



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EJERCICIO y SUSCEPTIBILIDAD al
DAÑO MIOCÁRDICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

Betzabé Nieto Lima



DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Agustina Cano Martínez

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Nieto
Lima
Betzabé
57671662
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
404025218

2. Datos del tutor

Dra
Agustina
Cano
Martínez

3. Datos del sinodal 1

Dr
Igancio
Camacho
Arroyo

4. Datos del sinodal 2

Méd. Cir
Edmundo
Chávez
Cossio

5. Datos del sinodal 3

Dr
Eugenio
Quiroz
Rothe

6. Datos del sinodal 4

M en C
Enrique
Moreno
Saenz

7. Datos del trabajo escrito

Ejercicio y susceptibilidad al daño miocárdico
79p
2009

Agradecimientos

A mis padres, quienes me dieron la vida, me apoyaron y me proporcionaron las herramientas necesarias para continuar por mi misma en esta vida. Gracias por estar siempre a mi lado y alentarme a no darme por vencida, son importar que tan difícil fueran las circunstancias.

A la Dra. Agustina Cano, por haberme dado la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis en su laboratorio, además de brindarme su apoyo durante todo este tiempo.

A mis amigos y a todos mis compañeros de los institutos en los que he trabajado, por su apoyo en todo momento y por todos los momentos agradables que me proporcionaron.

A mi hermana, quien toleró mis momentos de locura, porque sin ti, mi vida y mis actitudes hubieran sido totalmente diferente.

Finalmente, Técnico Florencio Hernández Lizardi por su apoyo en el diseño y construcción del dispositivo para ejercitar a los ratones, y al Instituto Nacional de cardiología “Ignacio Chávez”, lugar donde realicé mi tesis, la cual es parte del proyecto “Efecto del ejercicio en la susceptibilidad al daño cardiaco y su reparación” clave 06-507.

Pensamientos

*No existe la suerte. Sólo hay preparación adecuada o inadecuada para
hacer frente a una estadística.*

Robert A. Heinlein

El éxito del perseverante es alcanzar sus metas sin sacrificar sus principios.

Roberto Palomo Cea

*Con el genio se inician las grandes obras, pero sólo con el trabajo se les
acaban.*

Joseph Joubert

*Aprende como si fueras a vivir para siempre... y vive como si fuera a morir
mañana.*

Faiveland

*Vive siempre como si fuera el último día de tu vida, porque el mañana es
inseguro, el ayer no te pertenece y solamente el hoy es tuyo.*

S. Maximiliano Kolbe

*La ciencia no hubiera logrado muchos progresos, si no hubiera encontrado
obstáculos desconocidos ocultos en cada esquina.*

Arthur Eddington

INDICE

I. INTRODUCCION

I Introducción	1
----------------------	---

II. ANTECEDENTES

II.1 Ejercicio.....	3
II.1.1 Ejercicio y calidad de vida	5
II.1.2 Ejercicio y sistema cardiovascular	9
II.2 Daño miocárdico.....	12
II.3 Ejercicio y susceptibilidad al daño miocárdico.....	18

III.PROBLEMA, OBJETIVOS e HIPÓTESIS

III.1 Problema.....	21
III.2 Objetivo general.....	21
III.2.1 Objetivos particulares.....	21
III.3 Hipótesis	22

IV.MATERIALES y MÉTODOS

IV.1 Animales	23
IV.1.1 Diseño experimental	23
IV.2 Protocolo de ejercicio.....	24
IV.2.1 Familiarización	25
IV.2.2 Entrenamiento.....	25
IV.3 Lesión al miocardio	26
IV.4 Procesamiento del tejido.....	26
IV.4.1 Obtención del corazón	26
IV.4.2 Cortes tisulares por congelación.....	27

IV.5 Método histológico	27
IV.5.1 Tinción Tricrómica de Masson.....	27
IV.5.2 Análisis histológico	29
IV.5.3 Análisis estadístico.....	36
IV.6 Observaciones.....	36

V. RESULTADOS

V.1 Efecto del ejercicio.....	37
V.2 Efecto del isoproterenol	41
V.3 Efecto del ejercicio más isoproterenol	42
V.4 Correlación: Hipertrofia ventricular / Fibrosis Intersticial y Fibras miocárdicas rotas / Infiltrados celulares	44

VI. DISCUSIÓN

VI.1 Efecto del ejercicio	45
VI.2 Efecto de una lesión miocárdica.....	47
VI.3 Efecto del ejercicio previo una lesión miocárdica.....	49
VI.4 Correlaciones	
VI.4.1 Hipertrofia ventricular / Fibrosis Intersticial.....	55
VI.4.2 Fibras miocárdicas rotas / Infiltrados celulares.....	55

VII. CONCLUSIÓN

VII Conclusiones	58
------------------------	----

VIII. PERSPECTIVAS

VIII Perspectivas.....	59
------------------------	----

IX. REFERENCIAS

IX Referencias.....	60
---------------------	----

I. INTRODUCCION

El sistema cardiovascular está conformado por el corazón y una red de vasos. A través de él se provee a tejidos y células niveles apropiados de nutrientes, gases respiratorios, hormonas y metabolitos, además se remueven productos de desecho de éstos. Adicionalmente, participa en el mantenimiento de la homeostasis, así como en la regulación de la temperatura y del pH.

El corazón tiene gran importancia al bombear la sangre con la fuerza necesaria para que logre llegar a todos los tejidos. La falla de este motor puede originar una irrigación deficiente del resto de los tejidos. Por otro lado, ante cualquier daño que sufra, en él se van a activar mecanismos compensatorios para que la sangre continúe circulando, y así poder seguir satisfaciendo la demanda de nutrientes y gases de los tejidos. Sin embargo, los efectos benéficos de estos mecanismos compensatorios son temporales, ya que a largo plazo pueden modificar de manera perjudicial la arquitectura del corazón, ocasionando insuficiencias cardíacas o el deceso del organismo.

Así como el corazón está hecho para bombear la sangre con nutrientes, gases respiratorios, hormonas y metabolitos al resto del cuerpo; los organismos están programados para estar en movimiento. La falta de éste puede generar un funcionamiento erróneo de sistemas, órganos y tejidos.

Las adaptaciones que presentan los organismos, principalmente los mamíferos, fueron adquiridas en respuesta a un estilo de vida con gran actividad física y con ciclos de abundancia y escasez de alimento. Sin embargo, con la formación de las primeras comunidades humanas se modificaron estos ciclos de abundancia y escasez de alimentos, así como los niveles de actividad física, modificaciones que pueden hacer que el sistema se deteriore, lo que contribuyó al surgimiento y mayor incidencia de padecimientos crónico-degenerativos, hecho cada vez más evidente en las sociedades modernas. En México, la tasa de mortandad por enfermedades cardiovasculares pasó del 8% en 1999 al 26% en

2005; en asociación a un aumento en los niveles de sedentarismo (PRONASA: Programa Nacional de Salud, 2007-2012).

Estudios epidemiológicos aportan evidencias acerca de la importancia de contar con un estilo de vida más activo, por ejemplo realizar ejercicio, ya que la incidencia de enfermedades crónicas, como las enfermedades cardiovasculares, se ve disminuida. Sin embargo, los efectos netos del ejercicio pueden depender de factores propios del ejercicio, como frecuencia, duración e intensidad de éste; así como de factores intrínsecos a las personas, tales como género, edad, raza, composición genética, estilo de vida, presencia de enfermedades de toda índole, entre otros. Todas estas variables hacen importante estudiar las respuestas y adaptaciones inducidas por el ejercicio en los organismos y, en este caso, en el sistema cardiovascular, particularmente en el tejido cardíaco.

El estudio en humanos de temas relacionados con el corazón tiene como principal problema la baja probabilidad de obtener tejidos frescos previos o posteriores al inicio del tratamiento que se quiera investigar, o tejidos que no presenten ningún daño. Lo anterior por cuestiones éticas. Otra dificultad es la obtención de muestras homogéneas, es decir, que provengan de individuos del mismo género, y con edades y estilos de vida semejantes. Ante esto, una opción es recurrir a modelos animales, donde se trabaja con variables controladas y muestras homogéneas, además de que se pueden obtener muestras de tejido cardíaco a lo largo del tratamiento que se desee implementar. Uno de los modelos para el estudio de daño cardíaco corresponde al farmacológico, que no implica el deceso del organismo como resultado del tratamiento. Uno de los más empleados es la administración de agonistas β -adrenérgicos, como el isoproterenol, lo que permite contar con animales que pueden ser sometidos a daño cardíaco crónico o semicrónico. Condición más cercana a lo que ocurre en humanos, quienes se encuentran sometidos a más de una situación de posible daño cardíaco durante su vida. Empleando la administración de isoproterenol como modelo de daño miocárdico, en el presente proyecto se hizo uso de ratones, los cuales se sometieron a una rutina de ejercicio, para conocer, desde un punto de vista histológico, como varía la susceptibilidad del tejido cardíaco al daño cuando de manera previa el organismo practica algún ejercicio.

II. ANTECEDENTES

II.1 EJERCICIO

La palabra ejercicio proviene del latín *exercitium*. Puede ser definido como el conjunto de movimientos corporales que se realizan para mantener o mejorar la forma física (Real Academia Española, 2001); aunque dependiendo del contexto en que se desarrolle, se le han ido atribuyendo diferentes conceptos. Para el presente trabajo se considera el uso de la definición proporcionada por Boraita (2008), en la cual el ejercicio es considerado como “aquella actividad física planificada, estructurada y repetitiva cuyo fin es mantener o mejorar la forma o aptitud física; de manera que se pueda desempeñar esta actividad, ya sea ligera o moderada, sin que se presente un estado de fatiga excesiva”. Siguiendo el concepto de Boraita, la actividad física es definida como “cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos cuyo resultado es un gasto energético”.

Bioquímicamente hablando, el ejercicio se puede definir como el conjunto de movimientos voluntarios producidos por la transformación de energía bioquímica, generada durante el proceso de contracción muscular, en energía calorífica o cinética, para producir un movimiento (Álvarez y col., 2006).

A pesar de que en los últimos años los temas referentes al ejercicio y a la actividad física han tenido un gran auge, particularmente en México, encontramos que a lo largo de la historia de la humanidad, la concepción de la importancia del ejercicio ha ido cambiando (MacAulay, 1994).

En épocas previas a la revolución industrial, las personas se caracterizaban por tener un estilo de vida regido por niveles altos de actividad física, ya sea que estuviera dada como parte de la vida diaria de las personas o en forma de ejercicio. Por ejemplo, se sabe que las sociedades primitivas se caracterizaban por recorrer grandes distancias en busca de alimento y refugio, y por la realización de rituales. Por parte de las culturas asiáticas, el ejercicio tomó un nuevo sentido, ya que fue considerado como un medio para promover la salud. Una de las características de la cultura griega es el énfasis que ponían en llevar una vida sana, para la cual era primordial contar con un estilo de vida activo. Además de que, al igual que las culturas orientales, los griegos consideraban al ejercicio como medio para tratar enfermedades y discapacidades (MacAuley, 1994). Este periodo también tiene importancia ya que empiezan a surgir cuestiones relacionadas con probables efectos adversos por el ejercicio. Hipócrates y Galen consideraban que el entrenamiento en exceso era peligroso para la salud, pero el ejercicio moderado generaba beneficios a la salud (Robinson, 1955).

Con la entrada de la revolución industrial, y posteriormente de las tecnologías modernas, la sociedad entró en un mundo de comodidades, donde no es necesario realizar esfuerzos exuberantes para suplir una necesidad básica como son conseguir alimento o huir de amenazas, lo que generó que los niveles de actividad física de las personas decayeran. Al mismo tiempo, el ejercicio dejó de ser considerado importante, y los hábitos alimentarios se tornaron hacia las comidas en exceso, preferentemente ricas en grasa y bajas en fibra. Coincidentemente, junto con la expansión de un estilo de vida sedentaria, también se observó una mayor incidencia de enfermedades crónicas, de entre las que destacan las

relacionadas con el corazón (Eaton y col., 2002; Torun y col., 2002). Este mismo efecto se ha observado en comunidades que han cambiado su estilo de vida gobernado por una gran actividad física por uno característico de zonas urbanas. A la par, comenzaron a surgir estudios donde se sugería un posible efecto benéfico del ejercicio sobre la salud de las personas, con lo cual empieza a tener auge el estudio del ejercicio y sus efectos (Hedley, 1939; Morris y col., 1953; Smith, 1864).

II.1.1 Ejercicio y Calidad de Vida

Como se mencionó anteriormente, desde el surgimiento de las civilizaciones, de manera empírica se ha asociado el ejercicio con mejoras a la salud, y por ende en la calidad de vida de las personas. Estudios más sistematizados continúan proporcionando evidencias a favor de esta relación.

Entre los primeros estudios donde se observó la relación entre actividad física/ejercicio con mortandad se encuentran los de Hedley (1939), Morris y col. (1953) y Smith (1864). El primero notó que la tasa de mortandad por enfermedades coronarias del corazón era mayor en oficinistas que en carteros. Morris y col. (1953) observaron que la mortandad en Estados Unidos por oclusión coronaria aguda era más alta entre grupos de empresarios que entre grupos que se dedicaban a trabajos manuales. En tanto que Smith (1864), al estudiar los patrones laborales de sastres y agricultores de Londres, concluyó que la tasa de mortandad era mayor entre sastres que entre agricultores.

Investigaciones más recientes, no sólo relacionan el ejercicio con una menor mortandad, sino que también con una reducción en la incidencia de enfermedades crónicas como son el cáncer, la hipertensión arterial y la diabetes (Booth y col., 2000; Irvin y Mayne, 2008; Kokkinos y col., 2009; Warburton y col., 2006).

De la misma manera, a nivel de órgano o sistema, son evidentes los beneficios del ejercicio. Por otra parte, existen estudios con resultados encontrados referente a los efectos del ejercicio, lo cual puede ser debido tanto factores intrínsecos a los organismos (superficie corporal, sexo, edad, hábitos alimenticios, factores genéticos) como relacionados con el ejercicio (intensidad, duración, y tipo de ejercicio). Por ejemplo, en el sistema óseo, dependiendo del tipo de ejercicio y de la edad de los individuos, los efectos del ejercicio varían. El ejercicio denominado “weight-bearing” (Ejemplo: Gimnasia, correr) en jóvenes mejora la arquitectura del hueso y su densidad ósea (Bass y col., 2002; Gustavsson y col., 2003; Lloyd y col., 2004; Vicente-Rodríguez y col., 2005). Por otra parte, ejercicios de fuerza practicados periódicamente, contribuyen a la remodelación del hueso. Niños prepubertos activos, presentan mayor cantidad de masa ósea y huesos más fuertes, en comparación con niños sedentarios (Bass y col., 1998; Janz y col., 2004; Vicente-Rodríguez y col., 2003). Estudios en mujeres menopáusicas realizados por Rideout y col. (2006) muestran que la época más importante para realizar ejercicio es la de la adolescencia (12-18 años), ya que únicamente los beneficios generados en este periodo son duraderos. Otro estudio relacionado con la durabilidad de los beneficios asociados al ejercicio, es el de Nordström y col. (2006), donde se asoció la pérdida de densidad ósea con la reducción en los niveles de actividad física en ratas. Resultados

semejantes fueron obtenidos por Honda y col. (2008), quienes ejercitaron ratas jóvenes y adultas, encontrando que el entrenamiento incrementa de manera significativa la densidad mineral ósea, pero con el cese del ejercicio disminuye, aunque los niveles son siempre mayores a los presentes en organismos sedentarios. De igual forma, los estudios de Warden y col. (2007) con ratas (5 semanas) ejercitadas sugieren que el ejercicio en etapas juveniles genera beneficios en la estructura y fuerza del hueso, los cuales permanecen durante toda la vida del individuo. Continuando con el sistema óseo, Welch y col. (2008) sugieren que en la formación de huesos sanos, tiene mayor importancia el ejercicio, en comparación con una dieta rica en calcio, aunque ésta última en dosis adecuadas ayuda al desarrollo del hueso.

El sistema inmune también es influenciado por el ejercicio, aunque los efectos, generalmente dependen del tipo, intensidad y frecuencia del mismo. Nieman (1994) propone que el sistema inmune tiene un comportamiento en forma de “J”, donde la actividad física moderada mejora la función inmune por encima de los niveles de organismos sedentarios, en tanto que el ejercicio excesivo, prolongado y/o de intensidades altas merma la función inmune. Evidencias a favor del modelo en J son los estudios de Nieman y col. (1990), que reportan que la práctica regular del ejercicio por dos horas diarias reduce hasta en un 29% el riesgo de contraer infecciones del tracto respiratorio superior respecto a individuos sedentarios. Por otro lado, se sabe que las posibilidades de contraer una infección después de participar en carreras competitivas de ultra-entrenamiento aumentan de un 100% al 500% (Peters y col., 1993, Peters y col., 1996); además de que una sesión de ejercicio de alta intensidad provoca que la función

inmunitaria decaiga (Hoffman-Goetz y Pedersen, 1994; Pedersen y col., 1994; Shek y col., 1995). Además del efecto directo sobre el sistema inmune, el ejercicio genera cambios hormonales, con efectos inmunomoduladores (Gleeson, 2007). También se conoce que el ejercicio intenso induce una respuesta inflamatoria transitoria, la cual participa en los procesos de reparación, hipertrofia y angiogénesis muscular secundarios al ejercicio. Sin embargo, la repetición de reacciones inflamatorias intensas induce una afectación inflamatoria local de carácter crónico o recurrente que produce dolores musculares y disminución del rendimiento físico (Córdova y col., 2002).

Un beneficio adicional del ejercicio recae sobre el estado psicológico de las personas y las enfermedades neurodegenerativas. Existen evidencias que indican que el ejercicio modifica el estado de ánimo de las personas, al reducir los niveles de ira, confusión, angustia y tensión (Lane y Lovejoy, 2001). En individuos que han mostrado problemas de memoria, mejora sus habilidades cognitivas (Lautenschlager y col., 2008; Erickson y col., 2009). Igualmente reduce la incidencia de estados de depresión (Blumenthal, 1999). En individuos con enfermedad de Parkinson en etapas tempranas, el ejercicio ayuda a normalizar la excitabilidad motora (Fisher y col., 2008).

Una conclusión a la que en distintas ocasiones se ha llegado es que los beneficios o efectos protectores del ejercicio son más pronunciados cuando los individuos presentan un daño o enfermedad (Lane y Lovejoy, 2001; Leme y col., 2009; Saraceni y col., 2007).

Debido a que la práctica continua y moderada del ejercicio conlleva a más beneficios que perjuicios, al ejercicio se prescribe como medida preventiva de enfermedades crónicas, ya sea primaria o secundaria.

II.1.2 Ejercicio y Sistema Cardiovascular

El sistema cardiovascular (SCV) en los mamíferos es un circuito cerrado, cuyos principales componentes son el corazón y una red de vasos. A través de este sistema se transporta a tejidos y células niveles apropiados de metabolitos y gases de oxígeno, y también se les remueven productos de desecho. Ante una demanda incrementada de nutrientes, tal como sucede durante el ejercicio, hay una activación de mecanismos compensatorios que tienen por objetivo suplir esta nueva demanda, con una regeneración posterior de la homeostasis del organismo, así como de su temperatura y su pH (Klaassen y Watkins, 2005).

Una manera de satisfacer el incremento en la demanda de gases y nutrientes es aumentar el gasto cardiaco. Este aumento se genera a partir de la estimulación de vías simpáticas, lo que libera catecolaminas, dando como resultado el aumento tanto de la frecuencia cardiaca, como de la fuerza de contracción. Respuestas que aumentan el consumo de oxígeno. El aumento de la contractilidad del miocardio aumenta el volumen sistólico. A mayor frecuencia cardiaca y/o volumen sistólico, mayor gasto cardiaco. Al mismo tiempo, una mayor actividad simpática causa la redistribución del flujo sanguíneo hacia las áreas con mayor demanda de nutrientes y oxígeno (López y Fernández, 2001).

