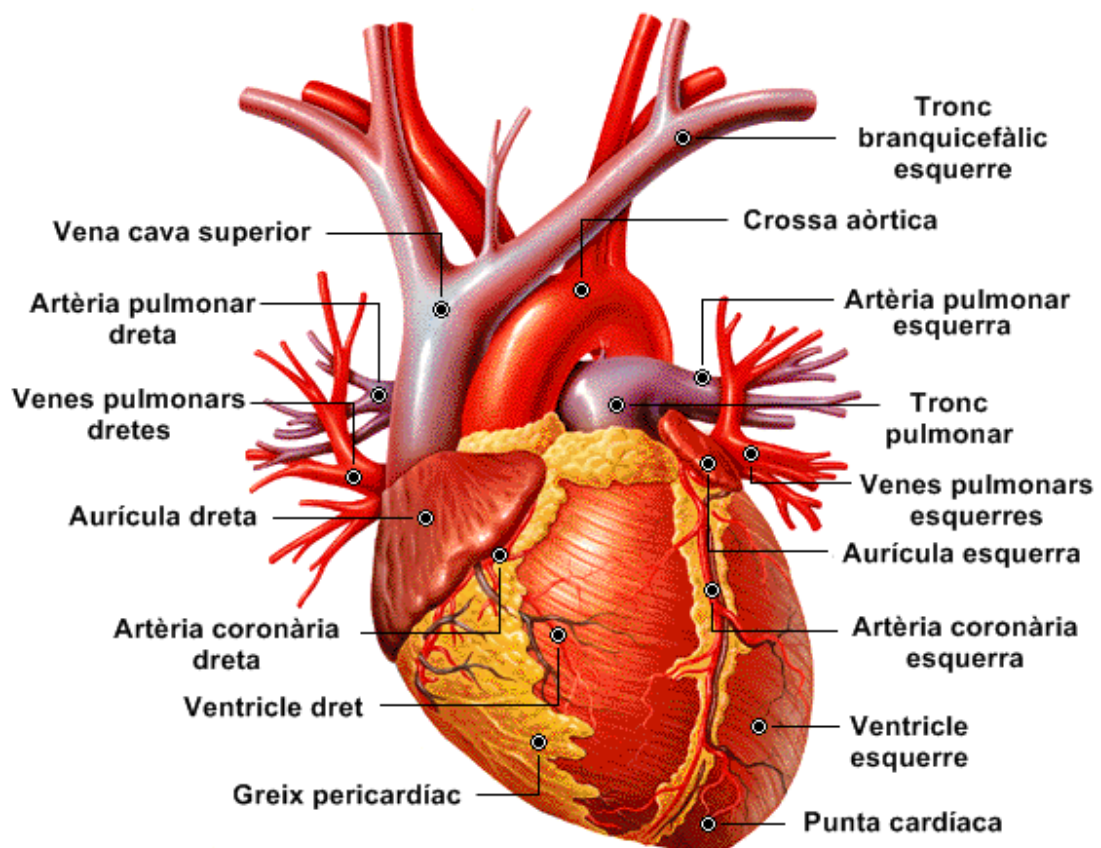


# Estudi de l'aparició de patologies cardíacques lligades a la pràctica intensa i continuada d'exercici físic en un model animal





Biologia

Cardiologia Experimental

Tutor: Jordi Cervera

Curs 2012-2013

2n batxillerat B

Escola Cervetó

## **AGRAÏMENTS I DEDICATÒRIES**

En primer lloc, vull agrair al grup de Cardiologia Experimental del Centre d'Investigació Biomèdica de l'*IDIBAPS* de l'Hospital Clínic de Barcelona per haver-me donat l'oportunitat de realitzar la part experimental en les seves instal·lacions i proporcionar-me tot el material i aparells necessaris.

Vull donar les gràcies, en primer lloc, al Dr. Lluís Mont per haver fet possible la meva estada al centre biomèdic i també a Nadia Castillo per haver-me ajudat en l'àmbit experimental del treball i guiar-me en aquest.

Especialment dono les gràcies a Cira Rubies per haver estat més que la meva tutora en el centre, és a dir, per haver-me ajudat en tot moment i en qualsevol àmbit, i per ensenyar-me coses noves del món de la biologia.

Per altra banda, vull donar les gràcies al meu tutor de l'escola, en Jordi Cervera, per haver-me guiat i aconsellat en tot moment durant l'elaboració del treball.

I per últim, voldria agrair a la meva família tot el suport que m'han donat durant el procés i per fer que mai em rendís davant qualsevol obstacle.

## SUMARI

“Estudi de l'aparició de patologies cardíques lligades a la pràctica intensa i continuada d'exercici físic en un model animal” és un treball de caire biològic, concretament és un treball que es situa en l'àmbit de la cardiologia. L'objectiu d'aquest treball és observar, a partir d'un model animal, si la pràctica d'exercici físic intens i continuat pot afavorir l'aparició de patologies cardíques com la fibrosi miocardiàca, la hipertròfia o les arítmies.

Pel que fa al treball, primer s'inicia amb una introducció teòrica on es tracta els mamífers, l'aparell circulatori, tant anatòmica com fisiològicament, l'exercici físic i les patologies cardíques esmentades anteriorment. Seguidament, es segueix amb l'elaboració de la part o mètode experimental on es fa un tractament del cor per al seu estudi, s'estudia la fibrosi miocardiàca mitjançant una sèrie d'experiments i tot seguit, es realitzen altres experiments per dur a terme l'estudi de la hipertròfia cardíaca.

# ÍNDIX

|   |         |
|---|---------|
| <b>INTRODUCCIÓ</b> .....                                    | pàg. 8  |
| <b>INTRODUCCIÓ TEÒRICA</b> .....                            | pàg. 10 |
| <b>Els mamífers</b> .....                                   | pàg. 11 |
| <b>Els animals de laboratori</b> .....                      | pàg. 15 |
| <b>Sistema circulatori</b> .....                            | pàg. 17 |
| Sistema limfàtic .....                                      | pàg. 19 |
| Sistema cardiovascular .....                                | pàg. 19 |
| <b>L'exercici físic</b> .....                               | pàg. 36 |
| L'esport és beneficiós pel cor .....                        | pàg. 38 |
| Adaptació a l'exercici: què és el cor d'atleta? .....       | pàg. 38 |
| La mort sobtada en esportistes .....                        | pàg. 40 |
| <b>Patologies cardíques</b> .....                           | pàg. 41 |
| Hipertrofia cardíaca .....                                  | pàg. 41 |
| Fibrosi cardíaca .....                                      | pàg. 42 |
| Arítmies cardíques .....                                    | pàg. 43 |
| <b>MÈTODE EXPERIMENTAL</b> .....                            | pàg. 45 |
| <b>Inici del projecte</b> .....                             | pàg. 46 |
| <b>Procés de tractament del cor per al seu estudi</b> ..... | pàg. 48 |
| <b>ESTUDI DEL COR</b> .....                                 | pàg. 56 |
| <b>Tinció amb Hematoxilina-Eosina</b> .....                 | pàg. 56 |
| <b>Estudi de la fibrosi miocardiàca</b> .....               | pàg. 62 |
| Tinció amb vermell picrosirius .....                        | pàg. 62 |
| Quantificació de col·lagen I i III .....                    | pàg. 64 |
| <b>Estudi de la hipertrofia</b> .....                       | pàg. 80 |

|  |          |
|--|----------|
| Anàlisi del pes del cor vs el pes corporal dels dos grups<br>experimentals .....                     | pàg. 80  |
| Anàlisi del gruix de les parets dels ventricles dret i esquerre<br>i el septe interventricular ..... | pàg. 89  |
| <b>CONCLUSIONS</b> .....   | pàg. 104 |
| <b>RECOMANACIONS O PROPOSTES DE CONTINUÏTAT</b> .....  | pàg. 108 |
| <b>ANNEXOS</b> .....   | pàg. 109 |
| <b>Quantificació de col·lagen</b> .....  | pàg. 110 |
| <b>Reconstrucció del cor</b> .....   | pàg. 110 |
| <b>BIBLIOGRAFIA</b> .....  | pàg. 111 |

## INTRODUCCIÓ

Des d'un primer moment tenia clar que el meu treball havia de ser de caire científic i experimental, ja que segurament serà l'àmbit al que em voldré dedicar en un futur.

Gràcies al Dr. Lluís Mont i al seu equip vaig tenir l'oportunitat de realitzar el meu treball a l'Hospital Clínic de Barcelona. Primerament, no m'havia plantejat realitzar el treball de recerca sobre un àmbit cardiològic, però al tenir l'oportunitat de formar part del grup d'investigació biomèdica de l'*IDIBAPS*, no m'ho vaig pensar dues vegades.

L'objectiu d'aquest treball és estudiar els efectes de l'exercici intens i de resistència a llarg termini sobre el miocardi en un model animal, en aquest cas, *Rattus norvegicus*, concretament la soca Wistar, i observar les possibles patologies que en resulten, com per exemple la hipertròfia i la fibrosi cardíaca, i com a conseqüència les arítmies.

La hipòtesi plantejada es basa en que l'exercici intens i de resistència practicat de manera crònica produirà canvis estructurals a nivell del miocardi, com la fibrosi i la hipertròfia cardíaca, que poden afavorir el desenvolupament d'arítmies cardíques.

Pel que fa l'estructura del treball, aquest consta de dues parts relacionades, és a dir, d'una part teòrica on s'expliquen i es defineixen tots els temes i termes necessaris per a la comprensió del treball, i d'una part experimental



on es realitzen els passos i experiments necessaris per dur a terme l'objectiu d'aquest.

A l'hora de realitzar la memòria no vaig tenir massa dificultats i em vaig saber organitzar bé, sobretot a l'estiu, i aquest ha estat un punt a favor durant tot el procés.

Per últim, cal remarcar que s'ha dut a terme un mètode inductiu, a partir de casos particulars, és a dir, de resultats obtinguts de diferents rates, s'ha obtingut unes conclusions generals on es fa un anàlisi d'aquests i se'n busca una explicació tot relacionant-ho amb els conceptes teòrics.

# **INTRODUCCIÓ**

# **TEÒRICA**

## ELS MAMÍFERS

Els mamífers són una classe de vertebrats que es caracteritzen principalment per la presència de pelatge, alimenten les cries amb llet secretada per glàndules mamàries i són homeotermes, és a dir, que mantenen la seva temperatura interna constant.



*Figura 1: Mamífers*

Un tret comú en tots els mamífers és el seu alt requeriment d'energia, a causa de la regulació de la temperatura corporal. Algunes espècies consumeixen cada dia una quantitat d'aliment gairebé igual al seu pes.

Segons l'alimentació que es du a terme diem que hi ha mamífers herbívors, que s'alimenten única i exclusivament de vegetals, carnívors, que com bé diu el seu nom s'alimenten de carn, i omnívors, els quals mengen tant vegetals com carn.

Pel que fa la reproducció, tots els mamífers tenen reproducció sexual la qual requereix la presència de cèl·lules reproductores sexuals (òvuls en la femella i espermatozoides en el mascle) per realitzar-se; aquestes són les que contenen la informació genètica necessària perquè després de la fecundació s'origini un individu amb les característiques pròpies de l'espècie.

La fecundació és interna i es realitza en el moment del coit.

Els mascles posseeixen dos testicles dels quals surten dos conductes espermàtics que desemboquen en la uretra que passa per l'interior de l'òrgan copulador o penis. En canvi, les femelles posseeixen dos ovaris i dos oviductes que acaben en una cavitat muscular anomenada úter, aquesta es comunica amb l'exterior per un conducte dilatatable anomenat vagina en el qual s'hi troba el penis durant la còpula.

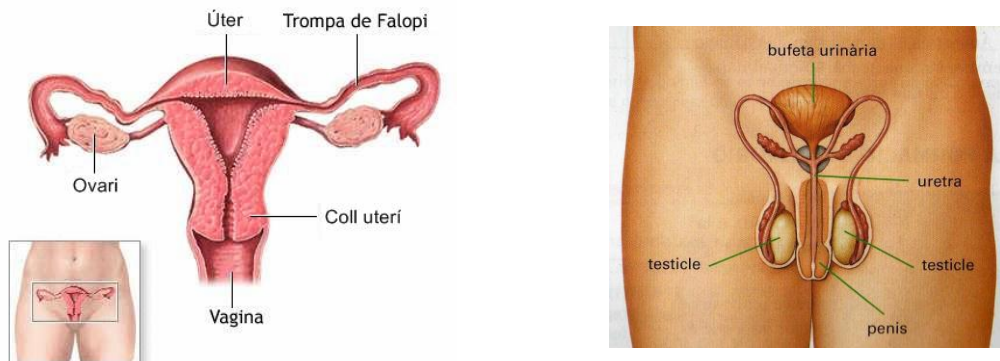


Figura 2: Òrgan reproductor femení i masculí

Segons el desenvolupament embrionari trobem tres classes: els prototeris, els metateris i els euteris, que inclouen els humans.

## **Prototeris**

Els prototeris són la classe de mamífers on el desenvolupament embrionari es du a terme a l'interior d'un ou. La majoria es van extingir excepte els monotremes, com l'ornitorinc.



*Figura 3: Ornitorinc*

## **Metateris**

Els metateris són la classe de mamífers en els que la femella té dues vagines, cadascuna de les quals condueix a un compartiment diferent a l'úter. Els mascles tenen generalment un penis bífid que correspon a les dues vagines de les femelles. La femella embarassada desenvolupa una espècie de sac gestacional al ventre on lliura els aliments a l'embrió. L'embrió neix en un estadi molt primerenc del desenvolupament (al voltant de les 4–5 setmanes), després del qual s'enfila pel ventre de la mare i

s'aferra a un mugró. Segueix unit al mugró durant varies setmanes. El descendent passa més endavant per una etapa en què surt temporalment de la bossa, on torna per obtenir calor i aliment. Un exemple de mamífer metateri és el cangur.



*Figura 4: Cangur adult amb la seva cria*

## **Euteris**

Els euteris són una classe de mamífers formada pels placentaris i per tots aquells mamífers extints que són més propers als placentaris que a qualsevol altre grup.

Es caracteritzen perquè són vivípars placentaris, és a dir que l'embrió es desenvolupa a l'interior de l'úter matern i es relaciona amb la mare per mitjà de la placenta i per tant, permet l'alimentació de l'embrió a partir de la sang materna fins el moment del part.

Dins dels mamífers euteris hi trobem els éssers humans i també, els animals de laboratori els quals són necessaris en les investigacions científiques com la que he portat a terme.



*Figura 5: Dofí*

## **ELS ANIMALS DE LABORATORI**

Els animals de laboratori són éssers vius els quals s'utilitzen en l'experimentació animal i altres fins científics.

Aquests han contribuït de manera directa, conjuntament amb altres aspectes, a incrementar l'esperança de vida de l'home de manera progressiva fins a 25 anys. També han permès posar a punt la metodologia clínica i tècnica.

Per tant, es pot dir que l'avanç del coneixement mèdic, tant en tractaments, fàrmacs, tècniques, etc. ha estat íntimament lligat al treball amb animals d'experimentació.

Quan es treballa amb animals de laboratori es diu que es treballa amb models animals. Un model animal és un objecte animat d'imitació utilitzat per investigar circumstàncies fisiològiques o patològiques que afecten al benestar de les persones.

Els animals més utilitzats són les rates i els ratolins però també es treballa amb conills, fures, gats, gossos, porcs i primats.

Pel que fa a les rates, aquestes es van començar a utilitzar a mitjans del s. XIX i procedeixen de la rata noruega salvatge Rattus norvegicus. En l'actualitat existeixen més de 50 soques no consanguínies, és a dir, que no s'aparellen individus emparentats i per tant, la descendència presentarà gran variabilitat genètica, i més de 400 consanguínies, és a dir, que presenten una descendència genèticament idèntica entre ella i el progenitor. S'utilitzen sobretot en medicina, nutrició, toxicologia, estudi del sistema nerviós i conducta animal. Les més utilitzades són les rates albines Sprague-Dawley i Wistar.

En el nostre estudi s'ha treballat amb rates Wistar.

La soca Wistar és una soca no consanguínia. Concretament són rates albines. Aquesta soca va ser desenvolupada l'any 1906 a l'Institut Wistar pel seu ús en la investigació biològica i mèdica.

Actualment és una de les soques de rates més popular i és la que millor representa la variabilitat genètica d'una població humana típica.



Es caracteritza pel seu cap ample, orelles llargues i una longitud de cua sempre inferior a la longitud del cos.



*Figura 6: Rata Wistar*

## **SISTEMA CIRCULATORI**

El sistema circulatori és el conjunt d'òrgans i teixits format pel sistema cardiovascular, encarregat de la distribució de la sang, i pel sistema limfàtic, encarregat de la circulació de la limfa<sup>1</sup> a tot al cos.

S'encarrega de transportar els nutrients i l'oxigen a totes les cèl·lules del cos i rebre substàncies residuals d'origen metabòlic i transportar-les als òrgans d'excreció per tal que siguin eliminades. També és la via per on circulen

---

<sup>1</sup> La limfa és una substància que està composta per un líquid clar pobre en proteïnes i ric en lípids, les úniques cèl·lules que conté són els glòbuls blancs.

les hormones i participa en importants funcions de defensa immunitària i homeostàtica<sup>2</sup>.

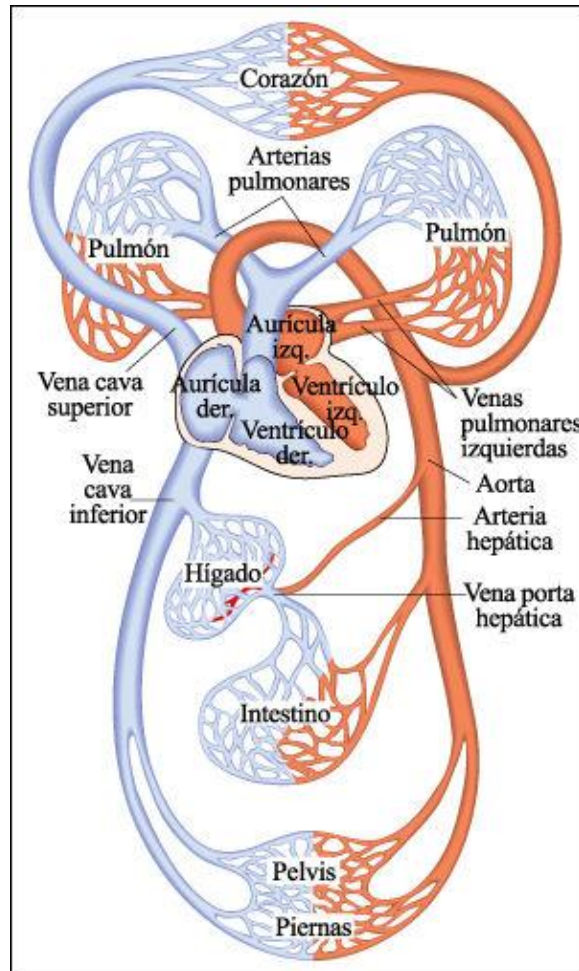


Figura 7: Sistema circulatori

---

<sup>2</sup> L'homeòstasi és la tendència a mantenir l'equilibri i l'estabilitat interns en els diferents sistemes biològics.

## **Sistema limfàtic**

El sistema limfàtic es distingeix del sanguini pel fet que els seus vasos van des dels teixits cap al cor. Té la funció de transportar la limfa, la qual té la funció de recol·lectar substàncies que han estat dipositades prèviament als ganglis limfàtics<sup>3</sup> i transportar-les a la sang, defensar l'organisme davant patògens i absorbir els nutrients de l'aparell digestiu i transportar-los també a la sang.

## **Sistema cardiovascular**

El sistema cardiovascular està format principalment pel cor, sang i vasos sanguinis.

### ***La sang***

La sang és un fluid que circula per capil·lars, venes i artèries. Té una part semi-sòlida, que s'anomena elements figurats, que la constitueixen glòbuls blancs, glòbuls vermells i plaquetes, i una part líquida que la constitueix el plasma sanguini, és a dir, un líquid grogós i translúcid que actua com a matriu extracel·lular per on suren els elements figurats.

---

<sup>3</sup> Els ganglis limfàtics són components del sistema limfàtic que actuen com a filtres per a partícules estranyes.

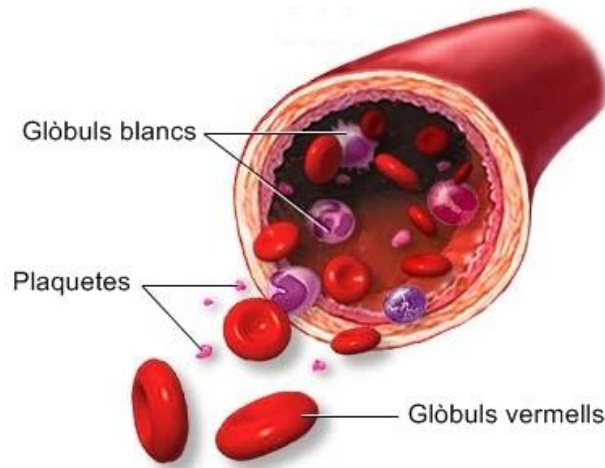


Figura 8: Components de la sang

### ***Els vasos sanguinis***

Pel que fa els vasos sanguinis, en podem distingir: artèries, arterioles, capil·lars arterials, capil·lars venosos, vènules i venes.

