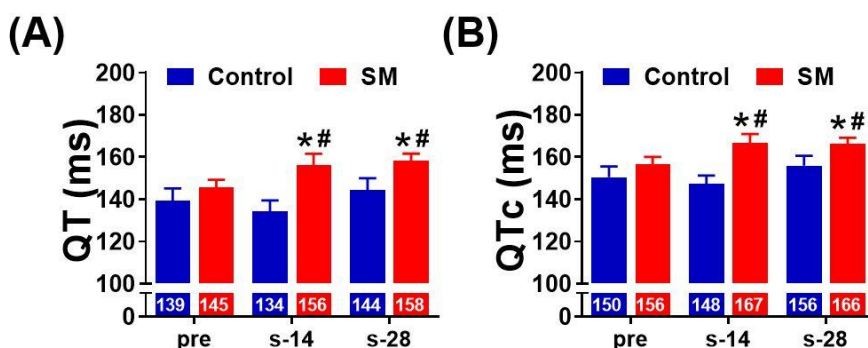


Figura 3. 15. Análisis del intervalo QT. (A) Intervalo QT y (B) intervalo QTc, analizados en los grupos control ($n=10$) y SM ($n=13$) en los instantes temporales: previo a la administración de la dieta, semana 14 y semana 28. * $p < 0,05$ vs. control, # $p < 0,05$ vs. SM (Pre). Las barras de error muestran el error estándar de la media.

En cuanto a la repolarización ventricular, se observó un incremento estadísticamente significativo en la duración de la onda T en el grupo SM en la semana 14 (71 ± 16 vs. 97 ± 17 ms; $p=0,002$) y en la semana 28 (84 ± 11 vs. 106 ± 14 ms; $p=0,001$) respecto al grupo control (figura 3.16). Al comparar dicho parámetro dentro del grupo SM entre los diferentes instantes temporales, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la semana 28 (86 ± 13 vs. 106 ± 14 ms; $p=0,001$) respecto a sus valores basales previos a la administración de la dieta alta en grasas y azúcares (figura 3.16).

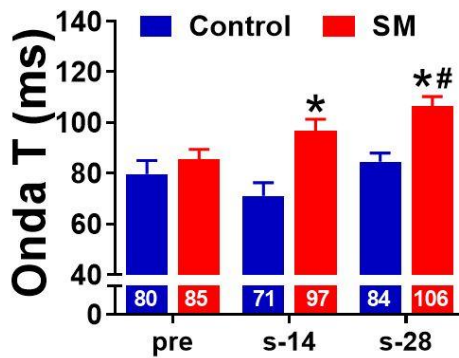


Figura 3. 16. Análisis de la Onda T. Se compararon los grupos control (n=10) y SM (n=13) en los instantes temporales: previo a la administración de la dieta, semana 14 y semana 28. * $p < 0,05$ vs. control, # $p < 0,05$ vs. SM (Pre). Las barras de error muestran el error estándar de la media.

Respecto a la duración del intervalo RR, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al realizar las comparaciones entre grupos experimentales ni al comparar los diferentes instantes temporales dentro de cada grupo (figura 3.17).

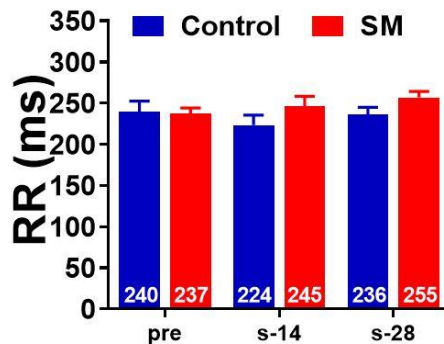


Figura 3. 17. Análisis del intervalo RR. Se comparó los grupos control (n=10) y SM (n=13) en los instantes temporales: previo a la administración de la dieta, semana 14 y semana 28. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3. Resultados

3.3. Estudio de las modificaciones electrofisiológicas cardíacas en corazón aislado

3.3.1. Modificaciones intrínsecas del automatismo, la conducción aurículo-ventricular y la refractariedad ventricular

Para el estudio de las propiedades electrofisiológicas intrínsecas del corazón se han llevado a cabo experimentos en corazón aislado y se han analizado los registros electrocardiográficos obtenidos.

3.3.1.1. Modificaciones intrínsecas del automatismo

Respecto al automatismo intrínseco, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los intervalos RR entre ambos grupos experimentales (figura 3.18).

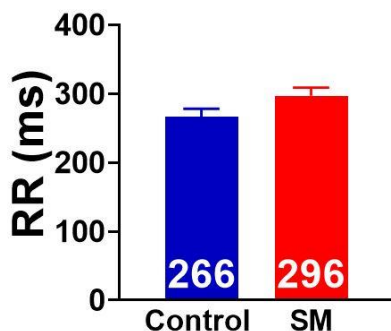


Figura 3. 18. Análisis del intervalo RR. Automatismo intrínseco analizado con el intervalo RR en los grupos control (n=10) y SM (n=13). Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.3.1.2. Modificaciones de la conducción aurículo-ventricular

Tras analizar los registros en ritmo sinusal, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la duración del intervalo AV entre ambos grupos experimentales (figura 3.19).

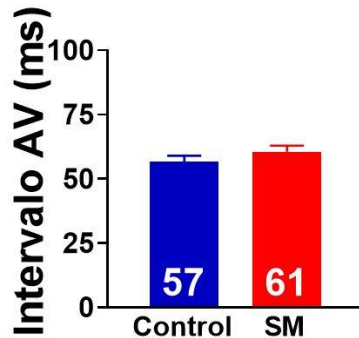


Figura 3. 19. Longitud del intervalo AV. Análisis de la conducción auriculo-ventricular mediante el intervalo AV en los grupos control (n=10) y SM (n=12). Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.3.1.3. Modificaciones de la refractariedad ventricular

Tras analizar el periodo refractario efectivo en los distintos trenes de estimulación utilizados, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo SM. Estos mismos resultados se obtuvieron al analizar el periodo refractario funcional de forma que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos experimentales (figura 3.20).

3. Resultados

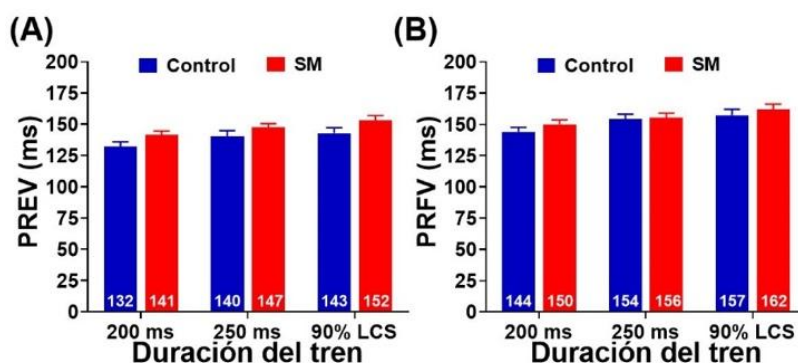


Figura 3. 20. Refractoriedad ventricular. Análisis del periodo refractario efectivo ventricular (PREV) y del periodo refractario funcional ventricular (PRFV) en los diferentes trenes de estimulación utilizados en los grupos control (n=10) y SM (n=10). Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.4. Estudio de la duración y las características morfológicas del potencial de acción óptico

Tras los experimentos de mapeo óptico panorámico (campo de observación VD-VI) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la duración del potencial óptico (DPA) del VI al comprar los grupos experimentales, control y SM en cualquiera de las longitudes del ciclo de estimulación estudiadas (figura 3.21 A). Sin embargo, sí que se observaron diferencias en la duración del potencial de acción óptico del ventrículo derecho (VD) en el grupo SM respecto al grupo control. En efecto, en el grupo SM la duración del potencial de acción al 90 % (DPA90) disminuyó en el ventrículo derecho en la mayoría de las longitudes de ciclo de estimulación analizadas: 175 ms (124 ± 6 vs. 117 ± 5 ms, $p=0,026$), 200 ms (133 ± 7 vs. 125 ± 7 ms, $p=0,027$), 225 ms (142 ± 8 vs. 133 ± 8 ms,

$p=0,022$); 250 ms (148 ± 9 vs. 135 ± 12 ms, $p=0,018$); y 90% LCS (167 ± 20 vs. 146 ± 24 , $p=0,037$) (figura 3.21 B).

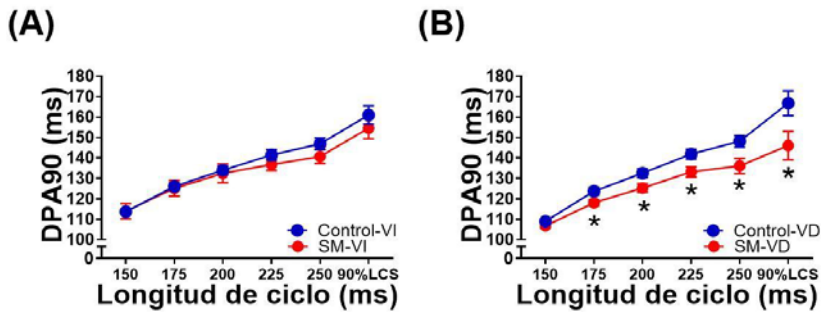


Figura 3. 21. Duración del potencial de acción al 90% en el ventrículo izquierdo (A) y derecho (B). Analizado en los grupos control ($n=11$) y SM ($n=12$) en las diferentes longitudes del ciclo de estimulación. * $p<0,05$ vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

A continuación, se analizaron las características morfológicas de la duración del potencial de acción óptico mediante la determinación de la velocidad de despolarización y del coeficiente de triangulación en ambos ventrículos. Por lo que respecta a la velocidad de despolarización, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo SM en ninguna de las longitudes del ciclo de estimulación analizadas (figura 3.22).

3. Resultados

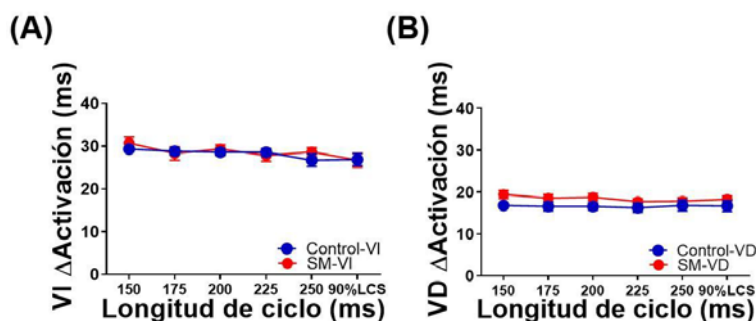


Figura 3. 22. Velocidad de despolarización del ventrículo izquierdo (A) y derecho (B). Analizados en los grupos control (n=11) y SM (n=12) en las diferentes longitudes del ciclo de estimulación. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

Sin embargo, al estudiar las características morfológicas de la repolarización se observó en el grupo SM una disminución del coeficiente de triangulación indicativo de un potencial de acción óptico más triangular respecto al típico potencial de acción en pico y meseta.

En efecto, el coeficiente de triangulación en el VD disminuyó con las longitudes del ciclo de estimulación de 200 ms ($48,7 \pm 9,6$ vs. $41,1 \pm 2,6$ ms, $p=0,016$), 225 ms ($47,1 \pm 9,0$ vs. $40,2 \pm 2,5$ ms, $p=0,020$), 250 ms ($50,1 \pm 13,1$ vs. $40,0 \pm 2,1$ ms, $p=0,011$) y 90% LCS ($48,7 \pm 11,7$ vs. $40,3 \pm 2,4$ ms, $p=0,025$). En cuanto al VI, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos experimentales (figura 3.23).

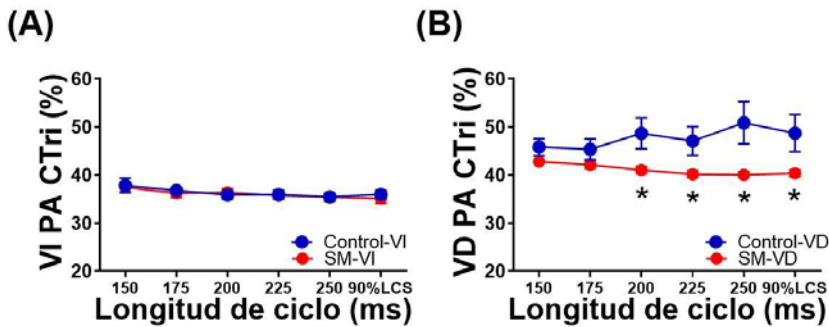


Figura 3. 23. Coeficiente de triangulación del ventrículo izquierdo (A) y derecho(B). Analizados en los grupos control (n=11) y SM (n=12) en las diferentes longitudes del ciclo de estimulación. * $p < 0,05$ vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.4.1. Velocidad de conducción del impulso eléctrico cardíaco y longitud de onda del proceso de activación

El análisis de la velocidad de conducción se realizó mediante la estimulación continua a frecuencias fijas. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en este parámetro al realizar comparaciones entre los grupos experimentales o, dentro de cada grupo, entre el ventrículo derecho y el ventrículo izquierdo (figura 3.24).

3. Resultados

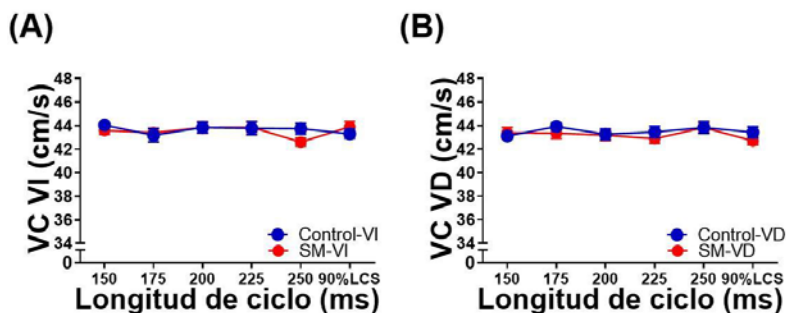


Figura 3. 24. Velocidad de conducción en el ventrículo izquierdo (A) y derecho (B). Analizadas en los grupos control (n=11) y SM (n=12) en las diferentes longitudes del ciclo de estimulación. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

En cuanto a la longitud de onda en el ventrículo izquierdo no se observaron diferencias estadísticamente significativas al realizar tanto las comparaciones entre los grupos experimentales como, dentro de cada grupo, entre el ventrículo izquierdo y el ventrículo derecho (figura 3.25 A). Respecto a la longitud de onda del proceso de activación en el ventrículo derecho, se observó una disminución significativa en el grupo SM en la mayoría de las longitudes del ciclo de estimulación: 175 ms (54 ± 3 vs. 51 ± 3 mm, $p=0,019$), 200 ms (57 ± 4 vs. 53 ± 3 mm, $p=0,047$), 225 ms (61 ± 5 vs. 57 ± 4 mm, $p=0,032$); 250 ms (65 ± 5 vs. 59 ± 5 mm, $p=0,026$); y 90% LCS (72 ± 9 vs. 62 ± 10 mm, $p=0,026$) (figura 3.25 B).