Una consecuencia de la práctica regular del ejercicio es el desarrollo de adaptaciones, las cuales contribuyen a mejorar la forma física de las personas, reduciendo los niveles de fatiga a una actividad dada. Entre las principales adaptaciones tenemos:

a) Bradicardia.- La reducción de la frecuencia cardíaca, tanto en reposo como durante el ejercicio físico, se ha observado a partir de la segunda semana de entrenamiento, tanto en humanos como en animales, indistintamente del género y tipo de ejercicio (Azevedo y col., 2007; De Angelis y col., 2004; Medeiros y col., 2004; Sugawara y col., 2001). La disminución de la frecuencia cardíaca permite alargar el tiempo de llenado del corazón, obteniendo un volumen sistólico final mayor, lo que mejora el flujo coronario y la perfusión miocárdica. Los mecanismos propuestos para explicar este fenómeno se relacionan con aumento del tono parasimpático y reducción del tono simpático, cambios en la sensibilidad de barorreceptores y disminución de la respuesta a catecolaminas (Rossi y col., 2009). Por ser una adaptación, puede perderse o verse disminuida con el cese definitivo del ejercicio (Evangelista y col., 2005).

b) Hipertrofia ventricular.- Es considerada una respuesta compensatoria a una variedad de estímulos (Oberti, 2005). Macroscópicamente se caracteriza por un incremento del grosor de la pared y/o del septo ventricular. A nivel celular se observa incremento del tamaño del cardiomiocito, con aumentos en la síntesis proteínica y cambios en la organización de la estructura sarcomérica (Carreño y col., 2006). En el caso del ejercicio, hay un crecimiento uniforme de la pared ventricular y del septo, junto con un crecimiento en las dimensiones de la cámara, lo cual permite el aumento del volumen sistólico, lo que incrementa el gasto cardíaco. Su desarrollo depende del tipo de ejercicio

que se realice, y es más común en individuos que hacen ejercicios de resistencia. Su aparición ha sido evidente a partir de la primera semana de ejercicio, aunque su desarrollo alcanza un punto máximo en la segunda semana de ejercicio en el cual se mantiene (Allen y col., 2001). La hipertrofia ventricular puede revertirse con el cese del ejercicio (Frenzel y col., 1988).

Junto con el engrosamiento de la pared, se ha demostrado que hay un aumento en la densidad capilar, lo que contribuye a mantener una adecuada perfusión del tejido cardiaco (Batista y col., 2008; Duncker y Bache, 2008; Jacobs y col., 1984; Laughlin y McAllister, 1992; McCall y col., 1996; White y col., 1988). Aunado a la densidad capilar, un incremento en la concentración de mioglobina permite una mejor oxigenación del tejido (Meeson y col., 2001; Merx y col., 2005).

c) Cambios en el metabolismo miocárdico y estado bioenergético.- La principal fuente de energía del miocardio es obtenida a partir del metabolismo aeróbico (sistema creatinina-cinasa), sin embargo, cuando las reservas de energía se ven agotadas, se puede recurrir al metabolismo anaeróbico, con la consecuente producción de piruvato y lactato, los cuales alteran el pH, generando acidosis, lo que a su vez lleva a una disminución de la sensibilidad de las proteínas contráctiles al calcio (Bamonde y Jorge, 2002), además de que la obtención de energía por este medio no se puede mantener por mucho tiempo. Estos últimos cambios pueden deteriorar la estructura del músculo, así como su función contráctil, lo que repercute en el volumen de eyección y en la perfusión miocárdica y del resto de los tejidos (Stuewe y col., 2001). En organismos entrenados se ha observado un incremento en las concentraciones de creatinina-cinasa, así como de la actividad de

ATPasa miofibrilar, importantes en la generación de la energía necesaria para mantener la función contráctil del tejido (Baldwin y col., 1977; Stuewe y col., 2000; Stuewe y col., 2001). Además de los cambios en estas proteínas, se ha observado un incremento en el número y tamaño de mitocondrias, lo que supone mayor generación de energía en forma de ATP; y aumento en la concentración de mioglobina. Estos dos cambios implican mayor disponibilidad, tanto de oxígeno como de ATP, principalmente en situaciones que comprometan la viabilidad del tejido cardiaco, tal y como ocurre en los procesos de isquemia o en un infarto al miocardio.

II.2 DAÑO MIOCARDICO

Uno de los órganos más importantes de los organismos es el corazón, ya que entre sus funciones se encuentran el bombear la sangre con la fuerza y frecuencia necesaria para generar una perfusión sistémica acorde a los requerimientos del metabolismo tisular (Klaassen y Watkins, 2005). Sin embargo, prácticamente cualquier alteración estructural cardiaca origina la pérdida o disminución de esta función (Tortora y Anagnostakos, 1999).

Ante cualquier situación adversa, en el corazón se generan respuestas compensatorias con el propósito de amortiguar el daño, sin embargo, a largo plazo suelen ser deletéreas (Carreño y col., 2006; Diez y col., 2001; Gutiérrez y Domínguez, 2000).

Este cambio de lo benéfico a lo perjudicial se debe a que algunas de estas respuestas también pueden remodelar la estructura cardiaca (Diez y col., 2001). La remodelación cardiaca es considerada como el conjunto de respuestas celulares cardiacas que se desarrolla lenta y progresivamente ante prácticamente cualquier daño al corazón (Cohn y col., 2000; Jugdutt, 2003). Uno de los eventos que comúnmente inician el proceso de remodelado del tejido cardiaco es el infarto agudo al miocardio. Por otro lado, también se pueden presentar situaciones que al generar un aumento del estrés biomecánico inducen la remodelación (Diez y col., 2001), tales como:

- ✦ Sobrecarga mecánica del corazón (Ejemplo: paciente con hipertensión arterial o con estenosis aórtica)
- ✦ Perfusión del músculo cardiaco comprometida (Ejemplo: pacientes con cardiopatía isquémica)
- ✦ Cuantía del miocardio funcional comprometido (Ejemplo: pacientes con infartos previos)
- ✦ Anormalidades en la composición de los cardiomiocitos (Ejemplo: miocardiopatías de origen genético)

Durante este proceso se dan cambios en la geometría del ventrículo izquierdo y cambios en su masa. Este tipo de modificaciones se observan con el desarrollo de hipertrofia ventricular, caracterizada en el caso de un infarto al miocardio, por el engrosamiento de la pared ventricular y del septo y por la disminución en las dimensiones de la cámara ventricular (Heineke y Molkenin, 2006). Comúnmente se acompaña por el deterioro de la contractilidad del tejido, probablemente debida a modificaciones en la sensibilidad al

calcio; al llenado inadecuado de las cámaras; y por mayor actividad de mecanismos apoptóticos y necróticos.

Otro cambio que sufre el miocardio radica en su composición. Cuando el tejido sufre un daño hay una estimulación de fibroblastos e inhibición de colagenasas miocárdicas. Esto genera aumentos en la síntesis de colágena y disminución de su degradación, y, por ende, la acumulación de estas fibras en el tejido. Cuando el aumento en el contenido de fibras de colágena es de dos a tres veces, la rigidez de la pared ventricular se incrementa, comprometiendo la distensibilidad del tejido, la cual es importante para el llenado correcto de las cámaras. Un aumento de cuatro veces o más alto afecta la función sistólica, relacionada con la contractilidad del músculo (Diez y col., 2001).

Además de los cambios en su estructura y composición, en el tejido se presentan alteraciones metabólicas, como es el empleo del metabolismo anaeróbico y fallas en la capacidad para sintetizar ATP mediante el sistema de la creatinin-cinasa y la reducción en los niveles de mioglobina (Bamonde, 2002).

Complementario a estos cambios, el estrés biomecánico generado por una lesión desencadena una respuesta inflamatoria local de fase aguda que tiende a generalizarse con la acumulación de células polimorfonucleares y macrófagos en el lugar de la lesión miocárdica, y la activación de citocinas pro y antiinflamatorias (Bodi y col., 2008; Frangogiannis, 2008; Ren y col., 2003).

Conocer las alteraciones del tejido generadas durante el proceso de remodelación hubiera sido prácticamente imposible de haberse estudiado únicamente en corazones de personas,

ya que éstos, por lo general, sólo se pueden obtener *postmortem* o de individuos con enfermedades en estados avanzados. Por lo que una pieza fundamental en el conocimiento de la fisiología y fisiopatología del corazón ha sido el empleo de modelos animales. Un modelo animal es aquel en el cual se estudia la fisiología, el comportamiento y los procesos patológicos espontáneos o inducidos, que presentan semejanzas con los padecimientos humanos o de otras especies (Klocke y col., 2007, Krinke y col., 2000; Muders y Elsner, 2000). Su principal virtud es el permitir aislar la variable de estudio deseada al controlar factores como edad, género, dieta, genética, entre otros, lo que genera resultados más certeros y reproducibles. Para el caso específico de procesos relacionados con el corazón, los modelos animales permiten obtener tejidos frescos, independientemente de que presenten una patología o no, en cantidades lo suficientemente grandes como para realizar diversos análisis que indiquen el efecto de algún tratamiento directamente en el tejido. Lo anterior es complicado de obtener a partir de tejido humano, principalmente por implicaciones éticas, además de que la gran heterogeneidad de las muestras puede generar complicaciones y respuestas inconclusas (Hearse y Sutherland, 2000).

La generación de lesiones cardiacas en modelos animales generalmente se realiza por métodos quirúrgicos y farmacológicos. Aunque en la actualidad también se puede recurrir a animales genéticamente modificados (Babu y Periasamy, 2005; Dillmann, 1999; Shiomi y col., 2003). Otra opción son aquellos modelos donde ciertas enfermedades cardiovasculares se presentan de manera natural (Gallegos y col., 2004; Van Vleet y

Ferrans, 1986). Un método alternativo, aunque poco empleado son las criolesiones (Jensen y col., 1987).

En el caso de los métodos quirúrgicos, se puede llevar a cabo ligación de arteria coronaria izquierda (Litvak y col., 1957; Wang y col., 2006; Yang y col., 1993), embolización coronaria (Carroll y col., 1989; Huang y col., 1997; Operschall y col., 2000; Sakaguchi y col., 2003; Yang y col., 1993;), estimulación cardiaca (Fabritz y col., 2004; Shinbane y col., 1997; Timek y col., 2003), métodos que induzcan una sobrecarga de presión o de volumen (Dell'Italia, 1995; Garcia y Diebold, 1990), entre otros. Sin embargo, para emplear estas técnicas en animales pequeños, como el ratón, se necesita equipo especializado en miniatura y el uso de un microscopio, lo cual los hace una tecnología costosa. Aunado a esto, el que sean procedimientos invasivos, implica un mayor riesgo de sufrir hemorragias, infecciones u otras afecciones producto de la operación, además de que requerir cuidados postoperatorios. Otras desventajas son el alto índice de mortandad, generación de fibrilaciones, variabilidad en el tamaño y ubicación del daño, y dificultad para realizar estudios de tipo crónico (Klocke y col., 2007; Muders y Elsner, 2000).

Una alternativa a los métodos quirúrgicos, son los farmacológicos. Éstos son procedimientos no invasivos o ligeramente invasivos, lo que disminuye el índice de mortalidad. Las principales desventajas son la dificultad de encontrar la dosis del fármaco que sea capaz de inducir un daño suficiente pero no excesivo, la toxicidad que pueda generar el químico en órganos distintos al corazón, y las posibles alteraciones moleculares con consecuencias funcionales más no morfológicas (Balazs y Ferrans, 1978;

Klaassen y Watkins, 2005). Algunos de los agentes cardiotoxícos que se han empleado son la dextrorubicina (Astra y col., 2003; Delgado y col., 2004; Dodd y col., 1993; Zhu y col., 2008), monocrotalina (Buermans y col., 2006; Dalla y col., 2005), carazolol (Petzold y col., 1999), veneno de abeja africanizada (Ferreira y col., 1995) e isoproterenol (ISO).

El isoproterenol o isoprenalina es una catecolamina sintética simpaticomimética que presenta una estructura similar a la adrenalina que actúa casi exclusivamente en los receptores adrenérgicos beta del corazón, músculo bronquial, músculo esquelético y tracto alimentario (SAOB, 2006), generando lesiones semejantes a las producidas por un infarto al miocardio o un proceso isquémico.

Entre los primeros reportes que dan a conocer la inducción de necrosis en el miocardio por el isoproterenol son los de Rona y col. (1959) y Kahn y col. (1969). Estudios posteriores ponen en evidencia los efectos deletéreos del isoproterenol. Díaz-Muñoz y col. (2006) clasificaron la lesión generada por el isoproterenol en ratas en 3 etapas: preinfarto (primeras 12 horas después de la administración de isoproterenol), infarto (12-24 horas posteriores a la administración), y postinfarto (24 horas en adelante). Los efectos observados con la administración de este fármaco son taquicardia, aumento de la presión arterial, decremento en el suplemento de oxígeno en el tejido y disnea. A nivel histológico, se observa fragmentación de miofilamentos, formación de bandas de contracción, hialinización, necrosis focal, proliferación de fibroblastos, acumulación de tejido conectivo, desarrollo de permeabilidad del miocito, inflamación extensiva e infiltración de leucocitos polimorfonucleares. A nivel bioquímico se ha demostrado la presencia de enzimas marcadoras de un infarto como creatinín-cinasa, α -hidroxibutirato

hidrogenasa y transaminasa glutámico aspártico, así como alteraciones en la función mitocondrial (Benjamin y col., 1989; Díaz-Muñoz y col., 2006; Kahn y col., 1969; Kung y Blau, 1978; Noronha-Dutra y col., 1984; Pinelli y col., 2004; Rona y col., 1949; Rona y col., 1959; Saroff y Wexler, 1970; Wexler y Kittinger, 1963).

Los mecanismos sugeridos mediante los cuales genera la lesión cardíaca son a través de receptores beta adrenérgicos (Balazs y Ferrans, 1978; Brum y col., 2006; Cano-Martínez, y col., 2004; El-Demerdash y col., 2005; Xiao y col., 2004) o por la vía del estrés oxidativo (Díaz-Muñoz y col., 2006; Eisenhofer y col., 2004; El-Demerdash y col., 2005; Gauthaman y col., 2006; Persoon-Rothert y col., 1989; Rathore y col., 1998; Zhang y col., 2005), siendo muy posible que no sean mutuamente excluyentes.

II.3 EJERCICIO y SUSCEPTIBILIDAD al DAÑO MIOCARDIACO

Los efectos del ejercicio sobre la susceptibilidad al daño cardíaco observados directamente en poblaciones humanas, son producto principalmente de estudios epidemiológicos, donde se observa alguna relación entre ejercicio e incidencia de alguna enfermedad; o de análisis indirectos como posibles marcadores de daño o beneficio.

Datos generados a partir de estudios epidemiológicos han demostrado que efectivamente hay una relación inversa entre enfermedades cardiovasculares y ejercicio. En 1910, se observó que las enfermedades coronarias eran una afección típica de clases sociales altas, que se caracterizaban por su baja actividad física, en comparación con las clases sociales

bajas, las cuales realizaban los trabajos físicos y no presentaban tales enfermedades (Osler, 1910). Por otra parte, en Estados Unidos se comenzó a observar una relación entre enfermedades coronarias y ocupación profesional. Morris y col. (1953) llegaron a la conclusión de que la mortandad por oclusión coronaria era más alta entre grupos de empresarios que entre grupos que se dedicaban a trabajos manuales.

Análisis bioquímicos demuestran que el ejercicio tiene la capacidad de mejorar el perfil lipídico de lipoproteínas, disminuir el colesterol, mejorar la composición corporal, así como mejorar o mantener la homeostasis de la glucosa y la sensibilidad a la insulina. Todos, factores de riesgo que modifican la susceptibilidad de los individuos a padecer enfermedades cardiovasculares (Warburton y col., 2006).

Evidencias aportadas por estudios en modelos animales sugieren que el ejercicio disminuye la susceptibilidad a lesiones cardiacas, no sólo por disminuir los factores de riesgo, sino que también genera alteraciones morfológicas que contribuyen a disminuir la magnitud del daño ocasionado por la lesión.

Modificaciones en el metabolismo del corazón, angiogénesis, contractibilidad, función endotelial, entre otros, se cree que son factores importantes para disminuir la extensión de una lesión miocárdica, ya que podrían hacer al corazón más tolerante al daño (Bowles y Starnes, 1994; Brown y col., 2003; Freimann y col., 2005; Zhang y col., 2007).

Corazones provenientes de ratones entrenados y posteriormente sometidos a un periodo de isquemia-reperusión presentan una mejor recuperación de la función contráctil, menor rigidez diastólica, mayor eficiencia de trabajo y mayor sensibilidad al calcio

extracelular (Bowles y Starnes, 1994). Un punto importante, y observado en otros estudios, es el hecho de que algunos beneficios del ejercicio únicamente son visibles cuando se presenta daño o lesión. En el trabajo de Bowles y Starnes (1994) esto se puede observar en el metabolismo y el estado bioenergético del tejido. Ratones ejercitados no muestran alteraciones en los niveles de fosfocreatinina ni de ATP respecto a ratones sedentarios, sin embargo, posterior al proceso de reperfusión los niveles fueron más altos en ratones ejercitados.

En 2005, Freimann y col. estudiaron el efecto del ejercicio previo a un infarto en ratas macho puestas a nadar por siete semanas a las que posteriormente se les indujo un infarto agudo al miocardio. Encontraron que la cicatriz fue de menor tamaño en ratas ejercitadas, además de que el ejercicio previo a una lesión potencializa la arteriogénesis únicamente en organismos ejercitados lesionados, ya que organismos ejercitados sin lesión ni sedentarios lesionados mostraron este efecto. El mayor nivel de densidad arteriolar encontrado, es concordante con la mejora en la contracción cardíaca.

Todos estos estudios ponen en evidencia los beneficios del ejercicio. Sin embargo, el hecho de que algunos de los efectos únicamente sean evidentes cuando se presenta algún tipo de daño, o bajo circunstancias especiales de género y/o edad, entre otros, hace necesario continuar investigando los efectos del ejercicio a corto, mediano y largo plazo.

III. PROBLEMA, OBJETIVOS e HIPÓTESIS

III.1 PROBLEMA.

Ante la serie de evidencias previamente planteadas el presente trabajo se diseñó con el propósito de conocer cuál es el efecto del ejercicio sobre la susceptibilidad al daño miocárdico.

III. 2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del ejercicio sobre la susceptibilidad al daño miocárdico con isoproterenol a nivel tisular en el corazón de ratones.

III.2.1 Objetivos Particulares

1. Evaluar el efecto del ejercicio sobre la hipertrofia ventricular y sobre el daño miocárdico respecto a la proporción de fibrosis intersticial, fibras miocárdicas rotas e infiltrados celulares.
2. Evaluar el efecto del isoproterenol en la hipertrofia ventricular y sobre el daño miocárdico respecto a la proporción de fibrosis intersticial, fibras miocárdicas rotas e infiltrados celulares en ratones sedentarios.

3. Evaluar el efecto del isoproterenol sobre la hipertrofia ventricular y sobre el daño miocárdico respecto a la proporción de fibrosis intersticial, fibras miocárdicas rotas e infiltrados celulares de ratones previamente ejercitados.

III.3 HIPOTESIS

Con base en las evidencias existentes, se espera que los organismos ejercitados muestren mínima o nula fibrosis intersticial, fibras miocárdicas rotas, así como infiltrados celulares; en tanto que el nivel de hipertrofia ventricular será evidente. Este último por ser una adaptación del ejercicio.

En los organismos a los que se les induzca la lesión miocárdica, se espera que desarrollen hipertrofia ventricular, presenten aumento de fibrosis intersticial, mayor número de infiltrados celulares, así como un deterioro en su estructura, ya que son características frecuentes en el proceso de remodelación miocárdica.

En los organismos tratados con isoproterenol pero previamente ejercitados, se espera que el ejercicio pueda amortiguar parcialmente el proceso de remodelación, por lo que se debe encontrar menor proporción de fibrosis e infiltrados celulares, así como una mejor estructura del tejido, en comparación con organismos con lesión miocárdica pero que no fueron ejercitados.

IV. MATERIALES y MÉTODOS

IV.1 ANIMALES

Se emplearon 20 ratones machos Balb/c, de 2 meses de edad, con peso de 25 a 30 g, proporcionados por el bioterio del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. Todos los animales se mantuvieron en ciclo luz/oscuridad 12/12 horas, con agua y alimento *ad libitum*.

IV.1.1 Diseño Experimental

Para el presente proyecto se consideró la formación aleatoria de 4 grupos:

SS: Grupo control: Sin ejercicio ni daño miocárdico:

Sedentarios con solución salina.

ES: Grupo experimental con ejercicio: Con ejercicio sin daño miocárdico.