Les artèries són els vasos a través dels quals es transporta la sang oxigenada i carregada de nutrients que ha estat bombejada prèviament des del ventricle esquerre, bombejada a través de l'artèria principal, l'artèria aorta. És a partir d'aquesta que es va formant la xarxa arterial.

Les artèries a la seva vegada, es van dividint i donen lloc a les arterioles, i aquestes es divideixen en tota una enorme xarxa de conductes molt fins amb parets fines anomenats capil·lars arterials, encarregats de transportar l'oxigen i els nutrients a la intimitat dels teixits.

Els capil·lars arterials es continuen amb els capil·lars venosos, el paper dels quals es recollir els residus del metabolisme cel·lular. Aquests últims, es van

unint entre si per donar lloc a conductes de major diàmetre, les anomenades vènules. Aquestes es continuen unint entre si fins donar lloc a les venes, les quals tenen la funció de transportar la sang a les venes caves superior i inferiors les quals desemboquen a l'aurícula dreta.

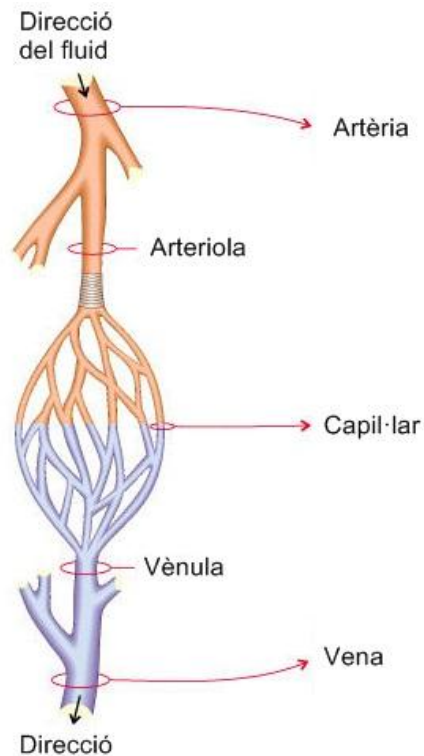


Figura 9: Esquema dels vasos sanguinis

## **El cor**

El cor és l'òrgan principal del sistema cardiovascular. Està situat dins la caixa toràctica, al mediastí<sup>4</sup>, entre els pulmons, darrera de l'estern<sup>5</sup> i per sobre el

---

<sup>4</sup> El mediastí és un compartiment anatòmic situat en el centre del tòrax.

<sup>5</sup> L'estern és un os del tòrax, pla, imparell, central i simètric.

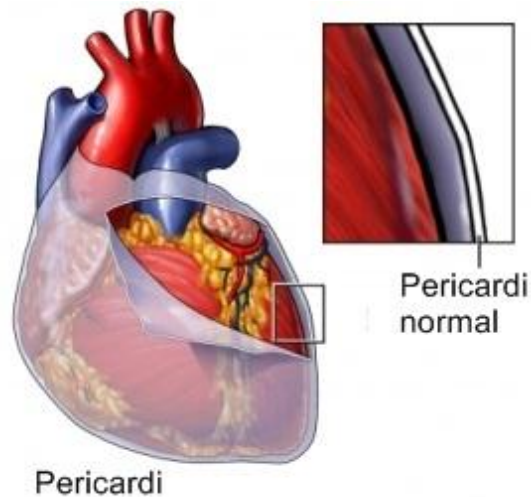
diafragma. En un individu adult la seva mida és aproximadament la d'un puny tancat i té un pes mitjà de 250 g en dones i 300 g en homes.

El cor es pot considerar una bomba biològica pulsativa, que manté el flux sanguini circulant per les artèries i venes amb el cabal i la pressió adients per irrigar cada òrgan.

### Anatomia del múscul cardíac

El cor, com ja hem dit, és l'òrgan principal del sistema cardiovascular. A la part externa hi trobem les venes i artèries coronàries que alimenten al propi múscul cardíac. Envoltant i protegint el cor podem observar el pericardi, és a dir, un sac format per dues capes. La capa més superficial o externa anomenada pericardi fibrós i la interna anomenada pericardi serós.

Pel que fa el pericardi fibrós, aquest manté el cor en la seva posició al mateix temps que permet el moviment de contracció, i esdevé una barrera contra la propagació d'infeccions. En canvi, el pericardi serós s'encarrega de secretar líquid pericardíac a l'espai que es forma entre el pericardi i la primera capa de la paret cardíaca per tal d'evitar la fricció entre ambdues membranes durant el batec del cor.



*Figura 10: Pericardi*

El múscul cardíac està dividit en tres capes: l'epicardi, el miocardi i l'endocardi.

L'epicardi és la capa més externa del cor, formada per cèl·lules mesotelials, teixit connectiu<sup>6</sup> i vasos sanguinis.

El miocardi és la capa més gruixuda i dona lloc a la musculatura cardíaca. Està formada principalment de miòcits cardíacs, cèl·lules excitable que es contrauen quan són estimulades per les seves cèl·lules veïnes. Les seves fibres estan ramificades i encreuades, això possibilita que la contracció comenci en un punt i que es transmeti en totes direccions.

---

<sup>6</sup> El teixit connectiu és un teixit de sosteniment ja que sosté i cohesiona altres teixits i òrgans, protegeix i aïlla aquests últims i també serveix de suport a estructures de l'organisme.

Cal destacar que el miocardi presenta 4 propietats fonamentals:

- *Excitabilitat:* És la propietat comuna de les neurones i les cèl·lules musculars. És la capacitat de transmetre un potencial d'acció<sup>7</sup>.
- *Automatisme:* És la propietat que permet que el cor generi els seus propis impulsos que produeixen la contracció. És una propietat intrínseca del cor tot i que és influenciada per factors extrínsecs com hormones, ions, temperatura, entre altres.
- *Conducció d'impulsos:* El múscul cardíac té la capacitat de conduir els impulsos elèctrics generats pel node sinoauricular a partir del Sistema de conducció elèctrica del cor.
- *Contractilitat:* És la propietat que permet indicar el grau de força que pot exercir el miocardi per tal de vèncer la resistència vascular.

Cal especificar que hi ha dos tipus de músculs, l'estriat o també anomenat esquelètic i el llis. El primer és el que presenta fibres musculars o també dites estries de forma cilíndrica, amb un mateix gruix en tota la seva extensió i són més llargues que no pas en el múscul llis. Pel que fa aquest, la seva composició es basa en cèl·lules en forma de fus, manca d'estries transversals encara que mostra lleugerament estries longitudinals.

---

<sup>7</sup> Un potencial d'acció és una ona de descàrrega elèctrica que viatja al llarg de la membrana cel·lular modificant la seva distribució de càrrega elèctrica, generant una diferència de potencial. S'utilitza principalment per transportar informació entre teixits, a partir de ions de sodi i potassi



La contracció d'aquest múscul es fa mitjançant el sistema nerviós vegetatiu autònom<sup>8</sup>, i per tant, es realitza de manera involuntària.

Per tant, cal dir que el múscul cardíac, el miocardi, és un múscul especial ja que no es pot afirmar que sigui estriat o llis sinó que comparteix gran part de les característiques anatòmiques del múscul estriat, però a diferència d'aquest, la seva contracció és totalment involuntària, com en el múscul llis.

En les fibres musculars esquelètiques, els nombrosos nuclis es localitzen en la perifèria, en canvi, en el cas del múscul cardíac, les seves fibres presenten el nucli central i únic, ja que són mononuclears.

Per últim, l'endocardi, és la capa que recobreix la superfície interna del cor i està formada per diferents làmines de cèl·lules endotelials i teixit connectiu.

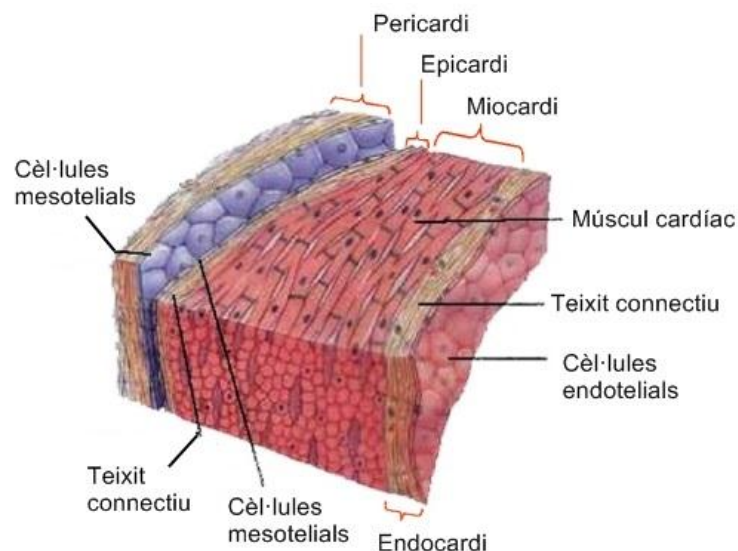


Figura 11: Capes del cor

---

<sup>8</sup> El sistema nerviós vegetatiu autònom és la part del sistema nerviós que controla les accions involuntàries.

Pel que fa l'interior del cor, hi trobem quatre cambres. Les aurícules són les dues cambres superiors, en canvi, els ventricles són les dues cambres inferiors. Aquestes dues parts, les aurícules i ventricles, es separen entre si a partir d'una vàlvula anomenada auriculo-ventricular (AV). La funció de les vàlvules és fer que el corrent sanguini sigui unidireccional, és a dir, que es propagui tan sols en una direcció.

L'aurícula esquerra es comunica amb el ventricle esquerre per mitjà de la vàlvula mitral o bicúspide, constituïda per dues membranes que s'obren quan la sang passa al ventricle i es tanquen a continuació per evitar el retrocés. En canvi, l'aurícula dreta es comunica amb el ventricle dret a partir de la vàlvula tricúspide, constituïda per tres membranes.

A l'aurícula dreta hi desemboquen les dues venes caves, la superior i la inferior, i a l'esquerra les quatre venes pulmonars.

Pel que fa els ventricles, en el dret hi neix l'artèria pulmonar que es ramifica en dos, artèria pulmonar esquerra i artèria pulmonar dreta, mentre que en el ventricle esquerre hi neix l'artèria aorta.

Les cavitats de la part dreta del cor estan separades, mitjançant septes, de les cavitats de la part esquerra del cor. S'anomena septe interauricular l'envà que separa les dues aurícules i septe interventricular el que separa els dos ventricles.

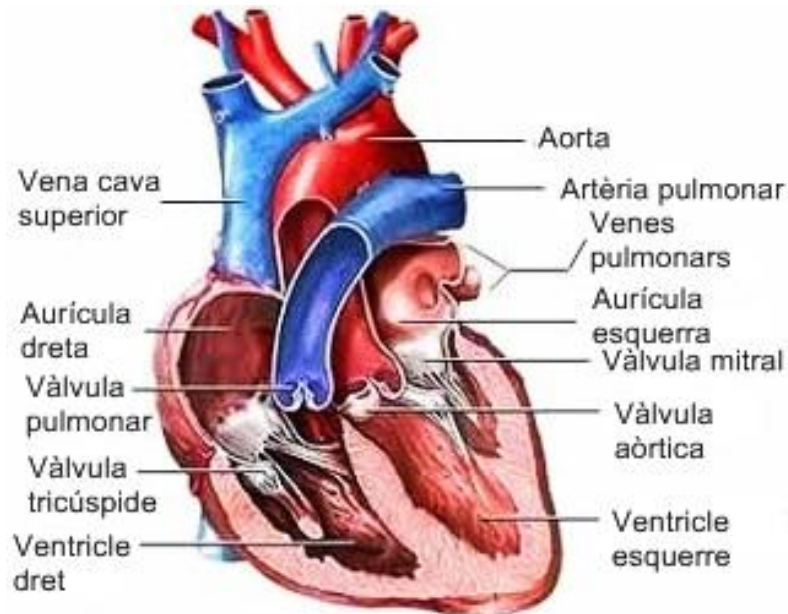


Figura 12: Parts internes del cor

Pel que fa els tipus de circulació, trobem que hi ha:

- *Circulació menor o pulmonar*: És la que s'estableix entre el cor i els pulmons. Hi participa l'aurícula i ventricle dret, les artèries, capil·lars i venes, pulmonars. En aquest tipus de circulació el que succeeix és que la sang capta l'oxigen dels alvèols i transporta el diòxid de carboni als pulmons per a la seva expulsió.
- *Circulació major o general*: És la que s'estableix entre el cor i els diferents òrgans del cos. Aquest circuit està format per l'aurícula i ventricle esquerre, l'artèria aorta i totes les artèries que en deriven, els capil·lars i el sistema venós de retorn que conflueix en les venes caves. Transporta la sang

oxigenada i plena de nutrients des del ventricle esquerre a la resta d'òrgans del cos i retorna la sang desoxigenada al cor, transportant també els productes de rebuig del metabolisme cap als òrgans encarregats de la seva eliminació.

Hem de destacar que sempre hi ha una completa separació entre la sang rica en oxigen i la sang rica en diòxid de carboni.

### Fisiologia del múscul cardíac

#### ***El cicle cardíac***

Es defineix com a cicle cardíac la seqüència d'esdeveniments que tenen lloc durant un batec complet. La sang es mou impulsada per la contracció del múscul cardíac, al contraure's el miocardi les cavitats del cor disminueixen de volum obligant a la sang a desplaçar-se.

El cicle cardíac comença amb la diàstole, és a dir, la relaxació del múscul cardíac. Aquest procés té lloc quan s'obren les vàlvules auriculoventriculars, la sang flueix en direcció als ventricles a causa del canvi de pressió. Al final d'aquesta fase es produeix la contracció de les aurícules, és a dir, la sístole auricular i serveix per acabar d'omplir de sang els ventricles.

A continuació, té lloc la sístole ventricular, que comença amb el tancament de les vàlvules auriculoventriculars i segueix amb la contracció isomètrica

dels ventricles. La pressió a l'interior dels ventricles va augmentant fins que la sang és expulsada a través de les artèries aorta i pulmonar, a causa de que les vàlvules aòrtica i pulmonar s'obren, d'aquesta manera es buiden les cambres ventriculars. Tot seguit té lloc la relaxació ventricular, la qual provoca que les vàlvules aòrtica i pulmonar es tanquin i s'obrin les vàlvules auriculoventriculars, iniciant un nou cicle.

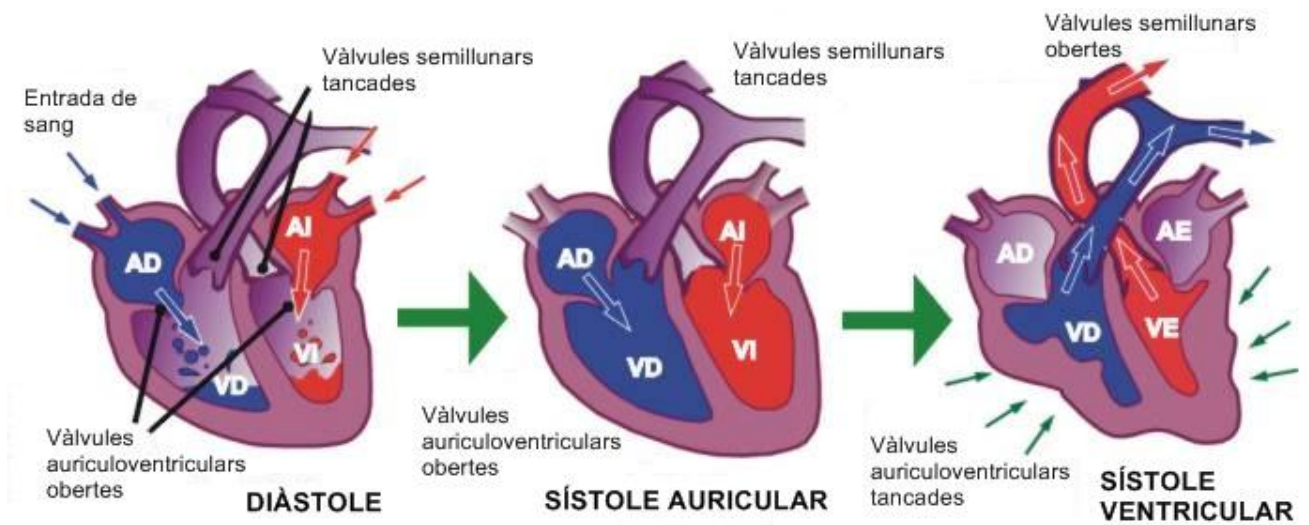


Figura 13: El cicle cardíac

### **La propagació elèctrica**

Les fibres del cor no necessiten ser estimulades pel Sistema Nerviós ja que són autoexcitades a partir del teixit nodal<sup>9</sup>. Aquest està format a partir dels següents elements:

<sup>9</sup> El teixit nodal és un teixit muscular especial amb cèl·lules que poden adquirir càrrega negativa de forma automàtica i rítmica, provocant la contracció.

- *Nòdul o node sinoauricular (SA)*: Situat a l'aurícula dreta, en el punt on acaba la vena cava superior, inicia el cicle cardíac i determina la seva velocitat. L'excitació que s'origina en ell es transmet a tota la musculatura de les aurícules.
- *Nòdul o node auriculoventricular (AV)*: Situat a prop del ventricle dret, capta el senyal del nòdul SA.
- *Feix d'His*: És un sistema de fibres de teixit nodal procedent del nòdul AV que es ramifiquen en fibres de Purkinje<sup>10</sup>, les quals es situen en les parets dels ventricles propagant l'estímul.

Els impulsos elèctrics que inicien el cicle cardíac s'originen en el node sinoauricular. Aquest node mesura aproximadament 3 mm d'ample i 1,5 cm de llargada i es troba situat en la part superior de la aurícula dreta. Les cèl·lules que formen aquest teixit tenen la capacitat d'excitar-se a si mateixes, és a dir, no requereixen de cap estímul extern per a iniciar el potencial d'acció.

Un cop generat el potencial d'acció, aquest s'estén ràpidament a tot el teixit auricular, estimulant la contracció de les aurícules.

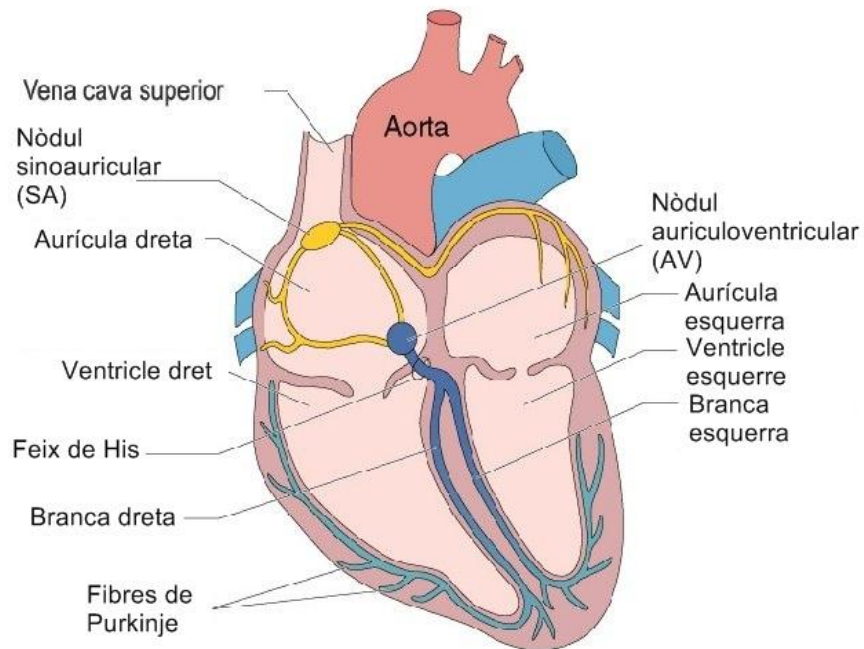
L'estructura de teixit fibrós que forma part i envolta les vàlvules auriculoventriculars, impedeix que l'impuls elèctric es transmeti dels miòcits de les aurícules als miòcits dels ventricles. Aquesta transmissió requereix un

---

<sup>10</sup> Les fibres de Purkinje són cèl·lules musculars miocardiàques especialitzades que condueixen l'impuls elèctric que ocasiona la contracció coordinada dels ventricles del cor.

sistema de fibres especialitzades que condueix apropiadament l'impuls elèctric fins als ventricles i aconseguix sincronitzar la seva contracció.