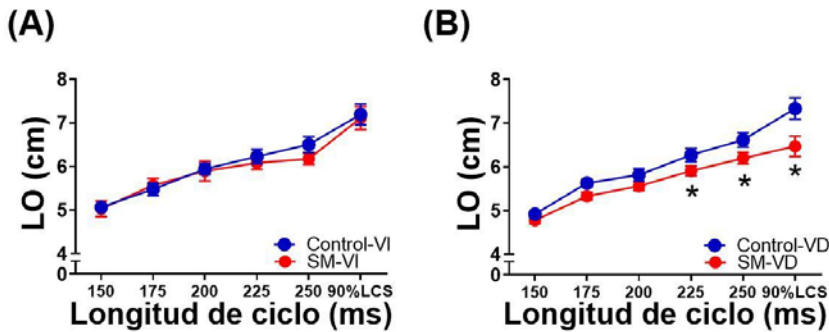


Figura 3. 25. Longitud de onda del ventrículo izquierdo (A) y derecho (B). Analizada en los grupos control (n=11) y SM (n=12) en las diferentes longitudes del ciclo de estimulación. * $p < 0,05$ vs. control. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.5. Estudio de las características de la FV inducida en normoxia

3.5.1. Análisis en el dominio de la frecuencia

En el análisis en el dominio de la frecuencia, al utilizar los valores promedio durante los 6 minutos de FV, se observó en el grupo SM un incremento de la frecuencia dominante en el ventrículo derecho respecto al grupo control ($10,4 \pm 0,4$ vs. $11,4 \pm 0,3$ Hz, $p = 0,041$). Sin embargo, no se evidenciaron cambios significativos en el ventrículo izquierdo (figura 3.26 A). Al realizar las comparaciones dentro de cada grupo entre los ventrículos derecho e izquierdo se encontraron modificaciones estadísticamente significativas en el grupo control, pero no en el grupo SM. De este modo, en el grupo control se estableció un gradiente mayor de la frecuencia dominante entre el ventrículo izquierdo y derecho ($12,1 \pm 0,7$ vs. $10,4 \pm 0,4$; $p = 0,021$), mientras que éste desapareció en el grupo SM debido al incremento de la frecuencia dominante en el ventrículo derecho. En

3. Resultados

el panel B puede observarse el comportamiento de la FD de la FV durante los 6 minutos registrados.

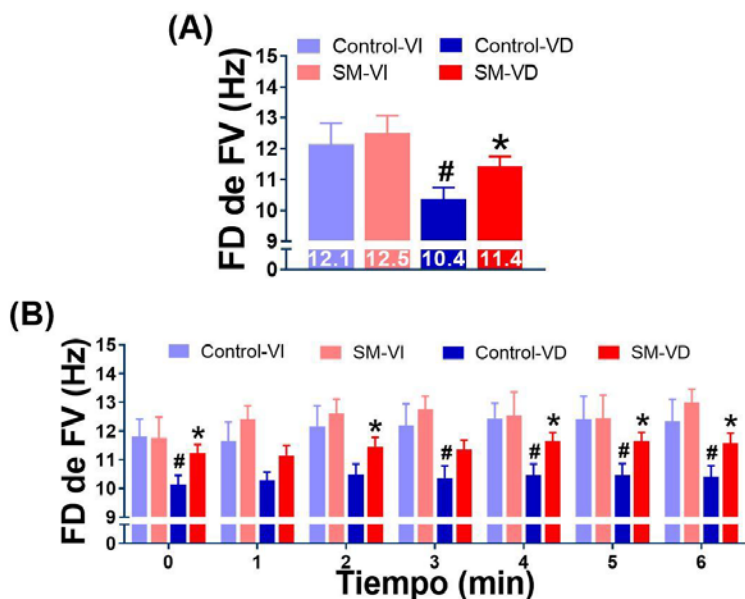


Figura 3. 26. Frecuencia dominante. (A) Promedio de los 6 minutos de registro de la arritmia en los ventrículos derecho e izquierdo. (B) Detalle de la evolución del parámetro a lo largo del tiempo registrado. Grupo control (n=7) y SM (n=10). *p<0,05 vs. control, #p<0,05 vs. Control ventrículo izquierdo. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3.5.2. Análisis en el dominio del tiempo

En el análisis del dominio del tiempo, al utilizar los valores promedio durante los 6 minutos de FV, se observó que la duración del intervalo VV disminuyó en el ventrículo derecho en el grupo SM respecto al grupo control ($87,5 \pm 3,3$ vs. $98,3 \pm 7,1$ ms). Además, este parámetro fue significativamente mayor en el ventrículo derecho respecto al ventrículo izquierdo del grupo control ($98,3 \pm 7,1$ vs.

3. Resultados

84,9±8,3 ms). Sin embargo, no se evidenciaron cambios significativos en el ventrículo izquierdo entre el grupo control y el grupo SM (Figura 3.27 A), lo cual fue esperable dada la relación existente entre el análisis en el dominio de la frecuencia y en el dominio del tiempo.

Al analizar cada uno de los instantes temporales determinados durante la FV, se observó en el grupo SM que la duración del intervalo VV en el ventrículo derecho en los minutos 0, 2, 4 y 6 fue significativamente menor que en el ventrículo derecho del grupo control. Además, la duración del intervalo VV en el ventrículo derecho del grupo control fue significativamente mayor que en el ventrículo izquierdo en los minutos 0, 1, 2, 4, 5 y 6 (Figura 3.27 B).

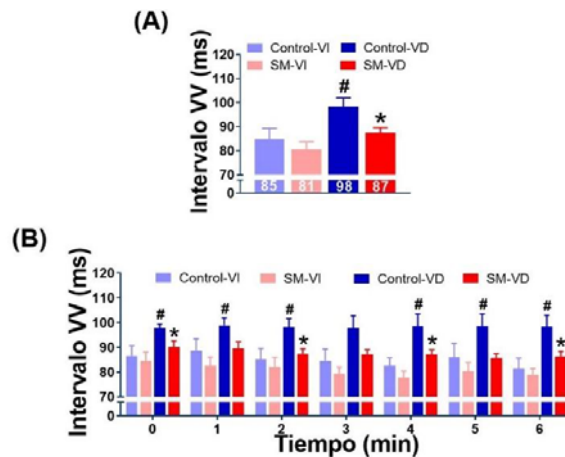


Figura 3. 27. Intervalo VV. (A) Promedio de la duración del intervalo VV. (B) Duración del intervalo VV analizada en los diferentes instantes temporales. Este parametro ha sido analizado los ventriculos derecho e izquierdo en los grupos control (n=7) y SM (n=10). *p<0,05 vs. control, #p<0,05 vs. Control ventrículo izquierdo. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

3. Resultados

3.5.3. Heterogeneidad electrofisiológica

La heterogeneidad electrofisiológica se ha determinado a partir del índice de regularidad (IR). No encontramos diferencias estadísticamente significativas en este parámetro al realizar las comparaciones entre ambos grupos experimentales. Sin embargo, al comparar entre zonas dentro de cada grupo, el índice de regularidad aumentó en el ventrículo derecho de los grupos control y SM, respecto al ventrículo izquierdo (control: $0,28 \pm 0,04$ vs. $0,38 \pm 0,05$, $p < 0,01$; SM: $0,32 \pm 0,07$ vs. $0,39 \pm 0,06$, $p = 0,026$; Figura 3.28 A). En el panel B puede observarse el comportamiento del IR de la FV durante los 6 minutos registrados.

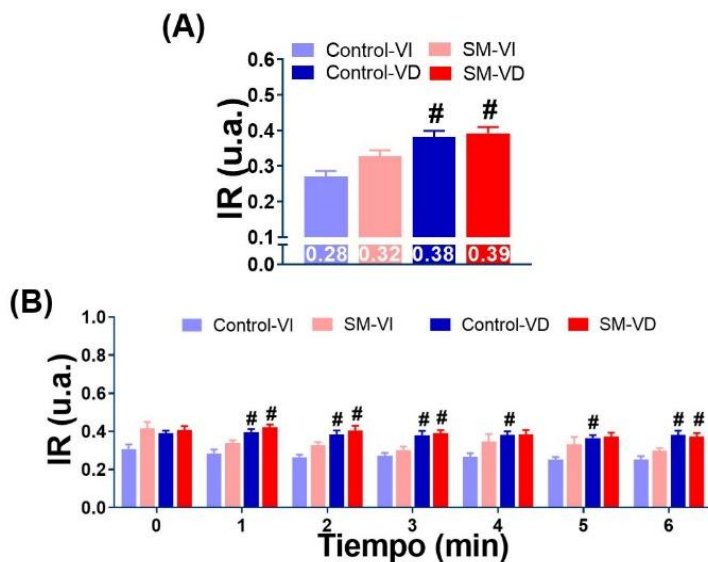


Figura 3. 28. Índice de regularidad. (A) Promedio de los 6 minutos de registro de la arritmia en los ventrículos derecho e izquierdo. (B) Detalle de la evolución del parámetro a lo largo del tiempo registrado. Grupo control ($n=09$) y SM ($n=11$). # $p < 0,05$ vs. ventrículo izquierdo. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

Capítulo 4

DISCUSIÓN

4. Discusión

4. DISCUSIÓN

En la presente tesis se ha investigado, en un modelo de síndrome metabólico (SM) en conejos, el efecto de la administración de una dieta alta en grasas y azúcares sobre el remodelado eléctrico cardíaco y sus potenciales mecanismos arritmogénicos. Para poder llevar a cabo este estudio, uno de los objetivos principales de la presente tesis doctoral ha sido desarrollar y caracterizar un modelo experimental de síndrome metabólico en conejo.

4.1. Caracterización del modelo experimental de síndrome metabólico en conejo

El objetivo de este primer estudio fue desarrollar un modelo experimental de SM inducido por la dieta en conejos NZW y realizar una caracterización detallada de los componentes principales que definen el SM humano. Para la validación del modelo se ha empleado el análisis de la medición de la presión arterial, actividad electrocardiográfica, glucosa en sangre, triglicéridos y lipoproteínas de alta y baja densidad, así como la evolución temporal de los mismos durante las 24 semanas de administración de la dieta.

Globalmente, nuestros resultados mostraron que la administración de una dieta alta en grasas y sacarosa durante 28 semanas indujo 1) obesidad central, 2) un estado de prediabetes caracterizado por una alteración de la glucosa en ayunas e intolerancia a la glucosa, 3) hipertensión leve, 4) alteraciones en el perfil lipídico, revelados por un aumento de los triglicéridos y el

colesterol LDL con una disminución de HDL (sin cambios en el colesterol total), 5) daño hepático, como lo demuestra el aumento de GOT-AST, relación GOT / GPT, ácidos biliares y bilirrubina, y 6) esteatosis hepática. De este modo, estos resultados corroboran el desarrollo de un modelo animal relevante y económico de SM inducido por la dieta que imita los principales cambios que ocurren en los seres humanos.

Los modelos animales son una herramienta muy útil para comprender los mecanismos que subyacen a los procesos patológicos, como el SM. Hasta la fecha, los modelos de roedores transgénicos y espontáneos inducidos por la dieta se han utilizado ampliamente para estudiar el efecto del SM en diferentes órganos y sistemas. Aunque los modelos de SM en roedores pueden exhibir algunos de los componentes de esta compleja patología, los ratones y las ratas son deficientes en la proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP) y, por lo tanto, resistentes al desarrollo de aterosclerosis y enfermedad coronaria, debido a importantes diferencias en el metabolismo de los lípidos con los humanos (de Grooth *et al.* 2004). Además, varios modelos de roedores no desarrollan características importantes asociadas con el SM, como la hipertensión, la hiperglucemia o la hiperinsulinemia (Wong *et al.* 2016). Además, la obesidad en algunos modelos transgénicos no depende únicamente de factores dietéticos y algunas cepas pueden volverse obesas con una ingesta normal o incluso reducida de alimentos (Carroll *et al.* 1996). También se han utilizado modelos animales caninos y porcinos más grandes, pero algunos investigadores han argumentado sobre la utilidad del primero dado

4. Discusión

que los perros, como ocurre con los roedores, no desarrollan aterosclerosis ni hiperglucemia (Verkest *et al.* 2014). Los modelos porcinos, debido a la similitud con la anatomía y fisiología humanas, pueden tener un poder predictivo significativo para dilucidar la fisiopatología del SM (Zhang *et al.* 2016), pero su mantenimiento es muy laborioso, y sobre todo costoso. El conejo, por otro lado, es lo suficientemente flexible para muchos tipos diferentes de estudios al tiempo que evita algunos de los inconvenientes de los modelos animales grandes y, lo que es más importante, al igual que los humanos, el conejo tiene abundante CETP en plasma, que actúa como un importante regulador del transporte de ésteres de colesterol y triglicéridos entre lipoproteínas, y, además, su perfil de lipoproteínas es rico en LDL (Waqar *et al.* 2010). Los conejos, como herbívoros, son muy sensibles a las grasas de la dieta, por lo que pueden desarrollar hiperlipidemia rápidamente (Fan & Watanabe 2000). Además, se ha demostrado que los conejos alimentados con una dieta alta en grasas tienen cambios hemodinámicos y neurohumorales similares a los de los seres humanos obesos (Carroll *et al.* 1996, Zarzoso *et al.* 2014).

