

FLUJO SANGUÍNEO Y OXIGENACIÓN CEREBRAL DURANTE EL EJERCICIO DE ALTA INTENSIDAD EN SERES HUMANOS

TESIS DOCTORAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS
LABORATORIO DE RENDIMIENTO HUMANO
INSTITUTO UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIONES
BIOMÉDICAS Y SANITARIAS DE LA ULPGC

**FLUJO SANGUÍNEO Y OXIGENACIÓN
CEREBRAL DURANTE EL EJERCICIO
DE ALTA INTENSIDAD EN SERES
HUMANOS**

David Curtelin

LAS PALMAS DE GRAN CANARIA 2015



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Ciencias Médicas
y Quirúrgicas

Anexo I

**D. JUAN RAMÓN HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ,
SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS DE LA UNIVERSIDAD DE LAS
PALMAS DE GRAN CANARIA,**

CERTIFICA

Que el Consejo Ordinario de Departamento de Doctores en su sesión de fecha 28 de octubre de 2015, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada: FLUJO SANGUÍNEO Y OXIGENACIÓN CEREBRAL DURANTE EL EJERCICIO DE ALTA INTENSIDAD EN SERES HUMANOS, presentada por el/la doctorando/a, Don David Curtelin Pérez y dirigida por los doctores, Don José Antonio López Calbet, Don Jorge Lorenzo Freixinet Gilart.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a veintiocho de octubre de dos mil quince.

TESIS DOCTORAL



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

Departamento: CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

Programa de Doctorado: "PATOLOGÍA QUIRÚRGICA, REPRODUCCIÓN HUMANA, FACTORES PSICOLÓGICOS Y EL PROCESO DE ENFERMAR"

Título de la Tesis:

"FLUJO SANGUÍNEO Y OXIGENACIÓN CEREBRAL DURANTE EL EJERCICIO DE ALTA INTENSIDAD EN SERES HUMANOS."

Tesis Doctoral presentada por D. David Curtelin

Dirigida por:

Dr. D. José Antonio López Calbet (C.U.)

Dr. D. Jorge Freixinet Gilart (C.U.)

Los Directores

El Doctorando

En Las Palmas de Gran Canaria a 15 de Octubre de 2015.

Fuentes de financiación:

Los estudios que componen esta tesis doctoral han sido cofinanciados por el Ministerio de Educación y Ciencia (DEP2009-11638 y FEDER) y III Convocatoria de Ayudas a la Investigación Cátedra Real Madrid- UEM (2010/01RM, Universidad Europea de Madrid).

“Resulta divertido hacer lo
imposible.”

Walt Disney

ÍNDICE

1 ÍNDICE.

1	ÍNDICE.....	13
2	AGRADECIMIENTOS.....	19
3	LISTADO DE ABREVIATURAS.....	23
4	RESUMEN.....	29
5	INTRODUCCIÓN.....	33
5.1	ANATOMÍA DE LA CIRCULACIÓN CEREBRAL.....	37
5.1.1	ARTERIAS.....	37
5.1.2	DRENAJE VENOSO.....	41
5.1.3	ESTRUCTURAS RELEVANTES PARA LA REGULACIÓN DE LA CIRCULACIÓN CEREBRAL.....	42
5.2	FISIOLOGÍA DE LA REGULACIÓN DE LA CIRCULACIÓN Y OXIGENACIÓN CEREBRAL. ¿QUÉ SABEMOS HASTA EL MOMENTO?.....	44
5.2.1	AUTORREGULACIÓN CEREBRAL.....	46
5.2.2	ACOPLAMIENTO NEUROVASCULAR.....	48
5.2.3	EFFECTO DE LOS GASES SANGUÍNEOS SOBRE LA REGULACIÓN CEREBRAL.....	49
5.2.4	MECANISMO MIOGÉNICO.....	51
5.2.5	MECANISMO NEUROGÉNICO.....	52
6	OBJETIVOS.....	55

7	HIPÓTESIS.....	57
8	MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS.....	61
8.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	61
8.2	MUESTRA Y PRETEST EXPERIMENTALES.....	61
8.2.1	COMPOSICIÓN CORPORAL.....	62
8.2.2	MASA MUSCULAR, MASA ÓSEA Y PORCENTAJE DE GRASA CORPORAL.....	62
8.2.3	CONDICIÓN FÍSICA.....	63
8.2.4	MEDICIÓN DE LACTATO.....	64
8.2.5	TEST DE WINGATE.....	65
8.3	.PROTOCOLO EXPERIMENTAL DEL DÍA 2. EXPERIMENTO PRINCIPAL.....	67
8.3.1	OXIGENACIÓN MUSCULAR Y CEREBRAL....	68
8.3.2	MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO CEREBRAL.....	73
8.3.3	TEST DE SENSIBILIDAD AL CO ₂	87
8.3.4	TEST DE WINGATE.....	89
8.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	90
9	RESULTADOS.....	95
9.1	SENSIBILIDAD AL CO ₂	95
9.2	RESPUESTA AL EJERCICIO DE SPRINT.....	97
9.3	RESPUESTA DURANTE LA RECUPERACIÓN...	104

9.4	CORRELACIONES.....	107
9.5	RESULTADOS DEL SPRINT REPETIDO.....	107
10	DISCUSIÓN.....	119
11	CONCLUSIONES.....	131
12	BIBLIOGRAFÍA.....	135

AGRADECIMIENTOS

2 AGRADECIMIENTOS.

A **Jose Antonio López Calbet**, por ser el artífice de este pequeño milagro que es tenerme escribiendo. Por abrirme la puerta del Laboratorio de Rendimiento Humano, cuando un día me acerqué para ver si podía hacer las prácticas de la especialidad. ¡Qué diferencia de prácticas! Gracias por permitirme entrar en este apasionante mundo, por haberme dado la oportunidad de conocer lo mejor, por llevarme a Dinamarca y conocer otra forma de hacer las cosas. Gracias por darme la oportunidad de sentir lo que significa la responsabilidad de publicar con los mejores. Gracias por la paciencia, por la comprensión, por entender que no pueda estar ahí todo el tiempo, pero que eso no significa que tenga menos ganas de participar. Gracias por ser fuente de inspiración, modelo y respeto, por los ánimos y la confianza que me das.

A **Jorge Freixinet Gilart**, porque es parte indiscutible de que esté aquí. Porque tendió los puentes que me han traído a este día. Porque a pesar de los retrasos, las dificultades, los cambios, nunca hubo una mala palabra, una mala mirada, un mal gesto. Gracias por entender que deseaba estar escribiendo esto, pero que no iba a ser fácil. Probablemente, ese gesto de desaprobación que nunca llegó ante mi continua deriva, hubiera hecho zozobrar mi barco. Pero se mantuvo a flote gracias a tu comprensión. Gracias por estar ahí.

A **Mercedes Said Quintana**, porque eres lo que necesito para querer ser mejor cada día. Mejor persona, mejor profesional, mejor amigo, mejor pareja. Gracias por comprender como soy y permitírmelo, aunque a veces cueste hacerlo. Gracias por estos 20 años que ahora forman parte de mi esencia.

A **Laura Curtelin**, porque sí. Porque es evidente que sin ella no hubiera llegado aquí, porque me dio la vida, porque luchó, sufrió y perdió porque yo pudiera llegar más lejos, pero sobre todo porque arrancó el motor y me llenó de combustible, pero me permitió elegir el camino.

A mis **totós**, a todas ellas (y él) porque al llegar a casa abatido por las desgracias compartidas, al llegar enfadado, cansado, desganado, asqueado, desmoralizado y ver esas miradas, esos ojos de admiración, respeto y cariño, los fantasmas se desvanecen. Por el amor incondicional, por sacar una sonrisa de lo más profundo y oculto en los peores días, porque están ahí haga lo que haga, siempre.

A la **familia**, la que se siente, porque su rol es estar ahí, pero no siempre es evidente. Pero lo han hecho de maravilla. A los que no están, pero estuvieron y de alguna manera siguen ejerciendo su influencia.

A **David Morales Álamo**, porque también me abrió las puertas del Laboratorio, las de su parte más humana. Por el acogimiento, el apoyo, la confianza y nuevamente la comprensión. Por ayudarme a comprender al boss y porque viniendo de otro mundo me ha hecho sentir en casa.

A **Mario Pérez Valera**, porque las bases de datos no son lo mismo sin ti. Por comprender mi situación y compartir. Parte de este camino es de ambos.

A todos los becarios, trabajadores y colaboradores del **Laboratorio de Rendimiento Humano**. Los que están y los que vinieron y se fueron. **Marcos Martín Rincón, Ismael Pérez Suárez, Rafael de Torres Peralta, José Losa Reina, Alberto Santana, Ibai García Tabar, Eugenia Cherouveim, José Navarro del Tuero, Arima Santana**, por su acogida en el laboratorio, por permitirme sentirme uno más a pesar de no pasar el mismo tiempo por allí que ustedes, por enseñarme lo que no sabía, por su ilusión y su ayuda. Gracias.

A los **amigos**, los de verdad, los que creen, los que apoyan, los que sienten, a los que la distancia no significa más que unos centímetros en un mapa, a los que comprenden que no hay que verse a diario, ni llamarse hasta en años, pero saben que estás ahí y tú que estás ahí. Gracias.

Y, por qué no, a los que no creen, no respetan, no saben o no quieren saber. Porque de lo bueno te refuerzas, pero de lo malo te curtes, creces y te desarrollas. Gracias porque, en parte, por ello, soy como soy, soy como quiero ser.

LISTADO DE ABREVIATURAS

3 LISTADO DE ABREVIATURAS.

AB: Arteria basilar.

AC: Autorregulación cerebral.

ACA: Arteria cerebral anterior.

ACE: Arteria carótida externa.

ACI: Arteria carótida interna.

ACM: Arteria cerebral media.

ACP: Arteria cerebral posterior.

ADP: Adenosín difosfato.

AMP: Adenosín monofosfato.

ANCOVA: Análisis de la covarianza.

AO: Arteria oftálmica.

ATP: Adenosín trifosfato.

AV: Arteria vertebral.

DTC: Doppler transcraneal.

EtO₂: Oxígeno al final de la espiración.

EtCO₂: Dióxido de carbono al final de la espiración.

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

FC: Frecuencia cardíaca.

FD: Frecuencia diferencial.

Fe: Frecuencia de emisión.

- F_iO₂**: Fracción inspirada de oxígeno.
- Fr**: Frecuencia de retorno.
- fRMN**: Resonancia magnética nuclear funcional.
- FSC**: Flujo sanguíneo cerebral.
- Hb**: Hemoglobina.
- HIIT**: Ejercicio interválico de alta intensidad.
- HHb**: Desoxihemoglobina.
- IR**: Índice de resistencia.
- IT**: Índice térmico.
- Lpm**: Latidos por minuto.
- MHz**: Megahertzios.
- NIRS**: Espectrofotometría cercana a los infrarrojos.
- O₂Hb**: Oxihemoglobina.
- OLF**: Oxigenación del lóbulo frontal.
- PA**: Pensión arterial.
- P_aCO₂**: Presión parcial arterial de dióxido de carbono.
- PAM**: Presión arterial media.
- P_aO₂**: Presión parcial arterial de oxígeno.
- PAS**: Presión arterial sistólica.
- PC**: Fosfocreatina.
- P_{ET}CO₂**: Presión parcial de dióxido de carbono al final de la espiración.

- P_{ET}O₂**: Presión parcial de oxígeno al final de la espiración.
- PIC**: Presión intracraneal
- PPC**: Presión de perfusión cerebral.
- RER**: Cociente respiratorio.
- Rpm**: revoluciones por minuto.
- TOI**: Índice de oxigenación tisular.
- v_{ACM}**: Velocidad de la arteria cerebral media.
- VAM**: Velocidad arterial media.
- VCO₂**: Producción de dióxido de carbono.
- V_E**: Ventilación pulmonar.
- V_E/VCO₂**: Equivalente ventilatorio para el oxígeno.
- V_E/VO₂**: Equivalente ventilatorio para el dióxido de carbono.
- v_{media}ACM**: Velocidad media de la arteria cerebral media
- VO₂**: Consumo de oxígeno.
- VO₂max**: Consumo máximo de oxígeno.
- Vs**: Velocidad de la sangre.
- VSP**: Velocidad sistólica pico.
- VTD**: Velocidad telediastólica.
- W**: Potencia generada en vatios
- Wmax**: Potencia máxima generada en vatios durante un test de VO₂max.

RESUMEN

4 RESUMEN.

Introducción

Existe cada día mayor evidencia que sitúa al ejercicio físico como un medio de promoción mantenimiento y recuperación de la salud. El ejercicio interválico de alta intensidad (HIIT), ha demostrado ser igual o más efectivo que el ejercicio moderado continuo en múltiples patologías, además de seguro. Sin embargo, se desconocen sus efectos sobre el flujo sanguíneo cerebral y la oxigenación puesto que hasta ahora no se había medido en estas condiciones. Por otro lado, los sprint se relacionan, en ocasiones con cuadros hipotensivos y sintomatología neurovegetativa, cuya causa podría estar relacionada con la disminución de la oxigenación cerebral. Por todo ello, hemos medido la respuesta vascular cerebral (vACM) y la oxigenación cerebral ante un sprint único y repetido (Wingate) pues la disminución de la presión arterial de CO₂ secundaria a la hiperventilación ejerce un potente efecto disminuyendo el flujo sanguíneo cerebral.

Método

Veinte jóvenes voluntarios participaron en este estudio (edad 24.7±4.7; altura: 176.3±6.2; peso 75.9±9.2; masa grasa 18.8±5.1; VO₂max 3.6±0.6, media±DE). Tras una familiarización con los instrumentos se obtuvo el valor del consumo máximo de oxígeno (VO₂max) mediante un test incremental sobre cicloergómetro. En un segundo día se colocaron los optodos del espectrofotómetro cercano a los infrarrojos (Niro 200Nx, Hamamatsu, Japan) sobre la región prefrontal y sobre el *Vastus lateralis* del cuádriceps, a fin de determinar la oxigenación del lóbulo frontal y muscular respectivamente. Mediante dos sondas Doppler (DWL, Singen, Germany), se midió la velocidad de la sangre en ambas arterias cerebrales medias (vACM). Las variables ergoespirométricas se midieron con un analizador de gases, respiración a respiración (Vmax N29, Sensormedicas). Tras un calentamiento estándar, los sujetos realizaron 4 test de Wingate (sprint de 30 segundos) en modo isocinético (80 rpm) con un período de recuperación entre cada uno de 5 minutos

Resultados

Durante el sprint, la vACM disminuye un 10% respecto de los valores previos (P<0.05). En comparación con el primero, durante el segundo y tercer sprint esta se reduce un 13% más (P<0.005). A pesar de la reducción en la vACM, la oxigenación del lóbulo frontal sólo se redujo en un 4.8% durante el segundo Wingate (P<0.05) y 6.7% durante el 3º (P<0.05) en comparación con el primero mientras que la reducción en el 4º no fue estadísticamente

significativa al compararlo con el 3^{er} sprint. Durante el sprint se observa una disociación entre los cambios en la vACM y los cambios en la $P_{ET}CO_2$. El descenso de la vACM en cada sprint coincide con una disminución de los valores de $P_{ET}CO_2$ del 17 y 28% y 30.5% (33.3 ± 1 , 27.5 ± 1 , 25 ± 1 y 23 ± 1 mmHg, 1^{er}, 2^o, 3^{er} y 4^o sprint, respectivamente) y valores mayores de V_E del 24 y 20 y 12%, durante el 2^o, 3^{er} y 4^o sprints respectivamente ($P < 0.001$). Al interrumpirse la actividad contráctil se redujo bruscamente la vACM un 19% para aumentar posteriormente. También se redujo bruscamente el V_E en $21 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ y el VO_2 en $390 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ en el primer sprint. En los siguientes, los patrones de variación fueron similares aunque algo menos acusados.

Discusión

Este estudio muestra que la vACM disminuye durante los ejercicios de sprint, de forma independiente de la $P_{ET}CO_2$, un parámetro de estimación válido de la $PaCO_2$. La reducción de la vACM no ejerce efectos funcionales sobre la oxigenación cerebral, gracias a la existencia de diversos mecanismos de regulación que incluyen los sistemas simpáticos y miogénicos. Por tanto, es poco probable que el descenso del FSC sea causa de la sintomatología neurovegetativa ni guarde relación con la capacidad de rendimiento.

INTRODUCCIÓN

5 INTRODUCCIÓN

La evidencia en favor del ejercicio como medio para el mantenimiento y recuperación de la salud, así como para el tratamiento de determinadas enfermedades crónicas se ha incrementado considerablemente(1-9). Por ejemplo, existe evidencia de ensayos clínicos aleatorizados que indican que el ejercicio físico es tan efectivo como el tratamiento farmacológico en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca(10), la prevención secundaria de la enfermedad coronaria y en la prevención y tratamiento de la diabetes o en la prevención del deterioro del EPOC(4). Incluso se ha mostrado claramente superior al tratamiento farmacológico en la rehabilitación post infarto cerebral (11).

En los últimos años se está imponiendo un modelo de entrenamiento que difiere del tradicional ejercicio continuo de intensidad moderada que se ha venido recetando o recomendando por parte de los diversos profesionales de la salud. El ejercicio interválico de alta intensidad ha demostrado su superioridad en la prevención y tratamiento del síndrome metabólico, diversas enfermedades cardiovasculares y cerebrales(1, 12-14), además de seguro en pacientes con enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca(10), trasplante cardíaco(15) y enfermedades pulmonares(5). Sin embargo, aún se desconocen los efectos fisiológicos, tanto del sprint como del entrenamiento interválico de alta intensidad sobre

la circulación cerebral pues no han sido, a nuestro conocimiento, estudiados. Más aún, las repercusiones fisiológicas del ejercicio de alta intensidad pueden conducir a efectos devastadores, como hemorragias intracraneales, al exceder la capacidad de la autorregulación cerebral (AC). Por ejemplo, tras un accidente cerebrovascular la capacidad de regulación se ve notablemente disminuida, por lo que un aumento brusco del flujo sanguíneo cerebral (FSC) podría conllevar un importante desafío para la barrera hematoencefálica, que ante estos aumentos de presión pudiera romperse, provocando una hemorragia intracraneal. Por tanto, ante el sensible auge del ejercicio físico y deporte en nuestros días, sumado al estilo de vida actual, en el que el tiempo es un preciado tesoro y la evidencia de que mediante ejercicios de alta intensidad repetidos pueden lograrse mayores resultados en menor tiempo(16) resulta fundamental conocer los efectos fisiológicos y/o fisiopatológicos que ejercen los sprint sobre el organismo y en concreto sobre la regulación vascular cerebral. Un mejor conocimiento de los mecanismos implicados permitirían evitar eventos adversos, y diseñar ejercicios de prevención o rehabilitación adaptados a cada caso particular, o incluso desaconsejar ciertos tipos de ejercicio(1).

Atendiendo a la respuesta contraria, es decir, la disminución de la perfusión, numerosos estudios han sido llevados a cabo para comprender la fisiología de la perfusión cerebral y su respuesta ante diversos estímulos

tanto fisiológicos como farmacológicos, caracterizando las diversas respuestas que permiten mantener relativamente constante la perfusión cerebral. La oxigenación cerebral es crítica, debido a la elevada demanda metabólica necesaria para mantener un adecuado funcionalismo neuronal y una comunicación intersináptica eficiente. El cerebro representa aproximadamente sólo el 2% del peso corporal total, pero sin embargo, recibe en condiciones de reposo entre el 15 y 20% del gasto cardíaco(17). El flujo sanguíneo cerebral total en un sujeto despierto y en reposo representa aproximadamente $50 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de tejido cerebral y a penas debería verse afectado por la activación fisiológica habitual o normal(18). Sin embargo, cada vez existe mayor evidencia que el FSC aumenta en las regiones con incremento de la actividad neuronal para suplir las necesidades metabólicas aumentadas(19). Algunos estudios han demostrado aumentos regionales del FSC durante el ejercicio estático (ej. prehensión manual)(20-22), tareas cognitivas(23, 24) o estímulos visuales(22, 25). La reserva fisiológica natural es considerable. El consumo de oxígeno del tejido cerebral representa $3.5 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de tejido $\cdot \text{min}^{-1}$ y la extracción de oxígeno oscila entre 4 y 8 $\text{mL} \cdot \text{dl}^{-1}$ (17), lo cual representa en torno al 7 a 8% del gasto cardíaco en reposo(17). Aun así, es fundamental un adecuado acoplamiento entre el consumo de O_2 y el FSC (acoplamiento neurovascular) que logre un ascenso o descenso paralelo entre ambos parámetros. El estudio y conocimiento de los mecanismos que regulan el FSC y, por lo tanto, la oxigenación cerebral, posee implicaciones

importantes a diversos niveles. Por un lado, constituye un importante paradigma en neurología, neurocirugía, anestesia y cuidados críticos, habiéndose encontrado que cuando se realiza una monitorización intensiva de la oxigenación cerebral, disminuyen los efectos adversos, pues permite un tratamiento rápido y proporcionado(26-29). Por otro, es posible que represente un factor limitante relacionado con el rendimiento deportivo(30). El ejercicio de sprint se asocia en ocasiones con mareo, acompañado de síntomas neurovegetativos y vómitos o incluso síncope(31) cuyas causas, aún hoy, permanecen desconocidas. Una causa potencial es la reducción del oxígeno cerebral secundaria a la disminución de la perfusión. Los determinantes primarios de la perfusión cerebral(32) los constituyen, el gasto cardíaco (GC)(33), la presión arterial (PA) y la presión parcial de CO_2 (34). Durante el sprint la PaCO_2 desciende debido a la hiperventilación generada, mientras que la tensión arterial se incrementa sensiblemente ($\text{PAS} > 200$ mmHg (Calbet et al. datos no publicados), así como el gasto cardíaco. Es bien conocido que el descenso de la PaCO_2 genera vasoconstricción(18), causa por la que la hiperventilación se utiliza como medio para disminuir la presión intracraneal en pacientes neurocríticos a través del descenso de la perfusión cerebral(35). El que la recomendación actual sea la de realizar hiperventilación moderada no es baladí, ya que en un cerebro con sus mecanismos regulatorios alterados, una excesiva vasoconstricción mediada por el descenso del a PaCO_2 podría disminuir a niveles críticos la oxigenación cerebral, empeorando el cuadro del

paciente. La reducción de la perfusión cerebral puede verse contrarrestada por el incremento de la presión arterial media (PAM) en combinación con un mayor gasto cardíaco (GC)(36). Sin embargo, a pesar de la extensa literatura sobre fisiología de la regulación de la perfusión cerebral, no existen estudios, a nuestro conocimiento, que analicen las respuestas cerebrovasculares ante situaciones de sprint, probablemente por dificultades técnicas.

5.1 ANATOMÍA DE LA CIRCULACIÓN CEREBRAL.

5.1.1 ARTERIAS.

La circulación cerebral, desde un punto de vista anatómico, es objeto de un vasto conocimiento recogido en múltiples publicaciones y libros de texto. Sin embargo, con el objeto de situar al lector, realizaremos un breve recordatorio de su irrigación y drenaje, así como de la histología básica e inervación de las arterias que nutren el cerebro.