Partint del node SA, l'impuls es condueix a través de les vies internodals fins al node AV. A la sortida d'aquest node, l'impuls connecta amb el feix d'His que es divideix en dues branques que acaben ramificant-se en el sistema de fibres de Purkinje, les quals estan connectades amb els miòcits del miocardi ventricular.



*Figura 14: Propagació elèctrica del cor*

## Components cel·lulars

El miocardi està format per una complexa combinació de cèl·lules cardíques com per exemple els miòcits i fibroblasts, entre d'altres, que es troben incloses dins d'una densa matriu de proteïnes i polisacàrids.

La funció cardíaca es regula segons les interaccions dinàmiques entre els dos tipus cel·lulars majoritaris, és a dir, miòcits i fibroblasts, i la complexa xarxa extracel·lular que els envolta.

Els miòcits ocupen gairebé tot l'espai del teixit miocardiàc i s'encarreguen de les contraccions del cor. Pel que fa als fibroblasts, més abundants en nombre, són la font principal de components de la matriu extracel·lular, que és la que sustenta les diferents cèl·lules del miocardi. Aquestes estan connectades mitjançant desmosomes, és a dir, unions específiques que es basen en disquets proteics situats als dos costats interns de la membrana de les cèl·lules adjacents. Aquests disquets proteics s'anomenen plaques desmosòmiques, aquestes s'uneixen entre si mitjançant proteïnes filamentoses que connecten una placa desmosòmica amb l'altra, permetent d'aquesta manera la unió cel·lular. A través dels desmosomes es transmeten els impulsos elèctrics d'una cèl·lula a una altra, és a dir, permeten el flux d'ions necessaris per la propagació dels potencials d'acció responsables de les contraccions cardíques.



### ***Els miòcits cardíacs***

Els miòcits del miocardi són unes cèl·lules fusiformes amb una capacitat contràctil, estructura ramificada i el nucli situat al centre. En general, mesuren entre 50 i 100 µm de longitud i 14 µm de diàmetre, la membrana cel·lular s'anomena sarcolema, mentre que el citoplasma s'anomena sarcoplasma. Com una altra cèl·lula, els miòcits contenen orgànuls cel·lulars, concretament una alta concentració de mitocondris la qual cosa permet una ràpida obtenció d'energia i un aprofitament total de l'oxigen. Els miòcits també contenen unes fibres anomenades actina i miosina les quals els hi permetran la propietat de la contractilitat.

### ***Els fibroblasts***

Els fibroblasts són un tipus de cèl·lules que formen part del teixit connectiu. Són les cèl·lules més nombroses del cor, són actives i disposen d'una gran producció i secreció de proteïnes, factors de creixement i citocines<sup>11</sup>. Generen l'esquelet cardíac que aïlla elèctricament les aurícules dels ventricles, participen en el creixement dels miòcits i l'expansió de les cambres cardíques durant el desenvolupament. Els fibroblasts són morfològicament heterogenis ja que segons el lloc on es trobin i la seva activitat, la seva forma pot variar.

---

<sup>11</sup> Les citocines són un tipus de proteïnes o glucoproteïnes utilitzades àmpliament en la comunicació cel·lular.

Segons la seva activitat trobem que hi ha tres fenotips<sup>12</sup> cel·lulars: fibròcits, fibroblasts i miofibroblasts. Els fibròcits són cèl·lules que provenen del moll de l'os. Encara que són poc actives i perden la capacitat de dividir-se poden produir proteïnes de la matriu extracel·lular. Tendeixen a ser fusiformes amb poques prolongacions i amb el nucli cel·lular petit, allargat i dens. També cal remarcar que tot fibròcit es podrà convertir en fibroblasts sempre que la situació ho requereixi.

Pel que fa als fibroblasts aquests són el tipus més comú. Tenen la funció de sintetitzar totes les fibres del teixit connectiu i estan capacitats de migrar i proliferar durant els processos de cicatrització de ferides.

Per últim, els miofibroblasts són fibroblasts diferenciats amb forma de fus i amb propietats contràctils ben definides similars a les del múscul llis. Són cèl·lules no presents habitualment en la majoria de teixits i comunament formen una població inactiva de cèl·lules. Però quan es produeix una lesió del teixit, els miofibroblasts es tornen actius i comencen a proliferar per tal de reparar els danys ocasionats. Per tant, els miofibroblasts apareixen en la reparació, cicatrització, inflamació, embriogènesis i organogènesis.

---

<sup>12</sup> El fenotip és l'expressió del genotip modulada per la interacció amb el medi.

### ***La matriu extracel·lular***

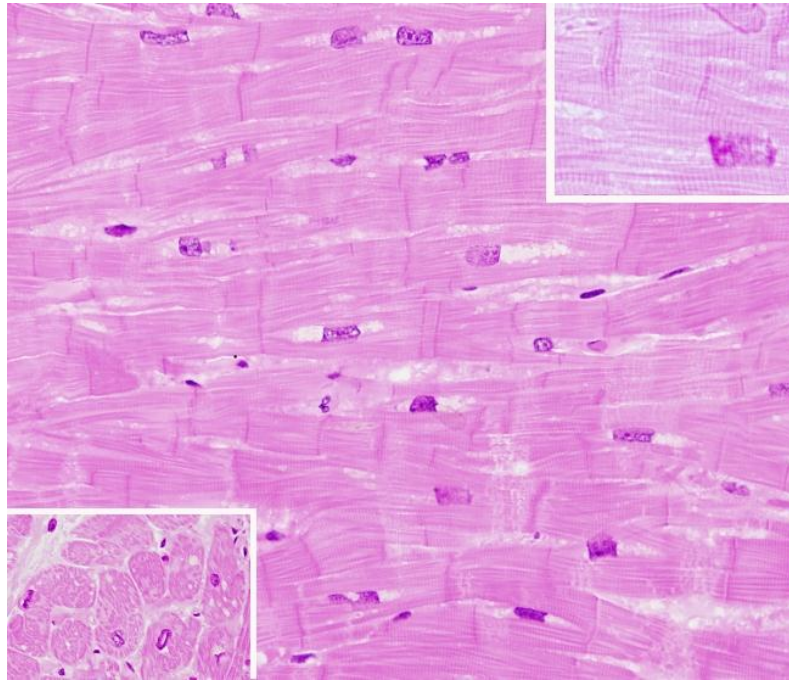
La matriu extracel·lular és el medi que es troba envoltant la membrana plasmàtica. Està formada per proteïnes fibroses, proteoglicans i glucoproteïnes estructurals.

Les proteïnes fibroses són aquelles que donen resistència a la cèl·lula davant d'esforços mecànics i una certa elasticitat. Un exemple seria el col·lagen, el qual dóna resistència a la cèl·lula envers els esforços mecànics, i l'elastina la qual acompanya al col·lagen i actua com a unió en vasos sanguinis o al teixit pulmonar.

Els proteoglicans són molècules complexes formades per disacàrids. Un exemple destacable seria l'àcid hialurònic, les variacions d'hidratació del qual fan que varin el grau de viscositat i la permeabilitat de la matriu.

Per últim, les glucoproteïnes estructurals són molècules formades per una proteïna unida a un o varis glúcids, simples o compostos. Es caracteritzen per formar una xarxa entre la matriu i la superfície cel·lular. Un exemple seria la fibronectina, la qual afavoreix la unió cel·lular.

La matriu extracel·lular del teixit cardíac principalment està formada per proteïnes fibroses, concretament pels col·làgens I i III, entre d'altres. Aquests mantenen l'equilibri estructural i sostenen la resta de components cel·lulars i no cel·lulars del teixit cardíac. Seran molt importants en el nostre estudi de la fibrosi.



*Figura 14: Cèl·lules del teixit cardíac*

## L'EXERCICI FÍSIC

El terme exercici es pot definir com el moviment corporal repetitiu, estructurat i planificat que es realitza per a mantenir o millorar un o més components de la forma física. Té com a resultat un augment del consum d'energia i un consum de calories.

Trobem dos variants d'exercici: l'exercici aeròbic i l'anaeròbic.

L'exercici aeròbic o també anomenat dinàmic està estretament relacionat amb la resistència aeròbica ja que el sistema encarregat de sintetitzar

L'ATP<sup>13</sup> rep la quantitat d'oxigen suficient per fer front a la demanda energètica de la persona. Aquest tipus d'activitat permet que l'individu pugui realitzar qualsevol tasca de baixa intensitat i de certa durada sense que comporti una sensació d'esforç o fatiga<sup>14</sup> gaire elevada. Per tant, aquelles activitats on l'oxigen és suficient per crear la major part de l'energia necessària com ara activitats amb intensitats insignificants, lleugeres o moderades, com per exemple caminar, formaran part de l'exercici o activitat aeròbica.

Pel que fa l'exercici anaeròbic o també anomenat estàtic està estretament relacionat amb la resistència anaeròbica ja que l'organisme no tindrà temps suficient per sintetitzar l'ATP a través de l'oxigen que rep per tal de fer front a la demanda energètica de la persona. Aquest tipus d'activitat permet que l'individu pugui realitzar qualsevol tasca de gran intensitat i curta durada fent que l'organisme obtingui l'energia del múscul en absència d'oxigen. A la llarga, aquesta activitat provoca en la persona una sensació de fatiga elevada. Per tant, aquelles activitats on l'oxigen és insuficient per crear la major part de l'energia necessària com ara activitats amb intensitats elevades, com per exemple aixecament de peses o fer un esprint, formaran part de l'exercici o activitat anaeròbica.

Cal remarcar que la majoria d'esports impliquen una barreja entre l'exercici aeròbic i l'exercici anaeròbic. La intensitat de l'activitat i la durada són els

---

<sup>13</sup> L'ATP o també anomenat Adenosinatrifosfat és una molècula rica en energia, fonamental en el metabolisme cel·lular.

<sup>14</sup> La fatiga és la sensació de falta d'energia, d'esgotament o de cansament.

paràmetres que determinen si l'exercici és lleuger-moderat o intens-extenuant i per tant, si serà un esforç dinàmic o estàtic.

### **L'esport és beneficiós pel cor**

Molts estudis científics demostren que l'activitat física disminueix la mortalitat cardiovascular i redueix els factors de risc com ara la diabetis, la hipertensió arterial o la hipercolesterolèmia i que, per tant, és beneficiós per la nostra salut i pel nostre cor. Tot i així, la pràctica d'esport d'alta intensitat de manera crònica, també s'ha relacionat amb l'aparició d'episodis cardíacs aguts i fins i tot, de mort sobtada en individus aparentment sans.

### **Adaptació a l'exercici: què és el cor d'atleta?**

Una activitat física intensa i regular provoca una sobrecàrrega de pressió i volum al cor que provoca una sèrie d'adaptacions conegudes com a *cor d'atleta*. Aquests canvis del cor són tant en la forma com en el sistema elèctric del cor, i varien segons l'esport que es practica.

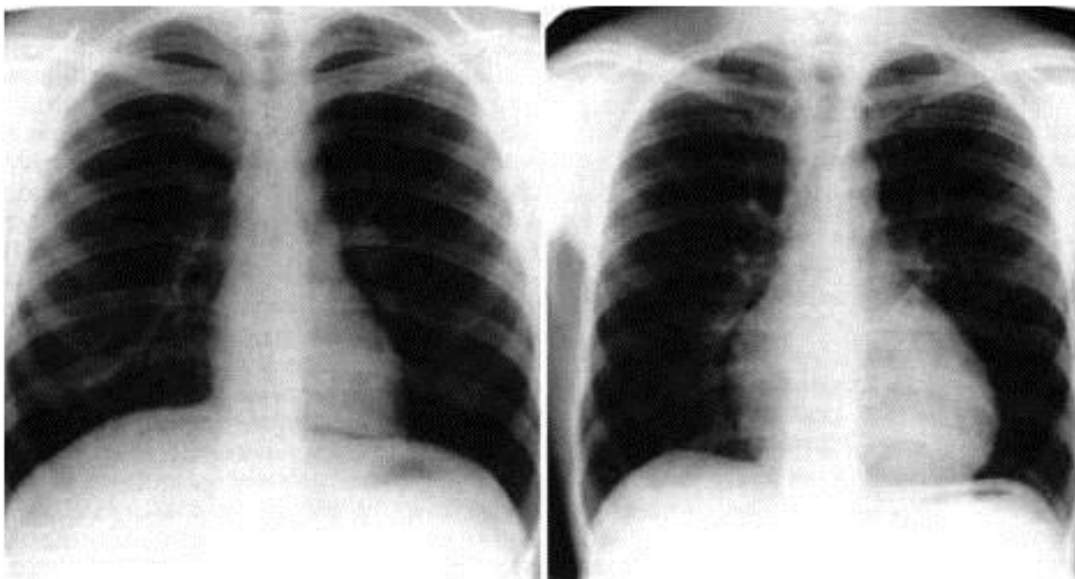
Un individu que practiqui exercici dinàmic o aeròbic presentarà un petit increment del gruix de les parets miocardiàques, conjuntament amb un notable increment en el diàmetre de les cavitats, s'anomenarà hipertròfia excèntrica. Concretament, aquest tipus d'hipertròfia es basa en la sobrecàrrega de volum de sang als ventricles a causa de l'increment del

retorn venós. Els ventricles s'adapten a la sobrecàrrega augmentant el diàmetre de les seves cavitats mitjançant el creixement longitudinal dels miòcits. En canvi, un individu que practiqui exercici estàtic i anaeròbic presentarà un gran augment del gruix de les parets miocardiàques, de manera que la relació paret-diàmetre de la cavitat s'acabarà modificant ja que el diàmetre de les cavitats no acostumarà a variar, i això s'anomenarà hipertròfia concèntrica. Concretament, aquest tipus d'hipertròfia es basa en una sobrecàrrega de pressió, això el que provoca és l'adaptació del múscul cardíac mitjançant el creixement transversal dels miòcits.

Com que la majoria de sistemes d'entrenament combinen la pràctica d'activitat dinàmica i estàtica, el cor d'atleta és la barreja entre la hipertròfia excèntrica i la concèntrica.

Generalitzant, el cor d'atleta es basa en què les quatre cavitats cardíques es fan més grans (dilatació) i les parets es fan més gruixudes (hipertròfia). Normalment totes les cavitats creixen de manera proporcional. El que també succeeix és que la freqüència cardíaca basal dels individus amb cor d'atleta disminueix, és a dir, la freqüència cardíaca en repòs d'una persona amb cor d'atleta sol ser de 40-60 batecs per minut, o fins hi tot més baix en casos excepcionals, en canvi, en una persona sedentària els valors solen ser de 70-80 batecs per minut.

Malgrat que aquests canvis són considerats reversibles i benignes, l'exercici d'alt nivell s'ha relacionat amb malalties com les arítmies ventriculars o la mort sobtada, ja que la hipertròfia i la dilatació afavoreixen els trastorns elèctrics i del ritme del cor. Una de les preguntes encara sense resposta és si aquesta adaptació aparentment fisiològica a llarg termini pot esdevenir patològica.



*Figura 15: Cor estàndard (esquerre) i cor d'atleta (dreta)*

### **La mort sobtada en esportistes**

La mort sobtada en esportistes joves, tot i ser relativament poc freqüent (0,5-3 per 100.000/any) és un esdeveniment que impacta i sovint sorprèn, perquè es tracta d'esportistes que suposadament són persones sanes.



Les causes més freqüents de mort sobtada en esportistes professionals i amateurs són la miocardiopatia hipertròfica, augment del gruix de les parets del cor, les anomalies coronàries, defectes en les artèries coronàries, i la displàsia aritmogènica del ventricle dret, és a dir, l'alteració del cor en què part del múscul es substitueix per teixit adipós.

## **PATOLOGIES CARDÍAQUES**

### **Hipertròfia cardíaca**

La hipertròfia cardíaca és un estat del cor que consisteix en un augment del volum dels cardiomiòcits sense que augmenti el nombre de cèl·lules. La hipertròfia es produeix a causa d'una sobrecàrrega crònica tant de pressió com de volum. És una resposta fisiològica a l'augment del treball cardíac, però al mateix temps és també una causa d'insuficiència cardíaca.

Trobem dos tipus d'hipertròfia, la fisiològica i la patològica. La primera és la que s'origina com a conseqüència a l'adaptació que fa el cor d'un esportista davant d'un entrenament regular i intens, per tant, diem que la hipertròfia fisiològica forma part del *cor d'atleta* que s'ha explicat anteriorment. En canvi, la hipertròfia patològica és la que s'observa en pacients amb hipertensió o lesions vasculars, i sol estar associada a fibrosi i disfunció cardíaca amb un augment de la mortalitat.

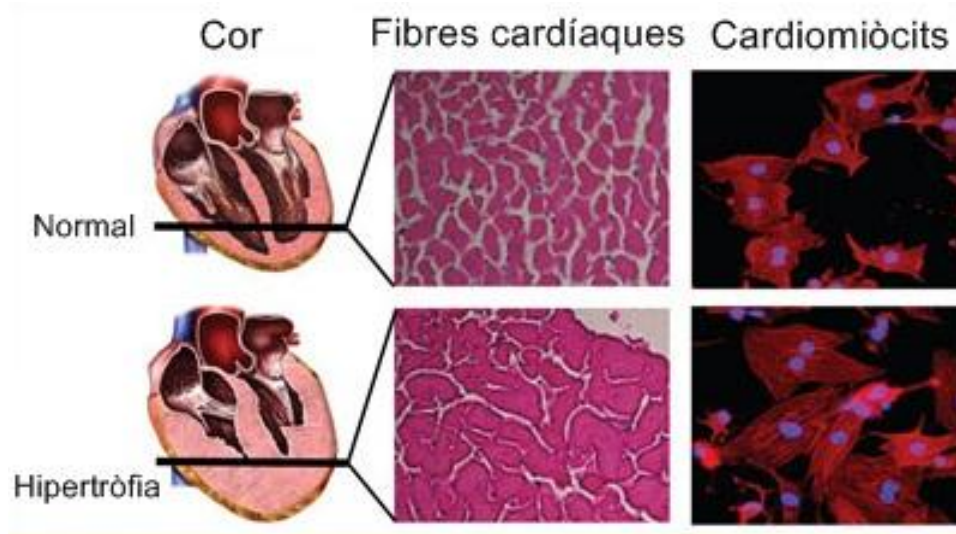


Figura 16: Hipertròfia cardíaca

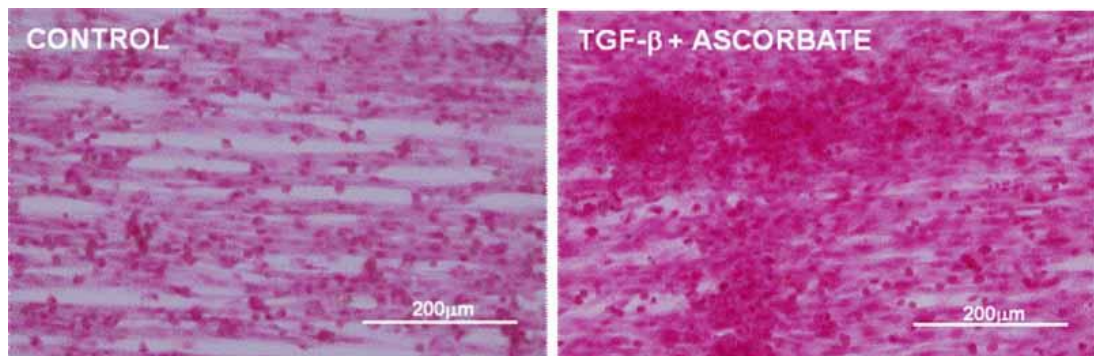
## **Fibrosi cardíaca**

Com s'ha dit anteriorment, un cor adult està format per diversos compostos cel·lulars com els miòcits i fibroblasts. Gràcies a aquest últim grup i conjuntament amb els miofibroblasts es pot afirmar que les fibres creades per aquests, el col·lagen I i III, són les més predominants en el múscul cardíac. Aquestes fibres, són les que aporten al cor rigidesa i resistència a la deformació.

La concentració de col·lagen I i III s'incrementa amb l'edat duent a la disfunció miocardiaca expressada per alteracions en la relaxació muscular. L'equilibri entre la síntesi i la degradació d'aquestes fibres es pot veure alterat per diverses patologies, portant així a la fibrosi miocardiaca.

Per tant, es parla de fibrosi miocardiàca quan hi ha un anormal increment de fibres de col·lagen les quals afecten a la funció ventricular, tant de manera estructural com pel que fa al deterior funcional.

S'observa fibrosi miocardiàca en patologies com la hipertensió arterial i la insuficiència cardíaca.



*Figura 17: Fibrosi cardíaca*

## **Arítmies cardíques**

Les arítmies cardíques són les alteracions del ritme del cor i les alteracions en la generació i transmissió de l'estímul elèctric del cor. Les arítmies cardíques es poden veure afavorides per altres patologies com ara la hipertròfia i la fibrosi cardíaca.