Ejercitados con solución salina.

SI: Grupo experimental con daño miocárdico:

Sin ejercicio y tratados con isoproterenol.

EI: Grupo experimental con ejercicio y daño miocárdico:

Ejercitados con isoproterenol.

IV.2 PROTOCOLO de EJERCICIO

Para ejercitar a los ratones se empleó el método de banda sin fin con 0° de inclinación (Fig.1), en el cual los organismos corren de manera continua sobre una banda que va a una velocidad definida (Starnes y col., 2003), de la cual se darán los detalles en los párrafos subsecuentes.

El presente protocolo está constituido por dos etapas: a) Familiarización, con una semana de duración; y b) Entrenamiento por 5 semanas. Del estudio completo se realizó una réplica.



Fig.1 Aparato empleado para ejercitar a los ratones

IV.2.1 Familiarización

Esta etapa tiene como objetivo unificar la muestra, y a partir de esto seleccionar de manera aleatoria los ratones que continuarán con la rutina de ejercicio. La semana de familiarización consistió en hacer correr a los ratones a velocidades y tiempos crecientes hasta alcanzar la velocidad de la fase de entrenamiento. El esquema de velocidad y tiempo utilizados se menciona a continuación:

Día 1: 10m/min./10min.

Día 2: 10m/min./20 min.

Día 3: 12m/min./30min.

Día 4: 12m/min./40 min.

Día 5: 14m/min./50 min.

IV.2.2 Entrenamiento.

Se formaron dos grupos: ejercitados y sedentarios; cada uno conformado por 10 ratones. El primero continuó corriendo a 14m/min., por 60 minutos, cinco días a la semana (lunes a viernes), por cinco semanas. Al segundo grupo únicamente se les retiró el alimento y agua durante el periodo en el que los demás ratones corrían, para que todos los animales estuvieran bajo condiciones semejantes durante el tiempo que duró el estudio. Durante este mismo periodo de tiempo todos los ratones fueron pesados al inicio de la semana (previo a iniciar la sesión de ejercicio) y al final de la misma (después de ser ejercitados).

IV.3 LESIÓN al MIOCARDIO

Veinticuatro horas posteriores a la última sesión de ejercicio, se pesaron todos los animales y se inició el tratamiento con isoproterenol para inducir la lesión del tejido de acuerdo al siguiente esquema. 5 ratones ejercitados y 5 sedentarios recibieron siete administraciones de isoproterenol, vía subcutánea, una cada 24 horas, con una dosis de 5 µg/g en 100 µl de solución salina para un ratón de 25 g. Esta dosis y vía de administración fueron seleccionadas por su efectividad para generar un daño significativo al miocardio de manera reproducible y sin causar el deceso del organismo (aspectos previamente probados en el laboratorio). Cinco organismos ejercitados y 5 sedentarios recibieron un volumen equivalente de solución salina. Los ratones tratados con solución salina fueron empleados como controles del daño miocárdico.

IV.4 PROCESAMIENTO del TEJIDO

IV.4.1 Obtención del Corazón

Veinticuatro horas después de la última administración de isoproterenol o solución salina, se pesó cada ratón y se procedió a sacrificarlos por dislocación cervical. Se extrajeron los corazones, se lavaron con solución buffer de fosfatos (PBS) 1X pH 7.4, con glucosa al 1.0%, y cada ventrículo y aurícula fueron separados y pesados. Subsecuente a esto, los corazones fueron fijados en paraformaldehído (PFA) al 4% por 24 horas a 4°C. Transcurrido este tiempo, se lavaron los tejidos con PBS con azida sódica al 0.02% y se

conservaron a 4 °C hasta su utilización. Empleando el peso corporal y el ventricular se calculó la proporción del segundo respecto al primero como un criterio general de posible hipertrofia ventricular (Ennis y col., 2003; Rosa y col., 2005; Zhang y col., 2008).

IV.4.2 Cortes Tisulares por Congelación

Cada corazón se depositó en solución de sacarosa al 30%, a 4°C por 24 horas antes de ser cortado. Cada corazón se embebió en resina Tissue-tek para realizar cortes por congelación sobre hielo seco y posteriormente se colocó dentro de un criostato. Una vez orientados en la platina del criostato se realizaron cortes transversales de 10 µm. Los cortes obtenidos fueron montados sobre laminillas gelatinizadas, de tal manera que cada laminilla obtenida contuviera un promedio de 15 cortes representativos de todo el ventrículo; se obtuvieron al menos 6-8 series por corazón. Las laminillas se conservaron a 4°C hasta el momento de realizar la tinción.

IV.5 METODO HISTOLÓGICO

IV.5.1 Tinción Tricrómica de Masson

Este tipo de tinción se empleó por permitir diferenciar fibras musculares, fibras de colágena, así como núcleos celulares en un mismo corte, lo cual se debe a los tres colorantes que usa. La fucsina ácida-escarlata de Beibrich tiñe las fibras musculares

(color rojo); el azul anilina las fibras de colágena (color azul); y la hematoxilina férrica de Weigert los núcleos (color negro). Además de que puede ser empleada en cortes embebidos en parafina o hechos por congelación, como en este estudio.

El protocolo para la tinción se describe a continuación:

1. Secar las laminillas a temperatura ambiente (TA).
2. Hidratar el tejido en PBS 0.01 M, pH 7.4, a TA.
3. Incubar el tejido en solución Bouin precalentada a 56° C por 15 minutos.
4. Enjuagar el tejido en agua corriente.
5. Teñir con hematoxilina férrica de Weigert por 5 minutos con agitación constante a 70 rpm. En este momento, se obtiene una leve tinción del citoplasma y una tinción de los núcleos de color negro.
6. Lavar el tejido con agua desionizada.
7. Teñir con escarlata de Biebrich y Fucsina ácida por 5 minutos con agitación a 90 rpm.
8. Lavar rápidamente por inmersión en agua desionizada. De esta manera el citoplasma de las fibras musculares se teñirá color rojo brillante y las fibras de colágena se teñirá tenuemente de rojo.

9. Colocar los cortes en una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, por 5 minutos con agitación a 90 rpm, lo que origina que las fibras de colágena presenten un color rosa claro.

10. Teñir con azul de anilina por 15 minutos con agitación a 60 rpm.

11. Lavar el tejido con ácido acético al 0.1% por 2 minutos. Con lo que las fibras musculares se podrán observar de color púrpura.

12. Lavar los cortes con agua destilada por inmersión, deshidratar rápidamente con etanol al 95% y con etanol absoluto, aclarar con xileno por 2 minutos y montar en Bálsamo de Canada (9:1 con xileno).

IV.5.2 Análisis Histológico (Evaluación de Daño)

Para conocer la magnitud del daño ocasionado, se evaluó el porcentaje de fibrosis intersticial (FI), así como el número de fibras miocárdicas rotas (Fr) e infiltrados celulares (Ic), empleando los criterios de Condorelli y col., 2002; Jacoby y col., 2003; Milner y col., 1996; Oudit y col., 2003; Zhang y col., 2008; tal y como se muestra en las fotografías presentes en la figura 2, obtenidas durante el desarrollo del presente estudio.

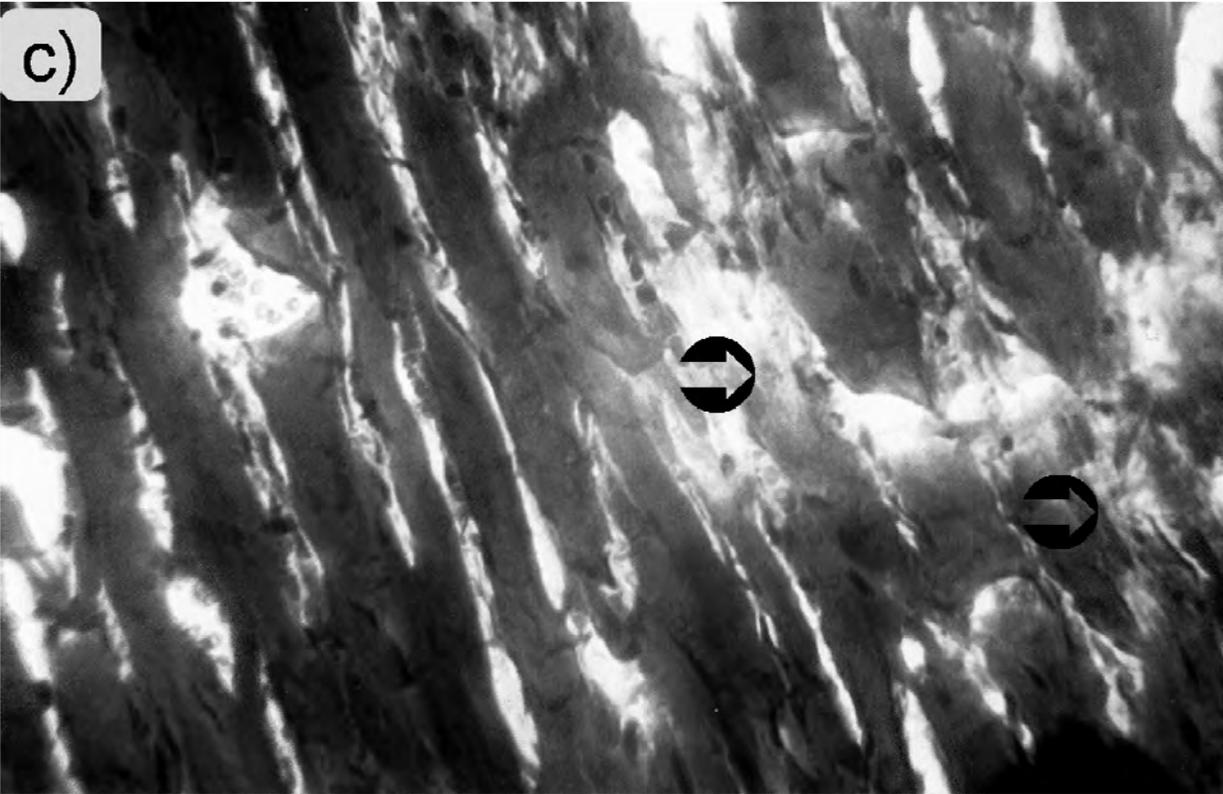
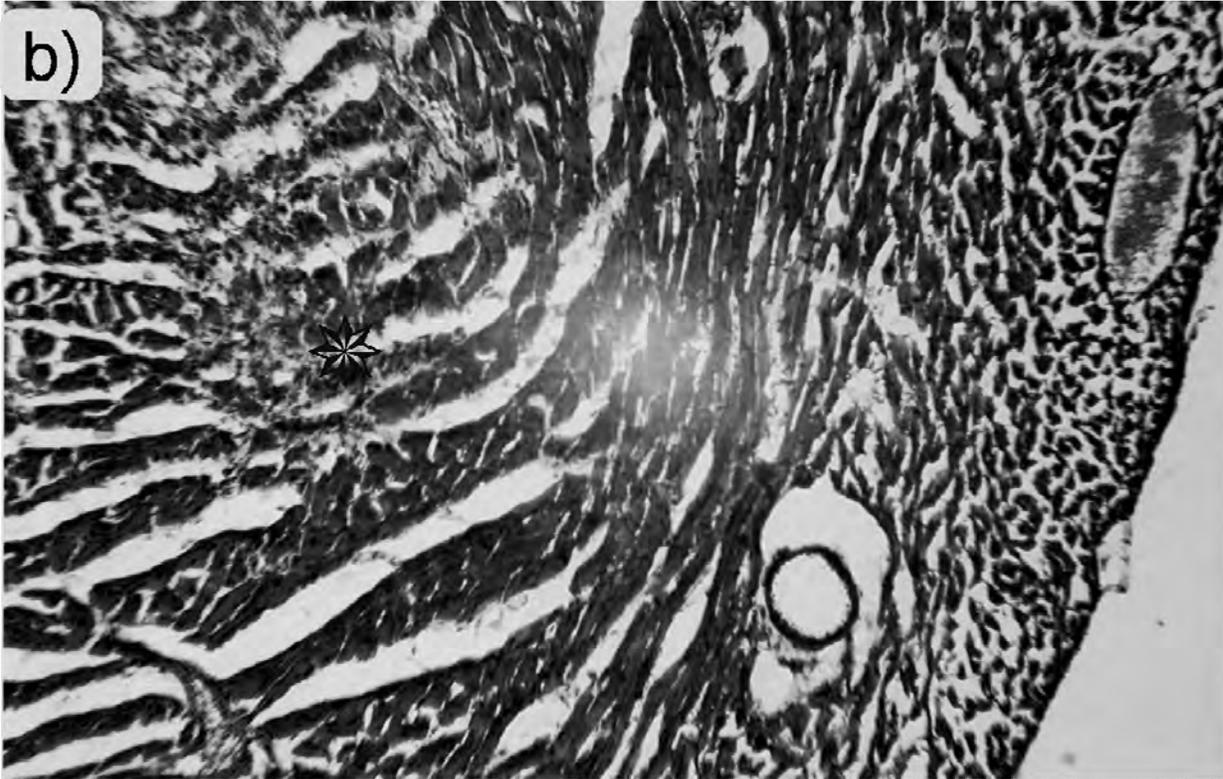
Se consideró que un tejido presentaba fibrosis intersticial cuando entre las fibras musculares había fibras de colágena (fig.2d), lo que hacía que entre el tejido muscular (teñido de rojo) se observasen fibras azulosas o porciones del tejido de color azul. Al

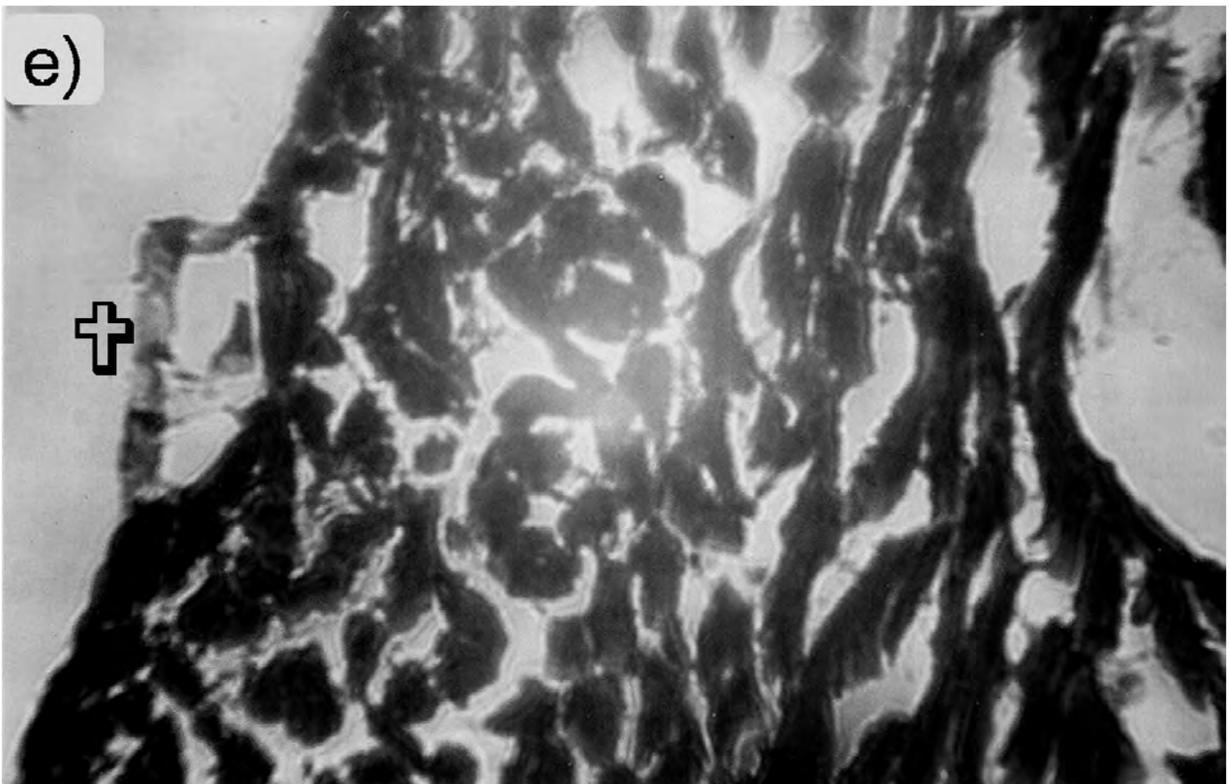
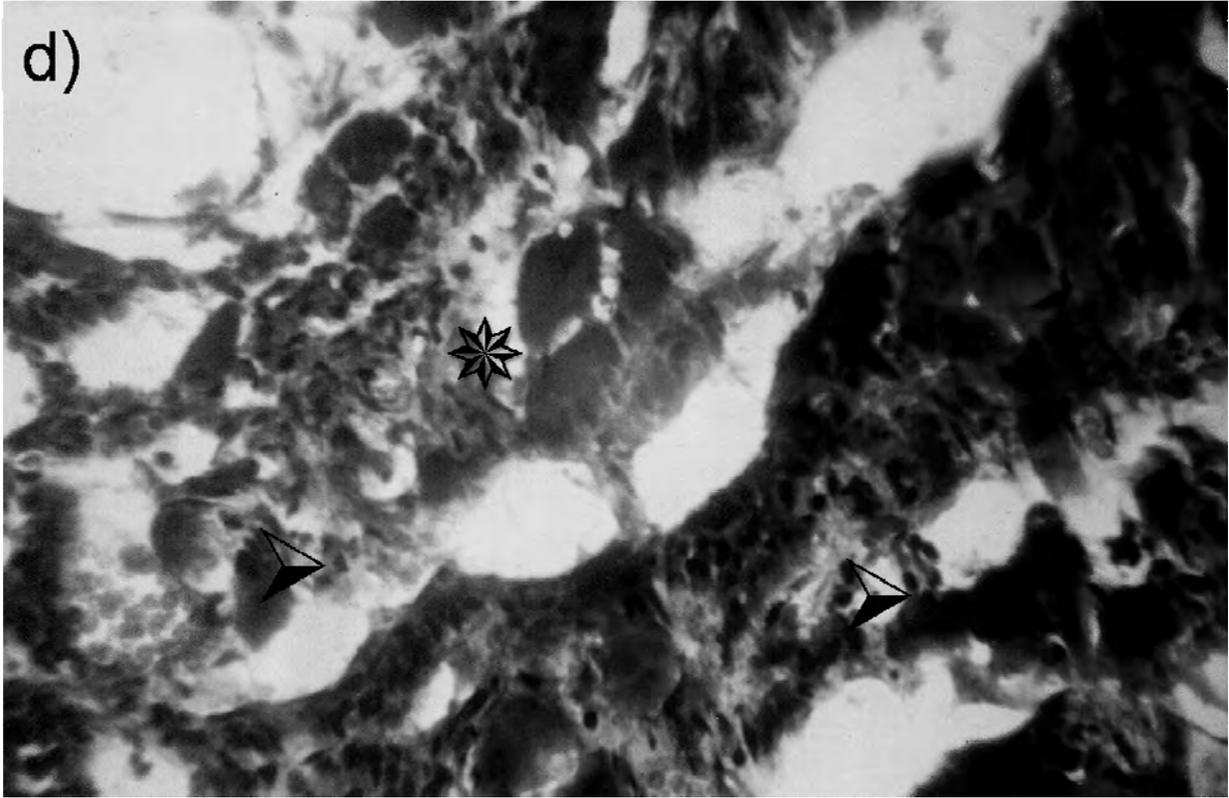
evaluar los niveles de fibrosis intersticial fue importante no cuantificar las fibras que se pueden encontrar en la periferia del corte o de vasos (Fig.2e, 2f, 2g).