Las necesidades metabólicas basales del cerebro son satisfechas únicamente por dos pares de arterias. Por un lado encontramos ambas arterias carótidas comunes (ACC), ramas directas (carótida común izquierda) o indirectas (a través del tronco braquiocefálico, la carótida común derecha) de la aorta y por el otro las arterias vertebrales que surgen de las arterias subclavias (AS). Cada arteria carótida se subdivide, a nivel de las vértebras C3- C4 generalmente, en arteria carótida externa (ACE) y

arteria carótida interna (ACI). La carótida externa, presenta divisiones que irrigan la cara, las partes blandas de la cabeza, gran parte del cuello y de las vísceras cefalocervicales, además de las meninges. Dos ramas terminales presentan una importancia relevante, la arteria maxilar y la temporal superficial. La arteria temporal superficial, puede influir en los valores de oxigenación cerebral medidos por espectrofotometría cercana a los infrarrojos situados en la región frontoparietal(37-40). No profundizaremos más en las ramas de la carótida externa. La ACI penetra a través del conducto carotideo del peñasco por su orificio inferior y lo recorre describiendo casi un ángulo recto. En el interior de este conducto se acoda para seguir horizontalmente en dirección ventral y medial saliendo del peñasco por el orificio del vértice y pasar a la fosa craneal media por encima del fibrocartilago que tapa el *foramen lacerum*. Atraviesa el interior del seno cavernoso apoyada sobre el surco carotideo del cuerpo del esfenoides, lateral a la silla turca describiendo una doble curva en forma de "S", hacia arriba inicialmente, y hacia adelante posteriormente para finalmente seguir otra vez en dirección craneal y algo posterior. Sale del seno perforando la duramadre y se coloca por dentro de la apófisis clinoides anterior, por fuera del quiasma y por detrás del conducto óptico. Esta conformación tortuosa confiere a la arteria carótida interna unas características que según algunos autores podría ser relevante en la regulación del flujo sanguíneo cerebral en respuesta a modificaciones en la $P_a\text{CO}_2$ (41-44).

Esta porción intracraneal conforma mediante las diversas subdivisiones las principales arterias de la base, que irrigarán todas las estructuras intracraneales anteriores y medias. En primer lugar, como una continuación casi directa de la ACI con un calibre y características similares, encontraremos la arteria cerebral media (ACM). En ella me detendré más adelante, pues constituye el foco de esta investigación. Así mismo, de la ACI surgen entre otras muchas arterias de menor importancia en cuanto a su diámetro, como la arteria cerebral anterior (ACA), que dirigiéndose anteriormente y luego realizando una curvatura que sigue el cuerpo calloso irrigan las porciones más mediales del cerebro a través de la cisura interhemisférica hasta prácticamente la región parieto-occipital y la porción más medial de los lóbulos frontales. Entre ambas ACA una pequeña arteria comunicante anterior produce una anastomosis que permite unir las circulaciones de las ACI derecha e izquierda. Otras colaterales importantes son la arteria oftálmica y la arteria coroidea posterior. La arteria comunicante posterior se anastomosará a la arteria cerebral posterior (ACP) ipsilateral, proveniente de la arteria basilar (AB). Esta última se origina de la unión de ambas arterias vertebrales (AV) que ascienden atravesando los forámenes transversos de las vértebras cervicales hasta el atlas, a cuyo nivel se acoda y se hace horizontal penetrando en el cráneo a nivel del *foramen magnum*. Finalmente, ya intracraneal se funden con la AV contralateral en la arteria basilar. Su función consiste en irrigar la médula espinal, mediante las ramas espinales

y conformar, como ya se ha apuntado, la arteria basilar que a su vez dará ramas pontinas y cerebelares y las dos arterias cerebrales posteriores responsables de irrigar los lóbulos occipitales y las regiones más posteriores de los temporales. Con la anastomosis a las arterias comunicantes posteriores se cierra el polígono alrededor de la silla turca que reúne las circulaciones provenientes de las arterias carótidas comunes de ambos lados con la proveniente de las subclavias, vía arterias vertebrales. Este Polígono de Willis, sujeto a numerosas variables anatómicas, sobre todo a nivel de las arterias comunicantes, tanto anterior como posteriores, permite suplir en parte, disminuciones de alguna de las arterias penetrantes (i.e. ambas ACI y ambas AV) a través del flujo proporcionado por otra de ellas. Por otro lado, el cerebro dispone de varias anastomosis entre las ramas derivadas de las arterias de la base, al nivel medial profundo(45), para preservar la irrigación y función de las estructuras más profundas del cerebro.

La arteria cerebral media (ACM) es de suma importancia para mantener las funciones cerebrales superiores. Exceptuando la arteria basilar (AB), unión de ambas vertebrales, son las arterias de la base del cráneo de mayor diámetro e irrigan fundamentalmente la corteza cerebral de los lóbulos frontales, parietales y temporales existiendo numerosas variaciones interindividuales(46). Su importancia radica, en la perfusión de las áreas rolándicas y pre-rolándicas relacionadas con las funciones

motoras, razón por la cual se utiliza como base en el estudio de las variaciones del flujo sanguíneo cerebral ante tareas motoras. La ACM posee, en sus primeras tres porciones, las más internas y concretamente las que se estudian mediante ecografía doppler, una orientación hacia el lateral con inclinación anterior conformando una “S” itálica para posteriormente dividirse en sus ramas frontales y temporales que surgen desde la cisura de Silvio para perfundir cada una su área.

5.1.2 DRENAJE VENOSO.

El drenaje venoso cerebral procede de algunas venas que acompañan a las arterias o de curso independiente, confluyendo en la yugular interna, la externa, la vertebral y tiroidea inferior que a su vez drenan en los troncos braquiocefálicos venosos. Concretamente las venas que recogen sangre venosa del cerebro son la vena yugular interna, que se origina en la fosa del agujero yugular como continuación del seno sigmoideo y la vertebral que recoge la sangre procedente de los plexos venosos raquídeos y del plexo venoso suboccipital que resulta de la fusión de las venas emisarias que proceden de los senos intracraneales, pero también de venas extracraneales. La vena vertebral se anastomosa directamente con la subclavia que junto con la yugular común conformará a cada lado, los troncos venosos braquiocefálicos.

5.1.3 ESTRUCTURAS RELEVANTES PARA LA REGULACIÓN DE LA CIRCULACIÓN CEREBRAL.

5.1.3.1 ESTRUCTURAS ESPECIALIZADAS DE LA CARÓTIDA.

A nivel del triángulo de la carótida, donde se bifurcan las arterias carótida externa e interna existen una serie de receptores sensoriales con gran relevancia a nivel de la regulación homeostática, cardiovascular y respiratoria. Son los barorreceptores del seno carotideo y los quimiorreceptores del cuerpo carotideo.

El seno carotideo es una dilatación de la porción terminal de la ACC y el inicio de las ACI y ACE, especialmente de la primera, debido en parte a la disminución de las fibras musculares que componen su pared. A este nivel se encuentra los barorreceptores carotideos, capaces de estimularse por modificaciones en la tensión de la pared arterial y, a través de fibras aferentes, regular la presión arterial mediante la estimulación (el aumento de la tensión genera una respuesta vagal con disminución de la frecuencia cardíaca y la inhibición de la estimulación vasoconstrictora de las arterias periféricas) o inhibición del núcleo dorsal del vago y el centro vasoconstrictor del bulbo (la inhibición genera el efecto contrario, produciendo taquicardia y vasoconstricción periférica). Este tipo de receptores, no sólo se encuentran en el seno carotideo, pudiendo encontrarlos a nivel de otras grandes arterias (como el cayado aórtico)

El cuerpo carotideo o glomus carotideo es un órgano localizado justo en la bifurcación que presenta quimiorreceptores sensibles a cambios en la composición química de la sangre, es decir, la P_{aO_2} , P_{aCO_2} y pH, regulando la ventilación pulmonar a través de fibras aferentes que alcanzan el centro respiratorio aumentando la frecuencia ventilatoria en respuesta a aumentos de la P_{aCO_2} o descensos del pH y la P_{aO_2} . Por otro lado, presenta fibras simpáticas que producen liberación de adrenalina y escasas fibras parasimpáticas que estimulan el nervio vago. La diferencia fundamental entre los quimiorreceptores del cuerpo carotideo y los presentes en el cayado aórtico, es que los primeros se activan frente a cambios en la P_{aO_2} (hipoxia hipóxica) mientras que los segundos en respuesta a la hipoxia anémica (es decir, disminución del contenido de O_2 en la sangre). Además, los quimiorreceptores aórticos no generan efectos ventilatorios sino exclusivamente cardiovasculares.

La importancia de los barorreceptores carotideos, con respecto al tema que nos ocupa, radica en la demostración en varios estudios de sus efectos sobre la regulación del flujo sanguíneo cerebral ya sea por sus efectos sobre la reactividad a la P_{aCO_2} (47), la frecuencia cardíaca(48, 49) o en la regulación autonómica en cuadros hipotensivos(50).

5.1.3.2 INERVACIÓN DE LA VASCULARIZACIÓN CEREBRAL.

Los vasos cerebrales están inervados por dos sistemas diferentes. Por un lado la inervación de los vasos extraparenquimatosos y por otro la inervación intrínseca de los intraparenquimatosos(51, 52). Aunque cada día se conoce más sobre su papel, los conocimientos relativos a sus efectos sobre la regulación del flujo sanguíneo cerebral siguen siendo objeto de controversia(53-58) ya que existen divergencias en los resultados obtenidos ya sea por problemas metodológicos, diferencias entre especies, factores de confusión, etc.(59) Sin embargo, existen estudios en humanos que demuestran o al menos sugieren un efecto más que testimonial en la regulación del flujo sanguíneo cerebral(50, 57, 60-69). Estos efectos pueden proceder de dos vías. Por un lado, la vía simpática, con origen en el ganglio simpático o núcleos del troncoencéfalo y, por otro, a través de neuromediadores circulantes simpaticomiméticos(59).

5.2 FISIOLÓGÍA DE LA REGULACIÓN DE LA CIRCULACIÓN Y OXIGENACIÓN CEREBRAL. ¿QUÉ SABEMOS HASTA EL MOMENTO?

A pesar de la extensa cantidad y variedad de literatura existente, los mecanismos de la autorregulación y la interrelación de los diversos sistemas implicados en la regulación de la perfusión cerebral siguen sin

estar completamente definidos. La perfusión y oxigenación cerebral son clave para el correcto funcionamiento del organismo. Ya desde tiempo atrás se conoce la intensa vascularización cerebral, la importancia de las arterias piales, las anastomosis, tanto a nivel del de las arterias mayores (Polígono de Willis) como de ramas regionales, e incluso la influencia de la PaCO₂, la presión arterial, la actividad simpática, y otros mediadores, sobre la fisiología de dichas arterias y la perfusión cerebral(45). El estudio del flujo sanguíneo y del metabolismo cerebral, se multiplicó a raíz de la descripción del método de medición con gases inertes por Kety en 1945(18). A pesar de ello, las dificultades para aislar unos fenómenos de otros, la influencia de la activación cerebral sobre el resto de la fisiología, o viceversa, y la influencia de las alteraciones homeostáticas del organismo sobre la vascularización cerebral convierten en ardua la tarea de determinar el grado de relevancia de cada mecanismo respecto del otro. Este aspecto es de suma importancia, pues determinadas patologías inducen déficit en la autorregulación cerebral, que pueden, o no, ser compensados por otros mecanismos. Este aspecto, tan específico de la regulación de la circulación cerebral, debe llevar a un abordaje más integrativo de las respuestas fisiológicas, que permita comprender las variaciones y respuestas en su contexto(70), aunque aún quede mucho por comprender. Sin embargo, no deja de ser necesario, para una mejor comprensión fisiológica, que se desgranen los diversos mecanismos

implicados, tratando eso sí de no olvidar el intrincado laberinto de sistemas que se cruzan entre sí, sumando o contrarrestando sus efectos.

5.2.1 AUTORREGULACIÓN CEREBRAL.

La autorregulación cerebral consiste en un mecanismo de homeostasis cerebral cuyo objetivo es mantener el FSC constante a pesar de cambios importantes en la presión arterial(18). La presión de perfusión cerebral (PPC) depende de la presión arterial media (PAM) y de la presión intracraneal (PIC) mediante la siguiente relación:

$$PPC = PAM - PIC$$

Asumiendo que el FSC debiera permanecer relativamente constante y que la PIC debe mantenerse en valores fisiológicos (1- 20 mmHg), es necesaria la existencia de un mecanismo que regule el FSC, al menos en un intervalo de PAM entre 60 y 150 mmHg(32, 71) y así evitar que la presión hidrostática genere edema, hipertensión intracraneal o eventos isquémicos o hemorrágicos. Los límites superior e inferior de la autorregulación no son estrictos pues varía con los niveles de PCO_2 o la lactacidosis tisular(18), y se afectan con ciertas patologías. Por ejemplo, en casos de hipertensión crónica, la curva se desplaza hacia la derecha, es decir hacia un nivel más elevado, y así proporciona una mayor y mejor

protección frente a la hipertensión. Como contrapartida tendrá menos capacidad de adaptación a los cuadros hipotensivos.

Tal y como está planteada la autorregulación, refleja la capacidad del cerebro para adaptarse a cambios simples en la PA. Es decir, una modificación de la PA, induciría modificaciones de la vascularización cerebral para adaptarse a dichos cambios, adquiriendo un nuevo estado de equilibrio. Estos cambios necesitarían su tiempo para establecerse. La curva de autorregulación representa típicamente una fase de meseta en la que la autorregulación es efectiva. Por encima y por debajo de dicha meseta dos pendientes nos adentran en la región inefectiva(72, 73). Estos cambios pueden replicarse con facilidad en condiciones experimentales manipulando por diversos medios la PPC y monitorizando los cambio en el FSC a través de la medición de un sustituto de la misma como la velocidad de la sangre por Doppler transcraneal (73) como veremos más adelante.

La autorregulación cerebral requiere que los mecanismos simpáticos(64), colinérgicos(62) y miogénicos(74) estén intactos. La teoría mayormente aceptada es la del mecanismo miogénico que sugiere que el FSC se regula a través de efectores locales vasomotores que regulan la resistencia cerebrovascular y promueven variaciones de baja frecuencia en los diámetros arteriolares(75) sin participación alguna del sistema nervioso autónomo y en la región del límite inferior de la autorregulación. Este último representaría el segundo contribuyente neto a la

autorregulación activa, fundamentalmente en su niveles superiores, mientras que el sistema colinérgico contribuiría leve pero significativamente, también en los niveles superiores de la autorregulación activa y una vez sobrepasados los límites de la misma(64).

5.2.2 ACOPLAMIENTO NEUROVASCULAR.

Ya hemos introducido el concepto de acoplamiento neurovascular a lo largo de la introducción. A continuación desarrollaremos algunas de las peculiaridades del mismo. La activación neural, genera señales vasodilatadoras sobre las arterias piales que aumentan a su vez el FSC(70, 76). Los mecanismos moleculares implicados exceden con mucho el propósito de nuestro estudio, pero sí conviene recordar la necesidad imperiosa del cerebro de acoplar la perfusión y oxigenación de sus células a sus necesidades metabólicas, hecho reconocido desde hace más de un siglo (Donders, 1851, Mosso, 1880 y Roy & Sherrington, 1890 a través de Willie, 2014(70)). Sin profundizar en exceso, este mecanismo requiere de una intrincada relación entre los componentes de la unidad neurovascular (neuronas, células de la glía, y las arteriolas penetrantes corticales). Sirva como ejemplo, que la estimulación visual genera una activación del córtex visual y en paralelo un incremento de la velocidad de la sangre en la arteria cerebral posterior que irriga el lóbulo posterior. Este incremento sigue siendo evidente aún sobre un aumento previo de la velocidad secundario a ejercicio físico(77), cuando podría pensarse que las necesidades

metabólicas estuvieran sobradamente satisfechas, lo que da a entender la relevancia de la activación neuronal en la regulación del FSC. No queda, por tanto, qué decir de los efectos que la intensa activación del comando central, generada durante el sprint pudiera implicar. Existe evidencia del rol del endotelio arteriolar como efector principal en el acoplamiento funcional entre la perfusión y la función neuronal. Su papel en la hiperemia funcional, vía vasodilatación, mediada por el endotelio, sugiere la necesidad de investigar las relaciones entre los sistemas vasculares sistémico y cerebral(78). A pesar de que este estudio focaliza sobre la vasodilatación y, por tanto, el incremento del FSC, puede sugerir nuevas vías para la regulación del FSC, también como mecanismo inhibitorio.

5.2.3 EFECTO DE LOS GASES SANGUÍNEOS SOBRE LA REGULACIÓN CEREBRAL.

La autorregulación cerebral opera en un rango de presiones entre 60 y 150 mmHg manteniendo el FSC constante siempre y cuando el GC y la P_aCO_2 se mantengan constantes(32, 71). Hauge et al.(79) demostraron que el ejercicio atenuaba la pendiente de la relación lineal entre la vACM y la P_aCO_2 , de forma más marcada durante la hipocapnia que durante la hipercapnia. En reposo, los elevados niveles de P_aCO_2 se asocian a vasodilatación y a incrementos del FSC, mientras que ocurre todo lo contrario con su disminución. Esta propiedad, se utiliza en el tratamiento de los incrementos de la tensión intracraneal, basándose en la doctrina de

Monroe Kelly, que establece la necesidad de un equilibrio entre los tres compartimentos intracraneales para mantener la tensión intracraneal(17). Lo curioso en cambio, es que tanto en reposo como durante el ejercicio, las variaciones de P_aCO_2 son capaces de producir cambios en la $vACM$, sin cambios o sólo con leves cambios en el diámetro arterial(80). Esta vasorreactividad cerebral parece poder ser secundaria al pH del líquido cefalorraquídeo en contacto con las arteriolas, así como a los cambios inducidos en la ventilación en respuesta a los elevados niveles de CO_2 que modifican el pH a nivel del tronco encefálico(18). Gracias a este sistema de regulación el tejido cerebral se defiende contra cambios agudos que generan acidosis respiratoria y alcalosis(19). Sin embargo, estos mecanismos parecen no estar implicados en la autorregulación y el control químico del LCR a tenor de los experimentos de Skinhoj(34) y Paulson(71). Los efectos de la P_aCO_2 sobre el tronco-encéfalo no parecen influenciar el flujo sanguíneo de los hemisferios cerebrales, mientras que cambios a nivel de las arterias carótidas sí condicionan modificaciones en la región cerebral correspondiente(81).

A parte de los efectos de la P_aCO_2 , la presión parcial de O_2 también constituye un importante estímulo vasodilatador, pero únicamente con niveles suficientemente disminuidos de P_aO_2 (50 mmHg o S_aO_2 de 80%)(72). Smith y Wong, comprobaron en el estado opuesto, que la hiperoxia disminuía la $MCAv$ y la $PCAv$ (80).

5.2.4 MECANISMO MIOGÉNICO.

Los vasos sanguíneos poseen una capacidad intrínseca de respuesta ante aumentos de la presión transmural. Al aumentar, la PA, el GC y por consecuencia la presión de perfusión, el elongamiento del músculo liso activa la fosfolipasa C que inicia una cascada de acontecimientos que causan vasoconstricción arterial(82) limitando la presión transmural sin variación significativa del flujo sanguíneo(83, 84). Este mecanismo, está mediado por canales de calcio que aumentan el flujo de calcio hacia el interior de la célula. La existencia de mecanismos miogénicos ha sido demostrada en animales(85) y en humanos administrando bloqueadores de los canales del calcio(74), aunque su contribución e importancia relativa entre los múltiples sistemas de regulación y contrarregulación aún no está suficientemente definida, por la dificultad de aislar dicho mecanismo los efectos generados por el sistema simpático(64). Sin embargo, esto no disminuye la importancia del control miogénico, sino que viene a demostrar que su importancia está infraestimada(74). Hamner et al.(61) realizando una descomposición de ANCOVA sugirieron que ambos mecanismos actúan preponderantemente en situaciones diferentes. El mecanismo miogénico sería cuantitativamente el mayor determinante de la relación presión flujo, fuera del rango de la autorregulación cerebral, y en los límites inferiores de la región activa de autorregulación(61). Precisamente es en el rango en el que la autorregulación es menos efectiva, donde su función se convierte en

primordial para evitar tanto una posible isquemia como una hemorragia(61).

5.2.5 MECANISMO NEUROGÉNICO.

Los mecanismos neurogénicos implican la actividad de los sistemas simpático(64), colinérgico(62) y miogénico(74). Su actividad es controvertida. Algunos estudios sugieren una parca influencia sobre la vascularización cerebral(86-88). De hecho, experimentos en animales demostraron ninguna o ligera influencia sobre la AC(67, 89, 90), mientras que otros han demostrado justamente lo contrario en animales(91, 92) y en humanos(60, 66). El control autonómico podría jugar un importante papel en la regulación latido a latido del flujo sanguíneo cerebral, es decir en la autorregulación dinámica(87).

El sistema nervioso simpático podría actuar a través de varios mecanismos. Por un lado a través de los barorreceptores cardíaco y carotídeos, que podrían ejercer un rol predominante sobre el control de la $v_{media}ACM$, más que sobre la presión arterial, regulando la perfusión cerebral durante el ejercicio a pesar de que se haya observado una reducción del efecto de los cambios en el GC sobre la $vACM$ pudiendo estar este efecto relacionado con una reducción de la sensibilidad de los receptores durante el ejercicio(48, 87).

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

6 OBJETIVOS.

1. Describir la respuesta de la oxigenación y perfusión cerebral al ejercicio de sprint.
2. Determinar la influencia de la $P_a\text{CO}_2$, en la regulación del flujo sanguíneo cerebral durante el ejercicio de sprint y su relación con la respuesta ventilatoria.
3. Determinar si los cambios en la oxigenación cerebral pudieran tener alguna implicación en los mecanismos de fatiga o la sintomatología neurovegetativa que ocurre en ocasiones tras un sprint máximo.
4. Esbozar los mecanismos protectores ante la hipo e hiperperfusión cerebral durante el esfuerzo de alta intensidad.
5. Determinar los efectos del sprint repetido sobre la regulación del flujo sanguíneo cerebral.

7 HIPÓTESIS.

Nuestra hipótesis de trabajo es, que la caída de la PaCO_2 secundaria a la hiperventilación durante el ejercicio de sprint conlleva un descenso de la oxigenación cerebral como consecuencia de la disminución del flujo sanguíneo cerebral. Este fenómeno debiera ser más intenso con la repetición del sprint y además, pudiera estar relacionado con la sintomatología neurovegetativa que presentan algunos deportistas y la limitación del rendimiento, siendo un factor clave en la aparición de la fatiga.

MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

8 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS.

8.1 ASPECTOS ÉTICOS.

Este estudio se desarrolló como parte de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) y Cátedra Real Madrid de la Universidad Europea de Madrid. Así mismo, ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Todos los sujetos participaron voluntariamente en el experimento tras ser informados verbalmente de los riesgos y beneficios de los protocolos experimentales. El estudio no conlleva ninguna prueba invasiva o dolorosa. Tras una breve evaluación médica orientada a descartar cualquier potencial contraindicación para la realización de ejercicio se les solicitó firmar un consentimiento informado. Durante cada test un médico estaba presente con el fin de atender cualquier posible emergencia. El primer día, además se solicitó a los sujetos cumplimentar un cuestionario PAR-Q sobre actividad física y salud(93).