En el presente estudio la dieta fue bien tolerada y los conejos aumentaron progresivamente de peso hasta el final del protocolo experimental. Observamos un aumento del 24 y 22% en el peso corporal y el IMC, respectivamente, en la semana 28, lo que demuestra que los conejos eran obesos, pero no alcanzaban un grado de obesidad severa. Este es un aumento de peso similar obtenido en estudios previos con conejos machos más jóvenes (Zarzoso *et al.* 2014) alimentados con una dieta alta en grasas, pero lejos del

aumento del 45% obtenido por Carroll *et al.* (1996) en conejos hembras adultas. Por otro lado, otros estudios que utilizaron una dieta alta en grasas y alta en sacarosa / fructosa no reportaron un aumento en el peso corporal (Yin *et al.* 2002, Helfstein *et al.* 2011, Ning *et al.* 2015, Liu *et al.* 2005), pero la cantidad de sacarosa utilizada para la alimentación de los animales, que oscilaba entre el 30 y el 40%, no fue bien tolerada por los conejos (Yin *et al.* 2002). En nuestro estudio, el uso de sacarosa al 15% en agua pareció ser mejor tolerado que proporciones más altas en la comida, y el aumento de peso corporal fue evidente. El desarrollo de la obesidad es un factor importante a tener en cuenta, ya que existe una estrecha correlación entre la obesidad central y los factores de riesgo que definen el SM (Alberti *et al.* 2009). Así, este modelo muestra similitudes con la obesidad humana, en la que la ganancia de peso corporal proviene principalmente de un aumento de la masa grasa abdominal, como sugiere el aumento de la circunferencia abdominal y la relación circunferencia / longitud abdominal. También observamos condiciones de recubrimiento (estado de salud del pelaje) poco saludables en los conejos en el grupo SM.

El aumento de peso excesivo y la obesidad se asocian con alteraciones hemodinámicas como aumento del volumen sanguíneo, precarga, poscarga y comúnmente hipertensión. En esta línea, observamos un aumento en la presión arterial sistólica, diastólica y media en la semana 14 que se mantuvo en la semana 28.

Estudios previos que utilizaron una dieta alta en grasas y sacarosa durante 36 semanas no produjeron cambios en la presión

4. Discusión

arterial a pesar de haber reportado un aumento del 22% en el peso corporal (Zhao *et al.* 2008), pero el uso de una raza de conejo diferente y de anestesia durante las mediciones podría explicar estas diferencias.

Se observó una hiperglucemia leve en conejos con SM ya en la semana 14, como se muestra por las diferencias en la glucosa en sangre en ayunas. El aumento en el nivel de glucemia en ayunas medido en la semana 14 fue muy modesto y alcanzó una meseta, ya que no observamos un aumento adicional en la semana 28. Nuestros valores están ligeramente por debajo de los reportados en la literatura al administrar 30-40% de fructosa o glucosa en el pienso (Yin *et al.* 2002, Liu *et al.* 2005).

Es de destacar que algunos estudios no encontraron diferencias en la glucosa en ayunas después de la administración de una dieta rica en grasas y sacarosa, pero utilizando diferentes razas de conejos (Zhao *et al.* 2008, Ning *et al.* 2015). También hubo defectos en la regulación de la glucosa, como lo demuestran los resultados del test intravenoso de tolerancia a la glucosa. De hecho, el área bajo la curva y los niveles de glucosa en sangre después de 180 minutos aumentaron en el grupo SM. El mecanismo preciso que subyace a estas anomalías en la regulación de la glucosa no se conoce por completo, pero la resistencia a la insulina en el SM se ha atribuido al aumento del tejido adiposo y la sobreabundancia de ácidos grasos circulantes y su acumulación (Eckel *et al.* 2005, Alonso-Magdalena *et al.* 2011). Por otra parte, el diagnóstico de la diabetes tipo II en conejos utilizando la glucosa en la sangre no se ha establecido, pero

se podría concluir que los conejos en el grupo SM desarrollaron un estado de pre-diabetes con glucemia basal alterada y una intolerancia a la glucosa en ayunas. A pesar de que los conejos no desarrollaron diabetes tipo 2, el modelo podría ser útil para estudiar la condición que precede a la manifestación clínica de la patología, lo que permitiría la identificación de marcadores preclínicos que podrían permitir la detección de pacientes con riesgo de desarrollar la enfermedad.

En nuestro modelo, la dislipidemia apareció ya en la semana 14 y se mantuvo en la semana 28. Las alteraciones en el perfil lipídico plasmático se caracterizaron por un aumento de los triglicéridos y el colesterol LDL, una disminución del colesterol HDL y la ausencia de cambios en el colesterol total. Esto es similar a los criterios que se han establecido en humanos para el diagnóstico del SM (Alberti *et al.* 2009). Además, también encontramos una disminución en los niveles de urea en plasma que podría explicarse por la cantidad reducida de proteína presente en la comida de los conejos con SM (15,7 frente a 23,4%). Por el contrario, la proteína total aumentó en conejos con SM en las semanas 14 y 28 sin cambios en la albúmina, por lo que este aumento probablemente se debió a un aumento en las globulinas, algunas de las cuales se han relacionado recientemente con el desarrollo de diabetes tipo 2 (Guo *et al.* 2016) y han sido propuestas como biomarcadores para el desarrollo de fibrosis hepática en la enfermedad del hígado graso no alcohólico (Sahebkar *et al.* 2017).

El análisis de plasma también nos permitió encontrar signos

4. Discusión

de anomalías hepáticas, como lo demuestra el aumento de GOT-AST, la relación GOT / GPT, los ácidos biliares y la bilirrubina en las semanas 14 y 28. Las modificaciones de los marcadores de daño hepático son, cuando la patología no está relacionada con esteatosis alcohólica, inespecífica, e incluyen un aumento de GOT-AST, GPT-ALT, GGT y bilirrubina. Por tanto, nuestros resultados son compatibles con el desarrollo de esteatosis hepática. Cuando examinamos la histología hepática después de la tinción con hematoxilina-eosina y la realización de un estudio morfométrico, se observó un aumento en el área de hepatocitos y en el porcentaje de infiltración de vacuolas lipídicas. Estos cambios también son consistentes con el desarrollo de esteatosis hepática que, a pesar de no estar incluida en los criterios de diagnóstico del SM, a menudo acompaña a este grupo de anomalías metabólicas (Semenkovich & Heinecke 2017) y podría conducir al desarrollo de esteatohepatitis, fibrosis y cirrosis. Se han informado resultados similares en conejos Watanabe con hiperlipidemia hereditaria después de 16 semanas de alimentación rica en grasas (10%) y alta en fructosa (30%) (Ning *et al.* 2016).

Para concluir, en este primer estudio desarrollamos un modelo relevante de SM inducido por la dieta, caracterizado por obesidad central, hipertensión, prediabetes y dislipidemia con HDL bajo, LDL alto y aumento de los niveles de TG, reproduciendo así las principales manifestaciones clínicas del síndrome metabólico en humanos. De este modo, el modelo experimental se presenta como una valiosa herramienta para estudiar los mecanismos subyacentes a los diversos problemas cardiovasculares, hormonales o metabólicos

relacionados con el SM, con especial relevancia en el estudio del remodelado cardiovascular, las arritmias y la muerte cardíaca súbita, como desarrollamos en el segundo estudio.

4.2. Modificaciones morfológicas, funcionales y electrográficas cardíacas

En primer lugar, por lo que respecta al remodelado morfológico y funcional cardíaco, el estudio ecocardiográfico reveló una hipertrofia ventricular izquierda ya evidente en la semana 14 de administración de la dieta, a expensas de un aumento del grosor del septo interventricular y la pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole, así como la masa normalizada del ventrículo izquierdo del grupo de animales con SM. También se encontró un aumento significativo en el diámetro de la aorta que suele acompañar a la hipertrofia ventricular. La hipertrofia ventricular izquierda ha sido reportada en la mayoría de los modelos animales de obesidad y síndrome metabólico inducidos por la dieta, tanto de rata y ratón (Barouch *et al.* 2003, Ouwens *et al.* 2005) como de conejo (Carroll *et al.* 1999, Zarzoso *et al.* 2014) y perro (Villa *et al.* 1998). La patogénesis de la hipertrofia cardíaca es compleja y está relacionada con la coexistencia de la hipertensión, la expansión del volumen plasmático y la activación del sistema nervioso simpático (Abel *et al.* 2008). En humanos, la hipertrofia ventricular izquierda de tipo concéntrico es un patrón característico en los individuos obesos, produciéndose tanto por un aumento del tamaño de la cavidad ventricular como del grosor de la pared (Iacobellis *et al.* 2004, Wong

4. Discusión

et al. 2004, Heckbert *et al.* 2006, Litwin *et al.* 2007, Aurigemma *et al.*, 2013), aunque es esta última la que aumenta en mayor proporción.

La ausencia de cambios funcionales en el resto de los parámetros contrasta con las evidencias presentes en la literatura. La mayoría de los estudios ha evidenciado una ligera disfunción de la función sistólica que no suele producirse en animales más jóvenes (Buchanan *et al.* 2005, Semeniuk *et al.* 2002, Van den Bergh *et al.* 2006). Otros estudios han reportado también cambios en la función diastólica (Semeniuk *et al.* 2002, Christoffersen *et al.* 2003, Zarzoso *et al.* 2014). Diferencias en la especie, el modelo animal (uso de animales transgénicos) o los anestésicos utilizados podrían explicar estas discrepancias. Asimismo, en nuestro modelo experimental, podría explicarse también por el hecho de que los animales se encuentren en un estado inicial en el desarrollo de la patología, en el que la severidad de los cambios es limitada (manifestación subclínica) y los cambios ligeros, tal y como hemos observado con los niveles de glucosa o la presión arterial.

Por otro lado, los resultados obtenidos en estudios clínicos en cuanto al análisis ecocardiográfico son muy variables. Así, se han reportado descensos en la fracción de eyección (De la Maza *et al.* 1994, Ferraro *et al.* 1996), ausencia de cambios (Grandi *et al.* 2000, Krishnan *et al.* 2005, Avelar *et al.* 2007) e incluso un aumento (Iacobellis *et al.* 2002, Pascual *et al.* 2003). No obstante, los pacientes con obesidad y SM suelen presentar una manifestación subclínica de anomalías en la contracción por una reducción de la fracción de

acortamiento del ventrículo izquierdo y la velocidad de deformación sistólica (Peterson *et al.* 2004, Wong *et al.* 2004, Avelar *et al.* 2007). También son heterogéneos los resultados obtenidos en la función diastólica, reportándose en unos casos descensos en la velocidad de la onda E (Iacobellis 2004) o ausencia de modificaciones (Morricone *et al.* 2002, Otto *et al.* 2004, Pascual *et al.* 2003), aumento de la velocidad de la onda A (Iacobellis 2002) o ausencia de modificaciones (Otto *et al.* 2004, Pascual *et al.* 2003), así como un aumento del tiempo de relajación isovolumétrica (Berkalp *et al.* 1995, Morricone *et al.* 2002), siendo este último el cambio más consistente. Por tanto, en humanos, los resultados no son del todo concluyentes, lo cual podría deberse a que todavía se desconoce si la obesidad y el síndrome metabólico producen las alteraciones funcionales que conducen al deterioro de la función cardíaca independientemente de la enfermedad coronaria u otras comorbilidades.

Por último, no podemos olvidar que supone un verdadero reto comparar directamente los hallazgos reportados en estudios clínicos con estudios realizados en animales. Generalmente, el remodelado patológico que se da en animales tiende a ser más pronunciado que en humanos, sobre todo al utilizar modelos transgénicos, dado que las anomalías genéticas presentes en muchos de los modelos animales no suelen manifestarse en humanos con obesidad (Abel *et al.* 2008).

A continuación, realizamos un estudio electrocardiográfico para investigar el remodelado patológico asociado al SM. Tras

4. Discusión

analizar registros de 15 minutos de duración, encontramos un incremento en la duración de los intervalos PQ, QRS, QT corregido (QTc) y la onda T en el grupo de animales con SM, la mayoría de ellos ya evidentes en la semana 14 del protocolo experimental. Por tanto, el remodelado patológico inducido por el SM produjo alteraciones en la conducción aurículo-ventricular y ventricular, así como en la repolarización ventricular. Dichas alteraciones, en especial el aumento en la duración y dispersión del QTc, se han relacionado con una mayor predisposición a padecer eventos arrítmicos y MSC (Messerli *et al.* 1987, Kannel *et al.* 1988, Lakhani & Fein 2011, Grundy 2012). Dichos cambios son consistentes con los resultados obtenidos en otros modelos de obesidad inducida por una dieta alta en grasas en el mismo modelo animal (Zarzoso *et al.* 2014).

En humanos, cada uno de los componentes del SM como la dislipidemia, la hipertensión, la resistencia a la insulina y/o la intolerancia a la glucosa, así como la obesidad abdominal, producen, como hemos visto, cambios estructurales cardíacos. Sin embargo, también afectan la actividad eléctrica cardíaca, habiéndose relacionado el remodelado patológico inducido por el SM con la aparición de arritmias y MSC (Fraley *et al.* 2005). Las modificaciones electrocardiográficas más frecuentes que suelen producirse son un cambio a la izquierda en el eje de la onda P, el QRS y la onda T, una disminución de la amplitud del QRS, un aplanamiento de la onda T y una prolongación de los intervalos PR, QRS, QT y QTc (Frank *et al.* 1986; El-Gamal *et al.* 1995, Alpert *et al.* 2000).

En especial, el aumento en la duración del intervalo QTc que hemos observado al aumentar el peso de los animales, está en la misma línea que los resultados clínicos que sugieren similares hallazgos (Girola *et al.* 2001, Mukerji *et al.* 2012a). Además, también ha sido reportado que la prolongación del intervalo QTc guarda relación con el aumento de la masa del ventrículo izquierdo (Mukerji *et al.* 2012b), que también aumentó en nuestro modelo experimental de SM.