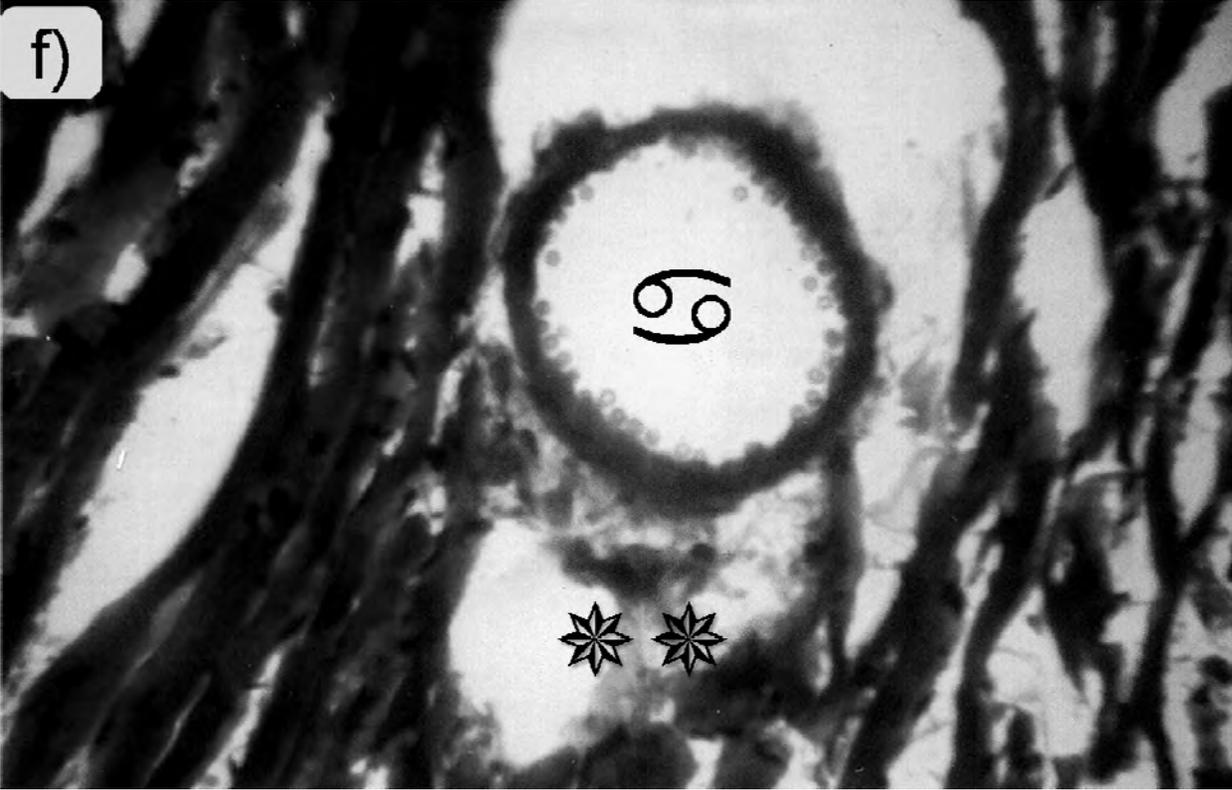
Una fibra se consideró rota cuando ésta perdía su continuidad (Fig.2c), siendo importante distinguir cuando una fibra presentaba una ruptura generada como consecuencia del ejercicio o del daño inducido, o como producto de la manipulación del tejido (Fig.2i).

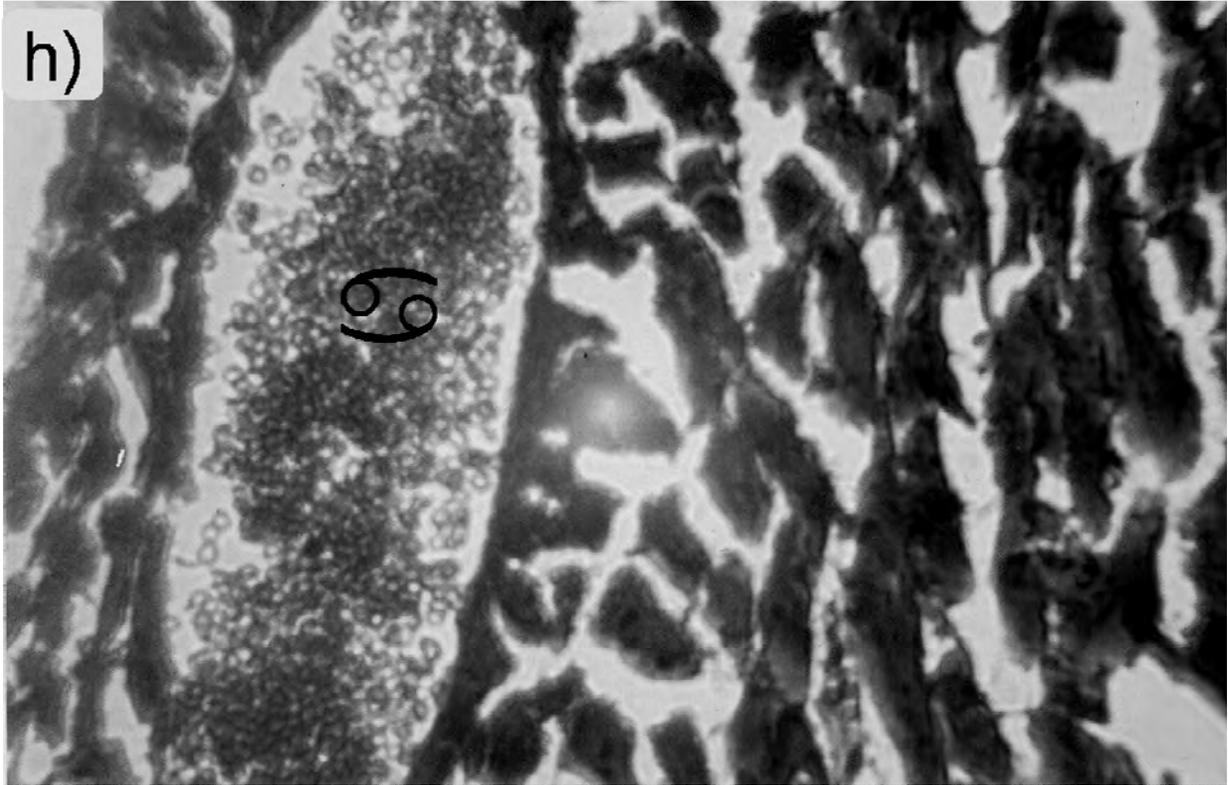
Por último, la detección de infiltrados celulares consistió en la identificación de cualquier tipo celular, que suelen tener forma circular o similar a ésta y presentan una coloración oscura, generalmente de color negro (fig.2d); y en la exclusión de los núcleos propios del tejido cardiaco. Durante la cuantificación se tuvo que descartar por igual a los eritrocitos, los cuales suelen encontrarse cerca de vasos sanguíneos, y con coloración roja, por ser células anucleadas (fig.2g, 2h).

Para cada corte de cada una de las laminillas se cuantificaron los parámetros anteriormente mencionados (fibras de colágena, fibras miocárdicas rotas e infiltrados celulares) hasta en cinco campos diferentes por corte, dependiendo del tamaño de éste. Generando una observación de aproximadamente 60 campos diferentes de cada corazón. Todos los parámetros fueron evaluados independientemente por dos observadores con un criterio doble ciego y corroborado por un tercero.









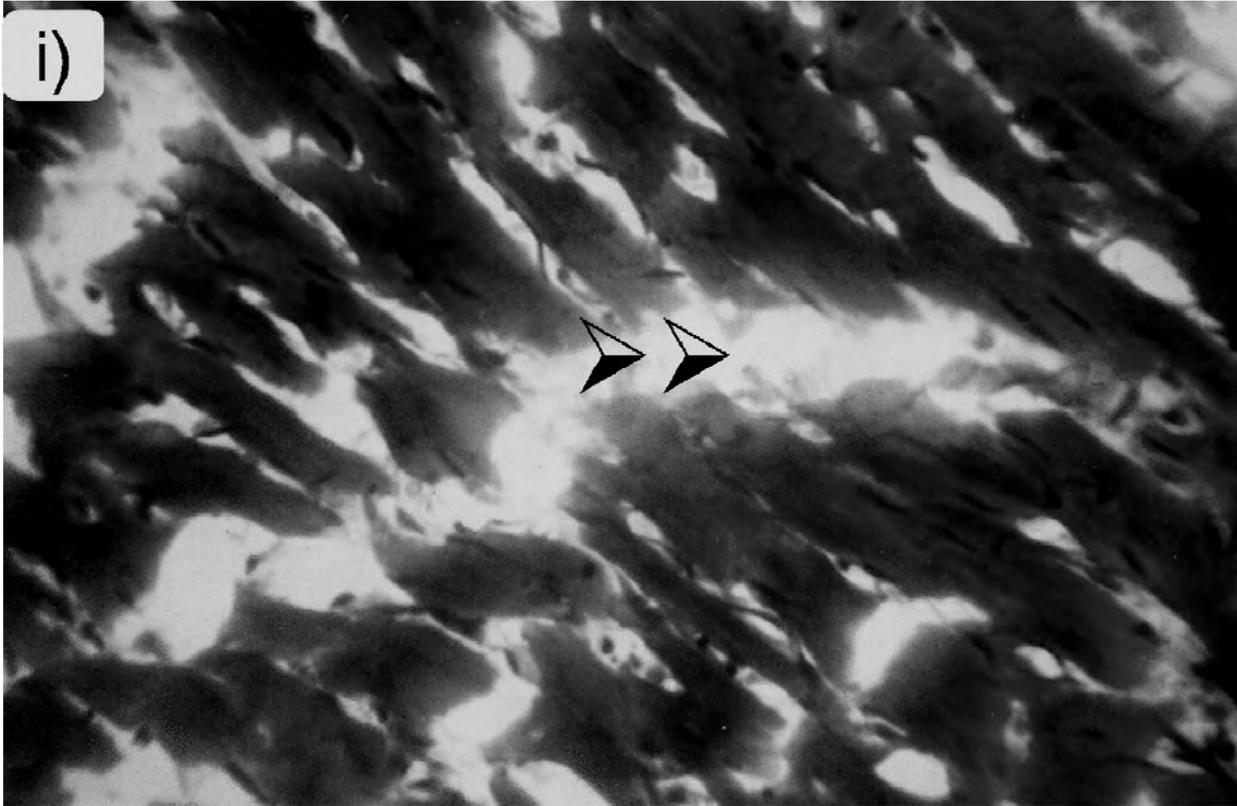


Fig.2. Evaluación de daño miocárdico. Factores de inclusión y exclusión. a) y b) Tinción tricrómica de Masson de tejido sin daño (a) y con daño (b). c), d), e) Factores de inclusión (400x): Fibras azules (*) intercaladas en el tejido miocárdico, fibras de color rojo discontinuas (☉) y núcleos celulares de color negro (➤). f), g), h), i) Factores de exclusión (400x): Fibras azules periféricas al tejido (‡) y a vasos sanguíneos (**), eritrocitos presentes en vasos o circundándolos (☉), y fibras rotas por procesamiento (➤➤).

IV.5.3 Análisis Estadístico

IV.5.3 Análisis Estadístico

Los datos son presentados como medias \pm ES. Para determinar diferencias entre tratamientos se empleó la prueba t de Student. Para relacionar dos o más parámetros se realizó el análisis de correlaciones de Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica 7.0 (Statistica 7.0, StatSoft, Inc, 2004).

IV.6 OBSERVACIONES

Al momento de agrupar a los ratones en sedentarios y ejercitados, se asignó a los ratones que, durante la semana de familiarización presentaran una mayor habilidad para correr, en el grupo de ejercitados, con el propósito de asegurarnos de contar con animales realmente sometidos al entrenamiento en este grupo experimental.

V. RESULTADOS

V.1 EFECTO del EJERCICIO

En el presente estudio se encontró que el peso corporal de los ratones se incrementó de manera significativa respecto al peso inicial, independientemente del grupo al que pertenecieran (SS, ES, SI, ES) (Fig.3, Tabla 1).

Grupo	Pi (g)	Pf (g)
SS	22.43±1.18	26.16±0.96**
ES	19.75±0.54	23.67±0.83**
SI	22.96±1.74	27.63±1.23**
EI	23.42±2.58	25.62±2.74**

Tabla 1. Valor promedio \pm ES del peso corporal inicial (Pi) y final (Pf) en el grupo control (SS) y los grupos experimentales ES (Ejercitados sin daño miocárdico), SI (Sedentarios con daño miocárdico), EI (Ejercitados y daño miocárdico). *P<0.05, en comparación con SS; **P<0.05, respecto al peso inicial del mismo grupo.

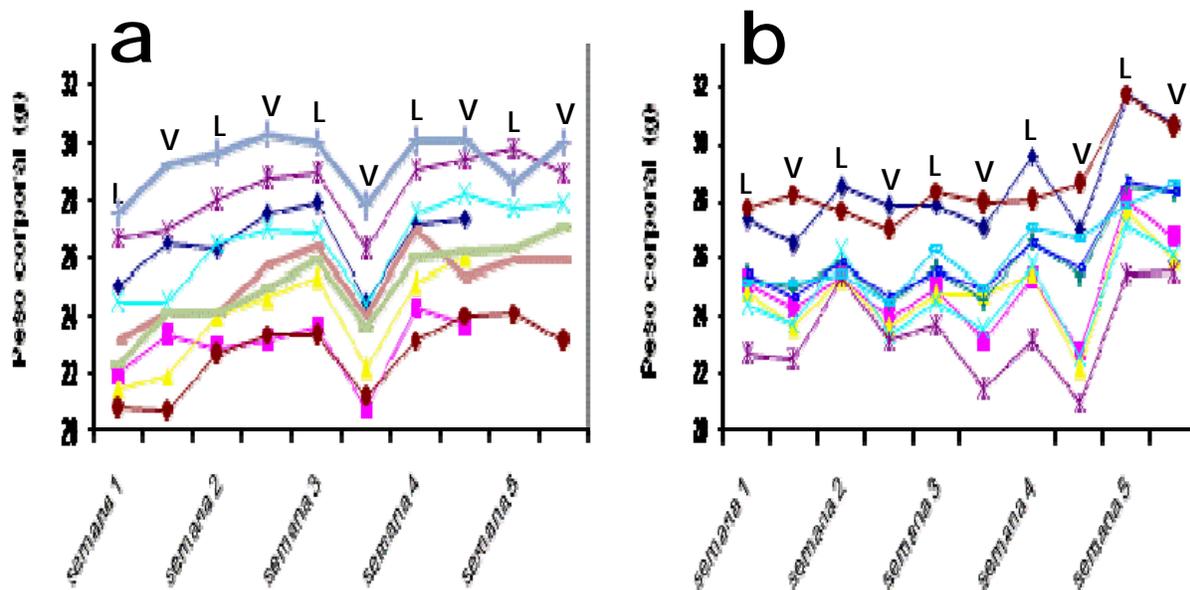


Fig.3. Fluctuación del peso corporal de ratones sedentarios (a) y ejercitados (b) durante la fase de entrenamiento, previo a la inducción del daño con ISO.

En relación a la razón peso ventricular/peso corporal (PV/PC) (hipertrofia ventricular) (Ennis & col., 2003; Rosa & col., 2005; Zhang & col., 2008), ésta fue mayor en organismos ejercitados en un 14.88% en comparación con el grupo control (SS). El grupo ES obtuvo valores similares a los del grupo SI (Fig.4).

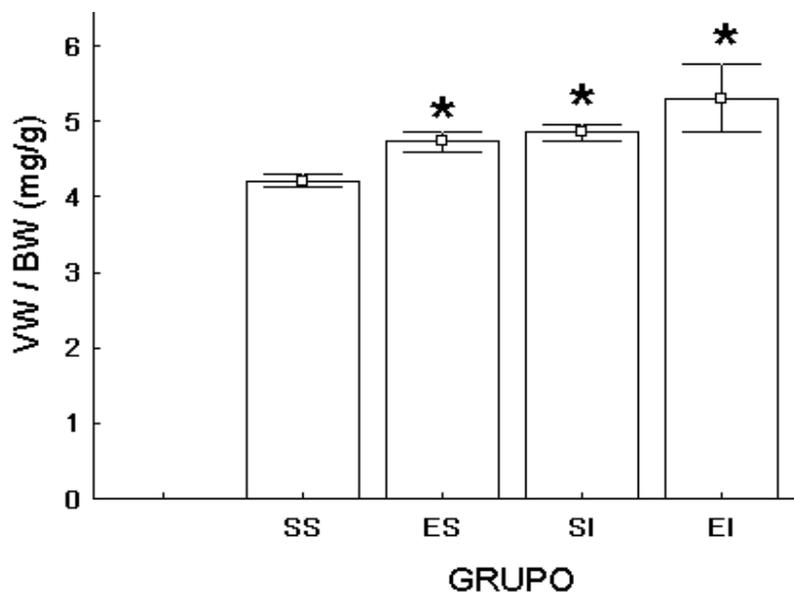


Figura 4. Proporción PV/PC (Indicio de hipertrofia ventricular). En comparación con el grupo control (SS), los valores de la relación PV/PC en los ratones ejercitados y tratados con ISO resultaron mayores en 14.88% y 18.54% respecto al control, respectivamente, diferencia que se acentuó en los animales ejercitados y tratados con ISO. Cada valor representa la media \pm ES. * $P < 0.05$, en comparación con el control. Grupo control (SS) y grupos experimentales ES (Con ejercicio sin daño miocárdico), SI (Con daño miocárdico), EI (Con ejercicio y daño miocárdico).

A nivel histológico los parámetros evaluados para conocer el daño al miocardio fueron fibrosis intersticial (FI), fibras musculares rotas (Fr) e infiltrados celulares (Ic).

En la Fig.5 se observa un corte histológico del corazón de ratón. El tejido de un ratón sano (Fig.5a,5b) presenta la típica estructura que caracteriza al músculo cardiaco, con fibras apantalonadas continuas, núcleos grandes y negros, mínima cantidad de infiltrados celulares. Por el contrario, un tejido dañado (Fig.5c,5d) presenta mayor número de fibras miocárdicas discontinuas o rotas (Fr), generalmente intercaladas con fibras de colágena o tejido fibroso (FI), y mayor número de infiltrados celulares (Ic).

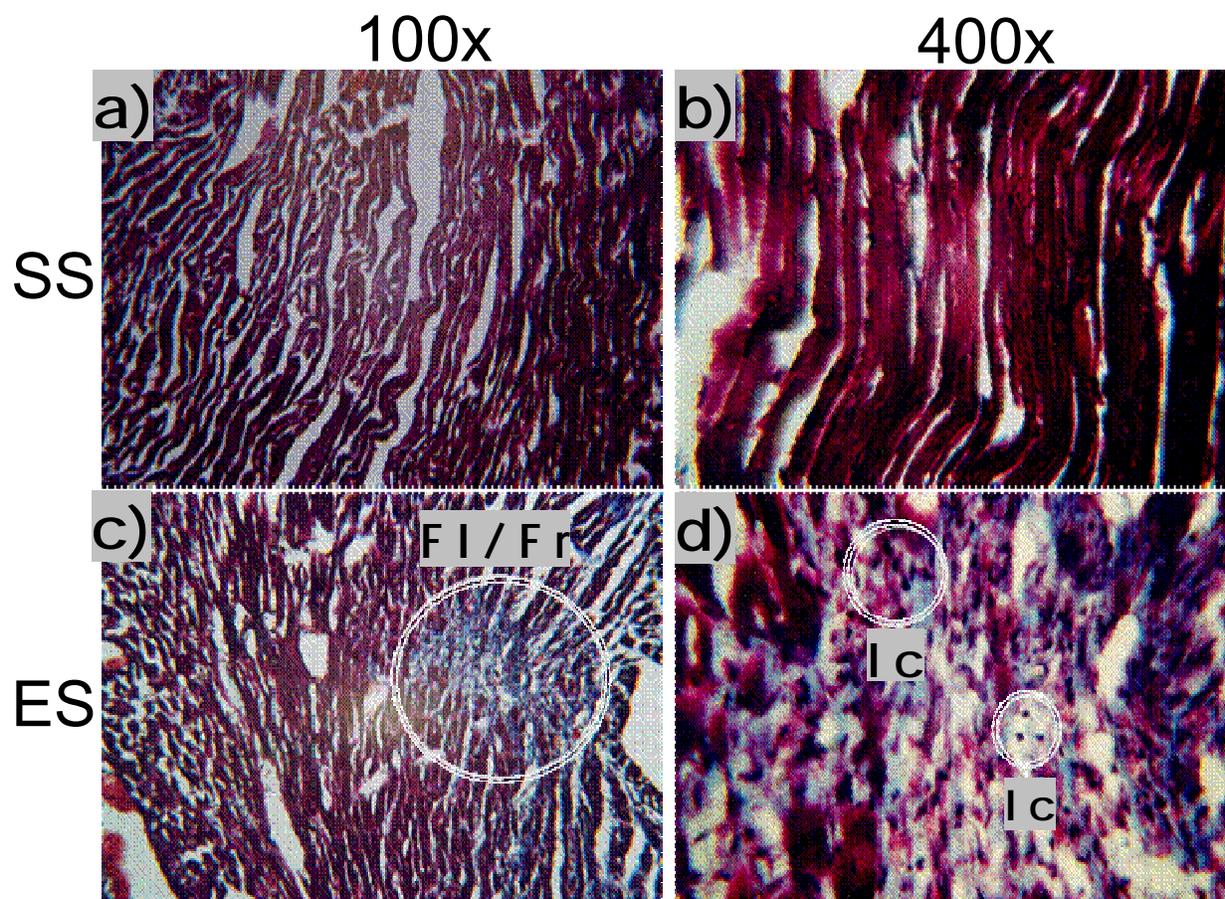


Fig.5. Análisis Histológico con Tricrómica de Massón. (a) y (b) Tejido cardiaco de ratón control. (a) Vista 100x; (b) aumento 400x. (c) y (d) Tejido dañado perteneciente a ratones del grupo EI. (c) Vista 100x; (d) aumento 400x. Grupo control (SS) y grupo experimental EI (Con ejercicio y daño miocárdico).

