

Influencias Simpáticas de la Defensa Cardiaca:
Análisis de las Variaciones Fásicas en el Periodo de
Pre-eyección



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

Javier Rodríguez Árbol

Departamento de Personalidad, Evaluación y Tratamiento Psicológico

Programa Oficial de Doctorado en Psicología (RD1393/2007)

Tesis Doctoral

Marzo 2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Javier Rodríguez Árbol
ISBN: 978-84-9163-247-4
URI: <http://hdl.handle.net/10481/47072>

COMPROMISO DE RESPETO DE LOS DERECHOS DE AUTOR

El doctorando Javier Rodríguez Árbol y los directores de la tesis: Jaime Vila Castellar, M. Carmen Fernández-Santaella Santiago y José Luis Mata Martín, garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, 8 de marzo de 2017,

Directores de tesis:



Jaime Vila Castellar



M. Carmen Fernández-Santaella Santiago



José Luis Mata Martín

Doctorando:



Javier Rodríguez Árbol

A ti, por tu tiempo.

A Pandelis Perakakis e Isis González Usera, por el suyo.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABLAS	xiii
RESUMEN.....	xv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Cardiografía de impedancia.....	1
1.1.1. Los inicios: el grupo de Minnesota	1
1.1.2. El punto B y su correlación con el inicio de la eyección ventricular.	4
1.1.3. El periodo de pre-eyección como índice de actividad simpática.....	10
1.2. Sistema Nervioso Autónomo	11
1.2.1. ¿Qué es el sistema nervioso autónomo?	11
1.2.2. Sistema nervioso autónomo e investigación psicológica	13
1.2.3. Teoría clásicas sobre funcionamiento del SNA	15
1.2.4. Teoría del espacio autonómico	16
1.3. La respuesta cardiaca de defensa como paradigma experimental para el estudio de las emociones	18
1.3.1. Reflejos defensivos y emoción.....	18
1.3.2. ¿Qué es la respuesta cardiaca de defensa?	19
1.3.3. Aplicaciones.....	21
1.3.4. Respuesta cardiaca de defensa y sistema nervioso autónomo	22
2. OBJETIVOS.....	25
2.1. Objetivos generales.....	26
2.2. Objetivos específicos.....	26
3. ESTUDIO 1: Trends in Pre-ejection Period Estimation Methodology	29
3.1. Introduction	29
3.2. PEP Terminology: The Hyphen Effect.....	30
3.3. Methodological Trends in PEP Estimation.....	41
3.3.1. Data Collection Device	41
3.3.2. Software	42
3.3.3. Pre-processing of the data	42

3.3.4. Scoring process	43
3.3.5. Algorithm employed (in case).....	44
3.4. Discussion	45
4. ESTUDIO 2: Mathematical Detection of Aortic Valve Opening (B Point) in Impedance Cardiography: A Comparison of Three Popular Algorithms	47
4.1. Introduction	47
4.1.1. The Problem of B Point Detection.....	48
4.2. Methods.....	49
4.2.1. Dataset.....	49
4.2.2. Algorithms	50
4.2.3. Scoring Procedure for B Point Visual Detection.....	51
4.2.4. Data Analysis	52
4.3. Results.....	54
4.4. Discussion	57
5. ESTUDIO 3: Mapping the sympathetic influence in the components of cardiac defense by means of preejection period.....	59
5.1. INTRODUCTION	59
5.1.1. Psychological significance of cardiac defense	60
5.1.2. Applications of cardiac defense	61
5.1.3. Cardiac defense response and the autonomic space	61
5.2. Methods.....	63
5.2.1. Participants	63
5.2.2. Psychophysiological test	63
5.2.3. Instruments	64
5.2.4. Data reduction	64
5.2.4.1. Psychophysiological indexes.....	64
5.2.4.2. Z scores	65
5.2.5. Analysis.....	65
5.3. Results.....	65
5.4. Discussion	69

6. DISCUSIÓN GENERAL	71
6.1 Conclusiones.....	77
7. MENCIÓN INTERNACIONAL/INTERNATIONAL PhD	79
7.1. Summary.....	79
7.2 Conclusions.....	85
REFERENCIAS	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de un sistema tetrapolar de cardiografía de impedancia.....	2
Figura 2. Registro fisiológico cardiovascular de un perro con <i>pulsus alternans</i>	3
Figura 3. Esquema de circuito derivador.....	5
Figura 4. Registro simultáneo de fonocardiograma, electrocardiograma y primera derivada de la cardiografía de impedancia.....	6
Figura 5. Niveles de coincidencia entre los distintos puntos de referencia del fonocardiograma y dZ/dt	7
Figura 6. Comparación de las líneas de regresión de los puntos B, C y momento apertura de la válvula aórtica registrado mediante micromanómetro.....	10
Figura 7. Esquema de las principales eferencias del sistema nervioso autónomo.....	12
Figura 8. Frecuencia del estudio de las distintas emociones en investigación.....	14
Figura 9. Popularidad de las distintas medidas de funcionamiento del sistema nervioso autónomo.....	15
Figura 10. Representación tridimensional del espacio autonómico.....	17
Figura 11. Growth of the research works indexed in Scopus with the keywords "preejection period" OR "pre-ejection period" since year 1990.....	30
Figura 12. Boole diagram with the overlapping and exclusiveness results depending on the term entered in the search engines.....	32
Figura 13. Distribution of devices employed for impedance cardiography register.....	41
Figura 14. Distribution of the software packages employed for pre-ejection period analysis.....	42
Figura 15. Distribution of the B point detection method employed.....	44
Figura 16. Decision tree for visual B point detection in dZ/dt	53
Figura 17. Distribution of the average pre-ejection period obtained depending on the algorithm used to estimate the B point.....	55
Figura 18. Percentage of cycles with no need of manual edition after applying automatic detection of the B point.....	55
Figura 19. Error rates of the three different algorithms in the automatic detection of the B point, depicted by missed cycles in pre-ejection period estimation.....	56
Figura 20. Level of coincidence of automatic B point detection with the visual inspection by the two different scorers.....	56

Figura 21. Typical pattern of the cardiac defense response.....	59
Figura 22. Comparison of cardiac period and pre-ejection period variations (both expressed in z scores) during cardiac defense response.....	66
Figura 23. Differences in PEP by sex.....	67
Figura 24. Differences in cardiac period by sex.....	68
Figura 25. Variations in the sympathetic activity along the four components of cardiac defense response.....	69

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Review of recent papers published in Psychophysiology, Biological Psychology, and International Journal of Psychophysiology (2010-2015) that use PEP as a variable	33
Tabla 2. Comparison of the reliability of three popular algorithms for automatic B point detection: Summary of results.....	57

RESUMEN

La respuesta cardiaca de defensa es un reflejo defensivo cardiovascular que aparece como reacción ante la presentación de un estímulo sonoro de alta intensidad (>100 dB), corta duración (500 ms) e inesperado. El reflejo se describe como una serie de cambios bien definidos en la frecuencia cardiaca, con un claro patrón secuencial de aceleraciones y desaceleraciones de la misma. Concretamente, está compuesto por cuatro componentes que se suceden de forma consecutiva: una primera aceleración, una primera desaceleración, una segunda aceleración y una segunda desaceleración. Los dos primeros componentes, de menor latencia, se caracterizan por una mayor intensidad y celeridad en alcanzar sus respectivos picos (positivo y negativo), mientras que los dos últimos componentes se desarrollan de forma más progresiva y menos acentuada (Vila et al., 2007).

Con respecto a sus correlatos psicológicos, se ha demostrado empíricamente que la respuesta cardiaca de defensa puede ser modulada por factores tanto emocionales como atencionales (Ramírez et al., 2010), lo que pone de manifiesto sus implicaciones motivacionales y cognitivas en la facilitación de la conducta defensiva. Esta característica, unida a las garantías metodológicas que ofrece un reflejo defensivo fácilmente reproducible en condiciones de laboratorio, ha favorecido su utilización en diferentes diseños experimentales aplicados. Uno de los más recientes y novedosos es su aplicación como herramienta de evaluación clínica para detectar patrones diferenciales de reactividad cardiovascular en pacientes con trastorno de estrés postraumático (Schalinski, Elbert & Schauer, 2013). Los resultados obtenidos abren la puerta para el desarrollo de este paradigma psicofisiológico como técnica de apoyo en la práctica clínica, como ya lo hiciera el trabajo pionero de Lang y McTeague (2009) con la modulación del reflejo de sobresalto evaluado mediante registro electromiográfico del músculo orbicular del ojo.

Puesto que uno de los síntomas comunes a todo el espectro de los trastornos de ansiedad es una alteración del nivel de reacción fisiológica normal ante los estímulos ansiógenos (Lang, McTeague & Bradley, 2016), uno de los puntos claves en el desarrollo de este paradigma es determinar las influencias autonómicas en los distintos componentes de la respuesta. Esto resulta aún más saliente en el caso de un reflejo cardiovascular, dado que la variable cardiaca más frecuentemente empleada en investigación en el área de psicología de las emociones es la frecuencia cardiaca (Kreibig, 2010). A pesar de ser éste un índice que refleja influencias tanto simpáticas como parasimpáticas de forma indiferenciada, resulta frecuente en la literatura

encontrar estudios donde se infiere la actividad de las dos ramas autonómicas a partir de una variación fásica en la frecuencia cardíaca. Así, un aumento en la frecuencia cardíaca es frecuentemente interpretado como un aumento de la actividad simpática acompañado por una inhibición de la actividad parasimpática, y viceversa.

Seguramente la influencia del trabajo de Cannon (1929), el cual proponía la actividad recíproca como único modo de funcionamiento de las ramas simpática y parasimpática del sistema nervioso autónomo, junto con la preponderancia de este funcionamiento recíproco en algunos de los reflejos paradigmáticos del área de la psicofisiología (*sinus* arritmia respiratoria y reflejo barorreceptor), han favorecido la generalización de este modelo como norma única del funcionamiento autonómico y su vigencia hasta nuestros días, a pesar de la existencia de datos contradictorios. Ya al inicio de la década de los 70 se alzaron las primeras voces críticas (Obrist et al., 1970) ante la inadecuación de considerar la reciprocidad en la actividad de las dos ramas autonómicas como única forma de funcionamiento del sistema vegetativo, pero no sería hasta los años 90 cuando aparecería el primer modelo teórico que permitiera una integración efectiva de los datos que no tenían cabida en el modelo imperante hasta entonces.

Berntson, Cacioppo y Quigley (1991) propusieron el concepto de espacio autonómico como un plano tridimensional que sería indicativo del nivel de activación funcional fisiológica de un determinado órgano o sistema. Este plano vendría determinado por dos vectores bidimensionales e independientes que representan la actividad de las dos ramas del sistema nervioso autónomo: la simpática y la parasimpática. Con esta propuesta se abre el abanico de las posibles configuraciones del sistema vegetativo, pues al funcionamiento recíproco (activación de una rama con la inhibición sincrónica de la otra), se le añade la posibilidad de co-activación, co-inhibición y activación (o inhibición) independiente de una de las dos ramas.

Existen dos estudios que han explorado las influencias simpáticas en la respuesta de defensa cardíaca. Fernández y Vila (1989) registraron el tiempo de tránsito del pulso (TTP) de forma sincrónica con el periodo cardíaco, hallando una correlación negativa entre ambas variables en el primer componente acelerativo de la respuesta. Es decir, que mientras el TTP se alargaba (indicando una disminución de la actividad simpática), el periodo cardíaco se acortaba (indicando un mayor nivel de activación funcional del corazón). Estos resultados resultan incompatibles con un funcionamiento recíproco de las dos ramas del sistema nervioso simpático, puesto que con este modelo la inhibición simpática indicada por el acortamiento fásico del TTP debería ir

acompañada por un aumento de la actividad vagal, lo que en ningún caso podría traducirse en el aumento de la frecuencia cardiaca registrado durante el primer componente. Cinco años más tarde, Del Paso, Vila y García (1994) hallaron resultados que apoyaban la falta de correlación entre el aumento de frecuencia cardiaca del primer componente de la respuesta de defensa y la actividad simpática. En este caso, el diseño experimental se basaba en el bloqueo farmacológico de las influencias simpáticas sobre el corazón mediante la administración de metoprolol antes de la sesión experimental de defensa cardiaca. La administración del fármaco (un antagonista beta-adrenérgico) no tuvo ningún efecto sobre el primer componente de la respuesta, reflejado en el aumento de la frecuencia cardiaca. Sin embargo, los autores señalaban que el tamaño de la muestra era reducido, recomendando prudencia en la generalización de los resultados obtenidos. Asimismo, Fernández y Vila (1989) también mostraron moderación en sus conclusiones, principalmente debido a las críticas vertidas por algunos autores (por ejemplo: Newlin & Levenson, 1979) sobre el TTP, el cual no consideraban un índice simpático "puro" por englobar en sí mismo el tiempo de tránsito arterial, sensible a efectos de vasoconstricción y vasodilatación, y por lo tanto con posibilidad de verse afectado por influencias parasimpáticas.

La meta de la presente tesis es recoger el testigo del trabajo iniciado por Fernández y Vila (1989) y continuado por Del Paso, Vila y García (1994), teniendo presentes las cuestiones metodológicas apuntadas en sus respectivos artículos. De esta manera, el objetivo no es otro que intentar trazar las influencias simpáticas de la respuesta cardiaca de defensa en una amplia muestra de sujetos normales, mediante la inclusión de un índice simpático no invasivo que refleje de la forma más fiel posible la actividad de las fibras beta-adrenérgicas sobre el funcionamiento cardiovascular. La variable elegida fue el periodo de pre-eyección, un intervalo de tiempo sistólico con una revisión muy favorable por parte de Newlin y Levenson (1978), el cual describen como ajeno a las influencias parasimpáticas que afectan al TTP.

El periodo de pre-eyección (PEP) está definido como el intervalo de tiempo entre el comienzo de la despolarización ventricular y el inicio de la eyección ventricular, determinado este último por la apertura de la válvula aórtica. Su estimación mediante el empleo conjunto de electrocardiografía y cardiografía de impedancia ha adquirido gran popularidad en el campo de la psicofisiología desde la publicación de las pautas metodológicas de aplicación en la revista *Psychophysiology* (Sherwood et al., 1990), considerándose hoy día uno de los índices no invasivos más sólidos de contractilidad ventricular. Sin embargo, el uso de esta técnica conlleva lidiar con algunas cuestiones metodológicas no resueltas aún de forma satisfactoria, las cuales pueden afectar en

mayor o menor medida a la fiabilidad de los resultados. Sin duda, la que genera mayor incertidumbre es la detección precisa del punto B, correlato temporal de la apertura de la válvula aórtica en la señal de la primera derivada de la impedancia torácica. Las pautas metodológicas de referencia (Sherwood et al., 1990) describen la operacionalización de la detección visual de este marcador fisiológico de forma sucinta, dejando espacio para cierto nivel de interpretación subjetiva ante la variabilidad morfológica de la onda. Asimismo, en la última década hemos asistido a la proliferación de diversos métodos computarizados de detección automática, los cuales pueden suponer un apoyo tecnológico importante en los casos en los que se opere con un gran volumen de datos. Paradójicamente, salvo algunas excepciones (Lozano et al., 2007; Ono et al., 2004), esta proliferación de algoritmos matemáticos para la detección del punto B no ha ido acompañada de sus correspondientes artículos empíricos de validación en medios de comunicación científica bajo revisión por pares.

Ante esta situación, se decidió realizar una revisión sistemática de la literatura publicada en los últimos cinco años en las principales revistas del área (*Psychophysiology*, *Biological Psychology* e *International Journal of Psychophysiology*), con el objetivo de explorar las últimas tendencias en estimación del periodo de pre-eyección mediante cardiografía de impedancia. Los resultados de la revisión mostraron que, de los 72 artículos que utilizaron esta técnica en sus diseños experimentales, la mayoría (54.17%) empleaban un método automático de detección del punto B. Sin embargo, solo 9 artículos especificaban el tipo de algoritmo empleado, refiriéndose 7 de ellos al método polinómico de Lozano et al. (2007).

Debido a la falta de información con respecto a la efectividad y validez de los distintos algoritmos de detección automática del punto B, y con el objetivo de optimizar los recursos disponibles de cara al análisis del PEP en los datos de respuesta cardiaca de defensa, se diseñó un estudio empírico para determinar comparativamente y de forma objetiva el rendimiento de tres algoritmos distintos. El algoritmo 1 estaba basado en el punto de cruce del valor medio de dZ/dt en el ciclo correspondiente. El algoritmo 2 localizaba el punto B en el máximo de la segunda derivada de la impedancia torácica d^2Z/dt^2 en una ventana temporal comprendida entre 150 ms y 100 ms antes del máximo de dZ/dt . El algoritmo 3 localizaba el punto B en el máximo de la tercera derivada d^3Z/dt^3 en los 300 ms anteriores al máximo de dZ/dt . La referencia para determinar la efectividad de los algoritmos fue el nivel de coincidencia con la detección visual efectuada por dos investigadores independientes, utilizando un diseño de ciego simple. A estos efectos se elaboró una novedosa guía de detección visual con formato de árbol de decisiones basada en las directrices operacionalizadas de Sherwood et al.

(1990), pero teniendo también en cuenta las indicaciones sobre variabilidad morfológica efectuadas por Nagel et al. (1989). Asimismo, se evaluaron dos parámetros objetivos adicionales para determinar el rendimiento de los algoritmos: número de errores en el cómputo automático del PEP y puntuaciones anormales de PEP (fuera de los límites fisiológicos viables en población normal).

Los mismos datos de cardiografía de impedancia de 30 sujetos distintos (15 mujeres), fueron sometidos a análisis empleando los tres algoritmos descritos. Los resultados reflejaron un nivel de coincidencia significativamente mayor del algoritmo 3 con la detección visual efectuada por ambos investigadores, cuyos juicios independientes mostraron a su vez un alto coeficiente de correlación intraclase (0.968). Los algoritmos 1 y 2 mostraron unos niveles de coincidencia con la detección visual muy inferiores, destacando además el último por presentar un alto coeficiente de ciclos no computados por error del algoritmo en la estimación del PEP. En términos prácticos, según estos resultados, la aplicación del algoritmo 1 para la estimación automática del PEP implica una corrección manual posterior del 75.5% de los ciclos analizados, el algoritmo 2 necesitaría edición manual en el 86.16% de los ciclos, mientras que en el caso del algoritmo 3 necesitarían ser corregidos manualmente el 21.33% de los ciclos. Además, las diferencias en las puntuaciones de PEP obtenidas con los diferentes algoritmos resultaron ser estadísticamente significativas. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de validar empíricamente cualquier método automático de detección de marcadores fisiológicos, así como también señalan la relevancia de especificar en la descripción metodológica el tipo de algoritmo empleado en caso de optar por alguno de los métodos computarizados de detección del punto B. Las diferencias en PEP obtenidas por los distintos algoritmos sugieren que, de no especificarlo, pueden encontrarse problemas de reproducibilidad ajenos a las variables experimentales de interés, provocados por la disparidad en el rendimiento al efectuar la estimación del PEP en caso de usar algoritmos distintos. Asimismo, resulta manifiesta la necesidad de comprobación visual y edición manual ineludible en la estimación de PEP mediante cardiografía de impedancia.

Las conclusiones acerca de los procedimientos metodológicos en la estimación del PEP obtenidos a partir de los dos primeros estudios resultaron altamente relevantes en el proceso de reducción de datos psicofisiológicos efectuado en el Estudio 3. De esta manera, la aplicación del algoritmo 3 para la detección automática del punto B de forma previa a la edición manual ha supuesto un ahorro estimado de aproximadamente 70 horas de trabajo de edición.

En el tercer estudio se evaluó la respuesta cardíaca de defensa de 100 sujetos (50 mujeres), mediante registro sincrónico de electrocardiografía y cardiografía de impedancia, analizando posteriormente las variaciones fásicas en periodo cardíaco y PEP. Los resultados muestran una correlación negativa de estas dos variables durante el primer componente de la respuesta, reflejado en un acortamiento del periodo cardíaco de forma concomitante con un alargamiento del PEP. Interpretando estos resultados según el modelo del espacio autonómico, las respectivas variaciones de las dos variables se traducen en un aumento fásico del nivel de activación funcional del corazón, coincidente con la inhibición de uno de los vectores determinantes del mismo (el correspondiente al sistema simpático). Así, según la ecuación de Berntson, Cacioppo y Quigley (1990), y a falta de identificar posibles variables adicionales que intervengan en el incremento cronotrópico reflejado en el periodo cardíaco, el segundo vector determinante (sistema parasimpático) debería de presentar simultáneamente una fuerte inhibición para obtener el plano de *arousal* cardiovascular registrado. Esta presunta co-inhibición de las dos ramas vegetativas, en el caso de tener similar magnitud de influencia sobre el cronotropismo, tendería a anular mutuamente sus respectivos efectos antagónicos sobre el nivel de actividad funcional del corazón. Sin embargo, dicho nivel de actividad general presenta un aumento fásico, el cual es compatible con los efectos de la inhibición parasimpática, pero es contrario a los efectos de la inhibición simpática, de lo que se podría deducir una preponderancia de las influencias vagales sobre la actividad cronotrópica del corazón, las cuales predominarían e impondrían su influencia sobre las simpáticas. Esta posible preponderancia parasimpática también puede ser inferida a partir del acortamiento progresivo del PEP que se produce desde el comienzo del segundo componente de la respuesta cardíaca de defensa. El cual, sin embargo, se caracteriza por una disminución de la actividad funcional general (antagónica al aumento de actividad simpática reflejado en la evolución del PEP), que llega incluso a caer por debajo del nivel basal previo al inicio del reflejo.

Si nos basamos en las variaciones fásicas del PEP como indicadores de las influencias simpáticas en la respuesta cardíaca de defensa, podemos trazar una respuesta simpática de tres componentes consecutivos y claramente diferenciados: una disminución aguda de la actividad simpática que alcanza su mínimo coincidiendo con el pico máximo de la primera aceleración cardíaca, seguida por una reactivación de la influencia beta-adrenérgica positiva durante el segundo y tercer componente de la respuesta cardíaca de defensa, finalizando por último con una disminución progresiva que coincide con la última desaceleración cardíaca.

Estos resultados invitan a la reflexión sobre lo adecuado de inferir de forma indiscriminada los niveles de actividad autonómicos a partir de variaciones fásicas en la frecuencia cardíaca, tomando como referencia un modelo de funcionamiento autonómico exclusivamente basado en la reciprocidad de las dos ramas. La coincidencia en resultados con los dos estudios de referencia (Del Paso, Vila & García, 1994; Fernández & Vila, 1989) también pone de manifiesto la potencia de los diseños basados en bloqueo farmacológico, y hablan positivamente del TTP como indicador de las variaciones fásicas relativas en el nivel de actividad beta-adrenérgica (por lo menos en las condiciones experimentales aquí descritas), sugiriendo la plausibilidad de amortiguar las críticas referidas a esta técnica sobre su adecuación como índice simpático.

La inclusión en futuros estudios de índices específicos del sistema parasimpático podrá ayudar a reforzar o rechazar las hipótesis aquí planteadas acerca de las relaciones entre las dos ramas del sistema nervioso autónomo durante la respuesta cardíaca de defensa.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Cardiografía de impedancia.

1.1.1. Los inicios: el grupo de Minnesota

En la década de los 60, la necesidad de comprobar empíricamente cómo la ausencia de gravedad afectaría a la función cardiovascular de los astronautas se convierte en una de las prioridades de la agencia espacial norteamericana. Por esta razón y durante un periodo de cinco años consecutivos, un grupo de investigación radicado en la Universidad de Minnesota recibe una partida presupuestaria del programa espacial estadounidense con el objetivo de diseñar un dispositivo no invasivo que permita estudiar la actividad mecánica del corazón en humanos vivos. El fruto de esta colaboración es el desarrollo de la técnica conocida como cardiografía de impedancia (ICG), así como del primer dispositivo comercializado de forma efectiva para estos propósitos: el cardiógrafo de impedancia Minnesota (U.S. Patent No. 3340867A, 1967).

La base fundamental de la ICG consiste en explotar las propiedades del plasma sanguíneo como conductor eléctrico para, aplicando una corriente alterna a la zona torácica, poder estimar los cambios en el volumen de sangre eyectada que se producen como consecuencia de las diferentes fases del ciclo cardiaco. Estos cambios volumétricos son inferidos a partir de variaciones en la impedancia torácica (resistencia del tórax al paso de una corriente alterna), la cual depende principalmente del volumen sanguíneo que transcurre por la arteria aorta (según el modelo de Kubicek et al., 1966). De forma simplificada, consiste en una aplicación de la ley de Ohm, donde:

$$V_{ab} = I \cdot R$$

Puesto que la diferencia de potencial (V_{ab}) entre dos puntos de un circuito eléctrico es función de la intensidad (I) de la corriente que transcurre por él multiplicada por la resistencia (R) del conductor, si tenemos la certeza absoluta de que la intensidad es constante y conocemos su magnitud, podremos despejar esta variable de la ecuación, quedando la diferencia de potencial entre el punto a y b determinada por la resistencia del conductor en el segmento incluido entre dichos puntos. Siguiendo este planteamiento, Kubicek et al. (1966), llegaron a la conclusión de que para poder monitorizar de forma continua cambios en la resistencia del tórax, bastaba con aplicar

Diagram illustrating the setup for measuring blood flow in the aorta using an ultrasonic flowmeter. The setup includes a human torso with the following components and connections:

- Constant Current Oscillator 100 KHz**: Connected to the **Transducer (1)** on the left side of the chest.
- Transducer (1)**: Positioned on the left side of the chest, emitting an ultrasonic beam (indicated by a dashed line) through the **Xiphisternal Joint (4)** towards the **Receiver (2)**.
- Receiver (2)**: Positioned on the right side of the chest, receiving the reflected ultrasonic beam.
- Microphone (3)**: Positioned on the chest, likely for phonocardiogram recording.
- Voltage Pick-up and Detection**: Connected to the Receiver (2) and the Microphone (3). It has four outputs: Z_0 , ΔZ , $\frac{dz}{dt}$, and **ECG**.
- Phonocardiogram**: Connected to the **ECG** output of the Voltage Pick-up and Detection unit.
- To External ECG Input**: Connected to the **ECG** output of the Voltage Pick-up and Detection unit.

Mediante esta configuración tetrapolar, con dos electrodos activos (encargados de generar el circuito eléctrico) y dos electrodos de medición (encargados de registrar las diferencias de potencial entre los dos extremos del circuito), Kubicek et al. (1966) hallaron la forma de obtener mediante un procedimiento no invasivo el registro continuo de la impedancia torácica. La señal obtenida era una onda pulsátil sincronizada con los ciclos cardiacos reflejados en el electrocardiograma (ECG). Con el objetivo de determinar de forma empírica el origen de la onda, es decir, de identificar qué fenómenos eran los que producían los cambios cíclicos en la impedancia torácica, el grupo de Kubicek realizó una serie de estudios con perros, a los que les implantó quirúrgicamente distintos instrumentos de medida y manipulación (como medidores de presión electromagnéticos y catéteres de oclusión). Tras efectuar distintas pruebas y trazar las características normales de la señal, los investigadores hallaron las mayores alteraciones de la onda pulsátil de la ICG en aquellas condiciones en las que el funcionamiento del ventrículo izquierdo estaba visiblemente alterado. Obstruyendo la entrada de sangre al ventrículo izquierdo mediante un catéter de oclusión colocado en la aurícula izquierda, la señal pulsátil típica de la ICG desaparecía. También se detectó

una alteración importante de la señal en una serie de perros que desarrollaron *pulsus alternans*: una condición clínica relacionada con un tipo de disfunción del ventrículo izquierdo, caracterizada por un debilitamiento de la fuerza de eyección en latidos alternos, por lo que se produce una eyección normal seguida de una debilitada, y así sucesivamente. Esta condición clínica era claramente visible en el registro de la ICG y del medidor de presión, pero no causaba ninguna alteración de la onda del ECG (Figura 2).



Figura 2. Registro fisiológico cardiovascular de un perro con *pulsus alternans*. Se observa la desaparición de la onda de la cardiografía de impedancia en latidos alternos al compararla con el electrocardiograma. Q_{PA} = flujo sanguíneo en la arteria pulmonar, Q_A = flujo sanguíneo en la arteria aorta, P_{RA} = presión de la aurícula derecha, P_A = presión aórtica. Extraído de Patterson (1989).

Estos hallazgos centraron la atención de los investigadores en el papel que el flujo sanguíneo proveniente del ventrículo izquierdo jugaba en los cambios de impedancia torácica registrados con su dispositivo. Mediante el diseño de distintos modelos cilíndricos experimentales, llegaron a la conclusión de que era el flujo de la circulación sistémica (y no de la pulmonar) el que determinaba principalmente la onda de la ICG. Aunque estas pruebas empíricas auspiciaron una aceptación generalizada de la técnica, dichos modelos han sido posteriormente tachados de simplificados y

criticados por estar lejos de reproducir la naturaleza real del tórax humano (Miller & Horvath, 1978; Kosicki et al., 1986). Sin embargo, esto no impidió que se iniciara una potente línea de investigación con el objetivo de testar las posibilidades que ofrecía este nuevo avance tecnológico: tras perfeccionar el dispositivo y bautizarlo como *Minnesota Impedance Cardiograph* en el registro de patentes, Kubicek y su equipo enviaron un ejemplar de su dispositivo a distintos grupos de investigación a lo largo y ancho del planeta. Los mayores y más reconocidos especialistas del campo (incluyendo al doctor Barnard, artífice del primer trasplante de corazón humano de la historia) recibieron un equipo *Minnesota* y se apresuraron a incorporarlo en sus diseños experimentales. Uno de los envíos se dirigió al vecino estado de Iowa, donde el cardiólogo pediátrico Zuhdi Lababidi y su equipo realizarían un hallazgo determinante para el desarrollo de la ICG como herramienta de investigación científica en el campo de la psicofisiología.