Por tanto, podríamos concluir que nuestro modelo experimental reproduce las principales características del remodelado patológico que la obesidad y el SM producen tanto en la morfología y función cardíacas, como en la actividad eléctrica del corazón. Dichas modificaciones podrían estar relacionadas con la aparición de arritmias y MSC, aunque los mecanismos exactos subyacentes no son del todo conocidos. Gracias a esta caracterización del remodelado patológico que se produce “in vivo”, podremos relacionar estos cambios con los resultados obtenidos en corazón aislado, a través de los cuales tratamos de ahondar en los posibles mecanismos electrofisiológicos subyacentes y su implicación en los procesos arrítmicos.

4.3. Remodelado eléctrico intrínseco cardíaco

Posteriormente, estudiamos el remodelado patológico en el órgano aislado y, por tanto, no sujeto a factores nerviosos y/o humorales extrínsecos, para investigar las modificaciones electrofisiológicas intrínsecas cardíacas que guardan estrecha

4. Discusión

relación con los procesos de desencadenamiento, instauración y mantenimiento de la actividad arrítmica y fibrilatoria.

El mapeo óptico simultáneo de los ventrículos derecho e izquierdo nos permitió encontrar un acortamiento de la duración del potencial de acción óptico al 90% de la repolarización en el ventrículo derecho en el grupo de animales con SM. Estos cambios, en condiciones fisiológicas, pueden ser un reflejo de un acortamiento de la refractariedad miocárdica (Nerbone & Kass 2005). Además, también encontramos diferencias en el coeficiente de triangulación, un estimador morfológico del potencial de acción óptico, que disminuyó en los animales con SM, e indica una mayor triangulación del mismo. En conjunto, estos cambios podrían apuntar a modificaciones en el equilibrio de las corrientes iónicas que dan forma a la fase de repolarización del potencial de acción, especialmente un aumento en la densidad de las corrientes de salida de potasio o las corrientes lenta y/o rápida de entrada de calcio. En efecto, el estudio de la expresión de los genes que codifican las proteínas que conforman los principales canales iónicos cardíacos que dan forma al potencial de acción ($Na_v1.5$, $Ca_v1.2$, $K_{ir2.1}$, $K_v4.2$, $KChIP2$ y K_vLQT1), determinada a través de qRT-PCR, nos permitió encontrar un aumento en la expresión de $KChIP2$ y K_vLQT1 únicamente en el ventrículo derecho (Arias-Mutis *et al.* 2017). $KChIP2$ modula, junto a la familia de canales de potasio K_v4 , la corriente de salida rápida de potasio ($I_{to,f}$) que actúa en la fase temprana de la repolarización (Nassal *et al.* 2017), mientras que K_vLQT1 es una proteína que forma el canal que vehicula la corriente

lenta de salida de potasio (I_{Ks}), que forma parte de las corrientes rectificadoras retardadas de potasio junto a I_{Kr} (Nerbone & Kass 2005). De este modo, el aumento en la expresión de dichos canales apuntaría a un aumento en la densidad de las corrientes de salida de potasio, y con ello podríamos explicar, al menos parcialmente, el acortamiento de la duración del potencial de acción observado en el ventrículo derecho, y su triangularización. La triangularización y la inestabilidad del potencial de acción, así como el acortamiento del APD, han demostrado ser predictores de eventos pro-arrítmicos in-vivo (Hondeghe *et al.* 2001).

No encontramos modificaciones del automatismo, de la conducción aurículo-ventricular o de la refractariedad ventricular (periodos refractarios efectivo y funcional) determinada con el test del extraestímulo, ni en la duración del potencial de acción óptico en el ventrículo izquierdo. Estos resultados son similares a los obtenidos en modelos de obesidad inducidos por una dieta alta en grasas en conejo (Zarzoso *et al.* 2014), quienes no encontraron diferencias en la duración del potencial de acción óptico del ventrículo izquierdo al 80% de la repolarización. Por otro lado, Stables *et al.* (2014), tampoco encontraron modificaciones de la duración del potencial de acción óptico del ventrículo izquierdo en un modelo experimental de diabetes tipo I en conejo.

Otra de las propiedades electrofisiológicas que puede ayudarnos a determinar el grado de vulnerabilidad del miocardio frente a los procesos de desencadenamiento e instauración de

4. Discusión

arritmias es la velocidad de conducción del impulso eléctrico. Con este objetivo, determinamos la velocidad de conducción en los ventrículos izquierdo y derecho gracias al mapeo óptico epicárdico. Sin embargo, no encontramos diferencias al comparar entre grupos en ninguna de las frecuencias de estimulación utilizadas. Estos resultados son coincidentes con los obtenidos en estudios previos en modelos de obesidad inducida por una dieta alta en grasas (Zarzoso *et al.* 2014).

No obstante, al determinar la longitud de onda del proceso de activación, parámetro tradicionalmente utilizado para determinar la vulnerabilidad arrítmica del miocardio, encontramos una disminución de la misma en el grupo de animales con SM dependiente, fundamentalmente, del acortamiento de la refractariedad, al no haberse producido cambios en la velocidad de conducción. La presencia de heterogeneidad y gradientes en la restitución de la velocidad de conducción se ha relacionado con la presencia de alternos y arritmias fatales en modelos animales (Mironov *et al* 2008), sin embargo, no se ha realizado un análisis detallado de la restitución. Por otra parte, los cambios en la longitud de onda se han analizado a frecuencias fijas, con un numero discreto de frecuencias de estimulación que no alcanzan las frecuencias observadas durante los procesos fibrilatorios. Un análisis más detallado de los procesos de inducción y fibrilatorios podría permitirnos analizar cambios latido-latido en la longitud de onda.

Por tanto, nuestros resultados apuntan a la ausencia de un remodelado eléctrico en el ventrículo izquierdo, mientras que en el ventrículo derecho se produjo un acortamiento de la duración del potencial de acción, muy probablemente debido al aumento en la densidad de las corrientes de salida de potasio I_{to} e I_{Ks} . Esto nos lleva a la conclusión de que otros factores, ajenos a las propiedades intrínsecas del miocardio ventricular, como podrían ser el remodelado del sistema nervioso autónomo extrínseco, el efecto de los ácidos grasos libres circulantes o el incremento en la poscarga, podrían contribuir a los cambios observados en el intervalo QTc. Estudios previos en conejos obesos (Carroll *et al.* 1996) mostraron una concentración reducida de K^+ plasmático, que también podría contribuir al incremento en la duración del QTc. Sin embargo, no realizamos las mediciones necesarias para confirmar esta hipótesis.

Por último, analizamos las características espectrales de los episodios de fibrilación ventricular (FV) inducida en condiciones de normoxia. Tras realizar un análisis en el dominio de la frecuencia, observamos un aumento de la frecuencia dominante en el ventrículo derecho del grupo de animales con SM, consistente con la disminución de la duración del potencial óptico, dada la relación existente entre éste y la refractariedad miocárdica (Choi *et al.* 2001, Zarzoso *et al.* 2012). Además, en el grupo control se encontró un gradiente de frecuencias entre el ventrículo izquierdo y derecho, siendo mayor la frecuencia dominante en el ventrículo izquierdo, gradiente que existe naturalmente dadas las diferencias en la refractariedad entre ambos ventrículos (Wu *et al.* 2006). Sin

4. Discusión

embargo, en el grupo de animales con SM no encontramos diferencias entre el ventrículo izquierdo y derecho, al presentar este último una mayor frecuencia dominante durante FV. Estos resultados tuvieron su correspondencia en el dominio del tiempo, en el que encontramos una disminución de la duración de los intervalos VV en el ventrículo derecho de los animales con SM, así como la desaparición de la diferencia fisiológica entre los ventrículos derecho e izquierdo, que sí fue evidente en el grupo control. Esta diferencia natural afecta a los patrones de activación y repolarización de manera transmural (Durrer *et al.* 1970; Prenner *et al.* 2016) y es en parte protectora ante ritmos rápidos. La atenuación o desaparición puede suponer un incremento en la vulnerabilidad miocárdica del corazón completo, en primer lugar, favoreciendo la arritmogénesis y ritmos rápidos en todo el miocardio, y, en segundo lugar, permitiendo la transición de ritmos acelerados, siendo capaz de albergar fuentes organizadas de alta frecuencia que promuevan eventos arrítmicos mantenidos en distintas regiones.

Distintos autores resaltan la importancia de los cambios en la heterogeneidad fisiológica y en la dispersión transmural de repolarización, así como su relación directa con arritmias fatales (Antzelevitch *et al.* 2007). El remodelado diferencial entre ventrículos en algunas condiciones patológicas, afectando a los gradientes de activación-repolarización interventricular, ha sido destacado por distintos autores (Molina *et al.* 2016; Bernal-Ramirez J *et al.* 2021) como un importante predictor de mortalidad, como es el caso de la hipertensión pulmonar relacionado con patologías de

cavidades izquierdas con influencia negativa en cavidades derechas. Sin embargo, todavía se desconocen en detalle los mecanismos de influencia entre ventrículos en presencia de remodelado patológico y su impacto potencial sobre la arritmogénesis y mantenimiento de arritmias fatales.

Por lo que respecta a la heterogeneidad electrofisiológica, utilizamos en índice de regularidad, que expresa la potencia espectral contenida en una banda de 0,5 Hz alrededor de la frecuencia dominante, de modo que la disminución de este parámetro refleja una mayor heterogeneidad electrofisiológica. No encontramos diferencias entre los grupos, pero el análisis dentro de cada grupo evidenció un incremento del índice de regularidad y, por tanto, una menor heterogeneidad electrofisiológica, en el ventrículo derecho. Estos resultados son consistentes con los observados en un modelo de obesidad inducido por una dieta alta en grasas, en los que no se encontraron diferencias en la heterogeneidad electrofisiológica del ventrículo izquierdo durante la fibrilación mantenida en normoxia (Zarzoso *et al.* 2014).

4.4. Implicaciones traslacionales de los modelos animales de SM

Los modelos animales de obesidad y síndrome metabólico, especialmente los murinos (rata y ratón), han proporcionado una información muy valiosa sobre los mecanismos implicados en la fisiopatología del síndrome metabólico. Sin embargo, cuando se trata de estudiar el remodelado electrofisiológico presentan importantes

4. Discusión

limitaciones que lastran su potencial traslacional. Por ejemplo, el potencial de acción ventricular tiene forma triangular, una muy corta duración (unos 50 ms.) y carece de las principales corrientes repolarizantes de potasio que están presentes en el ventrículo humano (I_{Kr} e I_{Ks}) (Nerbonne & Kass 2005, Killeen *et al.* 2008). Por el contrario, en el miocardio ventricular de conejo, la morfología del potencial de acción es de pico y domo, como en el humano, su duración es aproximadamente 200-300 ms y la repolarización está mediada principalmente por I_{Kr} e I_{Ks} , lo cual es similar al ventrículo humano (Lengyel *et al.* 2001, 2008, Torres-Jacome *et al.* 2013). Además, el modelo de conejo se ha utilizado de manera extensa para el estudio de arritmias mantenidas y la fibrilación ventricular (Noujaim *et al.* 2010, Zarzoso *et al.* 2012, Zarzoso *et al.* 2014, Stables *et al.* 2014).

Para finalizar, nuestro estudio presenta la primera caracterización detallada del remodelado electrofisiológico intrínseco que se produce como consecuencia del síndrome metabólico, lo cual podría tener importantes implicaciones en el conocimiento básico de la fisiopatología del síndrome metabólico a nivel cardíaco, su impacto a nivel estructural, funcional y electrofisiológico, los mecanismos de desencadenamiento, instauración y mantenimiento de la actividad arrítmica y fibrilatoria y sus potenciales tratamientos.

4.5. Limitaciones del estudio

Por lo que respecta a las limitaciones del primer estudio de caracterización del modelo, podríamos considerar las siguientes: 1) Con respecto a la obesidad central, se midió la circunferencia abdominal y el IMC, pero la determinación de la distribución de la grasa corporal usando imágenes de resonancia magnética habrían ofrecido una información más detallada; 2) los animales del grupo SM desarrollaron intolerancia a la glucosa, como se muestra por el aumento de la glucosa en ayunas y el área bajo la curva del test de tolerancia a la glucosa, pero el nivel de insulina no se determinó así que no puede establecer si la causa de la intolerancia a la glucosa era resistencia a la insulina o la disminución de la producción de insulina; 3) Utilizamos hematoxilina y eosina para la evaluación histológica del hígado. No obstante, el uso de aceite de color rojo-O habría proporcionado una tinción más precisa del contenido de lípidos. 4) Es destacable que los efectos globales sobre el perfil metabólico fueron muy similares entre la semana 14 y la semana 28, sin un empeoramiento evidente, lo que podría sugerir que los animales se enfrentan a un proceso de adaptación.

A pesar de que no tenemos datos reales para explicar este proceso, podríamos especular con la combinación de los siguientes factores: primero, el uso de conejos adultos jóvenes, ya que el síndrome metabólico se produce a menudo en adultos de mediana edad o mayores(Hildrum *et al.* 2007, Vishram *et al.* 2014); segundo, la disminución de la ingesta de la solución de la bebida durante el último tercio del período de 28 semanas, que produjo una

4. Discusión

disminución de la ingestión de sacarosa y podría estar relacionado con la estabilización de la glucemia en ayunas y el resto de las mediciones realizadas en muestras de plasma; tercero, el aumento de peso fue evidente en la segunda mitad del estudio, pero no tan marcada como la primera media, en línea con la disminución de la ingesta, que podría explicar también la estabilización de la presión arterial, ya que, como es bien conocido, la relación entre la hipertensión y el IMC es casi lineal (Hall *et al.* 2015).

Por lo que respecta a las limitaciones del segundo estudio, la caracterización de las modificaciones estructurales, funcionales y electrocardiográficas, así como el estudio de las propiedades electrofisiológicas en corazón aislado, podríamos destacar las siguientes: 1) Las mediciones “in vivo” se realizaron en animales anestesiados en ambos grupos. Aunque la combinación de anestésicos con la concentración utilizada (propofol para inducción e isoflurano para mantenimiento) no parece modificar significativamente los parámetros cardiovasculares (Marano *et al.* 1996, Tearney *et al.* 2015), no podemos excluir los posibles efectos en el ECG y la función cardíaca. No obstante, los intervalos QT se corrigieron para compensar los posibles cambios en la frecuencia cardíaca. 2) Los experimentos de mapeo óptico epicárdico se realizaron utilizando la blebistatina como desacoplante electromecánico para eliminar la contracción y el artefacto producido por el movimiento. A pesar de ser la sustancia más ampliamente utilizada en los estudios realizados con esta técnica y tener un impacto menor en la electrofisiología cardíaca que otros desacoplantes electromecánicos como la butanediona (Lou *et al.*

2011, Brines *et al.* 2012), puede modificar propiedades eléctricas como la refractariedad o el umbral fibrilatorio (Brack *et al.* 2013). No obstante, utilizamos la misma concentración en todos los experimentos para tratar de minimizar este efecto, derivado de la técnica utilizada.