8.2 MUESTRA Y PRETEST EXPERIMENTALES.

Se incluyeron un total de 20 sujetos en el estudio, a los que se les pidió abstenerse de ingerir bebidas carbonatadas, con contenido en cafeína o taurina y alcohol, ayunar en las 12 horas previas y no realizar ejercicio en las 24 horas previas a la realización de cada prueba

experimental. Todas las mediciones se realizaron entre las ≈ 8 AM y las ≈ 14 PM.

8.2.1 COMPOSICIÓN CORPORAL.

Cada sujeto fue pesado y medido en bipedestación con los talones, glúteos, espalda y occipucio en contacto con el plano del tallímetro sobre una balanza (Atlántida, Año Sayol, Barcelona, Spain). La balanza fue calibrada convenientemente antes de cada medición con pesos de 50.0, 70.0 o 90.0 Kg mediante masas patrón de la clase M1. La precisión respecto del peso fue de 50 g. La talla se realizó con una precisión de 1 mm manteniendo la cabeza en el plano de Francfort.

8.2.2 MASA MUSCULAR, MASA ÓSEA Y PORCENTAJE DE GRASA CORPORAL.

La medición de composición corporal se realizó mediante absorciometría fotónica dual de rayos X (Lunar iDXA, General Electric, Wisconsin, USA) tal y como describió Pérez Gómez (2008)(94). El aparato se calibró previamente a cada procedimiento mediante una barra de calibración de diversos grosores y densidades. Posteriormente se determinó la masa magra (masa corporal – [masa grasa – masa ósea]) de cada sujeto en posición supina calculándose la masa magra (g), la masa grasa (g), el área ósea total (cm²) y el contenido mineral óseo (BMC) (g)

mediante el mismo procedimiento utilizado con anterioridad en nuestro laboratorio(9, 95) .

Tras la obtención de los parámetros antropométricos, se realizó una familiarización con los instrumentos, se ajustó el cicloergómetro a las características del sujeto y se anotaron dichos parámetros para su reposición el día dos del experimento.

8.2.3 CONDICIÓN FÍSICA.

El primer día se procedió a la realización de un test incremental en rampa a 80 rpm hasta la extenuación, mediante un cicloergómetro de frenado eléctrico (Excalibur Sport 925900, Lode, Gröninge, The Netherlands) y un analizador de gases VmaxN29 (SensorMedics, California, USA), obteniéndose el consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}), la frecuencia cardíaca máxima y la potencia máxima generada, además de los parámetros ventilatorios de los sujetos (VO_2 , VCO_2 , $EtCO_2$, V_E , frecuencia respiratoria) como ha sido descrito anteriormente(96). La extenuación se definió como la incapacidad del sujeto de mantener la cadencia de pedaleo con una caída de la misma por debajo de las 50 rpm o la finalización del mismo a pesar de la una intensa estimulación verbal. La rampa se individualizó para cada sujeto en función de su nivel de entrenamiento de manera que se lograra el consumo máximo en 10 a 12 minutos de media(97, 98). El analizador de gases fue calibrado previo a

cada test siguiendo estrictamente los protocolos del fabricante y una mezcla de gases de calibración certificados (Carburos metálicos, Gran Canaria). En la tabla 1 quedan reflejadas las variables antropométricas y ergoespirométricas de cada sujeto.

Tabla 1: Edad, composición corporal y consumo de oxígeno de los sujetos incluidos en el estudio

Sujeto	Edad	Altura	Peso (Kg)	Masa grasa (%)	VO ₂ máx	VO ₂ max (ml.kg.min ⁻¹)
1	29,0	181,3	70,3	10,8	3,84	54,6
2	24,0	191,2	96,1	17,8	4,39	45,6
3	21,0	178,8	75	22,6	3,40	45,4
4	23,0	176,4	81,2	23,7	4,40	54,2
5	24,0	173,5	92,4	28,4	3,06	33,1
6	21,0	180,5	74,1	29,1	2,93	39,5
7	21,7	181,5	78,1	18,2	4,03	51,6
8	20,8	181,9	85,4	16,7	4,13	48,4
9	23,5	160,5	69	19,8	3,00	43,5
10	21,9	178	70,1	15,2	3,55	50,7
11	23,0	174,2	66,6	18,6	3,45	51,8
12	23,7	172,5	82,9	17,5	4,75	57,3
13	29,4	177,8	87,5	9,8	4,34	49,6
14	23,3	180	68,3	14,6	3,23	47,3
15	21,2	171,3	78,6	15,7	3,45	44,0
16	27,7	173,8	65,9	17,8	3,65	55,4
17	21,9	178,8	75	26,1	2,73	36,4
18	21,3	173,3	67,4	18,5	3,82	56,7
19	37,9	170,3	68,7	18,6	3,77	54,9
20	34,4	170,9	64,9	15,8	2,88	44,4
MEDIA	24,7	176,3	75,9	18,8	3,6	48,2
DE	4,7	6,2	9,2	5,1	0,6	6,8

8.2.4 MEDICIÓN DE LACTATO.

Al comienzo del test, una vez subido el sujeto al cicloergómetro se aplicó Finalgon en el lóbulo de la oreja a fin de volverla hiperémica y facilitar la obtención de muestras. Se realizó una punción en el lóbulo de la oreja mediante lancetas para obtener muestras de los capilares sanguíneos y

realizar mediciones de lactato mediante un analizador Lactate Pro (Akray, Japan).

8.2.5 TEST DE WINGATE.

Tras un ligero descanso activo se realizó una familiarización del test de Wingate sobre el mismo cicloergómetro (Excalibur Sport 925900, Lode, Gröningen, The Netherlands), fijando fuertemente ambos pies a los pedales. Se realizaron dos test de Wingate en modo isocinético a 80 rpm, simulando los test a realizar el segundo día de mediciones. El modo isocinético no permite que la frecuencia de pedaleo aumente por encima del valor preestablecido (80 rpm). El cicloergómetro aplica una fuerza de frenado proporcional a la fuerza impresa sobre los pedales. A mayor fuerza aplicada, mayor es el frenado aplicado por el cicloergómetro, impidiendo cambios en la velocidad. Durante el test se motivó enérgicamente a los sujetos.

El test de Wingate consiste en un sprint de 30 segundos utilizado para medir la potencia máxima anaeróbica (ATP-PC) pues se ha relacionado con el rendimiento en pruebas con metabolismo anaeróbico importante(99) y capacidad glicolítica aunque probablemente ambas son infraestimadas (100, 101). Aun así, se considera que hasta el 80% de la energía procede de vías anaerobias(102), lo que queda demostrado en la alta acumulación de lactato intramuscular tras el test (103, 104). A pesar

del amplio esfuerzo anaeróbico y del incremento de la ratio AMP/ATP muscular (3.2 veces) (105) las vías aeróbicas llegan a activarse en este corto intervalo de tiempo proporcionando cierta resíntesis del ATP (100-102).

El test, tal y como es usado en la actualidad presenta ligeras modificaciones con respecto al original, planeado en el Instituto Wingate de Israel. Aquel test original utilizaba el 7% del peso del sujeto como resistencia de frenado(106) mientras que en la actualidad se utilizan sistemas de frenado que permiten mantener unas mismas revoluciones por minuto durante los 30 segundos, es decir se realiza en modo isocinético(107). Este modo surge para remediar el hecho de la variación de consumo de oxígeno existente en un mismo sujeto que pedalea a una misma intensidad pero a diferentes revoluciones(108-110). En los test utilizados durante el estudio se situó el nivel de rpm en 80 ya que como determinaron Jones et al en 1985(107) la acumulación de metabolitos y potencia son similares en el rango entre 60 y 140 rpm, rango que suele alcanzarse en el Wingate clásico (101). Además se han tenido en cuenta las aportaciones de Coast y Welch(109) que demostraron que la frecuencia óptima de pedaleo para una carga moderada (300W) se sitúa en torno a las 80 rpm. Si bien en los test suelen alcanzarse cargas pico de más de 600W en los que se sugiere que la velocidad de pedaleo ideal es de 120 rpm, esta decae rápidamente por lo que se ha optado por las 80 rpm como

frecuencia estándar, teniendo en cuenta que se evalúan sujetos activos pero no profesionales. Tal y como se concibe el test de Wingate en la actualidad, la potencia de frenado que ejerce el cicloergómetro, proporcional a la fuerza aplicada por el sujeto sobre el pedal, impide que, a pesar de generar mayor potencia, la frecuencia de pedaleo supere las 80 rpm prefijadas o sean menores a medida que la fatiga disminuye la fuerza impresa.

8.3 .PROTOCOLO EXPERIMENTAL DEL DÍA 2. EXPERIMENTO PRINCIPAL.

La figura 1 resume el protocolo experimental para el segundo día de visita de los sujetos al laboratorio. En este día se realizaron las medidas de flujo sanguíneo cerebral (FSC) y oxigenación.

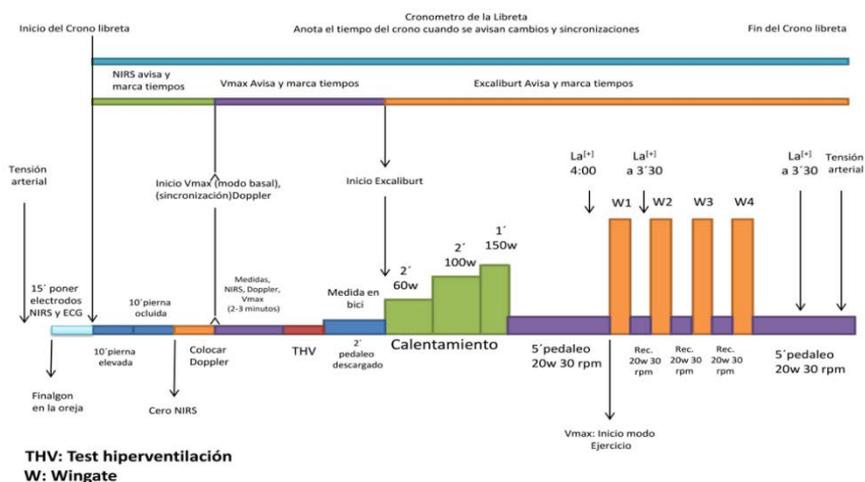


Figura 1: Protocolo experimental del día 2.

8.3.1 OXIGENACIÓN MUSCULAR Y CEREBRAL.

La oxigenación tisular se midió mediante espectrofotometría cercana a los infrarrojos (NIRS) espacialmente resuelta, (NIRO 200, Hamamatsu, Japan). La espectrofotometría cercana a los infrarrojos es una técnica de valoración funcional que permite monitorizar de forma no invasiva cambios en la oxigenación de los tejidos y, por tanto investigar los cambios hemodinámicos que ocurren, incluso durante el ejercicio. Los primeros monitores comerciales se fueron desarrollados por Cope y Delpy en 1988(111, 112), basándose en los trabajos de Jöbsis que demostró en 1977(113) la existencia de cambios hemodinámicos en el córtex cerebral, usando el concepto de espectrofotometría diferencial acuñado por Chance(112, 114).

Desde entonces, el NIRS ha sido usado en situaciones clínicas variadas, especialmente en medicina intensiva y neonatología y algo menos en neurología, donde aún su desarrollo no ha alcanzado las cotas que su potencial le confiere, pero con un futuro prometedor(114). La simpleza de uso, su gran resolución temporal y la adecuada relación entre la señal y el ruido de la misma, la han convertido, a pesar de ciertas limitaciones como la escasa resolución espacial, en una técnica ampliamente utilizada para estudiar los cambios hemodinámicos y evaluar la función cerebral durante el ejercicio.

8.3.1.1 FUNDAMENTOS FÍSICOS.

Desde el punto de vista técnico, el NIRS se basa en los principios físicos de la ley de Beer Lambert, que relaciona la absorción de la luz con las propiedades del material atravesado. En virtud de esta ley, utilizando el espectro cercano a los infrarrojos (longitud de onda entre 700 nm y 1400 nm) pueden investigarse las propiedades específicas de diversos tejidos biológicos. Concretamente estos aparatos utilizan luz entre los 700 y 900 nm de longitud de onda, pues por debajo de los 700 nm se producen enormes pérdidas de señal secundarias a la absorción por parte de la hemoglobina y la dispersión de los fotones, mientras que por encima de los 900 nm la mayor parte de ellos son absorbidos por el agua presente en los tejidos. Sin embargo, a las longitudes de onda utilizadas, la luz es capaz de atravesar la mayoría de los tejidos biológicos, incluido el hueso sin excesiva absorción, es decir sin excesiva disminución del espectro de luz, ni dispersión. En este espectro, las dos principales formas de hemoglobina, la oxihemoglobina (O₂Hb) y la desoxihemoglobina (HHb) poseen diferentes características de absorción óptica, así como la enzima mitocondrial CtOx, permitiendo su medición(115). La oxihemoglobina presenta un espectro de absorción situado alrededor de los 760nm mientras que la desoxihemoglobina la presenta por encima de los 830 nm(116).

La luz se propaga a través de los tejidos, dependiendo de su reflexión, dispersión y absorción. La reflexión se genera en las interfases

entre los diversos tejidos que componen cada órgano (a nivel craneal, piel, calota, duramadre, líquido cefalorraquídeo (LCR) y tejido cortical con sus giros y surcos). En cada interfase la luz es reflejada, pero con un ángulo modificado, que aleja los fotones del emisor tras haber atravesado una determinada cantidad de tejido. Se ha establecido que la luz viaja a través de los tejidos siguiendo un patrón semilunar (117), con una profundidad directamente proporcional a la distancia entre el emisor y el detector(112, 118). Esta propiedad permite el estudio mediante NIRS de objetos suficientemente grandes como para que la luz no pueda atravesarlos por completo debido a la elevada absorción y dispersión. La dispersión es un fenómeno resultante de los cambios en la dirección de los fotones del haz de luz al atravesar diversas superficies, fundamentalmente al pasar de una interfase a otra con diferentes características refractivas. La proporción de fotones perdidos es extremadamente elevada (mayor que los cambios debidos a la absorción por los cromóforos) y debe medirse o estimarse para permitir diferenciar qué cambios en la intensidad de la luz son debidos a la dispersión y cuáles lo son por la absorción de los cromóforos que se pretenden medir. Esta diferencia entre la intensidad inicial de la luz emitida y la de la luz emergente, junto con las diferentes características de absorción óptica, es la que permite conocer la concentración y distinguir, en este caso entre la O₂Hb y la HHb(112, 113).

8.3.1.2 POSICIÓN DE LOS OPTODOS.

Se situaron los optodos en la región prefrontal derecha, para la obtención de la oxigenación cortical y en la región lateral de la porción media del *Vastus lateralis* derecho (Fig. 2) para la obtención de la oxigenación muscular. Colocados los optodos, se estableció un cero. Para ello, el sujeto descansó 10 minutos sobre una camilla con la pierna elevada sobre un cojín, produciendo un vaciado venoso. Tras esto se realizó oclusión de la pierna a 300 mmHg con un inflador rápido (modelo E-20, Hokanson AG Cuff Inflator air source, Bellevue, WA, USA) y un manguito de 20 cm de ancho situado lo más cerca posible del pliegue inguinal. La oclusión arterial se mantuvo 10 minutos más, momento en el que se determinó el cero de oxigenación tisular muscular. Tras desinflar el manguito, se permitieron 10 minutos más para permitir la normalización tras la hiperemia reactiva. Todos los parámetros del NIRS fueron recogidos pero para el análisis se utilizó el índice de Oxigenación Tisular (Tissue Oxigenation Index (TOI))(119). El TOI se define como el ratio de la O₂Hb frente a la Hb total.(112)



Figura 2: Situación de los optodos de NIRS en el Vastus lateralis

8.3.1.3 FORTALEZAS Y LIMITACIONES.

La espectrofotometría cercana a los infrarrojos espacialmente resuelta presenta una serie de características que la convierten en una técnica útil en la valoración funcional de la actividad cerebrovascular. Presenta una buena resolución temporal, que permite identificar cambios en un amplio espectro temporal, no es una técnica invasiva, es barata, inocua, no se altera con las radiaciones electromagnéticas y lo más importante en el caso que nos interesa, no se altera significativamente con el movimiento. Además la resolución espacial aunque no es perfecta, es más que aceptable (1 cm)(112) para la medición en tiempo real de la oxigenación cerebral, si bien limita la investigación a las capas corticales más superficiales. Incrementar la distancia entre el optodo emisor y el receptor(118) permite una mayor profundidad en la obtención de datos. Puede decirse, por tanto, que resulta una técnica útil para la investigación

de la oxigenación cerebral durante el ejercicio, a pesar de los efectos de la circulación cutánea sobre los resultados de la medida(37, 39, 40).

8.3.2 MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO CEREBRAL.

Para medir la velocidad de la arteria cerebral media, se situaron bilateralmente dos sondas ecográficas de 2MHz Doppler conectados a una máquina de ecografía Doppler (Multi Box, DWL, Singen, Germany)(Fig. 3), sobre ambas ventanas temporales.



Figura 3: Multi Box, DWL, Singen, Germany

El único sistema que permite, a pesar de sus limitaciones obtener una valoración a tiempo real del flujo sanguíneo cerebral en condiciones de ejercicio es la ultrasonografía doppler de las arterias de la base. Sin

embargo, nunca había sido usada en situaciones de sprint o ejercicio de alta intensidad, debido a los movimientos rápidos que realizan los sujetos al pedalear y los artefactos que potencialmente podrían generarse.

8.3.2.1 FUNDAMENTOS FÍSICOS DEL DOPPLER.

La ecografía es una técnica basada en las propiedades físicas del sonido. Para ello, se generan ondas de ultrasonidos, es decir, ondas con frecuencias muy por encima del espectro audible humano, entorno a los 2 a 20 MHz, o lo que es lo mismo, entre 2 y 20 millones de ciclos por segundo. La generación de dichas ondas viene determinada por el efecto piezoeléctrico de determinados materiales como los cristales de cuarzo, o más recientemente, ciertas cerámicas. Este efecto supone la producción de ondas sonoras secundarias a la vibración que la estimulación eléctrica imprime a dichos cristales o cerámicas generándose una onda elástica de vibración que precisa de un medio físico por el que propagarse. Las ondas sonoras de frecuencias tan elevadas no se propagan adecuadamente por el aire, siendo necesarias interfaces acuosas (gel) entre el transductor (el generador de la vibración) y el material a estudiar. Esto permite que las compresiones y distensiones de los materiales propaguen la onda como una vibración de sus moléculas. Existe una relación inversa entre la frecuencia y la longitud de onda λ (lambda), definida como intervalo o distancia entre ciclo y ciclo o compresión y compresión del medio por el que viaja el sonido. La frecuencia es inversamente proporcional a la

longitud de onda, es decir, a mayor longitud de onda menor frecuencia y viceversa. La importancia de estos conceptos radica en la penetración que los mismos tienen en los tejidos, de tal manera que a mayor longitud de onda, o menor frecuencia, mayor penetración y a menor longitud de onda o mayor frecuencia, menor penetración. Expresada matemáticamente esta relación es:

$$f = \text{velocidad de la onda} \times \text{longitud de onda.}$$

Posteriormente los ultrasonidos se propagan a través de los diversos tejidos sufriendo diversos fenómenos de absorción, refracción y atenuación, aunque el más importante de todos ellos es la reflexión. Los ultrasonidos reflejados en cada cambio de fase, o cada cambio de tejido retornan en forma de eco al transductor. Debido a que este emite las vibraciones en forma de pulsos, es capaz entre pulso y pulso de recibir las ondas reflejadas donde se producirá el efecto piezoeléctrico de forma inversa. Es decir, el sonido hará vibrar los cristales o cerámicas y dicha vibración mecánica se convertirá en energía eléctrica, interpretada posteriormente por el software de la máquina.

Cristian Andreas Doppler fue el físico que describió el fenómeno que lleva su nombre a mediados del siglo XIX(1802) y aparece cuando la onda de ultrasonido incide sobre una interfase que está en movimiento. Al igual que se explicó anteriormente, la onda sonora vuelve reflejada, en

forma de eco lo que va a ser interpretado por la máquina y su software. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con interfaces estáticas, el movimiento va a generar una modificación en la frecuencia de la onda reflejada de tal manera que esta onda no posee la misma longitud de onda que la original, sino una que será proporcional a la velocidad del objeto(121, 122). Cuando la interfase se acerca al origen de la onda madre, la onda reflejada poseerá una longitud de onda menor, o lo que es lo mismo una frecuencia mayor, igual que cuando una ambulancia se acerca hacia nosotros percibimos el sonido de su sirena cada vez más agudo. En cambio al alejarse la ambulancia, el sonido se volverá cada vez más grave, por el aumento de la longitud de onda o la disminución de la frecuencia del sonido.

Matemáticamente el cambio de frecuencia puede representarse mediante la siguiente ecuación:

$$FD=Fr-Fe(120)$$

donde FD es la diferencia de frecuencias, la Fr la frecuencia que retorna al transductor y Fe la frecuencia emitida.

El efecto doppler puede aplicarse a cualquier interfase en movimiento, tal y como realizan los murciélagos para cazar en la oscuridad. Sin embargo, en medicina o ciencias biológicas se utiliza principal aunque

no exclusivamente para evaluar el flujo sanguíneo. Los eritrocitos de la sangre son los elementos formes que se comportan como interfase móvil o superficie reflectora, permitiendo diferenciar su movimiento hacia la fuente emisora del haz ultrasónico o, si por el contrario, este se aleja de la misma. La variación entre dos pulsos de sonido y las diferentes longitudes de onda que regresan permiten además valorar su velocidad. El pulso reflejado presenta una longitud de onda en el rango audible. Unos altavoces permiten valorar el movimiento, pero hoy en día además de sonido, el software que incorporan las máquinas permite la representación gráfica del espectro sonoro simplificando su comprensión. Mediante sencillos algoritmos y medidas, pueden realizarse los cálculos matemáticos que proporcionan la velocidad del flujo. Esto se realiza mediante la siguiente fórmula:

$$V_s = \frac{K \cdot Fr}{2} \cdot Fe \cdot \theta$$

donde V_s es la velocidad de la interfase en movimiento que se quiere hallar, K es la velocidad de transmisión del sonido en la sangre ($1.54 \cdot 10^5 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$), Fe y Fr son las frecuencias de emisión y recepción respectivamente y θ el ángulo de incidencia. De esto se deduce que el ángulo de incidencia del transductor frente a la dirección del flujo es una variable a considerar. Para un resultado óptimo este ángulo debe ser inferior a 60° .(120)

A nivel técnico existen diversos modos Doppler. Se trata de diferentes representaciones de un mismo fenómeno en función del análisis de la máquina y la representación gráfica. Por un lado, el Doppler espectral es la representación gráfica en un eje de las velocidades en un área específica del vaso sanguíneo. El espectro positivo de la gráfica tiempo-velocidad representa, en el eje de abscisas (velocidad), un flujo que se dirige al transductor mientras que el negativo uno que se aleja. De la curva y su forma, se extraen la velocidad sistólica pico (VSP) y la velocidad telediastólica (VTD). Mediante estos valores es posible el cálculo de la velocidad arterial media (VAM):

$$VAM = \frac{[VSP + (VTD * 2)]}{3}$$

Igualmente permiten obtener la medida de la resistencia del vaso (índice de resistencia) al flujo sanguíneo en el órgano ($IR = \frac{(VPS-VTD)}{VPS}$), de gran importancia en determinadas patologías como, por ejemplo, el vasoespasmio secundario a hemorragia subaracnoidea. A medida que este índice se acerque a 1, significará que la resistencia del vaso es mayor, lo que disminuirá sensiblemente hasta 0 la VTD. (120)

Por otro lado se puede representar el Doppler sobre una imagen en dos dimensiones y escala de grises, mediante una superposición de colores. Por convención se utiliza el color rojo cuando el movimiento

representado sobre la imagen bidimensional representa un flujo que se dirige hacia el transductor y azul cuando se aleja del mismo. Existe toda una amalgama de colores, fundamentalmente amarillos y verdes que representan flujos turbulentos. En realidad este sistema, denominado Doppler color sólo permite valorar la existencia y dirección del flujo. Incluso existe un modo llamado Power Doppler que detecta flujos muy bajos. Cuando es necesario hacer una estimación clínica de las velocidades siempre es necesario aplicar el Doppler espectral. Cuando este se aplica sobre una imagen con Doppler color se denomina Dúplex. Cuando además la imagen Doppler color es una imagen en tiempo real, se le denomina triplex.