1.1.2. El punto B y su correlación con el inicio de la eyección ventricular.

En el departamento de pediatría del Hospital Universitario de Iowa, uno de los grupos de investigación seleccionados por Kubicek y sus colegas para testar las posibilidades del cardiógrafo de impedancia *Minnesota* decidió realizar un registro simultáneo de ICG, ECG y fonocardiograma. El objetivo era comprobar si había algún tipo de coincidencia temporal entre las ondas características de los distintos registros. Una de las peculiaridades más llamativas del estudio fue que el doctor Lababidi y sus colegas optaron por centrarse en el análisis de la primera derivada de la ICG: un canal adicional que proporcionaba el cardiógrafo mediante un circuito derivador. Este tipo de circuitos, cuyos elementos electrónicos principales son un condensador, un diodo y una resistencia (Figura 3), realizan la operación algebraica de derivación de forma automática. Es decir, la señal de salida del circuito es proporcional a la derivada en el tiempo de la señal de entrada. Puesto que la señal de entrada no es otra que los cambios en impedancia torácica, la gráfica de la primera derivada de la ICG (dZ/dt) indica la velocidad con la que varía la impedancia torácica en el tiempo. Si asumimos como correctas las propuestas de Kubicek et al. (1966) de que los cambios en impedancia se deben al flujo sanguíneo ascendente por la arteria aorta, la función dZ/dt puede ser interpretada como un indicador relativo de la velocidad con la que la sangre está fluyendo por dicha arteria.

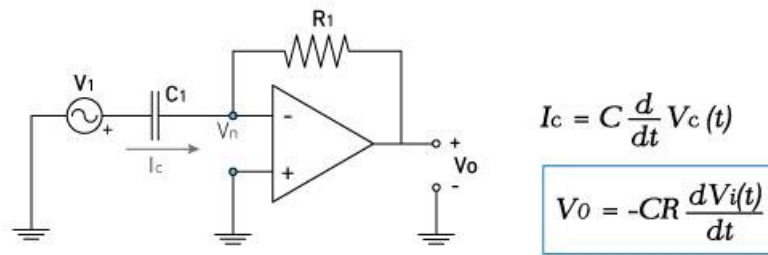


Figura 3. Esquema de circuito derivador. La señal de salida (V_0) es función de la variación en el tiempo de la señal de entrada ($dV_i(t)/dt$). V_1 = corriente alterna de entrada, C_1 = condensador, R_1 = resistencia. Extraído de www.saigesp.es.

El estudio de Lababidi, Ehmke, Durnin, Leaverton & Lauer (1970) analizó los registros de 91 sujetos experimentales, encontrando diversas coincidencias de importancia entre puntos de referencia característicos del fonocardiograma y dZ/dt (ver Figura 4). Uno de estos puntos destaca sobre los demás porque constituiría el inicio de toda una línea de investigación en fisiología cardiovascular y psicofisiología: el denominado por los autores como punto B.

El punto B es definido por Lababidi et al. (1970) como una inflexión bien marcada en la onda dZ/dt , la cual coincide de forma precisa (informan de una variación máxima de ± 2 ms, ver Figura 5) con la segunda inflexión del primer sonido del fonocardiograma. Esta última inflexión está asociada a la apertura de la válvula aórtica. Así que, por vinculación, el punto B fue propuesto por los autores como indicador de este fenómeno cardiovascular. Aunque el objetivo inicial del estudio era comprobar las posibilidades de la ICG como técnica de apoyo para facilitar la detección de los eventos fisiológicos de interés en secciones del fonocardiograma con baja calidad del registro, los autores afirmaron con vehemencia la fiabilidad de la señal dZ/dt por sí sola como indicador del momento de apertura de la válvula aórtica.

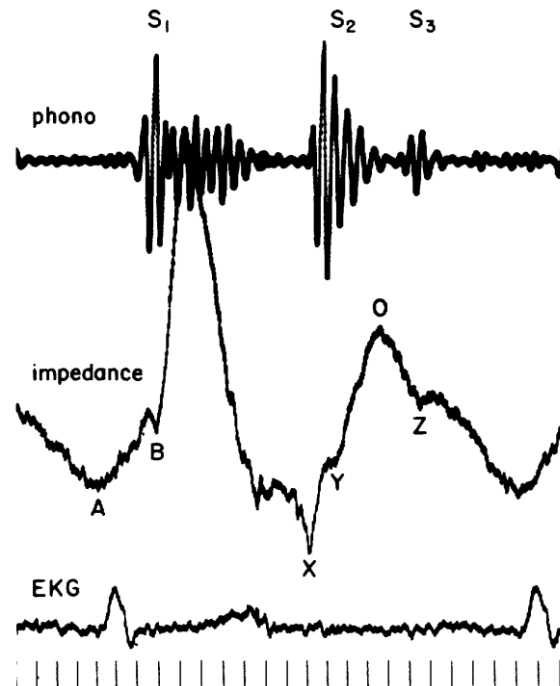


Figura 4. Registro simultáneo de fonocardiograma (*phono*), electrocardiograma (*EKG*) y primera derivada de la cardiografía de impedancia (*impedance*). Nótese la coincidencia entre la segunda inflexión del primer sonido sistólico (S_1) y el punto B. Extraído de Lababidi et al. (1970).

Sin embargo, el estudio presentaba algunas cuestiones metodológicas dignas de ser mencionadas:

a) A pesar de informar de una muestra compuesta por 91 sujetos, para la sección del estudio relativa al punto B sólo se tuvieron en cuenta los registros de 27 sujetos y, lo que es aún más llamativo, en el análisis únicamente se introdujeron 97 ciclos cardíacos en total, sin dar más información acerca de la forma de hacer esta selección. En el apartado del Método, los autores sólo informan de que cada sujeto contribuyó con 4 ciclos cardíacos de media. Es decir, que la proporción de datos aportados por cada sujeto no fue uniforme y resulta escasa para poder generalizar los hallazgos. Además, la falta de información al respecto impide asumir ningún tipo de aleatoriedad en la muestra de ciclos cardíacos seleccionada.

b) De los 27 sujetos, se informa que en 19 de ellos existe una correlación perfecta entre el punto B y la segunda deflexión del primer sonido del fonocardiograma. En los 8 restantes, los autores aseguran que existe un desfase temporal medio de ± 2 ms. Sin embargo, ateniéndonos a la información presentada en el artículo acerca del instrumental científico empleado, resulta inverosímil que se pudiera realizar una

medición con semejante nivel de precisión. La limitación se debe principalmente a que el registro de la señal se realizaba en papel milimetrado, desplazándose este a una velocidad de 150 mm/s. Teniendo en cuenta que el instrumento utilizado para efectuar las mediciones era una regla milimetrada, la precisión máxima que podía conseguirse era de un milímetro en el papel, lo que equivaldría a 6.7 ms de registro. Por tanto, resulta poco apropiado informar de variaciones de 2 ms, cuando dicha magnitud está muy por debajo del nivel de precisión máximo que podía ser alcanzado con los recursos tecnológicos disponibles.

Subjects	Difference between					
	(R to S ₁)- (R to A)	(R to S ₁)- (R to B)	(R to A ₂)- (R to X)	(R to P ₁)- (R to Y)	(R to O.S.)- (R to O)	(R to S ₁)- (R to Z)
No. with identical intervals	9	19	28	25	6	14
	Difference between average intervals (sec)*					
No. without identical intervals						
1	—	— 0.002	— 0.002	— 0.003	— 0.01	— 0.01
2	—	— 0.002	— 0.002	— 0.003	— 0.01	— 0.01
3	—	— 0.002	— 0.002	— 0.004	+ 0.01	— 0.01
4	—	— 0.002	— 0.003	— 0.004	+ 0.01	—
5	—	+ 0.002	— 0.007	— 0.005	—	—
6	—	+ 0.002	+ 0.002	+ 0.002	—	—
7	—	+ 0.002	+ 0.003	+ 0.002	—	—
8	—	+ 0.002	+ 0.003	+ 0.005	—	—
9	—	—	+ 0.010	+ 0.007	—	—
10	—	—	—	+ 0.008	—	—
11	—	—	—	+ 0.010	—	—
12	—	—	—	+ 0.010	—	—
Total subjects	9	27	37	37	10	17

Figura 5. Niveles de coincidencia entre los distintos puntos de referencia del fonocardiograma y dZ/dt. Extraído de Lababidi et al. (1970).

A pesar de estas cuestiones metodológicas y a tenor del número de citas que a día de hoy acumula este artículo (219 según Google Scholar, 144 según Web of Science), se deduce que las pruebas empíricas proporcionadas por Lababidi et al. (1970) se consideraron como suficientes para empezar a considerar el punto B de dZ/dt como indicador relativamente fiable del inicio de la eyección ventricular izquierda.

Resulta digno de mención el hecho de que el trabajo realizado de forma paralela por Siegel et al. (1970) en el Albert Einstein College of Medicine del Bronx (Nueva York, EE.UU.), el cual aporta importantes datos acerca de las luces y sombras del punto B, parece haber tenido menos repercusión en la literatura que el trabajo de de Lababidi y sus colaboradores (63 citas según Google Scholar, 55 según Web of Science).

Inicialmente, el principal interés de Siegel y sus colaboradores en la ICG era poder disponer de una herramienta no invasiva que proporcionara de forma precisa el volumen de eyección ventricular. Dicho interés radicaba en el hecho de que recientemente habían asociado determinadas alteraciones en el volumen de eyección con posterior fallo cardíaco en cuadros de choque séptico y cirrosis hepática (Siegel, Greenspan & Del Guercio, 1967), lo que convertía esta variable en una importante herramienta diagnóstica en caso de poder ser medida sin necesidad de intervención quirúrgica. Desafortunadamente, Siegel et al. (1970) informaron de que las pruebas realizadas con el modelo algorítmico de Kubicek et al. (1966) para calcular el volumen de eyección no alcanzaban los niveles de precisión requeridos para su uso clínico en pacientes con riesgo de insuficiencia cardíaca. A pesar de esta decepción inicial, el grupo del Bronx sí que encontró utilidad científica en la ICG, puesto que la técnica proporcionaba índices de interés para la investigación de la función contráctil del miocardio, siendo utilizada en una preparación experimental con manipulación farmacológica.

El diseño de Siegel y sus colaboradores (1970) tenía el objetivo de explorar la relación entre fuerza y velocidad de contracción de las fibras cardíacas, manipulando la intensidad de la contractilidad ventricular con fármacos. Para ello, utilizando a perros como sujetos experimentales, introdujeron sendos micromanómetros en la cavidad ventricular izquierda y en la sección inicial de la arteria aorta de cada sujeto, justo por encima de la válvula aórtica, de forma que ninguno de los dispositivos obstaculizara el funcionamiento ventricular normal. De forma paralela, registraron la presión ventricular y la ICG, comparando las funciones derivadas de ambas señales (ver Figura 6). Entre los distintos hallazgos que encontraron, destacaron la existencia de una fuerte correlación ($r=0.88$) en el eje del tiempo entre un punto de inflexión previo al máximo de dZ/dt (el punto B de Lababidi et al. (1970)) y el máximo de la primera derivada de la presión intraventricular (dp/dt), el cual a su vez mostró una fuerte correlación ($r=0.88$) con el momento de apertura de la válvula aórtica detectado mecánicamente mediante el micromanómetro implantado en la primera sección de la arteria aorta. Sorprende que no presentaran los datos de correlación directa entre el punto B y el momento de apertura de la válvula aórtica, ya que disponían de ambos registros. Sí que señalaron, empero, la dificultad para localizar el punto B en algunas secciones del registro, lo que hacía imposible calcular el índice en los ciclos correspondientes. No obstante, admitieron su alto nivel de correlación con el máximo de dp/dt cuando sí podía ser identificado y, en cualquier caso, el carácter no invasivo de la ICG les hizo valorar positivamente el punto B como índice de contractilidad sensible a la actividad

simpática sobre el miocardio, considerándola una sólida alternativa a las técnicas mecánicas tradicionales.

En un intento de driblar la inconsistencia observada en el punto B como marcador fisiológico, también evaluaron la plausibilidad de usar el máximo de dZ/dt en su lugar, cuya consistencia a lo largo del registro resultaba mucho más estable. Sin embargo, en sus resultados informaron de una baja correlación entre el máximo de dp/dt y el máximo de dZ/dt ($r=0.81$), calificando este último como un indicador poco adecuado de variaciones en la contractilidad ventricular. En su discusión, los autores especifican que este punto indica el pico de velocidad máxima del flujo sanguíneo discurriendo por la aorta y, según sus pruebas, se ve significativamente afectado por el nivel de presión arterial, lo que devalúa su idoneidad como índice de contractilidad. Estos efectos se evitan en el caso del punto B, que no parece estar afectado por variaciones en el grado de vasoconstricción (Siegel et al., 1970).

Debido a las dificultades que entraña el punto B en su detección, no ha cejado el empeño de otros autores por encontrar un índice alternativo en la señal dZ/dt . Curiosamente, a pesar de los resultados poco alentadores de Siegel et al. (1970), los esfuerzos de varios grupos de investigación se han seguido centrando en validar el pico de dZ/dt como indicador de contractilidad, ya sea de forma directa en el caso del ISTI (Meijer et al., 2008), o mediante una transformación matemática en el caso del modelo polinómico de Lozano et al. (2007). Sin embargo, el trabajo empírico de Lien et al. (2013) pone de manifiesto que estos índices modificados no son equivalentes al original y, aunque puedan tener utilidad investigadora, no deben de considerarse sustitutos absolutos.

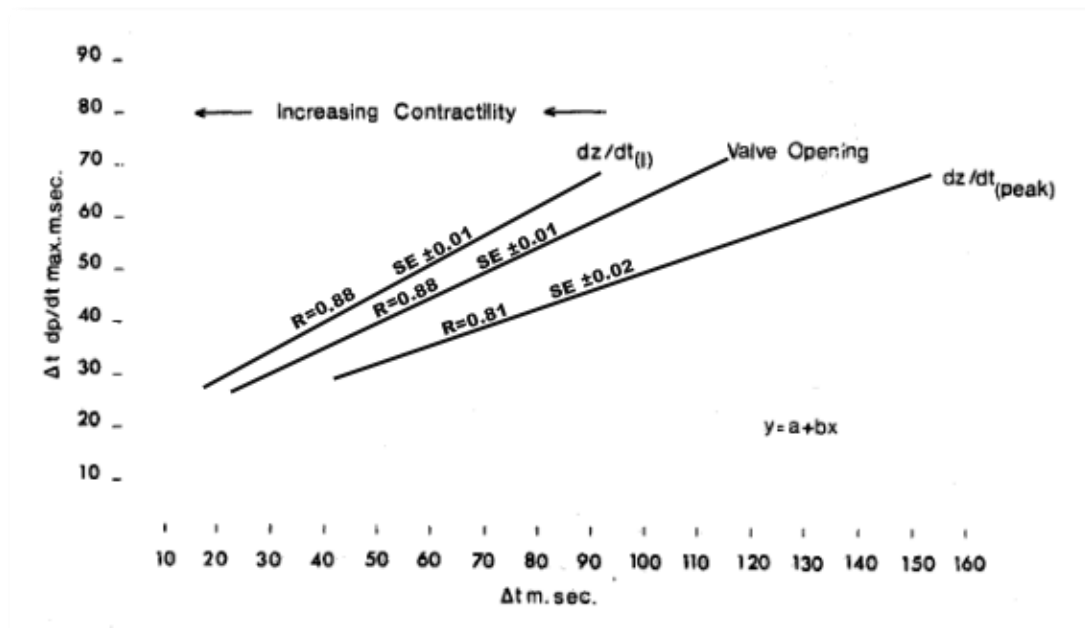


Figura 6. Comparación de las líneas de regresión de B ($dz/dt(I)$), C ($dz/dt(\text{peak})$) y momento apertura de la válvula aórtica registrado mediante micromanómetro (Valve Opening) con el máximo de dp/dt . Extraído de Siegel et al. (1970).

1.1.3. El periodo de pre-eyección como índice de actividad simpática

Detectar con precisión el momento en el que se abre la arteria aorta es importante porque determina el final y el inicio, respectivamente, de los dos intervalos de tiempo sistólico. Limitándonos a la circulación sistémica, la sístole electromecánica es el proceso de bombeo por el cual el corazón hace llegar la sangre cargada de oxígeno y otros nutrientes a los órganos, proceso que está compuesto por distintos fenómenos de carácter tanto eléctrico como mecánico. A su vez, la sístole está dividida en dos intervalos bien diferenciados:

- el periodo de pre-eyección (PEP, del inglés Pre-Ejection Period), que comienza con la despolarización ventricular y termina con el inicio de la eyección ventricular.
- el tiempo de eyección ventricular (LVET, del inglés Left Ventricle Ejection Time), que empieza con la apertura de la válvula aórtica y termina cuando esta misma se cierra, siempre dentro del mismo ciclo cardíaco.

Para calcular el PEP, por tanto, es necesario localizar con exactitud dos eventos fisiológicos: el inicio de la despolarización ventricular y el momento de apertura de la válvula aórtica, que marca el inicio de la eyección ventricular.

El inicio de la despolarización ventricular, al ser un fenómeno bioeléctrico, es detectable en el ECG (aunque también presenta ciertas dificultades metodológicas expuestas por Berntson, Lozano, Chen & Cacioppo (2004)), en la forma de la onda Q. El inicio de la eyección ventricular, en cambio, es un fenómeno fisiológico de carácter mecánico, imposible de ser identificado de forma directa con los medios no invasivos disponibles en la actualidad. Sin embargo, la identificación del punto B en la señal dZ/dt supone un indicador aceptable, aunque indirecto, de este evento fisiológico. Por tanto, resulta asequible realizar la medición del PEP de forma no invasiva, simplemente disponiendo de un registro sincrónico de ICG y ECG. El valor de la variable para un determinado ciclo cardíaco será el tiempo transcurrido entre el inicio de la onda Q en el ECG y el punto B en la ICG.

A pesar de que hasta finales de los años 70 la mayor cantidad de artículos científicos publicados sobre ICG se ceñían a cuestiones relacionadas con la validez y exactitud de la estimación del volumen de eyección ventricular (SV, del inglés *stroke volume*) a partir de los cambios en la impedancia torácica (Miller & Horvath, 1978), el artículo publicado por Newlin & Levenson (1979) en la revista *Psychophysiology* supuso la introducción formal del PEP como variable a ser tomada en cuenta en el área de la psicofisiología, en un momento en el que crecía el interés por obtener medidas específicas del sistema nervioso autónomo simpático (Obrist, Webb, Sutterer, & Howard, 1970). Su carácter no invasivo, así como la aparente facilidad de calcularlo lo convirtieron en un índice extremadamente popular de la actividad beta adrenérgica sobre el miocardio (ver Estudio 1). Además, los estudios empíricos que demostraban la independencia del PEP a los cambios en la vasoconstricción (Cousineau et al., 1978) favoreció que algunos autores destacaran esta variable frente a otras medidas de contractilidad criticadas por estar influenciadas por el nivel de presión arterial, como el tiempo de tránsito del pulso (Newlin & Levenson, 1979).

1.2. Sistema Nervioso Autónomo

1.2.1. ¿Qué es el sistema nervioso autónomo?

La psicofisiología, como disciplina científica, se caracteriza por medir variaciones en los niveles de distintas variables fisiológicas asociadas a la actividad psicológica. Es decir, cambios biológicos relacionados con actividad mental. De partida tiene dos implicaciones: que la actividad mental está íntimamente relacionada con la actividad fisiológica (relación mente-cuerpo) y que los niveles de esta actividad son fluctuantes.

Para que esta relación sea efectiva es necesaria la existencia de un medio de comunicación e influencia entre los órganos y la mente. Es precisamente este el papel que desempeña el sistema nervioso autónomo (SNA). El SNA es la parte del sistema nervioso que se encarga de coordinar y ejecutar todas aquellas funciones involuntarias relacionadas con el mantenimiento del medio interno, así como de movilización y ahorro de recursos energéticos (Noriega-Borge & Merino-Pérez, 2010).

A su vez está dividido en dos sistemas (ver Figura 7):

a) Sistema Nervioso Autónomo Simpático: su activación se asocia con una elevación del nivel de actividad fisiológica del organismo, consumiendo energía para favorecer respuestas más vigorosas por parte del individuo, lo que se ha denominado como función ergotrópica (Hess, 1925. Para revisión en inglés ver Gellhorn, 1970).

b) Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático: su activación se asocia con una disminución del nivel de actividad fisiológica, favoreciendo la acumulación y ahorro de recursos energéticos, función que se conoce como trofotrópica (Hess, 1925).

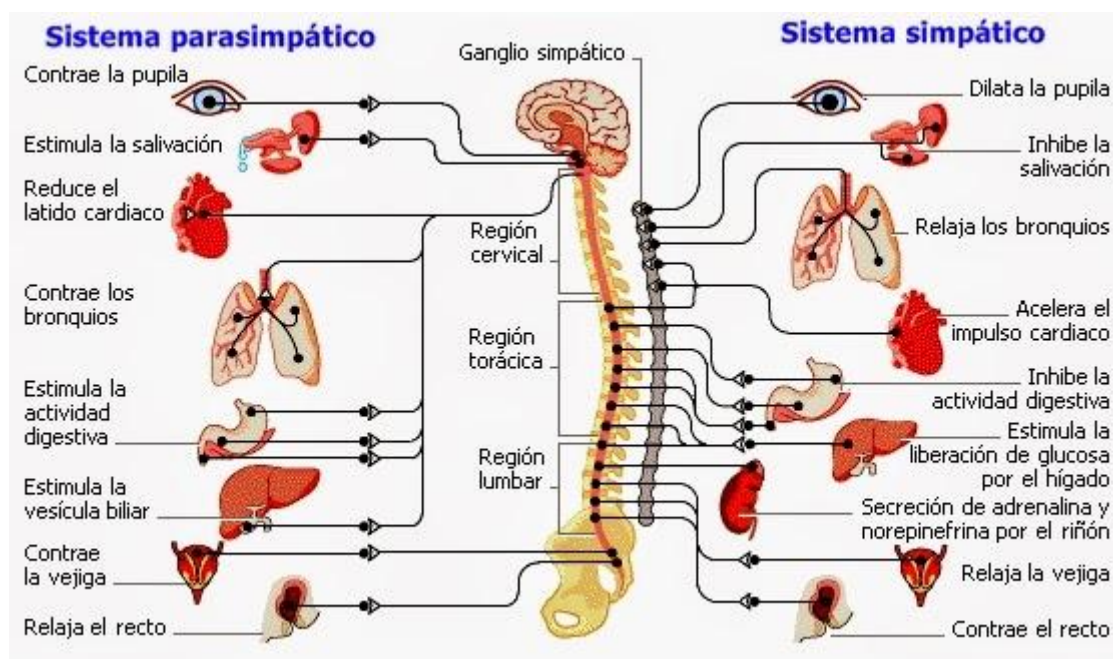


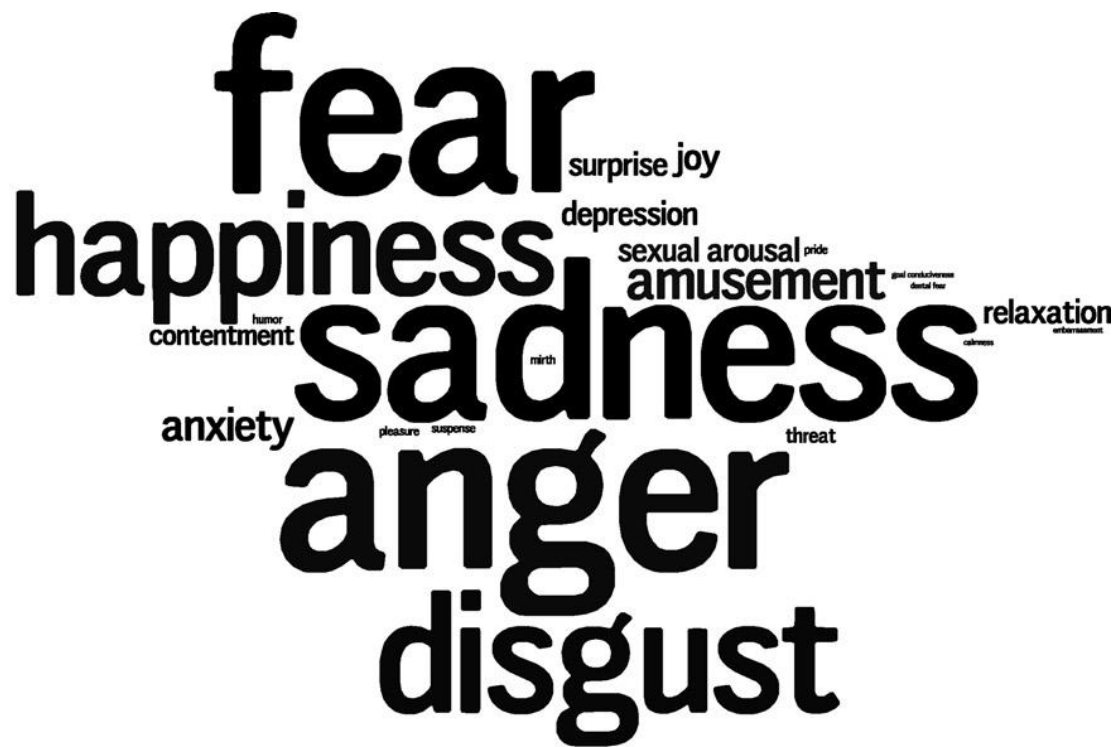
Figura 7. Esquema de las principales eferencias del SNA, divididas por ramas y especificando su efecto sobre los respectivos órganos. Extraído de www.bioquimicayfisiologia.com.

1.2.2. Sistema nervioso autónomo e investigación psicológica

Hoy en día resulta difícil concebir la psicología humana sin el estudio de la función reguladora que desempeña el SNA, resultando especialmente clave en áreas como la psicología de la emoción y la psicopatología de los trastornos de ansiedad. Históricamente, se considera que fue el trabajo teórico de William James (1884) el que colocó el SNA como una de las piedras angulares de la investigación en emociones, al considerar los cambios en el nivel basal de activación fisiológica un factor necesario e imprescindible para la experiencia emocional. Seguramente, una de sus frases más citadas sea: "Es más lógico afirmar que nos sentimos tristes porque lloramos [...] y no que lloramos [...] porque estamos tristes" (James, 1884). Mediante esta afirmación, James también establecía el principio de especificidad fisiológica, según el cual cada emoción estaba caracterizada por un patrón diferenciado de cambios fisiológicos. Su alumno, Walter Cannon, cuestionaría esta teoría tras la muerte de James, argumentando la existencia de una activación o movilización general de recursos energéticos inespecífica y común a todo el rango de emociones (Cannon, 1927). El hecho de que, a diferencia de su maestro, este último aportara datos empíricos, convirtió su modelo en la referencia dominante para interpretar el papel del SNA en la experiencia emocional, recibiendo el apoyo de trabajos tan influyentes como el de Schachter & Singer (1962). Hoy en día, a pesar de no existir aún consenso sobre este asunto, los datos empíricos apuntan hacia un cierto nivel de especificidad o diferenciación en la activación (Kreibig, 2010), pero sin llegar estos a ser suficientemente precisos como para discernir de forma inequívoca entre cualquier tipo de emociones discretas. Los modelos sobre emoción humana basados en datos psicofisiológicos (p. ej. Lang, Bradley & Cuthbert, 1990) suelen distribuir las emociones en dos grupos bien diferenciados según su valencia: positiva o negativa, aportando evidencia empírica que permite encuadrar una experiencia emocional en uno de los dos grupos en función del tipo de actividad fisiológica registrada. Si bien hay emociones específicas que no pueden ser encuadradas en ninguno de estos grupos (por ejemplo, la sorpresa).

Todos estos trabajos de investigación se han desarrollado mediante la obtención de datos fisiológicos concomitantes con la experiencia emocional. Sin embargo, los requisitos tanto éticos como metodológicos de cualquier preparación experimental con participantes humanos conllevan ciertas limitaciones que deben de ser tenidas en cuenta. Una de ellas es la capacidad para provocar emociones de forma controlada en el laboratorio, de forma que la experiencia sea lo más genuina posible. El trabajo de revisión de Kreibig (2010) señala que existe cierta preferencia por el estudio de las

emociones negativas, como el miedo o la ira, las cuales se consideran más fáciles de ser reproducidas en contextos experimentales (Figura 8). De las distintas variables fisiológicas registradas en los estudios realizados en el área, destaca que las más usadas se refieran al sistema cardiovascular, sobresaliendo por encima de todas la frecuencia cardiaca (Figura 9).



(a) Investigated emotions

Figura 8. Frecuencia del estudio de las distintas emociones en investigación, ilustrado por el tamaño de la fuente. Extraído de Kreibig (2010)

iniciado. Por tanto, la actividad fisiológica normal (o punto de homeostasis) puede inclinarse en diferentes medidas hacia uno de los dos extremos del continuo, bien reduciendo el nivel de activación (en caso de acción parasimpática e inhibición simpática) o aumentándolo (en caso de acción simpática e inhibición parasimpática).

1.2.4. Teoría del espacio autonómico

Con el desarrollo y estandarización de las técnicas de registro, así como con la irrupción de la tecnología digital que facilitó enormemente las tareas de recogida y análisis de datos fisiológicos, el estudio de las implicaciones del SNA en la experiencia emocional recibió un fuerte impulso. De forma concomitante, aumentó progresivamente el conjunto de datos que no encajaban con un modelo de actividad recíproca del SNA. El artículo de Obrist, Webb, Sutterer, & Howard (1970) comenzó a sentar las bases sólidas para lo que sería un cambio de modelo sobre el funcionamiento de los sistemas simpático y parasimpático, que permitiera interpretar la oleada de nuevos datos incompatibles con la teoría tradicional. Este proceso culminó a comienzos de la década de los años 90 cuando Berntson, Cacioppo, & Quigley (1991) propusieron una novedosa teoría que integraba la evidencia recogida durante las décadas precedentes. Su trabajo supuso una ampliación del marco conceptual predominante mediante la introducción de un modelo tridimensional de activación fisiológica, donde el nivel de actividad de las dos ramas del SNA puede moverse a lo largo de un continuo de forma independiente la una de la otra, conformando una función sumatoria cuyo producto resultante es el nivel de actividad somática general, la cual constituye la tercera dimensión del modelo espacial (Figura 10).