Capítulo 5

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

El presente estudio se ha llevado a cabo con el fin de desarrollar y caracterizar un modelo de síndrome metabólico (SM) inducido por la administración de una dieta alta en grasas y azúcares que presente las diferentes manifestaciones que se dan en el ser humano. Asimismo, partiendo de este modelo, hemos tratado de investigar el efecto que la combinación de los diferentes componentes del SM ejerce sobre el remodelado estructural, funcional y eléctrico cardíaco, y su implicación en los procesos de instauración, mantenimiento y cese de la actividad arrítmica y fibrilatoria. Por tanto, a la luz de los resultados obtenidos, podemos concluir que:

1. La administración de una dieta alta en grasas y azúcares durante 28 semanas indujo: a) obesidad central, b) un estado de prediabetes caracterizado por una alteración de la glucosa en ayunas e intolerancia a la glucosa, c) hipertensión leve, d) alteraciones en el perfil lipídico, revelados por un aumento de los triglicéridos y el colesterol LDL con una disminución de HDL (sin cambios en el colesterol total), e) daño hepático, como lo demuestra el aumento de GOT-AST, relación GOT / GPT, ácidos biliares y bilirrubina, y f) esteatosis hepática. De este modo, estos resultados corroboran el desarrollo de un modelo animal relevante y económico de SM, inducido por la dieta, que reproduce los principales cambios que ocurren en el ser humano.

5. Conclusiones

2. El SM indujo modificaciones en la estructura cardíaca “in vivo”, concretamente una hipertrofia ventricular izquierda y un aumento del diámetro de la arteria aorta, sin cambios aparentes en los parámetros funcionales determinados a través del análisis electrocardiográfico.
3. El SM produjo cambios en la actividad eléctrica cardíaca “in vivo” determinada a través de la electrocardiografía, evidenciados con un incremento en la duración de los intervalos PQ, QRS, QT corregido y la onda T, la mayoría de ellos ya evidentes en la semana 14 del protocolo experimental. Se observa, por tanto, un remodelado patológico con alteraciones en la conducción aurículo-ventricular y ventricular, así como en la repolarización ventricular, habiéndose relacionado algunos de ellos con una mayor predisposición a padecer eventos arrítmicos y muerte súbita cardíaca.
4. En corazón aislado, el grupo de animales con SM presentó un acortamiento de la refractariedad del ventrículo derecho, evidenciado por la disminución en la duración del potencial de acción óptico al 90% de la repolarización, una mayor triangulación del mismo, así como una disminución en la longitud de onda del proceso de activación, lo cual podría ser considerado como un mecanismo electrofisiológico básico que promovería la actividad arrítmica y fibrilatoria.

5. El estudio de la dinámica y características de los procesos fibrilatorios nos permitió identificar un aumento en la frecuencia dominante del ventrículo derecho en el grupo de animales con SM, consecuencia del acortamiento de la refractariedad ventricular derecha, que mostró también una correspondiente disminución en la duración del intervalo VV al efectuar el análisis en el dominio del tiempo. Además, el gradiente fisiológico de frecuencias que se da entre los ventrículos derecho e izquierdo fruto de las diferencias regionales en la refractariedad se vio abolido en el grupo de animales con SM, lo cual podría tener importantes implicaciones en los procesos de instauración y mantenimiento de procesos arrítmicos y fibrilatorios.
6. El modelo experimental de síndrome metabólico en conejo, inducido por la administración de una dieta alta en grasas y azúcares, podría ser una plataforma de gran utilidad por su bajo coste económico y potencial traslacional, para el estudio del remodelado cardiovascular producido por esta compleja entidad nosológica, los mecanismos subyacentes y el desarrollo de estrategias terapéuticas encaminadas a paliar dichas alteraciones, o incluso identificar marcadores de uso clínico y pre-clínico asociados al riesgo de desarrollar fenómenos arritmogénicos y de afectación cardiovascular por SM.

Capítulo 6

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. (2008) "Cardiac Remodeling in Obesity". *Physiol Rev*, 88(2), pp. 389-419.
- Alaud-din A, Meterissian S, Lisbona R, *et al.* (1990) "Assessment of cardiac function in patients who were morbidly obese". *Surgery*, 108(4), pp. 809-820.
- Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, *et al.* (2009) "Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity". *Circulation*, 120(16), pp. 1640-1645.
- Alberti KG, Zimmet PZ. (1998) "Definition, Diagnosis, and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation". *Diabet Med*, 15(7), pp. 539-553.
- Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. (2005) "The metabolic syndrome - A new worldwide definition". *Lancet*, 366(9491), pp. 1059-1062.
- Alonso-Magdalena P, Quesada I, Nadal A. (2011) "Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus". *Nat Rev Endocrinol*, 7(6), pp. 346-353.
- Alpert MA, Alexander JK. Cardiac morphology and obesity in man. In: Alpert MA, Alexander JK, editors. *The heart and lung in obesity*. Armonk: Futura Publishing Co; 1998. p. 25-49.
- Alpert MA, Lambert CR, Panayiotou H, *et al.* (1995) "Relation of duration of morbid obesity to left ventricular mass, systolic function and diastolic filling, and effect of weight loss". *Am J Cardiol*, 76(16), pp. 1194-1197.

6. Referencias bibliográficas

- Alpert MA, Lambert CR, Terry BE, *et al.* (1994) “Effect of weight loss on left ventricular mass in non-hypertensive morbidly obese patients”. *Am J Cardiol*, 73(12), pp. 918-921.
- Alpert MA, Lavie CJ, Agrawal H, Aggarwal KB, Kumar SA. (2014) “Obesity and heart failure: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management”. *Transl Res*, 164(4), pp. 345-356.
- Alpert MA, Pritchett AM. (2016) “Bariatric Surgery in Patients With Left Ventricular Systolic Dysfunction: Effective, But Is It Safe?”. *Circ Heart Fail*, 9(3), pp. e002960.
- Alpert MA, Terry BE, Cohen MV, Fan TM, Painter JA, Massey CV. (2000) “The electrocardiogram in morbid obesity”. *Am J Cardiol*, 85(7), pp. 908-910.
- Alpert MA. (2001) “Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome”. *Am J Med Sci*, 321(4), pp. 225-236.
- Alpert MA, Omran J, Bostick BP. (2016) “Effects of Obesity on Cardiovascular Hemodynamics, Cardiac Morphology, and Ventricular Function”. *Curr Obes Rep*, 5(4), pp. 424-434.
- Ansarimoghaddam A, Adineh HA, Zareban I, Iranpour S, HosseinZadeh A, Kh F. (2018) “Prevalence of metabolic syndrome in Middle-East countries: Meta-analysis of cross-sectional studies”. *Diabetes Metab Syndr*, 12(2), pp. 195-201.
- Arias-Mutis OJ, Calvo CJ, Bizy A, Such-Miquel L, Guill A, Tormos A, Alberola A, Noujaim SF, Such L, Chorro FJ, Zarzoso M. Ventricular remodeling in an experimental model of diet-induced metabolic syndrome in rabbits. *Eur Heart J* 2017; 38(S1):335.
- Aromolaran AS, Colecraft HM, Boutjdir M. (2016) “High-fat diet-dependent modulation of the delayed rectifier K (+) current in adult guinea pig atrial myocytes”. *Biochem Biophys Res Commun*, 474(3), pp. 554-559.

6. Referencias bibliográficas

- Aromolaran AS and Boutjdir M. (2017) "Cardiac Ion Channel Regulation in Obesity and the Metabolic Syndrome: Relevance to Long QT Syndrome and Atrial Fibrillation". *Front Physiol*, 8, pp. 431.
- Antzelevitch C. (2007) "Heterogeneity and cardiac arrhythmias: an overview". *Heart Rhythm*, 4(7), pp. 964-972.
- Aurigemma GP, de Simone G, Fitzgibbons TP. (2013) "Cardiac remodeling in obesity". *Circ Cardiovasc Imaging*, 6(1), pp. 142-152.
- Avelar E, Cloward TV, Walker JM, Farney RJ, Strong M, Pendleton RC, Segerson N, Adams TD, Gress RE, Hunt SC, Litwin SE. (2007) "Left ventricular hypertrophy in severe obesity: interactions among blood pressure, nocturnal hypoxemia, and body mass". *Hypertension*, 49(1), pp. 34-39.
- BR Choi, T Liu, G Salama. (2001) "The distribution of refractory periods influences the dynamics of ventricular fibrillation". *Circ Res*, 88(5), pp. E49-58.
- Balkau B, Charles MA. (1999) "Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)". *Diabet Med*, 16(5), pp. 442-443.
- Balkau B, Valensi P, Eschwège E, Slama G. (2007) "A review of the metabolic syndrome". *Diabetes Metab*, 33(6), pp. 405-413.
- Balkau B. (2005) "Epidemiology of the metabolic syndrome and the RISC study". *Eur Heart Journal*, 7(D), pp. D6-D9.
- Barouch LA, Berkowitz DE, Harrison RW, O'Donnell CP, Hare JM. (2003) "Disruption of leptin signaling contributes to cardiac hypertrophy independently of body weight in mice". *Circulation*, 108(6), pp. 754-759.
- Barrett Eugene J. (2017) "El páncreas endocrino" en "Fisiología Médica". Boron WF y Boulpaep EL. Elsevier España. 3ª edición, pp. 1035-1053e1.

6. Referencias bibliográficas

- Bélanger-Ducharme F, Tremblay A. (2005) “Prevalence of obesity in Canada”. *Obes Rev*, 6(3), pp. 183-186.
- Berkalp B, Cesur V, Corapcioglu D, Erol C, Baskal N. (1995) “Obesity and left ventricular diastolic dysfunction”. *Int J Cardiol*, 52(1), pp. 23-26.
- Bernal-Ramirez J, Díaz-Vesga MC, Talamilla M, Méndez A, Quiroga C, Garza-Cervantes JA, Lázaro-Alfaro A, Jerjes-Sanchez C, Henríquez M, García-Rivas G, Pedrozo Z. (2021) “Exploring Functional Differences between the Right and Left Ventricles to Better Understand Right Ventricular Dysfunction”. *Oxid Med Cell Longev*, 2021; pp. 9993060.
- Brack KE, Narang R, Winter J, Ng GA. (2013) “The mechanical uncoupler blebbistatin is associated with significant electrophysiological effects in the isolated rabbit heart”. *Exp Physiol*, 98(5), pp. 1009-1027.
- Brines L, Such-Miquel L, Gallego D, Trapero I, Del Canto I, Zarzoso M, Soler C, Pelechano F, Cánoves J, Alberola A, Such L, Chorro FJ. (2012) “Modifications of mechanoelectric feedback induced by 2,3-butanedione monoxime and Blebbistatin in Langendorff-perfused rabbit hearts”. *Acta Physiol (Oxf)*, 206(1), pp. 29-41.
- Broussard JL, Nelson MD, Kolka CM, Bediako IA, Paszkiewicz RL, Smith L, Szczepaniak EW, Stefanovski D, Szczepaniak LS, Bergman RN. (2016) “Rapid development of cardiac dysfunction in a canine model of insulin resistance and moderate obesity”. *Diabetologia*, 59(1), pp. 197-207.
- Buchanan J, Mazumder PK, Hu P, Chakrabarti G, Roberts MW, Yun UJ, Cooksey RC, Litwin SE, Abel ED. (2005) “Reduced cardiac efficiency and altered substrate metabolism precedes the onset of hyperglycemia and contractile dysfunction in two mouse models of insulin resistance and obesity”. *Endocrinology*, 146(12), pp. 5341-5349.

6. Referencias bibliográficas

- Campbell K, Calvo CJ, Mironov S, Herron T, Berenfeld O, Jalife J. (2012) "Spatial gradients in action potential duration created by regional magnetofection of hERG are a substrate for wavebreak and turbulent propagation in cardiomyocyte monolayers". *J Physiol*, 590(24), pp. 6363-6379.
- Carlsson L, Abrahamsson C, Andersson B, Duker G, Schiller-Linhardt G. (1993) "Proarrhythmic effects of the class III agent almokalant: importance of infusion rate, QT dispersion, and early afterdepolarisations". *Cardiovasc Res*, 27(12), pp. 2186-2193.
- Carroll JF, Summers RL, Dzielak DJ, Cockrell K, Montani JP, Mizelle HL. (1999) "Diastolic compliance is reduced in obese rabbits". *Hypertension*, 33(3), pp. 811-815.
- Carroll JF, Dwyer TM, Grady AW, Reinhart GA, Montani JP, Cockrell K, Meydrech EF, Mizelle HL. (1996) "Hypertension, cardiac hypertrophy, and neurohumoral activity in a new animal model of obesity". *Am J Physiol*, 271(1 Pt 2), pp. H373-H378.
- Christensen PK, Gall MA, Major-Pedersen A, Sato A, Rossing P, Breum L, Pietersen A, Kastrup J, Parving HH. (2000) "QTc interval length and QT dispersion as predictors of mortality in patients with non-insulin-dependent diabetes". *Scand J Clin Lab Invest*, 60(4), pp. 323-332.
- Christoffersen C, Bollano E, Lindegaard ML, Bartels ED, Goetze JP, Andersen CB, Nielsen LB. (2003) "Cardiac lipid accumulation associated with diastolic dysfunction in obese mice". *Endocrinology*, 144(8), pp. 3483-3490.
- Cordero Fort A., Alegría Barrero A., Moreno Arribas J. Relación del síndrome metabólico con la hipertensión arterial, la cardiopatía isquémica y la insuficiencia cardíaca. En Grima Serrano A. El síndrome metabólico. 1ª. Grupo Acción médica; 2010. 1-10.
- Cornier MA, Després JP, Davis N, Grossniklaus DA, Klein S, Lamarche B, et al. (2011) "Assessing adiposity: a scientific statement from the American Heart Association". *Circulation*, 124(18), pp. 1996-2019.