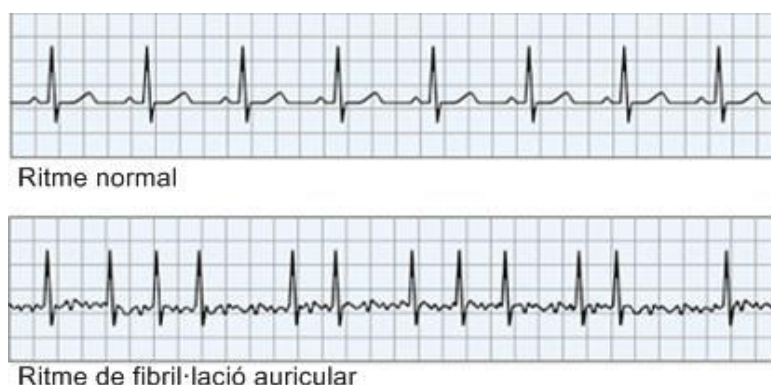
Aquestes alteracions es poden visualitzar mitjançant un electrocardiograma (ECG). L'ECG mostra les diferències de potencial elèctric (mV) produït per l'excitació cardíaca. Aquesta prova clínica ens aporta informació sobre la

posició del cor, sobre la freqüència i ritme cardíac i sobre la transmissió dels impulsos, la desaparició de l'excitació i les seves alteracions, però no ens informa sobre la contracció i l'acció de la "bomba" del cor.

### ***Fibril·lació auricular***

La fibril·lació auricular (FA) és l'arítmia cardíaca més freqüent en la pràctica clínica. Es caracteritza per batecs descoordinats i desorganitzats, produint un ritme cardíac ràpid i irregular. La prevalença estimada de la FA és del 0,4-1% en la població general, però augmenta amb l'edat fins al 8% en persones de 80 anys o més.

L'any 1998 es va descriure per primera vegada la correlació entre la pràctica d'esport intens de forma crònica i l'aparició de FA. S'ha observat que la prevalença de FA en atletes que practiquen esports intensos i de resistència és tres vegades més freqüent que en individus control de la mateixa edat de la població general.



*Figura 18: Ritme cardíac amb fibril·lació auricular*

# **MÈTODE**

# **EXPERIMENTAL**

El nostre projecte es basa en l'estudi de les conseqüències que té l'exercici físic intens i regular en el múscul cardíac.

Per dur a terme aquest estudi s'ha utilitzat un model animal de rata de laboratori, concretament la soca Wistar (Rattus norvegicus).

El mètode experimental consisteix en entrenar un grup de rates, concretament 8 rates, durant 1 hora al dia a una velocitat constant de 60cm/s, 5 dies a la setmana durant 8 setmanes. Un grup de rates sedentàries serveix com a control, concretament 5 rates.

S'ha estimat que aquest programa equival a 5 anys d'entrenament diari en humans.

## **INICI DEL PROJECTE**

En el nostre estudi s'ha treballat amb 14 rates mascle (Rattus norvegicus) de la soca Wistar de quatre setmanes d'edat i un pes corporal aproximat entre 100-125 g al inici dels experiments. Els animals es van situar en les seves gàbies corresponents a condicions ambientals constants de temperatura 22-24 °C i d'humitat del 60-65 % amb cicles de claror i fosc de 12 hores. Les rates es van alimentar a partir de pinso A04 i aigua de la xarxa de Barcelona.

Per poder sotmetre les rates a exercici intens i regular es va utilitzar una cinta corredora per a petits animals. Aquest aparell està format per una cinta rodant de velocitat i pendent regulables, construït amb materials que

garanteixen la comoditat dels animals, un bon rendiment i fàcil manteniment. També, amb l'objectiu de que els animals corrin, al final de la cinta es troba una reixa que subministra petites descàrregues elèctriques quan es troba en contacte amb el cos (potes, cua, ...) de l'animal.

Com s'ha dit anteriorment, les 9 rates van córrer 1 hora al dia a una velocitat de 60 cm/s, 5 dies a la setmana durant 8 setmanes. Primerament, es va establir un període d'adaptació de dues setmanes, consistent en una primera sessió de 10 min a 25 cm/s fins arribar a 60 min a una velocitat de 60 cm/s.

En l'entrenament, hi va haver una rata que no responia, és a dir, que no corria i per tant es va excloure del projecte per tal de no falsejar resultats. D'aquesta manera, es va acabar treballant amb 8 rates esportistes enlloc de 9.

Un cop transcorregut el temps d'estudi, 8 setmanes, 72 hores després de l'última sessió d'entrenament, les 13 rates van ser sacrificades mitjançant una injecció intraperitoneal de pentobarbital sòdic a una dosi de 100 mg/kg.

Tot seguit, es va procedir a la seva exsanguinació i després a l'extracció dels cors. Aquests van ser pesats i es van tractar per a la inclusió de parafina.



*Figura 19: Rates Wistar corrent a la cinta*

## **PROCÉS DE TRACTAMENT DEL COR PER AL SEU ESTUDI**

### **Perfusió**

Un cop ja es té l'òrgan desitjat, en aquest cas el cor, primerament el que s'ha de fer és la perfusió. Aquesta tècnica consisteix en netejar l'interior del cor amb sèrum fisiològic.

### **Fixació**

Tot seguit, es realitza la tècnica de fixació la qual consisteix en introduir el teixit a l'interior d'un recipient amb formol<sup>15</sup> i que resti en ell 24 hores.

---

<sup>15</sup> El formol és un líquid incolor d'olor penetrant el qual s'utilitza per conservar matèria orgànica.



Aquesta tècnica té l'objectiu d'aturar el procés de degradació i conservar l'arquitectura del teixit.

Troblem dos tipus de fixació:

- Fixació per mètodes físics: Congelació, dessecació,...
- Fixació per mètodes químics: Formol

### **Rentats**

En aquest punt el que succeeix és que el teixit fixat es submergeix en alcohol de 70° o aigua, en aquest cas va ser alcohol, per tal de limitar el temps de contacte entre el fixador i el teixit.

### **Deshidratació**

Com el seu nom indica, en aquest apartat l'objectiu és eliminar l'aigua de la mostra de manera completa. Es fa a terme mitjançant agents o reactius deshidratants com per exemple l'alcohol etílic.

### **Aclariment**

L'objectiu d'aquesta tècnica és substituir l'agent deshidratant per un de miscible en el medi d'inclusió, concretament, Xilol.

### **Imbibició**

En aquest punt el que es pretén fer és omplir els espais extracel·lulars i intracel·lulars, que contenen aigua, d'un producte sòlid i perdurable.

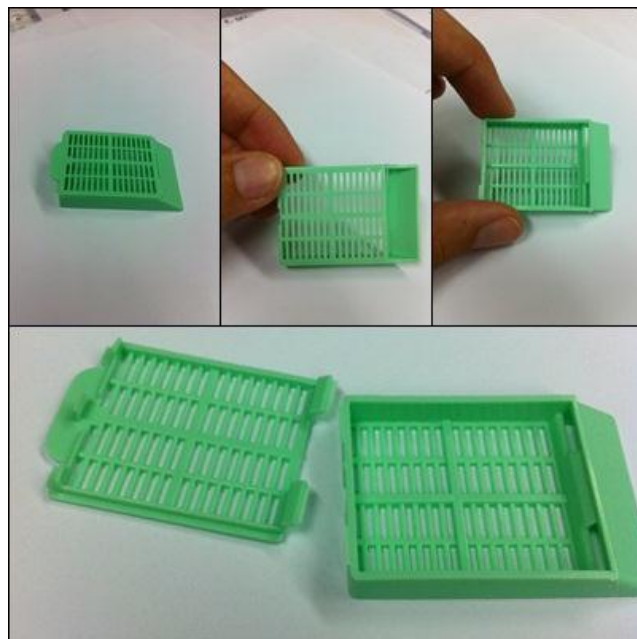
Es realitza a partir de banys successius de parafina per tal que entri a l'interior del teixit i proporcioni consistència, homogeneïtat, elasticitat i duresa a aquest.

### **Inclusió**

Per últim, per poder tallar la mostra al micròtom cal que aquesta tingui una consistència homogènia, elàstica i dura. Per tant, aquest últim pas té l'objectiu de fer blocs sòlids, homogenis i durs amb el teixit i la parafina.

El que fa falta per realitzar aquesta tècnica és una placa termostàtica, un dispensador de parafina i una placa freda.

Primer de tot, s'ha de col·locar la mostra en una espècie de caixeta anomenada casset.



*Figura 20: Cassets*

Seguidament, es col·loca el casset amb la mostra a la placa termostàtica on s'hi troba el fluid de parafina a una temperatura mitjana de 70 °C.



*Figura 21: Placa termostàtica amb parafina líquida*

A continuació, s'obra el casset i es llença la tapa de manera que la mostra amb parafina quedi al descobert a la part frontal.

Amb unes pinces, s'agafa la mostra i es col·loca a la part posterior del casset.

Tot seguit, s'agafa un motlle metàl·lic preescalfat a 50 °C i s'omple amb el dispensador de parafina, i seguidament s'hi col·loca el casset amb la mostra.



Figura 22: Dispensador de parafina

Finalment, es deixa refredar i congelar el conjunt a la placa freda a una temperatura mitjana de -13 °C.



Figura 23: Placa freda

## **Microtomia**

Un cop es disposa dels blocs de parafina amb la mostra en el seu interior, es procedeix a tallar-ho per tal de poder realitzar el seu posterior estudi.



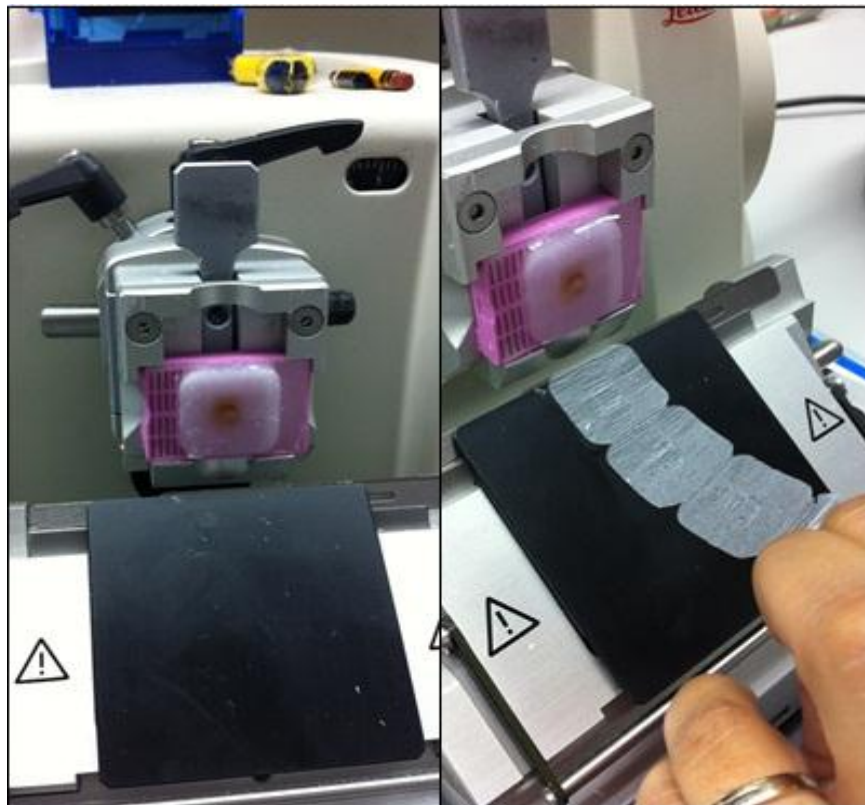
*Figura 24: Casset de parafina amb la mostra de teixit en el seu interior*

En aquest punt s'utilitza el micròtom, un aparell que té l'objectiu de realitzar talls del bloc al gruix escollit, en el nostre cas 4  $\mu\text{m}$ .

El casset amb el bloc de parafina es col·loca en el porta blocs, s'ajusta el gruix dels talls i es procedeix a realitzar el tall amb la ganiveta.



*Figura 25: Micròtom*



*Figura 26: Talls amb el micròtom*

Un cop s'han obtingut els talls de 4  $\mu\text{m}$  de gruix es col·loquen en parafina a 47 °C per tal que s'adhereixi bé el conjunt i tot seguit es dipositen en un portaobjectes. Per últim, es col·loquen sobre una superfície o planxa calenta a 37 °C per tal que s'assequi el conjunt.



*Figura 27: Recipient amb parafina calenta i planxa calenta*

Finalment, un cop realitzats tots aquests passos s'obtenen diversos portaobjectes amb talls del cor a diverses alçades per tal de realitzar diferents experiments.

## ESTUDI DEL COR

### ***Tinció amb Hematoxilina-Eosina***

#### Objectius

L'objectiu d'aquesta pràctica és tenyir el teixit connectiu per tal de visualitzar i poder distingir el nucli i el citoplasma de les diferents cèl·lules cardíques. Com que l'Hematoxilina és una base tindrà afinitat pels àcids i per tant, pels nuclis de les cèl·lules a causa de la presència de l'àcid nucleic. Aquests quedaran tenyits d'un color morat. Pel que fa l'Eosina, al ser un àcid tindrà afinitat per les bases i per tant pels citoplasmes que quedaran tenyits d'un color rosat.

#### Material i aparells

- Cubetes de vidre per la tinció i els rentats
- Caixa per a la tinció
- Pipetes Pasteur
- Cobreobjectes

#### Reactius

- Hematoxilina



- Eosina
- Àcid acètic
- DPX (medi de muntatge)
- Xilol
- Alcohol (Absolut > 70°)

### Procediment

En primer lloc, cal col·locar els portaobjectes amb els quals es vulgui treballar en la caixa o cistella de vidre. Tot seguit, un cop es tenen els portaobjectes amb les mostres de cor determinades cal col·locar aquests en una estufa a 37 °C “*overnight*”, és a dir, durant tota la nit. Al dia següent, caldrà pujar la temperatura fins a 65 °C durant 15 min ja que d'aquesta manera la parafina es podrà dissoldre millor. Seguidament, es procedirà a desparafinar i hidratar les mostres. Primer de tot, cal dipositar la cistella de vidre en una cubeta de vidre on s'hi situarà el Xilol, un dissolvent orgànic capaç de dissoldre parafina. Aquesta acció es repetirà 4 vegades durant 10 min cada vegada, sempre canviant de cubeta de vidre on en la primera es situarà el Xilol I, en la segona el Xilol II, i d'aquesta manera fins arribar al Xilol IV. A continuació, cal col·locar la cistella de vidre en l'alcohol absolut, llavors en l'alcohol de 96°, 80° i finalment 70°, 5 min en cada cubeta de vidre. I per últim, cal dipositar la cistella de vidre en aigua oxigenada.

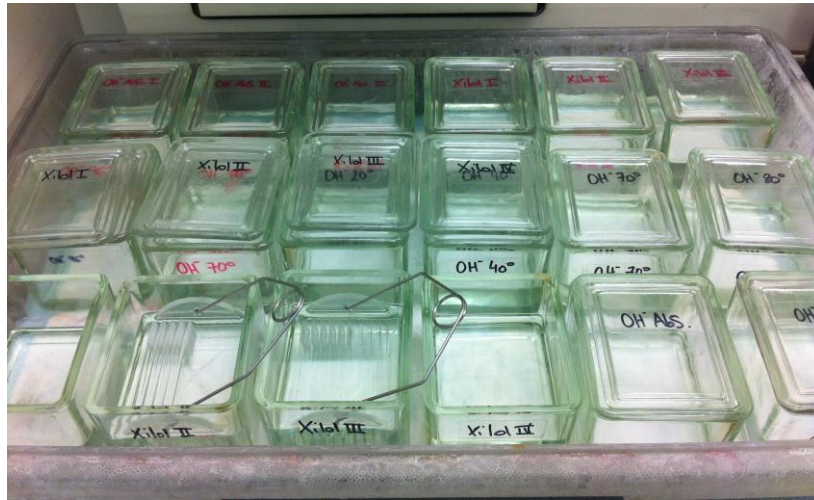


Figura 28: Cubetes de vidre amb diferents dissolvents

Un cop desparafinats i hidratats els portaobjectes cal submergir en Hematoxilina I durant 10 min per tal que es teneixin els nuclis de les cèl·lules d'un color morat.



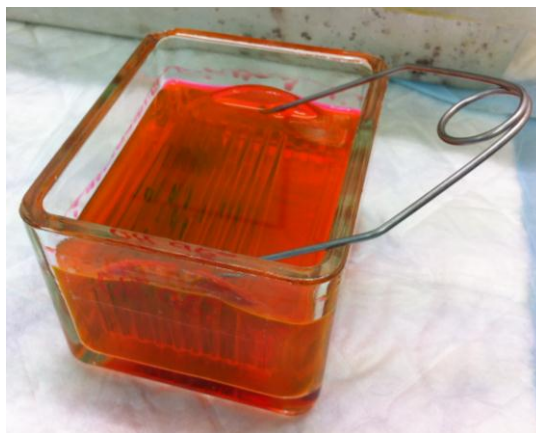
Figura 29: Tinció amb Hematoxilina I

Llavors, per netejar les restes d'Hematoxilina I dels portaobjectes, cal col·locar la cistella de vidre en aigua corrent on canviarà el pH de les mostres. A continuació, cal dipositar la cistella de vidre amb els portaobjectes en àcid acètic a l' 1% durant 10 min i tot seguit, en aigua corrent.



*Figura 30: Netejant les restes de Hematoxilina I*

Un cop realitzats aquests passos, cal submergir el conjunt en Eosina durant 4 minuts per tal que es teneixin els citoplasmes de les cèl·lules d'un color rosat.



*Figura 31: Tinció amb Eosina*

Tot seguit, es procedirà a realitzar la deshidratació, aclariment i muntatge (DAM) de les mostres. Per realitzar la deshidratació primer cal posar i treure la cistella de vidre en una cubeta amb alcohol 96° 3 cops i després realitzar el mateix però en una cubeta amb alcohol absolut. Pel que fa l'aclariment, cal submergir el conjunt en Xilol I, Xilol II i Xilol III 10 min en les seves respectives cubetes i seguidament procedir amb el muntatge. Per dur a terme aquest, cal DPX, un medi de muntatge sense aigua dissolt en Xilol, que es col·loca en el cobreobjectes i aquest es diposita sobre el portaobjectes, allà on es situa la mostra, i es deixa assecar 1 o 2 dies.

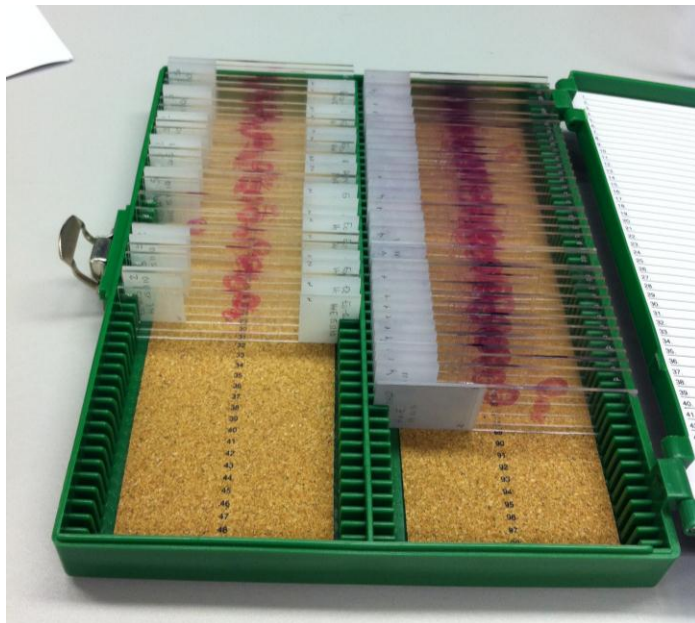


*Figura 32: Procés de deshidratació i aclariment*



*Figura 33: Procés de Muntatge amb DPX*

Finalment, ja es disposarà de la tinció on es podrà distingir perfectament els nuclis i els citoplasmes de les cèl·lules del miocardi.



*Figura 34: Mostres realitzades amb tinció d'Hematoxilina I i Eosina*

## **Estudi de la fibrosi miocardiàca**

### ***Tinció amb vermell picrosirius***

#### Objectius

L'objectiu d'aquesta pràctica és tenyir el teixit connectiu de les cèl·lules per tal d'estudiar la fibrosi miocardiàca. Gràcies a aquesta tinció s'observa el col·lagen del teixit i depenent de la quantitat d'aquesta proteïna es podrà determinar si hi ha o no fibrosi miocardiàca.