8.3.2.2 UTILIDAD DEL DOPPLER PARA LA VALORACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO.

Aunque no es el propósito de esta tesis, se explicarán brevemente las aplicaciones del Doppler en la clínica y la investigación. Es de relevante importancia en determinadas especialidades médicas como cardiología, angiología y cirugía vascular, neurología o cuidados intensivos, tanto a nivel clínico como en investigación. Su uso en la valoración de arterias extracraneales que irrigan el cerebro fue descrito en 1965 por Miyazaki y Kato(123). Más tarde, Aaslid et al. en 1982(124) probaron que mediante la utilización de frecuencias más bajas de las habituales (1- 2 MHz en lugar de 3- 12 MHz) era posible evaluar las arterias intracraneales. De hecho

describieron la existencia de ventanas acústicas en las que la capa ósea era más estrecha, facilitando la monitorización dinámica y continua de la velocidad del flujo sanguíneo y su pulsatilidad(125) en las arterias del polígono de Willis con una alta resolución temporal(75), latido a latido, de forma barata y reproducible.

Velocidad no es igual a flujo sanguíneo, que es la variable de interés, pero al disponer de la velocidad de los eritrocitos y, asumiendo un diámetro estable de la sección arterial, es posible utilizarla adecuadamente como una estimación del flujo. Esta asunción ha demostrado ser válida en numerosos estudios(126-132), al menos para las grandes arterias estudiadas. Sin embargo, a pesar de esta validación, otros investigadores sí han hallado modificaciones del diámetro de las arterias de la base cerebral antes cambios en la P_aCO_2 (133). Por ello, debe tenerse en cuenta esta posibilidad a la hora de interpretar los resultados del DTC. La relación entre flujo, área de sección y velocidad se expresa matemáticamente de la siguiente forma:

$$\text{Flujo} = \text{Área} \times \text{Velocidad}$$

donde el área puede obtenerse por $\pi \cdot r^2$ (r = radio de la arteria). Si el radio se mantiene constante, las variaciones en la velocidad reflejarán cambios en el flujo sanguíneo(32, 70). Aunque el área sea desconocida en un caso determinado, las variaciones o los extremos permitirán obtener

información clínica o fisiológica sobre la variación o adecuación del flujo sanguíneo circunscrito a la arteria investigada. Las modificaciones en la velocidad se deducen a través de la ecuación de Bernoulli, que describe el flujo de los líquidos describiendo su comportamiento respecto a su velocidad y presión a través de diversos conductos. Al pasar de un conducto de un diámetro ancho a uno estrecho, la velocidad de la sangre debe aumentar, mientras que la presión disminuye, para permitir el paso del mismo volumen de sangre. Por ello, se puede afirmar que cuando existe vasoespasmo o disminución del diámetro arterial la velocidad aumenta y viceversa(120).

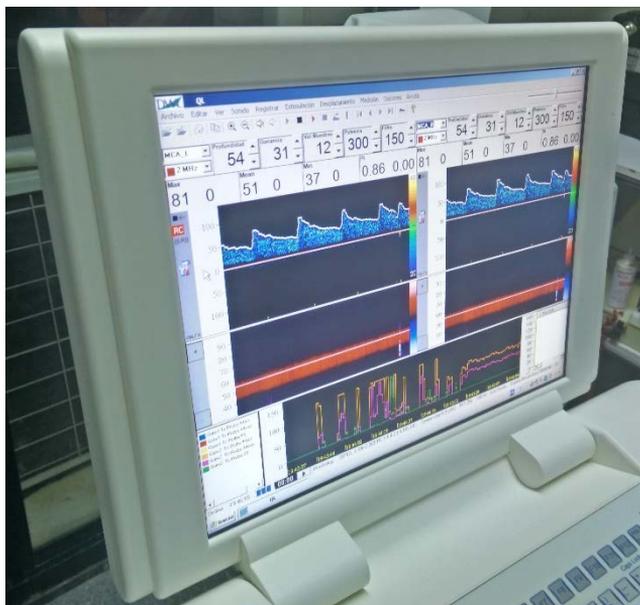


Figura 4: Señal Doppler Arteria Cerebral Media bilateral

Un problema adicional relativo al significado de la velocidad obtenida es que la señal Doppler no representa un valor simple de velocidad, sino una distribución de velocidades que se producen en los distintos círculos concéntricos de la arteria, siendo la mayor en el centro de la misma, en el caso de flujos laminares. Esto requiere por parte de la máquina de complejos cálculos matemáticos a través del análisis espectral, mediante la utilización de segmentos de ≈ 5 s y una transformación de Fourier. Las velocidades arteriales máximas y medias se calculan a partir de la intensidad máxima o media ponderada respectivamente(134, 135).

8.3.2.3 MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO CEREBRAL POR DOPPLER TRASCRAANEAL.

Desde que Aaslid(32) evaluara las arterias de la base mediante Doppler, su utilidad clínica ha ido en continuo crecimiento. Las indicaciones clínicas incluyen, la valoración clínica y de riesgo en pacientes con anemia de células falciformes, la detección evaluación y seguimiento o respuesta al tratamiento del vasoespasmó en la hemorragia subaracnoidea, el diagnóstico de la enfermedad arterial intracerebral por estenosis, el diagnóstico del accidente isquémico cerebral con detección de émbolos y monitorización de la reperfusión, la detección de émbolos, la detección de shunts derecha izquierda, la reactividad vasomotora para el screening de los pacientes con alto riesgo de primer episodio de ictus o recurrencias y

para confirmación diagnóstica de muerte encefálica. Además permite la monitorización en casos de embolismos en enfermedades arteriales intra y extracraneales de la terapia trombolítica, en el perioperatorio de cirugías cardíacas, colocación de stents, o endarterectomías carotídeas(120, 134, 136).

Por otro lado, es innegable su utilidad con respecto a la evaluación funcional del cerebro, ya que permite la evaluación de las modificaciones del flujo secundarias a la activación neural, es decir, el acoplamiento neurovascular(21, 23, 77, 78, 134, 137). El Doppler transcraneal para la evaluación funcional ha demostrado una alta correlación cuando se lo compara con resonancia magnética o tomografía por emisión de positrones(136), pero con mejor resolución temporal, mayor accesibilidad, sencillez en el uso y resistencia a los artefactos.

La evaluación mediante DTC se realiza a través de ventanas ecográficas o acústicas, sin visualización directa de la arteria sino mediante la valoración de aspectos anatómicos (localización, profundidad, orientación del transductor) y funcionales (dirección del flujo, velocidad media, etc). descritas inicialmente por Aaslid(124). A nivel transcraneal, las ventanas utilizadas son la transorbitaria para la AO, la transtemporal, para la ACM, ACA y ACP y transforaminal para la evaluación la AV y AB. En nuestro estudio se valoró la ACM, por ser de fácil acceso, disponer de sistemas de sujeción tipo casco e irrigar zonas implicadas en el

movimiento. Hay que tener en cuenta que las arterias de la base irrigan grandes cantidades de tejido, por lo que a pesar de la existencia de diferencias entre flujos locales(138, 139), el Doppler transcraneal aporta un índice global de perfusión ante un estímulo.

Tabla 2: Parámetros para la localización de las arterias de la base craneal.

Arteria	Ventana	Profundidad (mm)	Orientación del transductor	Dirección del flujo	Velocidad del flujo
OA	Orbital	40-50	Ligeramente medial	Acerca	16- 26
MCA	Temporal	35- 60	De frente	Acerca	46- 86
ACA	Temporal	60- 75	Anterior	Aleja	41- 76
PCA	Temporal	60- 75	Posterior	Acerca	33- 64
VA	Transforaminal	45- 75	Superior y oblicuo	Aleja	27- 55
BA	Transforaminal	70- 120	Superior	Aleja	30- 57

La arteria cerebral media puede localizarse con relativa facilidad atendiendo a diversos criterios. Debe valorarse la relativa relación espacial entre una señal Doppler y otra de la arterias del polígono de Willis, la profundidad y ángulo de incidencia, la dirección del flujo con respecto a la sonda y su relación espacial con la bifurcación entre la ACM y la ACA y la respuesta de la señal Doppler ante la compresión o la vibración de la carótida(134)(Tabla 2). A nivel transtemporal existen tres ventanas, la anterior, la media y la posterior (Fig. 5). La anterior se sitúa sobre el proceso anterior de arco zigomático, mientras que la posterior se sitúa justo anterior a la oreja. La ventana media se encuentra entre ambas. Según la angulación, las tres ventanas permiten la evaluación de la ACM(124, 134). Una de las mayores complicaciones es la variabilidad intra e inter individual existente tanto en la localización, como la calidad de la ventana acústica(134, 140).



Figura 5: Transductor Doppler con casco en la ventana transtemporal. ACM izquierda.

La arteria cerebral media parte del Polígono de Willis hacia cada uno de los laterales, tras su bifurcación de la carótida interna. La ventana anterior es la que mejor calidad ofrece generalmente ya que el ángulo θ será cercano a cero, siendo la medida de velocidad más real a la absoluta. Por la razón contraria la ventana posterior es de menor calidad. La localización de la ACM se producirá entre los 35 y 60 mm de profundidad. Puede utilizarse la bifurcación de la ACA y ACM como referencia anatómica ya que será posible identificar dos señales a profundidades similares, una en dirección opuesta al transductor (ACA) y otra dirigida al mismo (ACM). Esto facilita la adquisición de medidas repetidas en el mismo sujeto en la misma localización. Así mismo, puede realizarse un seguimiento de la carótida interna(134).

8.3.2.4 EFECTOS BIOLÓGICOS Y BIOSEGURIDAD DEL DOPPLER.

Los ultrasonidos no son radiaciones ionizantes, ni poseen efectos biológicos exacerbados pero tampoco son completamente inocuos como suele decirse. En realidad, conociendo los efectos pueden minimizarse y ser completamente insignificantes. El tejido cerebral es probablemente uno de los tejidos más sensibles. El haz ultrasónico se transmite a través del tejido como energía mecánica, pudiendo producir lesiones o incrementar la temperatura de los tejidos insonados sobre todo aquellos con mayor resistencia a su paso como el hueso, por lo que uno de los principios a respetar en la utilización del Doppler transcraneal es la utilización de la mínima potencia que permita la obtención de una señal adecuada (principio ALARA). Los aparatos de ultrasonidos disponen de una herramienta, denominada índice térmico (IT) que se muestra en la pantalla e indica la probabilidad de incremento de la temperatura en los tejidos. A mayor índice, mayor el riesgo de daño térmico. En la literatura se describen los índices máximos de exposición según tiempos de exploración(141, 142).

8.3.2.5 LIMITACIONES.

El DTC presenta una serie de ventajas para el análisis funcional de la circulación cerebral. Permite la medición no invasiva de la velocidad de la sangre en las arterias de la base, con una resolución temporal latido a latido. Combinando este parámetro con la presión arterial, también latido a

latido permite cuantificar la autorregulación cerebral estática o dinámica, incluso en movimiento, lo que la convierte en superior a la fRMN para estos propósitos(75). La fRMN ha permitido delimitar cambios especialmente sutiles en el diámetro de las arterias cerebrales. Sin embargo, no todos los estudios llegan a las mismas conclusiones(130, 132, 133) debido a diferencias en las técnicas utilizadas y a la variabilidad secundaria a la delineación manual de las arterias en el tratamiento de la imagen, limitando la precisión de su teórica mayor resolución(143). Por otra parte, no permite la obtención de imágenes en movimiento, su coste es elevado, precisa de una amplia formación y experiencia para su interpretación y el procesamiento de imágenes resulta complicado y tedioso. Ante este dilema, cabe asumir el uso del DTC, aun existiendo la posibilidad de ligeras modificaciones en el diámetro arterial(133) o incluso mayores(144). Dentro del rango fisiológico, los cambios son probablemente despreciables, pero lo más relevante debe ser conocer el error posible en el que podríamos estar incurriendo, lo que permitirá interpretar adecuadamente los resultados obtenidos(143).

8.3.3 TEST DE SENSIBILIDAD AL CO₂.

A fin de determinar la sensibilidad del FSC al CO₂, se realizó un test de hiperventilación(145). Antes de iniciar el calentamiento, con el sujeto conectado al Doppler, el NIRS y el analizador de gases respiratorios se le solicitó que hipoventilara, respirando a intervalos marcados por uno

de los investigadores, para alimentar el CO₂ sin que la saturación (medida por pulsioximetría) bajara de 90%. Posteriormente, se realizó un test a la inversa, hiperventilando para disminuir el EtCO₂ y paralelamente la P_aCO₂ en función de la tolerancia, generalmente hasta 19- 20 mmHg.

Estas medidas permiten estimar o predecir el decremento en el FSC, ligado a un determinado incremento de EtCO₂, para cada sujeto individualmente. La comprensión de dicha relación permite establecer si durante el ejercicio existe alguna disociación entre ambos valores.

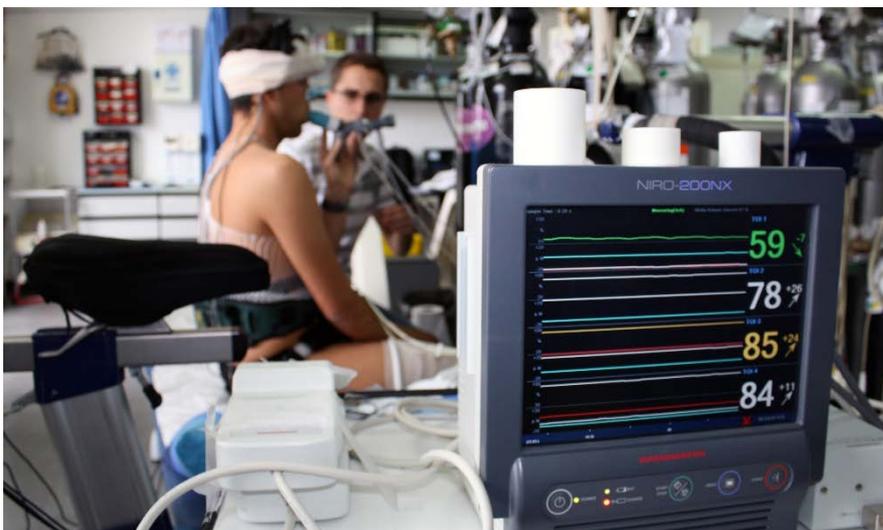


Ilustración 6: NIRO- 200NX registrando 4 señales de TOI (3 músculos y el lóbulo frontal).

8.3.4 TEST DE WINGATE.

Una vez sobre el cicloergómetro de frenado eléctrico (Excalibur Sport 925900, Lode, Groningen, The Netherlands)(Fig. 7) se inicia la fase de calentamiento, consistente en una fase inicial de dos minutos de pedaleo en torno a 80 rpm sin carga seguidos de dos estadios de 2 minutos a 60 y 100 W cada uno y un minuto a 150W. Tras esta fase realizan 5 minutos a 20W a 30 rpm. 30 segundos antes de finalizar la última etapa el sujeto se colocaba en posición para iniciar en su debido momento el primer sprint.

Cada uno de los 4 test de Wingate se realizó motivando enérgicamente a los sujetos, para que alcanzaran su máxima capacidad de esfuerzo. Así mismo, se procuró que no realizaran excesivos movimientos de balanceo con la cabeza, ni se permitió que se levantaran del sillín. Entre cada test se realizó un descanso de 4 minutos y medio pedaleando con una carga de 20W a 30 rpm antes de volver a preparar el siguiente sprint (Fig. 8).



Figura 7: Sujeto sobre cicloergómetro. Al fondo puede observarse el registro de los gases respiratorios.

8.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se determinó en primer lugar la distribución normal de las variables mediante el test de Shapiro-Wilk. La sensibilidad al CO₂ se determinó mediante regresión lineal, así como la relación entre variables, La comparación entre Wingate se realizó aplicando un test de ANOVA para medidas repetidas, mientras que las comparaciones por parejas se realizaron mediante el test de la *t* de Student para datos aparejados, con corrección de Bonferroni-Holm para evitar la propagación de errores debidos a comparaciones múltiples.



Figura 8: Sujeto listo para comenzar el sprint. Se registran simultáneamente las variables respiratorias, el Doppler bilateral y 4 canales de NIRS.

RESULTADOS

9 RESULTADOS.

9.1 SENSIBILIDAD AL CO₂.

La sensibilidad al CO₂ fue comparable entre todos los sujetos. La relación es lineal con una pendiente media de $b^1=1.466$. Esto implica que por cada 1 mmHg que desciende la P_{ET}CO₂, la v_{media}ACM disminuye 1.47 cm·s⁻¹. Como ejemplo, en las figuras 9 y 10 se refleja la relación existente entre el EtCO₂ y la v_{media}ACM. Se observa claramente como el EtCO₂ se correlaciona con un incremento en la velocidad media de la ACM. A menos que exista un deterioro de la AC o que se superpusiese la actuación de otros mecanismos, este sería el comportamiento esperado ante cambios en la P_aCO₂.

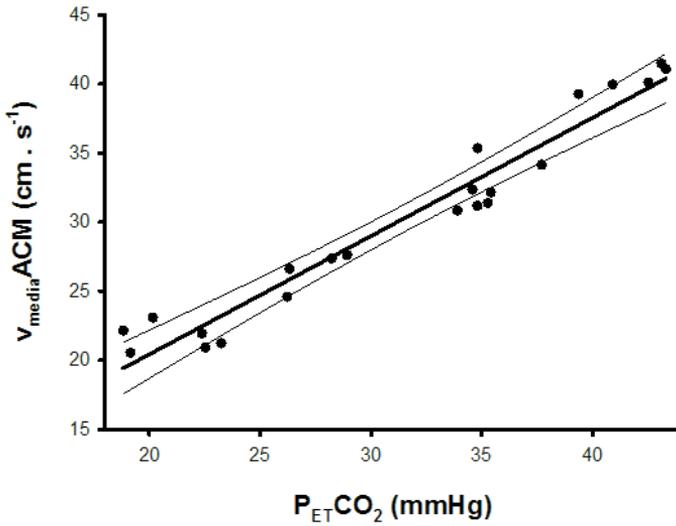


Figura 9: Relación $v_{mediaACM}$ frente a $P_{ET}CO_2$. Sujeto 3.

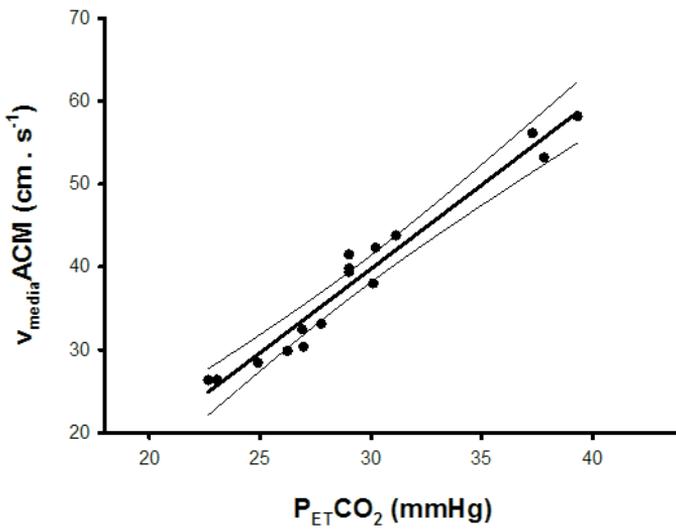


Figura 10: Relación $v_{mediaACM}$ frente a $P_{ET}CO_2$. Sujeto 4..

9.2 RESPUESTA AL EJERCICIO DE SPRINT.

Las respuestas ergo-espirométricas y cardiorrespiratorias al ejercicio de sprint se muestran en las figuras 11 a 21. Los sujetos alcanzaron el 92, 76, 86, 77, 89 y 99% de los valores máximos de FC (Fig. 11), V_E (Fig. 12), VO_2 (Fig. 13), VCO_2 (Fig. 14), V_E/VO_2 (Fig. 15) y V_E/VCO_2 (Fig. 16) respectivamente observados durante el test incremental hasta el agotamiento.