6. Referencias bibliográficas

- Cuesta M, Fuentes M, Rubio M, Bordiu E, Barabash A, Garcia de la Torre N, Rojo-Martínez G, Valdes S, Soriguer F, Vendrell JJ, Urrutia IM, Ortega E, Montanya E, Menendez E, Lago-Sampedro A, Gomis R, Goday A, Castell C, Badia-Guillen R, Gírbés J, Gaztambide S, Franch-Nadal J, Delgado Álvarez E, Chaves FJ, Castano L, Calle-Pascual AL. (2020) "Incidence and regression of metabolic syndrome in a representative sample of the Spanish population: results of the cohort di@bet.es study". *BMJ Open Diabetes Res Care*, 8(1), pp. e001715.
- Cuspidi C, Sala C, Zanchetti A. (2008) "Metabolic syndrome and target organ damage: role of blood pressure". *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 6(5), pp. 731-743.
- De Grooth GJ, Klerkx AH, Stroes ES, Stalenhoef AF, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA. (2004) "A review of CETP and its relation to atherosclerosis". *J Lipid Res*, 45(11), pp. 1967-1974.
- De la Maza MP, Estevez A, Bunout D, Klenner C, Oyonarte M, Hirsch S. (1994) "Ventricular mass in hypertensive and normotensive obese subjects". *Int J Obes Relat Metab Disord*, 18(4), 193-197.
- De Simone G, Kizer JR, Chinali M, Roman MJ, Bella JN, Best LG, Lee ET, Devereux RB. (2005) "Normalization for body size and population-attributable risk of left ventricular hypertrophy: the Strong Heart Study". *Am J Hypertens*, 18(2 Pt 1), pp. 191-196.
- Dekker JM, Girman C, Rhodes T, Nijpels G, Stehouwer CDA, Bouter LM, Heine RJ. (2005) "Metabolic Syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study". *Circulation*, 112(5), pp. 666-673.
- Durrer D, RT van Dam, GE Freud, MJ Janse, FL Meijler, RC Arzbaeher. (1970) "Total excitation of the isolated human heart". *Circulation*, 41(6), pp. 899-912.
- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. (2005) "The metabolic syndrome". *Lancet*, 365(9468), pp. 1415-1428.

6. Referencias bibliográficas

- Elffers TW, De Mutsert R, Lamb HJ, Maan AC, Macfarlane PW, Van Dijk KW, Rosendaal FR, Jukema JW, Trompet S. (2017) “Association of metabolic syndrome and electrocardiographic markers of subclinical cardiovascular disease”. *Diabetol Metab Syndr*, 9, pp. 40.
- El-Gamal A, Gallagher D, Nawras A, Gandhi P, Gomez J, Allison DB, Steinberg JS, Shumacher D, Blank R, Heymsfield SB. (1995) “Effects of obesity on QT, RR and QTc intervals”. *Am J Cardiol*, 75(14), pp. 956-959.
- Fahed, G.; Aoun, L.; Bou Zerdan, M.; Allam, S.; Bou Zerdan, M.; Bouferraa, Y.; Assi, H.I. (2022) “Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021”. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 786, pp. 1-38.
- Fernández-Bergés D, Cabrera de León A, Sanz H, Elosua R, Guembe MJ, Alzamora M, *et al.* (2012) “Metabolic syndrome in Spain: prevalence and coronary risk associated with harmonized definition and WHO proposal. DARIOS study” *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 65(3), pp. 241-248.
- Fernández-Lozano I, Osca Asensi J, Alzueta Rodríguez J. (2019) “Registro Español de Desfibrilador Automático Implantable. XV Informe Oficial de la Sección de Electrofisiología y Arritmias de la Sociedad Española de Cardiología (2018). *Rev Esp Cardiol*, 72(12), pp. 1054-1064.
- Ferraro S, Perrone-Filardi P, Desiderio A, Betocchi S, D’Alto M, Liguori L, Trimigliozzi P, Turco S, Chiariello M. (1996) “Left ventricular systolic and diastolic function in severe obesity: a radionuclide study”. *Cardiology*, 87(4), pp. 347-353.
- Fraley MA, Bircham JA, Senkottaiyan N, Alpert MA. (2005) “Obesity and the electrocardiogram”. *Obes Rev*, 6(4), pp. 275-281.
- Frank S, Colliver JA, Frank A. (1986) “The electrocardiogram in obesity: statistical analysis of 1,029 patients”. *J Am Coll Cardiol*, 7(2), pp. 295-299.

6. Referencias bibliográficas

- Fryar CD, Kruszon-Moran D, Gu Q, Ogden CL. (2018) “Mean Body Weight, Height, Waist Circumference, and Body Mass Index Among Adults: United States, 1999-2000 Through 2015-2016”. *Natl Health Stat Report*, 122, pp. 1-16.
- Gargiulo P, Marsico F, Renga F, Dell'Aversana S, Esposito I, Marciano C, Dellegrottaglie S, Perrone-Filardi P, Paolillo S. (2020) “The metabolic syndrome in heart failure: insights to specific mechanisms”. *Heart Fail Rev*, 25(1), pp. 1-7.
- Girola A, Enrini R, Garbetta F, Tufano A, Caviezel F. (2001). “QT dispersion in uncomplicated human obesity”. *Obes Res*, 9(2), pp. 71-77.
- Grandi AM, Zanzi P, Piantanida E, Gaudio G, Bertolini A, Guasti L, Venco A. (2000) “Obesity and left ventricular diastolic function: noninvasive study in normotensives and newly diagnosed never-treated hypertensives”. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 24(8), pp. 954-958.
- Grundy SM, Brewer Jr HB, Cleeman JI, Smith Jr SC, Lenfant C. (2004) “Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition”. *Circulation*, 109(3), pp. 433-438.
- Grundy SM. (2012) “Pre-diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular risk”. *J Am Coll Cardiol*, 59(7), pp. 635-643.
- Guo X, Meng G, Liu F, Zhang Q, Liu L, Wu H, *et al.* (2016) “Serum levels of immunoglobulins in an adult population and their relationship with type 2 diabetes”. *Diabetes Res Clin Pract*, 115, pp. 76-82.
- Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. (2015) “Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms”. *Circ Res*, 116(6), pp. 991-1006.

6. Referencias bibliográficas

- Heckbert SR, Post W, Pearson GD, Arnett DK, Gomes AS, Jerosch-Herold M, Hundley WG, Lima JA, Bluemke DA. (2006) "Traditional cardiovascular risk factors in relation to left ventricular mass, volume, and systolic function by cardiac magnetic resonance imaging: the Multiethnic Study of Atherosclerosis". *J Am Coll Cardiol*, 48(11), pp. 2285-2292.
- Helfenstein T, Fonseca FA, Ihara SS, Bottós JM, Moreira FT, Pott Jr H, *et al.* (2011) "Impaired glucose tolerance plus hyperlipidaemia induced by diet promotes retina microaneurysms in New Zealand rabbits". *Int J Exp Pathol*, 92(1), pp. 40-49.
- Hildrum B, Mykletun A, Hole T, Midthjell K, Dahl AA. (2007) "Age-specific prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation and the National Cholesterol Education Program: The Norwegian HUNT 2 study". *BMC Public Health*, 7, pp. 220.
- Hondeghem LM, Carlsson L, Duker G. "Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic". *Circulation*, 103(15), pp. 2004-2013.
- Hookana E, Junttila MJ, Puurunen VP, Tikkanen JT, Kaikkonen KS, Kortelainen ML, *et al.* (2011) "Causes of nonischemic sudden cardiac death in the current era". *Heart Rhythm*, 8(10), pp. 1570-1575.
- Huang H, Amin V, Gurin M, Wan E, Thorp E, Homma S, Morrow JP. (2013) "Diet-induced obesity causes long QT and reduces transcription of voltage-gated potassium channels". *J Mol Cell Cardiol*, 59, pp. 151-158.
- Iacobellis G, Ribaldo MC, Leto G, Zappaterreno A, Vecchi E, Di Mario U, Leonetti F. (2002) "Influence of excess fat on cardiac morphology and function: study in uncomplicated obesity". *Obes Res*, 10(8), pp. 767-773.

6. Referencias bibliográficas

- Iacobellis G, Ribaudo MC, Zappaterreno A, Iannucci CV, Di Mario U, Leonetti F. (2004) "Adapted changes in left ventricular structure and function in severe uncomplicated obesity". *Obes Res*, 12(10), pp. 1616-1621.
- Iacobellis G. (2004) "True uncomplicated obesity is not related to increased left ventricular mass and systolic dysfunction". *J Am Coll Cardiol*, 44(11), pp. 2257-2258.
- Jalife J. (2011) "Déjà vu in the theories of atrial fibrillation dynamics". *Cardiovasc Res*, 89(4), pp. 766-775.
- Jalife J. (2016) "Dynamics and Molecular Mechanisms of Ventricular Fibrillation in Structurally Normal Hearts". *Card Electrophysiol Clin*, 8(3), pp. 601-612.
- Jern S, Bergbrant A, Björntorp P, Hansson L. (1992) "Relation of central hemodynamics to obesity and body fat distribution". *Hypertension*, 19(6 Pt 1), pp. 520-527.
- Kalifa J, Tanaka K, Zaitsev AV, Warren M, Vaidyanathan R, Auerbach D *et al.* (2006) "Mechanisms of wave fractionation at boundaries of high-frequency excitation in the posterior left atrium of the isolated sheep heart during atrial fibrillation". *Circulation*, 113(5), pp. 626-633.
- Kannel WB, Plehn JF, Cupples LA. (1988) "Cardiac failure and sudden death in the Framingham Study". *Am Heart J*, 115(4), pp. 869-875.
- Kasler EK, Hruban RH, Baughman KL. (1992) "Cardiomyopathy of obesity: a clinicopathologic evaluation of 43 obese patients with heart failure". *Am J Cardiol*, 70(9), pp. 921-924.
- Kenneth R. Laurita, Joseph M. Pastore, and David S. Rosenbaum. Mapping Arrhythmia Substrates related to Repolarization: 1. Dispersion of Repolarization. En David S. Rosenbaum, José Jalife. Optical Mapping of Cardiac Excitation and Arrhythmias. 1ª edición. Nueva York (EE. UU.): Futura Publishing Company; 2001. 205-226.

6. Referencias bibliográficas

- Killeen MJ, Thomas G, Sabir IN, Grace AA, Huang CL. (2008) "Mouse models of human arrhythmia syndromes". *Acta Physiol (Oxf)*, 192(4), pp. 455-469.
- Konwerski M, Gasecka A, Opolski G, Grabowski M, Mazurek T. (2022) "Role of Epicardial Adipose Tissue in Cardiovascular Diseases: A Review". *Biology (Basel)*, 11(3), pp. 355.
- Kosar F, Aksoy Y, Ari F, Keskin L, Sahin I. (2008) "P-wave duration and dispersion in obese subjects". *Ann Noninvasive Electrocardiol*, 13(1), pp. 3-7.
- Krishnan R, Becker RJ, Beighley LM, Lopez-Candales A. (2005) "Impact of body mass index on markers of left ventricular thickness and mass calculation: results of a pilot analysis". *Echocardiography*, 22(3), pp. 203-210.
- Kylin E. (1923) "Studien ueber das hypertonie-hyperglykamie-hyperurikamiesyndrom". *Zentralblatt für Innere Medizin*, 44, pp. 105-127.
- Laclaustra Gimeno M, Bergua Martínez C, Pascual Calleja I, Casasnovas Lenguas JA. (2005) "Síndrome metabólico. Concepto y fisiopatología". *Rev Esp Cardiol Supl*, 5, pp. 3D-10D.
- Lakhani M, Fein S. (2011) "Effects of obesity and subsequent weight reduction on left ventricular function". *Cardiol Rev*, 19(1), pp. 1-4.
- Lau DH, Nattel S, Kalman JM, Sanders P. (2017) "Modifiable Risk Factors and Atrial Fibrillation". *Circulation*, 136(6), pp. 583-596.
- Laughner JI, Ng FS, Sulkin MS, Arthur RM, Efimov IR (2012). "Processing and analysis of cardiac optical mapping data obtained with potentiometric dyes". *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.303(7):H753-65.
- Lavie CJ, Alpert MA, Arena R, Mehra MR, Milani RV, Ventura HO. (2013) "Impact of obesity and the obesity paradox on prevalence and prognosis in heart failure". *JACC Heart Fail*, 1(2), pp. 93-102.

6. Referencias bibliográficas

- Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO. (2009) "Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss". *J Am Coll Cardiol*, 53(21), pp. 1925-1932.
- Lemieux I, Després JP. (2020) "Metabolic Syndrome: Past, Present and Future". *Nutrients*, 12(11), pp. 3501.
- Lengyel C, Iost N, Virág L, Varró A, Lathrop DA, Papp JG. (2001). "Pharmacological block of the slow component of the outward delayed rectifier current (I(Ks)) fails to lengthen rabbit ventricular muscle QT(c) and action potential duration". *Br J Pharmacol*, 132(1), pp. 101-110.
- Lengyel Cs, Virág L, Kovács PP, Kristóf A, Pacher P, Kocsis E, Koltay ZsM, Nánási PP, Tóth M, Kecskeméti V, Papp JG, Varró A, Jost N. (2008) "Role of slow delayed rectifier K⁺-current in QT prolongation in the alloxan-induced diabetic rabbit heart". *Acta Physiol (Oxf)*, 192(3), pp. 359-368.
- Linz D, Hohl M, Mahfoud F, Reil J-C, Linz W, Hübschle T, *et al.* (2012) "Cardiac remodeling and myocardial dysfunction in obese spontaneously hypertensive rats". *J Transl Med*, 10, pp. 187.
- Liu E, Kitajima S, Higaki Y, Morimoto M, Sun H, Watanabe T, *et al.* (2005) "High lipoprotein lipase activity increases insulin sensitivity in transgenic rabbits". *Metabolism*, 54(1), pp. 132-138.
- Lou Q, Li W, Efimov IR. (2011) "Multiparametric optical mapping of the Langendorff-perfused rabbit heart". *J Vis Exp*, (55), pp. 3160.
- Mahbuba S, Mohsin F, Rahat F, Nahar J, Begum T, Nahar N. (2018) "Descriptive epidemiology of metabolic syndrome among obese adolescent population". *Diabetes Metab Syndr*, 12(3), pp. 369-374.
- Marano G, Grigioni M, Tiburzi F, Vergari A, Zanghi F. (1996) "Effects of isoflurane on cardiovascular system and sympathovagal balance in New Zealand white rabbits". *J Cardiovasc Pharmacol*, 28(4), pp. 513-518.