Respecto a estos parámetros, se encontró que el porcentaje de fibrosis intersticial, el número de fibras miocárdicas rotas y el número de infiltrados celulares fue de 0.0004 ± 0.0003 , 9.69 ± 0.81 y 5.73 ± 0.060 respectivamente (Fig.6). El ejercicio generó cambios significativos únicamente en el número de fibras miocárdicas rotas y de infiltrados celulares, con 22.42% menos de Fr y 34.51% menos de Ic. El ejercicio *per se* no alteró los niveles de fibrosis intersticial en comparación con el grupo control.

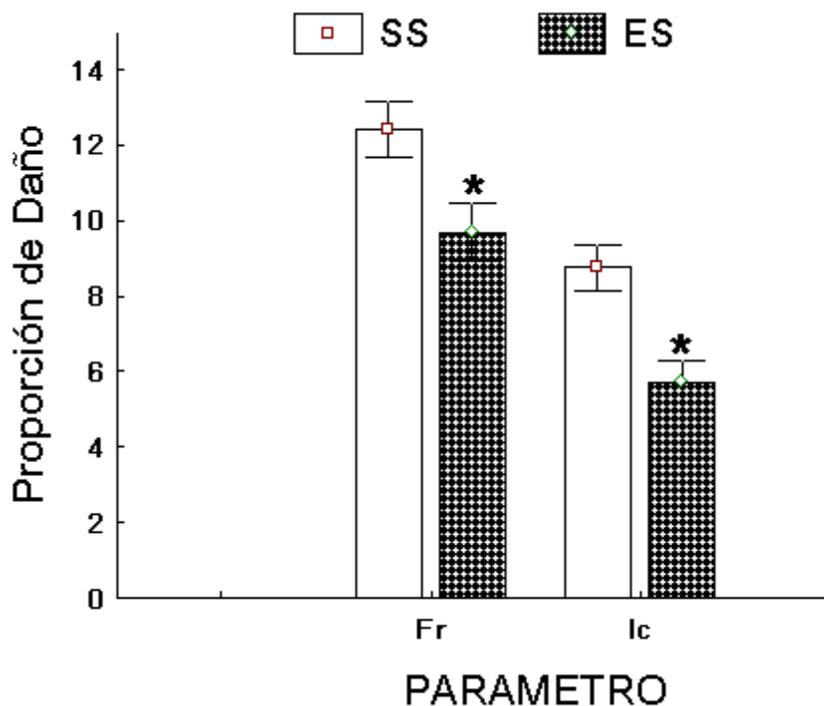


Fig.6 Efecto del ejercicio sobre fibras miocárdicas rotas (Fr) e infiltrados celulares (Ic). Con el ejercicio los niveles de Fr e Ic fueron menores respecto al grupo control. El porcentaje de fibrosis intersticial (FI) no se modificó con el ejercicio (no mostrado). La proporción del daño comprende la cuantificación de FI, evaluada como porcentaje; y las cuantificaciones de Fr e Ic, evaluadas como número de fibras o infiltradas. Datos en medias \pm ES. * $P < 0.01$ vs SS. Grupo control (SS), grupo experimental ES (Con ejercicio sin daño miocárdico).

V.2 EFECTO del ISOPROTERENOL

El isoproterenol indujo niveles de hipertrofia ventricular similares a los inducidos por el ejercicio, generando un 18.53% más de hipertrofia que el grupo SS.

Histológicamente, se cuantificó $0.43 \pm 0.19\%$ de FI, 29.24 ± 4.94 de Fr y 14.36 ± 1.93 de Ic (Fig.7). Por lo que este grupo obtuvo los niveles más altos de Fr e Ic de entre todos los grupos. Todos los valores fueron significativamente diferentes al grupo SS.

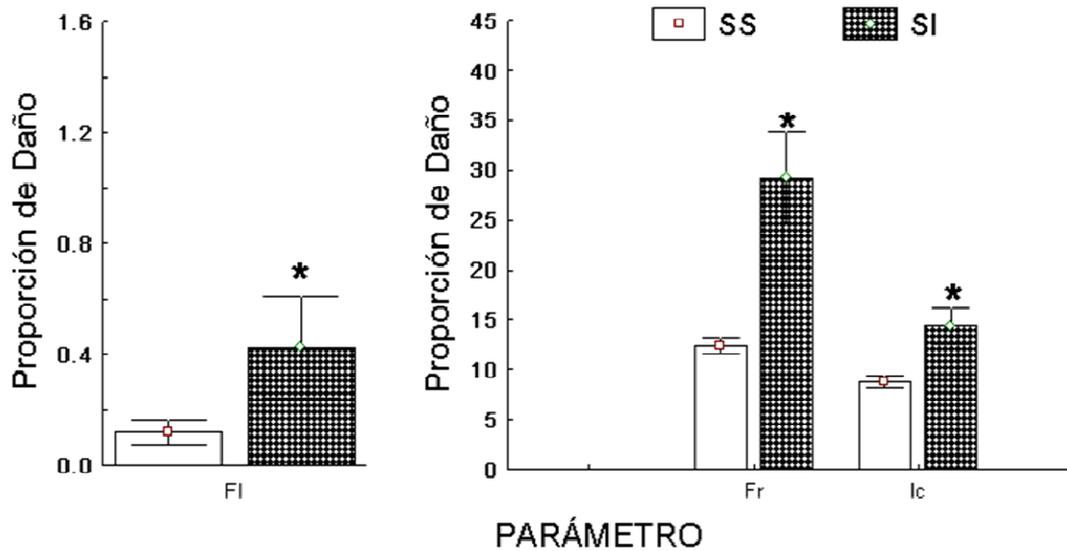


Fig.7 Efecto del isoproterenol sobre fibrosis intersticial (FI), fibras miocárdicas rotas (Fr) e infiltrados celulares (Ic). El isoproterenol eleva los niveles de fibrosis intersticial, fibras miocárdicas rotas e infiltrados celulares de manera significativa, a pesar de que estos cambios no son evidentes al analizar la fibrosis intersticial. La proporción del daño comprende la cuantificación de FI, evaluada como porcentaje; y las cuantificaciones de Fr e Ic, evaluadas como número de fibras o infiltradas. Datos en medias \pm ES. * $P < 0.01$ vs SS. Grupo control (SS) y grupo experimental SI (Con daño miocárdico).

V.3 EFECTO del EJERCICIO más ISOPROTERENOL

El grupo EI presentó 29.27% más de hipertrofia ventricular respecto al grupo control, mostrando diferencias significativas únicamente con este último (Fig.4).

El porcentaje de FI, número de Fr y de Ic fue de 12.31 ± 1.51 , 15.33 ± 1.37 y 9.00 ± 0.89 respectivamente (Fig.8). De estos tres parámetros, el único que aumentó fue la FI, respecto a SS, los demás disminuyeron. Los niveles más altos de FI se presentaron en el grupo EI, resultando ser diferentes con respecto a los demás grupos.

En comparación con el grupo SI, el grupo ejercitado tratado con ISO presentó 47.57% de fibras miocárdicas rotas y 37.32% de infiltrados celulares. A pesar de que fueron valores menores a los del grupo SI, éstos fueron ligeramente más altos que los del grupo control.

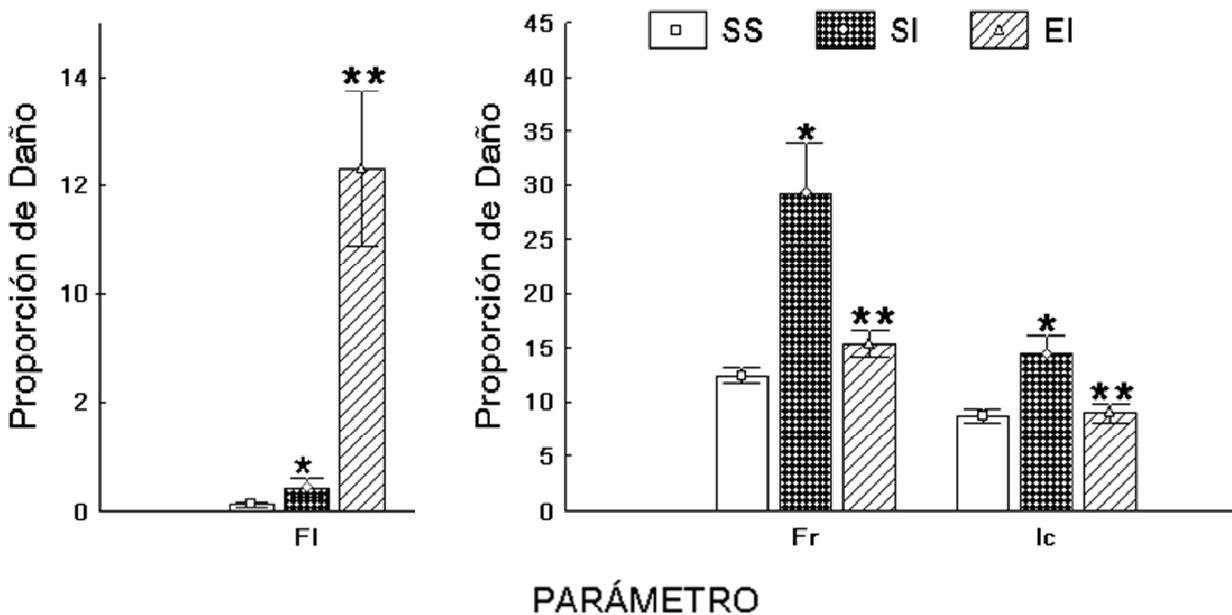


Fig.8 Efecto del ejercicio previo a la administración de isoproterenol. Mediante este esquema se genera mayor porcentaje de fibrosis intersticial (FI), y menor grado de fibras miocárdicas rotas (Fr) e infiltrados celulares (Ic) con respecto a aquellos organismos que únicamente recibieron Isoproterenol (SI). La proporción del daño comprende la cuantificación de FI, evaluada como porcentaje; y las cuantificaciones de Fr e Ic, evaluadas como número de fibras o infiltradas. Datos en medias \pm ES. * $P < 0.01$ vs SS; ** $P < 0.01$ vs SI. Grupo control (SS) y grupos experimentales SI (Con daño miocárdico), EI (Con ejercicio y daño miocárdico).

Un aspecto interesante de hacer notar con los resultados se identifica de una manera más clara al hacer una correlación entre los parámetros, como se indica a continuación.

V.4 CORRELACION: HV/FI y Fr/Ic.

Los parámetros que mostraron comportamientos similares fueron HV con FI y Fr con Ic. Sin embargo, los únicos que mostraron una relación significativa son las fibras miocárdicas rotas con los infiltrados celulares para los grupos ES y SI con un factor de correlación de +0.81 y +0.93. En el caso de EI, éste mantuvo una tendencia similar a ES y SI. El presentar un factor de correlación positivo implica que la relación que mantienen es directa, es decir, si el número de fibras miocárdicas rotas disminuye, también lo harán los infiltrados celulares, y viceversa. Sin embargo, el comportamiento varía según el tratamiento, teniendo que en los grupos ES y EI las Fr e Ic disminuyeron, mientras que en el grupo SI aumentaron.

VI. DISCUSION

Ante el aumento de la incidencia de enfermedades cardiacas y su costo económico para la sociedad, se hace necesario implementar nuevas tácticas para evitar o reducir esta incidencia, así como el daño provocado por este tipo de enfermedades. El presente estudio sugiere que el ejercicio podría ser considerado como una de estas alternativas, ya que, el ejercicio previo a una lesión miocárdica disminuyó la proporción de infiltrados celulares y de fibras rotas, e indujo un proceso de hipertrofia, lo que contrarresta algunos de los efectos nocivos generados por una lesión miocárdica, pero, contrario a lo sugerido en la hipótesis, este grupo fue el único en el que aumentó de manera significativa el porcentaje de fibrosis intersticial. También se confirma la efectividad del isoproterenol como método farmacológico de inducción de daño al miocardio.

VI.1 EFECTO del EJERCICIO

El efecto más apreciable del ejercicio fue la presencia de hipertrofia ventricular, seguido de la disminución de fibras musculares rotas e infiltrados celulares (Fig.4; Fig.6).

Las variaciones netas del PC no fueron diferentes entre los grupos sedentarios y ejercitados, aunque todos los organismos ganaron peso al final del experimento (Fig.3).

Esto contradice uno de los beneficios comúnmente reportados para el ejercicio, que es la

pérdida o mantenimiento del peso corporal (Irwin y col., 2003; Kraemer y col., 1999). Pero corrobora estudios como los de Allen y col., (2001), Diffie y Nagle, (2003), Massett y Berk (2005), Murase y col., (2006), Rosa y col., (2005). Las variaciones en el comportamiento del peso podrían deberse a la edad de los organismos. Se ha reportado que en épocas juveniles, un factor que tiene la misma o mayor influencia que el ejercicio sobre la ganancia o pérdida de peso es la alimentación (Kapoor, 2006; Nemet y col., 2005; Reilly y col., 2006). Debido a que el acceso al alimento fue libre para todos los organismos, es razonable que en ambos grupos haya habido un aumento de peso en la misma proporción independientemente de los niveles de actividad física.

La inducción de hipertrofia ventricular por el ejercicio ha sido reportada previamente (Allen y col., 2001; Evangelista y col., 2003; Kaplan y col., 1994; Scheuer y col., 1982), y nuestros resultados lo corroboran (Fig.4). Esto sugiere que la rutina de ejercicio empleada en el presente estudio es suficiente para generar adaptaciones fisiológicas que mejoren la perfusión miocárdica y del resto de los tejidos. Un punto que apoya la idea de que en el presente estudio este proceso es fisiológico es la ausencia de fibrosis intersticial.

Efectos menos evidentes del ejercicio son los observados en cuanto al número de fibras rotas y de infiltrados celulares (Fig.6). Respecto a las fibras rotas, en corazones sanos de humanos se ha reportado su presencia de manera basal (Becker y Caruso, 1982; Greenbaum y col., 1981), por lo que su ligera disminución con el ejercicio sugiere una posible protección del tejido cardiaco, lo que podría reflejar mejoras en la contractilidad del tejido, así como en la conducción del impulso cardiaco, mejorando la función cardiaca en general. Respecto a los infiltrados celulares se conoce que tanto su aumento como su

depleción total genera daños a la salud de los organismos, y ambos extremos pueden ocasionar el deceso de las personas (Kanzaki y col., 2001). La leve disminución con el ejercicio sugiere que el protocolo de ejercicio empleado no genera daños o algún tipo de proceso inflamatorio que pueda llegar a deprimir al sistema inmune.

VI.2 EFECTO de una LESION MIOCARDICA

Nuestros resultados sugieren que el protocolo empleado para inducir una lesión miocárdica con isoproterenol fue capaz de iniciar el proceso de remodelación cardiaca, ya que se observó el desarrollo de hipertrofia ventricular, así como la presencia de alteraciones en la arquitectura y composición del miocardio, todo esto acompañado de un aumento en la proporción de infiltrados celulares (Fig.4; Fig.7).

La presencia de hipertrofia ventricular, probablemente patológica al presentar fibrosis intersticial, ha sido reportada previamente en corazones lesionados, ya sea de forma natural o inducida (Davies, 1977; Errami y col., 2008; Zarrinpashneh y col., 2008; Zhang y col., 2007), lo que es acorde a nuestros resultados. Junto con la hipertrofia ventricular se encontraron fibras de colágena laxas (color azul; Fig.2b,2c) en los corazones a los que se les indujo la lesión. Debido a que en los cortes histológicos solamente encontramos fibras de colágena laxas entre las fibras musculares en vez de fibras compactas (características de la fibrosis), no podemos hablar de una fibrosis intersticial totalmente constituida. Esto se puede deber a que el periodo entre la inducción de la lesión y el tiempo de sacrificio fue muy corto, impidiendo que el tejido fibroso terminara de

integrarse. Estudios realizados en nuestro laboratorio en ratas tratadas con 7 administraciones de isoproterenol indican que las zonas compuestas por fibras de colágena laxa, con el tiempo, conforman un verdadero tejido fibroso. Además del estudio anterior, se encuentran diferentes reportes donde se ha demostrado la progresión de fibras delgadas de colágena a fibrosis (Jalil y col., 1989; Leslie y col., 1990; Tabel y col., 2006). Uno de los estudios más detallados sobre el progreso de la fibrosis intersticial es el de Pick y col., (1989), quienes monitorearon el remodelado de las fibras de colágena en ratas en los días 1, 2, 3, 4 y 8 después de que se les administró 2 veces isoproterenol (vía subcutánea, 1mg/kg), encontrando que en los primeros días postratamiento comienzan a surgir fibras de colágena delgadas y onduladas, las cuales con los días fueron aumentando de densidad y de grosor. Al final del experimento encontró una relación inversa, donde las fibras gruesas y de mayor longitud tenían mayor presencia que aquellas fibras delgadas.

La presencia de fibrosis intersticial posterior a sufrir una lesión ha sido dada a conocer por los estudios de Anversa y col., (1978), Bartosova y col., (1969), Caspari y col., (1977), Turto, (1977), y Weber y col., (1987). A largo plazo compromete la función diastólica y sistólica del músculo cardiaco, generando insuficiencias cardiacas (Diez y col., 2001).

La mayor discontinuidad del tejido se presentó en el grupo SI (Fig.7). Este tipo de alteraciones han sido observadas previamente en lesiones y enfermedades cardiacas (Basso y col., 2000; Fabritz y col., 2004; Freeman y col., 2001; Iida y col., 1998; Iwasaki y col., 1990; Kawai y col., 1984; Luckey y col., 2007). Su presencia puede alterar la conducción y velocidad del impulso cardiaco, lo que modifica la contractilidad del

músculo, viéndose afectadas no sólo las zonas donde se presentó el daño, sino también en sus alrededores, lo que atenta contra la proporción del miocardio aún viable. Este tipo de alteraciones puede traer como consecuencia otras anormalidades, como arritmias, agravando el problema inicial (Peters y Wit, 1998).

Los niveles más altos de infiltrados celulares también se presentaron en el grupo experimental con daño al miocardio (Fig.7). En cuanto a los infiltrados celulares, se ha demostrado que se presentan frecuentemente cuando hay algún tipo de lesión miocárdica o proceso inflamatorio (Murrey y col., 2000; Senthil y col., 2007; Taqueti y col., 2006). Se ha reportado que estos infiltrados pueden ser cualquier tipo celular perteneciente al sistema inmune, tales como células mononucleares, infiltrados leucocitarios, neutrófilos y macrófagos. En algunos casos se ha llegado a relacionar la cantidad de infiltrados celulares con la sobrevivencia de los organismos (Kanzaki y col., 2001). La presencia de infiltrados puede ser explicada por ciertas citocinas, tales como $TNF\alpha$, $INF\gamma$ e IL-6, entre otras (Blum y Miller, 1998; Eriksson y col., 2003; Murray y col., 2000).

VI.3 EFECTOS del EJERCICIO previo a una LESION MIOCARDICA.