La expresión matemática de dicha función sumatoria viene expresada por la siguiente ecuación:

$$f_{ij} = \beta + c_s \cdot s_i + c_p \cdot p_j + I_{ij} + \varepsilon$$

De esta manera, el estado funcional de un órgano (f) para unos niveles determinados de activación del SNA simpático (i) y parasimpático (j) es el resultado de la suma del nivel basal de activación fisiológica de dicho órgano (β) más el nivel de activación de las fibras simpáticas (s) y parasimpáticas (p) que lo inervan, moduladas ambas por su nivel de impacto relativo sobre dicho órgano (c_s y c_p , respectivamente). Mediante estos coeficientes de impacto, la ecuación recoge el distinto grado de influencia de cada una de las dos ramas sobre los diferentes órganos. Por ejemplo, en el caso de las glándulas sudoríparas de la palma de la mano, que están inervadas exclusivamente

por fibras simpáticas, el valor de c_p sería 0, reflejando la nula influencia de la rama parasimpática sobre el nivel de activación general del órgano (f). La ecuación también incluye una variable para reflejar el posible efecto de la interacción entre las dos ramas (l), además de un último término de error (ε) que aglutina las posibles influencias de variables extrañas sin determinar (Berntson, Cacioppo & Quigley, 1993).

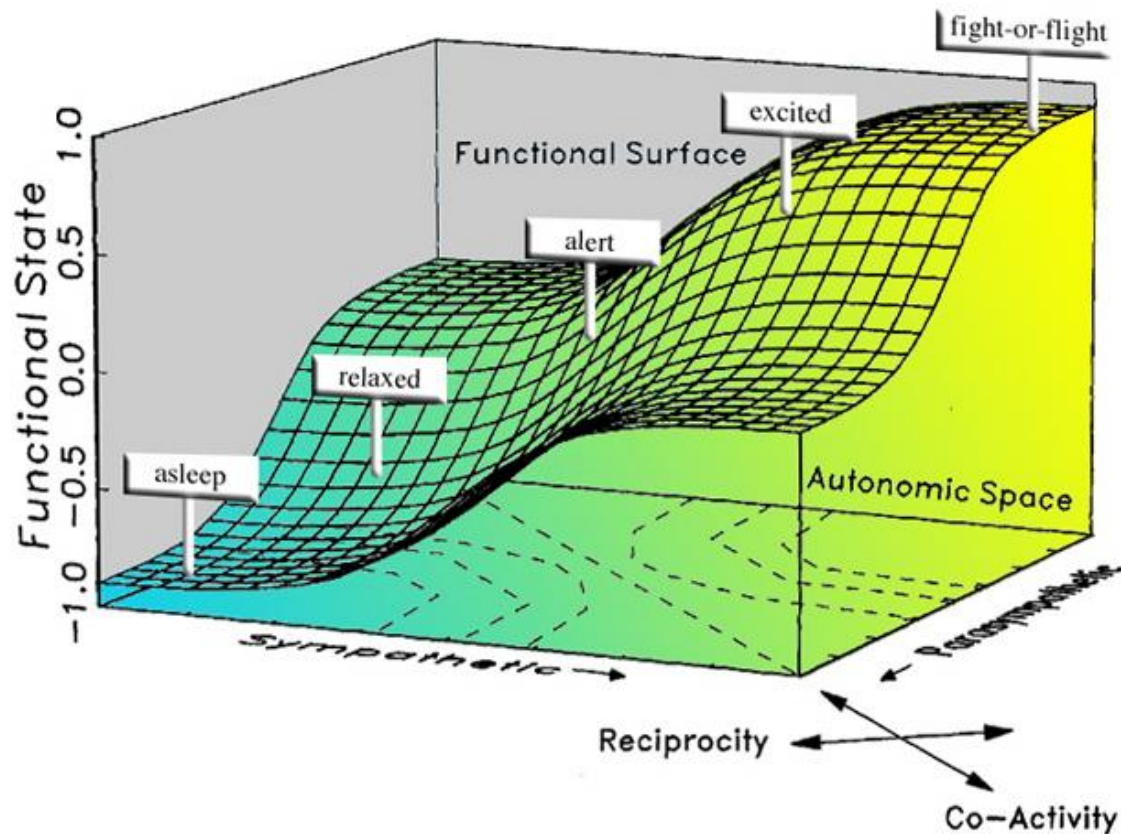


Figura 10. Representación tridimensional del espacio autonómico. Extraído de Berntson, Cacioppo, & Quigley (1991).

La irrupción del modelo del espacio autonómico puso de manifiesto la importancia de incluir medidas específicas de los niveles de actividad de las ramas simpática y parasimpática con el objetivo de obtener información precisa acerca de las dinámicas autónomas de cualquier respuesta psicofisiológica, ya que dichos niveles o influencias no pueden derivarse siempre del nivel de actividad fisiológica general del órgano (p. ej. frecuencia cardíaca en el caso del corazón) mediante la asunción de un funcionamiento recíproco. Este hecho propició la recuperación del interés de los investigadores del área en el perfeccionamiento metodológico de técnicas que

proporcionaran índices autonómicos específicos, como es el caso del PEP (Berntson et al., 2004).

1.3. La respuesta cardiaca de defensa como paradigma experimental para el estudio de las emociones

1.3.1. Reflejos defensivos y emoción

El análisis de las reacciones del SNA para profundizar en el conocimiento de las emociones humanas no puede desvincularse de sus correlatos psicológicos. Esto implica que, para obtener información plausible de ser interpretada y sacar conclusiones de interés científico, no basta con medir las variaciones en los niveles de activación de una variable fisiológica. También es necesario poder determinar bajo qué condiciones psicológicas se producen dichas variaciones con el objetivo de poder extraer algún significado de los cambios observados. Sin embargo, el estado psicológico de un individuo (y aquí podemos incluir cualquier tipo de actividad mental) se caracteriza por no ser accesible de forma directa desde el exterior, por lo que los investigadores del área tenemos que recurrir a métodos indirectos de evaluar dicha actividad mental. Por ejemplo, a través de comportamientos observables que se puedan asociar a un determinado constructo psicológico o mediante la información que proporcione el mismo individuo acerca de su actividad psicológica en un momento dado. El principal problema que presentan estas aproximaciones indirectas es el grado de subjetividad que se introduce, reduciendo considerablemente la objetividad de los datos obtenidos. Con el objetivo de controlar este inconveniente en los diseños experimentales, se crearon diversas líneas de investigación orientadas al estudio de respuestas involuntarias y automáticas con un claro significado psicológico, fácilmente reproducibles de forma controlada y que tuvieran un componente autonómico bien determinado.

Quizás la línea más paradigmática al respecto es la que se inició en Rusia con el trabajo de Iván Sechenov, continuó con las investigaciones de Vladimir Bechterev y cuyo máximo exponente en términos de impacto científico fueron los hallazgos de Iván Petróvich Pavlov, el cual sentó las bases para el desarrollo de la psicología conductual. Uno de los mayores aportes de la reflexología rusa (como fue denominada esta corriente científica) fue el claro compromiso con los métodos objetivos de investigación, estableciendo los parámetros metodológicos fundamentales de la investigación neurofisiológica moderna (Sáiz, 2009).

Es de destacar que, aunque el trabajo más saliente de Pavlov (1927) se centrara en un reflejo apetitivo como es la salivación ante la presentación de alimentos, en las líneas de investigación posteriores ha primado el estudio de los reflejos defensivos, destacándose los trabajos de Martin Seligman (1967) (utilizando descargas eléctricas como estímulo) y Arne Öhman (1994) (empleando la visualización de imágenes de estímulos fóbicos). La introducción en los diseños de investigación de estímulos con contenido emocional bien definido que modulan reflejos fisiológicos (Esteves, Parra, Dimberg, & Öhman, 1994; Lang, Greenwald, Bradley, & Hamm, 1993) ha permitido realizar importantes avances en el conocimiento sobre la emoción humana con garantías de objetividad y replicabilidad.

Aunque el estímulo desencadenante sea una variable fundamental, los parámetros que determinan un determinado paradigma experimental basado en un reflejo defensivo no sólo aluden a las características sensoriales del estímulo utilizado para evocar la respuesta, sino también a las variables fisiológicas elegidas para observar dicha respuesta. Por ejemplo, dentro de una misma modalidad sensorial como es la auditiva, dos paradigmas distintos como son la respuesta de sobresalto y la respuesta cardíaca de defensa se diferencian tanto en la duración de los estímulos utilizados como en las variables fisiológicas registradas (electromiografía y electrocardiografía, respectivamente).

1.3.2. ¿Qué es la respuesta cardíaca de defensa?

La respuesta cardíaca de defensa (RCD) es una reacción cardiovascular cronotrópica ante la presentación de un estímulo acústico inesperado y de alta intensidad. Los parámetros sensoriales del estímulo están determinados por una duración de 500 ms y un volumen igual o superior a 100 dB (Ramírez et al., 2005; Turpin, Schaefer & Boucsein, 1999). La respuesta está conformada por cuatro componentes: dos aceleraciones y dos desaceleraciones de la frecuencia cardíaca en orden alterno. Así, la respuesta se inicia con una aceleración inmediata tras la presentación del estímulo (componente 1 o aceleración de corta latencia). Tras alcanzar el pico máximo de activación, la frecuencia cardíaca cae en picado, llegando a veces a alcanzar una frecuencia inferior al nivel basal previo a la presentación del sonido (componente 2 o primera desaceleración). A continuación le sigue una nueva aceleración, de menor amplitud y más progresiva que la primera (componente 3 o aceleración de larga latencia). La respuesta termina con una desaceleración gradual y mantenida hasta regresar al nivel basal inicial (componente 4 o segunda desaceleración).

El significado psicológico de la RCD ha sido contemplado históricamente desde dos perspectivas: cognitiva y motivacional. La primera toma como referencia el trabajo de Sokolov (1963) e interpreta los cambios sostenidos de la frecuencia cardíaca como facilitadores (en el caso de las desaceleraciones) u obstaculizadores (en el caso de las aceleraciones) del procesamiento de información sensorial. La perspectiva motivacional, en cambio, se centra en la movilización de recursos energéticos asociada al aumento consistente de la actividad fisiológica, cuyo objetivo último es facilitar una respuesta óptima por parte del individuo a los cambios que se producen en su entorno, según los modelos de Cannon (1929) (lucha-huída) y Selye (1956) (respuesta de alerta). El modelo de respuesta refleja, que se caracteriza por unos parámetros objetivos claros y un significado bien definido, parece posicionar ambas explicaciones como antagónicas o incompatibles. Sin embargo, la introducción del concepto de cascada defensiva (Vila et al. 2009) proporciona un marco teórico integrador en el que tienen cabida las aportaciones de ambos puntos de vista: interpretando la información facilitada por las dos corrientes como descriptora de distintos aspectos de una misma realidad, se llega a la conclusión de que sus propuestas no son incompatibles, mutuamente excluyentes, ni tampoco exhaustivas. De esta manera, los aspectos tanto cognitivos como motivacionales de la respuesta confluyen para conformar un reflejo complejo compuesto por distintos componentes, cuyo objetivo sigue siendo facilitar la respuesta óptima por parte del individuo, pero donde tienen espacio tanto el procesamiento de la información sensorial como la preparación fisiológica para una reacción vigorosa del organismo a los cambios en el entorno. La cadena de cambios fisiológicos observados en el patrón típico de RCD, por tanto, están asociados y proporcionan apoyo a factores tanto motivacionales como cognitivos. Una serie de estudios empíricos llevados a cabo por Ramírez et al. (2010), permitió asociar los dos primeros componentes de la RCD con operaciones cognitivas y los dos últimos con factores de facilitación de respuesta reactiva, predominantemente.

Por tanto, en la RCD encontramos una respuesta refleja dinámica y a la misma vez consistente, que expresa y al mismo tiempo puede verse influenciada por procesos tanto cognitivo como motivacionales, siendo fácilmente reproducible en un contexto de laboratorio. Estas características, junto con el papel destacado que el nivel de activación cardiovascular desempeña en los trastornos de ansiedad (American Psychiatric Association, 2013), convierte a la RCD en un paradigma experimental propicio para estudiar la ansiedad y las emociones humanas.

1.3.3. Aplicaciones

Una reflejo psicofisiológico, por definición automático e involuntario, con un patrón de cambios fásicos bien definido, que permite monitorizar el nivel de reactividad cardiovascular en cualquier paciente, compararlo con la respuesta normal y realizar un seguimiento de la evolución del nivel de reactividad autonómica a lo largo del proceso terapéutico puede convertirse en una poderosa herramienta de evaluación en investigación y práctica clínica. Una de sus aplicaciones más salientes es la identificación de patrones diferenciales de actividad que puedan caracterizar ciertas condiciones clínicas, lo que podría ayudar a potenciar la fiabilidad del diagnóstico. A este respecto, resultan prometedores los datos publicados por Lang & McTeague (2009), quienes analizando las variaciones en la intensidad del reflejo de sobresalto han hallado patrones diferenciales en función de la existencia o no de distintas condiciones clínicas del espectro de los trastornos de ansiedad.

De forma similar a como ha ocurrido con este paradigma empírico basado en un reflejo defensivo, la RCD ha sido empleada en diversos diseños experimentales con el objetivo de recoger información objetiva en relación a distintos procesos psicológicos. Recientemente, ha sido empleada con éxito como marcador fisiológico de eficacia en estudios sobre terapia basada en *mindfulness* (Delgado et al. 2010), usada como pronosticador del aprendizaje (López et al., 2009) y como marcador fisiológico para identificar patrones diferenciales de reactividad relacionados con el trastorno de estrés post-traumático (Schalinski, Elbert & Schauer, 2013).

En este último caso, por ejemplo, el paradigma de la RCD sirvió para identificar diferentes patrones de respuesta entre refugiadas de guerra que habían desarrollado trastorno de estrés postraumático (TEPT) y aquellas que no. Un claro aumento de la magnitud del primer componente de la RCD fue correlacionada con mayor gravedad de los síntomas de TEPT. Además, también se encontró que las pacientes que habían tenido que afrontar más situaciones traumáticas a lo largo de sus vidas presentaban una clara atenuación del tercer y el cuarto componente de la RCD (Schalinski, Elbert & Schauer, 2013). Estos resultados evidencian modificaciones diferenciales de los patrones típicos de los diferentes componentes de la RCD dependiendo del historial de los pacientes.

Recientemente, un grupo de investigación de la Universidad de Calabria ha desarrollado una herramienta informática para la detección automática de la RCD en registros continuos de ECG (Gravina y Fortino, 2016). Esta contribución facilita la

aplicación del paradigma en diversos campos de investigación, por lo que la solidez del conocimiento acumulado sobre la respuesta es fundamental para garantizar la validez de las conclusiones extraídas. Teniendo en cuenta que una de las áreas susceptibles es la relacionada con el espectro de los trastornos de ansiedad, despejar algunas dudas acerca de las influencias del sistema nervioso simpático sobre los componentes de la respuesta resulta prioritario.

1.3.4. Respuesta cardíaca de defensa y sistema nervioso autónomo

La teoría de la reciprocidad, dominadora del marco de investigación sobre el SNA, estableció una relación recíproca entre SNA simpático y parasimpático que implicaba la inhibición de una rama junto con la activación de la otra y viceversa. Así como el modelo de cascada defensiva supuso un paso integrador en la comprensión de la complejidad psicológica de la RCD, la teoría del espacio autonómico puede facilitar una interpretación de las influencias autonómicas operando durante esta.

En lo que respecta a la RCD y la influencia de las ramas simpática y parasimpática sobre sus distintos componentes, existen dos estudios previos que investigaron la mediación autonómica subyacente, incluso antes de disponer del modelo integrador de Berntson, Cacioppo & Quigley (1991). En el trabajo llevado a cabo por Fernández y Vila (1989) se utilizó el tiempo de tránsito del pulso (TTP) como índice de la actividad simpática y, sorprendentemente, obtuvo una correlación negativa del periodo cardíaco y el TTP durante el primer componente de la respuesta. Esto fue interpretado como una inhibición de las influencias simpáticas durante la primera aceleración (que se caracteriza precisamente por un aumento acusado de la frecuencia cardíaca), la cual podría ser explicada por una co-inhibición de las dos ramas del SN, pero difícilmente por actuación recíproca de las vías simpáticas y parasimpáticas.

El segundo estudio, llevado a cabo por del Paso, Vila y Sánchez (1994), utilizó un diseño experimental basado en el bloqueo farmacológico de los receptores beta-adrenérgicos del corazón mediante la administración de metoprolol. La variable simpática elegida fue volumen de eyección, un índice inotrópico de la actividad simpática sobre el ventrículo izquierdo. En línea con el anterior estudio, el bloqueo de los receptores simpáticos no afectó al primer componente acelerador de la respuesta, que no mostró disminución en intensidad ni duración (paradójicamente a lo que podría esperarse según la teoría de la reciprocidad). Por el contrario, la segunda aceleración si resultó significativamente atenuada por el efecto de los antagonistas beta-adrenérgicos.

Estos resultados sugieren que la primera aceleración de la RCD no se debe a un incremento de la actividad de las fibras simpáticas aferentes al corazón, lo que pone de manifiesto las limitaciones de considerar la actividad recíproca como el único modo posible de operar del SNA. Pruebas empíricas como esta apoyan la idoneidad y necesidad de un modelo del SNA más amplio.

Sin embargo, del Paso, Vila y García (1994) advertían que, seguramente debido al reducido número de participantes, "los distintos componentes de la RCD habían sido pobremente evocados", por lo que recomendaban contemplar los resultados como meramente tentativos. De la misma forma, Fernández y Vila (1989) previenen de que el TTP puede "no ser un índice perfecto de activación simpática" y que los resultados de su estudio deberían de ser interpretados en función de la existencia o no de información convergente, recogiendo las críticas que previamente Heslegrave & Furedy (1980), Obrist & Light (1980) y Newlin y Levenson (1979) habían realizado acerca de la técnica. Por ejemplo, estos últimos autores previenen de que "a menos que los subintervalos del TTP sean medidos, hay poca base para determinar si los cambios en el índice son debidos a efectos de contractilidad o de presión arterial (o a ambos)", para acabar sugiriendo que la medición directa del periodo de pre-eyección facilitaría esa determinación.

2. OBJETIVOS

La idea estructuradora de la presente tesis es determinar las influencias simpáticas de la respuesta cardíaca de defensa en población normal, para ello se han tomado como punto de partida los trabajos previos de Fernández & Vila (1989) y Del Paso, Vila & García (1994). Contando con estos referentes, el trabajo se orientó hacia la meta de intentar suplir las principales limitaciones metodológicas apuntadas por dichos autores en sus respectivos estudios: introducir una variable de contractilidad que no se viera comprometida por posibles cambios en el nivel de resistencia vascular y aumentar de forma considerable el tamaño de la muestra.

Para salvar la primera limitación nos guiamos por el artículo de Newlin & Levenson (1979), donde estos autores afirmaban que la utilización del periodo de pre-eyección podría evitar los problemas atribuidos a la interferencia de la presión diastólica en el tiempo de tránsito del pulso, ya que al comprender el periodo de pre-eyección únicamente los fenómenos cardiovasculares correspondientes a la primera parte de la sístole electromecánica, reflejaría más fielmente los cambios en contractilidad provocados por la actividad de las fibras beta-adrenérgicas que inervan el ventrículo izquierdo.

La segunda limitación señalada se abordó mediante la inclusión de una muestra de 100 sujetos distintos, con equidistribución en el número de participantes de ambos sexos. Como consecuencia de esta característica del diseño, el registro y análisis de los índices fisiológicos comprendía una cantidad ingente de ciclos cardíacos. Es por esto que la optimización del proceso de reducción de datos se convirtió en una cuestión de capital importancia. El principal obstáculo metodológico resultaba la dificultad de realizar un cálculo preciso del periodo de pre-eyección, debido a la inconsistencia de las características visuales del punto B a lo largo del registro.

Actualmente, la guía para la estimación del periodo de pre-eyección continúan siendo las directrices metodológicas de Sherwood et al. (1990), las cuales solo contemplan y describen el proceso de detección visual, puesto que se publicaron con anterioridad al desarrollo de los paquetes de software de análisis que irrumpieron a comienzo del tercer milenio. Ante la falta de un artículo actualizado similar al de Sherwood et al. (1990), que recogiera los últimos avances en el uso y aplicación de la técnica, se optó por realizar una búsqueda bibliográfica sistemática, con el objetivo de determinar qué

método de análisis del PEP, de entre los disponibles en la actualidad, resultaba más adecuado. De esta manera, quedaron definidas las características y objetivos del Estudio 1.

Sorprendentemente, lejos de despejar todas las dudas con respecto a la metodología a emplear, los resultados de la revisión bibliográfica señalaron un punto ciego en la literatura con respecto a los procedimientos de detección automática del punto B: la proliferación en las últimas décadas de métodos de detección automáticos no siempre lleva aparejada una explicación pormenorizada ni detallada de dichas herramientas, resultando evidente la carencia de comprobación empírica en medios de revisión por pares de su idoneidad. Con el objetivo de investigar estos procedimientos se establecieron los objetivos del Estudio 2: analizar de forma empírica la efectividad y fiabilidad de 3 métodos distintos de detección automática del punto B, todos ellos considerados *a priori* igual de eficientes.

Las conclusiones obtenidas en los dos primeros estudios fueron aplicadas de forma sistemática en el análisis de los datos del Estudio 3, el cual estaba diseñado para despejar las dudas con respecto a las influencias simpáticas de la defensa cardíaca presentadas en los trabajos precedentes de Fernández & Vila (1989) y Del Paso, Vila & García (1989).

2.1. Objetivos generales

- a) Trazar de forma precisa, ciclo a ciclo, el patrón de influencia del sistema nervioso simpático en la respuesta cardíaca de defensa, mediante el uso de la cardiografía de impedancia para derivar las variaciones en el periodo de pre-eyección durante la respuesta.
- b) Determinar la forma más eficiente de estimar el periodo de pre-eyección mediante cardiografía de impedancia, con los recursos disponibles.

2.2. Objetivos específicos

- a) Determinar el método más extendido de estimación del periodo de pre-eyección en la literatura reciente.
- b) Analizar la efectividad, fiabilidad y consistencia de tres métodos computarizados distintos de detección del punto B.

c) Calcular y comparar las variaciones ciclo a ciclo del periodo de pre-eyección y periodo cardiaco en la respuesta cardiaca de defensa.

3. ESTUDIO 1: TRENDS IN PRE-EJECTION PERIOD ESTIMATION METHODOLOGY

3.1. INTRODUCTION

The refinement of data collection technologies, along with the development of theoretical models that allow an interpretation of acquired data, are two cornerstones of science progress that often work synergistically and towards a shift in paradigm. A prototypical example of this process may be found at the beginning of the decade of 1990s, when two academic works paved a new path for a broader and deeper understanding of the psychological implications of autonomic nervous system (ANS) activity.

One of these works proposed a novel model of ANS functioning, which overtook the reciprocity theory established since the beginnings of the XXth century. A paper by Cacioppo, Berntson & Quigley (1991) provided a wider theoretical framework based on empirical evidence, which allowed an interpretation of the growing set of psychophysiological data that did not fit the traditional model where sympathetic and parasympathetic systems always functioned reciprocally. Their proposal also stressed the importance of applying specific techniques to assess the activity of both autonomic branches separately because they could no longer always be assumed to function reciprocally, and therefore, their activity could not be inferred from changes in the level of overall arousal of any organ system.

Only one year before then, Sherwood et al. (1990) had published a paper with the aim to achieve a satisfactory degree of methodological standardization when employing impedance cardiography (ICG) in psychophysiological studies. This technique, which had been originally developed in the field of aerospace research (Kubicek et al., 1966), was receiving growing interest in the investigation of the ANS, as it could provide several reliable indexes of left ventricle contractility. Given that the left ventricle is almost exclusively innervated by sympathetic fibers, ICG stood as a valuable technique to monitor sympathetic activity. These guidelines, along with the nascent concern for specific autonomic indexes, facilitated the widespread implementation of the technique (see Figure 11), with certain reproducibility warranties.

Nevertheless, despite the popularity of ICG in the field of psychophysiology, some important methodological concerns remain unsolved, and several relevant findings and

technical improvements have been reported since then. The aim of the current paper is to provide a structured review of the methodological trends in the estimation one of the most popular sympathetic indexes derived from thoracic impedance, the pre-ejection period (PEP). It does so by presenting a review of the original research works that employ PEP as a variable, published in three of the main journals in psychophysiological research (i.e., *Biological Psychology*, *Psychophysiology*, and *International Journal of Psychophysiology*) between the years 2010-2015. When depicting the most popular options chosen by researchers, our intention is to display the state-of-the-art, and to point out issues that are still pending of a satisfactory degree of standardization.

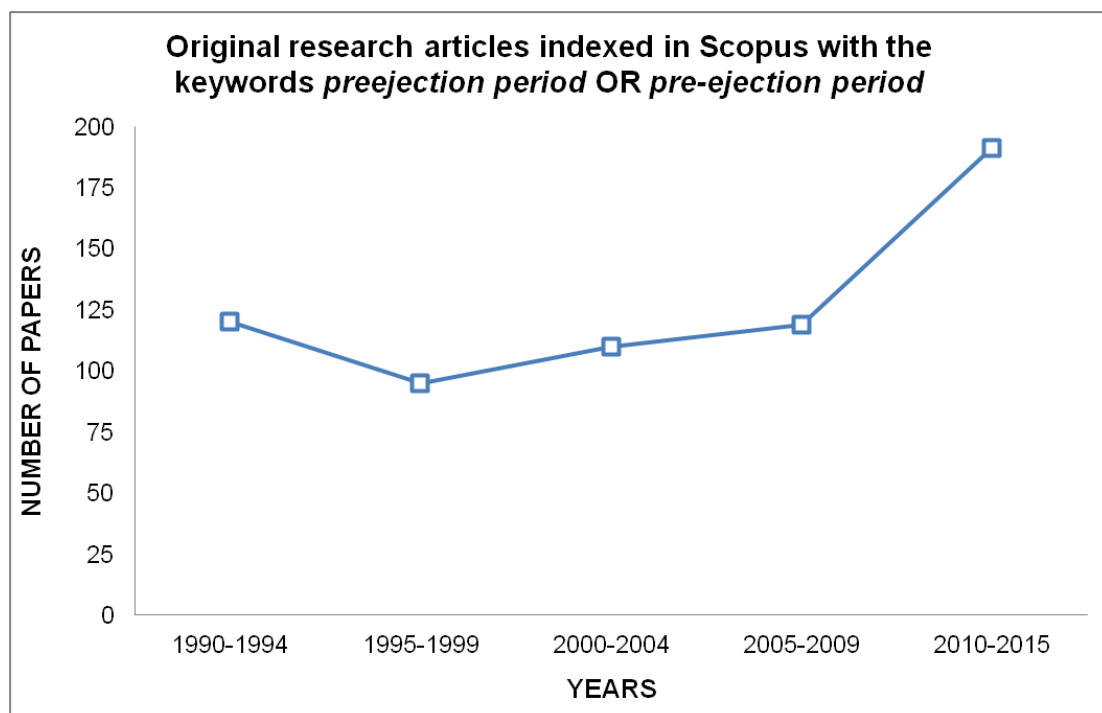


Figure 11. Growth of the research works indexed in Scopus with the keywords "preejection period" OR "pre-ejection period" since year 1990. The results have been grouped by five-year intervals.

3.2. PEP TERMINOLOGY: THE HYPHEN EFFECT

The first issue of methodological disparity that arose in the systematic review was, surprisingly, related to the orthography of the term. It seems that there is no consensus about the formal notation for PEP yet; the term appears sometimes hyphenated (i.e., pre-ejection period) and sometimes non-hyphenated (i.e., preejection period). At first glance, this may not seem to be a major issue, but it becomes crucial when launching a

literature search: The sensitivity of search engines to the hyphen may lead to different results depending on the term used. We think it is relevant to note this circumstance because it can lead to important omissions for unaware researchers. In Figure 12, we present a Boole diagram that illustrates the different results obtained depending on the term entered in the search, along with the overlap ratios. Although almost half of the articles (72 out of 155) are provided by the search engines regardless of the term introduced, the exclusiveness ratios are important enough that some lines of research may be excluded from any literature search that does not take into consideration the three different vocables (e.g., the research line by Kelsey et al. (2010, 2012) about genetic differences and cardiovascular reactivity appears only under the non-hyphenated term). Given that both words seem correct from a strictly orthographic point of view, it is relevant that the majority of authors opt for the hyphenated word. Additionally, because the hyphenated form is used in the methodological guidelines that serve as a reference in our research field (Sherwood et al., 1990), "pre-ejection" may be the more practical way to write the term if pragmatism becomes the compass to guide our choice. However, until an effective consensus is reached, the inclusion of both words in any literature search appears mandatory, independently of the PEP orthography one chooses in one's own work.

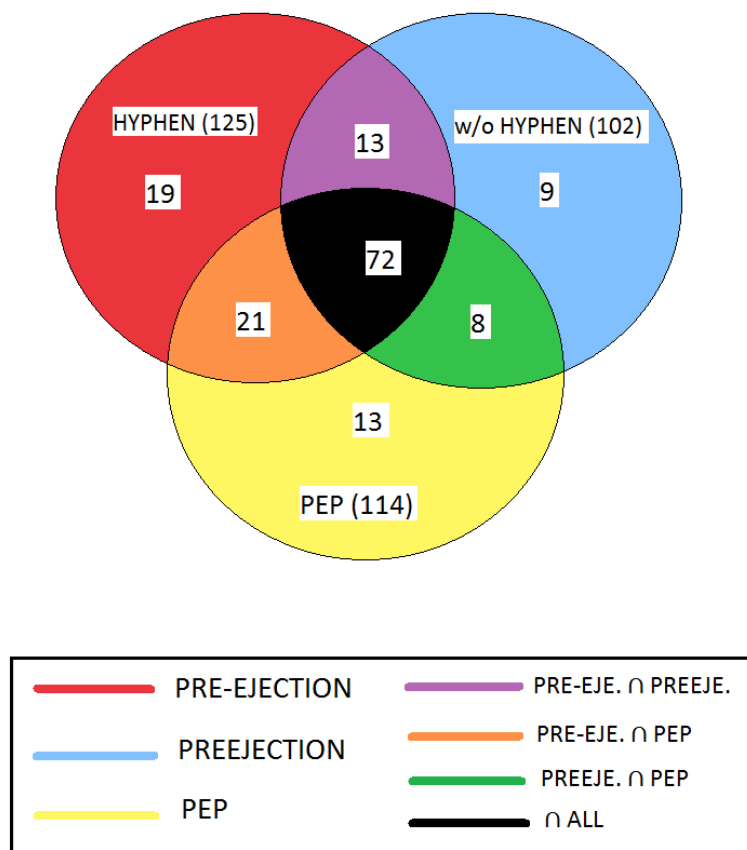


Figure 12. Boole diagram with the overlapping and exclusiveness results depending on the term entered in the search engines.