6. Referencias bibliográficas

- McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. (2018) "Pathophysiology of the metabolic syndrome". *Clin Dermatol*, 36(1), pp. 14-20.
- Messerli FH, Nunez BD, Ventura HO, Snyder DW. (1987) "Overweight and sudden death. Increased ventricular ectopy in cardiopathy of obesity". *Arch Intern Med*, 147(10), pp. 1725-1728.
- Mironov S, Jalife J, Tolkacheva EG. (2008) "Role of conduction velocity restitution and short-term memory in the development of action potential duration alternans in isolated rabbit hearts". *Circulation*, 118(1), pp. 17-25.
- Mohammadbeigi A, Farahani H, Moshiri E, Sajadi M, Ahmadli R, Afrashteh S, *et al.* (2018) "Prevalence of Metabolic Syndrome and Associations with Lipid Profiles in Iranian Men: A Population-Based Screening Program". *World J Mens Health*, 36(1), pp. 50-56.
- Mokhayeri Y, Riahi SM, Rahimzadeh S, Pourhoseingholi MA, Hashemi-Nazari SS. (2018) "Metabolic syndrome prevalence in the Iranian adult's general population and its trend: A systematic review and meta-analysis of observational studies". *Diabetes Metab Syndr*, 12(3), pp. 441-453.
- Molina CE, Jordi Heijman, Dobromir Dobrev. (2016) "Differences in Left Versus Right Ventricular Electrophysiological Properties in Cardiac Dysfunction and Arrhythmogenesis". *Arrhythm Electrophysiol Rev*, 5(1), pp. 14-19.
- Morricone L, Donati C, Hassan T, Cioffi P, Caviezel F. (2002) "Relationship of visceral fat distribution to angiographically assessed coronary artery disease: results in subjects with or without diabetes or impaired glucose tolerance". *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 12(5), pp. 275-283.

6. Referencias bibliográficas

- Morricone L, Malavazos AE, Coman C, Donati C, Hassan T, Caviezel F. (2002) "Echocardiographic abnormalities in normotensive obese patients: relationship with visceral fat". *Obes Res*, 10(6), pp. 489-498.
- Morrow JP, Katchman A, Son NH, Trent CM, Khan R, Shiomi T, Huang H, Amin V, Lader JM, Vasquez C, Morley GE, D'Armiento J, Homma S, Goldberg IJ, Marx SO. (2011) "Mice with cardiac overexpression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma have impaired repolarization and spontaneous fatal ventricular arrhythmias". *Circulation*, 124(25), pp. 2812-2821.
- Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, *et al.* (2010) "The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis". *J Am Coll Cardiol*, 56(14), pp. 1113-1132.
- Mozumdar A, Liguori G. (2011) "Persistent increase of prevalence of metabolic syndrome among U.S. adults: NHANES III to NHANES 1999-2006". *Diabetes Care*, 34(1), pp. 216-219.
- Mukerji R, Petruc M, Fresen JL, Terry BE, Govindarajan G, Alpert MA. (2012) "Effect of weight loss after bariatric surgery on left ventricular mass and ventricular repolarization in normotensive morbidly obese patients". *Am J Cardiol*, 110(3), pp. 415-419.
- Mukerji R, Terry BE, Fresen JL, Petruc M, Govindarajan G, Alpert MA. (2012) "Relation of left ventricular mass to QTc in normotensive severely obese patients". *Obesity (Silver Spring)*, 20(9), pp. 1950-1954.
- Nassal DM, Wan X, Liu H, Maleski D, Ramirez-Navarro A, Moravec CS, Ficker E, Laurita KR, Deschênes I. (2017) "KCHIP2 is a core transcriptional regulator of cardiac excitability". *Elife*, 6, pp. e17304.
- Nattel S. (2002) "New ideas about atrial fibrillation 50 years on". *Nature*, 415(6868), pp. 219-226.

6. Referencias bibliográficas

- NCEP: ATP III: Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. (2001) "Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III)". *JAMA*, 285(19), pp. 2486-2497.
- Nelson RW, Himsel CA, Feldman EC, Bottoms GD. (1990) "Glucose tolerance and insulin response in normal-weight and obese cats". *Am J Vet Res*, 51(9), pp. 1357-1362.
- Nerbonne JM, Kass RS. (2005) "Molecular physiology of cardiac repolarization". *Physiol Rev*, 85(4), pp. 1205-1253.
- Ning B, Wang X, Yu Y, Waqar AB, Yu Q, Koike T, *et al.* (2015) "High-fructose and high-fat diet-induced insulin resistance enhances atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits". *Nutr Metab (Lond)*, 12 (1):30.
- Nolan PB, Carrick-Ranson G, Stinear JW, Reading SA, Dalleck LC. (2017) "Prevalence of metabolic syndrome and metabolic syndrome components in young adults: A pooled analysis". *Prev Med Rep*, 7, pp. 211-215.
- Noujaim SF, Stuckey JA, Ponce-Balbuena D, Ferrer-Villada T, López-Izquierdo A, Pandit S, Calvo CJ, Grzeda KR, Berenfeld O, Chapula JA, Jalife J. (2010) "Specific residues of the cytoplasmic domains of cardiac inward rectifier potassium channels are effective antifibrillatory targets". *FASEB J*, 24(11), pp. 4302-4312.
- Novo S, Bonomo V, Di Piazza M, Piero L. (2017) "Metabolic Syndrome: from the Pathophysiology to the Treatment. A Comprehensive Review". *International Journal of Sciences*, 6(08), pp. 1-8.
- Shah RR, Hondeghem LM (2005). "Refining detection of drug-induced proarrhythmia: QT interval and TRIaD". *Heart Rhythm*. 2(7), pp.758-72.

6. Referencias bibliográficas

- Ogden CL, Carroll MD, Lawman HG, Fryar CD, Kruszon-Moran D, Kit BK, *et al.* (2016) "Trends in Obesity Prevalence Among Children and Adolescents in the United States, 1988-1994 Through 2013-2014". *JAMA*, 315(21), pp. 2292-2299.
- O'Shea C, Holmes AP, Winter J, Correia J, Ou X, Dong R, He S, Kirchhof P, Fabritz L, Rajpoot K, Pavlovic D (2019). "Cardiac Optogenetics and Optical Mapping - Overcoming Spectral Congestion in All-Optical Cardiac Electrophysiology". *Front Physiol*.10:182, pp.1295.
- Opie LH. (2007) "Metabolic syndrome". *Circulation*, 115(3), e32-5.
- Otto ME, Belohlavek M, Khandheria B, Gilman G, Svatikova A, Somers V. (2004) "Comparison of right and left ventricular function in obese and nonobese men". *Am J Cardiol*, 93(12), pp. 1569-1572.
- Ouwens DM, Boer C, Fodor M, de Galan P, Heine RJ, Maassen JA, Diamant M. (2005) "Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signalling in rats". *Diabetologia*, 48(6), pp. 1229-1237.
- Pascual M, Pascual DA, Soria F, *et al.* (2003) "Effects of isolated obesity on systolic and diastolic left ventricular function". *Heart*, 89(10), pp. 1152-1156.
- Peterson LR, Waggoner AD, Schechtman KB, Meyer T, Gropler RJ, Barzilai B, Dávila-Román VG. (2004) "Alterations in left ventricular structure and function in young healthy obese women: assessment by echocardiography and tissue Doppler imaging". *J Am Coll Cardiol*, 43(8), pp. 1399-1404.
- Prenner SB, Shah SJ, Goldberger JJ, Sauer AJ. (2016). "Repolarization Heterogeneity: Beyond the QT Interval". *J Am Heart Assoc*.5(5), pp.e003607.
- Pocoví Mieras M, Ferreira Montero I. (2010) "Fenotipo, fisiopatología y genotipo del síndrome metabólico desde la prehistoria hasta nuestros días". En Grima Serrano A. El síndrome metabólico. 1ª. *Grupo Acción médica*, pp. 1-10.

6. Referencias bibliográficas

- Reaven GM. (1988) “Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease”. *Diabetes*, 37(12), pp. 1595-1607.
- Reis JP, Allen N, Gibbs BB, *et al.* (2014) “Association of the degree of adiposity and duration of obesity with measures of cardiac structure and function: the CARDIA Study”. *Obesity (Silver Spring)*, 22(11), pp. 2434-2440.
- Reuter S, Mrowka R. (2015) “The metabolic syndrome: the future is now”. *Acta Physiol (Oxf)*, 214(3), pp. 291-294.
- Rochlani Y, Pothineni NV, Kovelamudi S, Mehta JL. (2017) “Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds”. *Ther Adv Cardiovasc Dis*, 11(8), pp. 215-225.
- Rossing P, Breum L, Major-Pedersen A, Sato A, Winding H, Pietersen A, *et al.* (2001) “Prolonged QTc interval predicts mortality in patients with Type 1 diabetes mellitus”. *Diabet Med*, 18(3), 199-205.
- Sahebkar A, Sancho E, Abelló D, Camps J, Joven J. (2018) “Novel circulating biomarkers for non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review”. *J Cell Physiol*, 233(2), pp. 849-855.
- Saklayen MG. (2018) “The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome”. *Curr Hypertens Rep*, 20(2), pp. 12.
- Schillaci G, Pirro M, Vaudo G, Gemelli F, Marchesi S, Porcellati C, *et al.* (2004) “Prognostic value of the metabolic syndrome in essential hypertension”. *J Am Coll Cardiol*, 43(10), pp. 1817-1822.
- Schmerbach K, Patzak A. (2014) “The metabolic syndrome: is it the mother’s fault? *Acta Physiol (Oxf)*, 210(4), pp. 702-704.

6. Referencias bibliográficas

- Seferović PM, Petrie MC, Filippatos GS, Anker SD, Rosano G, Bauersachs J, Paulus WJ, Komajda M, Cosentino F, de Boer RA, Farmakis D, Doehner W, Lambrinou E, Lopatin Y, Piepoli MF, Theodorakis MJ, Wiggers H, Lekakis J, Mebazaa A, Mamas MA, Tschöpe C, Hoes AW, Seferović JP, Logue J, McDonagh T, Riley JP, Milinković I, Polovina M, van Veldhuisen DJ, Lainscak M, Maggioni AP, Ruschitzka F, McMurray JJV. (2018) “Type 2 diabetes mellitus and heart failure: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology”. *Eur J Heart Fail*, 20(5), pp. 853-872.
- Semeniuk LM, Kryski AJ, Severson DL. (2002) “Echocardiographic assessment of cardiac function in diabetic db/db and transgenic db/db-hGLUT4 mice”. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283(3), pp. H976–H982.
- Semenkovich CF, Heinecke JW. (1997) “The mystery of diabetes and atherosclerosis: time for a new plot”. *Diabetes*, 46(3), pp. 327-334.
- Smith HL, Willius FA. (1933) “Adiposity of the heart”. *Arch Intern Med*, 52, pp. 929-931.
- Tearney CC, Barter LS, Pypendop BH. (2015) “Cardiovascular effects of equipotent doses of isoflurane alone and isoflurane plus fentanyl in New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)”. *Am J Vet Res*, 76(7), pp. 591-598.
- Tentolouris N, Argyrakopoulou G, Katsilambros N. (2008) “Perturbed autonomic nervous system function in metabolic syndrome”. *Neuromolecular Med*, 10(3), pp. 169-178.
- Tirandi A, Carbone F, Montecucco F, Liberale L. (2022) “The role of metabolic syndrome in sudden cardiac death risk: Recent evidence and future directions”. *Eur J Clin Invest*, 52(2), pp. e13693.
- Torres-Jacome, J, Gallego M, Rodriguez-Robledo JM, Sanchez-Chapula JA, Casis O. (2013) “Improvement of the metabolic status recovers cardiac potassium channel synthesis in experimental diabetes”. *Acta Physiol (Oxf)*, 207(3), pp. 447-459.

6. Referencias bibliográficas

- Tune JD, Goodwill AG, Sassoon DJ, Mather KJ. (2017) "Cardiovascular consequences of metabolic syndrome". *Transl Res*, 183, pp. 57-70.
- Vague J. (1956) "The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease". *Am J Clin Nutr*, 4(1), pp. 20-34.
- Vague J. (1996) "Sexual differentiation. A determinant factor of the forms of obesity. 1947". *Obes Res*, 4(2), pp. 201-203.
- Van den Bergh A, Flameng W, Herijgers P. (2006) "Type II diabetic mice exhibit contractile dysfunction but maintain cardiac output by favourable loading conditions". *Eur J Heart Failure*, 8(8), pp. 777-783.
- Verkest KR. (2014) "Is the metabolic syndrome a useful clinical concept in dogs? A review of the evidence". *Vet J*, 199(1), pp. 24-30
- Villa E, Rábano A, Albarrán OG, Ruilope LM, García-Robles R. (1998) "Effects of chronic combined treatment with captopril and pravastatin on the progression of insulin resistance and cardiovascular alterations in an experimental model of obesity in dogs". *Am J Hypertens*, 11(7), pp. 844-851.
- Vishram JK, Borglykke A, Andreassen AH, Jeppesen J, Ibsen H, Jørgensen T, et al. (2014) "Impact of age and gender on the prevalence and prognostic importance of the metabolic syndrome and its components in Europeans. The MORGAM Prospective Cohort Project". *PLoS One*, 9(9), pp. e107294.
- Waqar AB, Koike T, Yu Y, Inoue T, Aoki T, Liu E, et al. (2010) "High-fat diet without excess calories induces metabolic disorders and enhances atherosclerosis in rabbits". *Atherosclerosis*, 213(1), pp. 148-155.
- Wong C, Marwick TH. (2007) "Obesity cardiomyopathy: pathogenesis and pathophysiology". *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 4(8), pp. 436-443.