Los resultados provenientes del grupo experimental con ejercicio y daño miocárdico, cumplieron con nuestra hipótesis, ya que el ejercicio aminoró algunos de los efectos deletéreos originados por la lesión del tejido cardiaco (Fig.8), pudiéndose deber a la activación previa, por el ejercicio, de mecanismos compensatorios. Cabe recordar que todo organismo presenta un equilibrio dinámico, y que cuando éste se pierde por

cualquier factor externo, por ejemplo, por el ejercicio, en el organismo se activan mecanismos compensatorios para tratar de obtener un nuevo equilibrio dinámico, pudiendo ser que estos mecanismos, ya activados, también intervengan en el momento en que se produce una lesión miocárdica, haciendo que un nuevo equilibrio se obtenga de manera más rápida, y por ende, se genere menor daño.

Uno de los datos más sobresalientes se relaciona con la hipertrofia ventricular, la cual obtuvo los niveles más altos de entre todos los grupos experimentales (Fig.4). Este resultado nos hace suponer que hay una posible sumatoria de hipertrofia fisiológica, generada por el ejercicio y que a largo plazo mejora la función cardíaca, con hipertrofia patológica, como respuesta compensatoria frente a la lesión que puede inducir una insuficiencia cardíaca. Los efectos finales propios de cada tipo de hipertrofia y opuestos entre ellos, podrían deberse a que las vías de señalización que inducen cada una no son completamente idénticas (Rev: Dorn y Force, 2005). Adicionalmente, existen estudios donde se ha demostrado que hay diferencias en la expresión de genes y péptidos relacionados con procesos apoptóticos y de regulación cardiovascular según se trate de una hipertrofia fisiológica o patológica (Fig.9), lo que contribuye a que, con el tiempo, la hipertrofia fisiológica mejore la función cardíaca, en tanto, la patológica genere una insuficiencia cardíaca (Iemitsu & col., 2001; Markou y Lazou, 2002; McMullen y col., 2003; Watson y col., 2007;).

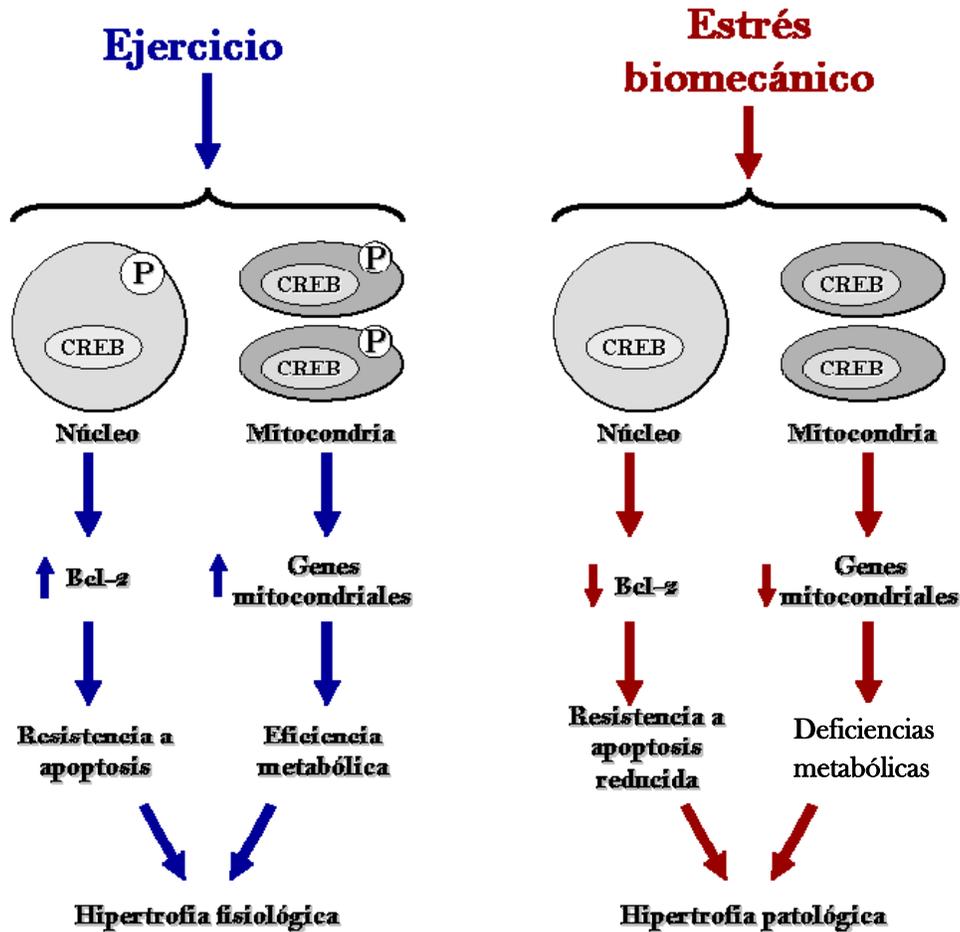


Fig.9 Posible activación diferencial de proteínas de acuerdo al tipo de hipertrofia. Tomado de Watson y col., 2007

Lo anterior es una posible explicación al hecho de que en el presente estudio, el grado de hipertrofia más alto (29.27%) se presentara en ratones con daño miocárdico previamente ejercitados, ya que se pudo haber generado un primer estímulo hipertrófico durante el periodo de ejercitación, y un segundo estímulo al momento de generar la lesión con isoproterenol. Puesto que parte de las rutas de señalización difieren, especulamos que en este grupo ambos tipos de hipertrofia se presentan, lo que sería una gran ventaja para este grupo, ya que de expresar genes que contribuyan a tener una mejor función

contráctil, una mayor resistencia a procesos antiapoptóticos, y una capacidad oxidativa incrementada, se podrían compensar los efectos adversos ocasionados por la lesión, otorgando una mejor prognosis a organismos ejercitados.

Estudios que apoyan las suposiciones anteriores son los de Brown y col. (2003), Freiman y col. (2005) y Zhang y col. (2007). En el trabajo de Brown y col. (2003) ratas hembras (2-3 meses de edad) entrenadas por 20 semanas de manera previa a padecer una lesión miocárdica preservaron el flujo coronario. Caso contrario se dio en organismos sedentarios. Adicionalmente observaron que el tamaño de la herida producto del infarto era más pequeña en organismos ejercitados respecto a los sedentarios. Un segundo estudio en ratas macho ejercitadas (nado) por ocho semanas (3 hrs/día, 5 días/sem), y a las que posteriormente se les indujo una lesión cardíaca por isquemia-reperusión, presentaron reducción del tamaño del infarto, disminución de los niveles de apoptosis y de la actividad plasmática de la lactato deshidrogenasa, así como mejora en la recuperación de la función sistólica/diastólica (Zhang y col., 2007). Finalmente, en 2005, Freimann y col. encontraron que ratas macho ejercitadas (nado) por siete semanas y con lesión al miocardio presentan áreas mayores de músculo viable, así como aumentos en el grosor del septo ventricular (hipertrofia ventricular). Este aumento, por haberse encontrado en organismos ejercitados con y sin lesión les hace pensar a los autores que la hipertrofia se generó de manera previa al ejercicio. Además encontraron una mejora en la contracción cardíaca.

Otro de los parámetros que mostró los niveles más altos al compararlo con los demás grupos fue el porcentaje de fibrosis intersticial (Fig.8). Lo que podría estar dado por un

efecto amplificador del ejercicio sobre el isoproterenol. Ejemplo de esto podrían ser las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la activación del receptor AT1 por acción del ejercicio. En el primer caso, se ha demostrado que las especies reactivas pueden inducir fibrosis (Aragno y col., 2008; Tsutsui y col., 2009). Estos radicales son producidos en gran parte durante el metabolismo del isoproterenol (Eisenhofer y col., 2004; Persoon-Rothert y col., 1989), y se sabe que es una de las formas en cómo este fármaco genera daño (El-Demerdash y col., 2005; Gauthaman y col., 2006; Persoon-Rothert y col., 1989; Rathore y col., 1998; Zhang y col., 2005), pero también pueden ser formados durante el ejercicio (Clarkson, 1995; Ji, 1999). A pesar de que durante el ejercicio se activa toda una maquinaria antioxidante (Gündüz y col., 2004; Powers y col., 1993; Ravi y col., 2004; Terblanche, 2000), es posible que el exceso de ROS lleve a una saturación de esta maquinaria, dando la pauta para que el daño generado por el isoproterenol sea mayor. En el segundo caso, se ha demostrado que el ejercicio puede activar al receptor AT1 (Barauna y col., 2008), receptor que activa la enzima Nox-2-NADPH oxidasa, lo que genera fibrosis intersticial junto con un incremento en la actividad de metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) y en la expresión del factor de transcripción kappa β (NF- $\kappa\beta$) activado (Johar y col., 2006). Puesto que con el ejercicio hay mayor activación del receptor AT1, podríamos esperar mayor actividad de MMP's, así como mayor expresión de NF- $\kappa\beta$, factores relacionados directamente con la proporción de fibrosis intersticial (Jayasankar y col., 2004; Vellaichamy y col., 2005). Por lo que la posible presencia de los dos procesos anteriores, activación del receptor AT1 así como

generación de ROS, en el grupo EI, es una probable explicación a los niveles de fibrosis intersticial cuantificada.

La formación de fibrosis, como parte de la remodelación cardíaca posterior a una herida, es importante, ya que aumenta el grosor de la pared para reducir el estrés en ésta y aumenta la contractilidad (Gutiérrez y Domínguez, 2000), ayudando de esta manera a mantener el gasto/función cardíaca. Sin embargo, la acumulación de colágena tiene efectos adversos, al promover el endurecimiento del miocardio, lo que conlleva a una disfunción diastólica y posteriormente a una sistólica (Cingolani y col., 2003). Debido a que los efectos adversos que genera la acumulación de colágena en el tejido cardíaco no son observables de forma inmediata al daño, un estudio sobre la relación degradación-síntesis de colágena a diferentes tiempos después de la inducción del daño puede proporcionar evidencia más certera sobre los probables efectos benéficos del ejercicio, por lo menos respecto a este parámetro.

Respecto a las discontinuidades del tejido y los infiltrados celulares, se encontró que con el ejercicio, su presencia es menor en organismos ejercitados (Fig.8), lo cual podría augurar una mejor prognosis. Como se ha mencionado, a menor proporción de discontinuidades, la conducción del impulso cardíaco es mejor, lo que mejora la contracción. Igualmente, se ha reportado que la disminución en infiltrados celulares mejora el diagnóstico de pacientes con enfermedades cardíacas, probablemente debido a una disminución de procesos inflamatorios.

VI.4 CORRELACIONES.

VI.4.1 Hipertrofia ventricular / Fibrosis Intersticial

Una relación que usualmente se hace es entre los procesos de hipertrofia ventricular y fibrosis intersticial, al ser procesos que en diversas ocasiones coexisten y principalmente por formar parte del proceso de remodelación cardiaca. Al observar que en nuestros resultados estos parámetros presentaron un comportamiento similar, se decidió analizar si su relación era estadísticamente significativa, encontrando que no lo era. Lo anterior tiene sentido con base en que los procesos que regulan la hipertrofia y la fibrosis son distintos (Weber, 1997; Johar y col., 2006). El proceso hipertrófico se inicia principalmente por factores mecánicos, aunque también puede ser inducida por factores humorales, en tanto que la fibrosis puede ser originada por factores humorales, más no por factores mecánicos (Gutiérrez y Dominguez, 2001). La falta de relación HV-FI ha sido observado también por Bae y Schiffrin (2002) y por Morkin y Ashford (1968).

VI.4.2 Fibras miocárdicas rotas / Infiltrados celulares

Dos parámetros que mostraron un comportamiento relacionado fueron las fibras musculares rotas y los infiltrados celulares. Encontrando que la relación que presentaron es estadísticamente significativa. Esta relación podría verse explicada parcialmente por la presencia del factor de necrosis tumoral (TNF α), basándonos en los estudios de Hodgson y col.. (2003) y Brown y col.. (2003). Hodgson y col. (2003) utilizaron ratones que

sobreexpresaban TNF α para inducir una insuficiencia cardiaca, y encontró que se daba un déficit en la apertura de los canales de K_{ATP}. Estos canales están compuestos por dos proteínas, las cuales regulan la apertura del canal en respuesta a factores activadores, como lo es una isquemia o los incrementos en adenosina. La apertura de estos canales acorta la duración del potencial de acción cardiaco al acelerar la repolarización. Al acortar la duración del potencial de acción se inhibe la entrada de Ca⁺⁺ a la célula, previniendo una saturación de calcio citosólico. Al presentarse un déficit en la apertura de los canales, las concentraciones de calcio citosólico aumentan, generando daño. Por otro lado, Brown y col., (2003) demostraron que el ejercicio de resistencia incrementa la expresión de estos canales en el miocito cardiaco, mientras que al bloquearlos farmacológicamente, los efectos protectores del ejercicio ante un infarto al miocardio no se presentan. Finalmente, estudios hechos en músculos degenerados, indican que la elevación de calcio citosólico es un factor importante para que se ocasione daño al músculo (Iwata y col., 2007). Todos estos datos sugieren que TNF α podría ser un factor importante en la regulación de fibras rotas. En nuestro caso, el isoproterenol, al producir una lesión al miocardio, podría inducir la expresión de TNF α , lo que tendría repercusiones en la apertura de los canales de K_{ATP}, y esto a su vez en los niveles de calcio citosólico, los cuales tenderían a aumentar y con esto podrían generar la ruptura de las fibras musculares. Si a este panorama agregamos el ejercicio, los niveles de TNF α podrían verse reducidos, haciendo más eficiente la apertura de los canales de K_{ATP}, y de este modo reestableciendo los niveles de calcio citosólico, evitando la ruptura de fibras.

La hipótesis anterior se presenta en el siguiente esquema.

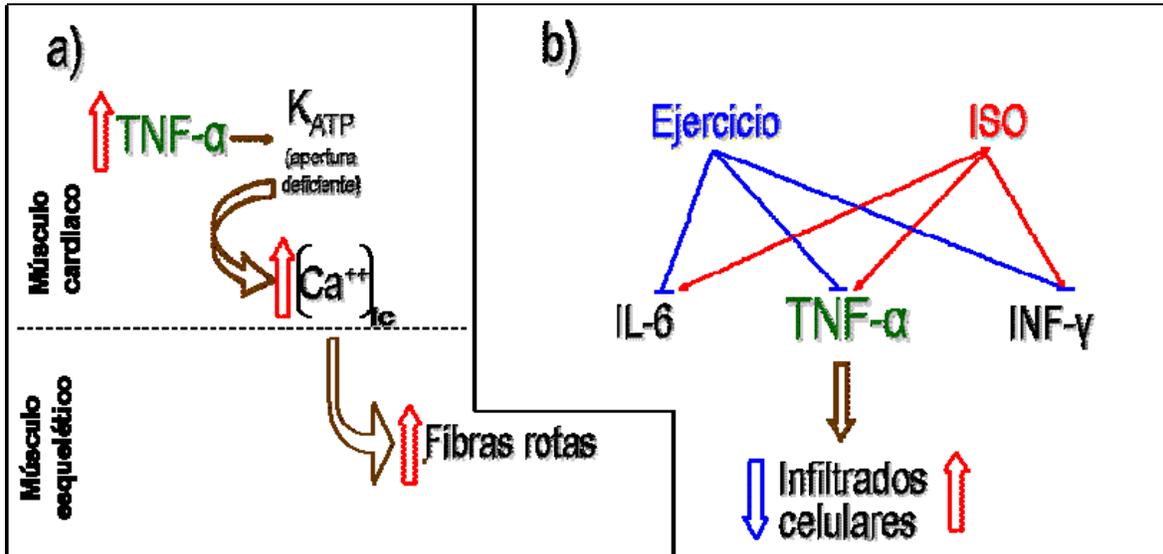


Figura 10. Posible Mecanismo Regulador de Fr e Ic. (a) Se sabe que la sobreexpresión de $TNF-\alpha$ induce una apertura deficiente de los canales K_{ATP} (Hodgson y col., 2003), originando un aumento en el calcio citosólico, el cual se propone es un factor clave para generar daño al músculo (Iwata y col., 2007). (b) Por otro lado, el isoproterenol, al contrario que el ejercicio, induce la expresión de citocinas ($IL-6$, $TNF-\alpha$, $INF-\gamma$) relacionadas con los IC (Murray y col., 2000). Puesto que el isoproterenol aumenta la concentración de $TNF-\alpha$, y éste a su vez induce incrementos en el calcio citosólico, suena coherente que tanto Fr como Ic se correlacionen de manera positiva incrementando sus valores cuando hay una lesión miocárdica, y disminuyéndolos con el ejercicio.

VII. CONCLUSION

El diseño empleado para generar daño al miocardio es una buena opción ante la falta de consenso en los métodos, vías de administración, dosis y frecuencia de administración reportados para generar lesiones cardiacas, ya que genera el mayor daño posible al miocardio sin provocar el deceso del organismo lo que permite realizar estudios de tipo crónico. Además de que los resultados son reproducibles, lo que le da mayor confiabilidad al estudio.

Por otro lado, en organismos sanos, los beneficios del ejercicio, como hipertrofia ventricular y menor frecuencia de fibras musculares rotas e infiltrados celulares, no son muy evidentes. Sin embargo, aquellos organismos previamente ejercitados, ante la presencia de una lesión, en este caso al miocardio, sus beneficios son más notorios al reducir los efectos adversos propios de dicha lesión, como son hipertrofia ventricular patológica, pérdida de la arquitectura del tejido, y mayor presencia de infiltrados celulares, parámetros observados en el proceso de remodelación cardiaca. Por lo que el ejercicio puede reducir la susceptibilidad del tejido al daño cardiaco y la remodelación de éste. Siendo importante recordar que el ejercicio puede ofrecer protección, más no inmunidad contra enfermedades cardiacas .

Ante el incremento súbito de enfermedades cardiovasculares y del sedentarismo en todas las poblaciones humanas, incluyendo la mexicana, los resultados de la presente tesis, representan una evidencia más sobre la importancia que tiene el ejercicio en la salud de

los organismos, principalmente si hay factores de riesgo para dichas enfermedades. No obstante nuestros resultados no deben ser extrapolados a poblaciones humanas, ya que aún se deben investigar otras variables como tipo de ejercicio, así como factores intrínsecos a cada organismo (edad, género, estilo de vida, entre otros); éstos sí pueden ser de utilidad en el diseño de estudios de tipo clínico.

VIII. PERSPECTIVAS

En el presente trabajo se evaluó la parte histológica par conocer el efecto del ejercicio sobre la susceptibilidad al daño miocárdico inducido con Isoproterenol en ratones macho de 2 meses de edad. Para ampliar el conocimiento sobre los posibles efectos del ejercicio se considera evaluar la parte funcional, así como niveles de muerte celular, estrés oxidativo y concentración de TNF. Adicionalmente, se evaluarán ratones macho de 12 meses de edad, y ratones hembras de 2 y 12 meses. Además se valorará si un esquema de entrenamiento previo a una lesión genera cambios equivalentes si la lesión surge primero y posteriormente hay un entrenamiento.

IX. REFERENCIAS

Allen DL, Harrison BC, Maass A, Bell ML, Byrnes WC, Leinwand LA. *Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse*. J Appl Physiol. 2001; 90(5):1900-1908.

Álvarez VI, Álvarez VF, Álvarez BF, Mena RR. *El proceso de asimilación de la fuerza en el músculo del ser humano*. Ra Ximhai. 2006; 2(2):533-548

Anversa P, Loud AV, Giacomelli F, Wiener J. *Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental hypertension. II. Ultrastructure of myocytes and interstitium*. Lab Invest. 1978; 38:597-609

Aragno M, Mastrocola R, Alloatti G, Vercellinatto I, Bardini P, Geuna S, Catalano MG, Danni O, Boccuzzi G. *Oxidative stress triggers cardiac fibrosis in the heart of diabetic rats*. Endocrinology. 2008; 149(1):380-388

Astra LI, Hammond R, Tarakji K, Stephenson LW. *Doxorubicin-induced canine CHF: advantages and disadvantages*. J Card Surg. 2003; 18(4):301-306

Azevedo LF, Brum PC, Roseblatt D, Perlingeiro P de S, Barretto AC, Negrão CE, de Matos LD. *Cardiac and metabolic characteristics in long distance runners of sport and exercise cardiology outpatient facility of a tertiary hospital*. Arq Bras Cardiol. 2007; 88(1):17-25

Babu GJ, Periasamy M. *Transgenic mouse models for cardiac dysfunction by a specific gene manipulation*. Methods Mol Med. 2005; 112:365-377

Bae Park Jeong y Schiffrin Ernesto L. *Fibrosis e hipertrofia cardiaca y vascular en ratas perfundidas con aldosterona: papel de la endotelina-1*. AJH (Ed. Esp.) 2002; 4:285-291

Balazs T, Ferrans VJ. *Cardiac lesions induced by chemicals*. Environ Health Perspect. 1978; 26:181-191

Baldwin KM, Cooke DA, Cheadle WG. *Time course adaptations in cardiac and skeletal muscle to different running programs*. J Appl Physiol. 1977; 42(2):267-272

Bamonde T, Jorge SP. *Adaptación miocárdica a la isquemia o infarto*. Rev. Soc. Peru. Med. Interna. 2002; 15(4):209-216.