Table 1. *Review of recent papers published in Psychophysiology, Biological Psychology, and International Journal of Psychophysiology (2010-2015) that use PEP as a variable (n=72)*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
1. Bacon, Keller, Lavoie & Campbell (2010)	HIC-2000	COP	60 s	Automatic	dZ/dt zero crossing
2. Houtveen, Hamaker & Van Doornen (2010)	VU-AMS	VU-DAMS	Yes	Manual	-
3. Seery, Weisbuch, Hetenyim & Blascovich (2010)	Minnesota	Custom (MS-DOS based program)	60 s	Manual	-
4. Kreibig, Gendolla & Scherer (2010)	Cardioscreen	Custom (R based program)	60 s	Automatic	Lozano et al. (2007)
5. Richter (2010)	Cardioscreen	Not reported	60 s	Manual	-
6. Herbert et al. (2010)	Cardioscreen	Not reported	Not reported	Automatic	Not reported
7. Kelsey et al. (2010)	HIC-2000	COP WIN	Not reported	Not reported	-
8. Stephens, Christie & Friedman (2010)	Minnesota	VU-DAMS	Not reported	Automatic	Not reported
9. Mauss & Butler (2010)	HIC-2000	Not reported	Not reported	Not reported	-
10. Brenner & Beauchaine (2011)	HIC-2000	COP WIN	30 s	Automatic	Not reported

Table 1. *Continued*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
11. Brydon (2011)	VU-AMS	Not reported	60 s	Not reported	-
12. Herring, Burleson, Roberts & Devine (2011)	Mindware	Mindware	60 s	Not reported	-
13. Fourie et al. (2011)	VU-AMS	Not reported	30 s	Manual	-
14. Silvestrini & Gendolla (2011a)	Cardioscreen	Bluebox 2	60 s	Automatic	Lozano et al. (2007)
15. Kolodyazhniy et al. (2011)	SA Instruments	ANSLAB (Matlab based)	Not reported	Not reported	-
16. Covassin et al. (2011)	Minnesota	COP-WIN	30 s	Automatic	Not reported
17. Grewen & Light (2011)	Minnesota	COP-WIN	Not reported	Automatic	Not reported
18. Hawkins, Stewart, Fitzgerald & Kim (2011)	HIC-2003	Mindware	60 s	Automatic	Not reported
19. Nyklíček, Vorselaars, & Denollet (2011)	VU-AMS	Not reported	60 s	Automatic	Not reported
20. Silvestrini & Gendolla (2011b)	Cardioscreen	Bluebox 2	60 s	Automatic	Lozano et al. (2007)

Table 1. *Continued*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
21. Norman et al. (2011)	Mindware	Mindware	60 s	Automatic	Not reported
22. Muñoz & Anastassiou-Hadjicharalambous (2011)	Minnesota	ANS suites	60 s	Automatic	Not reported
23. Richter, Baeriswyl & Roets (2012)	Cardioscreen	Not reported	60 s	Manual	-
24. Freydefont & Gendolla (2012)	Cardioscreen	Bluebox 2	60 s	Automatic	Lozano et al. (2007)
25. Freydefont, Gendolla & Silvestrini (2012)	Cardioscreen	Bluebox 2	60 s	Automatic	Lozano et al. (2007)
26. Sauder, Johnston, Skulas-Ray, Campbell & West (2012)	HIC-2000	COP-WIN	Not reported	Not reported	-
27. Kelsey et al. (2012)	HIC-2000	COP-WIN	Not reported	Not reported	-
28. Kubzansky et al. (2012)	BIOPAC	Mindware	60 s	Manual	-
29. Kreibig, Gendolla & Scherer (2012)	Not reported	Not reported	20 s	Automatic	Lozano et al. (2007)
30. Herbert et al. (2012)	Task Force Monitor	Not reported	Not reported	Not reported	-

Table 1. *Continued*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
31. Wit, Scheepers & Jehn (2012)	BIOPAC	Acqknowledge	Yes	Manual	-
32. Quas, Yim, Rush & Sumaroka (2012)	Not reported	Mindware	Not reported	Automatic	Not reported
33. Sosnowski, Sobota & Rynkiewicz (2012)	SORBA CIC-1000	Matlab	Yes	Manual	-
34. Turner, Jones, Sheffield & Cross (2012)	HIC-3004	COP-WIN	Not reported	Automatic	Not reported
35. Fairclough & Spiridon (2012)	BIOPAC	Not reported	Not reported	Automatic	Maximum dZ^2/dt^2
36. de Zambotti, Covassin, Cellini, Sarlo & Stegagno (2012)	Minnesota	COP-WIN	30 s	Automatic	Not reported
37. Zhou & Bishop (2012)	HIC-2000	COP-WIN	60 s	Manual	-
38. de Zambotti et al. (2012)	Minnesota	COP-WIN	30 s	Automatic	Not reported
39. Heydari, Boutcher & Boutcher (2013)	Minnesota	COP-WIN	Not reported	Not reported	-
40. Singh & Shen (2013)	Mindware	Not reported	Not reported	Not reported	-

Table 1. *Continued*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
41. Covassin, Zambotti, Cellini, Sarlo & Stegagno (2013)	Minnesota	COP-WIN	30 s	Automatic	Not reported
42. Silvia, Eddington, Beaty, Nusbaum & Kwapil (2013)	Mindware	Mindware	60 s	Automatic	Not reported
43. Salomon, Bylsma, White, Panaite & Rottenberg (2013)	BIOPAC	Mindware	60 s	Automatic	Not reported
44. Kupper, Pelle & Denollet (2013)	VU-AMS	VU-DAMS	60 s	Manual	-
45. Cloutier, Norman, Li & Berntson (2013)	Mindware	Mindware	45 s	Automatic	Lozano et al. (2007)
46. Neblett & Roberts (2013)	Mindware	Mindware	30 s	Not reported	-
47. Kreibig, Samson & Gross (2013)	Mindware	Mindware	20-30 s	Automatic	Not reported
48. Plourde et al. (2013)	Minnesota	Not reported	Not reported	Not reported	-
49. Lindgren et al. (2013)	Minnesota	Mindware	60 s	Automatic	Not reported
50. Brinkmann & Franzen (2013)	Cardioscreen	Bluebox 2	60 s	Automatic	Not reported

Table 1. *Continued*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
51. Paine, Ring, Bosch, McIntyre & Veldhuijzen van Zanten (2013)	VU-AMS	Not reported	10 s	Not reported	-
52. Turner, Jones, Sheffield, Barker & Coffee (2014)	HIC-3004	COP-WIN	Not reported	Automatic	Not reported
53. Peters, Overall & Jamieson (2014)	BIOPAC	Mindware	Yes	Not reported	-
54. Silvia, Beaty, Nusbaum, Eddington & Kwapil (2014)	Mindware	Mindware	Yes	Automatic	Lozano et al. (2007)
55. Cellini, Zambotti, Covassin, Sarlo & Stegagno (2014)	Minnesota	COP-WIN	30 s	Automatic	Not reported
56. Paine et al. (2014)	VU-AMS	Not reported	10 s	Not reported	-
57. Alderman & Olson (2014)	BIOPAC	Mindware	60 s	Automatic	Not reported
58. de Zambotti et al. (2014)	Minnesota	COP-WIN	30 s	Automatic	Not reported
59. Richter & Knappe (2014)	Cardioscreen	Not reported	60 s	Manual	-
60. Braeken et al. (2015)	VU-AMS	Not reported	Yes	Automatic	B _{15%} (Ono et al. 2004)

Table 1. *Continued*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
61. Kreibig, Samson & Gross (2015)	Mindware	Mindware	20-30 s	Not reported	-
62. Cieslak et al. (2015)	BIOPAC	Acqknowledge	Yes	Manual	-
63. Clark, Frye, Wardle, Norman & Wit (2015)	Mindware	Mindware	Yes	Not reported	-
64. Lien, Neijts, Willemsen & de Geus (2015)	VU-AMS	VU-DAMS	Yes	Manual	-
65. Chatelain & Gendolla (2015)	Cardioscreen	Bluebox	60 s	Automatic	Lozano et al. (2007)
66. Sijtsma, Van Roon, Groot & Riese (2015)	BIOPAC	VU-DAMS	60 s	Manual	-
67. Nagy et al. (2015)	VU-AMS	Not reported	30 s	Not reported	-
68. Spangler & Friedman (2015)	BIOPAC	Acqknowledge	Not reported	Automatic	Not reported
69. Bylsma et al. (2015)	Mindware	Mindware	Yes	Manual	-
70. Gilchrist, P. T., & Ditto, B. (2015)	AIM-8 (HIC- 2000 ambulatory)	COPWORKS	55 s	Not reported	-

Table 1. *Continued*

	DEVICE	SOFTWARE	ENSEMBLE AVERAGE	B POINT DETECTION METHOD	ALGORITHM EMPLOYED
71. Friedman, Stephens & Thayer (2014)	Minnesota	VU-DAMS	Not reported	Not reported	-
72. Franzen & Brinkmann (2015)	Cardioscreen	Bluebox 2	60 s	Automatic	Not reported

3.3. METHODOLOGICAL TRENDS IN PEP ESTIMATION

The 155 original research articles obtained in the literature search were carefully perused to exclusively select those that employed an effective PEP estimation as a research method. The final number of papers included in the following review is 72 (Table 1).

3.3.1. Data Collection Device

The first impedance cardiograph developed and commercialized for research purposes was the Minnesota model (Kubicek et al., 1974). Currently, although there is a broad range of commercial devices that provide a good signal of thoracic impedance, the Minnesota model is still the most reported cardiograph in the revised literature (14 times). The next most popular ICG devices are the following: Mindware BioNex (Mindware Technologies Ltd, Gahanna, OH, USA) (12), CardioScreen (Medis GmbH, Ilmenau, Germany) (12), HIC series (Bio-Impedance Technology Inc. - Microtronics, Chapel Hill, NC, USA) (11), and VU-AMS (Vrije Universiteit, Amsterdam, Netherlands) (10). Also popular, but less so than the former, is the cardiograph by BIOPAC (8). The rest of the devices have a symbolic representation, with one paper reporting having used them (Task Force Monitor, SORBA CIC-1000, and SA Instruments). Two articles do not provide any information about the device employed to collect the ICG data.

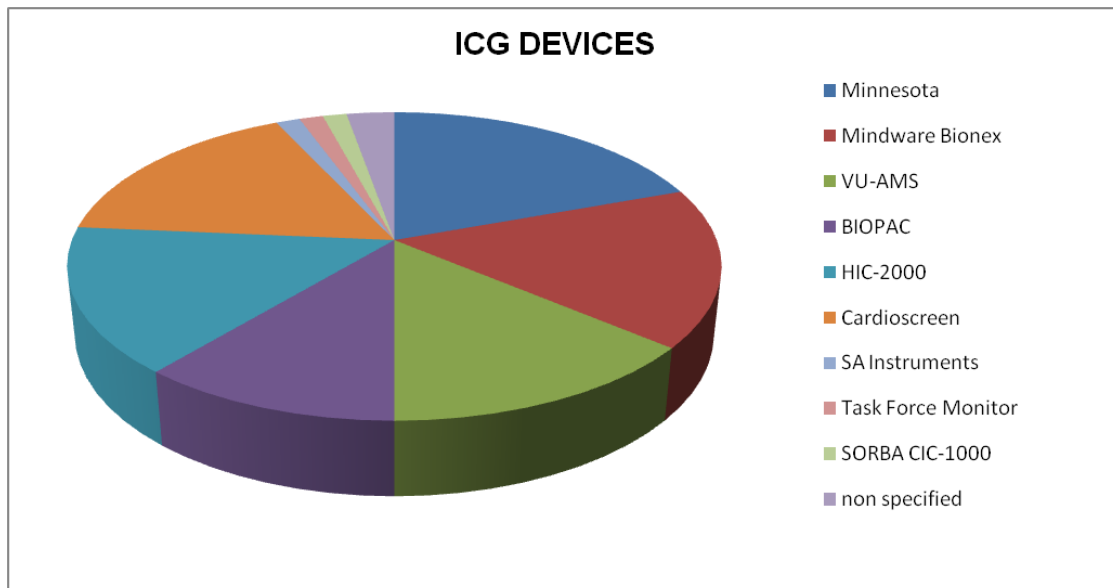


Figure 13. Distribution of devices employed for ICG register.

3.3.2. Software

Since most researchers opt for an automatic detection, we consider very important the specification of the software employed in that scoring process. This is even more important when the algorithms provided by the different software packages for ICG scoring are not standardized. If reproducibility guarantees must be met, it is fundamental to make available this information about the methodological choices. The most reported software packages to process and analyze the impedance signals are COP-WIN (17) (which has been discontinued, according to the web of the company) and Mindware (17). They are followed by VU-DAMS (7), with the particularity that it is free to access and that it provides a useful handbook about the technique. Many people choose to build their own custom software (5), but interestingly, the majority of papers directly do not report the software employed (18).

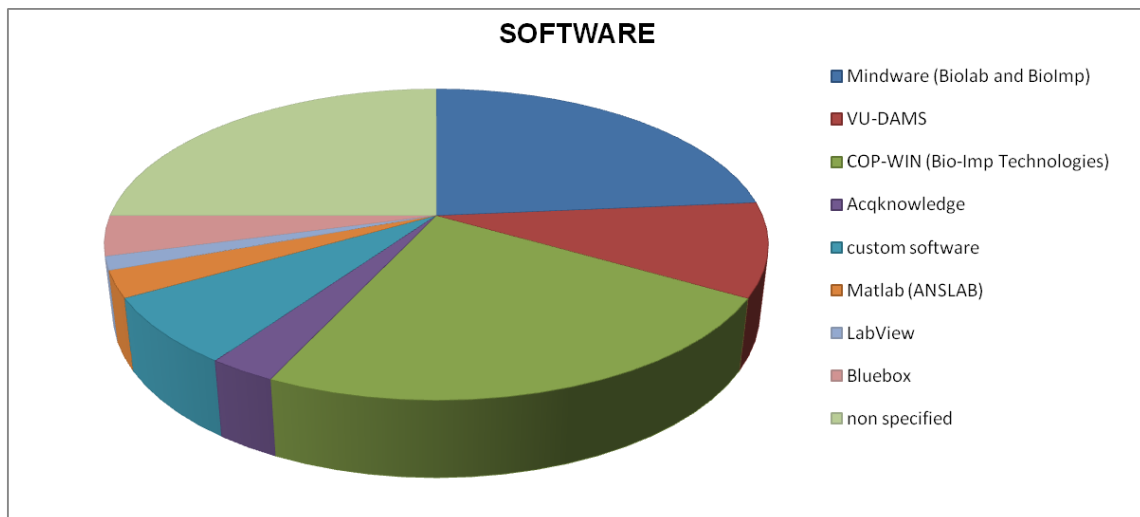


Figure 14. Distribution of the software packages employed for PEP analysis.

3.3.3. Pre-processing of the data

Undoubtedly, one of the most useful technical developments regarding the PEP estimation is the application of the ensemble average technique (Kelsey & Guethlein, 1990) to the impedance cardiogram. The main reason is that any analysis of PEP requires an important investment in signal processing and scoring: Many cycles of ECG and ICG register must be revised and scored before the PEP values can be obtained. Interestingly, in most studies, these series of consecutive values (often dozens or even hundreds of them) are averaged to obtain one only PEP score, which is considered as the representative value of the variable for the experimental lapse of interest. Through the ensemble average process, on the other hand, we reverse the order of these operations. That is, we first average the waveform of all cycles of the

lapse of interest to obtain only one segment (i.e., one cardiac cycle) of the waveform that will be considered representative of the lapse. Then, we score that segment, so the revision and scoring work is reduced to identify the hallmarks of only one cycle, which represents the average waveform of the interval.

The gains of applying this technique are obvious, but it also obviously raises a question regarding whether the PEP value obtained through the ensemble averaged ICG will be identical to that obtained in the reverse process (i.e., estimating the PEP values for all cycles and then averaging these values). Kelsey & Guethlein (1990) answered that question, showing that though the values obtained through the ensemble averaged impedance cardiogram were not totally identical to those obtained from the beat-by-beat scoring of the original signal, they were similar enough to allow the use of the technique. They also showed that the rate of coincidence was directly proportional to the length of the ensemble averaged lapse. They found acceptable results for the shortest lapse of 20 seconds (where the lowest correlation coefficient found was $r = 0.726$, $r=0.882$ for 60 seconds intervals).

Currently, the ensemble averaged ICG is widely used, as reflected by the high proportion of research works that report having used it (53 out of 72). The main methodological concern about this issue is the employment of ensemble averaged intervals shorter than 20 seconds, which is the minimum length that has been validated to provide an acceptable degree of similarity with the non-averaged values. In our review, only two papers report ensemble averaged lapses shorter than 20 seconds.

3.3.4. Scoring process

The most popular method is the automatic method, and it is logical to use technology to improve analyses. However, the lack of peer-reviewed material about the issue is concerning. More concerning is that out of 39 papers employing automatic methods (54.16%), 19 do not report having performed a visual inspection posterior to the automatic analysis. Probably because of this lack of standardization, 15 works employ exclusively manual scoring and do not use an algorithm to aid in the scoring process.

Eighteen papers do not provide any information about the scoring process employed.

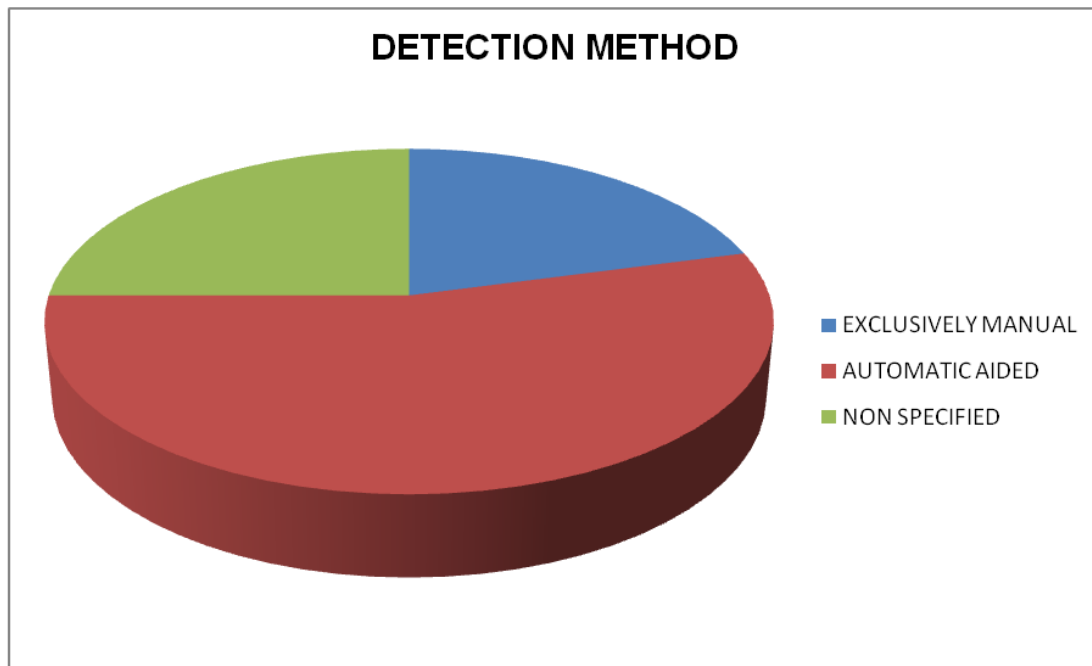


Figure 15. Distribution of the B point detection methods employed.

3.3.5. Algorithm employed (in case)

Despite the large number of algorithms available for automatic detection of B point, they are not reported in the method section of the papers using them. The literature becomes specific about this feature only when reporting the polynomial algorithm of Lozano et al. (2007): nine papers out of thirty-nine.

There is one paper that refers to the 15% algorithm of Ono et al. (2004), but that algorithm was originally proposed by Kubicek et al. (1967). However, Ono et al. (2004), who checked the reliability of the algorithm, made it a reference for this area of research.

There is another paper that refers to a custom-made algorithm, based on the second derivative method included in the AcqKnowledge software package. Unfortunately, the company's assertion about the ideality of the algorithm does not rely on any empirical evidence.

The last algorithm reference refers to the dZ/dt zero crossing point before C.

There are no more references to any other algorithm.

3.4. DISCUSSION

The high number of original research works that report PEP estimation speaks to the popularity of the index and the need to include specific autonomic measures in psychophysiological research. The work by Sherwood et al. (1990) did facilitate the labor to all researchers, but there are still some caveats that can no longer be evaded for the interest and quality of research. One of the main aims of the current paper is to note the most significant of them, or at least those that play an important role in reproducibility. Some of these non-standardized issues may seem somewhat irrelevant, such as the sensitivity of search engines to the hyphen, but they may nonetheless lead to unwanted situations. Other points exposed here, on the other hand, are obviously highly relevant for the reliability of the technique, such as the B point detection. Regarding this issue, the proliferation of automatic detection methods is an expected technical development in the field, as a result of the global digitalization process and computer science evolution.

Unfortunately, studies on this methodological issue do not keep pace with the popularization of the algorithms. There is a surprising lack of peer-reviewed works that aim to analyze the efficacy and reliability of many of these algorithms. Frequently, it is impossible to find a complete and open description of some of these algorithms. Due to the importance of having solid methods to analyze the ICG waveforms, it would be interesting to diverge from this obscurantism and, following the path of Lozano et al. (2007), provide some scientific support for the adequacy of employing a given automatic method before encouraging its use. In any case, until the problem of the aortic valve opening detection by ICG is refined, the visual inspection still stands as the most reliable method for ICG scoring. Automatic scoring can be a good aid, and it may help save a far from negligible amount of time, but a subsequent careful visual inspection is unavoidable.

4. ESTUDIO 2: MATHEMATICAL DETECTION OF AORTIC VALVE OPENING (B POINT) IN IMPEDANCE CARDIOGRAPHY: A COMPARISON OF THREE POPULAR ALGORITHMS

This chapter (with slight modifications) has been published as:

Árbol, J. R., Perakakis, P., Garrido, A., Mata, J. L., Fernández-Santaella, M. C., & Vila, J. (2017). Mathematical detection of aortic valve opening (B point) in impedance cardiography: A comparison of three popular algorithms. *Psychophysiology*, 54(3). doi: 10.1111/psyp.12799

4.1. INTRODUCTION

The autonomic space theory (Berntson, Cacioppo & Quigley, 1991) marked an inflection point in the scientific understanding of the functioning of the autonomic nervous system. The possibility of co-activation, co-inhibition, reciprocal activity, and uncoupled activation of the two autonomic branches (sympathetic and parasympathetic) made it necessary to include specific autonomic indexes in psychophysiological research. Among these, the preejection period (PEP) is of high relevance as a reliable index of left ventricular contractility, showing widespread acceptance in recent literature.

The PEP is one of the two components of electromechanical systole, and comprises the time from the onset of ventricular depolarization until the onset of left ventricular ejection, when the aortic valve opens to let the oxygenated blood flux enter the systemic circulation (Sherwood et al., 1990). Therefore, in order to calculate the PEP for a cardiac cycle, it is necessary to identify the precise moment when those two physiological events occur. As a bioelectrical phenomenon, the onset of ventricular depolarization can be directly observed in the shape of the Q wave onset in the electrocardiogram (ECG) (Berntson et al., 2004). The opening of the aortic valve, in contrast, is a mechanical event that cannot be directly detected with the non-invasive techniques available for psychophysiological research. However, it can be derived by changes in thoracic electrical impedance (ICG), easily measurable in laboratory settings (Kubicek et al., 1966). In a study carried out in 1970, Lababidi et al. found a temporal coincidence between the appearance of a notch in the graph of the first derivative of the impedance cardiogram (dZ/dt) and the second deflection of the first noise in the phonocardiogram. Since this deflection is associated with the opening of the aortic valve, an indirect correlation could be established between this physiological

event and the function derived from thoracic impedance. Hence, the distinctive notch observed in dZ/dt was labeled as B point and was suggested as an indicator of the onset of left ventricular ejection.

4.1.1. The Problem of B Point Detection

The possibility of determining the exact moment when the aortic valve uncloses by means of a precise and non-invasive technique signifies an important advantage for psychophysiological research. However, there is a major disadvantage: Although the aortic valve opening is a physiological event that occurs in every single cardiac cycle (at least in healthy subjects), the notch reported by Lababidi et al. (1970) is not always clearly identifiable. This idiosyncrasy extends beyond individual differences: Even within the same experimental session of a single person, the notch may become impossible to detect by visual inspection in some sections of the dataset (Nagel et al., 1989). To account for the variability observed in the cardiac impedance waveform, Sherwood et al. (1990) modified in their methodological guidelines for impedance cardiography the classical description of the B point as a “notch”, defining it as “the onset of the rapid upslope of dZ/dt as it rises to its peak value”, and establishing the current operationalization of the term.

Following this definition, several mathematical algorithms were developed for its automatic estimation. Most of these algorithms aim to localize the upstroke of dZ/dt based on the calculation of the second (d^2Z/dt^2) or third (d^3Z/dt^3) derivative of the impedance cardiogram (Debski, Zhang, Jennings & Kamarck, 1993). Alternatively, Lozano et al. (2007) proposed an indirect polynomial method that does not require to identify the B point for the estimation of PEP, but is rather based on the correlation between PEP and the time interval between the R peak of the ECG and the C point of the ICG (both easily identifiable marks in their respective graphs). However, Van Lien, Schutte, Meijer & de Geus (2013) found substantial discrepancies in different experimental conditions between the PEP estimated with this last method and the traditional one. They concluded that, even being a helpful tool, it should not be considered as a substitute for the actual PEP obtained by aortic valve opening detection.

The data obtained from the literature research (see the previous chapter) prove that there is a general tendency to omit the information related to the method employed to detect the B point, especially regarding the algorithm chosen when this operation is made automatically. This lack of information raises an important reproducibility issue,

unless we have compelling evidence that all B point detection algorithms described in the literature and available at popular data analysis software packages are equally reliable and produce identical results.

The only study that, to our knowledge, has assessed the reliability of two different B point detection algorithms based in upstroke identification by means of derivative calculations, is the one where Debski et al. (1993) compared the average values of five physiological indexes that required B point estimation. The first algorithm located the B point at the reversal point of the second derivative, while the second located the B point at the maximum of the third derivative. In a third experimental condition, a human operator placed the B point employing visual detection following the operationalization of Sherwood et al. (1990). Although the average value of the indexes did vary depending on the method used to detect the B point, the statistical analysis did not reveal significant differences in the average variability of the three detection methods. The authors also reported high between-subjects Pearson correlation coefficients in the scores obtained by the two algorithms when compared to those obtained by means of visual detection. An analysis of PEP was not included in the study.

The aim of the present study was to test the performance of three different B point detection algorithms provided by common data analysis software programs. The three algorithms we tested were: a) the cycle-by-cycle isoelectric crossings, b) the maximum of the second derivative, and c) the maximum of the third derivative. We compared the average PEP estimate obtained by means of each algorithm, as well as the respective error rates in the computation of the index. Furthermore, we tested the level of coincidence of each algorithm with the placement of the B point made manually by two independent scorers, following the methodological guidelines for impedance cardiography (Sherwood et al., 1990).

4.2. METHODS

4.2.1. Dataset

The dataset comprised 100 consecutive cardiac cycles by 30 subjects (15 women, 15 men; $M_{age} = 22.11$; $SD = 4.65$) obtained during a baseline resting period. The participants were sat in a comfortable armchair during the complete duration of the record session. All experimental procedures were designed according to the Declaration of Helsinki and received approval by the Ethics Committee in Human Research (CEIH) of the University of Granada. Previous to data collection, an informed

consent form was filled out and signed by all the participants, who voluntarily took part in the study. The cardiac impedance dZ/dt signal was obtained by means of an impedance cardiography module NICO100C (Biopac Systems Inc, Goleta, CA), wired to a Biopac MP150 polygraph and using a 1 kHz sampling rate. The ICG signal was obtained following the classical tetrapolar array with band electrodes described in Kubicek et al. (1966), placing one of the two voltage electrodes around the base of the neck and the other one around the chest, 3 cm below the xiphisternal junction. The correspondent current electrodes were placed 3 cm distal of their respective voltage electrodes. The alternating current injected was set at 400 μA intensity and 50 kHz frequency. The ECG signal was obtained by means of an ECG100C module (Biopac Systems Inc, Goleta, CA), wired to a Biopac MP150 polygraph using a 1 kHz sampling rate and a couple of disposable electrodes following Einthoven's lead II array: The two active electrodes were placed on the right wrist and on the left ankle. The ground electrode was placed on the right leg. The software used to record and process the psychophysiological signals was Acqknowledge 4.2 (Biopac Systems Inc, Goleta, CA).

4.2.2. Algorithms

Three different algorithms were evaluated, all based on derivative calculations, with the aim to localize the B point defined as the initiation of the rapid upstroke of the dZ/dt wave (Sherwood et al, 1990).