#### Material i aparells

- Cubetes de vidre per la tinció i els rentats
- Caixa per a la tinció
- Pipetes Pasteur
- Cobreobjectes

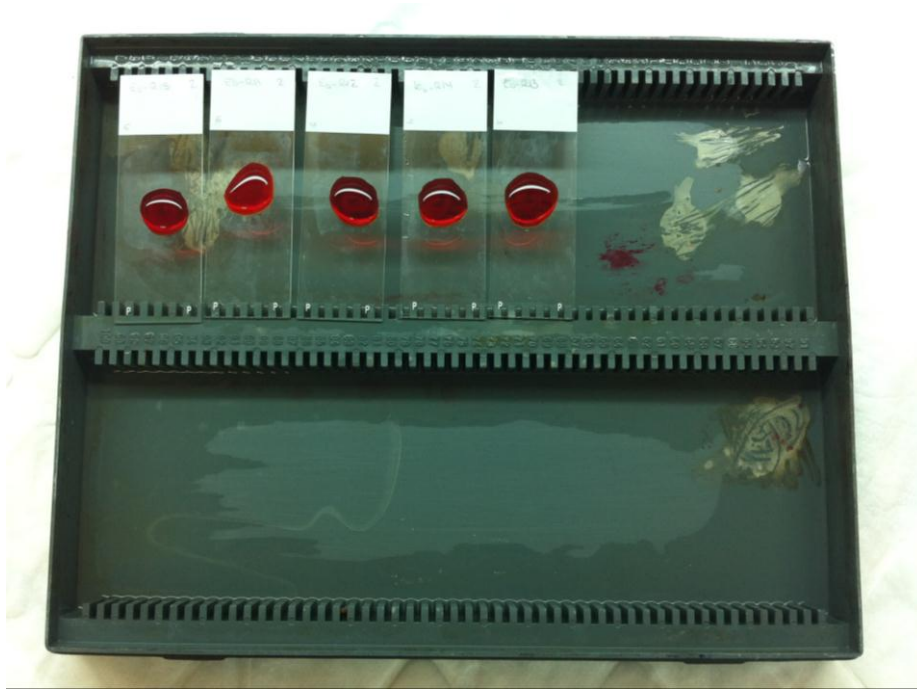
#### Reactius

- Àcid Fosfomolibdic hidratat
- Àcid Píric
- Àcid Clorhídric 37 %

- Direct Red 80
- Alcohol ( d'absolut fins a 70°)
- Xilol
- DPX (medi de muntatge)

### Procediment

En primer lloc, cal desparafinar i hidratar les mostres situades en el portaobjectes. Per dur a terme aquest punt cal realitzar el mateix procediment que s'ha seguit en la Tinció amb Hematoxilina-Eosina. Seguidament, cal submergir durant 2 min la cistella de vidre en una cubeta amb àcid fosfomolibdic hidratat, un cop realitzada aquesta acció cal col·locar la cistella en aigua destil·lada. Llavors, mitjançant una pipeta cal dipositar una gota de vermell picrosiriú sobre la mostra i esperar 110 min sense tocar-ho ja que ha d'estar saturat. Un cop passats els 110 min, cal submergir la cistella en aigua destil·lada i tot seguit en àcid clorhídric 0'01M durant 2 min. A continuació, cal deixar-ho en alcohol 75° durant 45 s i finalment cal deshidratar començant per l'alcohol absolut i finalitzant per l'alcohol 70°, 5 min en cada cubeta, i un cop passat pels diferents tipus d'alcohol cal acabar submergint durant 10 min en cada cubeta amb el seu Xilol corresponent (I, II, III, IV).



*Figura 35: Mostres banyades en vermell picosirius*

### ***Quantificació de col·lagen I i col·lagen III***

Quan es parla de quantificació de col·lagen, fa referència a saber quin % de col·lagen té el teixit estudiat ja que depenent del valor que surti es podrà determinar si hi ha fibrosi miocardiàca o no. Per aquest estudi, tan sols es treballarà amb el teixit del ventricle dret ja que és el que té les parets més fines i a causa d'això el múscul pateix més la càrrega de volum de sang i per tant, és la cavitat que pateix més canvis a nivell de fibrosi i remodelatge.



## Procediment

Primer de tot, cal agafar els 13 portaobjectes. Cada portaobjectes correspon a una rata, que prèviament ha estat tenyit amb vermell picosirius. Un cop ja estan en disposició, com que se sap quina rata és esportista i quina no ho és s'atribuirà a cada rata un número a l'atzar i s'iniciarà tot el procés utilitzant el nou codi per tal de disminuir el grau de subjectivitat.

|                   | Número |      |
|-------------------|--------|------|
|                   | Rata   | CODI |
| <b>Exercici</b>   | 1      | 6    |
| <b>Sedentària</b> | 2      | 11   |
| <b>Exercici</b>   | 3      | 9    |
| <b>Exercici</b>   | 4      | 10   |
| <b>Exercici</b>   | 5      | 4    |
| <b>Exercici</b>   | 6      | 3    |
| <b>Exercici</b>   | 7      | 12   |
| <b>Exercici</b>   | 8      | 2    |
| <b>Exercici</b>   | 9      | 5    |
| <b>Sedentària</b> | 10     | 1    |
| <b>Sedentària</b> | 11     | 7    |
| <b>Sedentària</b> | 12     | 13   |
| <b>Sedentària</b> | 13     | 8    |

*Figura 36: Taula de Codi*

A continuació, cal agafar el portaobjectes número 1 (que no vol dir que sigui la rata 1 ja que com s'ha dit, s'està utilitzant el nou codi) i cal col·locar-lo al microscopi òptic amb l'augment 4x. Tot seguit cal obrir el programa que permetrà realitzar diferents fotos del ventricle dret i a partir d'aquestes, iniciar la quantificació. Aquest programa s'anomena *analySIS* i s'utilitza per quantificar els diferents paràmetres d'una imatge anatòmica.

Per començar amb el procés, primer de tot cal clissar a Image 1.

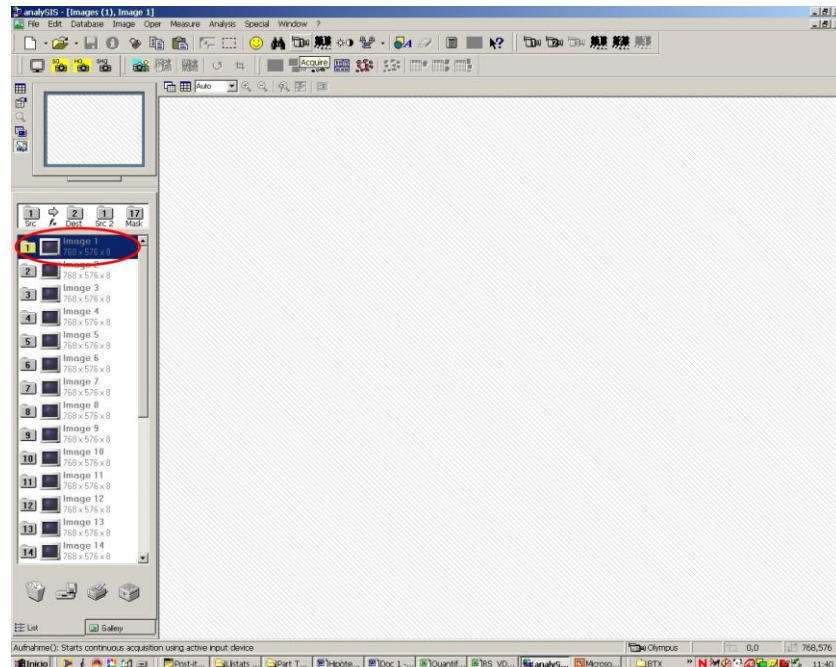


Figura 37: Programa *analySIS* (Image 1)

Tot seguit, cal clissar al botó de la barra superior on diu Image > Set Magnification, per tal de definir l'augment del microscopi. A continuació s'obrirà una finestra on indicarà quin augment és el que es vol utilitzar. En aquest cas, 4x.

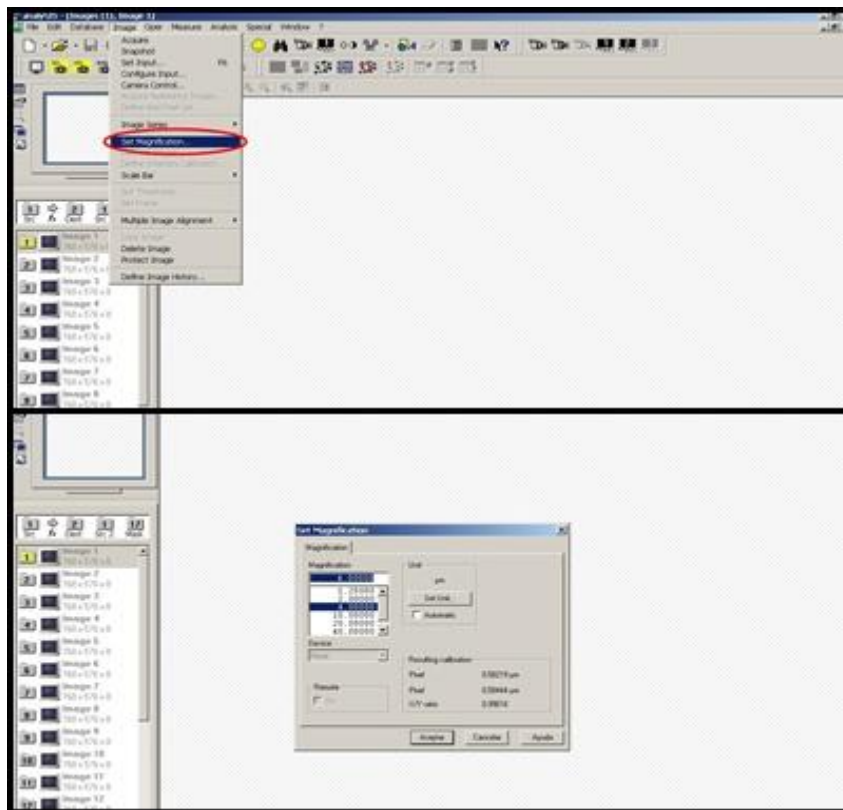


Figura 38: Programa analyzeS (Set Magnification)

Un cop ja s'ha seleccionat els augments del microscopi, cal procedir a clissar el botó de Acquire i tot seguit cal observar com apareix a la pantalla la imatge de la mostra que s'observa en el microscopi.

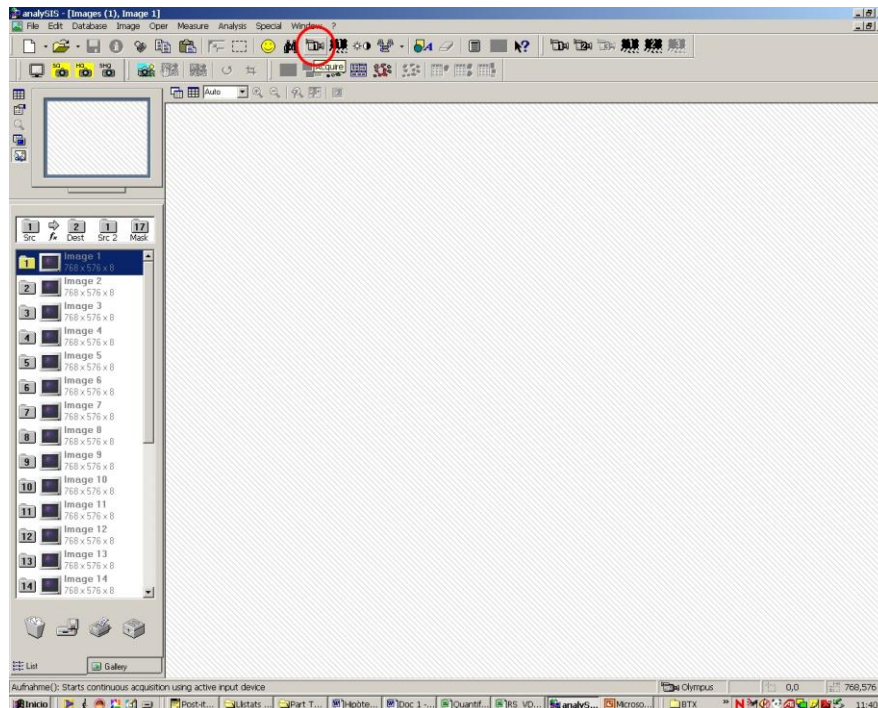


Figura 39: Programa analySIS (Acquire)

Quan ja es disposa de la imatge en la pantalla, cal clissar el botó auto-exposure per tal de regular l'exposició de la imatge. Seguidament, cal acabar d'enfocar la imatge amb el macromètric i micromètric del microscopi. Cal desclissar el botó auto-exposure i per últim, és necessari regular manualment l'exposició amb els botons + o -.

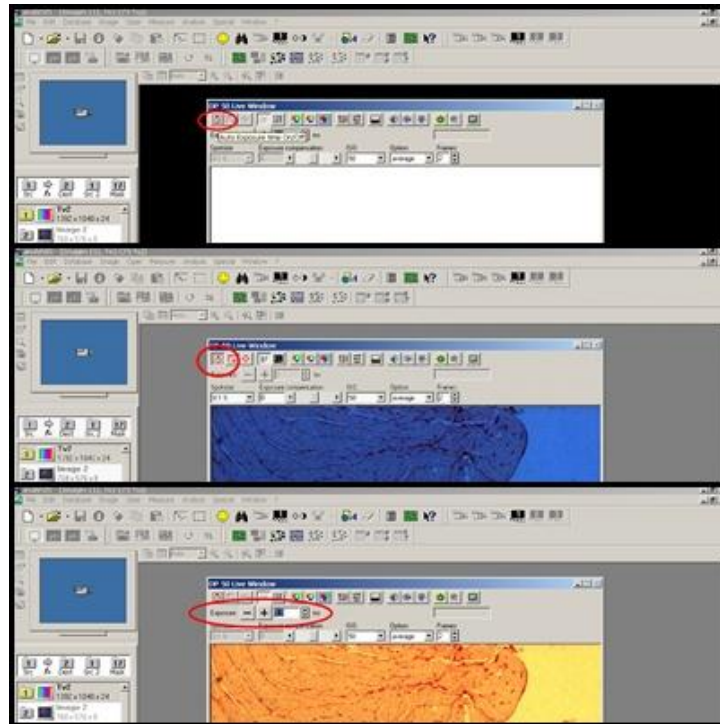


Figura 40: Programa analyzeSIS (Auto-exposure)

A continuació, cal clissar el botó White Balance on ROI per indicar el blanc de fora la mostra i tot seguit, cal clissar el botó del costat, One Push White Balance on Entire Image, per indicar el blanc en tota la imatge.

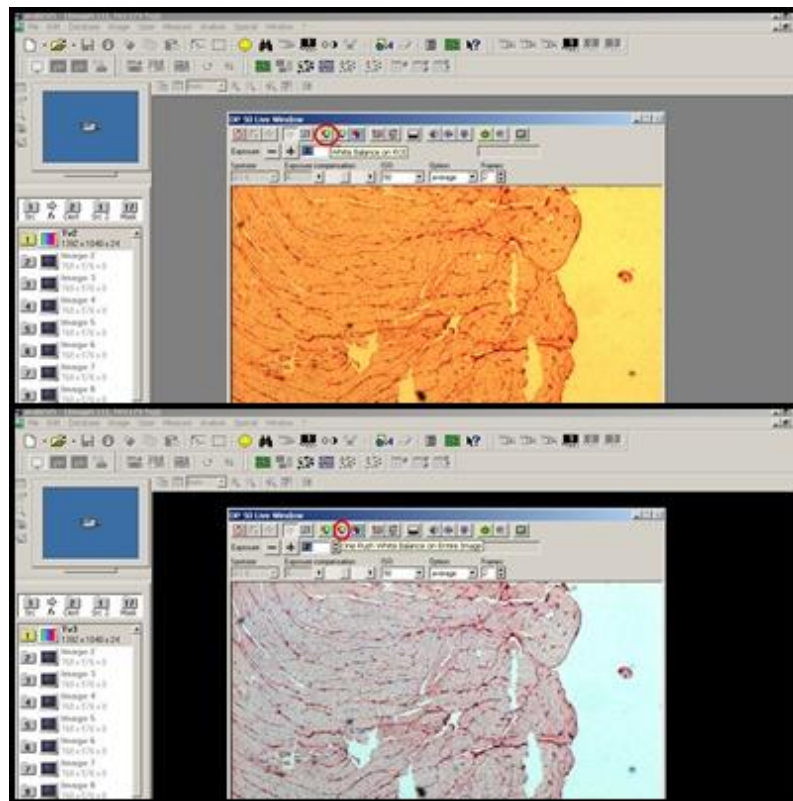


Figura 41: Programa analyzeSIS (White Balance on ROI i One Push White Balance on Entire Image)

Finalment, cal moure la platina del microscopi per tal de localitzar la zona d'interès, és a dir, el ventricle dret, tot i que al utilitzar un augment de 4x s'haurà de realitzar al voltant d'unes 5 fotos per aconseguir observar tot el ventricle dret. Per últim, cal clissar Snap Shot per tal de fer la fotografia.

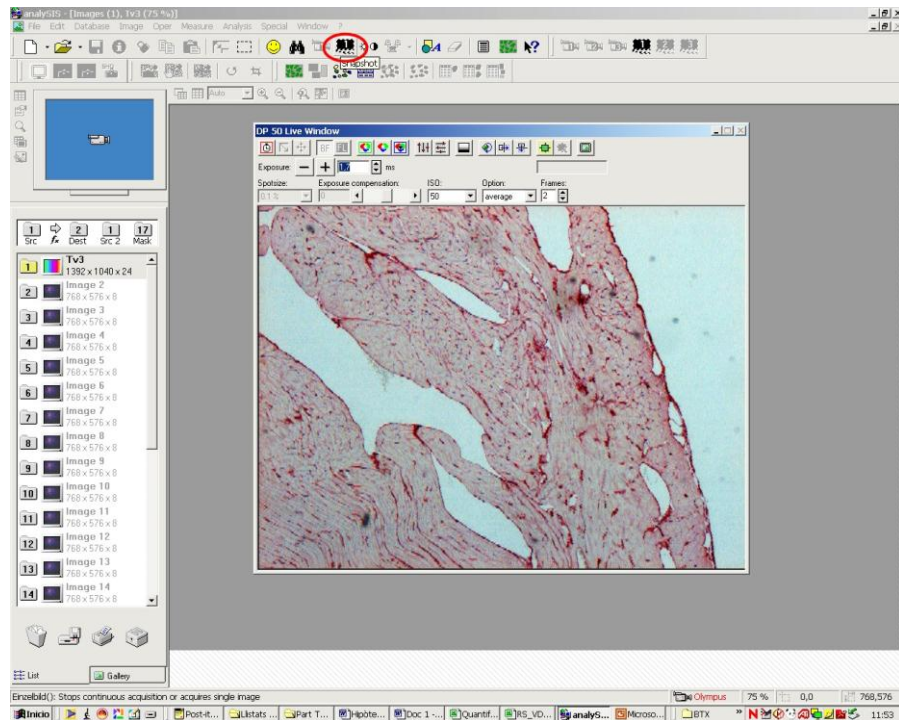


Figura 42: Programa *analySIS* (Snap Shot)

Tots aquests passos es repetiran en cada rata, fins arribar a la rata 13.

Un cop es tenen totes les fotos necessàries per visualitzar els ventricles drets de cada mostra, s'inicia la quantificació.

La quantificació de col·lagen I i III es realitza amb el programa *analySIS*, a l'igual que les fotografies.

En primer lloc, per començar a quantificar cal clissar a Image 1, com en el cas anterior, i obrir la fotografia determinada de la rata 1 (amb el nou codi).

Tot seguit cal clissar al botó Image > Set Magnification, situat a la barra superior. I en allà cal determinar els augments del microscopi, concretament 4x.

A continuació, cal clissar el botó Analysis > Define ROIs i tot seguit cal clissar Freehand Polygon. Això el que permetrà serà seleccionar la regió d'interès, és a dir, anar resseguint les zones en les quals es vol estudiar el col·lagen. Aquestes zones són totes les que pertanyen al ventricle dret exceptuant el col·lagen al voltant dels vasos, el col·lagen perivascular, i de l'epicardi. Un cop s'acaba de resseguir la zona d'interès cal clissar el botó de la dreta del ratolí, per tal de senyalar que s'ha finalitzat la selecció.