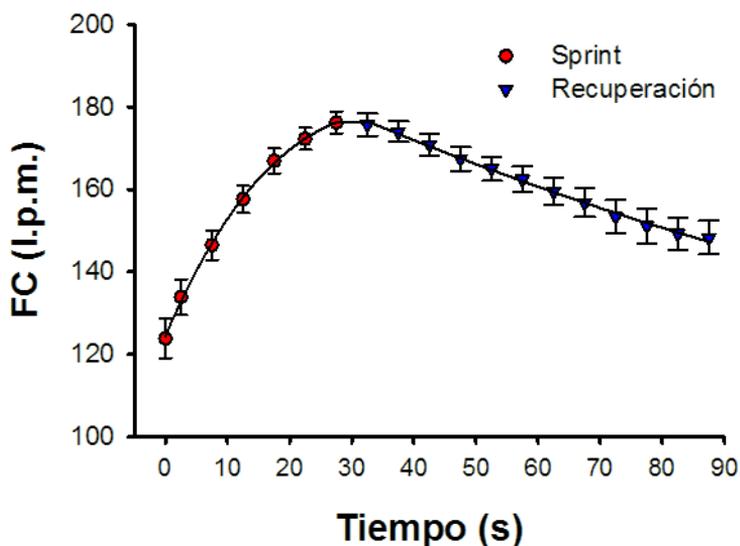


Figura 11: Evolución de la FC durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

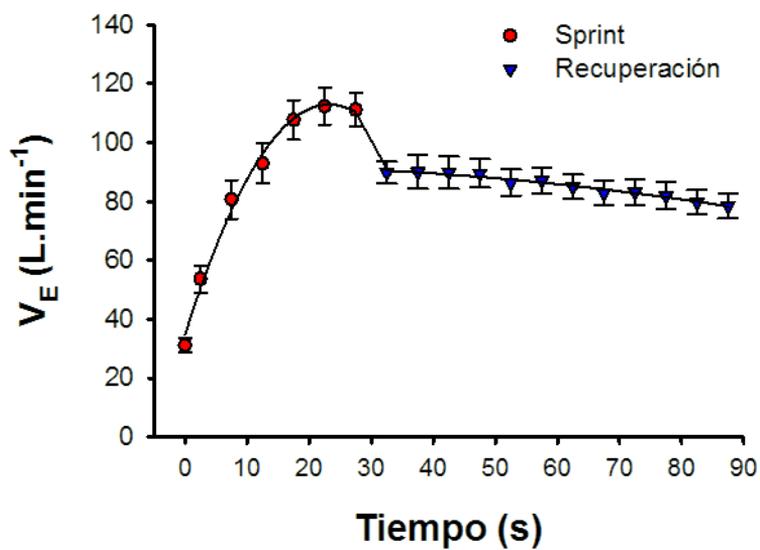


Figura 12: Evolución de la V_E durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

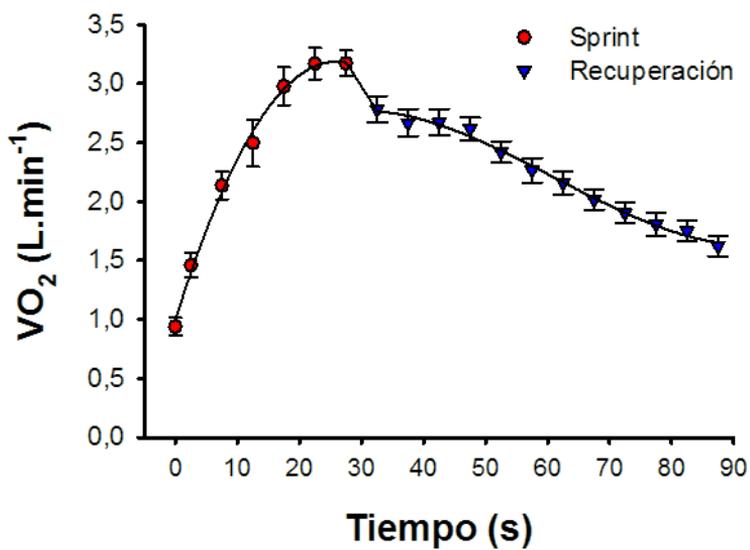


Figura 13: Evolución del VO_2 durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

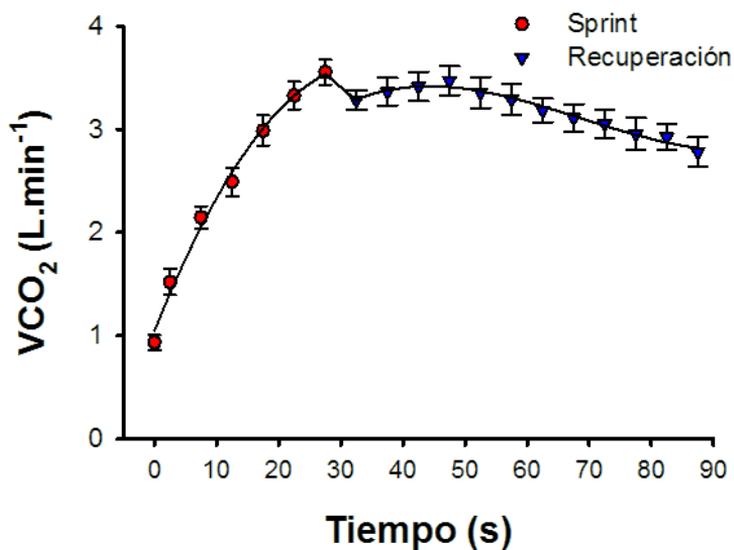


Figura 14: Evolución de la VCO₂ durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

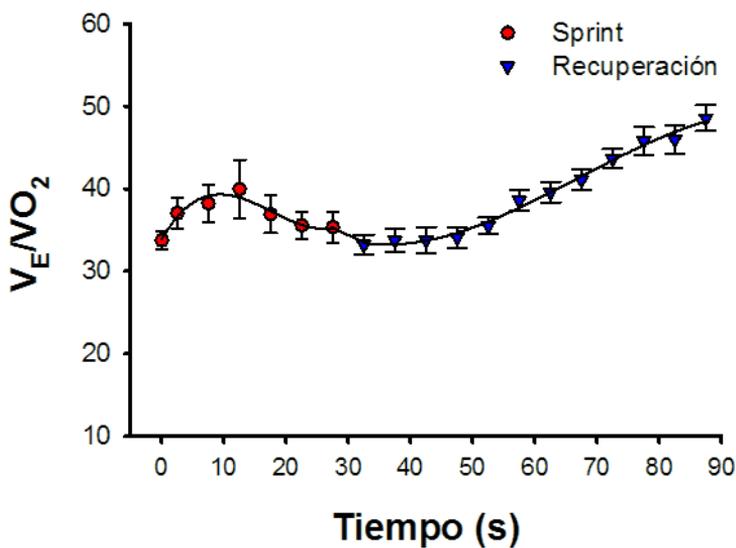


Figura 15: Evolución de la VE/VO₂ durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

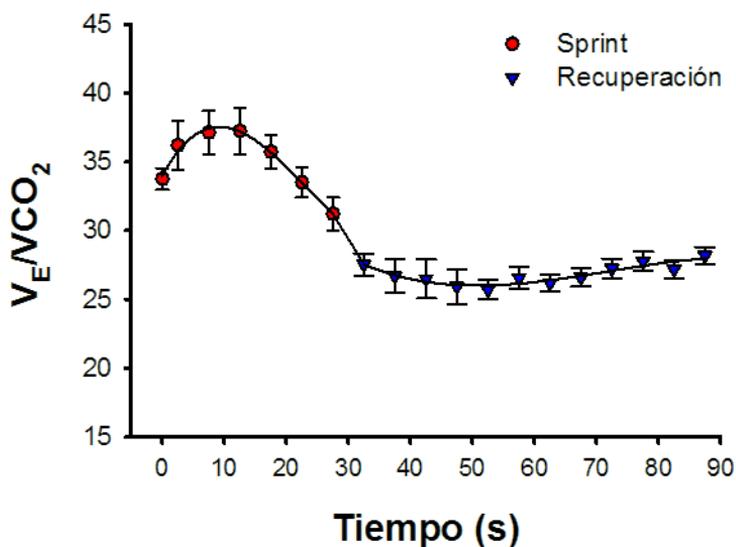


Figura 16: Evolución de la V_E/V_{CO_2} durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

Aunque los valores pico de ventilación se observaron al final del sprint (Fig. 12), la $P_{ET}O_2$ alcanzó los valores máximos a los 12.5 segundos (Fig. 17), momento en el que la $P_{ET}CO_2$ alcanzó a su vez los valores mínimos (Fig. 18), justo cuando el VO_2 se encontraba al 82% de su máximo y la FC al 68% (Fig. 13).

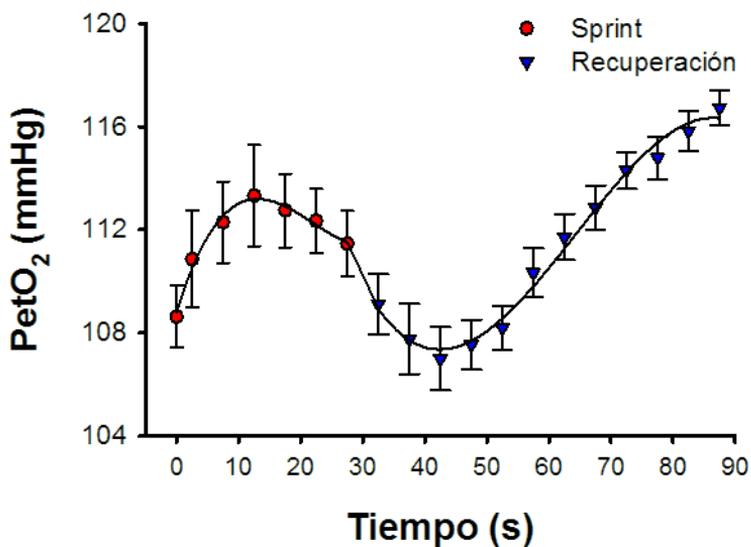


Figura 17: Evolución del $P_{ET}O_2$ durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

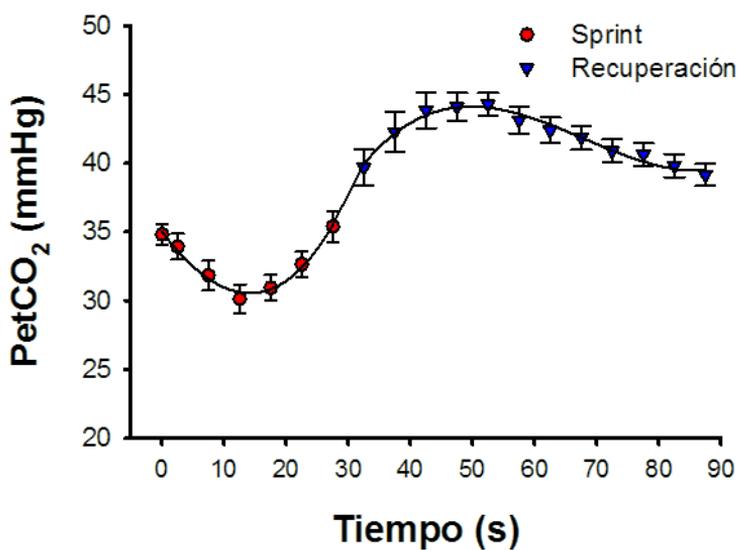


Figura 18: Evolución de la $P_{ET}CO_2$ durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

La velocidad del flujo en la arteria cerebral media (Fig. 19) siguió un patrón de disminución curvilíneo durante el sprint cuya función es ($v_{\text{mediaACM}} = 44.2 - 0.265 \cdot t + 0.0026 \cdot t^2$, expresando v_{ACM} en $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ y t en segundos, $R^2=0.81$, $P<0.001$). La v_{ACM} se redujo un 10% al final del sprint con respecto a los valores registrados justo antes del mismo ($P<0.05$). Durante el sprint se observa una disociación entre los cambios en la v_{ACM} y los cambios en la P_{ETCO_2} . La oxigenación del lóbulo frontal medida con NIRS siguió un patrón similar, es decir, siguiendo un patrón curvilíneo cuya función puede expresarse como ($\text{OLF} = 68.0 - 0.136 \cdot t + 0.0004 \cdot t^2$, donde OLF representa el TOI (Fig. 20) del lóbulo frontal expresado en porcentaje (%) y t se representa nuevamente en segundos, $R^2=0.97$, $P<0.001$). Esto resulta en una reducción del TOI desde 67.9 ± 7.1 hasta 64.7 ± 7.9 ($P<0.05$). Sin embargo, en comparación, mientras sólo se observa este ligero cambio en la oxigenación cerebral durante el sprint, la oxigenación del *Vastus lateralis* se redujo a valores mínimos en los primeros 15s (Fig. 21).

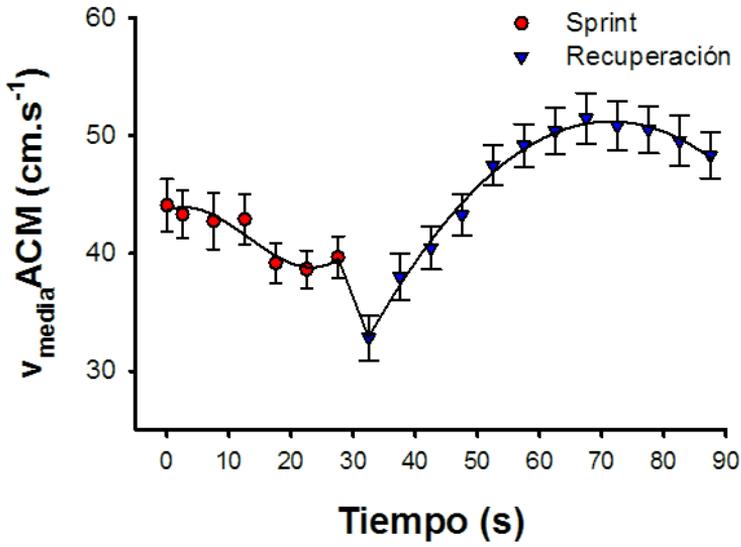


Figura 19: Evolución de la $v_{media ACM}$ durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

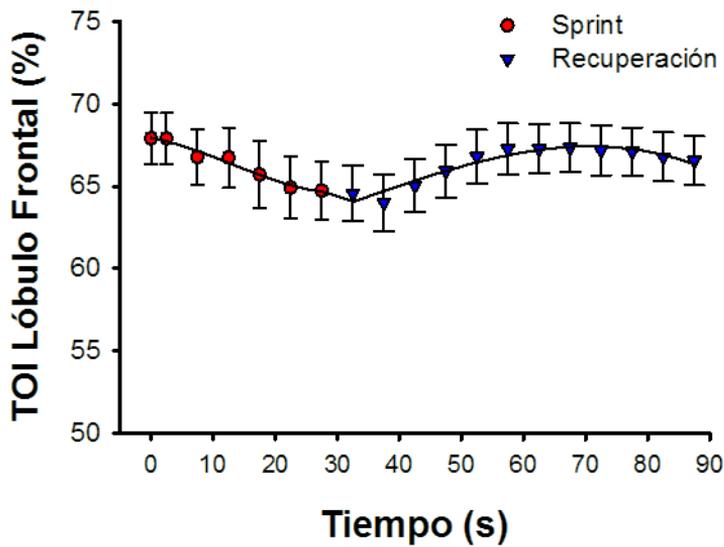


Ilustración 20: Evolución del TOI (OLF) durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

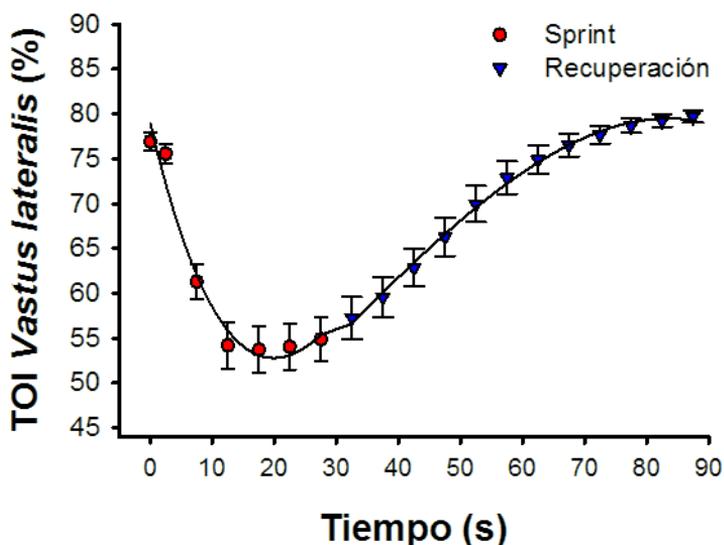


Figura 21: Evolución del TOI del Vastus lateralis durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

9.3 RESPUESTA DURANTE LA RECUPERACIÓN.

En el primer minuto de ejercicio, la FC se redujo en 27 lpm, hasta los 148 lpm de media. Al interrumpirse la actividad contráctil el V_E se redujo de forma brusca en $21 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ y el VO_2 en $390 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Sin embargo, el VCO_2 sólo se redujo 270 mL. A partir de ahí, durante los primeros 20-30s de la recuperación el V_E y el VCO_2 se mantuvieron casi constantes para posteriormente disminuir. El VO_2 , sin embargo presentó un descenso mucho más acentuado durante la recuperación, por lo que el RER (Fig. 22) aumentó durante ese primer minuto post sprint. Durante 20s el V_E/VO_2 se mantuvo estable en torno a los 34 para posteriormente incrementar. No obstante, el V_E/VCO_2 (Fig. 16) se mantuvo constante en torno a 27. A pesar

de la estabilidad del V_E/V_{CO_2} (Fig. 16), la P_{ETCO_2} aumentó hasta el segundo 25 de la recuperación para posteriormente caer hasta los 39 mmHg a los 60s (Fig. 18). La P_{ETO_2} (Fig. 17) presentó un patrón especular a los cambios observados en la P_{ETCO_2} (Fig. 18). Al finalizar el sprint la v_{ACM} (Fig 19) cayó de forma brusca hasta los $32 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, es decir, un 19% menor que la observada justo antes del final del ejercicio. A partir de entonces, aumentó progresivamente hasta alcanzar unos valores máximos de $51 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ unos 40s tras el final del ejercicio, esto es, unos 15 segundos después de alcanzar los valores pico de P_{ETCO_2} (Fig18) observados durante la recuperación. Tras esto, descendió nuevamente hasta los valores previos al ejercicio. En general la oxigenación frontal reprodujo el mismo patrón, exceptuando el abrupto descenso de la v_{ACM} (Fig. 19) finalizado el sprint, que no tuvo reflejo en la oxigenación cerebral (Fig 20), la cual se mantuvo en el nivel observado justo en el momento de finalizar el ejercicio hasta los primeros 15 segundos de la recuperación.

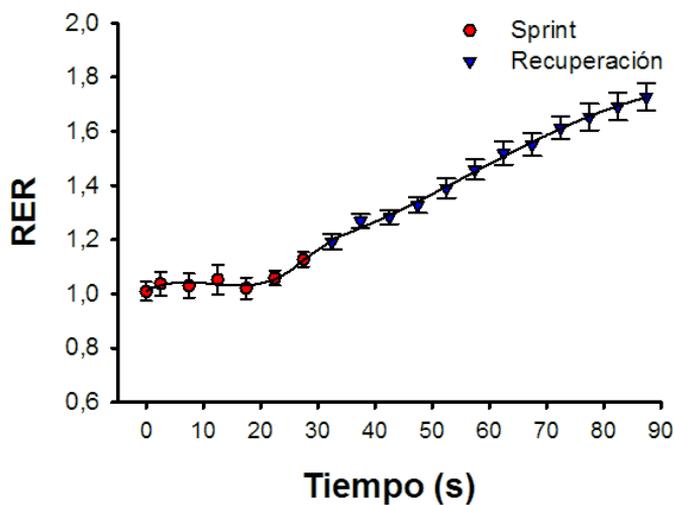


Figura 22: Evolución del RER durante el Wingate y 1^{er} minuto de la recuperación.

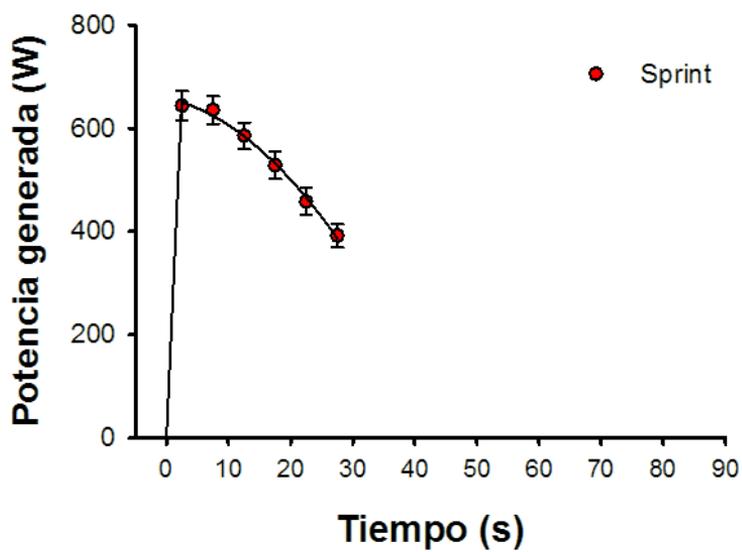


Figura 23: Potencia pico generada durante el Wingate. Media de los sujetos.

9.4 CORRELACIONES.

Existe una fuerte correlación entre v_{mediaACM} y OLF durante el ejercicio de sprint ($r=0.93$, $P<0.01$; $n=7$, cada punto representando la media de 20 sujetos). Durante la recuperación la correlación fue menos intensa ($r=0.43$, $P<0.05$, $n=12$, cada punto representando la media de 20 sujetos). Durante el sprint, la v_{mediaACM} aumenta progresiva y linealmente su relación con el VO_2 ($r=-0.90$, $P<0.01$; $n=7$, cada punto representando la media de 20 sujetos) y la FC ($r=-0.90$, $P<0.01$; $n=7$, cada punto representando la media de 20 sujetos); una relación similar fue observada durante la recuperación ($r=-0.82$ y $r=-0.85$, respectivamente $P<0.05$, $n=12$ para ambas).

9.5 RESULTADOS DEL SPRINT REPETIDO.

Los valores de ventilación al inicio del esfuerzo fueron un 96, 106 y 120% en el 2º, 3º y 4º sprint con respecto al primero (31.8 ± 3.2 , 62.4 ± 5 , 65.6 ± 4.2 y 70 ± 4.7 1º, 2º, 3º y 4 Wingate), pero con la repetición del sprint, la ventilación máxima se incrementó solamente en un 24, 20 y 11% en el 2º, 3º y 4º (115.3 ± 9 , 143 ± 7.6 , 138.3 ± 6.6 y 129.3 ± 7 , 1º, 2º, 3º y 4 Wingate) ($P<0.001$) (Fig. 24). El consumo de oxígeno fue 5 y 3% mayor durante el 2º y 3º sprint y un 4% menor en el 4º respecto del primero, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig 25). La producción de CO_2 en cambio se redujo en un 4.5, 21 y 30% (Fig. 26)

($P < 0.05$). Durante la primera repetición del Wingate la $P_{ET}CO_2$ parte de niveles más bajos, alrededor de 31 mmHg y desciende ~ 4 mmHg durante los 5 primeros segundos cayendo posteriormente hasta 26 mmHg en los siguientes 10 segundos, manteniéndose entre presión 27-28 mmHg hasta el final del test. En los sprint siguientes el $P_{ET}CO_2$ parte de valores menores (26 mmHg y 24 mmHg respectivamente) reduciéndose hasta los 23 y los 22 mmHg en el 3^{er} y 4^o sprint, con valores finales en ~ 25 -26 y ~ 24 -25 mmHg respectivamente (Fig. 27) ($P < 0.05$). La vACM se redujo un 14, 20 y 23% durante el 2^o, 3^{er} y 4^o sprint con respecto del primero ($P < 0.005$) (Fig. 28) correspondiendo con un descenso del 17, 28 y 30.5% de la $P_{ET}CO_2$ (33.3 ± 1 , 27.5 ± 1 , y 24 ± 1 , 23 ± 1 mmHg de media, 1^o, 2^o, 3^{er} y 4^o sprint, respectivamente, $P < 0.05$).

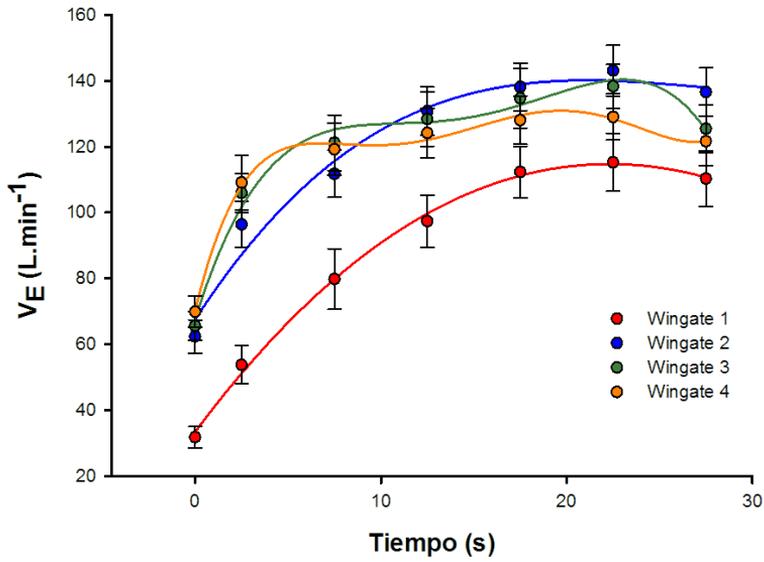


Figura 24: Evolución del V_E durante los sprint secuenciales.