Algorithm 1 is known as "Cycle-by-cycle isoelectric crossings". This algorithm obtains the mean value of the dZ/dt wave for a given cycle. Then it places the B point in the last crossing of the mean value before the dZ/dt peak.

Algorithm 2 is known as "Second derivative classification". It first establishes a 50 ms time window starting 150 ms before the C point (the maximum of the dZ/dt at each cardiac cycle). It subsequently calculates the second derivative of the impedance (d^2Z/dt^2) and places the B point at its maximum value within the established time window.

Algorithm 3 is known as "Third derivative classification". It calculates the third derivative of the impedance (d^3Z/dt^3) and places the B point at the local maximum found within 300 ms previous to the C point.

4.2.3. Scoring Procedure for B Point Visual Detection

The reference for the visual detection of the B point was the definition established in the methodological guidelines for impedance cardiography: The onset of the rapid upslope of dZ/dt as it rises to its peak value (Sherwood et al., 1990). In regular subjects, the location of that upstroke is restricted to a time window comprised between two easily identifiable marks: the R peak of the ECG and the C point of the dZ/dt . This constrains the possible placement of the B point to a time window of approximately 150 ms prior to the C point. Within that time window, the onset of the rapid upslope is sometimes preceded by a clear notch (Lababidi et al., 1970). Examining a vast set of impedance cardiography data however, it turns out that the notch is not always present, different shapes of the dZ/dt wave can be found, and such variance in the morphology of the wave may cause confusion when proceeding to a visual detection of the B point (Nagel et al., 1989). Although certain degree of variability in the shape of the dZ/dt concerning the B point area is reported in the literature, a precise description of this variability is usually omitted. In the current study, we developed a decision tree (see Figure 2) following the description of the dZ/dt morphology found in Nagel et al. (1989), in order to facilitate a more objective manual placement of the B point by the two scorers. The decision tree indicates where to localize the onset of the rapid upslope, depending on the shape of the wave, and takes into consideration that it may be preceded by an incisive notch, by a plateau, by an inflection point, by a sharp change in the gradient of the graph, or even the lack of any identifiable mark.

The visual detection of the B point was made by two independent scorers (Kelsey et al., 1998; Riese et al., 2003), under a single-blind manipulation: They did not know which algorithm was being used for the computational detection of the B point in each case. One of the scorers had broad experience in impedance cardiogram analysis, while the second had no previous experience. The data of the 30 participants were independently checked cycle-by-cycle by both scorers under each one of the three experimental conditions (algorithms). After the algorithm had made its automatic detection, the B point was manually placed cycle-by-cycle by the scorers, following the criteria depicted in the decision tree. Subsequently, the two scorers registered the number of cycles where the placement of the B point by the algorithm coincided with their own decision. That score indicated the number of cycles that did not need manual edition after the application of the algorithm, and was taken as an index of each algorithm's accuracy.

4.2.4. Data Analysis

The PEP was computed as the time interval from the Q onset to the B point detected by the respective algorithm, and was subsequently averaged for all subjects under each of the three different experimental conditions. The number of cycles where the computational detection of the B point failed (missed cycles) was registered as well. A univariate analysis of variance (ANOVA) was used to test significant differences in the PEP values depending on the algorithm used.

We also checked whether the average PEP obtained by each algorithm was found within the normal physiological limits of the index in resting conditions (Hodges et al., 1972; Weissler, Harris & Schoenfeld, 1968). If an average PEP value was below 70 ms or above 175 ms, it was classified as abnormal.

The accuracy score (coincidence with visual detection) was averaged for all the participants in the three experimental conditions. A 3 X 2 analysis of variance (ANOVA) with the factors *Algorithm* and *Scorer* was used to test the differences between experimental conditions and between the performance of the two scorers. The Bonferroni test was applied for all post-hoc paired comparisons.

Finally, we tested the interscorer reliability in terms of absolute agreement in single measures by means of the intraclass correlation coefficient (ICC) based on a random effects model (Model 2, Shrout & Fleiss, 1979).

Given that exactly 100 cycles were analyzed for each subject, in the results the absolute count of missed cycles and accurate detections is directly expressed as a percentage.

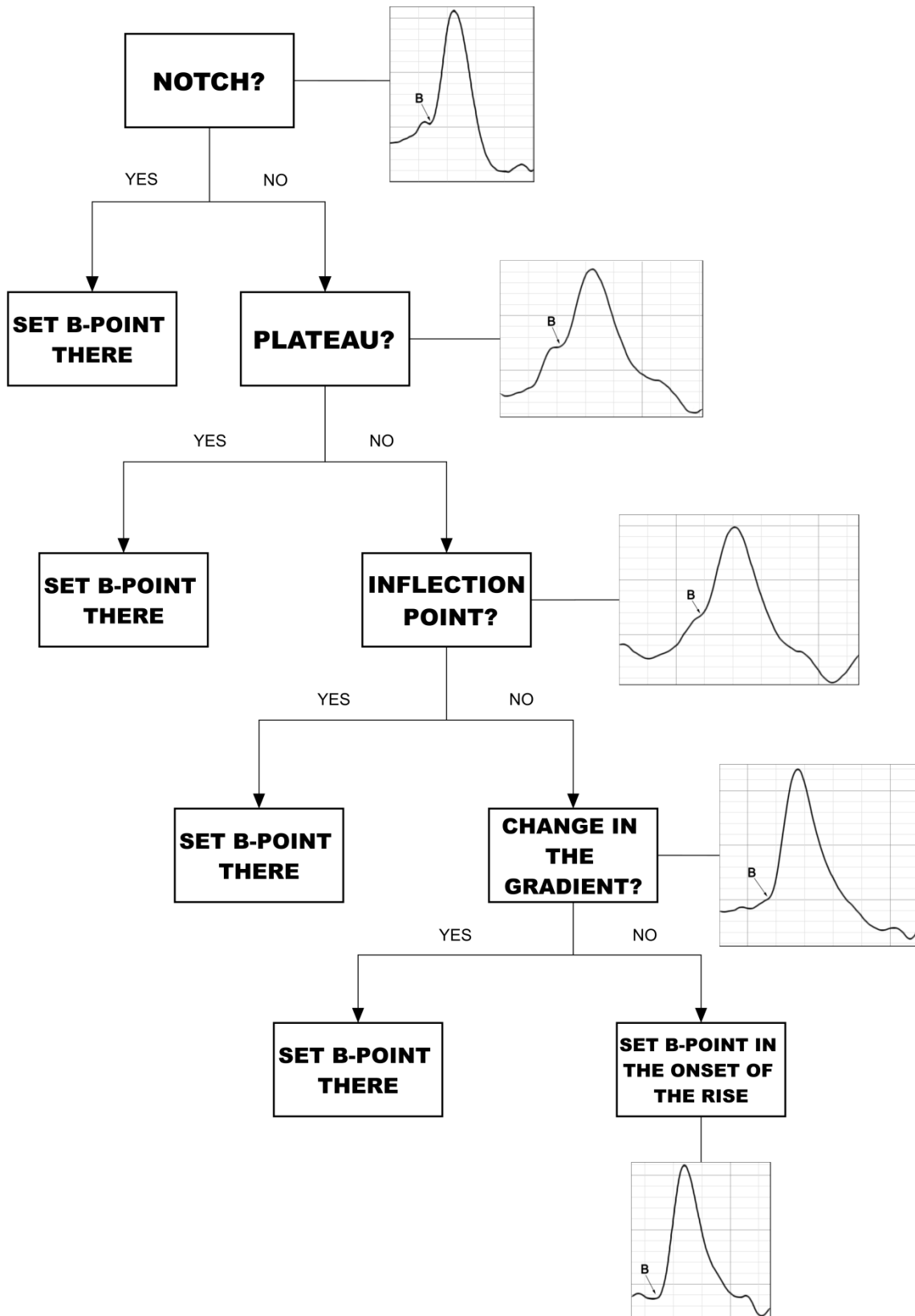


Figure 16. Decision tree for visual B point detection in dZ/dt , based in Sherwood et al. (1990) and Nagel et al. (1989).

4.3. RESULTS

Algorithm 1 obtained an average PEP value of 119 ms ($SD = 23$), algorithm 2 averaged 70 ms ($SD = 26$), and the average value for algorithm 3 was 113 ms ($SD = 16$) (see Figure 17). These differences were statistically significant ($F(2, 8997) = 1749.7, p < .0001$). The Bonferroni test showed significant differences between algorithms 1 and 2 ($p < .0001$), 2 and 3 ($p < .0001$), and 3 and 1 ($p < .0001$). The average percentage of missed cycles per subject due to an error of the algorithm was 6.3% ($SD = 9.4$) for algorithm 1, 48.57% ($SD = 36.25$) for algorithm 2, and 3.5% ($SD = 5.69$) for algorithm 3 (see Figure 19). The difference in errors between the three algorithms was also significant ($F(2, 87) = 39.961, p < .0001$). The post-hoc analysis showed that only the differences between algorithms 2 and 1 ($p < .0001$) and algorithms 2 and 3 ($p < .0001$) were significant. In addition, algorithm 2 provided an abnormal average PEP value for 13 subjects (43%), while no abnormal values were obtained by algorithms 1 and 3.

Regarding the comparison with the visual detection procedure, the average percentage of cycles with accurate detection was 24.57% ($SD = 16.76$) for algorithm 1, 13.82% ($SD = 14.42$) for algorithm 2, and 78.77% ($SD = 25.37$) for algorithm 3 (see Figure 18). These differences were statistically significant as reflected by the significant main effect of the Algorithm factor ($F(2, 174) = 190.39, p < .0001$). The post-hoc analysis showed significant differences between algorithms 1 and 2 ($p < .01$), 3 and 1 ($p < .0001$), and 3 and 2 ($p < .0001$). No significant effect was found for the Scorer factor nor for the interaction (both $ps > 0.3$) (see Figure 20). The intraclass correlation coefficient between scorers was 0.968, similar to the value found by Kelsey et al. (1998).

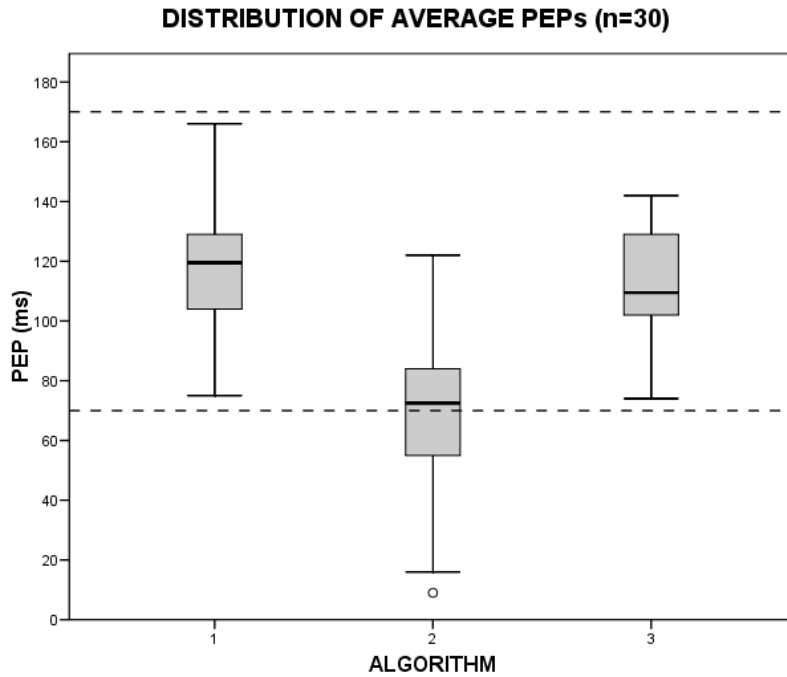


Figure 17. Distribution of the average PEP obtained depending on the algorithm used to estimate the B point. Vertical bars denote maximum and minimum values, horizontal bars denote the mean, and circles identify outliers. Horizontal discontinuous lines signalize the normal physiological limits of PEP in resting conditions.

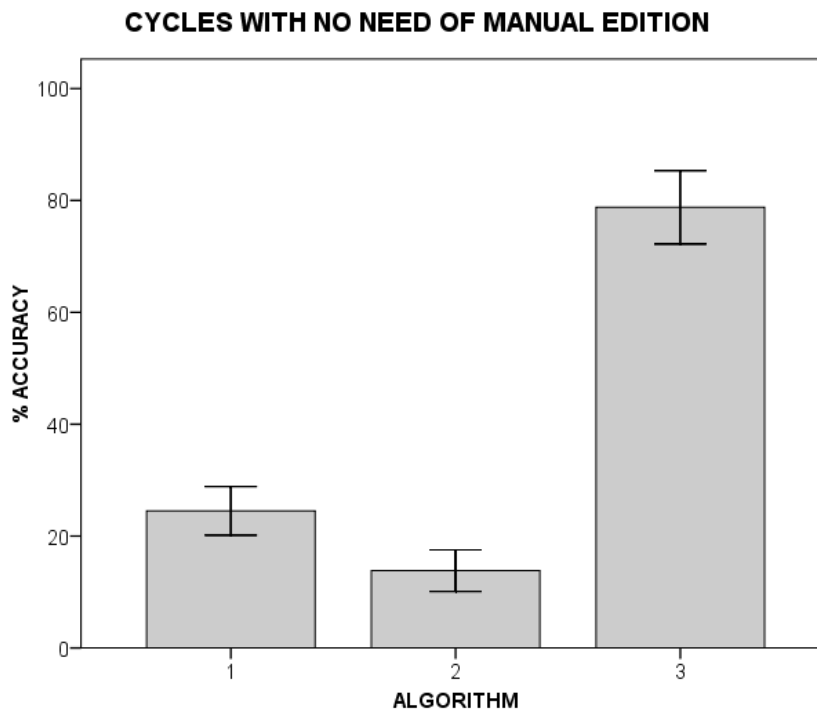


Figure 18. Percentage of cycles with no need of manual edition after applying automatic detection of the B point. Vertical bars denote ± 2 standard errors of the mean.

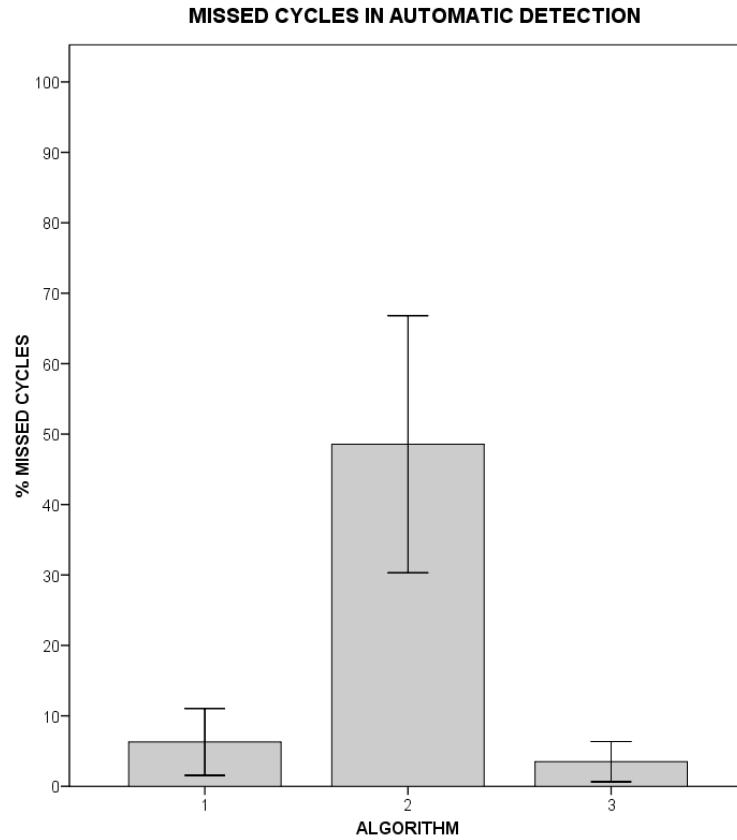


Figure 19. Error rates of the three different algorithms in the automatic detection of the B point, depicted by missed cycles in PEP estimation. Vertical bars denote 0.99 confidence intervals.

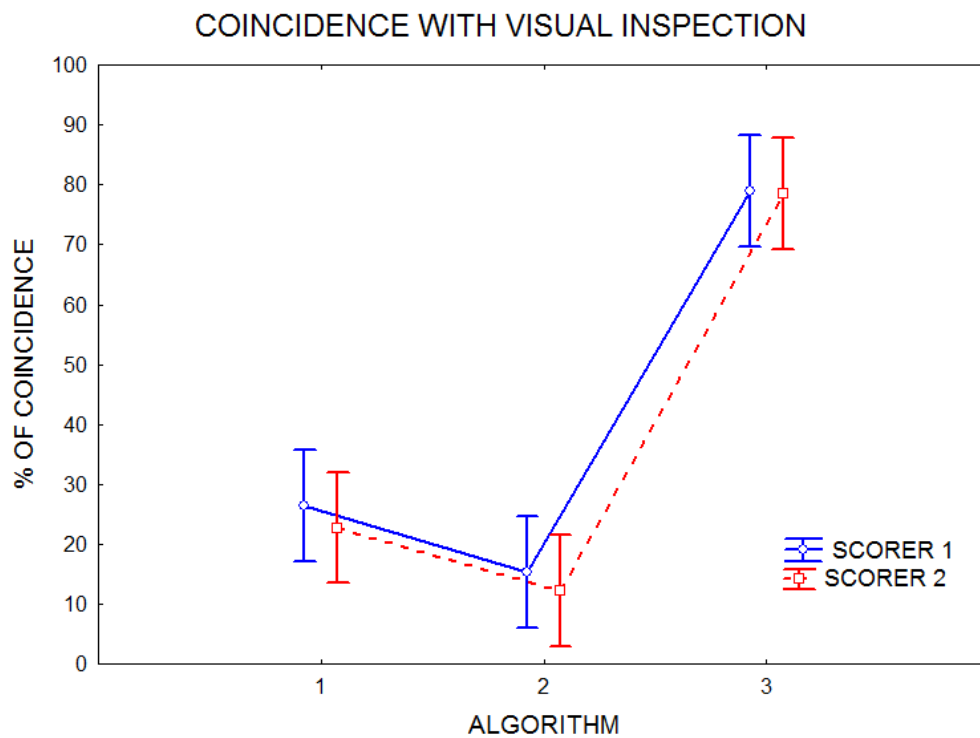


Figure 20. Level of coincidence of automatic B point detection with the visual inspection by the two different scorers. Vertical bars denote 0.99 confidence intervals.

Table 2. *Performance of the algorithms: summary of results (M = Mean, SD = Standard Deviation, SE = Standard Error of the mean)*

	<u>ALGORITHM 1</u>			<u>ALGORITHM 2</u>			<u>ALGORITHM 3</u>		
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>SE</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>SE</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>SE</i>
Average PEP (ms)	119	23	11	70	26	12	113	16	8
Missed cycles (%)	6.3	9.4	1.72	48.57	36.25	6.62	3.5	5.69	1.04
Coincidence with visual inspection (%)	24.5	16.76	2.17	13.82	14.42	1.86	78.77	25.37	3.27

4.4. DISCUSSION

Our findings revealed a significant difference both in the accuracy and the performance of three algorithms commonly used for the mathematical detection of the B point (aortic valve opening) in impedance cardiogram. Specifically, algorithm 2, which performs a B point detection based on the second derivative of the cardiac impedance waveform, proved to be particularly inaccurate (13.82% hits) and to result in a large number of missed cycles and abnormal PEP values. It is not clear whether these poor results relate to the choice of the second derivative for B point detection, to the restricted time window used for the calculation (50 ms), or to both factors. Interestingly, algorithm 1 that is based on the first derivative of the cardiac impedance waveform and does not define a concrete time window for the detection of the B point, also proved to be dramatically inaccurate. Algorithm 3, based on the third derivative and using a less restrictive time window of 300 ms, was the most accurate of the three (see Figure 3c).

Importantly, apart from the striking differences in accuracy, the three algorithms also resulted in significantly different average PEP values. PEP estimation based on algorithm 2 was more than 40 ms shorter than the one obtained by using algorithms 1 and 3. This is a remarkably large difference if we consider the normal variability of the PEP in resting conditions, parameter that usually ranges between 70 ms and 170 ms (Hodges et al., 1972; Weissler, Harris & Schoenfeld, 1968). The difference between algorithms 1 and 3 was smaller (6 ms), but still statistically significant (see Figure 3a).

The fact that these three algorithms are provided as standard options for B point detection by widely used commercial software, and that 72% of published articles using

algorithmic B point detection for the estimation of the PEP parameter do not explicitly report which algorithm has been used, raises a serious methodological concern with significant implications for the reliability of already published research. Furthermore, these findings signal a reproducibility issue, since even when the raw electrophysiological data become available, results cannot be independently replicated without any knowledge of the specific algorithms used for B point detection.

Our results, aside from identifying these two crucial issues, provide evidence in favor of using the third derivative classification method (algorithm 3). This algorithm significantly outperforms the other two in terms of accuracy in B point detection. Although our findings indicate that, disregarding the algorithm employed, a visual cycle-by-cycle inspection to correct misplaced B points is essential and unavoidable, the use of algorithm 3 can significantly save time and help optimize human resources, especially in studies that do not make use of ensemble average techniques. Considering that in our study each scorer examined 3,000 cardiac cycles per condition, algorithm 1 required a manual edition of 2,250 cycles, algorithm 2 an edition of 2,580 cycles, and algorithm 3 an edition of 630 cycles.

Nevertheless, it is important to point out that our results were obtained from a dataset taken in resting conditions. Thus, given the morphological differences in the cardiac impedance signal depending on age, heart disease, and experimental conditions (Ermishkin et al., 2014; Ono et al., 2004), further research is required before we can generalize these findings.

Another contribution of this paper is the development of a visual guide for correctly identifying the B point in the cardiac impedance waveform by visual inspection (see Figure 2). This guide was developed in the form of a decision tree that takes into consideration the variability in the morphology of dZ/dt waves reported by Nagel et al. (1989), as well as the operationalization of the B point as the onset of the rapid upslope of dZ/dt as it rises to its peak value (Sherwood et al., 1990). Specifically, it indicates which different characteristic marks in the dZ/dt waveform may signalize the onset of the rapid upslope, which is taken as an indicator of the aortic valve opening. This visual guide aims to minimize the subjective weight of the decisions on where exactly to locate the B point in each cardiac cycle. The agreement between scorers, depicted by the high ICC obtained, suggests that this aid can prove a valuable scoring instrument, especially for researchers with little or no previous experience in ICG analysis.

5. ESTUDIO 3: MAPPING THE SYMPATHETIC INFLUENCE IN THE COMPONENTS OF CARDIAC DEFENSE BY MEANS OF PREEJECTION PERIOD.

5.1. INTRODUCTION

The cardiac defense response (CDR) is a defense reflex that can be easily elicited in lab settings by the display of an unexpected burst of white noise. The sensorial parameters of the eliciting stimulus are high intensity (100dB or above) and a minimum duration of 500 ms (Ramírez et al., 2005; Turpin, Schaefer & Boucsein, 1999). In healthy subjects under resting conditions, the typical topography of this reflex is a four-component chronotropic response (Fernandez & Vila, 1989. See Figure 1) that begins with a pronounced acceleration of the heart rate (first component) following the onset of the stimulus. Soon after, and once the arousal has reached its peak level (approximately 3-5 seconds from the stimulus onset), there is a marked decrease in the heart rate (second component), which can fall even below the base line level. Then, the heartbeats speed up again (third component), although less steeply and more progressively than in the first component. Finally, the heart rate slows down gradually (fourth component). Although different patterns of CDR have been found (Richards & Eves, 1991), the following represents the most typical shape of the reflex for healthy subjects.

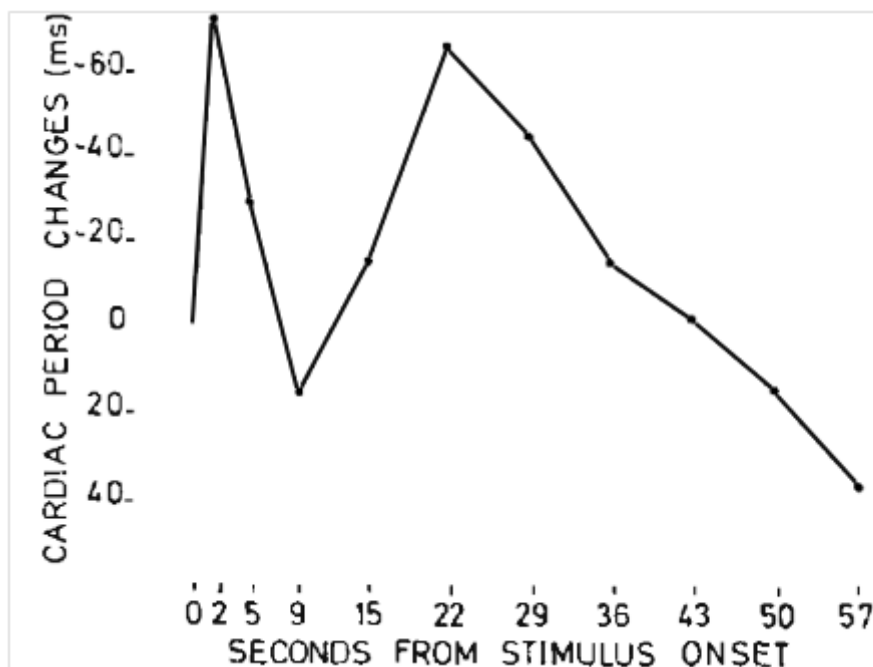


Figure 21. Typical pattern of the CDR. Extracted from Fernandez & Vila (1989).

5.1.1. Psychological significance of cardiac defense

The psychological significance of cardiac defense has been interpreted differently from cognitive (e.g., Sokolov) and motivational (e.g., Cannon, Selye) points of view. On one hand, the former emphasizes the fact that heart rate acceleration hinders the processing of external information and therefore serves as a protective automatic reaction against potentially harmful inputs (e.g., withdrawal to an electric shock). This is the opposite process of the orienting response, which is characterized by a phasic decrease in the heart rate that makes processing of sensorial data easier (Sokolov, 1963).

On the other hand, the motivational perspectives stress arousal as a mobilization of resources to facilitate an adaptive physical reaction of the individual to a changing environment, with the fight-flight response (Cannon, 1929) and Selye's (1956) alert response as referential paradigms. Nonetheless, a broader integrative perspective (Vila et al., 2007) that considers the contributions of the two former approaches highlights the fact that these apparently mutually exclusive models are far from being contrary, conflicting, or exhaustive. They simply depict different features of the same reality and, when put together into a comprehensive model of defensive cascade (Vila et al., 2009) that provides a wider framework to understand the complexity of the reflex, both cognitive and motivational factors merge in a multilevel reflex whose aim is to ease the best response of the subject.

In this way, the chain of consecutive physiological changes observed in the typical cardiac defense response pattern are associated with and support both cognitive and motivational processes. An experimental study carried out in a behavior lab provided empirical evidence that associated the two first components with cognitive operations, while the two last components seem to be motivational related (Ramírez et al., 2010).

Therefore, in cardiac defense, we find a reliable but dynamic cardiovascular reflex that expresses and is affected by both cognitive and motivational processes and is easy to measure in lab environments. These features, along with the key role that cardiovascular arousal plays in human anxiety and fear-related experiences, make CDR suitable to be employed as a versatile research paradigm in the fields of anxiety and emotions.

5.1.2. Applications of cardiac defense

Alterations in the regular reactivity of the cardiovascular system to potentially harmful situations are among the more prominent symptoms of the cluster of anxiety disorders (American Psychiatric Association, 2013). Thus, an automatic psychophysiological response that allows us to monitor this reactivity in any patient, compare it with the average or healthy response, and track the evolution of the response along a therapeutic process, can become a powerful assessment tool in clinical research and therapy. Likewise, the finding of differential reactivity patterns that can characterize certain clinical conditions may help to enhance the reliability of the traditional diagnosis process. Encouraging data about this issue were published by Lang & McTeague (2009), associating specific patterns of the startle reflex to different anxiety disorders. Following this research line, the cardiac defense has already been used to determine different patterns of responsiveness associated to psychopathological conditions. Significant differences in CDR display were found between war refugees that had developed post-traumatic stress disorder (PTSD) and those that had not (Schalinski, Elbert & Schauer, 2013). Specifically, a higher magnitude of the first accelerative component was correlated with greater PTSD symptom severity. In addition, it was found that the patients who had had to cope with more traumatic situations throughout their lives presented attenuations of components three and four of the cardiac defense. These results speak to differential effects on the different components of cardiac defense according to the impact of the traumatic experiences on the mental health of the refugees.

5.1.3. Cardiac defense response and the autonomic space

The reliability of the former applications of the CDR paradigm in research relies on the empirical evidence obtained about the features and significance of the different components of the response. One of the features of interest is the role that the autonomic nervous system (ANS) plays in the different accelerations and decelerations that compose the reflex. Given that the usual CDR analysis is typically centered in the heart rate shifts (measured through electrocardiography; ECG), that this variable reflects the overall activity of ANS over the heart, and that we cannot assume a reciprocal activity of the sympathetic and parasympathetic branches (Berntson, Cacciopo & Quigley, 1991; Obrist et al., 1970), the available empirical data about the autonomic influences on the CDR are of the highest importance to draw any solid conclusion about this issue, particularly if no specific autonomic indexes are registered. This becomes especially important, for instance, in experimental designs where possible alterations of the sympathetic healthy reactivity are crucial elements of the

research and need to be identified, such as the work by Schalinsky et al. (2010) about PTSD bio-markers in war refugees or the recent studies about the consolidation of the traumatic memories conducted by Tollenaar et al. (2009).

Therefore, the need to map the autonomic influences over the CDR by means of reliable specific indexes of the different branches of the ANS becomes a significant subject of research. Two studies have explored the sympathetic contribution to the different components of the CDR. The work carried by Fernández & Vila (1989) employed pulse transit time (PTT) as an index of sympathetic activity and, surprisingly, obtained a negative correlation of cardiac period and pulse transit time during the first acceleration. That was interpreted as an inhibition of the sympathetic influences during the first component, which is characterized by an acute heart rate rise that (according to these data) could be explained by a co-inhibition of the two ANS branches but never by a reciprocal functioning of the sympathetic and parasympathetic pathways.