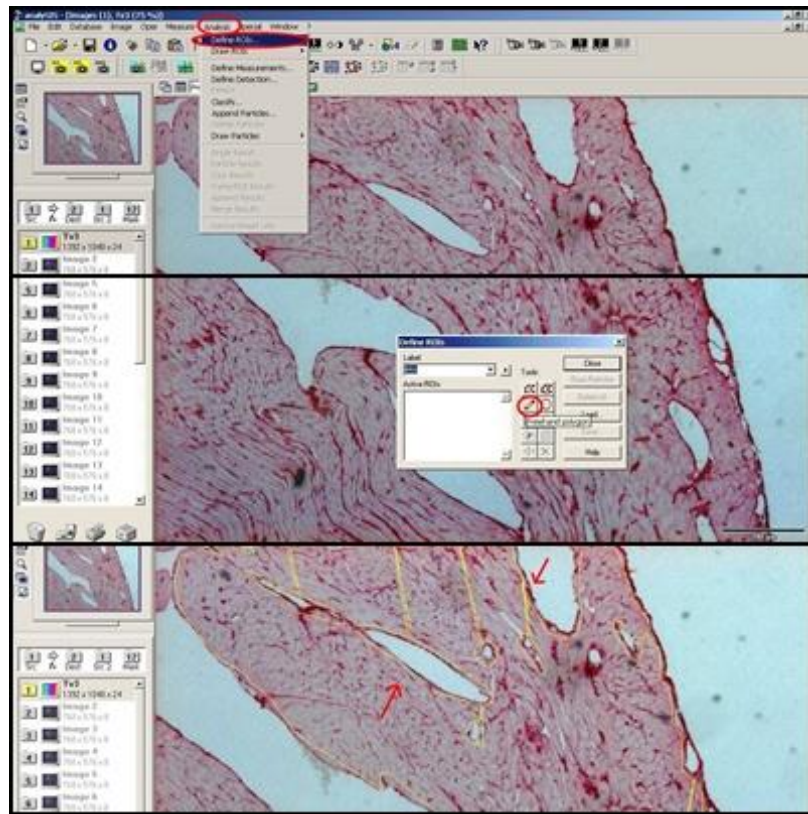


Figura 43: Programa analyzeSIS (Define ROIs)

Seguidament cal clissar Analysis > Detect i observar com en la imatge apareixen taques de color verd llima. Aquest verd no és si més no el col·lagen que té el teixit. A continuació, cal definir el llindar i per tant, cal clissar Image > Set Color Threshold. S'observa com s'obre una finestra on



diu Red, Green i Blue. Tant el Red com el Blue el valor que ha de marcar sempre és 255, en canvi, el verd, que és el col·lagen, s'ha de triar segons el criteri de cadascú. Aquí és on apareix la subjectivitat ja que cada vegada que el número en Green sigui major, la superfície de col·lagen serà major, i el contrari, si el número és menor. Per tant, s'ha de trobar amb el criteri propi l'equilibri, un número que no sigui ni poc ni massa i que s'ajusti de la millor manera possible a la quantitat real de col·lagen.

Per aquest fet de la subjectivitat es va realitzar el codi, ja que el subconscient de cadascú si sap que la mostra és d'una rata esportista podria tendir a marcar un número major en Green que no seria l'adequat, i si fos sedentària el contrari.

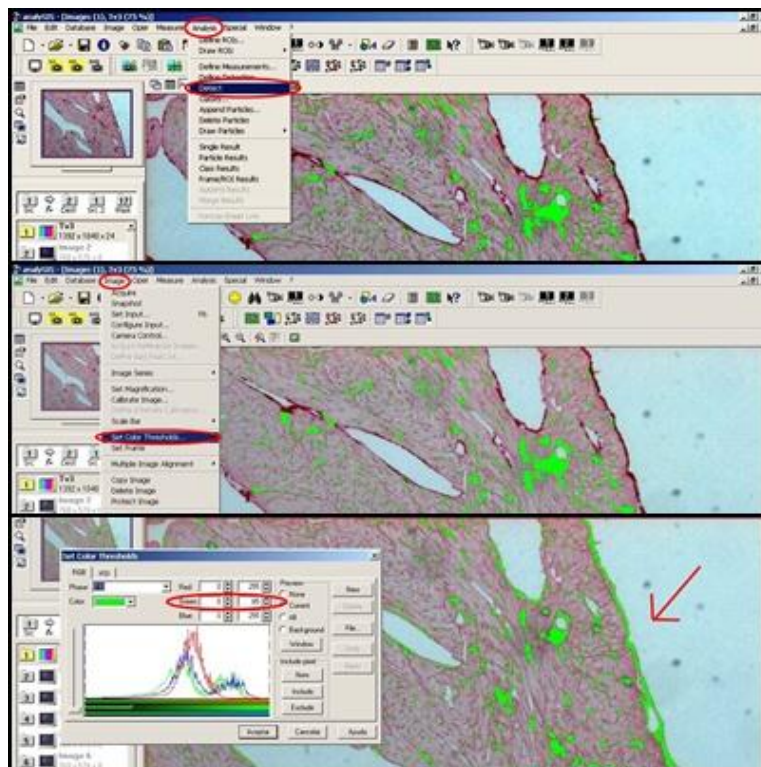


Figura 44: Programa analyzeSIS (Set Color Threshold)



## ***Taules de resultats***

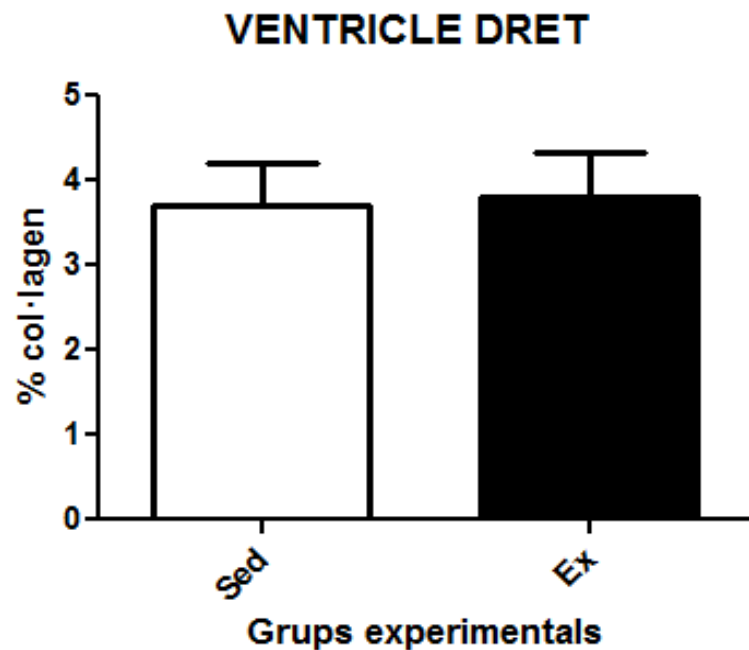
### Rates exercici

| <b>Número de rata</b> | <b>Codi</b>    | <b>% Col·lagen</b> |
|-----------------------|----------------|--------------------|
| 1                     | 6              | 3,990564667        |
| 3                     | 9              | 4,6378837943       |
| 4                     | 10             | 3,188554572        |
| 5                     | 4              | 2,245851254        |
| 6                     | 3              | 3,880821901        |
| 7                     | 12             | 2,971828886        |
| 8                     | 2              | 2,497225748        |
| 9                     | 5              | 6,940319723        |
|                       | <b>Mitjana</b> | <b>3,79412559</b>  |

Rates sedentàries

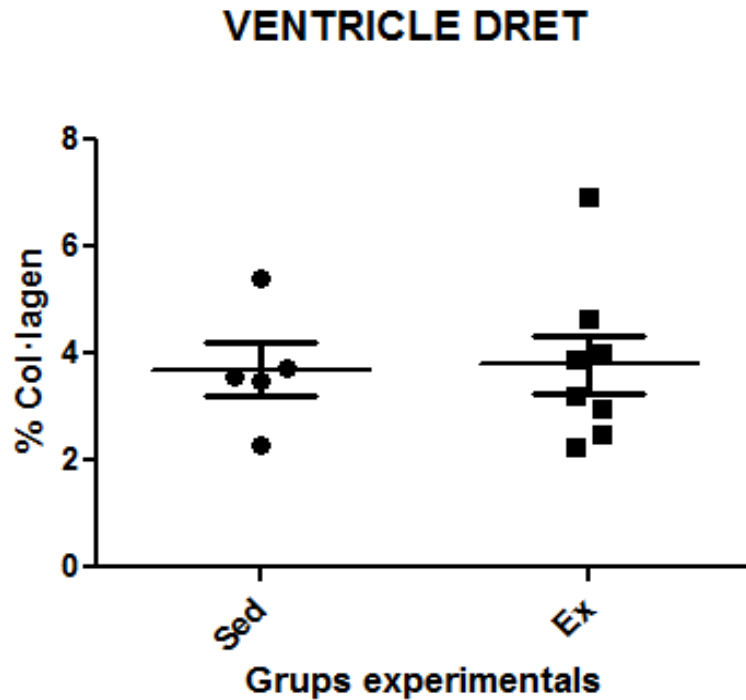
| <b>Número de rata</b> | <b>Codi</b>    | <b>% Col·lagen</b> |
|-----------------------|----------------|--------------------|
| 2                     | 11             | 3,490326523        |
| 10                    | 1              | 5,400658913        |
| 11                    | 7              | 2,279782028        |
| 13                    | 13             | 3,586632518        |
| 13                    | 8              | 3,717721345        |
|                       | <b>Mitjana</b> | <b>3,695024266</b> |

## Gràfics



A l'hora de fer més visible els resultats obtinguts del % de col·lagen del ventricle dret de les mostres de cor de les diferents rates, s'ha realitzat un gràfic de barres i un gràfic de diagrama de punts.

Amb el primer gràfic el que es pretén observar és la mitjana de % de col·lagen de les rates sedentàries, que com es pot apreciar és de 3,69, i també el de les rates que han practicat exercici que és un valor de 3,79. En aquest cas la diferència és mínima, d'un 0,1. Aquest gràfic també ens permet observar que el marge d'error es prou gran.



Pel que fa el gràfic de diagrama de punts, aquest ens possibilita observar cadascun dels valors de col·lagen que té cada rata. Pel que fa al grup de les sedentàries observem com n'hi ha tres que es situen en la línia de mitjana mentre que n'hi ha una que es situa per sobre i una altra, per sota. En canvi, en el grup de rates que han practicat exercici es pot apreciar com la majoria no es situa en la línia de mitjana sinó que els valors són més dispersos. El que ens permet observar aquest gràfic és que al treballar amb models animals la variabilitat i l'atzar són punts molt importants.

### ***T test student***

| <b>Parameter</b>                                    |               |
|---|---------------|
| Table Analyzed                                      | Data 1        |
| Column A  | Sed           |
| vs  | vs            |
| Column B  | Ex            |
| Mann Whitney test                                   |               |
| <b>P value</b>                                      | <b>1,0000</b> |
| Exact or approximate P value?                       | Exact         |
| P value summary                                     | ns            |
| <b>Are medians signif. different? (P &lt; 0.05)</b> | <b>No</b>     |
| One- or two-tailed P value?                         | Two-tailed    |
| Sum of ranks in column A,B                          | 35 , 56       |
| Mann-Whitney U                                      | 20,00         |

Quan es realitza un treball de caire científic on es du a terme una sèrie d'experiments és molt important saber si els resultats obtinguts són estadísticament significatius, és a dir, que les diferències que s'observen entre els dos grups són prou grans com per dir que hi ha una diferència real i no pas una diferència causada per l'atzar o altres elements no estudiats.

En aquest treball s'ha realitzat el *T test student* el qual es basa en què si la P és menor a 0,05 la diferència serà estadísticament significativa.

En l'estudi de la fibrosi s'ha observat que hi ha diferències entre els dos grups experimentals però aquestes han sortit no significatives d'acord al *T test student* ja que el valor de P ha estat major a 0,05, concretament 1, i per tant és possible que aquestes diferències hagin estat a causa de l'atzar.

## **Estudi de la hipertròfia**

### ***Anàlisi del pes del cor vs pes corporal dels dos grups experimentals***

Després d'haver transcorregut els dos mesos del procés es van pesar les rates dels dos grups i el cor d'aquestes. Es va normalitzar el pes del cor de les rates pel pes corporal de cada animal mitjançant la fórmula següent:

$$\text{(Pes cor/Pes corporal) x 1000}$$



## ***Taules de resultats***

### Rates exercici

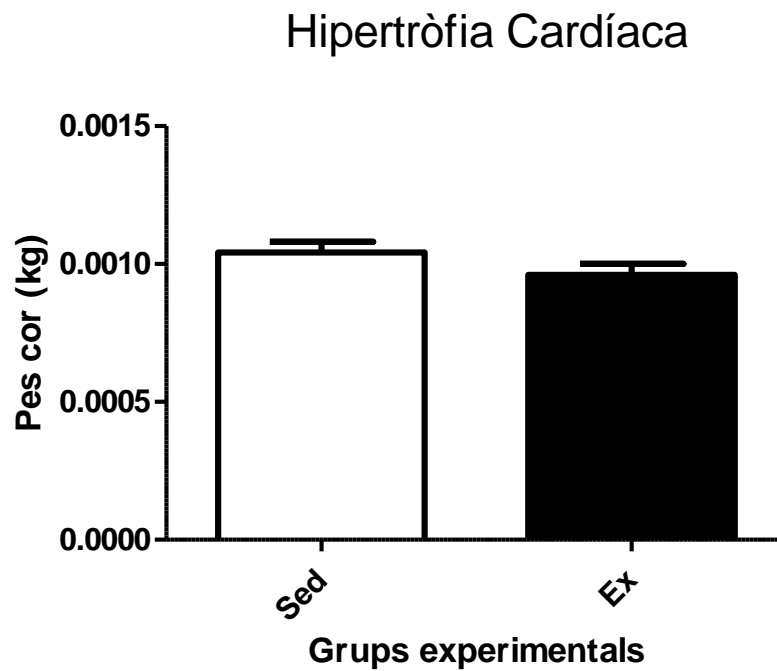
| <b>Número de rata</b> | <b>Pes rata (kg)</b> | <b>Pes cor (kg)</b> | <b>(Pes cor / Pes corporal) x 1000</b> |
|-----------------------|----------------------|---------------------|--|
| 1                     | 0,34                 | 0,00091             | 2,6764                                 |
| 3                     | 0,385                | 0,001               | 2,5974                                 |
| 4                     | 0,353                | 0,00092             | 2,6062                                 |
| 5                     | 0,351                | 0,00097             | 2,7635                                 |
| 6                     | 0,318                | 0,00096             | 3,0188                                 |
| 7                     | 0,422                | 0,00121             | 2,8672                                 |
| 8                     | 0,35                 | 0,0084              | 2,4                                    |
| 9                     | 0,35                 | 0,00087             | 2,4857                                 |
| <b>Mitjana</b>        | <b>0,358625</b>      | <b>0,00096</b>      | <b>2,67693988</b>                      |

### Rates sedentàries

| <b>Número de rata</b> | <b>Pes rata (kg)</b> | <b>Pes cor (kg)</b> | <b>(Pes cor / Pes corporal) x 1000</b> |
|-----------------------|----------------------|---------------------|--|
| 2                     | 0,415                | 0,00102             | 2,4578                                 |
| 10                    | 0,3685               | 0,00092             | 2,4966                                 |
| 11                    | 0,441                | 0,00111             | 2,5170                                 |
| 12                    | 0,4118               | 0,00102             | 2,4769                                 |
| 13                    | 0,475                | 0,00114             | 2,4                                    |
| <b>Mitjana</b>        | <b>0,42226</b>       | <b>0,001042</b>     | <b>2,46967531</b>                      |

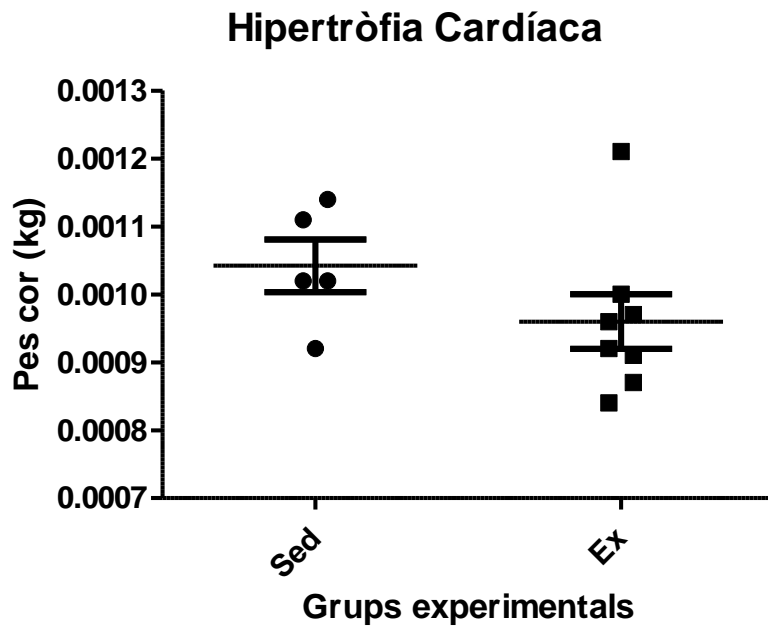
## Gràfics

### Pes del cor



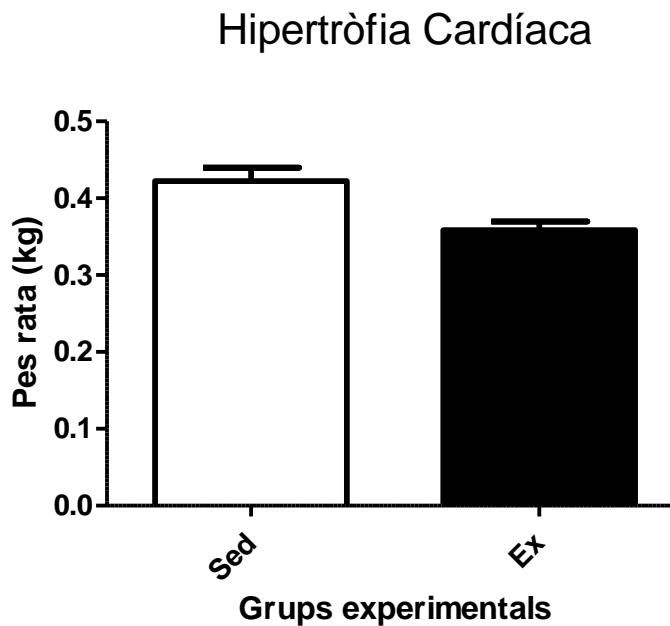
Per tal de fer més visual els resultats del pes del cor de cada rata, s'ha realitzat un gràfic de barres i un gràfic de diagrama de punts.

Tal hi com es pot observar en aquest primer, les rates sedentàries tenen un valor mitjà de 0,001042 kg, mentre que les rates que han practicat exercici tenen un valor mitjà de 0,00096 kg.



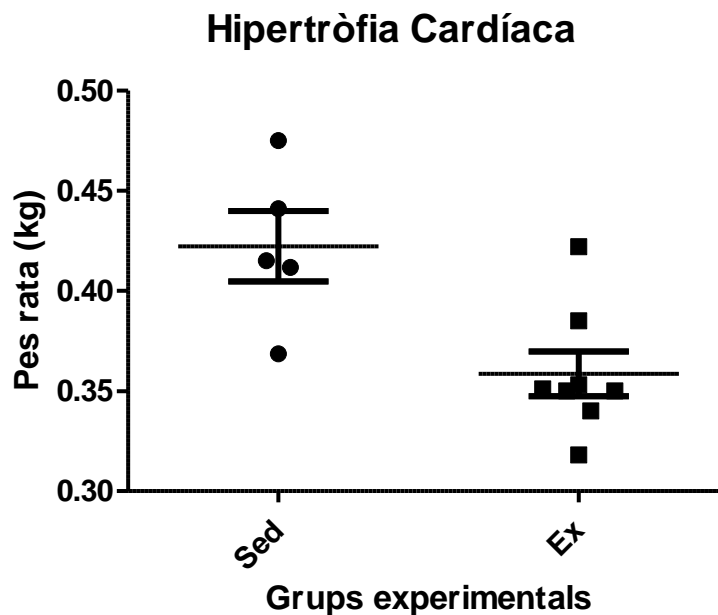
Pel que fa al gràfic de diagrama de punts, aquest permet observar cada valor estudiat en cada rata. Per tant, s'observa com els valors tant en el grup de sedentàries com en les d'exercici no són gaire dispersos, excepte una rata del grup d'exercici, el valor de la qual no s'acosta al valor mitjà de les altres rates, això pot haver estat a causa de l'atzar.