Barauna VG, Magalhaes FC, Krieger JE, Oliveira EM. *AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008; 295(2):R381-R387

Bartosova D, Chvapil M, Korecky B, Poupá O, Rakusan K, Turek Z, Vizek M. *The growth of the muscular and collagenous parts of the rat heart in various forms of cardiomegaly*. J Physiol (Lond). 1969; 200:285-295

Bass S, Pearce G, Bradney M, Hendrich E, Delmas PD, Harding A, Seeman E. *Exercise before puberty may confer residual benefits in bone density in adulthood: studies in active prepubertal and retired female gymnasts*. J Bone Miner Res. 1998; 13:500-507

Bass SL, Saxon L, Daly RM, Turner CH, Robling AG, Seeman E, Stuckey S. *The effect of mechanical loading on the size and shape of bone in pre-, peri- and postpubertal girls: a study in tennis players*. J Bone Miner Res. 2002; 17:2274-2280

Basso C, Thiene G, Corrado D, Buja G, Melacini P, Nava A. *Hypertrophic cardiomyopathy and sudden death in the young: pathologic evidence of myocardial ischemia*. Hum Pathol. 2000; 31(8):988-998

Batista EC, Batista EC, Ramalho JD, Reis FC, Barros CC, Moraes MR, Pesquero JL, Bacurau RF, Pesquero JB, Araújo RC. *Swimming training exacerbates pathological cardiac hypertrophy in kinin B2 receptor-deficient mice*. Int Immunopharmacol. 2008; 8(2):271-275

Becker AE, Caruso G. *Myocardial disarray. A critical review*. Br Heart J. 1982; 47(6):527-538

Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Cho K, Weber KT, Clark WA. *Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis*. Circ Res. 1989; 65(3):657-670

Blum A, Miller H. *Role of cytokines in heart failure*. Am Heart J. 1998; 135(2 Pt 1):181-186

Blumenthal JA, Babyak MA, Moore KA, Craighead WE, Herman S, Khatri P, Waugh R, Napolitano MA, Forman LM, Appelbaum M, Doraiswamy PM, Krishnan KR. *Effects of exercise training on older patients with major depression*. Arch Intern Med. 1999; 159(19):2349-2356

Bodi V, Sanchis J, Nunez J, Mainar L, Minana G, Benet I, Solano C, Chorro FJ, Llacer A. *Uncontrolled immune response in acute myocardial infarction: unraveling the thread*. Am Heart J. 2008; 156(6):1065-1073

Booth FW, Chakravarthy MV, Gordon SE, Spangenburg EE. *Waging war on modern chronic diseases: primary prevention through exercise biology*. J Appl Physiol. 2000; 88(2):774-787

Boraita Pérez A. *Exercise as the cornerstone of cardiovascular prevention*. Rev Esp Cardiol. 2008; 61(5):514-528

Bowles DK, Starnes JW. *Exercise training improves metabolic response after ischemia in isolated working rat heart*. J Appl Physiol. 1994; 76(4):1608-1614

Brown DA, Jew KN, Sparagna GC, Musch TI, Moore RL. *Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size after ischemia-reperfusion in rat heart*. J Appl Physiol. 2003; 95(6):2510-2518

Brum PC, Rolim NP, Bacurau AV, Medeiros A. *Neurohumoral activation in heart failure: the role of adrenergic receptors*. An Acad Bras Cienc. 2006; 78(3):485-503

Buermans HP, Redout EM, Schiel AE, Musters RJ, Zuidwijk M, Eijk PP, van Hardeveld C, Kananmotalib S, Visser FC, Ylstra B, Simonides WS. *Microarray analysis reveals pivotal divergent mRNA expression profiles early in the development of either compensated ventricular hypertrophy or heart failure*. Physiol Genomics. 2006; 27(2):156-170

Cano-Martínez A, Vargas-González A, Guarner-Lans V, Prado-Zayago E. *Isoproterenol-produced damage in amphibian heart could be mediated by adrenergic receptors located in the heart muscle*. Proc West Pharmacol Soc. 2004; 47:63-66

Carreño JE, Apablaza F, Ocaranza MP, Jalil JE. *Cardiac hypertrophy: molecular and cellular events*. Rev Esp Cardiol. 2006; 59(5):473-486

Carroll EP, Janicki JS, Pick R, Weber KT. *Myocardial stiffness and reparative fibrosis following coronary embolisation in the rat*. Cardiovasc Res. 1989; 23(8):655-661

Caspari PG, Newcomb M, Gibson K, Harris P: *Collagen in the normal and hypertrophied human ventricle*. Cardiovasc Res 1977; 11:554-558

Cingolani HE, Rebolledo OR, Portiansky EL, Pérez NG, Camilión de Hurtado MC. *Regression of hypertensive myocardial fibrosis by Na(+)/H(+) exchange inhibition*. Hypertension. 2003; 41(2):373-377

Clarkson PM. *Antioxidants and physical performance*. Crit Rev Food Sci Nutr. 1995; 35(1-2):131-141

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. *Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling*. J Am Coll Cardiol. 2000; 35(3):569-582

Cole MP, Chaiswing L, Oberley TD, Edelmann SE, Piascik MT, Lin SM, Kinningham KK, St Clair DK. *The protective roles of nitric oxide and superoxide dismutase in adriamycin-induced cardiotoxicity*. Cardiovasc Res. 2006; 69(1):186-197

Condorelli G, Drusco A, Stassi G, Bellacosa A, Roncarati R, Iaccarino G, Russo MA, Gu Y, Dalton N, Chung C, Latronico MV, Napoli C, Sadoshima J, Croce CM, Ross J Jr. *Akt induces enhanced myocardial contractility and cell size in vivo in transgenic mice*. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99(19):12333-12338

Córdova A, Drobic F, González de Suso JM, Alvarez de Mon M. *Disminución de rendimiento deportivo: estrés, daño muscular y síndromes asociados a la fatiga inducidos por el deporte*. Medicine. 2002; 86:4569-4576

Dalla Libera L, Ravara B, Gobbo V, Danieli Betto D, Germinario E, Angelini A, Vescovo G. *Skeletal muscle myofibrillar protein oxidation in heart failure and the protective effect of Carvedilol*. J Mol Cell Cardiol. 2005; 38(5):803-807

Davies MJ. *The pathology of myocardial ischaemia*. J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol). 1977; 11:45-52

De Angelis K, Wichi RB, Jesus WR, Moreira ED, Morris M, Krieger EM, Irigoyen MC. *Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice.* J Appl Physiol. 2004; 96(6):2174-2178

Delgado RM 3rd, Nawar MA, Zewail AM, Kar B, Vaughn WK, Wu KK, Aleksic N, Sivasubramanian N, McKay K, Mann DL, Willerson JT. *Cyclooxygenase-2 inhibitor treatment improves left ventricular function and mortality in a murine model of doxorubicin-induced heart failure.* Circulation. 2004; 109:1428-1433

Dell'Italia LJ. *The canine model of mitral regurgitation.* Heart Failure 1995; 11:208-218

Díaz-Muñoz M, Alvarez-Pérez MA, Yáñez L, Vidrio S, Martínez L, Rosas G, Yáñez M, Ramírez S, de Sánchez VC. *Correlation between oxidative stress and alteration of intracellular calcium handling in isoproterenol-induced myocardial infarction.* Mol Cell Biochem. 2006; 289(1-2):125-136

Diez J, López B, González A, Ardanaz N, Fortuno MA. *Respuestas del miocardio al estrés biomecánico.* Rev Esp Cardiol 2001; 54:507-515

Diffie GM, Nagle DF. *Regional differences in effects of exercise training on contractile and biochemical properties of rat cardiac myocytes.* J Appl Physiol. 2003; 95(1):35-42

Dillmann WH. *Calcium regulatory proteins and their alteration by transgenic approaches.* Am J Cardiol. 1999; 83:H89-H91

Dodd DA, Atkinson JB, Olson RD, Buck S, Cusack BJ, Fleischer S, Boucek RJ Jr. *Doxorubicin cardiomyopathy is associated with a decrease in calcium release channel of the sarcoplasmic reticulum in a chronic rabbit model.* J Clin Invest 1993; 91:1697-1705

Dorn GW 2nd, Force T. *Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy.* J Clin Invest. 2005; 115(3):527-537

Duncker DJ, Bache RJ. *Regulation of coronary blood flow during exercise.* Physiol Rev. 2008; 88(3):1009-1086

Eaton SB, Cordain L, Lindeberg S. *Evolutionary health promotion: a consideration of common counterarguments.* Prev Med. 2002; 34(2):119-123

Eisenhofer G, Kopin IJ, Goldstein DS. *Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine*. Pharmacol Rev. 2004; 56(3):331-349

El-Demerdash E, Awad AS, Taha RM, El-Hady AM, Sayed-Ahmed MM. *Probucol attenuates oxidative stress and energy decline in isoproterenol-induced heart failure in rat*. Pharmacol Res. 2005; 51(4):311-318

Ennis IL, Escudero EM, Console GM, Camihort G, Dumm CG, Seidler RW, Camilión de Hurtado MC, Cingolani HE. *Regression of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy by Na⁺/H⁺ exchanger inhibition*. Hypertension. 2003; 41(6):1324-1329

Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Hu L, Morris KS, White SM, Wójcicki TR, McAuley E, Kramer AF. *Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans*. Hippocampus. 2009 Jan 2.

Eriksson U, Kurrer MO, Schmitz N, Marsch SC, Fontana A, Eugster HP, Kopf M. *Interleukin-6-deficient mice resist development of autoimmune myocarditis associated with impaired upregulation of complement C3*. Circulation. 2003; 21;107(2):320-325

Errami M, Galindo CL, Tassa AT, Dimaio JM, Hill JA, Garner HR. *Doxycycline attenuates isoproterenol- and transverse aortic banding-induced cardiac hypertrophy in mice*. J Pharmacol Exp Ther. 2008; 324(3):1196-1203

Evangelista FS, Brum PC, Krieger JE. *Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice*. Braz J Med Biol Res. 2003; 36:1751-1759

Evangelista FS, Martuchi SE, Negrão CE, Brum PC. *Loss of resting bradycardia with detraining is associated with intrinsic heart rate changes*. Braz J Med Biol Res. 2005; 38(7):1141-1146.

Fabritz L, Kirchhof P, Fortmüller L, Auchampach JA, Baba HA, Breithardt G, Neumann J, Boknik P, Schmitz W. *Gene dose-dependent atrial arrhythmias, heart block, and brady-cardiomyopathy in mice overexpressing A(3) adenosine receptors*. Cardiovasc Res. 2004; 62(3):500-508

Ferreira DB, Costa RS, De Oliveira JA, Muccillo G. *An infarct-like myocardial lesion experimentally induced in wistar rats with Africanized bee venom*. J Pathol. 1995; 177(1):95-102

Fisher BE, Wu AD, Salem GJ, Song J, Lin CH, Yip J, Cen S, Gordon J, Jakowec M, Petzinger G. *The effect of exercise training in improving motor performance and corticomotor excitability in people with early Parkinson's disease.* Arch Phys Med Rehabil. 2008; 89(7):1221-1229

Frangogiannis NG. *The immune system and cardiac repair.* Pharmacol Res. 2008; 58(2):88-111

Freeman K, Colon-Rivera C, Olsson MC, Moore RL, Weinberger HD, Grupp IL, Vikstrom KL, Iaccarino G, Koch WJ, Leinwand LA. *Progression from hypertrophic to dilated cardiomyopathy in mice that express a mutant myosin transgene.* Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2001; 280(1):H151-H159

Freimann S, Scheinowitz M, Yekutieli D, Feinberg MS, Eldar M, Kessler-Icekson G. *Prior exercise training improves the outcome of acute myocardial infarction in the rat: heart structure, function, and gene expression.* J Am Coll Cardiol. 2005; 45:931-938

Frenzel H, Schwartzkopff B, Höltermann W, Schnürch HG, Novi A, Hort W. *Regression of cardiac hypertrophy: morphometric and biochemical studies in rat heart after swimming training.* J Mol Cell Cardiol. 1988; 20(8):737-751

Gallegos RP, Rivard AL, Bianco RW. *Animal Models for Cardiac Research in Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology and Devices.* New Jersey, Humana Press. 2004

Garcia R, Diebold S. *Simple, rapid, and effective method of producing aortocaval shunts in the rat.* Cardiovasc Res. 1990; 24:430-432

Gauthaman KK, Saleem MT, Thanislas PT, Prabhu VV, Krishnamoorthy KK, Devaraj NS, Somasundaram JS. *Cardioprotective effect of the Hibiscus rosa sinensis flowers in an oxidative stress model of myocardial ischemic reperfusion injury in rat.* BMC Complement Altern Med. 2006; 20:6-32

Gleeson M. *Immune function in sport and exercise.* J Appl Physiol. 2007; 103:693-699

Greenbaum RA, Ho SY, Gibson DG, Becker AE, Anderson RH. *Left ventricular fibre architecture in man.* Br Hearty 1981; 45:248-263

Gündüz F, Sentürk UK, Kuru O, Aktekin B, Aktekin MR. *The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats.* Physiol Res. 2004; 53(2):171-176

Gustavsson A, Thorsen K, Nordström P. *A 3-year longitudinal study of the effect of physical activity on the accrual of bone mineral density in healthy adolescent males.* Calcif Tissue Int. 2003; 73:108-114

Gutiérrez VI, Domínguez MA. *Mecanismos fisiopatogénicos de la falla cardiaca crónica.* Rev Hosp M Gea Glz. 2000; 4(3):75-95

Hearse DJ, Sutherland FJ. *Experimental models for the study of cardiovascular function and disease.* Pharmacol Res. 2000; 41(6):597-603

Hedley OF. *Analysis of 5,116 deaths reported as due to acute coronary occlusion in Philadelphia 1933-37.* Public Health Rep 1939; 972-1012

Heineke J, Molkentin JD. *Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways.* Nat Rev Mol Cell Biol. 2006; 7(8):589-600

Hodgson DM, Zingman LV, Kane GC, Perez-Terzic C, Bienengraeber M, Ozcan C, Gumina RJ, Pucar D, O'Coilain F, Mann DL, Alekseev AE, Terzic A. *Cellular remodeling in heart failure disrupts K(ATP) channel-dependent stress tolerance.* EMBO J. 2003; 22(8):1732-1742

Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. *Exercise and the immune system: a model of the stress response?* Immunol Today. 1994; 15(8):382-387

Honda A, Sogo N, Nagasawa S, Kato T, Umemura Y. *Bone benefits gained by jump training are preserved after detraining in young and adult rats.* J Appl Physiol. 2008; 105(3):849-853

Huang Y, Kawaguchi O, Zeng B, Carrington RA, Horam CJ, Yuasa T, Abdul-Hussein N, Hunyor SN. *A stable ovine congestive heart failure model. A suitable substrate for left ventricular assist device assessment.* ASAIO J 1997; 43:M408-M413

Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, Sakai S, Kobayashi T, Fujii N, Miyazaki H, Matsuda M, Yamaguchi I. *Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001; 281(6):R2029-R2036

Iida K, Yutani C, Imakita M, Ishibashi-Ueda H. *Comparison of percentage area of myocardial fibrosis and disarray in patients with classical form and dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy.* J Cardiol. 1998; 32(3):173-180

Irwin ML, Yasui Y, Ulrich CM, Bowen D, Rudolph RE, Schwartz RS, Yukawa M, Aiello E, Potter JD, McTiernan A. *Effect of exercise on total and intra-abdominal body fat in postmenopausal women: a randomized controlled trial.* JAMA. 2003; 289(3):323-330

Irwin ML, Mayne ST. *Impact of nutrition and exercise on cancer survival.* Cancer J. 2008; 14(6):435-441

Iwasaki T, Takino Y, Suzuki T. *Effects of isoproterenol on the developing heart in rats.* Jpn Circ J. 1990; 54(1):109-116

Iwata Y, Katanosaka Y, Hisamitsu T, Wakabayashi S. *Enhanced Na⁺/H⁺ exchange activity contributes to the pathogenesis of muscular dystrophy via involvement of P2 receptors.* Am J Pathol. 2007; 171(5):1576-1587

Jacobs TB, Bell RD, McClements JD. *Exercise, age and the development of the myocardial vasculature.* Growth. 1984; 48(2):148-157

Jacoby JJ, Kalinowski A, Liu MG, Zhang SS, Gao Q, Chai GX, Ji L, Iwamoto Y, Li E, Schneider M, Russell KS, Fu XY. *Cardiomyocyte-restricted knockout of STAT3 results in higher sensitivity to inflammation, cardiac fibrosis, and heart failure with advanced age.* Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100(22):12929-12934

Jalil JE, Doering CW, Janicki JS, Pick R, Shroff SG, Weber KT. *Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle.* Circ Res. 1989; 64(6):1041-1050

Janz KF, Burns TL, Levy SM, Torner JC, Willing MC, Beck TJ, Gilmore JM, Marshall TA. *Everyday activity predicts bone geometry in children: the Iowa bone development study.* Med Sci Sports Exerc. 2004; 36:1124-1131

Jayasankar V, Woo YJ, Bish LT, Pirolli TJ, Berry MF, Burdick J, Bhalla RC, Sharma RV, Gardner TJ, Sweeney HL. *Inhibition of matrix metalloproteinase activity by TIMP-1 gene transfer effectively treats ischemic cardiomyopathy.* Circulation. 2004; 110(11 Suppl 1):II180-II186

Jensen JA, Kosek JC, Hunt TK, Goodson WH 3rd, Miller DC. *Cardiac cryolesions as an experimental model of myocardial wound healing.* Ann Surg. 1987; 206(6):798-803

Ji LL. *Antioxidants and oxidative stress in exercise*. Proc Soc Exp Biol Med. 1999; 222(3):283-292

Johar S, Cave AC, Narayanapanicker A, Grieve DJ, Shah AM. *Aldosterone mediates angiotensin II-induced interstitial cardiac fibrosis via a Nox2-containing NADPH oxidase*. FASEB J. 2006; 20(9):1546-1548

Jugdutt BI. *Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: when is enough enough?* Circulation. 2003; 108(11):1395-1403

Kahn DS, Rona G, Chappel CI. *Isoproterenol-induced cardiac necrosis*. Ann N Y Acad Sci. 1969; 156(1):285-293

Kanzaki Y, Terasaki F, Okabe M, Hayashi T, Toko H, Shimomura H, Fujioka S, Kitaoura Y, Kawamura K, Horii Y, Isomura T, Suma H. *Myocardial inflammatory cell infiltrates in cases of dilated cardiomyopathy as a determinant of outcome following partial left ventriculectomy*. Jpn Circ J. 2001; 65(9):797-802

Kaplan ML, Cheslow Y, Vikstrom K, Malhotra A, Geenen DL, Nakouzi A, Leinwand LA, Buttrick PM. *Cardiac adaptations to chronic exercise in mice*. Am J Physiol. 1994; 267(3 Pt 2):H1167-H1173

Kapoor S. *Physical activity to prevent obesity in young children: dietary and behavioural modifications in managing childhood obesity*. BMJ. 2006; 333(7579):1171

Kawai S, Okada R, Kitamura K, Suzuki A, Saito S. *A morphometrical study of myocardial disarray associated with right ventricular outflow tract*. Jpn Circ J. 1984; 48(5):445-456

Klaassen y Watkins. *Casarett and Doull's Essentials of Toxicology*. México, McGraw-Hill Interamericana. 2005

Klocke R, Tian W, Kuhlmann MT, Nikol S. *Surgical animal models of heart failure related to coronary heart disease*. Cardiovasc Res. 2007; 74(1):29-38

Kokkinos P, Myers J, Nylen E, Panagiotakos DB, Manolis A, Pittaras A, Blackman MR, Jacob-Issac R, Faselis C, Abella J, Singh S. *Exercise Capacity and All-cause Mortality in African-American and Caucasian Men with Type 2 Diabetes Mellitus*. Diabetes Care. 2009 Feb 5

Kraemer WJ, Volek JS, Clark KL, Gordon SE, Puhl SM, Koziris LP, McBride JM, Triplett-McBride NT, Putukian M, Newton RU, Häkkinen K, Bush JA, Sebastianelli WJ. *Influence of exercise training on physiological and performance changes with weight loss in men.* Med Sci Sports Exerc. 1999; 31(9):1320-1329

Krinke George J., Bullock Gillian, Bunton Tracie. *The Laboratory Rat.* Academic Press. 2000

Kung HF, Blau M. *Subcutaneous isoproterenol: a convenient rat model for early detection of myocardial necrosis.* J Nucl Med. 1978; 19(8):948-951

Lane AM, Lovejoy DJ. *The effects of exercise on mood changes: the moderating effect of depressed mood.* J Sports Med Phys Fitness. 2001; 41(4):539-545

Laughlin MH, McAllister RM. *Exercise training-induced coronary vascular adaptation.* J Appl Physiol. 1992; 73(6):2209-2225

Lautenschlager NT, Cox KL, Flicker L, Foster JK, van Bockxmeer FM, Xiao J, Greenop KR, Almeida OP. *Effect of physical activity on cognitive function in older adults at risk for Alzheimer disease: a randomized trial.* JAMA. 2008; 300(9):1027-1037

Leme JA, Silveira RF, Gomes RJ, Moura RF, Sibuya CA, Mello MA, Luciano E. *Long-term physical training increases liver IGF-I in diabetic rats.* Growth Horm IGF Res. 2009 Feb 5

Leslie KO, Schwarz J, Simpson K, Huber SA. *Progressive interstitial collagen deposition in Coxsackievirus B3-induced murine myocarditis.* Am J Pathol. 1990; 136(3):683-693

Litvak J, Siderides LE, Vineberg AM. *The experimental production of coronary artery insufficiency and occlusion.* Am Heart J. 1957; 53(4):505-518

Lloyd T, Petit MA, Lin H, Beck TJ. *Lifestyle factors and the development of bone mass and bone strength in young women.* J Pediatr. 2004; 144:776-782

López CJ y Fernández VA. *Fisiología del Ejercicio.* Ed. Médica Panamericana, 2001.