The brief report presented by Del Paso et al. (1994) used a design with a pharmacological blockade of the beta-adrenergic receptors, by means of metoprolol administration to the participants prior to the experimental session. The sympathetic variable chosen was stroke volume, an inotropic index of the sympathetic activity on the left ventricle. In line with the former study, the blockade of the sympathetic receptors did not affect the first accelerative component of the response, which showed no mitigation in intensity or duration. This was taken as an evidence of no sympathetic influence in the first acceleration. On the contrary, the second one was significantly lessened under metoprolol administration.

The converging results of these studies suggest that the first heart rate rise during cardiac defense is not related to any increase in the activity of the sympathetic fibers innervating the heart, which shows the limitations of considering reciprocity as the only possible operating mode of the ANS. However, some limitations noted by the authors should be considered. For instance, Fernandez & Vila (1989) stated that "PTT may not be a perfect index of sympathetic activation" and concluded that the "interpretation of PTT results should take into consideration the presence or absence of convergent data". This prudent statement is aligned with the observations of Newlin & Levenson (1978), who asserted that "unless the subintervals of PTT are measured, there is little basis for determining whether PTT changes are due to changes in myocardial contractility or blood pressure (or both)". They ended suggesting that a "direct measurement of pre-ejection period would facilitate this determination".

The main limitation of the work by Del Paso et al. (1994) is the restricted size of the sample, which led the authors to state that "the heart rate components of the defense response have been poorly evoked in this study". They also noted that "the specific testing conditions using an invasive pharmacological procedure might have affected the frequency of subjects showing the CDR". Therefore, they honestly declared that "conclusions concerning the effect of the pharmacological blockade on the heart rate pattern can only be tentative".

Hence, despite having empirical evidence about the sympathetic dynamics of the CDR, it is worth trying to reproduce the results obtained in previous research, paying attention to the *caveats* signaled in the authors' discussions. The study presented here takes the torch from the cited researchers and tries to avoid some of the limitations they specified. This is addressed by including the pre-ejection period as the main index to trace the sympathetic activity variations, by avoiding any invasive manipulation in the experimental design, and by significantly increasing the size of the sample.

5.2. METHODS

5.2.1. Participants

One hundred undergraduate students (fifty women) aged eighteen to twenty eight years (mean 22.11; SD 4.65) participated in the current study. In return, they obtained course credits. Exclusion criteria were psychological disorders, auditory impairment, being under pharmacological treatment with beta-blockers, illegal drug consumption, and heart affections. The data of 8 participants (3 women and 5 men) were excluded from the analysis due to heavy noise in the signal.

5.2.2. Psychophysiological test

All the participants underwent an experimental session consisting of one trial of cardiac defense response. The experiment was always run under the same light conditions (semi-darkness) as the participants sat in a comfortable armchair. The test design was as follows: after a ten-minute adaptation period, an unexpected burst of white noise was presented through the headphones. Then, the cardiovascular psychophysiological reaction of the subject was registered during the following ninety seconds.

5.2.3. Instruments

The psychophysiological recording was performed using a BIOPAC MP-150 polygraph, with module ECG100C for electrocardiography and module NICO100C to register impedance cardiography. The electrical signal of electrocardiogram was obtained through disposable electrodes, which were placed following Einthoven's lead II (right arm and left leg). The ground electrode was placed on the left elbow. The impedance cardiography signal was obtained using the standard tetrapolar array with band electrodes (Sherwood et al., 1990). One of the two voltage electrodes was located around the base of the neck, and the other was placed on the chest at the level of the xiphisternal junction. The two current electrodes were located 5 cm distal to each voltage electrode.

The auditory stimulus (burst of white noise, 105 dB, 500 ms in duration, instant rise) was generated by a Coulbourn V15-17 system with an audio source (module V85-05) wired to an amplifier IMQ PPA-1. The white noise was presented to participants through a set of AKG-K240 headphones (600 ohm). The intensity of the sound was calibrated at 105 dB using an artificial ear (Brüel & Kjaer 4153) with a sound level meter type 2235.

The software used to record and reduce the psychophysiological signals was AcqKnowledge 4.2.

5.2.4. Data reduction

5.2.4.1. Psychophysiological indexes

Two different psychophysiological variables were simultaneously obtained, recorded, and digitized at 1000 Hz: electrocardiography (ECG) and impedance cardiography (ICG). From them, two psychophysiological indexes were calculated beat-to-beat: the cardiac period (CP) to depict the overall heart activity and the pre-ejection period (PEP) to depict the activity of the sympathetic fibers innervating the left ventricle.

The cardiac period beat-to-beat was obtained calculating the time interval between every two consecutive R peaks of the ECG signal.

The PEP requires the simultaneous and synchronized register of both ECG and ICG and it was obtained calculating the time interval between the onset of the Q wave of the ECG and the B point of the first derivative of the ICG (Sherwood et al., 1990). The first

derivative was calculated offline from the raw impedance data. AcqKnowledge 4.2 was used to detect the cardiac events of interest (R peak, Q wave onset, and B point) and to calculate the systolic time intervals, editing manually when needed. The algorithm employed to automatically detect the B point was the maximum of the third derivative.

Both variables were analyzed using the cardiac time, so the measure unit in the domain of time was the consecutive cardiac cycles. This method avoids the classical errors and biases of the overestimation of heart activity (Graham, 1978; Bernston, Cacioppo & Quigley, 1995; Del Paso & Vila, 1998;).

5.2.4.2. Z scores

For every subject, the baseline average PEP and CP were obtained using as a baseline the fifteen immediate anterior beats to the apparition of the stimulus. The major difference in latency existing between the cardiac period (in a range of 300 ms to 1500 ms) and the pre-ejection period (in a range of 80 ms to 120 ms) did not allow direct comparisons of these variables. To solve this, both indexes were normalized within each participant, and the direct scores were transformed into z scores. The z scores keep the relative magnitude of any score among its set of data, transforming the direct score into standard deviations.

5.2.5. Analysis

The statistical analysis consisted of a 2 (CP-PEP) x 2 (Sex) x 80 (Heartbeats) repeated-measures ANOVA using the multivariate test statistic (Wilks' lambda) generated by SPSS. This method is free of sphericity assumptions and thus is more suitable for repeated-measures designs (O'Brien and Kaiser, 1985). The results are presented reporting the F-value associated with the Wilks' lambda along with its effect size (ηp^2). Significant interaction effects were analyzed using a *t* test for pairwise comparisons.

5.3. RESULTS

Figure 22 shows the variations in CP and PEP of the sample through the 80 heartbeats subsequent to the apparition of the stimulus. Both variables are shown in z scores and the y axis of the graphic has been inverted to allow a more intuitive interpretation of the chart. Therefore, an increase of the line chart represents a rise of the activity of the respective psychophysiological index, standing for a decrease in the length of the corresponding period. The data show an initial increase in heart activity, the first accelerative component of the response, that coincides in time with a fall in the

sympathetic activity on the left ventricle. Right after, the overall heart activity decreases, falling below the base line threshold (first decelerative component), and the sympathetic activity simultaneously rises. After beat 30, coinciding with the peak of the second accelerative component of the cardiac response, both physiological indices move in parallel, reflecting sympathetic influences in both the second acceleration and the second deceleration.

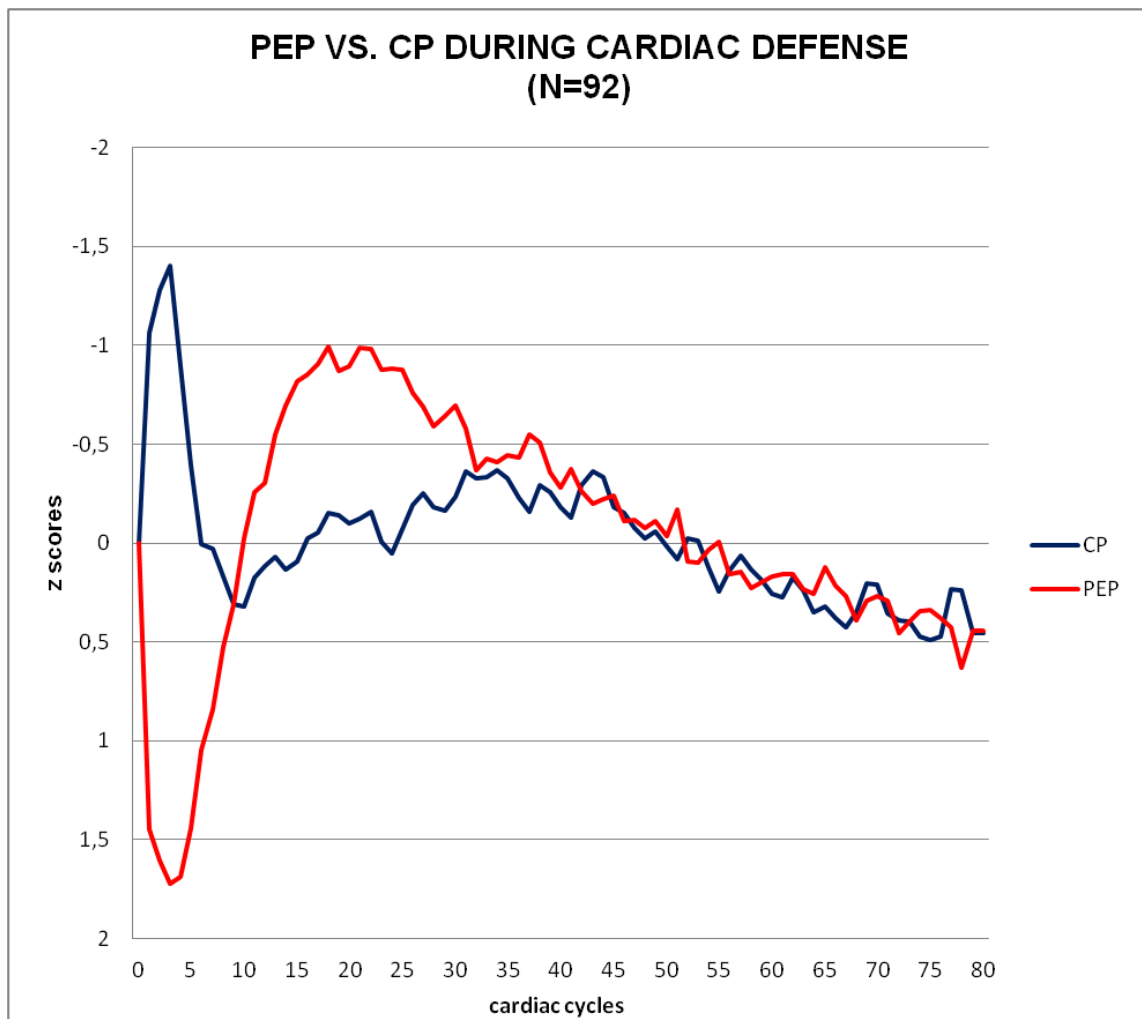


Figure 22. Comparison of CP and PEP variations (both expressed in z scores) during CDR. Note that the vertical axis has been inverted.

The ANOVA results show significant effects of Sex, $F(1, 90)=10.865$, $p<0.001$, $\eta^2=0.108$, Heartbeats, $F(79, 12)=8.419$, $p<0.001$, $\eta^2=0.982$, CP-PEP x Heartbeats, $F(79, 12)=6.554$, $p=0.001$, $\eta^2=0.977$, and Sex x CP-PEP x Heartbeats, $F(79, 12)=2.427$, $p=0.045$, $\eta^2=0.941$. Follow-up analysis of the three-way interaction revealed a significant CP-PEP x Heartbeats interaction for both men ($p<0.001$) and women ($p<0.001$). For men, significant CP-PEP differences were found from beat 1 to

beat 7 ($p<0.005$), reflecting an increased heart rate accompanied by reduced sympathetic activity, and from beat 10 to beat 27 ($p<0.009$), reflecting the reverse effect: a reduced heart rate accompanied by increased sympathetic activity. After beat 27 no more than two consecutive beats showed significant CP-PEP differences (beats 29, 30, 37, 61, and 80). For women, significant CP-PEP differences were found from beat 1 to beat 6 ($p<0.001$), reflecting an increased heart rate accompanied by reduced sympathetic activity, and from beat 14 to beat 22 ($p<0.016$), reflecting the reverse effect: a reduced heart rate accompanied by increased sympathetic activity. After beat 22, no more than two consecutive beats showed significant CP-PEP differences (beats 24, 26, 27, 33, 41, 43, 58, and 80). As shown in Figures 23 and 24, the significant sex effects were due to the higher CP and PEP variability in women than in men.

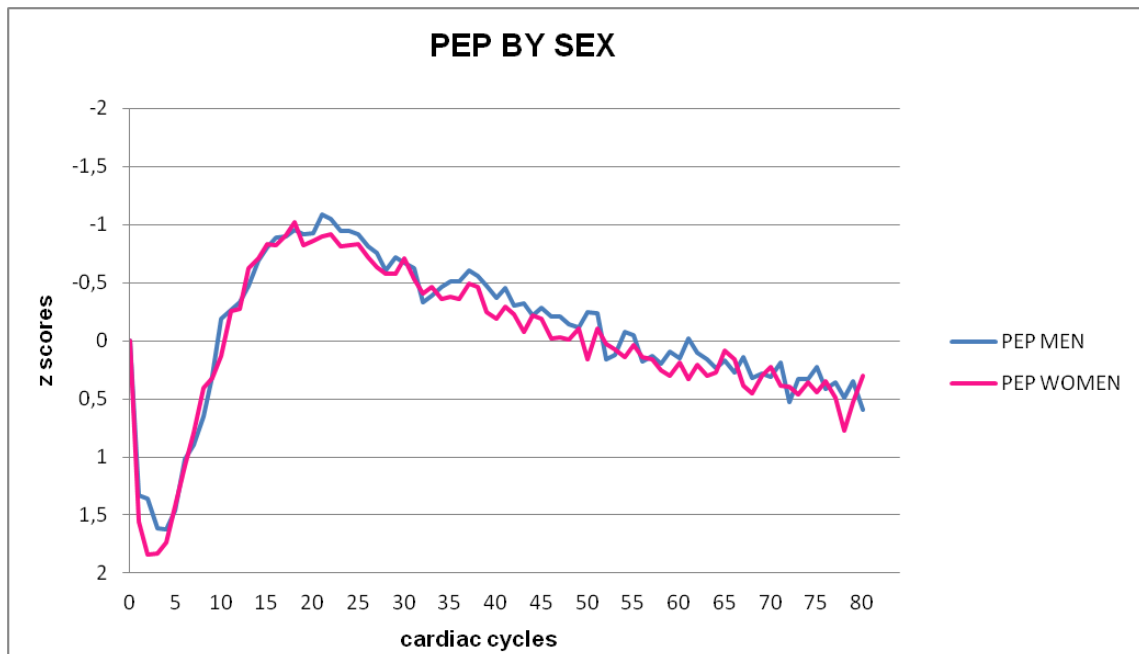


Figure 23. Differences in PEP depending on sex. Note that the vertical axis has been inverted.

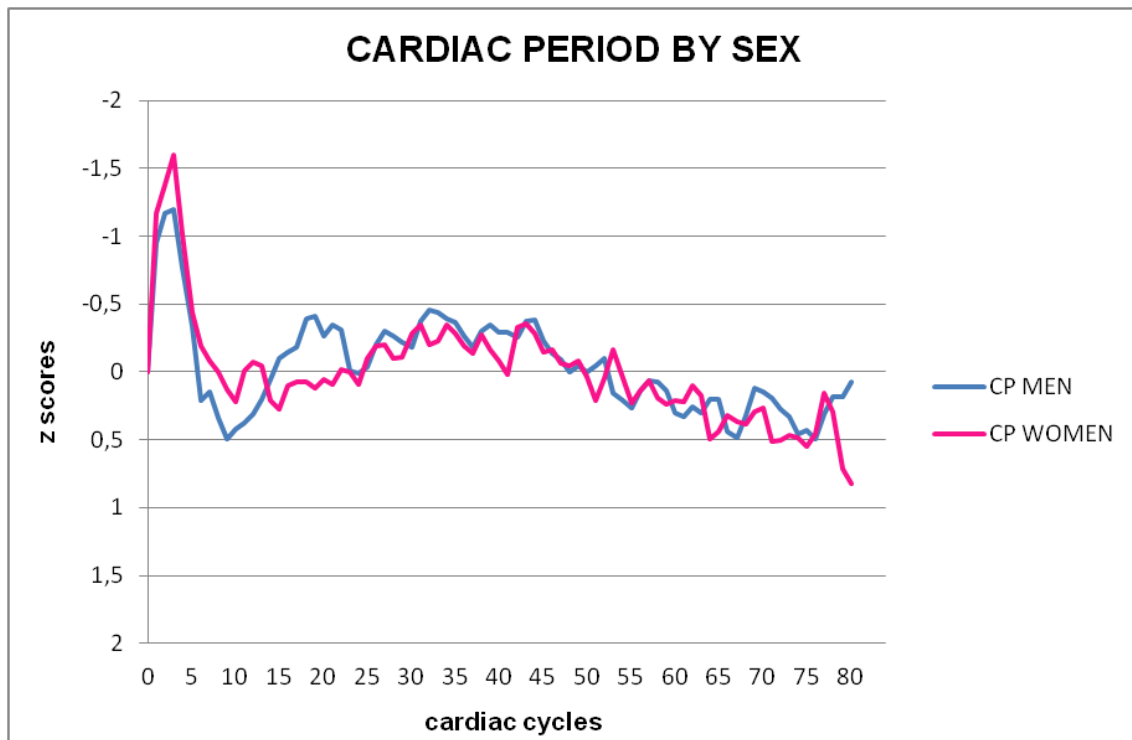


Figure 24. Differences in cardiac period depending on sex. Note that the vertical axis has been inverted.

The analysis of the phasic variations in PEP along cardiac defense reveals three consecutive directional changes in sympathetic activity: a decrease, an increase, and a final progressive decrease. *Figure 25* shows the correspondence of this tri-phasic sympathetic pattern with the four different components of cardiac defense response reflected by cardiac period variations.

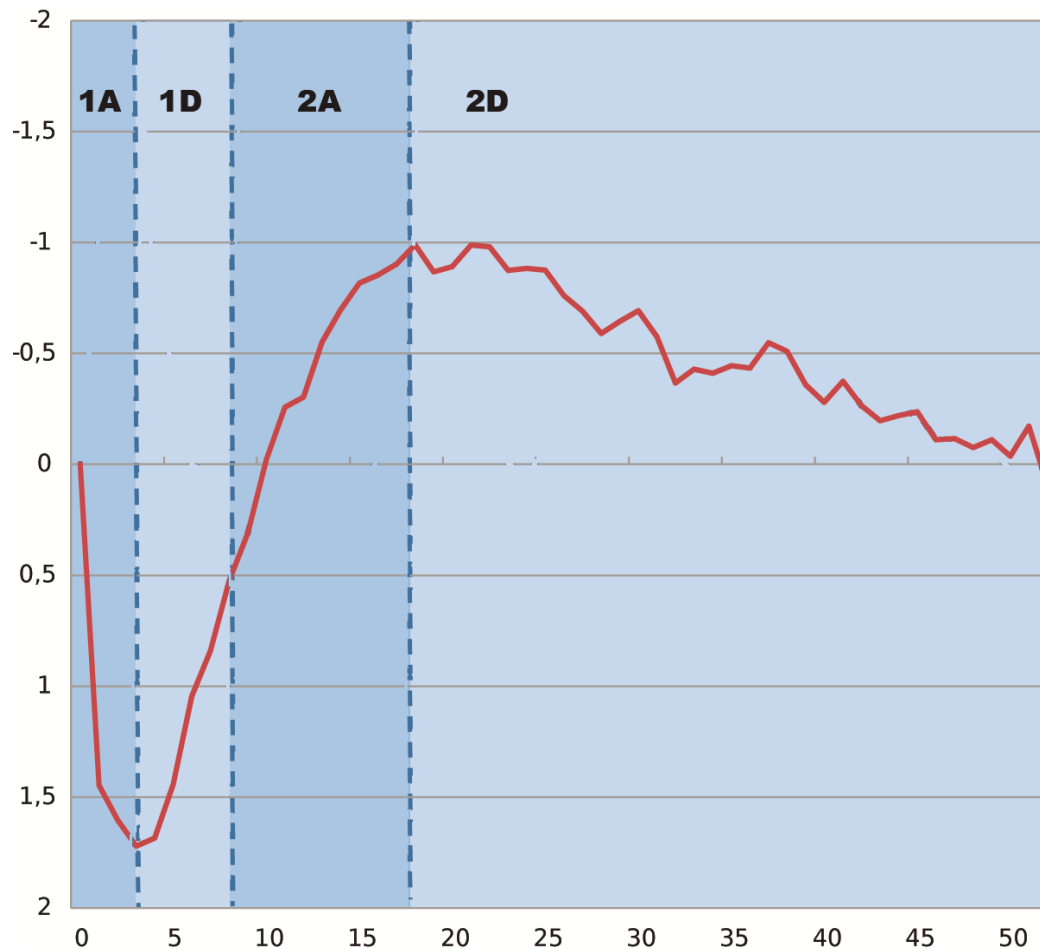


Figure 25. Variations in the sympathetic activity along the four components of CDR. 1A = first acceleration, 1D = first deceleration, 2A = second acceleration, 2D = second deceleration. Note that the vertical axis has been inverted.

5.4. DISCUSSION

The chart of the cardiac period clearly displays the four classic components of the cardiac defense: The first is the first accelerative component that goes from the stimulus onset until the fifth heartbeat; this is immediately followed by a first deceleration that starts in the sixth heartbeat and maintains a decrease in arousal until the tenth heartbeat. Then, there is a second accelerative component (less acute than the first one) that lasts until the forty-fifth heartbeat and finally, the arousal falls progressively along the successive heartbeats (the second deceleration), sinking below the baseline level.

The data show an important increase in the chronotropic activity of the heart along the first five heartbeats after the apparition of the stimulus, depicted by the shortening of the cardiac period. However, it cannot be explained by the influences of the sympathetic branch. Indeed, the activity of the sympathetic pathways on the left

ventricle reflected by the PEP scores falls further than 1.5 standard deviations below the base line level during the first four heartbeats, as the lengthening of the PEP shows. Thus, we are in front of an acute increase in the heart rate, related to a sound cue, that occurs as the activity of the sympathetic pathways operating on the left ventricle is sharply falling. If the other main neurologic mechanism of influence over the heart rate is the parasympathetic system, then it also should suffer high inhibition (even sharper than that experimented by the sympathetic branch) to allow an increase in the heart rate. A strong decrease in the vagal influence that overcomes the sympathetic inhibition observed could explain the results obtained. Nevertheless, we cannot discard the effects of further mechanisms of influence of non-autonomic origin. Regardless, the data reflect the existence of an intense accelerative response non-mediated by the sympathetic nervous system.

Therefore, it would be an error to take the first accelerative component of the cardiac defense response as a marker of sympathetic activation. Instead, it is the second accelerative component that is clearly mediated by concomitant sympathetic influences. Consequently, it becomes the section of the cardiac defense that provides direct information about the positive activation of the beta-adrenergic pathways innervating the heart. This information could not be obtained by monitoring the heart rate (or cardiac period) alone, and it highlights the importance of including specific autonomic indexes in research, particularly when the activity of ANS branches is one of the main interests of the experimental design.

The synchronic register of the electrocardiogram, along with impedance cardiography, has allowed a precise depiction of the topography of the sympathetic mechanisms influencing the cardiac defense response. Hence, the first component is characterized by sympathetic inhibition. The activity of the beta-adrenergic pathways begins to arise with the onset of the second cardiac component. The peak of the sympathetic activity coincides with the half of the third component, but not with the peak of this one. From that peak, the sympathetic activity shows a gradual decrease equal to the fall of the cardiac defense response since the onset of the fourth component.

6. DISCUSIÓN GENERAL

Una de las bases estructurales de la presente tesis es la introducción del PEP como indicador específico de la actividad beta-adrenérgica en el paradigma de la RCD. Si bien es un índice cuyos beneficios y aportes metodológicos han quedado bien definidos (Newlin & Levenson, 1979; Sherwood et al., 1990), aún presenta ciertas cuestiones de fiabilidad no del todo solventadas. La principal fuente de error se refiere a la detección del punto B, uno de los dos marcadores fisiológicos que determinan la duración del índice. El objetivo del primer estudio era analizar de forma sistemática las opciones metodológicas empleadas en el área de la psicofisiología por aquellos investigadores que han utilizado el PEP como variable en sus estudios en los últimos cinco años. La expectativa inicial era aclarar los parámetros más adecuados para calcular el índice, asegurando la menor tasa de error y la mayor efectividad posible. La revisión, lejos de despejar las dudas iniciales, confirmó la fragilidad del punto B como punto de referencia, característica que arrastra desde los estudios iniciales que lo propusieron como marcador (Lababidi et al., 1970; Siegel et al., 1970). Sin embargo, la necesidad de disponer de índices simpáticos no-invasivos, junto con el entusiasmo depositado por algunos autores en las posibilidades de la técnica (e.g. Newlin & Levenson, 1979) y la falta de contundencia de otros al señalar sus limitaciones (e.g. Lababidi et al., 1970), han facilitado una popularización de la misma en el campo de la psicofisiología, resultando evidente su empleo masivo en estudios empíricos, el cual ha crecido exponencialmente en la última década. Por el contrario, resulta comparativamente escaso el volumen de literatura relativa a la evaluación y perfeccionamiento de sus debilidades metodológicas (Berntson et al., 2004).

Esta ausencia de alternativas sólidas y fiables para la estimación del PEP (Lien et al., 2013), unida al miedo a incurrir en fallos metodológicos graves, podrían ser presuntamente las causas principales que llevan a un gran porcentaje de investigadores a obviar determinadas cuestiones procedimentales, omitiendo en sus trabajos información detallada al respecto de los métodos empleados para el cálculo del índice (el 25% de los estudios revisados no informan en absoluto del método empleado y, de entre los que optan por la detección automática, el 69% no especifican el algoritmo empleado), y limitándose a citar los artículos de referencia (i.e. Lababidi et al., 1970; Sherwood et al., 1990; Lozano et al., 2007) como justificativo de la idoneidad metodológica del diseño experimental. Tampoco habría que desestimar como facilitador de este fenómeno la influencia de la falta de información explícita acerca de la eficacia de las distintas opciones metodológicas, lo que presuntamente podría llevar a cualquier investigador a la conclusión de que todos los algoritmos de detección

automática del punto B proporcionan resultados similares, lo que tornaría innecesario el especificar la opción matemática empleada. Sin embargo, la falta de evidencia científica sobre la eficacia de los distintos algoritmos en medios de revisión por pares parece razón suficiente para desechar esta hipótesis.

Con respecto a esta cuestión del aporte de datos empíricos que avalen la utilización de un método automático de detección del punto B, resulta modélico el artículo de Lozano et al. (2007). Dicho trabajo se caracteriza por presentar un método de cálculo automático de PEP de forma transparente, desarrollando en detalle las características de la propuesta matemática y aportando evidencia acerca de su rendimiento con pacientes reales. Seguramente sean estas características las que lo colocan como el método automático más utilizado (75%) entre aquellos investigadores que sí informan del algoritmo empleado en la detección automática. Sin embargo, resulta necesario destacar que se trata de un método indirecto, el cual transforma el intervalo entre el pico R del ECG y el punto C de dZ/dt mediante una ecuación polinómica basada en un análisis de regresión que determina la relación entre el intervalo R-C y R-B. A pesar de los beneficios que plantea, estudios posteriores (van Lien et al., 2014) han aportado datos que sugieren no tomarla como sustitutivo absoluto del método manual de detección del punto B original.

Ante semejante situación, las dudas suscitadas acerca de la fiabilidad de los métodos automáticos de detección justificaron la realización del segundo estudio de esta tesis, cuyo objetivo era comprobar de forma empírica si, tal como se aseguraba en las instrucciones del software, los tres algoritmos analizados presentaban la misma fiabilidad y efectividad de resultados en la detección del punto B.

Los resultados obtenidos inducen a rechazar la hipótesis inicial, presentando los distintos algoritmos niveles muy diferentes de fiabilidad y efectividad. La conclusión es que en ningún caso se puede prescindir del análisis manual para estimar el PEP, si bien la aplicación previa del algoritmo basado en la máxima de la tercera derivada puede reducir significativamente el tiempo dedicado a esta tarea.

La necesidad de edición detallada que conlleva este índice fisiológico pone de manifiesto las ventajas de la utilización del *ensemble average* (Kelsey & Guethlein, 1990) en aquellos casos en los que sea posible. De forma sucinta, el *ensemble average* consiste en realizar el promediado de la señal de los distintos ciclos que van a ser analizados, antes de reducirlos. De esta forma, se antepone el promediado

matemático a la detección de los puntos fisiológicos de interés. Por poner un ejemplo: si el intervalo de interés comprende 60 segundos de registro, en vez de analizar la señal correspondiente a ese lapso de tiempo y posteriormente promediar las puntuaciones de PEP obtenidas, la aplicación de *ensemble average* permite obtener un solo ciclo de la señal de interés, que es el promedio matemático del registro correspondiente a esos 60 segundos. Así, solo será necesario analizar visualmente un ciclo por intervalo de interés promediado. Mediante esta técnica de pre-procesamiento de los datos se reducen de forma importante los ciclos a ser analizados de forma visual, manteniendo de forma suficiente la correspondencia con los datos originales, siempre y cuando se respeten los tiempos mínimos del intervalo a promediar. Kelsey & Guethlein (1990) también demostraron que la correlación entre los resultados obtenidos tras aplicar *ensemble average* con los resultados obtenidos al analizar el mismo registro sin promediar, disminuía drásticamente cuando disminuía el intervalo que se pre-procesaba mediante esta técnica. Así, de una correlación de 0.882 en las medidas cuando el intervalo promediado era de 60 segundos, se pasaba a una correlación de sólo 0.726 cuando el intervalo era de 20 segundos. Sin contar con datos empíricos de los niveles de correlación en el caso de promediar intervalos de duración inferior, no parece metodológicamente apropiado aplicar el *ensemble average* en lapsos de tiempo inferiores a 20 segundos. Esta precaución metodológica sólo es obviada, de entre todos los trabajos revisados en el Estudio 1, en el caso de Paine, Ring, Bosch, McIntyre & Veldhuijzen van Zanten (2013) y Paine et al. (2014), donde aplican el *ensemble average* en intervalos de 10 segundos de duración.