### Pes de la rata



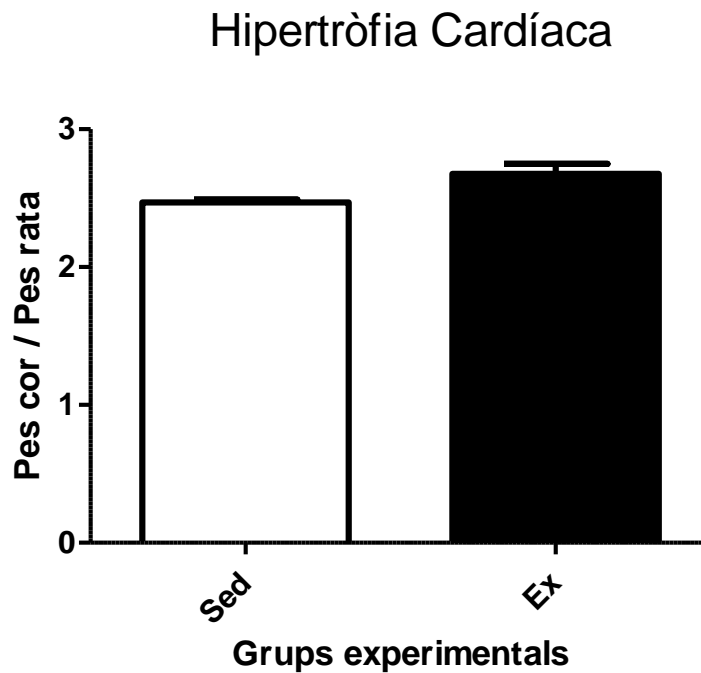
Com en els altres casos, s'ha realitzat un gràfic de barres i de diagrama de punt per tal de fer més visual els resultats obtinguts en l'estudi.

Observant el gràfic es pot veure fàcilment com el pes mitjà de les rates es superior en les sedentàries, amb un valor de 0,42226 kg, que no pas a les que han practicat exercici, amb un valor de 0,358625 kg. Aquest fet és deu a que les rates han viscut amb les mateixes condicions ambientals i d'alimentació, però les esportistes han practicat exercici i per tant han anat cremant matèria grassa, en canvi, les sedentàries, en no realitzar cap activitat, no.



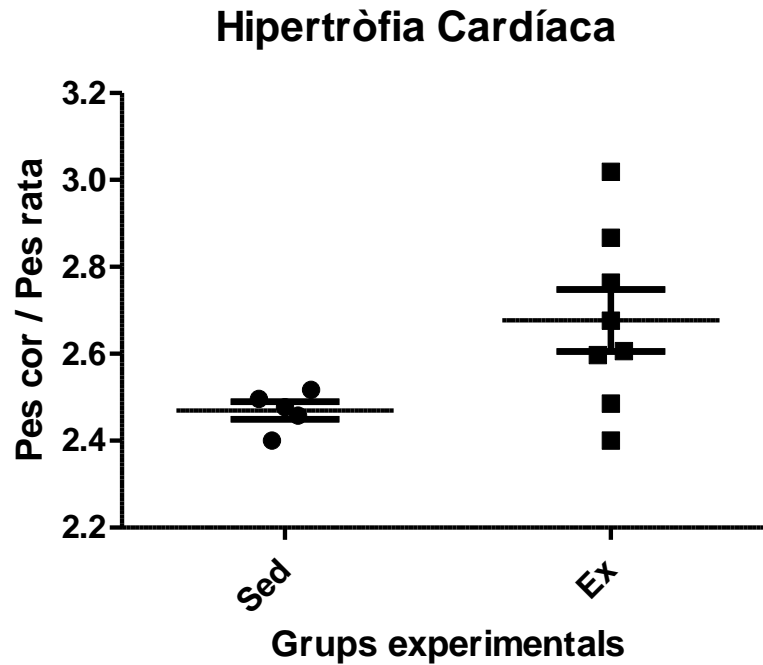
Pel que fa al gràfic de diagrama de punts, aquest ens permet observar, com ja s'ha explicat anteriorment, els diferents valors que té cada rata. En el cas de les rates sedentàries la majoria tenen valors dispersos i no es troben en la mitjana, en canvi, pel que fa les d'exercici excepte una o dues, els valors es situen a prop de la mitjana.

## Pes del cor / Pes de la rata



En aquest cas, també s'ha dut a terme l'elaboració d'un gràfic de barres i de diagrama de punts per tal de visualitzar millor els resultats obtinguts i fer més senzilla la comparança.

Observant el gràfic de barres de normalització del pes del cor amb el pes de la rata, es pot veure com el valor mitjà de les rates que han realitzat exercici es major, concretament de 2,677, que no pas el del grup de les rates sedentàries, que és 2,469. També es pot observar com el marge d'error és bastant petit.



En quant al gràfic de diagrama de punts, s'observa com en el grup experimental de les rates sedentàries, els valors es situen generalment sobre la línia de la mitjana, en canvi, en el grup de les rates que han realitzat exercici els valors són molt més dispersos i per tant, el marge de la desviació estàndard és major.

***T test student***

| Parameter                                  |                            |
|--|----------------------------|
| Table Analyzed                             | <b>Pes cor/Pes</b><br>rata |
| Column A                                   | Sed                        |
| vs   | vs                         |
| Column B                                   | Ex                         |
| Unpaired t test                            |                            |
| P value                                    | 0,0478                     |
| P value summary                            | *                          |
| Are means signif. different?<br>(P < 0.05) | <b>Yes</b>                 |
| One- or two-tailed P value?                | Two-tailed                 |
| t, df                                      | t=2,227 df=11              |
| How big is the difference?                 |                            |
| Mean ± SEM of column A                     | 2,470 ±<br>0,02002 N=5     |
| Mean ± SEM of column B                     | 2,677 ±<br>0,07137 N=8     |
| Difference between means                   | -0,2073 ±<br>0,09308       |
| 95% confidence interval                    | -0,4121 to -<br>0,002391   |
| R square                                   | 0,3107                     |
| F test to compare variances                |                            |
| F,DFn, Dfd                                 | 20,34, 7, 4                |
| P value                                    | 0,0112                     |
| P value summary                            | *                          |
| Are variances significantly<br>different?  | Yes                        |



Com en l'estudi de la fibrosi, en la hipertròfia també s'ha realitzat el *T test student* per tal d'observar si els resultats obtinguts són estadísticament significatius i no són causats per l'atzar.

En aquest cas, en l'estudi de la normalització del pes del cor amb el pes corporal de la rata, el *T test student* ha sortit positiu, és a dir, s'han trobat diferències significatives entre les variables estudiades ja que el valor de la P ha estat menor a 0,05, concretament, 0,0478. Per tant, es pot afirmar que hi ha un 95% de confiança en els resultats obtinguts.

### ***Anàlisi del gruix de les parets dels ventricles dret i esquerre i el septe interventricular***

Per continuar estudiant la hipertròfia es va decidir mesurar les parets del ventricle dret i esquerre, i també el septe interventricular que els separa.

En primer lloc, cal reconstruir el tall del cor mitjançant unes quatre fotografies d'aquest. Per això, s'utilitza el programa *analySIS* amb el qual també es mesurarà el gruix del teixit.

Les fotografies del cor es realitzaran de la mateixa manera amb la qual es va dur a terme les fotografies del ventricle dret per tal de mesurar la fibrosi.

Un cop es tenen les quatre fotografies, es procedirà a clissar el botó Image > Multiple Image Alignment > Arrange. D'aquesta manera apareixerà una finestra on es permetrà ordenar les quatre fotografies realitzades per tal de reconstruir el tall del cor.

Un cop s'han ordenat les fotografies, cal clissar al botó de No correlation i tot seguit Ok.

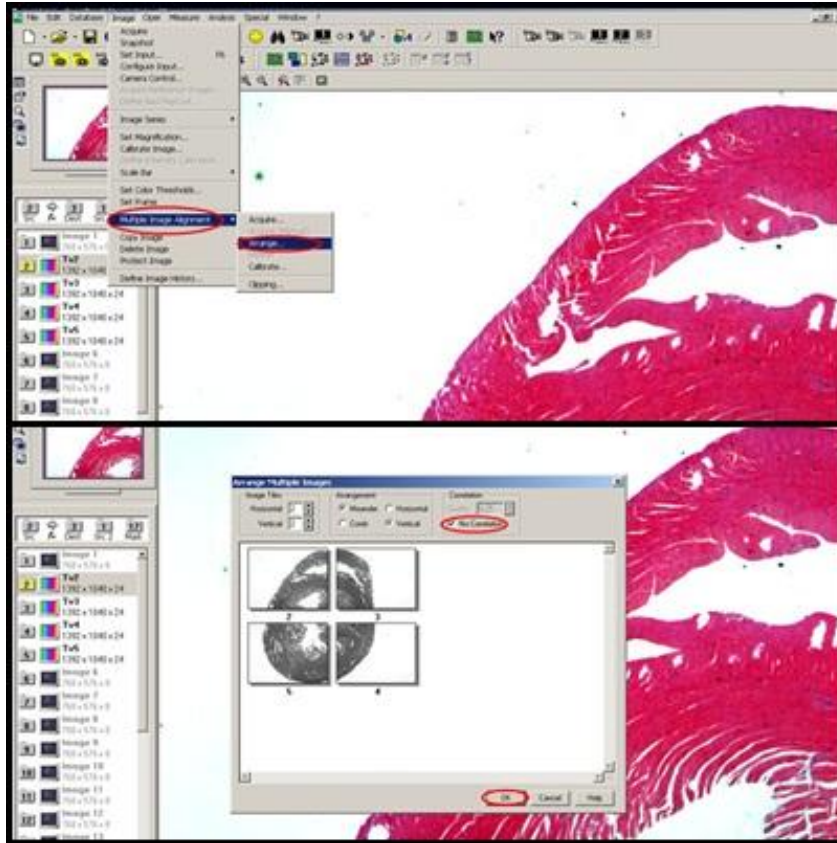


Figura 46: Programa analySIS (Multiple Image Alignment i No correlation)

A continuació apareixerà una finestra on s'observarà el tall del cor reconstruït i tan sols caldrà ajustar cada imatge per tal que encaixi amb les seves veïnes.

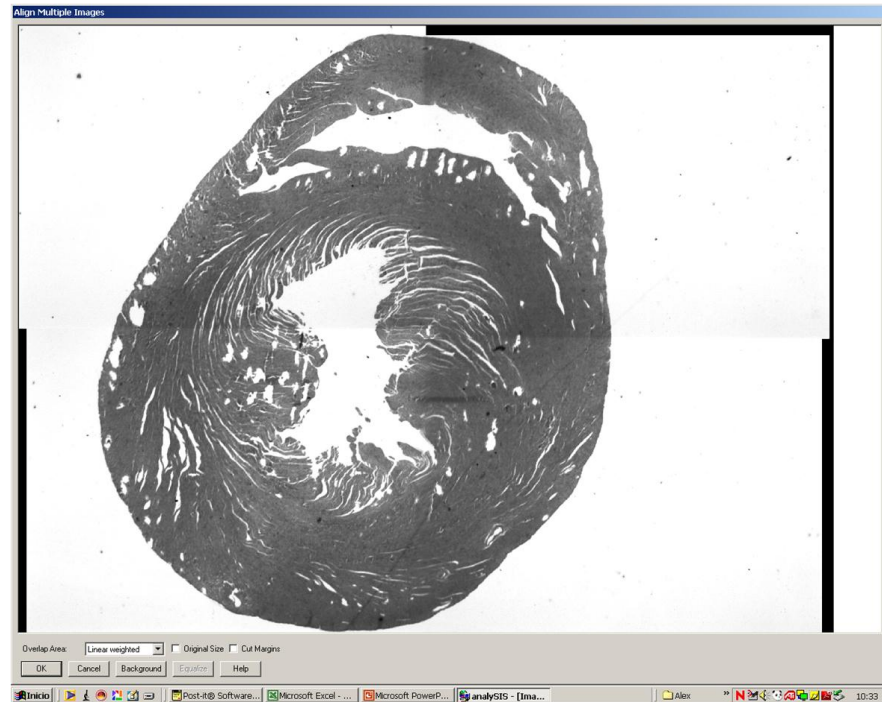


Figura 47: Programa *analySIS* (Tall del cor reconstruït)

Un cop es té el tall del cor reconstruït, cal començar a mesurar la paret lliure del ventricle dret, el septe ventricular i la paret lliure del ventricle esquerre amb el programa *analySIS*.

En primer lloc, cal clissar el botó Arbitrary Distance per tal que aparegui el sistema per poder mesurar. Tot seguit, a la paret lliure del ventricle dret cal efectuar tres mesures representatives, com es pot observar en la Figura 48, i aquesta acció es repetirà tant en el septe interventricular com en la paret

lliure del ventricle esquerre. Un cop s'han finalitzat les mesures, cal clissar l'espai blanc i tot seguit s'obrirà un document Excel on s'hi observarà les mesures obtingudes.

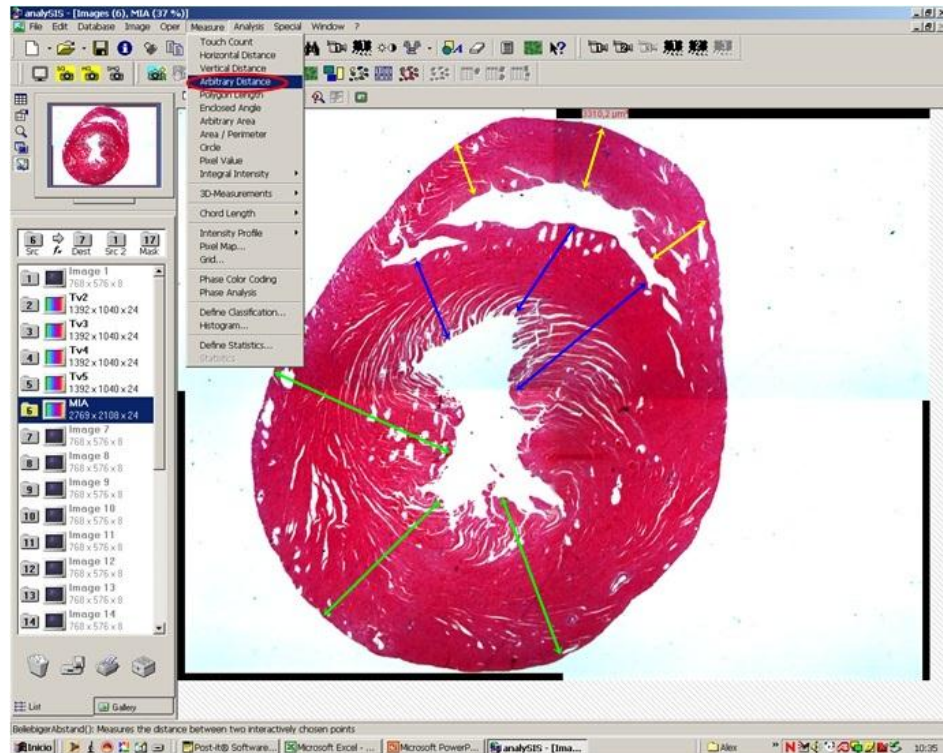


Figura 48: Programa analyzeSIS (Arbitrary Distance, mesures)

### ***Taules de resultats***

#### Rates exercici

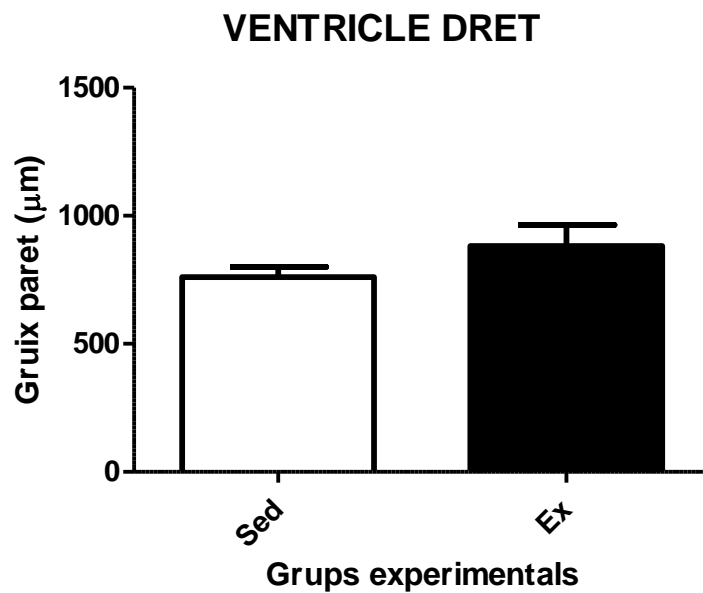
| <b>Número de<br/>rata</b> | <b>Ventricle dret</b> | <b>Septe<br/>interventricular</b> | <b>Ventricle<br/>esquerre</b> |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| 1                         | 787,82                | 2750,91                           | 2640,83                       |
| 3                         | 1410,69               | 1905,23                           | 3030,82                       |
| 4                         | 796,71                | 2271,63                           | 2636,22                       |
| 5                         | 813,74                | 2145,17                           | 2594,51                       |
| 6                         | 657,55                | 2212,56                           | 2241,86                       |
| 7                         | 966,57                | 994,48                            | 2557,23                       |
| 8                         | 725,19                | 1479,69                           | 2623,16                       |
| 9                         | 894,98                | 1832,48                           | 2776,71                       |
| <b>Mitjana</b>            | <b>881,656</b>        | <b>1949,018</b>                   | <b>2637,66</b>                |

### Rates sedentàries

| Número de rata | Ventricle dret | Septe interventricular | Ventricle esquerre |
|----------------|----------------|------------------------|--------------------|
| 2              | 792,64         | 1964,87                | 2830,38            |
| 10             | 766,95         | 1629,91                | 2376,64            |
| 11             | 875,15         | 1075,37                | 2637,70            |
| 12             | 742,08         | 479,52                 | 2435,22            |
| 13             | 625,84         | 1966,94                | 3150,12            |
| <b>Mitjana</b> | <b>760,532</b> | <b>1423,322</b>        | <b>2686,012</b>    |

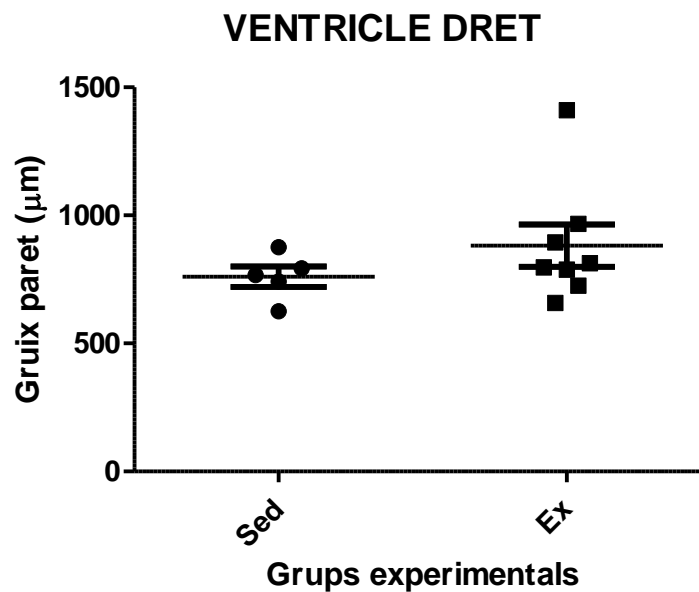
### *Gràfics*

#### Ventricle dret



Com en els casos descrits anteriorment, en l'estudi del gruix de les parets lliures dels ventricles i el septe interventricular s'ha realitzat, per cada cas, un gràfic de barres i de diagrama de punts per tal de fer els resultats més visuals.

Pel que fa el gràfic de barres del ventricle dret, es pot observar que el gruix és superior en les rates esportistes, que han practicat exercici, amb un valor mitjà de 881,656  $\mu\text{m}$ , que no pas en les rates sedentàries, amb un valor mitjà de 760,532  $\mu\text{m}$ . S'observa que el marge d'error és relativament petit.



Pel que fa el gràfic de diagrama de punts, aquest permet observar que en el grup de rates esportistes tots els valors es situen al voltant de la mitjana,

excepte un que dona un valor força més elevat i segurament es deu a l'atzar. Observant el grup de rates sedentàries es pot afirmar que, generalment, tots els valors es situen al voltant de la mitjana.