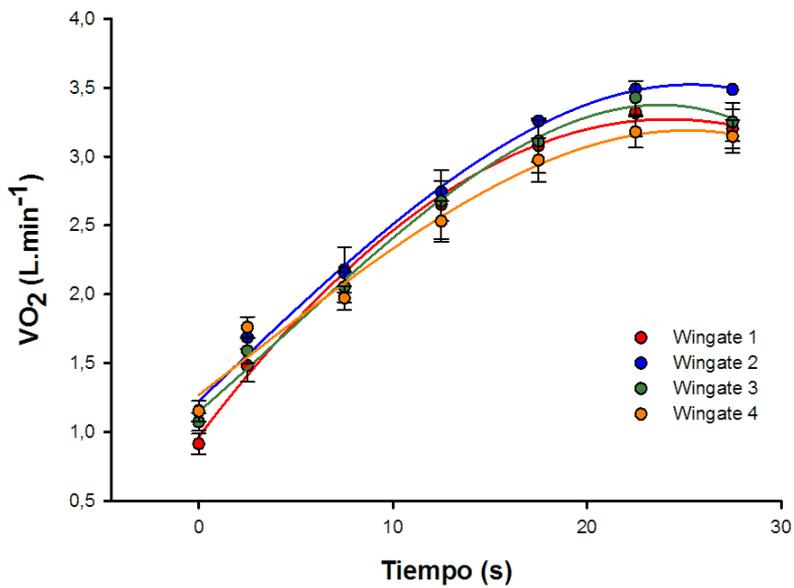


Figura 25: Evolución del consumo de O_2 durante los sprint secuenciales.

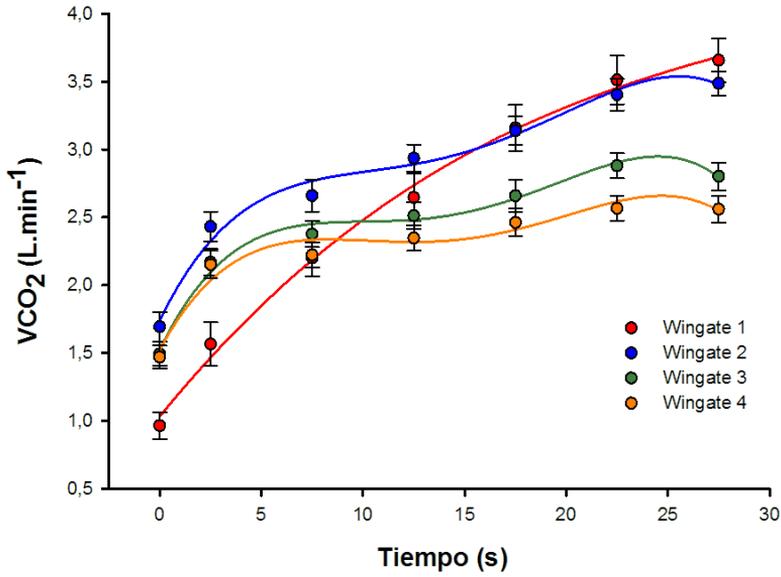


Figura 26: Evolución de la producción de CO₂ durante los sprint secuenciales.

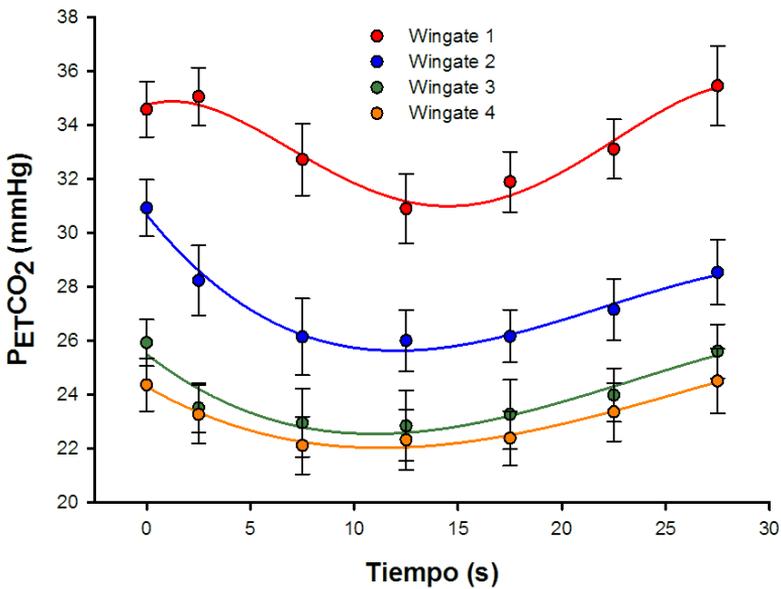


Figura 27: Evolución la PETCO₂ en los sprint secuenciales.

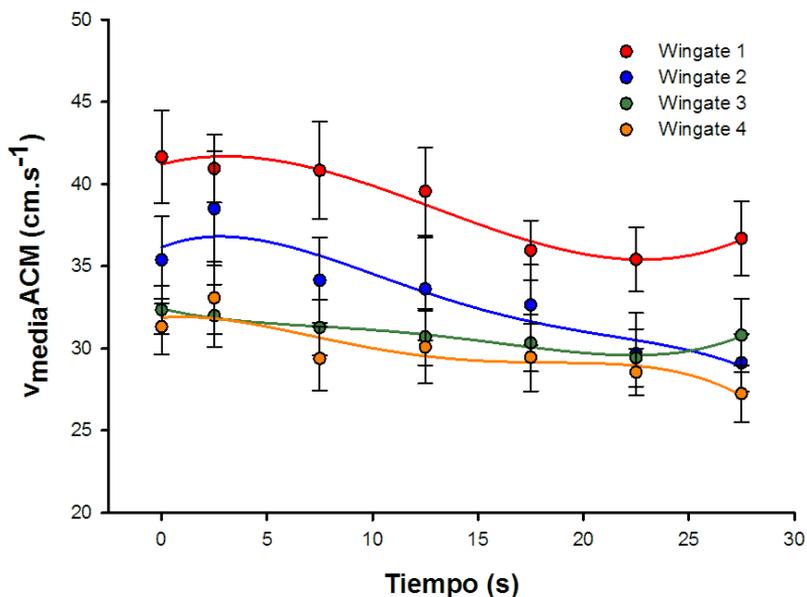


Figura 28: Evolución de la $v_{mediaACM}$ durante los sprint secuenciales.

A pesar de la reducción en la v_{ACM} (Fig. 28), la oxigenación del lóbulo frontal sólo se redujo en un 4.8% durante el segundo Wingate ($P < 0.05$) y 6.7% durante el 3º ($P < 0.05$) en comparación con el primero mientras que la reducción en el 4º no fue estadísticamente significativa al compararlo con el 3º sprint. (Fig. 29). En cambio, la oxigenación del *Vastus lateralis* (Fig. 30) acabó en valores sin diferencia estadística entre sprint al terminar cada uno de ellos. El nivel de oxigenación de partida fue menor en el primer sprint que en el 2º, 3º y 4º.

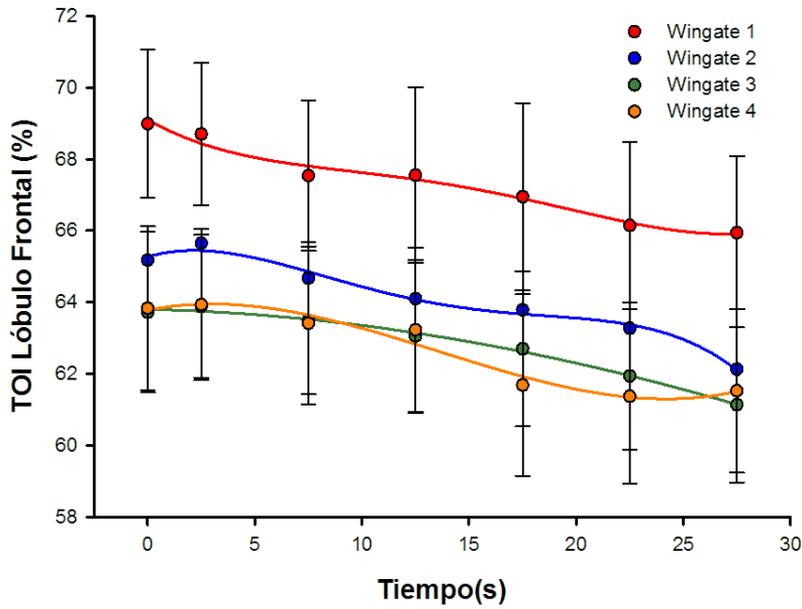


Figura 29: Oxigenación del Lóbulo frontal valorada mediante índice de oxigenación tisular (TOI) en los Wingate repetidos.

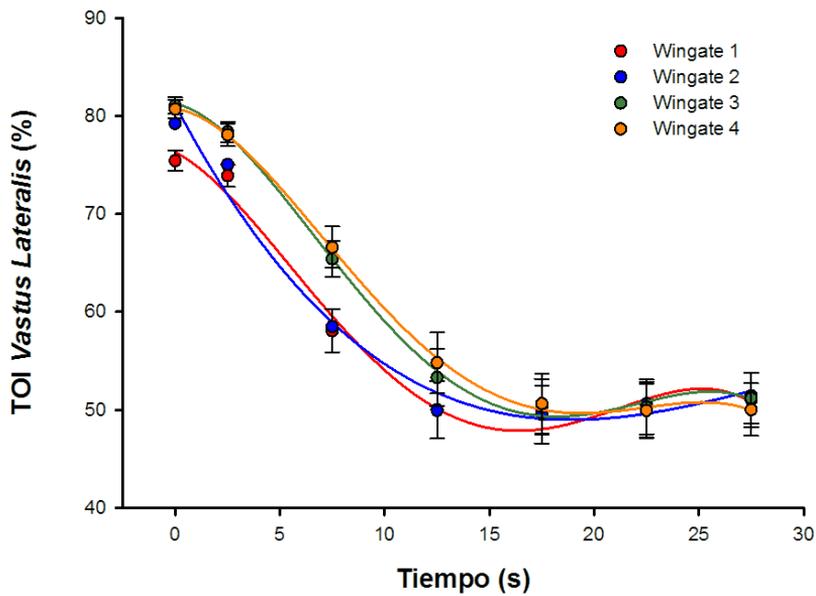


Figura 30: Evolución en los diferentes sprint de la oxigenación del Vastus lateralis.

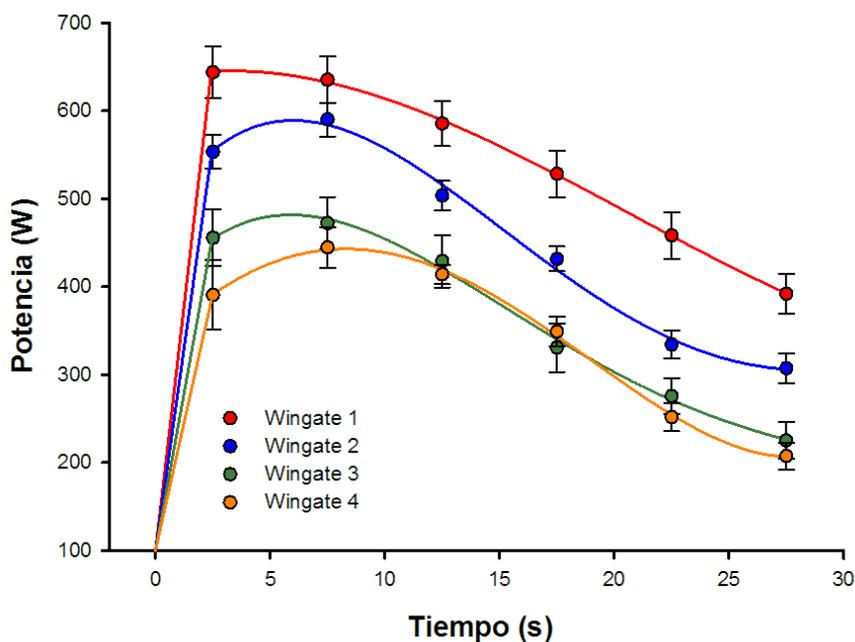


Figura 31: Picos de potencia alcanzados en los sprint secuenciales.

La potencia generada fue menor en cada sprint con respecto al anterior, un 8, 25.5 y 31% menor en el 2º, 3º y 4º sprint respecto del primero. La variación entre un sprint y el anterior fue de 8.3% menor en el 2º respecto del 1º, de 20% en el 3º respecto del 2º y de un 6% en el 4º respecto del 3º (Fig. 31). Característicamente se tardó más en lograr el pico de potencia en el 2º, 3º y 4º sprint con respecto al primero.

En las figuras 32, 33, 34 y 35 puede apreciarse la evolución de la P_{ETCO_2} , la $v_{mediaACM}$, el TOI del lóbulo frontal y del *Vastus lateralis* respectivamente en el 1º, 2º y 3º y 4º sprint.

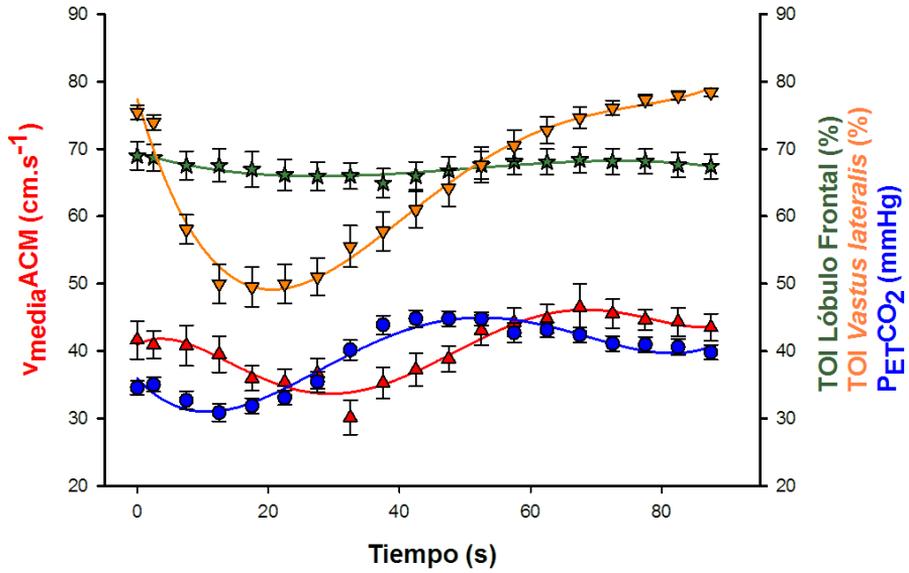


Figura 32: $v_{mediaACM}$, TOI Lóbulo frontal, TOI Vastus lateralis y P_{ETCO_2} durante 1^{er} Wingate y el primer minuto de recuperación.

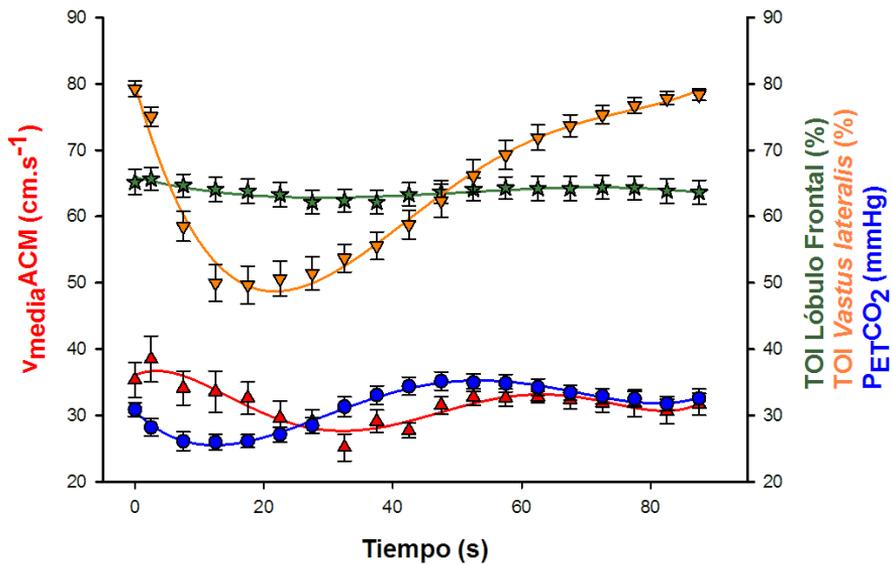


Figura 33: $v_{mediaACM}$, TOI Lóbulo frontal, TOI Vastus lateralis y P_{ETCO_2} durante 2^o Wingate y el primer minuto de recuperación.

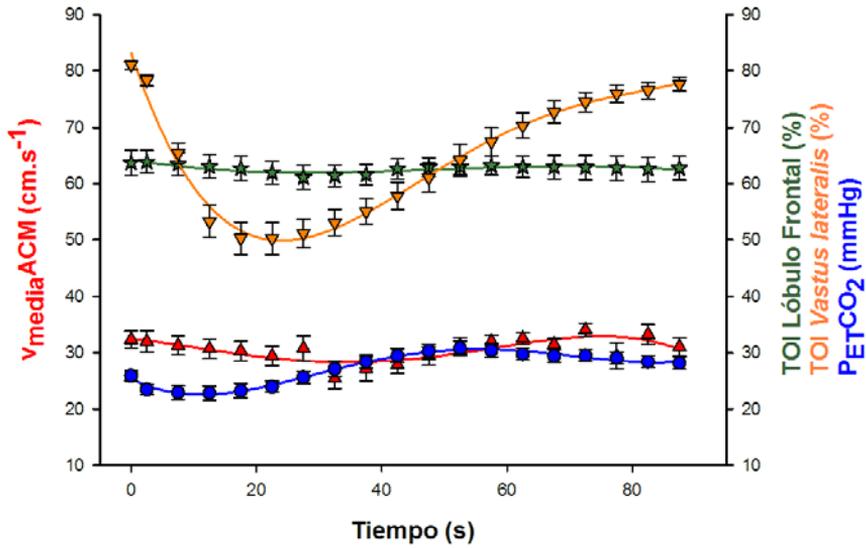


Figura 34: $v_{mediaACM}$, TOI Lóbulo frontal, TOI Vastus lateralis y P_{ETCO_2} durante 3^{er} Wingate y el primer minuto de recuperación.

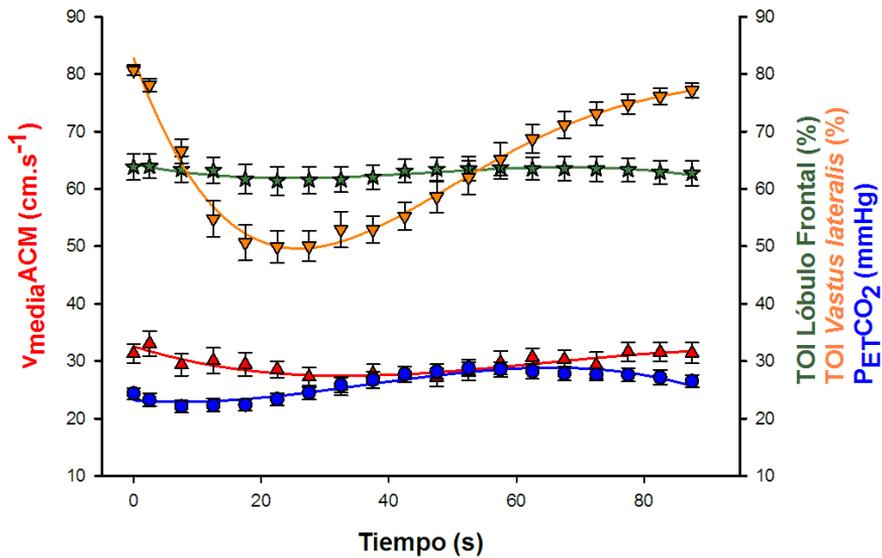


Figura 35: $v_{mediaACM}$, TOI Lóbulo frontal, TOI Vastus lateralis y P_{ETCO_2} durante 4^o Wingate y el primer minuto de recuperación.

DISCUSIÓN

10 DISCUSIÓN.

Durante el ejercicio de sprint ocurren cambios hemodinámicos y metabólicos agudos y drásticos, que deben influir en la oxigenación y el flujo sanguíneo cerebral. Los mecanismos de autorregulación han sido ampliamente estudiados tanto durante el ejercicio como en otras situaciones fisiológicas o incluso fisiopatológicas. Ello ha permitido caracterizar los diversos mecanismos que afectan a la regulación del FSC y la oxigenación del cerebro, aunque aún existan lagunas en cuanto a las relaciones entre los diversos mecanismos, su participación relativa, su sumación o la contrarregulación existente entre ellos, debido en parte a la dificultad y el riesgo de aislar cada mecanismo, bloqueando el resto. Importantes esfuerzos se han llevado a cabo para tratar de comprender cada mecanismo como una entidad aislada, pero existe actualmente más evidencia de la estrecha interrelación de unos con los otros. Este proceso integrado de mecanismos reguladores y contrarreguladores, redundantes en ocasiones, permite proteger el cerebro, su parénquima y la barrera hematoencefálica, de efectos deletéreos que pudieran ser devastadores(146). Sin embargo, no nos consta que se hayan realizado estudios durante un estímulo, fisiológicamente hablando, tan intenso como el ejercicio de sprint, probablemente por dificultades técnicas. El hallazgo principal del estudio es que el FSC desciende, pero de forma independiente al descenso de la PaCO_2 . De hecho, durante la primera mitad de un sprint de 30 segundos la $v_{\text{media}}\text{ACM}$ disminuye paralelamente al EtCO_2 , pero este

decremento persiste a pesar que los niveles de CO₂ recuperen, antes del final del sprint, sus niveles basales. De la misma manera, la oxigenación cerebral, medida como TOI mediante NIRS, sigue un patrón similar al flujo, reforzando la veracidad del hallazgo. Los datos aportan suficiente evidencia de que la $V_{mediaACM}$ no sigue directamente los cambios en el EtCO₂, a pesar de moverse en la misma dirección, al menos durante el inicio del sprint y de la recuperación. Este efecto es bastante más evidente durante los sprint posteriores. A pesar de una menor potencia media, la respuesta ventilatoria es mayor. Sin embargo, con un descenso un 13% mayor en los Wingates posteriores respecto del primero la oxigenación cerebral no se vio significativamente afectada.