En el caso del estudio aquí presentado (Estudio 3), las características del reflejo empleado como paradigma impedían dicho pre-procesamiento de los datos, puesto que los tres primeros componentes de la RCD se suceden de forma consecutiva en un lapso de tiempo inferior a 20 segundos desde la presentación del estímulo evocador. La utilización del *ensemble average*, por tanto, conllevaría el promediado de la señal relativa a esos 20 segundos con la consecuente obtención de una única puntuación de PEP, la cual comprendería los tres primeros componentes simultáneamente, enmascarando de esta forma los cambios fásicos objeto de estudio.

Debido a la imposibilidad de reducir el volumen de ciclos de registro que debían ser editados de forma manual mediante una técnica contrastada como es el *ensemble average*, la información obtenida en los dos primeros estudios tuvo importantes implicaciones metodológicas para el tercero, ayudando a configurar los parámetros de análisis de forma óptima para aprovechar al máximo los recursos disponibles. De esta

forma, los aproximadamente 10000 ciclos cardiacos incluidos en el análisis del Estudio 3 fueron previamente analizados mediante el algoritmo basado en el máximo de dZ^3/dt^3 .

Aunque posteriormente fueron revisados uno a uno de forma pormenorizada, los datos obtenidos en el Estudio 2 permiten estimar que de estos 10000 ciclos, sólo 2200 necesitaron ser corregidos manualmente, lo que supone unas 27.5 horas estimadas de edición dedicadas a la corrección del emplazamiento del punto B. El beneficio en términos de ahorro de tiempo que han supuesto las conclusiones extraídas del Estudio 2 resulta evidente si comparamos el porcentaje de edición que de forma estimada hubieran requerido cualquiera de los otros dos métodos de detección automática: en torno a 93.75 horas de edición en el caso de emplear el algoritmo 1 y aproximadamente 107.5 horas en el caso del algoritmo 2.

A pesar del significativo beneficio que proporciona el conocer de forma empírica estas diferencias en efectividad, las cifras del algoritmo que presenta un mejor rendimiento (algoritmo 3) aún están lejos de alcanzar un porcentaje aceptable de efectividad, especialmente si las comparamos con la fiabilidad y estabilidad que aparentemente presentan otros marcadores fisiológicos de interés en el área de la psicofisiología cardiovascular (por ejemplo el pico de la onda R en el ECG o el pico de la onda del pulso) a la hora de ser detectados mediante un algoritmo matemático.

A tenor de las conclusiones obtenidas en la revisión de literatura realizada en el Estudio 1, resulta importante incidir en las limitaciones de las técnicas automáticas de detección del punto B, para evitar conclusiones erróneas como la que se desprende del artículo de Hawkins, Stewart, Fitzgerald & Kim (2011), donde afirman que los algoritmos de detección automática (sin especificar cuál) "han demostrado proporcionar estimaciones del PEP más fiables que la identificación visual" (citando a Berntson et al., 2004 y Lozano et al., 2007). Con toda probabilidad, dicha afirmación se deriva de un párrafo de Lozano et al. (2007), donde exponen que en segmentos del registro de ICG "donde la señal esté corrupta o tenga un bajo cociente señal/ruido", la aplicación del algoritmo polinómico "puede resultar más fiable que la detección visual". En cualquier caso, dicha hipótesis (puesto que no va acompañada de datos empíricos verificables) no se deriva de una mayor adecuación del algoritmo para detectar el momento de apertura de la válvula aórtica, si no de la imposibilidad, en esos casos, de realizar la detección visual del punto B. Quizás en determinadas situaciones sea conveniente sacrificar cierto nivel de precisión con respecto a la detección del

momento de apertura real de la válvula aórtica en pos de ganar fiabilidad y estabilidad en las medidas, pero siempre con pleno conocimiento de las limitaciones que conlleva el tomar una u otra decisión.

Tras asegurar el mayor grado de corrección metodológica dentro de las especificaciones de la técnica, la comparación de las variaciones en PEP con respecto al periodo cardiaco confirman los hallazgos previos de Fernández y Vila (1989) y Del Paso, Vila y García (1994), que sugerían descartar las influencias simpáticas en la primera aceleración de la RCD. El elevado número de participantes en el estudio, así como el haber incluido un índice relativamente consolidado del sistema nervioso simpático, ayudan a despejar algunas dudas planteadas en la literatura previa. De los datos obtenidos se deduce que cualquier alteración en el funcionamiento del SNA simpático se verá principalmente reflejada en la segunda aceleración de la RCD, señalándola como el componente de referencia para aquellos estudios orientados a la exploración de la actividad simpática (p. ej., Schalinski et al. (2013)).

A pesar de que han transcurrido casi tres décadas desde la publicación de la teoría del espacio autonómico, sigue siendo frecuente encontrar trabajos donde se infieren los niveles de actividad de las dos ramas vegetativas a partir de la frecuencia cardiaca, asumiendo la relación recíproca entre ambos sistemas autonómicos como la norma en todas las situaciones. Los datos obtenidos en el tercer estudio recomiendan la inclusión de medidas específicas simpáticas, especialmente en preparaciones experimentales donde la manipulación farmacológica de la actividad simpática sea una variable central del diseño (p. ej. Hoge et al., 2011).

La coincidencia de resultados con el trabajo de Fernández y Vila (1989) induce a la reflexión acerca de la dureza de las críticas vertidas durante las últimas décadas sobre la idoneidad de utilizar el TTP como indicador de la actividad simpática. Si bien es innegable que los valores de dicho índice no sólo dependen de factores relacionados con la contractilidad, sino también con el nivel de vasoconstricción, la comparación de los datos de Fernández y Vila (1989) con los obtenidos en el tercer estudio de esta tesis sugieren que, en el caso de la respuesta de defensa cardiaca y con población normal, el TTP puede reflejar las variaciones en el nivel de actividad simpática de forma comparable al PEP, por lo menos en lo que a cambios relativos al nivel basal de actividad se refiere. A esto se añade que los dos marcadores fisiológicos necesarios para calcular el TTP (onda R del ECG y pico de la onda del pulso) presentan menos dificultades en su detección que el punto B necesario para el cálculo del PEP.

A este respecto, revisando uno de los artículos más críticos con la utilización del TTP como indicador de la actividad simpática sobre el corazón (Newlin & Levenson, 1979), nos encontramos con la aserción por parte de los autores de que el PEP es ajeno a los efectos de la presión arterial diastólica. Dicha afirmación está fundamentada, según este artículo, en los resultados de Cousineau et al. (1978), quienes compararon las puntuaciones de PEP en reposo de pacientes con tensión arterial normal con las de pacientes hipertensos. Newlin & Levenson (1979) aseveran que "Cousineau et al. (1978) no encontraron diferencias significativas en PEP entre pacientes con tensión diastólica normal e hipertensos, lo que sugiere que un nivel tónico de poscarga superior no produce un incremento las puntuaciones de PEP". Sin embargo, omiten uno de los hallazgos más importantes y relevantes (para el área que nos ocupa) del estudio de Cousineau et al. (1978): cuando estos autores subdividieron el grupo de hipertensos en hipertensos con concentración elevada de catecolaminas e hipertensos con concentración normal de catecolaminas (similar a los niveles del grupo con tensión diastólica normal), descubrieron que este último subgrupo sí que presentaba puntuaciones de PEP significativamente mayores que las del grupo con tensión normal. Es decir, que un aumento de la tensión diastólica sí derivaba en un aumento del PEP, a no ser que fuera acompañado con un aumento del nivel de catecolaminas, las cuales influyen positivamente en la contractilidad ventricular, lo que deriva en un acortamiento del PEP. Por tanto, no se pueden descartar efectos de influencia de la presión arterial diastólica en el PEP, menos aún utilizando como referencia el estudio de Cousineau et al. (1978). Sin embargo, la omisión cometida por Newlin & Levenson (1979) en su artículo puede favorecer la asunción por la comunidad científica (por lo menos en el área de la psicofisiología) de que dicho índice simpático es independiente del nivel de presión diastólica.

Otra de las conclusiones que se desprenden de la coincidencia con respecto a los resultados obtenidos por Del Paso, Vila & García (1994) es la potencia de los diseños experimentales basados en la manipulación farmacológica, incluso en casos en los que la muestra es extremadamente reducida.

La inclusión en futuros estudios de índices específicos del sistema parasimpático permitirá profundizar en la relación existente entre la actividad de las dos ramas vegetativas en la defensa cardiaca, puesto que con los datos disponibles la actividad vagal sólo puede ser inferida aplicando el modelo tridimensional de Berntson, Cacioppo & Quigley (1991). Asimismo, la exploración de los efectos de modulación

emocional y atencional sobre la actividad simpática permitirá definir de forma más específica sus implicaciones psicológicas. El estudio de los efectos de habituación y deshabituación sobre el PEP permitirá, asimismo, precisar las características metodológicas más apropiadas para el diseño de los paradigmas aplicados.

6.1 CONCLUSIONES

Del Estudio 1 se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- a) El PEP ha alcanzado una gran popularidad como índice puramente simpático, popularidad auspiciada por los avances teóricos que han puesto el acento en la necesidad de evaluar de forma específica la influencia de las distintas ramas del SNA.
- b) El origen de uno de sus marcadores fisiológicos (el punto B), continua sin estar claramente definido y no se ha hallado aún una solución definitiva al problema de fiabilidad que presenta su detección.
- c) Con el objetivo de facilitar la detección del punto B, se han desarrollado una serie de herramientas matemáticas dirigidas a identificarlo de forma automática. Las cuales, a pesar de estar siendo utilizadas de forma masiva, no han sido validadas de forma empírica en trabajos sometidos a revisión por pares (con la excepción del algoritmo de Lozano et al. (2007)).
- d) Existe una omisión generalizada de la información relativa a los parámetros metodológicos empleados para la estimación del PEP, lo que puede acarrear serios problemas de reproducibilidad.

Del Estudio 2 se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- a) Los tres algoritmos analizados presentan datos dispares en cuanto a fiabilidad y eficacia (definida esta última por el nivel de coincidencia con la detección manual), contrariamente a lo que se podía inferir de las instrucciones del software.
- b) El algoritmo basado en la máxima de la tercera derivada de la impedancia presenta el mayor grado de coincidencia con la detección visual (78%), pero no permite prescindir de la edición manual.

c) Resulta desaconsejable la utilización del Algoritmo 2 debido a su alto coeficiente de error y su pobre tasa de coincidencia con la detección manual.

d) Resulta indispensable realizar un trabajo de cuidadosa revisión y edición manual del emplazamiento del punto B en cualquier estudio que incluya estimaciones del PEP.

Del Estudio 3 se pueden extraer las siguientes conclusiones:

a) Las influencias simpáticas en la respuesta cardíaca de defensa se caracterizan por tres componentes bien diferenciados y consecutivos de reactividad fásica: inhibición, activación e inhibición.

b) Los dos primeros componentes de la respuesta cardíaca de defensa resultan antagónicos con la dirección de la actividad simpática concomitante, lo que apoya la hipótesis de predominancia vagal sobre la actividad cronotrópica del corazón.

c) El tiempo de tránsito del pulso refleja de forma similar al PEP las variaciones fásicas de la actividad beta-adrenérgica durante la respuesta cardíaca de defensa.

7. MENCIÓN INTERNACIONAL/INTERNATIONAL PHD

7.1. SUMMARY

The cardiac defense response is a cardiovascular defensive reflex elicited by an unexpected burst of white noise (>100 dB, 500 ms of duration). The reflex is described as a chain of heart rate changes, with a well defined patten of accelerations and decelerations. Specifically, it is compounded by four different and consecutive components: a first acceleration, a first deceleration, a second acceleration, and a second deceleration. The two first components are characterized by having a lower latency, higher intensity, and a higher rise rate. On the other hand, the two latest components display a more progressive and less acute change rate (Vila et al., 2007).

Regarding their psychological correlates, it has been empirically proved that the cardiac defense response can be modulated by both emotional and attentional factors (Ramírez et al., 2010), which stands for their motivational and cognitive implications in the facilitation of the defensive behavior. This feature, along with the methodological guarantees that a defensive reflex paradigm provides, has encouraged its employment in different applied experimental designs. One of the most recent and novel is its application as a clinical assessment tool to detect differential patterns of cardiovascular reactivity in patients with post-traumatic stress disorder (Schalinski, Elbert & Schauer, 2013). The results obtained by these researchers are an open door for the development of this psychophysiological paradigm as a support technique in clinical practice, following the path of Lang & McTeague (2009), who employed the modulation of the startle reflex in the assessment of the anxiety disorders spectrum.

Given that one of the common symptoms of the anxiety disorders cluster is an excessive or deficient physiological reaction to the anxiogenic stimuli (Lang, McTeague & Bradley, 2016), one of the key points in the development of the cardiac defense paradigm is to determine the autonomic influences over the different components of the response. This becomes even more salient talking about a cardiovascular reflex, given that the most popular cardiovascular index in the research field of psychology of emotions is the heart rate (Kreibig, 2010). Despite being this an index that reflects both sympathetic and parasympathetic influences in an undifferentiated way, it is not rare finding studies where the activity of the both vegetative branches is inferred from a phasic variation in the heart rate. This way, a rise in the heart rate is often interpreted as an increase in the sympathetic activity, together with an inhibition in the parasympathetic activity, and vice versa.

Probably, the influence of the work by Cannon (1929), who proposed the reciprocal activity as the only possible way of functioning of the sympathetic and parasympathetic branches, along with the preponderance of this reciprocal mode in some of the paradigmatic reflexes in psychophysiological research (respiratory sinus arrhythmia and baroreceptor reflex), may have helped to the generalization of this model as the only way of autonomic functioning, becoming the prevailing framework so far, despite the existence of contradictory data. At the beginning of the 70s, the first critical papers towards the reciprocity model were published (Obrist et al., 1970), although it was not until the 90s when it was released the first theoretical model that allowed an effective integration of the data that did not fit the prevailing autonomic theoretical framework.

Berntson, Cacioppo & Quigley (1991) proposed the concept of autonomic space as a tridimensional plane, which reflects the level of physiological functional activity of any organ or system. This plane is determined by two independent two-dimensional vectors, which represent the activity of the two branches of the autonomic nervous system: parasympathetic and sympathetic. This theoretical framework widens the scope of the possible configurations of the vegetative system, by adding to the reciprocal mode the possibilities of co-activation, co-inhibition, uncoupled activation, and uncoupled inhibition.

There are two studies that have explored the sympathetic influences in the cardiac defense response. Fernández & Vila (1989) registered the pulse transit time (PTT) together with the cardiac period, finding a negative correlation between both variables in the first accelerative component of the response. This is, while the PTT lengthened (reflecting a decrease in the sympathetic activity), the cardiac period shortened (reflecting a higher level of functional activity of the heart). These results are incompatible with a reciprocal functioning of both vegetative branches, given that following this model, the sympathetic inhibition reflected in the phasic shortening of the PTT should be accompanied by an increase in the vagal activity, which in no way could be translated into the heart rate increase observed along the first component. Five years later, Del Paso, Vila & García (1994) found evidence that supported the lack of correlation between the increase in heart rate along the first component of the cardiac defense response and the sympathetic activity. In this case, the experimental designed was based on the pharmacological blockade of the sympathetic influences in the heart by the administration of metoprolol prior to the experimental session of cardiac defense. The administration of the drug (a beta-adrenergic antagonist) did not have

any modulation effect in the first component of the response, which was reflected in the increase in heart rate. Nonetheless, the authors noted the reduced size of the sample, and recommended caution before generalizing these results. Likewise, Fernández & Vila (1989) also showed moderation in their conclusions, mainly due to the critical revision of some authors (e. g., Newlin & Levenson, 1979) about the PTT, which they did not consider as a "pure" sympathetic index because of it encompasses the arterial transit time, which is sensitive to vasoconstriction and vasodilatation effects and therefore, possible of being affected by parasympathetic influences.

The goal of the current dissertation is to follow the path initiated by Fernández & Vila (1989) and continued by Del Paso, Vila & García (1994), taking in consideration the methodological issues noted in their respective articles. This way, the main aim is trying to trace the sympathetic influences of the cardiac defense in a wide sample of healthy participants, by including a non-invasive sympathetic index that accurately reflects the activity of the beta-adrenergic pathways in the heart. The chosen variable was the pre-ejection period, a systolic time interval with a favorable revision by Newlin & Levenson (1978), which they describe as unaffected to the parasympathetic influences that do affect the PTT.

The pre-ejection period (PEP) is defined as the time interval between the onset of ventricular depolarization and the onset of left-ventricular ejection, determined the late by the opening of the aortic valve. Its estimation by the combination of electrocardiography and impedance cardiography has become widely popular in psychophysiological research since the publication of the methodological guidelines in the journal *Psychophysiology* (Sherwood et al., 1990), standing as one of the most solid non-invasive indexes of ventricular contractility. Nonetheless, the employment of this technique brings some methodological issues not completely solved, which may affect the reliability of the results. Without a shadow of doubt, the issue which generates more reliability problems is the accurate detection of the B point, a notch in the first derivative of the impedance cardiogram, which coincides in time with the aortic valve opening. The methodological guidelines (Sherwood et al., 1990) provide an operationalization for the visual scoring of this physiological marker, but they still allow certain level of subjectivity in the scoring process due to the morphological variability of the wave. Likewise, in the last decade we have witnessed a proliferation of different computerized methods of automatic detection of the B point, which may provide an important technological support when handling with a big volume of data. Paradoxically, except a couple of cases (Lozano et al., 2007; Ono et al., 2004), this

proliferation of mathematical algorithms for B point detection has not been accompanied by its respective empirical validation articles in peer-reviewed journals.

Facing this situation, we decided to launch a systematic literature search of the papers published in the last five years in the main journals of the field (Psychophysiology, Biological Psychology, and International Journal of Psychophysiology), with the aim of exploring the last trends in PEP estimation by impedance cardiography. The results of the revision showed that, of 72 articles that used this technique in their experimental designs, the majority (54.17%) employed an automatic B point detection method. Nevertheless, only 9 papers specified the algorithm employed, citing 7 of them the polynomial method by Lozano et al. (2007).

Due to the lack of information regarding the effectiveness and validity of the different algorithms for B point automatic detection, and with the aim of optimizing the available resources to face the analysis of PEP in the cardiac defense data set, we designed an empirical study to objectively compare the performance of three different algorithms. Algorithm 1 was based in the crossing point of the mean value of dZ/dt for a given cycle. Algorithm 2 placed point B in the maximum of the second derivative of thoracic impedance dZ^2/dt^2 in a time window encompassed between the 150 ms and 100 ms prior the dZ/dt maximum. Algorithm 3 placed the point B in the maximum of the third derivative dZ^3/dt^3 within the 300 ms prior to dZ/dt maximum. The reference to determine the effectiveness of the algorithms was the level of coincidence with the visual detection made by two independent scorers, applying a single blind design. To accomplish this task, we elaborated a novel visual detection guide in the shape of a decision tree based in the methodological guidelines by Sherwood et al. (1990), but taking in consideration as well the information about morphological variability provided by Nagel et al. (1989). Likewise, we also assessed two additional objective parameters to determine the performance of the algorithms: error rate in automatic computing of PEP and abnormal PEP scores (beyond the physiological limits allowable in healthy population).

The same data set of impedance cardiography related to 30 different participants (15 women), were analyzed employing the three algorithms previously described. The results showed a significantly higher level of coincidence of Algorithm 3 with the visual detection made by both scorers, whose independent decisions in B point placement showed likewise a high intraclass correlation coefficient (0.968). Algorithms 1 and 2 showed a much lower level of coincidence with visual detection, standing the late for a

extremely high rate of non-computed cycles due to an error of the algorithm. In practical terms, according to these results, the employment of Algorithm 1 for automatic PEP estimation implies a later manual edition of 75.5% of the analyzed cycles, Algorithm 2 would need manual edition of 86.16% of the cycles, whereas Algorithm 3 would need the manual edition of 21.33% of the cycles. Furthermore, the differences in PEP scores obtained by the different algorithms are statistically significant. These results stand for the importance of the empirical validation of any automatic detection method of physiological markers, as well as point the relevance of specifying in the methods the algorithm employed in case of choosing any of the computer based B point detection methods. The differences obtained in PEP by the different algorithms suggest that, in case of not specifying it, may be found some reproducibility issues not related with the experimental variables of interest, because of the differences in performance when estimating PEP employing these algorithms. Likewise, it is evident the need of unavoidable careful manual edition in PEP estimation by means of impedance cardiography.

The conclusions regarding the methodological procedures in PEP estimation obtained from the two first studies were highly relevant in the psychophysiological data analysis conducted in Study 3. This way, the employment of Algorithm 3 for the automatic detection of B point prior to the manual edition saved about 70 hours of edition work.

In the third study we assessed the cardiac defense response in 100 participants (50 women), by means of electrocardiography and impedance cardiography, analyzing the phasic variations in cardiac period and PEP. The results show a negative correlation of these both variables along the first component of cardiac defense, reflected by a shortening of cardiac period synchronically with the lengthening of PEP. The interpretation of these results within the framework provided by the autonomic space model, translates the respective variations of the two variables as a phasic increase in the functional activity of the heart, coinciding with the inhibition of one of the determining vectors (that of the sympathetic system). This way, following the equation of Berntson, Cacioppo & Quigley (1990) and discarding possible influences of unknown variables, the second determining vector (parasympathetic system) should present a simultaneous strong inhibition to provide the arousal cardiovascular plane registered. This inferred co-inhibition of the two vegetative branches, in the case of similar magnitude of their influence over the chronotropism, would tend to a null the correspondent antagonist effects in the functional activity plane of the heart. However, this functional plane presents a phasic increase, which is compatible with the effects of

parasympathetic inhibition, but contrary to the effects of sympathetic inhibition. From this, it could be inferred a preponderance of the vagal influences in the chronotropic activity of the heart, which would impose their influence over the sympathetic ones. This possible parasympathetic preponderance may also be inferred from the progressive shortening of PEP displayed from the onset of the second component of the cardiac defense response, which is characterized by a decrease in functional overall activity (antagonist to the increase of sympathetic activity reflected in the PEP progression), and even falls below the basal level prior to the stimulus onset.

If we take the phasic variations in PEP as indicator of the sympathetic influences in the cardiac defense response, we can trace a three component sympathetic response: an acute sympathetic inhibition, which reaches its minimum coinciding with the maximum peak of the first heart rate acceleration; followed by a reactivation of the positive beta-adrenergic influence along the second and third components of the cardiac defense response; and ending with a progressive decrease that coincides with the last cardiac deceleration.

These results warn about the inadequacy of indiscriminately inferring the levels of autonomic activity from the phasic variations in heart rate, taking as a referent a model of exclusive reciprocal functioning of the two vegetative branches. The coincidence in the results with the two studies of reference (Del Paso, Vila & García, 1994; Fernández & Vila, 1989) also points at the power of pharmacological blockade designs, as well as stands for a positive consideration of PTT as an index of relative phasic variations in the level of beta-adrenergic activity (at least in the current experimental conditions), suggesting the possibility of attenuating the harsh critics referred to this technique about its suitability as a sympathetic index.

The inclusion in further studies of specific parasympathetic indexes may help to support or reject the hypothesis here proposed about the relations between the two branches of the autonomic nervous system along the cardiac defense response.

7.2 CONCLUSIONS

From Study 1 the following conclusions can be drawn:

- a) The PEP has become a very popular indirect sympathetic index. Its popularity has been encouraged by the theoretical proposals that stress the need to specifically measure the influence of the two different branches of the autonomic nervous system.
- b) The physiological source of one of the PEP's physiological markers (B point) is not well defined yet, and it entails an inherent problem of reliability, which still remains unsolved.
- c) To facilitate the B point detection process, a series of mathematical tools have been developed, with the aim to provide an automatic identification of the marker. Nonetheless, despite being massively employed, these tools have not been empirically validated under peer-reviewed conditions (except the polynomial algorithm of Lozano et al. (2007)).
- d) There is a generalized omission of the information relative to the methodological settings employed for PEP estimation, which may lead to some reproducibility issues.

From the Study 2, the following conclusions can be drawn:

- a) The three analyzed algorithms provide different results in reliability and effectiveness (being the late defined as the level of coincidence with the traditional visual detection method), contrary to what could be inferred from the software specifications.
- b) The algorithm based in the maximum of the third derivative of thoracic impedance provides the highest percentage of coincidence with the visual detection method (78%), but it does not allow to dispense with manual edition.
- c) The employment of Algorithm 2 seems unadvisable, given its high error rate and its poor percentage of coincidence with manual detection.
- d) A careful revision and manual edition process of B point placement seems mandatory when estimating PEP.

From the study 3 the following conclusions may be drawn:

- a) The sympathetic influences in cardiac defense response are characterized by three well defined and consecutive components of phasic reactivity: inhibition, reactivation, and inhibition.
- b) The two first components of the cardiac defense response are antagonist with the synchronic sympathetic activity, which supports the hypothesis of vagal predominance in the chronotropic activity of the heart.
- c) The pulse transit time reflects in a similar way to PEP the phasic variations in the beta-adrenergic activity along the cardiac defense response.

REFERENCIAS

- Alderman, B. L., & Olson, R. L. (2014). The relation of aerobic fitness to cognitive control and heart rate variability: A neurovisceral integration study. *Biological psychology*, 99, 26-33. doi: 10.1016/j.biopsycho.2014.02.007
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, (DSM-5®)*. American Psychiatric Pub.
- Bacon, S. L., Keller, A. J., Lavoie, K. L., & Campbell, T. S. (2010). Comparison of a three-quarter electrode band configuration with a full electrode band configuration for impedance cardiography. *Psychophysiology*, 47(6), 1087-1093. doi: 10.1111/j.1469-8986.2010.01010.x
- Berntson, G. G., Cacioppo, J. T., & Quigley, K. S. (1991). Autonomic determinism: the modes of autonomic control, the doctrine of autonomic space, and the laws of autonomic constraint. *Psychological review*, 98(4), 459. doi: 10.1037/0033-295X.98.4.459
- Berntson, G. G., Cacioppo, J. T., & Quigley, K. S. (1993). Cardiac psychophysiology and autonomic space in humans: empirical perspectives and conceptual implications. *Psychological bulletin*, 114(2), 296.
- Berntson, G. G., Cacioppo, J. T., & Quigley, K. S. (1995). The metrics of cardiac chronotropism: Biometric perspectives. *Psychophysiology*, 32(2), 162-171.
- Berntson, G. G., Cacioppo, J. T., Quigley, K. S., & Fabro, V. T. (1994). Autonomic space and psychophysiological response. *Psychophysiology*, 31(1), 44-61.
- Berntson, G. G., Lozano, D. L., Chen, Y. J., & Cacioppo, J. T. (2004). Where to Q in PEP. *Psychophysiology*, 41(2), 333-337. doi: 10.1111/j.1469-8986.2004.00156.x
- Braeken, M. A. K. A., Jones, A., Otte, R. A., Widjaja, D., Van Huffel, S., Monsieur, G. J. Y. J., van Oirschot, C. M., & Van den Bergh, B. R. H. (2015). Anxious women do not show the expected decrease in cardiovascular stress responsiveness as pregnancy advances. *Biological Psychology*, 111, 83–89. doi:10.1016/j.biopsycho.2015.08.007
- Brenner, S. L., & Beauchaine, T. P. (2011). Pre-ejection period reactivity and psychiatric comorbidity prospectively predict substance use initiation among middle-schoolers: A pilot study. *Psychophysiology*, 48(11), 1588-1596. doi: 10.1111/j.1469-8986.2011.01230.x
- Brinkmann, K., & Franzen, J. (2013). Not everyone's heart contracts to reward: Insensitivity to varying levels of reward in dysphoria. *Biological Psychology*, 94(2), 263-271. doi: 10.1016/j.biopsycho.2013.07.003
- Brydon, L. (2011). Adiposity, leptin and stress reactivity in humans. *Biological psychology*, 86(2), 114-120. doi: 10.1016/j.biopsycho.2010.02.010

- Bylsma, L. M., Yaroslavsky, I., Rottenberg, J., Jennings, J. R., George, C. J., Kiss, E., Kapornai, K., Halas, K., Dochnal, R., Lefkovics, E., Benák, I., Baji, I., Vetró, A., & Kovacs, M. (2015). Juvenile onset depression alters cardiac autonomic balance in response to psychological and physical challenges. *Biological Psychology*, 110, 167–174. doi:10.1016/j.biopsycho.2015.07.003
- Cacioppo, J. T., Tassinary, L. G., & Berntson, G. (Eds.). (2007). *Handbook of psychophysiology*. Cambridge University Press.
- Cannon, W. B. (1927). The James-Lange theory of emotions: A critical examination and an alternative theory. *The American journal of psychology*, 39(1/4), 106-124. doi: 10.2307/1415404
- Cannon, W. B. (1929). Organization for physiological homeostasis. *Physiological Reviews*, 9(3), 399-431.
- Cellini, N., Zambotti, M., Covassin, N., Sarlo, M., & Stegagno, L. (2014). Working memory impairment and cardiovascular hyperarousal in young primary insomniacs. *Psychophysiology*, 51(2), 206-214. doi: 10.1111/psyp.12167
- Chatelain, M., & Gendolla, G. H. (2015). Implicit fear and effort-related cardiac response. *Biological psychology*, 111, 73-82. doi: 10.1016/j.biopsycho.2015.08.009
- Cieslak, M., Ryan, W. S., Macy, A., Kelsey, R. M., Cornick, J. E., Verket, M., Blascovich, J., & Grafton, S. (2015). Simultaneous acquisition of functional magnetic resonance images and impedance cardiography. *Psychophysiology*, 52(4), 481-488. doi: 10.1111/psyp.12385
- Cloutier, J., Norman, G. J., Li, T., & Berntson, G. G. (2013). Person perception and autonomic nervous system response: The costs and benefits of possessing a high social status. *Biological psychology*, 92(2), 301-305. doi: 10.1016/j.biopsycho.2012.09.006
- Clark, C. M., Frye, C. G., Wardle, M. C., Norman, G. J., & Wit, H. (2015). Acute effects of MDMA on autonomic cardiac activity and their relation to subjective prosocial and stimulant effects. *Psychophysiology*, 52(3), 429-435. doi: 10.1111/psyp.12327
- Cousineau, D., Lapointe, L., & de Champlain, J. (1978). Circulating catecholamines and systolic time intervals in normotensive and hypertensive patients with and without left ventricular hypertrophy. *American heart journal*, 96(2), 227-234.
- Covassin, N., de Zambotti, M., Sarlo, M., Tona, G. D. M., Sarasso, S., & Stegagno, L. (2011). Cognitive performance and cardiovascular markers of hyperarousal in primary insomnia. *International Journal of Psychophysiology*, 80(1), 79-86. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2011.02.005