### ***T test student***

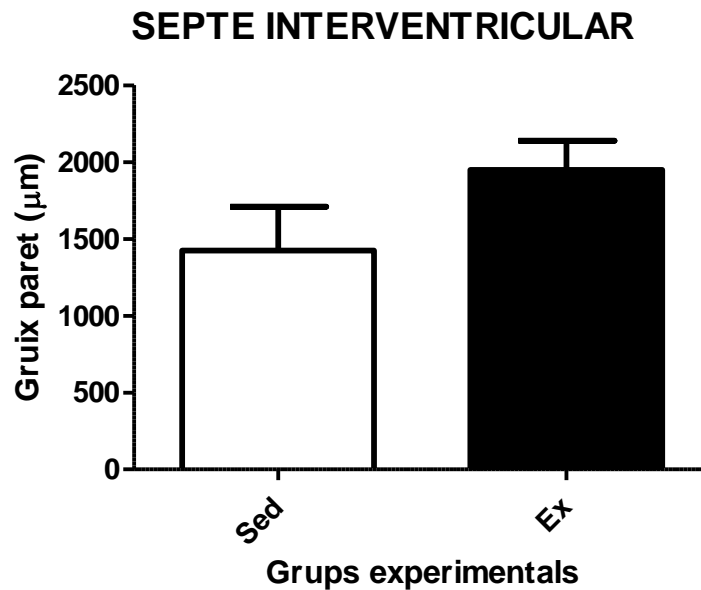
|   |                      |
|---|----------------------|
| Table Analyzed                          | VD                   |
| Column A                                | Sed                  |
| vs                                      | vs                   |
| Column B                                | Ex                   |
| Unpaired t test                         |                      |
| P value                                 | 0,2976               |
| P value summary                         | ns                   |
| Are means signif. different? (P < 0.05) | No                   |
| One- or two-tailed P value?             | Two-tailed           |
| t, df                                   | t=1,093<br>df=11     |
| How big is the difference?              |                      |
| Mean ± SEM of column A                  | 760,5 ±<br>40,43 N=5 |
| Mean ± SEM of column B                  | 881,7 ±<br>82,66 N=8 |
| Difference between means                | -121,1 ±<br>110,8    |
| 95% confidence interval                 | -364,9 to<br>122,7   |
| R square                                | 0,09804              |
| F test to compare variances             |                      |
| F,DFn, Dfd                              | 6,688, 7, 4          |
| P value                                 | 0,0854               |
| P value summary                         | ns                   |
| Are variances significantly different?  | No                   |



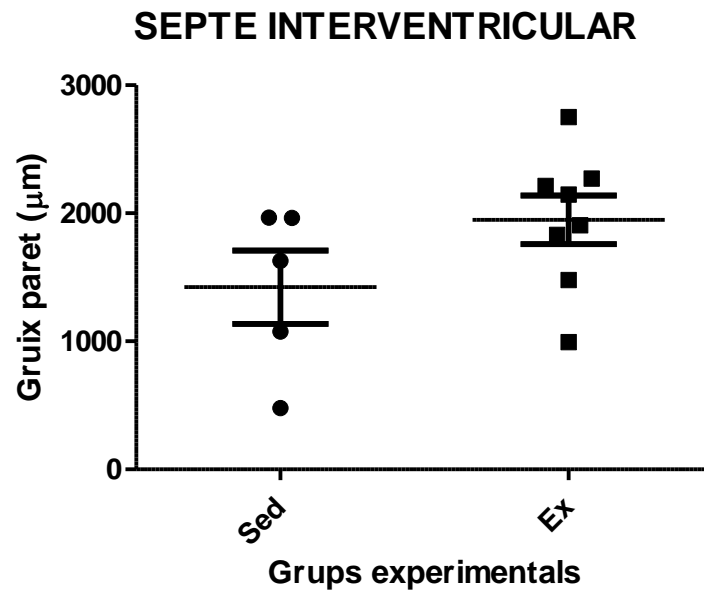
En la mesura del ventricle dret s'ha realitzat el *T test student* per observar si els resultats obtinguts són estadísticament significatius i no són causats per l'atzar o altres factors no estudiats.

En aquest cas, els resultats han sortit no significatius ja que el valor de P ha estat superior a 0,05, concretament 0,2976, i per tant, es pot afirmar que les variacions entre les variables han pogut ser causades per l'atzar.

### Septe interventricular



Observant el gràfic de barres, es pot afirmar que el gruix del septe interventricular és major en el cor de les rates esportistes, amb un valor de 1949,018 µm, que no pas en el cor de les rates sedentàries, amb un valor de 1423,322 µm. També observem que el marge d'error és prou gran.



Pel que fa el gràfic de diagrama de punts, s'observa que els valors de les variables són força dispersos en els dos grups estudiats, en les rates esportistes i en les rates sedentàries. Per això, en el gràfic de barres comentat anteriorment el marge d'error era major.

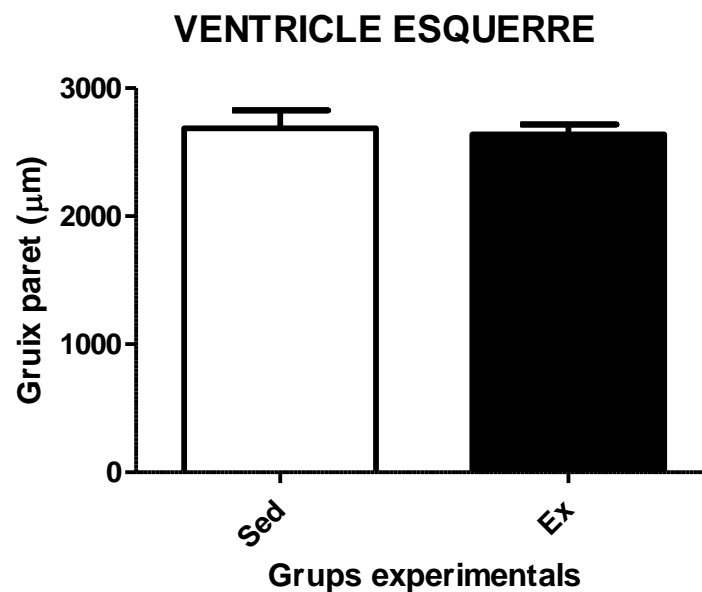
### ***T test student***

|  |                     |
|--|---------------------|
| Table Analyzed   | Septe               |
| Column A   | Sed                 |
| vs   | vs                  |
| Column B   | Ex                  |
| Unpaired t test  |                     |
| P value  | 0,1375              |
| P value summary  | ns                  |
| Are means signif.<br>different? (P < 0.05)<br>One- or two-tailed P<br>value? | No                  |
|  | Two-tailed          |
| t, df  | t=1,602<br>df=11    |
| How big is the difference?   |                     |
| Mean ± SEM of column A   | 1423 ±<br>286,6 N=5 |
| Mean ± SEM of column B   | 1949 ±<br>189,1 N=8 |
| Difference between means   | -525,7 ±<br>328,2   |
| 95% confidence interval  | -1248 to<br>196,6   |
| R square   | 0,1891              |
| F test to compare<br>variances   |                     |
| F,DFn, Dfd   | 1,436, 4, 7         |
| P value  | 0,6329              |
| P value summary  | ns                  |
| Are variances significantly<br>different?                                    | No                  |

En el cas del septe interventricular també s'ha realitzat el *T test student* per comprovar si els resultats obtinguts són o no estadísticament significatius, com en els altres casos.

En aquest cas el *T test student* ha sortit negatiu, és a dir, no es troben diferències significatives entre les variables ja que el valor de la P és superior a 0,05, concretament 0,1375.

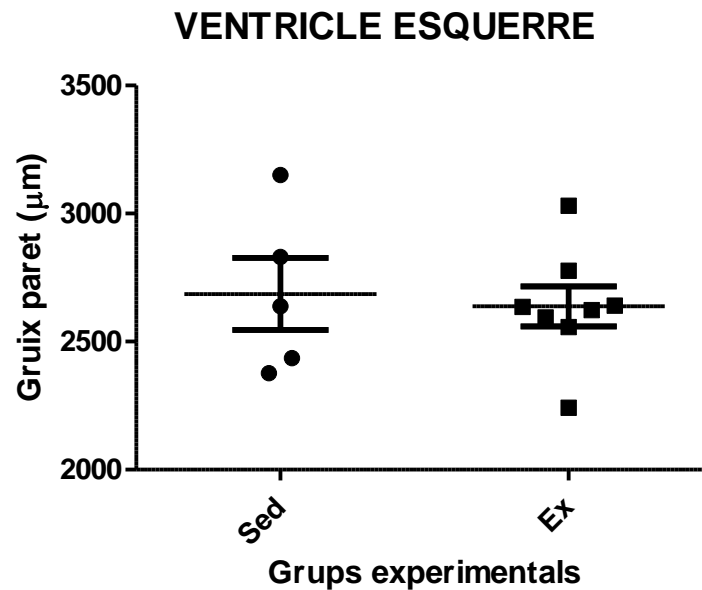
### Ventricle esquerre



Com es pot observar en el gràfic de barres, el gruix del ventricle esquerre en les rates sedentàries és lleugerament major, amb un valor de 2686,012 µm, que el gruix del ventricle esquerre en les rates esportistes, amb un valor de

2637,66  $\mu\text{m}$ . Aquest és l'únic cas en l'estudi en el qual el valor de les rates sedentàries supera a les rates esportistes.

També s'observa que el marge d'error és bastant petit.



Pel que fa el gràfic de diagrama de punts, es pot observar que en els dos grups els valors es situen al voltant del valor mitjà. En el cas de les rates esportistes s'observen dos valors que es situen per sobre i per sota de la mitjana, respectivament. Aquest fet també s'observa en el grup de rates sedentàries. Es pot afirmar que és a causa de l'atzar o altres factors no estudiats.

### ***T test student***

|  |                     |
|--|---------------------|
| Table Analyzed   | VE                  |
| Column A   | Sed                 |
| vs   | vs                  |
| Column B   | Ex                  |
| Unpaired t test  |                     |
| P value  | 0,7492              |
| P value summary  | ns                  |
| Are means signif.<br>different? (P < 0.05)<br>One- or two-tailed P<br>value? | No<br>Two-tailed    |
| t, df  | t=0,3278<br>df=11   |
| How big is the difference?   |                     |
| Mean ± SEM of column A   | 2686 ±<br>140,9 N=5 |
| Mean ± SEM of column B   | 2638 ±<br>77,82 N=8 |
| Difference between means   | 48,34 ±<br>147,5    |
| 95% confidence interval  | -276,3 to<br>373,0  |
| R square   | 0,009672            |
| F test to compare<br>variances   |                     |
| F,DFn, Dfd   | 2,050, 4, 7         |
| P value  | 0,3830              |
| P value summary  | ns                  |
| Are variances significantly<br>different?                                    | No                  |

Per últim, s'ha realitzat el *T test student* en l'estudi del ventricle esquerre per tal de saber si els resultats obtinguts, a l'igual que en els altres casos, són estadísticament significatius o causats per l'atzar.

El valor de la P ha donat superior a 0,05, concretament 0,7492, per tant es pot afirmar que les diferències en els dos grups no són significatives, sinó causades per l'atzar o per altres elements no estudiats.

## CONCLUSIONS

Per concloure el meu treball de recerca, voldria remarcar varis aspectes d'aquest.

Primer de tot, cal dir que la hipòtesi plantejada ha estat afirmar que l'exercici intens i de resistència practicat de manera crònica produirà canvis estructurals a nivell del miocardi, com la fibrosi i la hipertròfia cardíques, que poden afavorir el desenvolupament d'arítmies cardíques.

### *Taula de resultats*

|                          | <b>Fibrosi</b>      | <b>Hipertròfia</b>                 |   |
|--------------------------|---------------------|------------------------------------|---|
|                          |                     | <b>Pes del cor vs pes corporal</b> | <b>Gruix VD, septe interventricular i VE</b>            |
| <b>Rates exercici</b>    | 3'79 % de col·lagen | 2'677                              | VD: 881,656 µm<br>Septe: 1949,018 µm<br>VE: 2637,66 µm  |
| <b>Rates sedentàries</b> | 3'69 % de col·lagen | 2'469                              | VD: 760,532 µm<br>Septe: 1423,322 µm<br>VE: 2686,012 µm |



Com es pot observar en la taula de resultats, pel que fa la fibrosi miocardiàca, el % de col·lagen ha estat major en el grup de rates que ha practicat exercici ja que hi ha hagut un augment de la síntesi de la proteïna per part dels fibroblasts, a causa de la hipertròfia que és prèvia.

La variació entre els valors dels dos grups experimentals ha estat de 0,1. Aquest valor, segons el *T test student*, no és estadísticament significatiu, per tant, no es s'ha pogut verificar que el grup de rates que ha practicat exercici presenti fibrosi en el seu teixit cardíac.

Pel que fa la hipertròfia cardíaca, en l'estudi de la normalització del pes del cor amb el pes corporal de la rata s'ha observat que en el grup de rates que ha practicat exercici el valor és major que no pas en el grup de rates sedentàries. En aquest cas, el *T test student* ha sortit positiu, per tant sí que es pot afirmar amb un 95% de confiança que les diferències entre ambdós grups són estadísticament significatives. Per altra banda, en l'estudi del gruix de les parets del ventricle dret, el septe interventricular i el ventricle esquerre, els valors han estat major en les rates esportistes ja que la pràctica d'exercici de manera crònica provoca una sobrecàrrega de volum de sang en les cavitats, i les parets d'aquestes augmenten el seu gruix per adaptar-se al canvi anatòmic. Cal afirmar, que en el cas del ventricle esquerre el gruix ha estat major en el grup de rates sedentàries, però al ser mínima la diferència amb el grup esportista, no té cap significat estadístic i és d'incerta explicació.

En tots tres casos (VD, septe interventricular i VE), el *T test student* ha sortit negatiu ja que les diferències entre els dos grups experimentals no són estadísticament significatives. No obstant, s'observa una tendència en el ventricle dret i en el septe interventricular d'un major gruix en les rates esportistes. Per tant, no es pot afirmar fermament que en el grup de rates que han practicat exercici hi ha hipertròfia ja que dels dos estudis que s'han realitzat, tan sols un, la normalització del pes del cor amb el pes corporal, ha sortit positiu en el *T test student*.

Com s'ha observat al llarg del procés, la hipòtesi plantejada en el treball no s'ha complert ja que l'exercici intens, de resistència i practicat de manera crònica, en un període de 8 setmanes, no ha influït en l'aparició de fibrosi miocardiaca, hipertròfia cardíaca, i per tant, en l'aparició d'arítmies ja que aquestes s'observarien com a conseqüència de les dues primeres patologies esmentades.

Davant la falta de verificació de la hipòtesi plantejada proposo com a possibilitat que el temps d'entrenament de les rates ha estat insuficient. El factor temps pot ser determinant en quant a la presentació de canvis anatòmics estudiats en el cor de les rates d'exercici i en el meu treball tan sols vaig disposar d'un entrenament de 8 setmanes. Cal afirmar, però, que en tan sols aquest temps ja es pot observar un índex de la possible aparició de fibrosi i hipertròfia cardíques, les quals afavoririen l'aparició d'arítmies cardíques. Un altre factor que ha influït en que els resultats no siguin significatius pot ser el baix nombre d'animals estudiats, és a dir, s'ha treballat

amb un nombre petit de rates i per tant, no es pot extrapolar els resultats a la població general.

Finalment, cal remarcar que el Centre d'Investigació Biomèdica de l'*IDIBAPS* va dur a terme un projecte<sup>16</sup> similar on hi havia un augment del temps d'entrenament en les rates, concretament de 16 setmanes, i on s'observaven l'aparició de patologies com la hipertròfia, fibrosi i en conseqüència arítmies cardíques, en les rates que van practicar exercici.

Per tant, puc afirmar que en un estudi basat en 8 setmanes d'entrenament i amb un baix nombre de mostres en cada grup experimental no s'ha observat cap de les patologies estudiades però sí un índex d'aquestes.

---

<sup>16</sup> Tesi doctoral realitzada l'any 2006-2008 per Gemma Gay Jordi, *Efecte de l'exercici crònic en el desenvolupament de fibrosi cardíaca: mecanismes implicats*

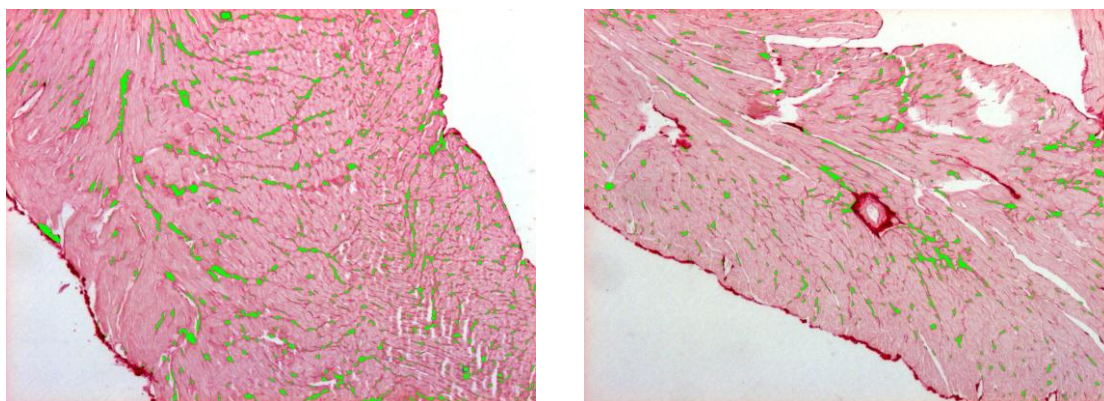
## **RECOMANACIONS O PROPOSTES DE CONTINUÏTAT**

Tenint en compte les conclusions finals del meu treball, en el qual la hipòtesi inicial no ha estat confirmada, i relacionant aquests resultats amb el projecte realitzat i explicat prèviament del Centre d'Investigació de l'*IDIBAPS*, seria recomanable per a futurs estudis en aquest camp incrementar el temps d'entrenament de les rates esportistes, així com la mida de la mostra. D'aquesta manera s'extraurien conclusions definitives.

# ANNEXOS

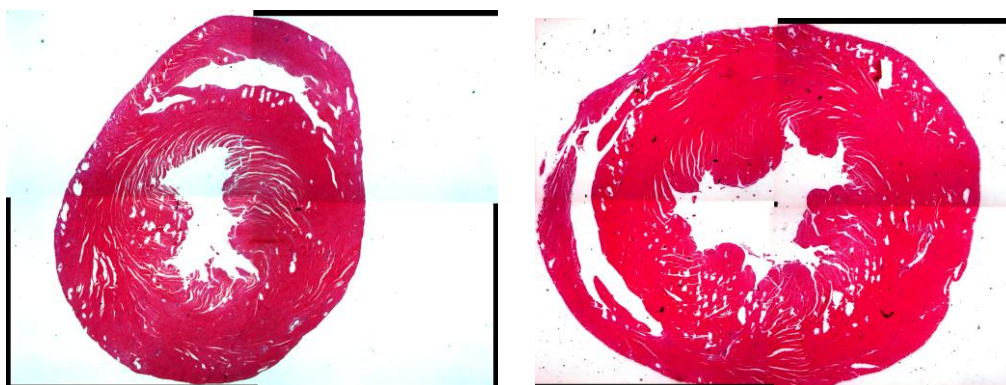
## FOTOGRAFIES COMPLEMENTÀRIES

### Quantificació de col·lagen



*Figura 49: Mostres de teixit cardíac on s'observa les fibres de col·lagen (verd llima)*

### Reconstrucció del cor



*Figura 50: Diferents reconstruccions de cors a partir de 4 fotografies*

## **BIBLIOGRAFIA**

### **Llibres**

- ZÚÑIGA, J.M.; ORELLANA, J.M.; TUR, J.A.: *Ciencia y tecnología del animal de laboratorio*, Editorial Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, 2008.
- BILLAT, V.: *Fisiología y metodología del entrenamiento. De la teoría a la práctica.*, Editorial Paidotribo, Barcelona, 2002.
- MEZQUITA PLA, C.; MEZQUITA MAS, B.: *Fisiología dels sistemes circulatori, respiratori i renal*, Editorial de la Universitat de Barcelona, Barcelona, 2009.

### **Documents electrònics**

- Mamífers. Espanya

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Mam%C3%ADfer>

<http://www.xtec.cat/~ajimeno/cn1eso/20mamifers/20mamifers.htm>

[http://www.voyagesphotosmanu.com/reproduccion\\_mamifero.html](http://www.voyagesphotosmanu.com/reproduccion_mamifero.html)

- Mamífers. Costa Rica

[http://lebi.ucr.ac.cr/index.php?option=com\\_content&view=article&id=43&Itemid=44](http://lebi.ucr.ac.cr/index.php?option=com_content&view=article&id=43&Itemid=44)

- Aparell circulatori. Espanya

<https://www.box.com/shared/z9veiglpzs>

[http://ca.wikipedia.org/wiki/Sistema\\_circulatori](http://ca.wikipedia.org/wiki/Sistema_circulatori)

<http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias/SistemaCirculatorio.htm>

<http://es.wikipedia.org/wiki/Sangre>

<http://www.geocities.ws/biohumana2002/circulatori.html>

<http://www.slideshare.net/jjavimorales/matriu-extracelular>

- Aparell circulatori. Argentina

<http://www.saberdeciencias.com.ar/index.php/apuntes-de-biologia/120-aparato-circulatorio>

<http://ht.org.ar/histologia/NUEVAS%20UNIDADES/unidades/unidad4/miofibr.htm>

- Aparell circulatori. Mèxic

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-75852004000300008](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-75852004000300008)

- Activitat física. Espanya

<http://www.infermeravirtual.com/ca-es/problemes-de-salut/tractaments/activitat-fisica/informacio-relacionada.html#afaerobica>



- Fibrosi miocardiàca. Espanya

<http://www.elsevier.es/es/revistas/hipertension--riesgo-vascular-67/consecuencias-clinicas-fibrosis-miocardica-cardiopatia-hipertensiva-13087393-revisiones-2006>