La P_aCO₂ se acepta generalmente como el estímulo más relevante en la regulación del FSC(70, 147). Estudios previos han mostrado que por cada mmHg que disminuye la P_aCO₂, el FSC disminuirá entre un 1 y un 3%(44, 70, 81, 148, 149). La hiperventilación genera hipocapnia (alcalosis respiratoria) que actúa como buffer de los H⁺ generados por la actividad muscular(150). Este mecanismo ha sido propuesto como estrategia para mejorar el rendimiento ante sprint repetidos(150). Los resultados de este estudio indican un decremento coincidente, en valores absolutos y durante la primera mitad del primer sprint y una disminución aún mayor en los siguientes, si nos valemos del P_{ET}CO₂ como un sustituto válido de la P_aCO₂ (151). Sin embargo, debe valorarse con cautela, ya que los valores de

P_{ETCO_2} pueden ser un factor de confusión, pues se ven ampliamente afectados por la activación de los centros respiratorios. Nuestros datos indican que a pesar de que los valores pico de ventilación alcancen su máximo al final del sprint la P_{ETCO_2} alcanzó sus valores máximos a los 12.5, mientras la P_{ETCO_2} alcanza en el mismo momento, los mínimos. Esto indica una hiperventilación relativamente mayor a los 12.5 segundos que al finalizar el test, o lo que es lo mismo, cerca del pico de potencia máximo. Este efecto, es posible que represente la elevada estimulación de los centros respiratorios medulares a través de comandos centrales, mientras que al término del sprint la V_E se ajusta mejor a las respuestas esperadas en función de la VCO_2 , como se refleja observando los valores de V_E/VCO_2 a máxima intensidad al finalizar el sprint. El retardo en la respuesta de la v_{ACM} es esperable teniendo en cuenta el tiempo de circulación, que es de unos 10 a 15 segundos a las frecuencias cardíacas del período de recuperación (152). Por otro lado, algunos estudios han mostrado que los cambios en el FSC precisan de unos 6 segundos en producirse en respuesta a cambios en el CO_2 (149). Por todo ello, sin negar el importante rol del CO_2 como estímulo productor de cambios en el FSC, podemos afirmar que no se trata del estímulo preponderante en nuestras condiciones experimentales.

El oxígeno también puede, a priori, considerarse un estímulo fundamental. Sin embargo, debemos apuntar dos condiciones. En primer

lugar, en presencia de hipocapnia, la sensibilidad a la hipoxia se ve ampliamente mermada(153), mientras que en condiciones de isocapnia la hipoxia es un potente vasodilatador que aumenta el FSC(80, 154). Sin embargo, se sabe que para que la hipoxia ejerza su efecto sobre el tono de las arterias cerebrales y secundariamente incremente el FSC, la P_{aO_2} debe disminuir hasta valores de 50 mmHg o bien SaO_2 del 80%(154, 155). Durante los 30 segundos de duración del sprint no se alcanzan, ni mucho menos, dichos valores, y tampoco tras la repetición de los sprint. Por otro lado, cualquier ligero efecto atribuible a la disminución de la oxigenación tisular en nuestras condiciones experimentales quedaría contrarrestada por el incremento de la respuesta ventilatoria y la hipocapnia resultante(154). Es más, asumiendo que las variaciones en los valores del NIRS obtenidos de los canales cerebrales son comparables a los musculares, y sabiendo, a su vez que una reducción en 20 puntos del TOI del *Vastus lateralis* equivale (por Método de Fick) a un cambio de aproximadamente un 85% en la extracción de oxígeno, podemos estimar que la extracción al final del sprint estaría incrementada en un 16%, lo que resulta suficiente para compensar el decremento observado de la vACM. Finalmente, otros estudios han demostrado este incremento de la extracción(156), cuando el flujo sanguíneo cerebral desciende por hiperventilación o al respirar una mezcla hipóxica con una F_{iO_2} del 10%(156), basándose en que la intensa actividad metabólica cerebral debe generar algún grado de acidosis extracelular, que incluso en presencia de

hipocapnia, facilite la extracción local de oxígeno. Por todo ello, asumimos que al menos durante los 30 segundos que dura el sprint en las condiciones experimentales de este estudio, la hipoxia no presenta un estímulo significativo en la regulación del FSC, al menos en pacientes sanos, aunque podría jugar un papel importante en altitud o en pacientes con enfermedades pulmonares o insuficiencia cardíaca(147, 154).

Durante los escasos 30 segundos que dura el Wingate, se alcanzaron, rápidamente valores ergo-espirométricos sorprendentemente cercanos al máximo. La actividad del comando central incrementa la FC, el V_E , el VO_2 , el VCO_2 , la relación V_E/VO_2 , la V_E/VCO_2 , la PA y el GC rápidamente. La actividad neuronal y el metabolismo cerebral y sistémico están sumamente elevados alcanzando valores del 86% del VO_{2max} . Este incremento de las necesidades metabólicas debiera llevar aparejado un incremento de la perfusión (acoplamiento neurovascular)(21, 77, 78). Recientes estudios han demostrado aumentos locales, más que globales de la perfusión antes estímulos diversos como la prehensión manual, extensiones de rodilla de una sola pierna o estímulos visuales(20, 23), mientras que otros apuntan a incrementos generalizados del FSC durante el ejercicio, al menos hasta alcanzar un consumo de oxígeno de $\approx 60\%$ del máximo (41, 146, 157, 158). Por encima de dicho valor, el FSC no sólo no presenta mayor capacidad de incremento sino que retorna a valores de reposo(41, 146, 158). En la misma línea, la respiración mitocondrial se

encontrará cerca de sus valores máximos, pues estos dependen fundamentalmente de los niveles de ADP libre, elevados al final del sprint. (41, 146, 158). Otros factores, tendentes al incremento del FSC serían el aumento de la PA, tanto sistólica como diastólica (la PA sistólica durante el Wingate se incrementa por encima de los 200 mmHg, según datos aún no publicados de nuestro laboratorio) y el GC, a pesar de una disminución de la relación entre estos parámetros y el FSC durante el ejercicio en comparación con el reposo (87). Lucas et al. mostraron mediante un análisis de los datos de diversos estudios que el FSC debía incrementarse un 7% por cada 10 mmHg de aumento en la PAM y, por el contrario disminuir entre un 2 y un 7% por cada 10 mmHg de descenso de la PAM(72). Si este hecho fuera realidad en las condiciones de nuestro experimento, el aumento predicho de la presión de perfusión generaría un aumento tanto regional como global de la perfusión(24, 159) amenazando la integridad de la barrera hematoencefálica. Teniendo en cuenta los factores que debieran incrementar el FSC y que la P_aCO_2 ha sido descartada como principal factor, sorprende observar como durante el sprint de 30 segundos la $v_{media}ACM$ disminuye en lugar de aumentar, reflejando la existencia de otros mecanismos que en las presentes condiciones son capaces de reducir el FSC como protección de la integridad de la barrera hematoencefálica.

Por otro lado, al finalizar el sprint, observamos un abrupto descenso del VO_2 que refleja probablemente una disminución paralela de la disponibilidad de O_2 , a causa de la disminución del GC. Esta afirmación se justifica ya que el GC desciende exponencialmente con el cese de la actividad muscular(160), conllevando un descenso de la perfusión de las piernas (161) que depende directamente del GC(162, 163). El descenso del FSC en esta circunstancia viene a corroborar la relación existente a todos los niveles entre el GC y el FSC. Pero más aún, ofrece indicios de que, efectivamente, la autorregulación cerebral es más efectiva ante incrementos de presión (hysteresis) (58, 134, 149) que ante descensos de la misma. El deterioro de la AC dinámica pudiera estar en relación a la alteración del medio de los vasos cerebrales, asociado al flujo de metabolitos como el amonio o los H^+ hacia el tejido vascular y en el líquido cefalorraquídeo, secundariamente al incremento del metabolismo cerebral, tal y como ocurre respecto de la circulación sistémica(36).

Si la perfusión disminuye independientemente de la P_aCO_2 , frente a estímulos potentes que tienden a incrementarla, quiere decir que son otros mecanismos los que deben ejercer su efecto regulador. La clave debe encontrarse en los cambios en la resistencia vascular inducida por mecanismos neurogénicos y miogénicos. Los efectos del SNS sobre la circulación cerebral siguen generando controversia, pero es evidente que durante el sprint su actividad debe ser elevada, incrementando la PAM y el

GC. De hecho, el Índice Cerebrovascular se incrementa entre el reposo y el ejercicio confirmando la excitación simpática(86). Más aún, disminuciones de GC inducidas por bloqueadores β_1 conllevan una reducción del ascenso en la vACM(86, 87, 164). Sin embargo, la activación de los barorreceptores inducida no parece influenciar la respuesta cerebral al CO_2 (47), a pesar de que existe una relación directa entre la presión arterial y el FSC (72). A altas intensidades se observa que el FSC desciende, por lo que necesariamente existe un mecanismo compensador que optimiza el control de la perfusión cerebral(36, 86, 165) o mecanismos desconocidos que modifican la relación entre ambos parámetros(87).

Estudios en animales han registrado un incremento de la actividad simpática ante hipertensiones inducidas(65) y esta presenta la capacidad de generar vasoconstricción sobre las arterias, lo que junto con la respuesta miogénica posee el potencial de frenar el incremento del FSC(61). A pesar de resultar una explicación razonable, los mismo estudios muestran que un 38% de la relación presión flujo permanece inexplicada en reposo, únicamente atendiendo a estos dos mecanismos(61). La implicación de las arterias carótidas y vertebrales en la regulación del FSC vía activación del SNS, es una propuesta que debe ser considerada atentamente. Diversos estudios proponen que debido a su configuración tortuosa a nivel de su entrada en el cráneo, relativamente pequeñas disminuciones de su diámetro podrían generar grandes

incrementos de la resistencia vascular, limitando de esta forma la transmisión de los incrementos de presión sanguínea(42, 43, 70). Estos efectos neurogénicos y de las paredes vasculares, a pesar de la controversia que generan, cada vez están siendo tomados en mayor consideración, y son probablemente los efectos predominantes en nuestras condiciones experimentales, fundamentalmente por la rapidez de actuación ante cambios rápidos en la presión de perfusión y el flujo (82). Sin embargo, su contribución relativa requiere mayor investigación, así como la localización de sus efectos (arterias piales o arterias nutricias del cuello- AV, ACI o ambas).

Hay una serie de condiciones por las que entendemos que existen pocas dudas en cuanto a los resultados obtenidos hasta el momento. En primer lugar hemos realizado medidas mediante la colocación de dos sondas Doppler a cada lado del cráneo, obteniendo resultados similares en ambas arterias cerebrales medias. Por otro lado, los valores de reposo obtenidos a lo largo del estudio se corresponden con los valores publicados por otros autores y de referencia en la localización de la ACM(166, 167). Finalmente, al finalizar los sprint la velocidad de la ACM se recuperó hacia valores similares a los observados en reposo, permitiéndonos descartar artefactos causados por el desplazamiento de las sondas. Otro aspecto destacable de nuestro estudio, se basa en la doble comprobación realizada mediante NIRS. La respuesta obtenida en los valores de TOI es similar a

la comunicada en otros estudios, lo que nos reafirma en el adecuado funcionamiento y captación de la señal(156), y eso sin tener en cuenta que la señal del canal muscular registra la caída previsible de la oxigenación. Bien es cierto, como se explica en el apartado de limitaciones del NIRS, que el aumento del GC genera un aumento global de la perfusión y, por tanto de la circulación músculo-cutánea de la cara y el cráneo(156), debido también al aumento de la temperatura durante el ejercicio(40). Podríamos haber aplicado algoritmos que han sido desarrollados a fin de eliminar el efecto de la circulación cutánea(37), pero los resultados, sólo hubieran sido ligeramente inferiores.

CONCLUSIONES

11 CONCLUSIONES.

- La velocidad de sangre en la arteria cerebral media disminuye durante el ejercicio de sprint de 30 segundos de forma independiente a la disminución de la $P_{ET}CO_2$.
- El cese de la actividad muscular produce una brusca caída en la velocidad de sangre en la arteria cerebral media.
- Durante los sprint repetidos la potencia desarrollada resulta inferior al primer sprint, pero la respuesta ventilatoria se acrecienta.
- Los sprint repetidos causan un descenso progresivo de la $P_{ET}CO_2$ durante las recuperaciones que se asocia un descenso de la velocidad de sangre en la arteria cerebral media, que es menor al inicio de los últimos sprint.
- A pesar del descenso de la velocidad de sangre en la arteria cerebral media no se observan cambios relevantes en la oxigenación cerebral, a pesar de un ligero descenso del índice de oxigenación tisular medido mediante espectroscopia cercana al infrarrojo.
- Los cambios observados en la velocidad de sangre en la arteria cerebral media y oxigenación cerebral durante el sprint no están relacionados con el descenso de potencia observado durante el test de Wingate y no guardan relación con la capacidad de rendimiento.

BIBLIOGRAFÍA

12 BIBLIOGRAFÍA.

1. Lucas SJ, Cotter JD, Brassard P, Bailey DM. High-intensity interval exercise and cerebrovascular health: curiosity, cause, and consequence. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015;35(6):902-11.
2. Pedersen BK, Saltin B. Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. *Scand J Med Sci Sports.* 2006;16 Suppl 1:3-63.
3. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Bushnell CD, et al. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline. *Stroke.* 2006;37(6):1583-633.
4. Pothirat C, Chaiwong W, Phetsuk N. Efficacy of a simple and inexpensive exercise training program for advanced chronic obstructive pulmonary disease patients in community hospitals. *J Thorac Dis.* 2015;7(4):637-43.
5. Stefanelli F, Meoli I, Cobuccio R, Curcio C, Amore D, Casazza D, et al. High-intensity training and cardiopulmonary exercise testing in patients with chronic obstructive pulmonary disease and non-small-cell lung cancer undergoing lobectomy. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2013;44(4):e260-5.
6. Lange-Asschenfeldt C, Kojda G. Alzheimer's disease, cerebrovascular dysfunction and the benefits of exercise: from vessels to neurons. *Exp Gerontol.* 2008;43(6):499-504.
7. Zambom-Ferraresi F, Cebollero P, Gorostiaga EM, Hernandez M, Hueto J, Cascante J, et al. Effects of Combined Resistance and Endurance Training Versus Resistance Training Alone on Strength, Exercise Capacity, and Quality of Life in Patients With COPD. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2015.
8. Calbet JA, Ponce-Gonzalez JG, Perez-Suarez I, de la Calle Herrero J, Holmberg HC. A time-efficient reduction of fat mass in 4 days with exercise and caloric restriction. *Scand J Med Sci Sports.* 2015;25(2):223-33.
9. Ara I, Vicente-Rodriguez G, Jimenez-Ramirez J, Dorado C, Serrano-Sanchez JA, Calbet JA. Regular participation in sports is associated with enhanced physical fitness and lower fat mass in prepubertal boys. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28(12):1585-93.
10. Huang SC, Wong MK, Lin PJ, Tsai FC, Fu TC, Wen MS, et al. Modified high-intensity interval training increases peak cardiac power output in patients with heart failure. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114(9):1853-62.

11. Naci H, Ioannidis JP. Comparative effectiveness of exercise and drug interventions on mortality outcomes: metaepidemiological study. *BMJ*. 2013;347:f5577.
12. Cardozo GG, Oliveira RB, Farinatti PT. Effects of high intensity interval versus moderate continuous training on markers of ventilatory and cardiac efficiency in coronary heart disease patients. *ScientificWorldJournal*. 2015;2015:192479.
13. Elliott AD, Rajopadhyaya K, Bentley DJ, Beltrame JF, Aromataris EC. Interval training versus continuous exercise in patients with coronary artery disease: a meta-analysis. *Heart Lung Circ*. 2015;24(2):149-57.
14. Boyne P, Dunning K, Carl D, Gerson M, Khoury J, Kissela B. High-intensity interval training in stroke rehabilitation. *Top Stroke Rehabil*. 2013;20(4):317-30.
15. Nytroen K, Rustad LA, Aukrust P, Ueland T, Hallen J, Holm I, et al. High-intensity interval training improves peak oxygen uptake and muscular exercise capacity in heart transplant recipients. *Am J Transplant*. 2012;12(11):3134-42.
16. Gillen JB, Gibala MJ. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness? *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014;39(3):409-12.
17. Murillo F, Catalán A, Muñoz MA. Traumatismo craneoencefálico. In: Torres Morera LM, editor. *Cuidados Críticos y Emergencias*. 2. Madrid: Arán Ediciones; 2002. p. 1595-622.
18. Lassen NA. Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol Rev*. 1959;39:183-238.
19. Lassen NA. Control of Cerebral Circulation in Health and Disease. *Circulation Research*. 1974;34:749-60.
20. Nogueira RC, Bor-Seng-Shu E, Santos MR, Negrao CE, Teixeira MJ, Panerai RB. Dynamic cerebral autoregulation changes during sub-maximal handgrip maneuver. *PLoS One*. 2013;8(8):e70821.
21. Yamaguchi Y, Kashima H, Fukuba Y, Hayashi N. Cerebral blood flow and neurovascular coupling during static exercise. *J Physiol Sci*. 2014;64(3):195-201.
22. Rokamp KZ, Olesen ND, Larsson HB, Hansen AE, Seifert T, Nielsen HB, et al. Glycopyrrolate does not influence the visual or motor-induced increase in regional cerebral perfusion. *Front Physiol*. 2014;5:45.
23. Boban M, Crnac P, Junakovic A, Garami Z, Malojcic B. Blood flow velocity changes in anterior cerebral arteries during cognitive tasks performance. *Brain Cogn*. 2014;84(1):26-33.

24. Ramsay SC, Murphy K, Shea SA, Friston KJ, Lammertsma AA, Clark JC, et al. Changes in global cerebral blood flow in humans: effect on regional cerebral blood flow during a neural activation task. *J Physiol.* 1993;471:521-34.
25. Sliwka U, Krasney JA, Simon SG, Schmidt P, Noth J. Effects of sustained low-level elevations of carbon dioxide on cerebral blood flow and autoregulation of the intracerebral arteries in humans. *Aviat Space Environ Med.* 1998;69(3):299-306.
26. Nielsen HB. Systematic review of near-infrared spectroscopy determined cerebral oxygenation during non-cardiac surgery. *Front Physiol.* 2014;5:93.
27. Larsen SL, Lyngeraa TS, Maschmann CP, Van Lieshout JJ, Pott FC. Cardiovascular consequence of reclining vs. sitting beach-chair body position for induction of anesthesia. *Front Physiol.* 2014;5:187.
28. Foss VT, Christensen R, Rokamp KZ, Nissen P, Secher NH, Nielsen HB. Effect of phenylephrine vs. ephedrine on frontal lobe oxygenation during caesarean section with spinal anesthesia: an open label randomized controlled trial. *Front Physiol.* 2014;5:81.
29. Zheng F, Sheinberg R, Yee MS, Ono M, Zheng Y, Hogue CW. Cerebral near-infrared spectroscopy monitoring and neurologic outcomes in adult cardiac surgery patients: a systematic review. *Anesth Analg.* 2013;116(3):663-76.
30. Subudhi AW, Olin JT, Dimmen AC, Polaner DM, Kayser B, Roach RC. Does cerebral oxygen delivery limit incremental exercise performance? *J Appl Physiol (1985).* 2011;111(6):1727-34.
31. Lacewell AN, Buck TM, Romero SA, Halliwill JR. Postexercise syncope: Wingate syncope test and effective countermeasure. *Exp Physiol.* 2014;99(1):172-86.
32. Aaslid R, Lindegaard KF, Sorteberg W, Nornes H. Cerebral autoregulation dynamics in humans. *Stroke.* 1989;20(1):45-52.
33. Bouma GJ, Muizelaar JP. Relationship between cardiac output and cerebral blood flow in patients with intact and with impaired autoregulation. *J Neurosurg.* 1990;73:368-74.
34. Skinhøj E, Paulson OB. Carbon dioxide and cerebral circulatory control: Evidence of a nonfocal site of action of carbon dioxide on cerebral circulation. *Neurology.* 1969;20:249-52.
35. Brain Trauma F, American Association of Neurological S, Congress of Neurological S, Joint Section on N, Critical Care AC, Bratton SL, et al. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. XIV. Hyperventilation. *J Neurotrauma.* 2007;24 Suppl 1:S87-90.

36. Ogoh S, Dalsgaard MK, Yoshiga CC, Dawson EA, Keller DM, Raven PB, et al. Dynamic cerebral autoregulation during exhaustive exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288(3):H1461-7.
37. Hirasawa A, Kaneko T, Tanaka N, Funane T, Kiguchi M, Sorensen H, et al. Near-infrared spectroscopy determined cerebral oxygenation with eliminated skin blood flow in young males. *J Clin Monit Comput*. 2015.
38. Miyazawa T, Horiuchi M, Komine H, Sugawara J, Fadel PJ, Ogoh S. Skin blood flow influences cerebral oxygenation measured by near-infrared spectroscopy during dynamic exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2013;113(11):2841-8.
39. Sorensen H, Secher NH, Siebenmann C, Nielsen HB, Kohl-Bareis M, Lundby C, et al. Cutaneous vasoconstriction affects near-infrared spectroscopy determined cerebral oxygen saturation during administration of norepinephrine. *Anesthesiology*. 2012;117(2):263-70.
40. Davis SL, Fadel PJ, Cui J, Thomas GD, Crandall CG. Skin blood flow influences near-infrared spectroscopy-derived measurements of tissue oxygenation during heat stress. *J Appl Physiol (1985)*. 2006;100(1):221-4.
41. Sato K, Ogoh S, Hirasawa A, Oue A, Sadamoto T. The distribution of blood flow in the carotid and vertebral arteries during dynamic exercise in humans. *J Physiol*. 2011;589(Pt 11):2847-56.
42. Schubert T, Santini F, Stalder AF, Bock J, Meckel S, Bonati L, et al. Dampening of blood-flow pulsatility along the carotid siphon: does form follow function? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011;32(6):1107-12.
43. Takeuchi S, Karino T. Flow patterns and distributions of fluid velocity and wall shear stress in the human internal carotid and middle cerebral arteries. *World Neurosurg*. 2010;73(3):174-85; discussion e27.
44. Willie CK, Macleod DB, Shaw AD, Smith KJ, Tzeng YC, Eves ND, et al. Regional brain blood flow in man during acute changes in arterial blood gases. *J Physiol*. 2012;590(Pt 14):3261-75.
45. Putnam TJ. The Cerebral Circulation: Some New Points in its Anatomy, Physiology and Pathology. *J Neurol Psychopathol*. 1937;17(67):193-212.
46. De Long WB. Anatomy of the middle cerebral artery: the temporal branches. *Stroke*. 1973;4(3):412-8.
47. LeMarbre G, Stauber S, Khayat RN, Puleo DS, Skatrud JB, Morgan BJ. Baroreflex-induced sympathetic activation does not alter cerebrovascular CO₂ responsiveness in humans. *J Physiol*. 2003;551(Pt 2):609-16.