Luckey SW, Mansoori J, Fair K, Antos CL, Olson EN, Leinwand LA. *Blocking cardiac growth in hypertrophic cardiomyopathy induces cardiac dysfunction and decreased survival only in males.* Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007; 292(2):H838-H845

MacAuley D. *A history of physical activity, health and medicine.* J R Soc Med. 1994; 87(1):32-35

Markou T, Lazou A. *Phosphorylation and activation of mitogen- and stress-activated protein kinase-1 in adult rat cardiac myocytes by G-protein-coupled receptor agonists requires both extracellular-signal-regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase.* Biochem J. 2002; 365(Pt 3):757-763

Massett MP, Berk BC. *Strain-dependent differences in responses to exercise training in inbred and hybrid mice.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2005; 288(4):R1006-R1013

McCall GE, Byrnes WC, Dickinson A, Pattany PM, Fleck SJ. *Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training.* J Appl Physiol. 1996; 81(5):2004-2012

McMullen JR, Shioi T, Zhang L, Tarnavski O, Sherwood MC, Kang PM, Izumo S. *Phosphoinositide 3-kinase(p110alpha) plays a critical role for the induction of physiological, but not pathological, cardiac hypertrophy.* Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100(21):12355-12360

Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Casarini DE, Negrão CE, Brum PC. *Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats.* Braz J Med Biol Res. 2004; 37(12):1909-1917

Meeson AP, Radford N, Shelton JM, Mammen PP, DiMaio JM, Hutcheson K, Kong Y, Elterman J, Williams RS, Garry DJ. *Adaptive mechanisms that preserve cardiac function in mice without myoglobin.* Circ Res. 2001; 88(7):713-720

Merx MW, Gödecke A, Flögel U, Schrader J. *Oxygen supply and nitric oxide scavenging by myoglobin contribute to exercise endurance and cardiac function.* FASEB J. 2005; 19(8):1015-1017

Milner DJ, Weitzer G, Tran D, Bradley A, Capetanaki Y. *Disruption of muscle architecture and myocardial degeneration in mice lacking desmin.* J Cell Biol. 1996; 134(5):1255-1270

Morkin E, Ashford TP. *Myocardial DNA synthesis in experimental cardiac hypertrophy*. Am J Physiol 1968; 215:1409-1413

Morris JN, Heady JA, Raffle PAB, Roberts CG, Parks JW. *Coronary heart disease and physical activity at work*. Lancet 1953; 2:1053-1057, 1111-1120

Muders F, Elsner D. *Animal models of chronic heart failure*. Pharmacol Res. 2000; 41(6):605-612

Murase T, Haramizu S, Shimotoyodome A, Tokimitsu I, Hase T. *Green tea extract improves running endurance in mice by stimulating lipid utilization during exercise*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2006; 290(6):R1550-R1556

Murray DR, Prabhu SD, Chandrasekar B. *Chronic beta-adrenergic stimulation induces myocardial proinflammatory cytokine expression*. Circulation. 2000; 101(20):2338-2341

Nemet D, Barkan S, Epstein Y, Friedland O, Kowen G, Eliakim A. *Short- and long-term beneficial effects of a combined dietary-behavioral-physical activity intervention for the treatment of childhood obesity*. Pediatrics. 2005; 115(4):e443-e449

Nieman DC, Johansen LM, Lee JW, Arabatzis K. *Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon*. J Sports Med Phys Fitness. 1990; 30:316-328

Nieman DC. *Exercise, infection and immunity*. Int J Sports Med. 1994; 15:S131-S141

Nordström A, Olsson T, Nordström P. *Sustained Benefits from Previous Physical Activity on Bone Mineral Density in Males*. J Clin Endocrinol Metab. 2006; 91(7):2600-2604

Noronha-Dutra AA, Steen EM, Woolf N. *The early changes induced by isoproterenol in the endocardium and adjacent myocardium*. Am J Pathol. 1984; 114(2):231-239.

Oberti PF. ¿Hipertrofia patológica o fisiológica? Contribución de la evaluación de aspectos estructurales y funcionales miocárdicos por medio de la caracterización y el Doppler tisular. Rev Argent Cardiol. 2005; 73(2):83-85

Operschall C, Falivene L, Clozel JP, Roux S. *A new model of chronic cardiac ischemia in rabbits*. J Appl Physiol. 2000; 88(4):1438-1445

Osler W. *Angina pectoris*. Lancet 1910; 1:697-702

Oudit GY, Sun H, Trivieri MG, Koch SE, Dawood F, Ackerley C, Yazdanpanah M, Wilson GJ, Schwartz A, Liu PP, Backx PH. *L-type Ca²⁺ channels provide a major pathway for iron entry into cardiomyocytes in iron-overload cardiomyopathy*. Nat Med. 2003; 9(9):1187-1194

Pedersen BK, Kappel M, Klokke M, Nielsen HB, Secher NH. *The immune system during exposure to extreme physiologic conditions*. Int J Sports Med 1994; 15(Suppl 3):S116-S121

Persoon-Rotherth M, van der Valk-Kokshoorn EJ, Egas-Kenniphaas JM, Mauve I, van der Laarse A. *Isoproterenol-induced cytotoxicity in neonatal rat heart cell cultures is mediated by free radical formation*. J Mol Cell Cardiol. 1989; 21(12):1285-1291

Peters EM, Goetsche JM, Grobbelaar B, Noakes TD. *Vitamin C supplementation reduces the incidence of post-race symptoms of upper respiratory tract infection in ultramarathon runners*. Am J Clin Nutr. 1993; 57:170-174

Peters EM, Goetsche JM, Joseph LE, Noakes TD. *Vitamin C as effective as combinations of antioxidant nutrients in reducing symptoms of upper respiratory tract infections in ultramarathon runners*. S A J Sports Med. 1996; 11:23-27

Peters NS, Wit AL. *Myocardial architecture and ventricular arrhythmogenesis*. Circulation. 1998; 97(17):1746-1754

Petzold T, Feindt P, Menger MD, Gams E. *Beta-adrenoceptor inhibition for induction of acute cardiac failure in pigs*. Lab Anim. 1999; 33(4):366-371

Pick R, Jalil JE, Janicki JS, Weber KT. *The fibrillar nature and structure of isoproterenol-induced myocardial fibrosis in the rat*. Am J Pathol. 1989; 134(2):365-371

Pinelli A, Trivulzio S, Tomasoni L, Brenna S, Bonacina E, Accinni R. *Isoproterenol-induced myocardial infarction in rabbits. Protection by propranolol or labetalol: a proposed non-invasive procedure*. Eur J Pharm Sci. 2004; 23(3):277-285

Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL, Herb RA. *Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium*. Am J Physiol. 1993; 265(6 Pt 2):H2094-H2098

PRONASA: programa Nacional de Salud 2007-2012. Secretaría de Salud. 2007

Rathore N, John S, Kale M, Bhatnagar D. *Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in isoproterenol induced oxidative stress in rat tissues*. Pharmacol Res. 1998; 38(4):297-303

Ravi Kiran T, Subramanyam MV, Asha Devi S. *Swim exercise training and adaptations in the antioxidant defense system of myocardium of old rats: relationship to swim intensity and duration*. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2004;137(2):187-196

REAL ACADEMIA ESPAÑOLA. Diccionario de la lengua española, 22.^a edición. Madrid: Espasa Calpe. 2001

Reilly JJ, Kelly L, Montgomery C, Williamson A, Fisher A, McColl JH, Lo Conte R, Paton JY, Grant S. *Physical activity to prevent obesity in young children: cluster randomised controlled trial*. BMJ. 2006; 333(7577):1041

Ren G, Dewald O, Frangogiannis NG. *Inflammatory mechanisms in myocardial infarction*. Curr Drug Targets Inflamm Allergy. 2003; 2(3):242-256

Rideout CA, McKay HA, Barr SI. *Self-Reported Lifetime Physical Activity and Areal Bone Mineral Density in Healthy Postmenopausal Women: The Importance of Teenage Activity*. Calcif Tissue Int. 2006; 79(4):214-222

Robinson RS. *Sources for the History of Greek Athletics*. Cincinnati: RS Robinson, 1955

Rona G, Chappel CI, Balazs T, Gaudry R. *An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat*. AMA Arch Pathol. 1949; 67(4):443-455

Rona G, Zsoter T, Chappel C, Gaudry R. *Myocardial lesions, circulatory and electrocardiographic changes produced by isoproterenol in the dog*. Rev Can Biol. 1959; 18(1):83-94

Rosa EF, Silva AC, Ihara SS, Mora OA, Aboulafia J, Nouailhetas VL. *Habitual exercise program protects murine intestinal, skeletal, and cardiac muscles against aging*. J Appl Physiol. 2005; 99(4):1569-1575

Rossi Bruno RO, Mazer D, Silveira Larissa CR, Jacinto CP, Di Sacco Thaísa HR, Blanco João HD. *El ejercicio físico atenúa el déficit autonómico cardiaco inducido por el bloqueo de la síntesis de óxido nítrico*. Arq. Bras. Cardiol. 2009; 92(1):31-38

Sakaguchi G, Sakakibara Y, Tambara K, Lu F, Premaratne G, Nishimura K, Komeda M. *A pig model of chronic heart failure by intracoronary embolization with gelatin sponge*. Ann Thorac Surg. 2003; 75(6):1942-1947

SAOB: Sociedad de Anestesiología del Oeste Bonaerense. 2006.
<http://www.saob.org.ar/index.php?operation=view&node=208>

Saraceni C, Broderick TL. *Cardiac and metabolic consequences of aerobic exercise training in experimental diabetes*. Curr Diabetes Rev. 2007; 3(1):75-84

Saroff J, Wexler BC. *Isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. Distribution of corticosterone*. Circ Res. 1970; 27(6):1101-1109

Scheuer J, Malhotra A, Hirsch C, Capasso J, Schaible TF. *Physiologic cardiac hypertrophy corrects contractile protein abnormalities associated with pathologic hypertrophy in rats*. J Clin Invest. 1982; 70(6):1300-1305

Senthil S, Sridevi M, Pugalendi KV. *Cardioprotective effect of oleanolic acid on isoproterenol-induced myocardial ischemia in rats*. Toxicol Pathol. 2007; 35(3):418-423.

Shek PN, Sabiston BH, Buguet A, Radomski MW. *Strenuous exercise and immunological changes: a multiple-time-point analysis of leukocyte subsets, CD4/CD8 ratio, immunoglobulin production and NK cell response*. Int J Sports Med. 1995; 16(7):466-474

Shinbane JS, Wood MA, Jensen DN, Ellenbogen KA, Fitzpatrick AP, Scheinman MM. *Tachycardia-induced cardiomyopathy: a review of animal models and clinical studies*. J Am Coll Cardiol. 1997; 29(4):709-715

Shiomi M, Ito T, Yamada S, Kawashima S, Fan J. *Development of an animal model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMI rabbit)*. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003; 23(7):1239-1244

Smith E. *Report on the sanitary conditions of tailors in London. In: Report of the Medical Officer*. London: The Privy Council, 1864; 416-30

Starnes JW, Taylor RP, Park Y. *Exercise improves postischemic function in aging hearts*. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003; 285(1):H347-H351

Stuewe SR, Gwartz PA, Agarwal N, Mallet RT. *Exercise training enhances glycolytic and oxidative enzymes in canine ventricular myocardium*. J Mol Cell Cardiol. 2000; 32(6):903-913

Stuewe SR, Gwartz PA, Mallet RT. *Exercise training increases creatine kinase capacity in canine myocardium*. Med Sci Sports Exerc. 2001; 33(1):92-98

Sugawara J, Murakami H, Maeda S, Kuno S, Matsuda M. *Change in post-exercise vagal reactivation with exercise training and detraining in young men*. Eur J Appl Physiol. 2001; 85(3-4):259-263

Tabel GM, Whittaker P, Vlachonassios K, Sonawala M, Chandraratna PA. *Collagen fiber morphology determines echogenicity of myocardial scar: implications for image interpretation*. Echocardiography. 2006; 23(2):103-107

Taqueti VR, Mitchell RN, Lichtman AH. *Protecting the pump: controlling myocardial inflammatory responses*. Annu Rev Physiol. 2006; 68:67-95

Terblanche SE. *The effects of exhaustive exercise on the activity levels of catalase in various tissues of male and female rats*. Cell Biol Int. 2000; 23(11):749-753

Timek TA, Dagum P, Lai DT, Liang D, Daughters GT, Tibayan F, Ingels NB Jr, Miller DC. *Tachycardia-induced cardiomyopathy in the ovine heart: mitral annular dynamic three-dimensional geometry*. J Thorac Cardiovasc Surg. 2003; 125(2):315-324

Tortora GJ y Anagnostakos NP. *Principios de Anatomía y Fisiología*. Mexico, Oxford University. 1999

Torun B, Stein AD, Schroeder D, Grajeda R, Conlisk A, Rodriguez M, Mendez H, Martorell R. *Rural-to-urban migration and cardiovascular disease risk factors in young Guatemalan adults*. Int J Epidemiol. 2002; 31(1):218-226

Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. *Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodeling*. Cardiovasc Res. 2009; 81(3):449-

Turto H: *Collagen metabolism in experimental cardiac hypertrophy in the rat and the effect of digitoxin treatment*. Cardiovasc Res 1977; 11:358-366

Van Vleet JF, Ferrans VJ. *Myocardial diseases of animals*. Am J Pathol. 1986; 124(1):98-178

Vellaichamy E, Khurana ML, Fink J, Pandey KN. *Involvement of the NF-kappa B/matrix metalloproteinase pathway in cardiac fibrosis of mice lacking guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor A*. J Biol Chem. 2005; 280(19):19230-19242

Vicente-Rodriguez G, Ara I, Perez-Gomez J, Dorado C, Calbet JAL. *Muscular development and physical activity as major determinants of femoral bone mass acquisition during growth*. Br J Sports Med. 2005; 39:611-616

Vicente-Rodriguez G, Jimenez-Ramirez J, Ara I, Serrano-Sanchez JA, Dorado C, Calbet JA. *Enhanced bone mass and physical fitness in prepubescent footballers*. Bone. 2003; 33:853-859

Wang J, Bo H, Meng X, Wu Y, Bao Y, Li Y. *A simple and fast experimental model of myocardial infarction in the mouse*. Tex Heart Inst J. 2006; 33(3):290-293

Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. *Health benefits of physical activity: the evidence*. CMAJ. 2006; 174(6):801-809

Warden SJ, Fuchs RK, Castillo AB, Nelson IR, Turner CH. *Exercise When Young Provides Lifelong Benefits to Bone Structure and Strength*. J Bone Miner Res. 2007; 22(2):251-259

Watson PA, Reusch JE, McCune SA, Leinwand LA, Luckey SW, Konhilas JP, Brown DA, Chicco AJ, Sparagna GC, Long CS, Moore RL. *Restoration of CREB function is linked to completion and stabilization of adaptive cardiac hypertrophy in response to exercise*. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007; 293(1):H246-H259

Weber KT. *Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation*. Circulation 1997; 96:4065–4082

Weber KT, Janicki JS, Pick R, Abrahams C, Shroff SG, Bashey RI, Chen RM: *Collagen in the hypertrophied, pressure overloaded myocardium*. Circulation 1987; 75:40-47

Welch JM, Turner CH, Devareddy L, Arjmandi BH, Weaver CM. *High impact exercise is more beneficial than dietary calcium for building bone strength in the growing rat skeleton*. Bone. 2008; 42(4):660-668

Wexler, BC, y Kittinger, GW. *Myocardial necrosis in rats: serum enzymes, adrenal steroid and histopathological alterations*. Circ Res. 1963; 13:159-171

White FC, Witzel G, Breisch EA, Bloor CM, Nimmo LE. *Regional capillary and myocyte distribution in normal and exercise trained male and female rat hearts*. Am J Cardiovasc Pathol. 1988; 2(3):247-253

Xiao RP, Zhu W, Zheng M, Chakir K, Bond R, Lakatta EG, Cheng H. *Subtype-specific beta-adrenoreceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications*. Trends Pharmacol Sci. 2004; 25(7):358-365

Yang XP, Sabbah HN, Liu YH, Sharov VG, Mascha EJ, Alwan I, Carretero OA. *Ventriculographic evaluation in three rat models of cardiac dysfunction*. Am J Physiol. 1993; 265(6 Pt 2):H1946-H1952

Zarrinpashneh E, Beauloye C, Ginion A, Pouleur AC, Havaux X, Hue L, Viollet B, Vanoverschelde JL, Bertrand L. *AMPK α 2 counteracts the development of cardiac hypertrophy induced by isoproterenol*. Biochem Biophys Res Commun. 2008; 376(4):677-681

Zhang GX, Kimura S, Nishiyama A, Shokoji T, Rahman M, Yao L, Nagai Y, Fujisawa Y, Miyatake A, Abe Y. *Cardiac oxidative stress in acute and chronic isoproterenol-infused rats*. Cardiovasc Res. 2005; 65(1):230-238

Zhang GX, Ohmori K, Nagai Y, Fujisawa Y, Nishiyama A, Abe Y, Kimura S. *Role of AT1 receptor in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and oxidative stress in mice*. J Mol Cell Cardiol. 2007; 42(4):804-811

Zhang KR, Liu HT, Zhang HF, Zhang QJ, Li QX, Yu QJ, Guo WY, Wang HC, Gao F. *Long-term aerobic exercise protects the heart against ischemia/reperfusion injury via PI3 kinase-dependent and Akt-mediated mechanism.* Apoptosis. 2007; 12(9):1579-1588

Zhang Q, Saito Y, Naya N, Imagawa K, Somekawa S, Kawata H, Takeda Y, Uemura S, Kishimoto I, Nakao K. *The specific mineralocorticoid receptor blocker eplerenone attenuates left ventricular remodeling in mice lacking the gene encoding guanylyl cyclase-A.* Hypertens Res. 2008; 31(6):1251-1256

Zhu W, Shou W, Payne RM, Caldwell R, Field LJ. *A mouse model for juvenile doxorubicin-induced cardiac dysfunction.* Pediatr Res. 2008; 64(5):488-494