6. Referencias bibliográficas

- Wong CY, O'Moore-Sullivan T, Leano R, Byrne N, Beller E, Marwick TH. (2004) "Alterations of left ventricular myocardial characteristics associated with obesity". *Circulation*, 110(19), pp. 3081-3087.
- Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. (2016) "Animal models of metabolic syndrome: a review". *Nutr Metab (Lond)*, 13:65, pp. 1-12.
- Wu TJ, Lin SF, Hsieh YC, Ting CT, Chen PS. (2006) "Ventricular fibrillation during no-flow global ischemia in isolated rabbit hearts". *J Cardiovasc Electrophysiol*, 17(10), pp. 1112-1120.
- Yach D, Hawkes C, Gould CL, Hofman KJ. (2004) "The global burden of chronic diseases: overcoming impediments to prevention and control". *JAMA*, 291(21), pp. 2616-2622.
- Yin W, Yuan Z, Wang Z, Yang B, Yang Y. (2002) "A diet high in saturated fat and sucrose alters glucoregulation and induces aortic fatty streaks in New Zealand White rabbits". *Int J Exp Diabetes Res*, 3(3), pp. 179-184.
- Zarzoso M, Mironov S, Guerrero-Serna G, Willis BC, Pandit SV. (2014) "Ventricular remodelling in rabbits with sustained high-fat diet". *Acta Physiol (Oxf)*, 211(1), pp. 36-47.
- Zarzoso M, Such-Miquel L, Parra G, Brines-Ferrando L, Such L, Chorro FJ, Guerrero J, Guill A, O'Connor JE, Alberola A. (2012) "The training-induced changes on automatism, conduction and myocardial refractoriness are not mediated by parasympathetic postganglionic neurons activity". *Eur J Appl Physiol*, 112(6), pp. 2185-2193.
- Zhang X, Lerman LO. (2016) "Investigating the Metabolic Syndrome: Contributions of Swine Models". *Toxicol Pathol*, 44(3), pp. 358-366.
- Zimmet P, Alberti KGMM, Serrano Ríos M. (2005) "Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: fundamento y resultados". *Rev Esp Cardiol*, 58(12), pp. 1371-1376.

Capítulo 7

PUBLICACIONES

7. Publicaciones

7. PUBLICACIONES

Los resultados derivados de la presente tesis doctoral han dado lugar a 3 artículos científicos ya publicados, más uno adicional que se encuentra en preparación, y 16 participaciones en congresos y reuniones científicas.

7.1. Publicaciones derivadas de la Tesis Doctoral

7.1.1. Artículos científicos

- Oscar Julián Arias-Muits; Vannina G. Marrachelli; Amparo Ruiz-Saurí; Antonio Alberola; Jose Manuel Morales; Luis Such-Miquel; Daniel Monleon; Francisco J. Chorro; Luis Such; Manuel Zarzoso (2017). “Development and characterization of an experimental model of diet-induced metabolic syndrome in rabbit”. PloS one.12 - 5, pp. 1 - 18.
- Oscar Julián Arias-Muits; Patricia Genovés; Conrado J. Calvo; Ana Díaz; Germán Parra; Luis Such-Miquel; Luis Such; Antonio Alberola; Francisco J. Chorro; Manuel Zarzoso (2018). “An experimental model of diet-induced metabolic syndrome in rabbit: methodological considerations, development, and assessment”. Journal of visualized experiments. (JoVE). 134:57117.
- Wilson M. Lozano; Óscar Julián Arias-Muits; Conrado J. Calvo; Francisco J. Chorro; Manuel Zarzoso (2019). “Diet-Induced Rabbit Models for the Study of Metabolic Syndrome”. Animals:9(7):463.
- Oscar Julián Arias-Muits; Alexandra Bizy; Luis Such-Miquel; Álvaro Tormos; Luis Such; Antonio Alberola; Francisco J. Chorro; Conrado Calvo; Manuel Zarzoso. Ventricular remodelling and arrhythmogenic mechanisms in diet-induced metabolic síndrome. En preparación.

7.2. Congresos científicos

- Autores: O.J. Arias-Mutis; C.J. Calvo; L. Such-Miquel; A. Bizy; A. Guill; A. Tormos; A. Alberola; L. Such; F.J. Chorro; M. Zarzoso. Título: ynamics of phase singularities during ventricular fibrillation in an experimental model of

7. Publicaciones

metabolic syndrome. Tipo de participación: Póster. Congreso: XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (SECF). Publicación: Journal of Physiology and Biochemistry. Lugar de celebración: Cádiz, Andalucía, España. Año: 2018 (18-21 de septiembre).

- Autores: C.J. Calvo; O. Arias-Mutis; A. Bizy; A. Guill; A. Tormos; L. Such-Miquel; A. Alberola; L. Such; F.J. Chorro; M. Zarzoso. Título: Modifications of dynamic restitution during induction of ventricular fibrillation in a model of metabolic syndrome. Tipo de participación: Póster. Congreso: XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (SECF). Publicación: Journal of Physiology and Biochemistry. Lugar de celebración: Cádiz, Andalucía, España. Año: 2018 (18-21 de septiembre).
- Autores: Conrado J. Calvo; Óscar Julián Arias-Mutis; Luis Such-Miquel; Álvaro Tormos; Antonio Guill; Luis Such; Antonio Alberola; Francisco Javier Chorro; Manuel Zarzoso. Título: Study of the induction and characteristics of ventricular fibrillation in an experimental model of metabolic syndrome. Tipo de participación: Póster. Congreso: Frontiers in Cardiovascular Biology. Publicación: Cardiovascular Research. 114 - Suppl.1, Oxford University Press, Oxford, Inglaterra, ISSN 0008-6363. Lugar de celebración: Viena, Austria. Año: 2018 (20-22 de abril).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Patricia Genovés; Vannina González-Marrachelli; Conrado Calvo; Irene del Canto; Amparo Ruiz-Saurí; Daniel Monleón; Manuel Zarzoso Muñoz. Título: Caracterización de un nuevo modelo experimental de síndrome metabólico inducido por una dieta alta en grasas y azúcares en conejo. Tipo de participación: Póster. Congreso: El Congreso de las enfermedades cardiovasculares (SEC 2017). Publicación: Revista Española de Cardiología. Ediciones Doyma, Barcelona, Spain, ISSN 0300-8932. Lugar de celebración: Madrid, Comunidad de Madrid, España. Año: 2017 (26-28 de octubre).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado J. Calvo; Alexandra Bizy; Luis Such-Miquel; Luis Such; Antonio Alberola; Francisco Javier Chorro; Manuel Zarzoso Muñoz. Título: Modificaciones intrínsecas de la duración del potencial de acción y la longitud de onda del proceso de activación producidas en un modelo experimental de síndrome metabólico. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: El Congreso de las enfermedades cardiovasculares (SEC 2017). Publicación: Revista Española de Cardiología. Ediciones Doyma, Barcelona, Spain, ISSN 0300-8932. Lugar de celebración: Madrid, Comunidad de Madrid, España. Año: 2017 (26-28 de octubre).

7. Publicaciones

- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado J. Calvo; Luis Such- Miquel; Antonio Guill; Germán Parra; Luis Such; Francisco Javier Chorro; Manuel Zarzoso Muñoz. Título: Modificaciones intrínsecas de las características espectrales de la fibrilación ventricular producidas en un modelo experimental de síndrome metabólico en conejo. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: El Congreso de las enfermedades cardiovasculares (SEC 2017). Publicación: Revista Española de Cardiología. Ediciones Doyma, Barcelona, Spain, ISSN 0300-8932. Lugar de celebración: Madrid, Comunidad de Madrid, España. Año: 2017 (26-28 de octubre).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado J. Calvo; Alexandra Bizy; Luis Such-Miquel; Mariano Muñoz; Antonio Alberola; Francisco Javier Chorro; Manuel Zarzoso Muñoz. Título: Remodelado auricular producido por la administración de una dieta alta en grasas y azúcares. Estudio experimental. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: El Congreso de las enfermedades cardiovasculares (SEC 2017). Publicación: Revista Española de Cardiología. Ediciones Doyma, Barcelona, Spain, ISSN 0300-8932. Lugar de celebración: Madrid, Comunidad de Madrid, España. Año: 2017 (26-28 de octubre).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado J. Calvo; Bizy A; Luis Such-Miquel; Guill A; Tormos A; Antonio Alberola; Noujaim SF; Luis Such; Francisco Javier Chorro; Manuel Zarzoso. Título: Ventricular remodeling in an experimental model of diet-induced metabolic syndrome. Tipo de participación: Póster. Congreso: Congress of the European-Society-of-Cardiology (ESC). Publicación: European Heart Journal. Oxford Univ Press, Oxford, United Kingdom, ISSN 0195-668X. Lugar de celebración: Barcelona, Cataluña, España. Año: 2017 (26-30 de agosto).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado Calvo Sáiz; Luis Such-Miquel; Germán Parra Giraldo; Antonio Alberola Aguilar; Luis Such; Francisco Javier Chorro Gascó; Manuel Zarzoso Muñoz. Título: Cambios intrínsecos en el automatismo, la conducción y la refractariedad miocárdicas producidos por la administración de una dieta alta en grasas y azúcares. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: El Congreso de las enfermedades cardiovasculares (SEC 2016). Publicación: Revista Española de Cardiología. 69 - Supl.1, pp. 59 - 59. Ediciones Doyma, Barcelona, Spain, ISSN 0300-8932. Lugar de celebración: Zaragoza, Aragón, España. Año: 2016 (27-29 de octubre).

7. Publicaciones

- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Patricia Genovés; Ana Díaz; Mariano Muñoz; Irene del Canto; Carlos Soler; Francisco Javier Chorro Gascó; Manuel Zarzoso Muñoz. Título: Desarrollo y caracterización de un modelo experimental de síndrome metabólico en conejos. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: El Congreso de las enfermedades cardiovasculares (SEC 2016). Publicación: Revista Española de Cardiología. 69 - Supl. 1, pp. 168 - 168. Ediciones Doyma, Barcelona, Spain, ISSN 0300-8932. Lugar de celebración: Zaragoza, Aragón, España. Año: 2016 (27-29 de octubre).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado Calvo Sáiz; Antonio Guill Ibáñez; Álvaro Tormos Ferrando; José Millet Roig; Antonio Alberola Aguilar; Francisco Javier Chorro Gascó; Manuel Zarzoso Muñoz. Título: Estudio de las características espectrales de la fibrilación ventricular en un modelo experimental de síndrome metabólico. Tipo de participación: Póster. Congreso: El Congreso de las enfermedades cardiovasculares (SEC 2016). Publicación: Revista Española de Cardiología. 69 - Supl. 1, pp. 570 - 570. Ediciones Doyma, Barcelona, Spain, ISSN 0300-8932. Lugar de celebración: Zaragoza, Aragón, España. Año: 2016 (27-29 de octubre).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Patricia Genovés; Ana Díaz; Mariano Muñoz; Luis Such-Miquel; Irene Del Canto; Carlos Soler; Antonio Alberola; Manuel Zarzoso. Título: Development and characterization of an experimental model of diet-induced metabolic syndrome in rabbit. Tipo de participación: Póster. Congreso: XXXVIII Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (SECF). Publicación: Journal of Physiology and Biochemistry. 72 - Supl. 1, pp. S66 - S67. Servicio Publicaciones Universidad, Navarra, España, ISSN 1138-7548. Lugar de celebración: Zaragoza, Aragón, España. Año: 2016 (13-16 de septiembre).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado Calvo; Luis Such-Miquel; Antonio Guill; Álvaro Tormos; José Millet; Francisco Javier Chorro; Antonio Alberola; Luis Such; Manuel Zarzoso. Título: Effects of high-fat and high-sucrose diet on ventricular repolarization in isolated rabbit heart. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: XXXVIII Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (SECF). Publicación: Journal of Physiology and Biochemistry. 72 - Supl. 1, pp. S545 - S546. Servicio Publicaciones Universidad, Navarra, España, ISSN 1138-7548. Lugar de celebración: Zaragoza, Aragón, España. Año: 2016 (13-16 de septiembre).

7. Publicaciones

- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Luis Such-Miquel; Conrado Calvo; Antonio Guill; Álvaro Tormos; Germán Parra; Francisco Javier Chorro; Antonio Alberola; Luis Such; Manuel Zarzoso. Título: Electrical remodeling produced in an experimental model of metabolic syndrome a study on isolated rabbit heart. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: XXXVIII Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (SECF). Publicación: Journal of Physiology and Biochemistry. 72 - Supl. 1, pp. S50 - S50. Servicio Publicaciones Universidad, Navarra, España, ISSN 1138-7548. Lugar de celebración: Zaragoza, Aragón, España. Año: 2016 (13-16 de septiembre).
- Autores: Óscar Julián Arias-Mutis; Conrado Calvo; Luis Such-Miquel; Álvaro Tormos; Antonio Guill; José Millet; Francisco Javier Chorro; Antonio Alberola; Luis Such; Manuel Zarzoso. Título: Modifications of the spectral characteristics of ventricular fibrillation produced in an experimental rabbit model of metabolic syndrome. Tipo de participación: Póster. Congreso: XXXVIII Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (SECF). Publicación: Journal of Physiology and Biochemistry. 72 - Supl. 1, pp. S68 - S68. Servicio Publicaciones Universidad, Navarra, España, ISSN 1138-7548. Lugar de celebración: Zaragoza, Aragón, España. Año: 2016 (13-16 de septiembre).
- Autores: Arias-Mutis OJ.; Alberola A.; Such-Miquel L.; Muñoz M.; Such L.; Zarzoso M. Título: Desarrollo y caracterización de un modelo experimental de síndrome metabólico en conejo. Tipo de participación: Comunicación oral. Congreso: IV Congreso de Investigación Biomédica (CIB 2016). Lugar de celebración: Valencia, Comunidad Valenciana, España. Año: 2016 (10-12 de febrero).