48. Ogoh S, Fisher JP, Dawson EA, White MJ, Secher NH, Raven PB. Autonomic nervous system influence on arterial baroreflex control of heart rate during exercise in humans. *J Physiol*. 2005;566(Pt 2):599-611.
49. Ogoh S, Tzeng YC, Lucas SJ, Galvin SD, Ainslie PN. Influence of baroreflex-mediated tachycardia on the regulation of dynamic cerebral perfusion during acute hypotension in humans. *J Physiol*. 2010;588(Pt 2):365-71.
50. Ogoh S, Brothers RM, Eubank WL, Raven PB. Autonomic neural control of the cerebral vasculature: acute hypotension. *Stroke*. 2008;39(7):1979-87.
51. Edvinsson L, Mackenzie E, McCulloch J. *Cerebral Blood Flow and Metabolism*: {Raven Pr}; 1992.
52. Hamel E. Perivascular nerves and the regulation of cerebrovascular tone. *J Appl Physiol (1985)*. 2006;100(3):1059-64.
53. van Lieshout JJ, Secher NH. Last Word on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol (1985)*. 2008;105(4):1374.
54. Strandgaard S, Sigurdsson ST. Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Counterpoint: Sympathetic nerve activity does not influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol (1985)*. 2008;105(4):1366-7; discussion 7-8.
55. Strandgaard S, Sigurdsson ST. Last Word on Point:Counterpoint: Sympathetic nervous activity does/does not influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol (1985)*. 2008;105(4):1375.
56. van Lieshout JJ, Secher NH. Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Point: Sympathetic activity does influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol (1985)*. 2008;105(4):1364-6.
57. Peebles KC, Ball OG, MacRae BA, Horsman HM, Tzeng YC. Sympathetic regulation of the human cerebrovascular response to carbon dioxide. *J Appl Physiol (1985)*. 2012;113(5):700-6.
58. Ainslie PN, Brassard P. Why is the neural control of cerebral autoregulation so controversial? *F1000Prime Rep*. 2014;6:14.
59. ter Laan M, van Dijk JM, Elting JW, Staal MJ, Absalom AR. Sympathetic regulation of cerebral blood flow in humans: a review. *Br J Anaesth*. 2013;111(3):361-7.
60. Zhang R, Zuckerman JH, Iwasaki K, Wilson TE, Crandall CG, Levine BD. Autonomic neural control of dynamic cerebral autoregulation in humans. *Circulation*. 2002;106(14):1814-20.

61. Hamner JW, Tan CO. Relative contributions of sympathetic, cholinergic, and myogenic mechanisms to cerebral autoregulation. *Stroke*. 2014;45(6):1771-7.
62. Hamner JW, Tan CO, Tzeng YC, Taylor JA. Cholinergic control of the cerebral vasculature in humans. *J Physiol*. 2012;590(Pt 24):6343-52.
63. Ter Laan M, van Dijk JM, Staal MJ, Elting JW. Electrical modulation of the sympathetic nervous system in order to augment cerebral blood flow: a protocol for an experimental study. *BMJ Open*. 2011;1(1):e000120.
64. Hamner JW, Tan CO, Lee K, Cohen MA, Taylor JA. Sympathetic control of the cerebral vasculature in humans. *Stroke*. 2010;41(1):102-9.
65. Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM. Sympathetic nerve activity in the superior cervical ganglia increases in response to imposed increases in arterial pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294(4):R1255-61.
66. Ainslie PN, Ashmead JC, Ide K, Morgan BJ, Poulin MJ. Differential responses to CO₂ and sympathetic stimulation in the cerebral and femoral circulations in humans. *J Physiol*. 2005;566(Pt 2):613-24.
67. Morita-Tsuzuki Y, Hardebo JE, Bouskela E. Interaction between cerebrovascular sympathetic, parasympathetic and sensory nerves in blood flow regulation. *J Vasc Res*. 1993;30(5):263-71.
68. Hosobuchi Y. Electrical stimulation of the cervical spinal cord increases cerebral blood flow in humans. *Appl Neurophysiol*. 1985;48(1-6):372-6.
69. Neu P, Heuser I, Bajbouj M. Cerebral blood flow during vagus nerve stimulation--a transcranial Doppler study. *Neuropsychobiology*. 2005;51(4):265-8.
70. Willie CK, Tzeng YC, Fisher JA, Ainslie PN. Integrative regulation of human brain blood flow. *J Physiol*. 2014;592(Pt 5):841-59.
71. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. A preliminary report on oocyte donation extending reproductive potential to women over 40. *N Engl J Med*. 1990;323(17):1157-60.
72. Lucas SJ, Tzeng YC, Galvin SD, Thomas KN, Ogoh S, Ainslie PN. Influence of changes in blood pressure on cerebral perfusion and oxygenation. *Hypertension*. 2010;55(3):698-705.
73. Zweifel C, Dias C, Smielewski P, Czosnyka M. Continuous time-domain monitoring of cerebral autoregulation in neurocritical care. *Med Eng Phys*. 2014;36(5):638-45.
74. Tan CO, Hamner JW, Taylor JA. The role of myogenic mechanisms in human cerebrovascular regulation. *J Physiol*. 2013;591(Pt 20):5095-105.

75. Duschek S, Schuepbach D, Doll A, Werner C, Reyes del Paso GA. Self-regulation of Cerebral Blood Flow by Means of Transcranial Doppler Sonography Biofeedback. *Ann Behav Med.* 2011;41:235-42.
76. Iadecola C, Nedergaard M. Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci.* 2007;10(11):1369-76.
77. Willie CK, Cowan EC, Ainslie PN, Taylor CE, Smith KJ, Sin PY, et al. Neurovascular coupling and distribution of cerebral blood flow during exercise. *J Neurosci Methods.* 2011;198(2):270-3.
78. Chen BR, Kozberg MG, Bouchard MB, Shaik MA, Hillman EM. A critical role for the vascular endothelium in functional neurovascular coupling in the brain. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(3).
79. Hauge A, Thoresen M, Walloe L. Changes in cerebral blood flow during hyperventilation and CO₂-breathing measured transcutaneously in humans by a bidirectional, pulsed, ultrasound Doppler blood velocitymeter. *Acta Physiol Scand.* 1980;110(2):167-73.
80. Smith KJ, Wong LE, Eves ND, Koelwyn GJ, Smirl JD, Willie CK, et al. Regional cerebral blood flow distribution during exercise: influence of oxygen. *Respir Physiol Neurobiol.* 2012;184(1):97-105.
81. Sato K, Sadamoto T, Hirasawa A, Oue A, Subudhi AW, Miyazawa T, et al. Differential blood flow responses to CO₂ in human internal and external carotid and vertebral arteries. *J Physiol.* 2012;590(Pt 14):3277-90.
82. Harder DR, Roman RJ, Gebremedhin D, Birks EK, Lange AR. A common pathway for regulation of nutritive blood flow to the brain: arterial muscle membrane potential and cytochrome P450 metabolites. *Acta Physiol Scand.* 1998;164(4):527-32.
83. Hill MA, Davis MJ, Meininger GA, Potocnik SJ, Murphy TV. Arteriolar myogenic signalling mechanisms: Implications for local vascular function. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006;34(1-2):67-79.
84. Brayden JE, Earley S, Nelson MT, Reading S. Transient receptor potential (TRP) channels, vascular tone and autoregulation of cerebral blood flow. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008;35(9):1116-20.
85. Bohlen HG, Harper SL. Evidence of myogenic vascular control in the rat cerebral cortex. *Circ Res.* 1984;55(4):554-9.
86. Ide K, Boushel R, Sorensen HM, Fernandes A, Cai Y, Pott F, et al. Middle cerebral artery blood velocity during exercise with beta-1 adrenergic and unilateral stellate ganglion blockade in humans. *Acta Physiol Scand.* 2000;170(1):33-8.

87. Ogoh S, Brothers RM, Barnes Q, Eubank WL, Hawkins MN, Purkayastha S, et al. The effect of changes in cardiac output on middle cerebral artery mean blood velocity at rest and during exercise. *J Physiol.* 2005;569.2:697-704.
88. Ogoh S, Fisher JP, Purkayastha S, Dawson EA, Fadel PJ, White MJ, et al. Regulation of middle cerebral artery blood velocity during recovery from dynamic exercise in humans. *J Appl Physiol.* 2007;102:713-21.
89. Busija DW, Heistad DD, Marcus ML. Continuous measurement of cerebral blood flow in anesthetized cats and dogs. *Am J Physiol.* 1981;241(2):H228-34.
90. Busija DW, Heistad DD. Effects of cholinergic nerves on cerebral blood flow in cats. *Circ Res.* 1981;48(1):62-9.
91. Pearce WJ, D'Alecy LG. Hemorrhage-induced cerebral vasoconstriction in dogs. *Stroke.* 1980;11(2):190-7.
92. Talman WT, Dragon DN, Ohta H. Baroreflexes influence autoregulation of cerebral blood flow during hypertension. *Am J Physiol.* 1994;267(3 Pt 2):H1183-9.
93. Thomas S, Reading J, Shephard R. Revision of the Physical Activity Readiness Questionnaire (PAR-Q). *Can J Sport Sci.* 1992;17(4):338-45.
94. Perez-Gomez J, Rodriguez GV, Ara I, Olmedillas H, Chavarren J, Gonzalez-Henriquez JJ, et al. Role of muscle mass on sprint performance: gender differences? *Eur J Appl Physiol.* 2008;102(6):685-94.
95. Ara I, Perez-Gomez J, Vicente-Rodriguez G, Chavarren J, Dorado C, Calbet JA. Serum free testosterone, leptin and soluble leptin receptor changes in a 6-week strength-training programme. *Br J Nutr.* 2006;96(6):1053-9.
96. Morales-Alamo D, Ponce-Gonzalez JG, Guadalupe-Grau A, Rodriguez-Garcia L, Santana A, Cusso MR, et al. Increased oxidative stress and anaerobic energy release, but blunted Thr172-AMPKalpha phosphorylation, in response to sprint exercise in severe acute hypoxia in humans. *J Appl Physiol (1985).* 2012;113(6):917-28.
97. Davis JA, Whipp BJ, Lamarra N, Huntsman DJ, Frank MH, Wasserman K. Effect of ramp slope on determination of aerobic parameters from the ramp exercise test. *Med Sci Sports Exerc.* 1982;14(5):339-43.
98. Boone J, Bourgois J. The oxygen uptake response to incremental ramp exercise: methodological and physiological issues. *Sports Med.* 2012;42(6):511-26.
99. van Ingen Schenau GJ, de Koning JJ, de Groot G. Optimisation of sprinting performance in running, cycling and speed skating. *Sports Med.* 1994;17(4):259-75.

100. Smith JC, Hill DW. Contribution of energy systems during a Wingate power test. *Br J Sports Med.* 1991;25(4):196-9.
101. Calbet JA, De Paz JA, Garatachea N, Cabeza de Vaca S, Chavarren J. Anaerobic energy provision does not limit Wingate exercise performance in endurance-trained cyclists. *J Appl Physiol* (1985). 2003;94(2):668-76.
102. Calbet JA, Chavarren J, Dorado C. Fractional use of anaerobic capacity during a 30- and a 45-s Wingate test. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;76(4):308-13.
103. Bogdanis GC, Nevill ME, Boobis LH, Lakomy HK, Nevill AM. Recovery of power output and muscle metabolites following 30 s of maximal sprint cycling in man. *J Physiol.* 1995;482 (Pt 2):467-80.
104. Parra J, Cadefau JA, Rodas G, Amigo N, Cusso R. The distribution of rest periods affects performance and adaptations of energy metabolism induced by high-intensity training in human muscle. *Acta Physiol Scand.* 2000;169(2):157-65.
105. Chen ZP, McConell GK, Michell BJ, Snow RJ, Canny BJ, Kemp BE. AMPK signaling in contracting human skeletal muscle: acetyl-CoA carboxylase and NO synthase phosphorylation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279(5):E1202-6.
106. Bar-Or O. The Wingate anaerobic test. An update on methodology, reliability and validity. *Sports Med.* 1987;4(6):381-94.
107. Jones NL, McCartney N, Graham T, Spriet LL, Kowalchuk JM, Heigenhauser GJ, et al. Muscle performance and metabolism in maximal isokinetic cycling at slow and fast speeds. *J Appl Physiol* (1985). 1985;59(1):132-6.
108. Dickinson S. The efficiency of bicycle-peddalling, as affected by speed and load. *J Physiol.* 1929;67(3):242-55.
109. Coast JR, Welch HG. Linear increase in optimal pedal rate with increased power output in cycle ergometry. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1985;53(4):339-42.
110. Chavarren J, Calbet JA. Cycling efficiency and pedalling frequency in road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1999;80(6):555-63.
111. Cope M, Delpy DT. System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination. *Med Biol Eng Comput.* 1988;26(3):289-94.
112. Ekkekakis P. Illuminating the Black Box: Investigation Prefrontal Cortical Hemodynamics During Exercise With Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of Sport and Exercise Psychology.* 2009;31:505-53.

113. Jobsis FF. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science*. 1977;198(4323):1264-7.
114. Obrig H. NIRS in clinical neurology - a "promising" tool? *Neuroimage*. 2014;85:535-46.
115. Young AE, Germon TJ, Barnett NJ, Manara AR, Nelson RJ. Behaviour of near-infrared light in the adult human head: implications for clinical near-infrared spectroscopy. *Br J Anaesth*. 2000;84(1):38-42.
116. Wray S, Cope M, Delpy DT, Wyatt JS, Reynolds EO. Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome aa3 and haemoglobin for the non-invasive monitoring of cerebral oxygenation. *Biochim Biophys Acta*. 1988;933(1):184-92.
117. Gratton G, Maier JS, Fabiani M, Mantulin WW, Gratton E. Feasibility of intracranial near-infrared optical scanning. *Psychophysiology*. 1994;31(2):211-5.
118. Germon TJ, Evans PD, Barnett NJ, Wall P, Manara AR, Nelson RJ. Cerebral near infrared spectroscopy: emitter-detector separation must be increased. *Br J Anaesth*. 1999;82(6):831-7.
119. Yoshitani K, Kawaguchi M, Okuno T, Kanoda T, Ohnishi Y, Kuro M, et al. Measurements of optical pathlength using phase-resolved spectroscopy in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg*. 2007;104(2):341-6.
120. Kirsch JD, Mathur M, Johnson MH, Gowthaman G, Scoutt LM. Advances in transcranial Doppler US: imaging ahead. *Radiographics*. 2013;33(1):E1-E14.
121. Aaslid R, Huber P, Nornes H. A transcranial Doppler method in the evaluation of cerebrovascular spasm. *Neuroradiology*. 1986;28(1):11-6.
122. DeWitt LD, Wechsler LR. Transcranial Doppler. *Stroke*. 1988;19(7):915-21.
123. Miyazaki M, Kato K. Measurement of cerebral blood flow by ultrasonic Doppler technique. *Jpn Circ J*. 1965;29(375-382).
124. Aaslid R, Markwalder T-M, Nornes HM. Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *J Neurosurg*. 1982(57):769-74.
125. Naqvi J, Yap KH, Ahmad G, Ghosh J. Transcranial Doppler Ultrasound A Review of the Physical Principles and Major Applications in Critical Care. *Int J Vasc Med*. 2013:13.
126. Bishop CC, Powell S, Rutt D, Browse NL. Transcranial Doppler measurement of middle cerebral artery blood flow velocity: a validation study. *Stroke*. 1986;17(5):913-5.

127. Nuttall GA, Cook DJ, Fulgham JR, Oliver WC, Jr., Proper JA. The relationship between cerebral blood flow and transcranial Doppler blood flow velocity during hypothermic cardiopulmonary bypass in adults. *Anesth Analg*. 1996;82(6):1146-51.
128. ter Minassian A, Melon E, Leguerinel C, Lodi CA, Bonnet F, Beydon L. Changes in cerebral blood flow during P_aCO_2 variations in patients with severe closed head injury: comparison between the Fick and transcranial Doppler methods. *J Neurosurg*. 1998;88(6):996-1001.
129. Peebles KC, Richards AM, Celi L, McGrattan K, Murrell CJ, Ainslie PN. Human cerebral arteriovenous vasoactive exchange during alterations in arterial blood gases. *J Appl Physiol* (1985). 2008;105(4):1060-8.
130. Serrador JM, Picot PA, Rutt BK, Shoemaker JK, Bondar RL. MRI measures of middle cerebral artery diameter in conscious humans during simulated orthostasis. *Stroke*. 2000;31(7):1672-8.
131. Giller CA, Bowman G, Dyer H, Mootz L, Krippner W. Cerebral arterial diameters during changes in blood pressure and carbon dioxide during craniotomy. *Neurosurgery*. 1993;32(5):737-41; discussion 41-2.
132. Valdueza JM, Balzer JO, Villringer A, Vogl TJ, Kutter R, Einhaupl KM. Changes in blood flow velocity and diameter of the middle cerebral artery during hyperventilation: assessment with MR and transcranial Doppler sonography. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1997;18(10):1929-34.
133. Verbree J, Bronzwaer AS, Ghariq E, Versluis MJ, Daemen MJ, van Buchem MA, et al. Assessment of middle cerebral artery diameter during hypocapnia and hypercapnia in humans using ultra-high-field MRI. *J Appl Physiol* (1985). 2014;117(10):1084-9.
134. Willie CK, Colino FL, Bailey DM, Tzeng YC, Binsted G, Jones LW, et al. Utility of transcranial Doppler ultrasound for the integrative assessment of cerebrovascular function. *J Neurosci Methods*. 2011;196(2):221-37.
135. Lohmann H, Ringelstein EB, Knecht S. Functional transcranial Doppler sonography. *Front Neurol Neurosci*. 2006;21:251-60.
136. Alexandrov AV, Sloan MA, Tegeler CH, Newell DN, Lumsden A, Garami Z, et al. Practice standards for transcranial Doppler (TCD) ultrasound. Part II. Clinical indications and expected outcomes. *J Neuroimaging*. 2012;22(3):215-24.
137. Maggio P, Salinet AS, Robinson TG, Panerai RB. Influence of CO₂ on neurovascular coupling: interaction with dynamic cerebral autoregulation and cerebrovascular reactivity. *Physiol Rep*. 2014;2(3):e00280.

138. Hendrikse J, van der Grond J, Lu H, van Zijl PC, Golay X. Flow territory mapping of the cerebral arteries with regional perfusion MRI. *Stroke*. 2004;35(4):882-7.
139. Noth U, Kotajima F, Deichmann R, Turner R, Corfield DR. Mapping of the cerebral vascular response to hypoxia and hypercapnia using quantitative perfusion MRI at 3 T. *NMR Biomed*. 2008;21(5):464-72.
140. Ringelstein EB, Kahlscheuer B, Niggemeyer E, Otis SM. Transcranial Doppler sonography: anatomical landmarks and normal velocity values. *Ultrasound Med Biol*. 1990;16(8):745-61.
141. Nelson TR, Fowlkes JB, Abramowicz JS, Church CC. Ultrasound biosafety considerations for the practicing sonographer and sonologist. *J Ultrasound Med*. 2009;28(2):139-50.
142. Group BMUS. Guidelines for the safe use of diagnostic ultrasound equipment. 2010.
143. Ainslie PN, Hoiland RL. Transcranial Doppler ultrasound: valid, invalid, or both? *J Appl Physiol* (1985). 2014;117(10):1081-3.
144. Coverdale NS, Gati JS, Opalevych O, Perrotta A, Shoemaker JK. Cerebral blood flow velocity underestimates cerebral blood flow during modest hypercapnia and hypocapnia. *J Appl Physiol* (1985). 2014;117(10):1090-6.
145. Haussen DC, Katsnelson M, Rodriguez A, Campo N, Campo-Bustillo I, Romano JG, et al. Moderate Correlation Between Breath Holding and CO₂ Inhalation Hyperventilation Methods for Transcranial Doppler Evaluation of Cerebral Vasoreactivity. *Journal of Clinical Ultrasound*. 2012;40(9):554-8.
146. Ogoh S, Ainslie PN. Cerebral blood flow during exercise: mechanisms of regulation. *J Appl Physiol* (1985). 2009;107(5):1370-80.
147. Ainslie PN, Duffin J. Integration of cerebrovascular CO₂ reactivity and chemoreflex control of breathing: mechanisms of regulation, measurement, and interpretation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009;296(5):R1473-95.
148. Battisti-Charbonney A, Fisher J, Duffin J. The cerebrovascular response to carbon dioxide in humans. *J Physiol*. 2011;589(Pt 12):3039-48.
149. Ide K, Eliasziw M, Poulin MJ. Relationship between middle cerebral artery blood velocity and end-tidal PCO₂ in the hypocapnic-hypercapnic range in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2003;95(1):129-37.
150. Sakamoto A, Naito H, Chow CM. Hyperventilation as a strategy for improved repeated sprint performance. *J Strength Cond Res*. 2014;28(4):1119-26.

151. Losa-Reyna J, Torres-Peralta R, Henriquez JJ, Calbet JA. Arterial to end-tidal PCO₂ difference during exercise in normoxia and severe acute hypoxia: importance of blood temperature correction. *Physiol Rep*. 2015;3(10).
152. Calbet JA, Mortensen SP, Munch GD, Curtelin D, Boushel R. Constant infusion transpulmonary thermodilution for the assessment of cardiac output in exercising humans. *Scand J Med Sci Sports*. 2015.
153. Mardimae A, Balaban DY, Machina MA, Battisti-Charbonney A, Han JS, Katznelson R, et al. The interaction of carbon dioxide and hypoxia in the control of cerebral blood flow. *Pflugers Arch*. 2012;464(4):345-51.
154. Ainslie PN, Ogoh S. Regulation of cerebral blood flow in mammals during chronic hypoxia: a matter of balance. *Exp Physiol*. 2010;95(2):251-62.
155. Ogoh S, Nakahara H, Ueda S, Okazaki K, Shibasaki M, Subudhi AW, et al. Effects of acute hypoxia on cerebrovascular responses to carbon dioxide. *Exp Physiol*. 2014;99(6):849-58.
156. Rasmussen P, Dawson EA, Nybo L, van Lieshout JJ, Secher NH, Gjedde A. Capillary-oxygenation-level-dependent near-infrared spectrometry in frontal lobe of humans. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2007;27:1082-93.
157. Hellstrom G, Fischer-Colbrie W, Wahlgren NG, Jogestrand T. Carotid artery blood flow and middle cerebral artery blood flow velocity during physical exercise. *J Appl Physiol (1985)*. 1996;81(1):413-8.
158. Moraine JJ, Lamotte M, Berre J, Niset G, Leduc A, Naeije R. Relationship of middle cerebral artery blood flow velocity to intensity during dynamic exercise in normal subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1993;67(1):35-8.
159. Deegan BM, Devine ER, Geraghty MC, Jones E, O'Leighin G, Serrador JM. The relationship between cardiac output and dynamic cerebral autoregulation in humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2010;109(5):1424-31.
160. Davies CT, Di Prampero PE, Cerretelli P. Kinetics of cardiac output and respiratory gas exchange during exercise and recovery. *J Appl Physiol*. 1972;32(5):618-25.
161. Hermansen L, Vaage O. Lactate disappearance and glycogen synthesis in human muscle after maximal exercise. *Am J Physiol*. 1977;233(5):E422-9.
162. Calbet JA, Joyner MJ. Disparity in regional and systemic circulatory capacities: do they affect the regulation of the circulation? *Acta Physiol (Oxf)*. 2010;199(4):393-406.
163. Calbet JA, Lundby C. Skeletal muscle vasodilatation during maximal exercise in health and disease. *J Physiol*. 2012;590(Pt 24):6285-96.

164. Ide K, Pott F, Van Lieshout JJ, Secher NH. Middle cerebral artery blood velocity depends on cardiac output during exercise with a large muscle mass. *Acta Physiol Scand.* 1998;162(1):13-20.
165. Tzeng YC, Willie CK, Atkinson G, Lucas SJ, Wong A, Ainslie PN. Cerebrovascular regulation during transient hypotension and hypertension in humans. *Hypertension.* 2010;56(2):268-73.
166. Pott FC, Ray CA, Olesen HL, Ide K, Secher NH. Middle cerebral artery blood velocity, arterial diameter and muscle sympathetic nerve activity during post-exercise muscle ischaemia. *Acta Physiol Scand.* 1997;160:43-7.
167. Rasmussen P, Stie H, Nielsen B, Nybo L. Enhanced cerebral CO₂ reactivity during strenuous exercise in man. *Eur J Appl Physiol.* 2006;96:299-304.