- Covassin, N., Zambotti, M., Cellini, N., Sarlo, M., & Stegagno, L. (2013). Cardiovascular down-regulation in essential hypotension: Relationships with autonomic control and sleep. *Psychophysiology*, 50(8), 767-776. doi: 10.1111/psyp.12055
- de Zambotti, M., Covassin, N., Cellini, N., Sarlo, M., Torre, J., & Stegagno, L. (2012). Hemodynamic and autonomic modifications during sleep stages in young hypotensive women. *Biological Psychology*, 91(1), 22–27. doi:10.1016/j.biopsycho.2012.05.009
- de Zambotti, M., Covassin, N., Cellini, N., Sarlo, M., & Stegagno, L. (2012). Cardiac autonomic profile during rest and working memory load in essential hypotensive women. *International Journal of Psychophysiology*, 85(2), 200-205. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2012.05.002
- de Zambotti, M., Cellini, N., Baker, F. C., Colrain, I. M., Sarlo, M., & Stegagno, L. (2014). Nocturnal cardiac autonomic profile in young primary insomniacs and good sleepers. *International Journal of Psychophysiology*, 93(3), 332-339. doi:10.1016/j.ijpsycho.2014.06.014
- Debski, T. T., Zhang, Y., Jennings, J. R., & Kamarck, T. W. (1993). Stability of cardiac impedance measures: aortic opening (B-point) detection and scoring. *Biological psychology*, 36(1), 63-74. doi: 10.1016/0301-0511(93)90081-I
- Del Paso, G. A. R., & Vila, J. (1998). The continuing problem of incorrect heart rate estimation in psychophysiological studies: An off-line solution for cardiometer users. *Biological Psychology*, 48(3), 269-279.
- Del Paso, G. A. R., Vila, J., & García, A. (1994). Physiological significance of the defense response to intense auditory stimulation: a pharmacological blockade study. *International Journal of Psychophysiology*, 17(2), 181-187.
- Delgado, L. C., Guerra, P., Perakakis, P., Vera, M. N., del Paso, G. R., & Vila, J. (2010). Treating chronic worry: Psychological and physiological effects of a training programme based on mindfulness. *Behaviour Research and Therapy*, 48(9), 873-882.
- Ermishkin, V. V., Kolesnikov, V. A., & Lukoshkova, E. V. (2014). Age-dependent and 'pathologic' changes in ICG waveforms resulting from superposition of pre-ejection and ejection waves. *Physiological measurement*, 35(6), 943. doi:10.1088/0967-3334/35/6/943
- Esteves, F., Parra, C., Dimberg, U., & Öhman, A. (1994). Nonconscious associative learning: Pavlovian conditioning of skin conductance responses to masked fear-relevant facial stimuli. *Psychophysiology*, 31(4), 375-385.
- Fairclough, S. H., & Spiridon, E. (2012). Cardiovascular and electrocortical markers of anger and motivation during a simulated driving task. *International Journal of Psychophysiology*, 84(2), 188–193. doi:10.1016/j.ijpsycho.2012.02.005

- Fernández, M. C., & Vila, J. (1989). Sympathetic-parasympathetic mediation of the cardiac defense response in humans. *Biological Psychology*, 28(2), 123-133.
- Fourie, M. M., Rauch, H. G. L., Morgan, B. E., Ellis, G. F. R., Jordaan, E. R., & Thomas, K. G. F. (2010). Guilt and pride are heartfelt, but not equally so. *Psychophysiology*, 48(7), 888–899. doi:10.1111/j.1469-8986.2010.01157.x
- Franzen, J., & Brinkmann, K. (2015). Blunted cardiovascular reactivity in dysphoria during reward and punishment anticipation. *International Journal of Psychophysiology*, 95(3), 270-277. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2014.11.007
- Freydefont, L., & Gendolla, G. H. (2012). Incentive moderates the impact of implicit anger vs. sadness cues on effort-related cardiac response. *Biological psychology*, 91(1), 120-127. doi: 10.1016/j.biopsycho.2012.04.002
- Freydefont, L., Gendolla, G. H., & Silvestrini, N. (2012). Beyond valence: The differential effect of masked anger and sadness stimuli on effort-related cardiac response. *Psychophysiology*, 49(5), 665-671. doi: 10.1111/j.1469-8986.2011.01340.x
- Friedman, B. H., Stephens, C. L., & Thayer, J. F. (2014). Redundancy analysis of autonomic and self-reported, responses to induced emotions. *Biological Psychology*, 98, 19–28. doi:10.1016/j.biopsycho.2013.12.006
- Gellhorn, E. (1970). The emotions and the ergotropic and trophotropic systems. *Psychologische Forschung*, 34(1), 48-66.
- Gellhorn, E., Cortell, R., & Feldman, J. (1941). The effect of emotion, sham rage and hypothalamic stimulation on the vago-insulin system. *American Journal of Physiology*, 132, 532-541.
- Gilchrist, P. T., & Ditto, B. (2015). Sense of impending doom: Inhibitory activity in waiting blood donors who subsequently experience vasovagal symptoms. *Biological Psychology*, 104, 28–34. doi:10.1016/j.biopsycho.2014.11.006
- Graham, F. K. (1978). Constraints on measuring heart rate and period sequentially through real and cardiac time. *Psychophysiology*, 15(5), 492-495.
- Gravina, R., & Fortino, G. (2016). Automatic methods for the detection of accelerative cardiac defense response. *IEEE Transactions on Affective Computing*, 7(3), 286-298.
- Grewen, K. M., & Light, K. C. (2011). Plasma oxytocin is related to lower cardiovascular and sympathetic reactivity to stress. *Biological Psychology*, 87(3), 340–349. doi:10.1016/j.biopsycho.2011.04.003
- Hawkins, M. A., Stewart, J. C., Fitzgerald, G. J., & Kim, S. (2011). Combined effect of depressive symptoms and hostility on autonomic nervous system function. *International Journal of Psychophysiology*, 81(3), 317-323. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2011.07.018

- Herbert, B. M., Pollatos, O., Flor, H., Enck, P., & Schandry, R. (2010). Cardiac awareness and autonomic cardiac reactivity during emotional picture viewing and mental stress. *Psychophysiology*, 47(2), 342-354. doi: 10.1111/j.1469-8986.2009.00931.x
- Herbert, B. M., Herbert, C., Pollatos, O., Weimer, K., Enck, P., Sauer, H., & Zipfel, S. (2012). Effects of short-term food deprivation on interoceptive awareness, feelings and autonomic cardiac activity. *Biological Psychology*, 89(1), 71–79. doi:10.1016/j.biopsycho.2011.09.004
- Herring, D. R., Burleson, M. H., Roberts, N. A., & Devine, M. J. (2011). Coherent with laughter: Subjective experience, behavior, and physiological responses during amusement and joy. *International Journal of Psychophysiology*, 79(2), 211–218. doi:10.1016/j.ijpsycho.2010.10.007
- Hess, W. R. (1925). *Über die Wechselbeziehungen zwischen psychischen und vegetativen Funktionen*. Orell Füssli.
- Heydari, M., Boutcher, Y. N., & Boutcher, S. H. (2013). The effects of high-intensity intermittent exercise training on cardiovascular response to mental and physical challenge. *International Journal of Psychophysiology*, 87(2), 141–146. doi:10.1016/j.ijpsycho.2012.11.013
- Hirsch, J. A., & Bishop, B. (1981). Respiratory sinus arrhythmia in humans: how breathing pattern modulates heart rate. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 241(4), H620-H629.
- Hoge, E. A., Worthington, J. J., Nagurney, J. T., Chang, Y., Kay, E. B., Feterowski, C. M., ... & Zusman, R. M. (2012). Effect of acute posttrauma propranolol on PTSD outcome and physiological responses during script-driven imagery. *CNS neuroscience & therapeutics*, 18(1), 21-27.
- Hodges, M., Halpern, B. L., Friesinger, G. C., & Dagenais, G. R. (1972). Left ventricular preejection period and ejection time in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 45(5), 933. doi: 10.1161/01.CIR.45.5.933
- Houtveen, J. H., Hamaker, E. L., & Van Doornen, L. J. (2010). Using multilevel path analysis in analyzing 24-h ambulatory physiological recordings applied to medically unexplained symptoms. *Psychophysiology*, 47(3), 570-578. doi: 10.1111/j.1469-8986.2009.00951.x
- James, W. (1884). What is an Emotion? *Mind*, 9(34), 188-205.
- Kelsey, R. M., & Guethlein, W. (1990). An evaluation of the ensemble averaged impedance cardiogram. *Psychophysiology*, 27(1), 24-33. doi: 10.1111/j.1469-8986.1990.tb02173.x
- Kelsey, R. M., Reiff, S., Wiens, S., Schneider, T. R., Mezzacappa, E. S., & Guethlein, W. (1998). The ensemble-averaged impedance cardiogram: An evaluation of scoring

- methods and interrater reliability. *Psychophysiology*, 35(03), 337-340. doi: 10.1017/S0048577298001310
- Kelsey, R. M., Alpert, B. S., Dahmer, M. K., Krushkal, J., & Quasney, M. W. (2010). Beta-adrenergic receptor gene polymorphisms and cardiovascular reactivity to stress in Black adolescents and young adults. *Psychophysiology*, 47(5), 863-873. doi:10.1111/j.1469-8986.2010.01006.x
- Kelsey, R. M., Alpert, B. S., Dahmer, M. K., Krushkal, J., & Quasney, M. W. (2012). Alpha-adrenergic receptor gene polymorphisms and cardiovascular reactivity to stress in Black adolescents and young adults. *Psychophysiology*, 49(3), 401-412. doi:10.1111/j.1469-8986.2011.01319.x
- Kolodyazhniy, V., Kreibig, S. D., Gross, J. J., Roth, W. T., & Wilhelm, F. H. (2011). An affective computing approach to physiological emotion specificity: Toward subject-independent and stimulus-independent classification of film-induced emotions. *Psychophysiology*, 48(7), 908-922. doi:10.1111/j.1469-8986.2010.01170.x
- Kosicki, J., Chen, L. H., Hobbie, R., Patterson, R., & Ackerman, E. (1986). Contributions to the impedance cardiogram waveform. *Annals of biomedical engineering*, 14(1), 67-80.
- Kreibig, S. D., Gendolla, G. H., & Scherer, K. R. (2010). Psychophysiological effects of emotional responding to goal attainment. *Biological psychology*, 84(3), 474-487. doi: 10.1016/j.biopsycho.2009.11.004
- Kreibig, S. D., Gendolla, G. H. E., & Scherer, K. R. (2012). Goal relevance and goal conduciveness appraisals lead to differential autonomic reactivity in emotional responding to performance feedback. *Biological Psychology*, 91(3), 365-375. doi:10.1016/j.biopsycho.2012.08.007
- Kreibig, S. D., Samson, A. C., & Gross, J. J. (2013). The psychophysiology of mixed emotional states. *Psychophysiology*, 50(8), 799-811. doi: 10.1111/psyp.12064
- Kreibig, S. D., Samson, A. C., & Gross, J. J. (2015). The psychophysiology of mixed emotional states: Internal and external replicability analysis of a direct replication study. *Psychophysiology*, 52(7), 873-886. doi: 10.1111/psyp.12425
- Kubicek, W. G. (1989). On the source of peak first time derivative (dZ/dt) during impedance cardiography. *Annals of biomedical engineering*, 17(5), 459-462.
- Kubicek, W. G., Karnegis, J. N., Patterson, R. P., Witsoe, D. A., & Mattson, R. H. (1966). Development and evaluation of an impedance cardiac output system. *Aerospace medicine*, 37(12), 1208-1212.
- Kubicek, W.G., Kinnen, E., Patterson, R.P., & Witsoe, D.A. (1967). *U.S. Patent No. 3340867*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Kubicek, W. G., Patterson, R. P., & Witsoe, D. A. (1970). Impedance cardiography as a noninvasive method of monitoring cardiac function and other parameters of the

- cardiovascular system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 170(2), 724-732. doi:10.1111/j.1749-6632.1970.tb17735.x
- Kubzansky, L. D., Mendes, W. B., Appleton, A. A., Block, J., & Adler, G. K. (2012). A heartfelt response: Oxytocin effects on response to social stress in men and women. *Biological Psychology*, 90(1), 1–9. doi:10.1016/j.biopsycho.2012.02.010
- Kupper, N., Pelle, A., & Denollet, J. (2013). Association of Type D personality with the autonomic and hemodynamic response to the cold pressor test. *Psychophysiology*, 50(12), 1194-1201. doi: 10.1111/psyp.12133
- Lababidi, Z., Ehmke, D. A., Durnin, R. E., Leaverton, P. E., & Lauer, R. M. (1970). The first derivative thoracic impedance cardiogram. *Circulation*, 41(4), 651. doi: 10.1161/01.CIR.41.4.651
- Lang, P. J., Bradley, M. M., & Cuthbert, B. N. (1990). Emotion, attention, and the startle reflex. *Psychological review*, 97(3), 377.
- Lang, P. J., Greenwald, M. K., Bradley, M. M., & Hamm, A. O. (1993). Looking at pictures: Affective, facial, visceral, and behavioral reactions. *Psychophysiology*, 30(3), 261-273.
- Lang, P. J. & McTeague, L. M. (2009). The anxiety disorder spectrum: Fear imagery, physiological reactivity, and differential diagnosis. *Anxiety, Stress & Coping: An International Journal*, 22(1), 5-25. doi: 10.1080/10615800802478247
- Lang, P. J., McTeague, L. M., y Bradley, M. M. (2016). RDoC, DSM, and the reflex physiology of fear: A bi-dimensional analysis of the anxiety disorders spectrum. *Psychophysiology*, 53, 336-347.
- Langley, J. N. (1921). *The autonomic nervous system*. Cambridge, England: Heffler & Sons.
- Lindgren, M., Alex, C., Shapiro, P. A., McKinley, P. S., Brondolo, E. N., Myers, M. M., Choi, C. J., Lopez-Pintado, S., & Sloan, R. P. (2013). Effects of aerobic conditioning on cardiovascular sympathetic response to and recovery from challenge. *Psychophysiology*, 50(10), 963-973. doi: 10.1111/psyp.12078
- López, R., Poy, R., Pastor, M. C., Segarra, P., & Moltó, J. (2009). Cardiac defense response as a predictor of fear learning. *International Journal of Psychophysiology*, 74(3), 229-235.
- Lozano, D. L., Norman, G., Knox, D., Wood, B. L., Miller, B. D., Emery, C. F., & Berntson, G. G. (2007). Where to B in dZ/dt. *Psychophysiology*, 44(1), 113-119. doi: 10.1111/j.1469-8986.2006.00468.x
- Mauss, I. B., & Butler, E. A. (2010). Cultural context moderates the relationship between emotion control values and cardiovascular challenge versus threat responses. *Biological Psychology*, 84(3), 521–530. doi: 10.1016/j.biopsycho.2009.09.010
- Miller, J. C., & Horvath, S. M. (1978). Impedance cardiography. *Psychophysiology*, 15(1), 80-91.

- Muñoz, L. C., & Anastassiou-Hadjicharalambous, X. (2011). Disinhibited behaviors in young children: Relations with impulsivity and autonomic psychophysiology. *Biological psychology*, 86(3), 349-359. doi:10.1016/j.biopsycho.2011.01.007
- Nagel, J. H., Shyu, L. Y., Reddy, S. P., Hurwitz, B. E., McCabe, P. M., & Schneiderman, N. (1989). New signal processing techniques for improved precision of noninvasive impedance cardiography. *Annals of Biomedical Engineering*, 17(5), 517-534. doi: 10.1007/BF02368071
- Nagy, T., van Lien, R., Willemsen, G., Proctor, G., Efting, M., Fülöp, M., Bárdos, G., Veerman, E. C. I., & Bosch, J. A. (2015). A fluid response: Alpha-amylase reactions to acute laboratory stress are related to sample timing and saliva flow rate. *Biological psychology*, 109, 111-119. doi: 10.1016/j.biopsycho.2015.04.012
- Neblett, E. W., & Roberts, S. O. (2013). Racial identity and autonomic responses to racial discrimination. *Psychophysiology*, 50(10), 943-953. doi: 10.1111/psyp.12087
- Newlin, D. B., & Levenson, R. W. (1979). Pre-ejection Period: Measuring Beta-adrenergic Influences Upon the Heart. *Psychophysiology*, 16(6), 546-552.
- Noriega-Borge, M. J., & Merino-Pérez, J. (2010). *Fisiología General*. Consultado en noviembre de 2016, en OCW Universidad de Cantabria Web site: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologia-general>.
- Norman, G. J., Cacioppo, J. T., Morris, J. S., Malarkey, W. B., Berntson, G. G., & DeVries, A. C. (2011). Oxytocin increases autonomic cardiac control: moderation by loneliness. *Biological psychology*, 86(3), 174-180. doi: 10.1016/j.biopsycho.2010.11.006
- Nyklíček, I., Vorselaars, A., & Denollet, J. (2011). Type D personality and cardiovascular function in daily life of people without documented cardiovascular disease. *International Journal of Psychophysiology*, 80(2), 139-142. doi:10.1016/j.ijpsycho.2011.02.014
- Obrist, P. A., Webb, R. A., Sutterer, J. R., & Howard, J. L. (1970). The cardiac-somatic relationship: some reformulations. *Psychophysiology*, 6(5), 569-587.
- Öhman, A., & Soares, J. J. (1994). "Unconscious anxiety": Phobic responses to masked stimuli. *Journal of abnormal psychology*, 103(2), 231.
- Ono, T., Miyamura, M., Yasuda, Y., Ito, T., Saito, T., Ishiguro, T., Yoshizawa, M. & Yambe, T. (2004). Beat-to-beat evaluation of systolic time intervals during bicycle exercise using impedance cardiography. *The Tohoku journal of experimental medicine*, 203(1), 17-29. doi:10.1620/tjem.203.17
- Paine, N. J., Ring, C., Bosch, J. A., McIntyre, D., & Veldhuijzen van Zanten, J. J. (2013). The effect of acute mental stress on limb vasodilation is unrelated to total peripheral resistance. *Psychophysiology*, 50(7), 680-690. doi: 10.1111/psyp.12054
- Paine, N. J., Ring, C., Bosch, J. A., Drayson, M. T., Aldred, S., & Veldhuijzen van Zanten, J. J. C. S. (2014). Vaccine-induced inflammation attenuates the vascular responses to

- mental stress. *International Journal of Psychophysiology*, 93(3), 340–348. doi:10.1016/j.ijpsycho.2014.06.016
- Patterson, R. P. (1989). Fundamentals of impedance cardiography. *IEEE Engineering in Medicine and Biology magazine*, 8(1), 35-38.
- Pavlov, I. P. (1927). *Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*.
- Pérez, M. N., Fernández, M. D. C., Vila, J., & Turpin, G. (2000). Cognitive and emotional modulation of the cardiac defense response in humans. *Psychophysiology*, 37(03), 275-282.
- Peters, B. J., Overall, N. C., & Jamieson, J. P. (2014). Physiological and cognitive consequences of suppressing and expressing emotion in dyadic interactions. *International Journal of Psychophysiology*, 94(1), 100–107. doi:10.1016/j.ijpsycho.2014.07.015
- Plourde, A., Lavoie, K. L., Ouellet, K., Carroll, D., Ring, C., & Bacon, S. L. (2013). Hemodynamic, hemostatic, and endothelial reactions to acute psychological stress in depressed patients following coronary angiography. *Psychophysiology*, 50(8), 790-798. doi: 10.1111/psyp.12059
- Quas, J. A., Yim, I. S., Rush, E., & Sumaroka, M. (2012). Hypothalamic pituitary adrenal axis and sympathetic activation: Joint predictors of memory in children, adolescents, and adults. *Biological psychology*, 89(2), 335-341. doi: 10.1016/j.biopsycho.2011.11.006
- Ramírez, I., Sánchez, M. B., Fernández, M. C., Lipp, O. V. and Vila, J. (2005), Differentiation between protective reflexes: Cardiac defense and startle. *Psychophysiology*, 42(6), 732–739. doi:10.1111/j.1469-8986.2005.00362.x
- Ramírez, I., Guerra, P., Muñoz, M. á., Perakakis, P., Anllo-Vento, L. and Vila, J. (2010), The dynamics of cardiac defense: From attention to action. *Psychophysiology*, 47(5), 879–887. doi:10.1111/j.1469-8986.2010.01008.x
- Richards, M., & Eves, F. F. (1991). Personality, temperament and the cardiac defense response. *Personality and Individual Differences*, 12(10), 999-1007.
- Richter, M. (2010). Pay attention to your manipulation checks! Reward impact on cardiac reactivity is moderated by task context. *Biological Psychology*, 84(2), 279-289. doi:10.1016/j.biopsycho.2010.02.014
- Richter, M., Baeriswyl, E., & Roets, A. (2012). Personality effects on cardiovascular reactivity: Need for closure moderates the impact of task difficulty on engagement-related myocardial beta-adrenergic activity. *Psychophysiology*, 49(5), 704-707. doi: 10.1111/j.1469-8986.2011.01350.x

- Richter, M., & Knappe, K. (2014). Mood impact on effort-related cardiovascular reactivity depends on task context: Evidence from a task with an unfixed performance standard. *International Journal of Psychophysiology*, 93(2), 227-234. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2014.05.002
- Riese, H., Groot, P. F., van den Berg, M., Kupper, N. H., Magnee, E. H., Rohaan, E. J., Vrijotte, T. G. M., Willemsen, G., & de Geus, E. J. (2003). Large-scale ensemble averaging of ambulatory impedance cardiograms. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 35(3), 467-477. doi: 10.3758/BF03195525
- Ruiz-Padial, E., Mata, J. L., Rodríguez, S., Fernández, M. C., & Vila, J. (2005). Non-conscious modulation of cardiac defense by masked phobic pictures. *International Journal of Psychophysiology*, 56(3), 271-281.
- Sáiz, M. (2009). *Historia de la psicología*. Editorial UOC: Barcelona.
- Salomon, K., Bylsma, L. M., White, K. E., Panaite, V., & Rottenberg, J. (2013). Is blunted cardiovascular reactivity in depression mood-state dependent? A comparison of major depressive disorder remitted depression and healthy controls. *International Journal of Psychophysiology*, 90(1), 50–57. doi:10.1016/j.ijpsycho.2013.05.018
- Sánchez-Navarro, J. P., Martínez-Selva, J. M., Torrente, G., Pineda, S., Murcia-Liarte, J. B., & Carrillo-Verdejo, E. (2012). Preattentive processing of feared stimuli in blood–injection–injury fearful subjects. *International Journal of Psychophysiology*, 84(1), 95-101.
- Sauder, K. A., Johnston, E. R., Skulas-Ray, A. C., Campbell, T. S., & West, S. G. (2012). Effect of meal content on heart rate variability and cardiovascular reactivity to mental stress. *Psychophysiology*, 49(4), 470-477. doi: 10.1111/j.1469-8986.2011.01335.x
- Schachter, S., & Singer, J. (1962). Cognitive, social, and physiological determinants of emotional state. *Psychological review*, 69(5), 379-399.
- Schalinski, I., Elbert, T. R., & Schauer, M. (2013). Cardiac defense in response to imminent threat in women with multiple trauma and severe PTSD. *Psychophysiology*, 50(7), 691-700.
- Seery, M. D., Weisbuch, M., Hetenyi, M. A., & Blascovich, J. (2010). Cardiovascular measures independently predict performance in a university course. *Psychophysiology*, 47(3), 535-539. doi: 10.1111/j.1469-8986.2009.00945.x
- Seligman, M. E., & Maier, S. F. (1967). Failure to escape traumatic shock. *Journal of experimental psychology*, 74(1), 1.
- Sherwood, A., Allen, M. T., Fahrenberg, J., Kelsey, R. M., Lovallo, W. R., & van Dooren, L. J. (1990). Methodological guidelines for impedance cardiography. *Psychophysiology*, 27(1), 1. doi:10.1111/j.1469-8986.1990.tb02171.x

- Shrout, P. E., & Fleiss, J. L. (1979). Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. *Psychological bulletin*, 86(2), 420. doi: 10.1037/0033-2909.86.2.420
- Siegel, J. H., Fabian, M., Lankau, C., Levine, M., Cole, A., & Nahmad, M. (1970). Clinical and experimental use of thoracic impedance plethysmography in quantifying myocardial contractility. *Surgery*, 67(6), 907-917.
- Siegel, J. H., Greenspan, M., & Del Guercio, L. R. (1967). Abnormal vascular tone, defective oxygen transport and myocardial failure in human septic shock. *Annals of surgery*, 165(4), 504.
- Sijtsema, J. J., Van Roon, A. M., Groot, P. F. C., & Riese, H. (2015). Early life adversities and adolescent antisocial behavior: The role of cardiac autonomic nervous system reactivity in the TRAILS study. *Biological psychology*, 110, 24-33. doi: 10.1016/j.biopsycho.2015.06.012
- Silvestrini, N., & Gendolla, G. H. E. (2011). Masked affective stimuli moderate task difficulty effects on effort-related cardiovascular response. *Psychophysiology*, 48(8), 1157–1164. doi:10.1111/j.1469-8986.2011.01181.x
- Silvestrini, N., & Gendolla, G. H. (2011). Beta-adrenergic impact underlies the effect of mood and hedonic instrumentality on effort-related cardiovascular response. *Biological psychology*, 87(2), 209-217. doi: 10.1016/j.biopsycho.2011.02.017
- Silvia, P. J., Beaty, R. E., Nusbaum, E. C., Eddington, K. M., & Kwapil, T. R. (2014). Creative motivation: Creative achievement predicts cardiac autonomic markers of effort during divergent thinking. *Biological psychology*, 102, 30-37. doi: 10.1016/j.biopsycho.2014.07.010
- Silvia, P. J., Eddington, K. M., Beaty, R. E., Nusbaum, E. C., & Kwapil, T. R. (2013). Gritty people try harder: Grit and effort-related cardiac autonomic activity during an active coping challenge. *International Journal of Psychophysiology*, 88(2), 200-205. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2013.04.007
- Singh, K., & Shen, B.-J. (2013). Abdominal obesity and chronic stress interact to predict blunted cardiovascular reactivity. *International Journal of Psychophysiology*, 90(1), 73–79. doi:10.1016/j.ijpsycho.2013.03.010
- Sokolov, E. N. (1963). Higher nervous functions: The orienting reflex. *Annual review of physiology*, 25(1), 545-580.
- Sosnowski, T., Sobota, A., & Rynkiewicz, A. (2012). Program running versus problem solving: Two patterns of cardiac response. *International Journal of Psychophysiology*, 86(2), 187-193. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2012.09.004
- Spangler, D. P., & Friedman, B. H. (2015). Effortful control and resiliency exhibit different patterns of cardiac autonomic control. *International Journal of Psychophysiology*, 96(2), 95-103. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2015.03.002

- Stephens, C. L., Christie, I. C., & Friedman, B. H. (2010). Autonomic specificity of basic emotions: Evidence from pattern classification and cluster analysis. *Biological Psychology*, 84(3), 463–473. doi:10.1016/j.biopsycho.2010.03.014
- Tollenaar, M. S., Elzinga, B. M., Spinhoven, P., & Everaerd, W. (2009). Psychophysiological responding to emotional memories in healthy young men after cortisol and propranolol administration. *Psychopharmacology*, 203(4), 793-803.
- Turner, M. J., Jones, M. V., Sheffield, D., & Cross, S. L. (2012). Cardiovascular indices of challenge and threat states predict competitive performance. *International Journal of Psychophysiology*, 86(1), 48–57. doi:10.1016/j.ijpsycho.2012.08.004
- Turner, M. J., Jones, M. V., Sheffield, D., Barker, J. B., & Coffee, P. (2014). Manipulating cardiovascular indices of challenge and threat using resource appraisals. *International Journal of Psychophysiology*, 94(1), 9–18. doi:10.1016/j.ijpsycho.2014.07.004
- Turpin, G., Schaefer, F. and Boucsein, W. (1999), Effects of stimulus intensity, risetime, and duration on autonomic and behavioral responding: Implications for the differentiation of orienting, startle, and defense responses. *Psychophysiology*, 36(4), 453–463. doi:10.1111/1469-8986.3640453
- van Lien, R., Neijts, M., Willemsen, G., & de Geus, E. J. (2015). Ambulatory measurement of the ECG T-wave amplitude. *Psychophysiology*, 52(2), 225-237. doi: 10.1111/psyp.12300
- van Lien, R., Schutte, N. M., Meijer, J. H., & de Geus, E. J. (2013). Estimated preejection period (PEP) based on the detection of the R-wave and dZ/dt-min peaks does not adequately reflect the actual PEP across a wide range of laboratory and ambulatory conditions. *International Journal of Psychophysiology*, 87(1), 60-69. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2012.11.001
- Vila, J., Guerra, P., Muñoz, M. A., Perakakis, P., Delgado, L. C., Figueroa, M., & Mohamed, S. (2009). La dinámica del miedo: la cascada defensiva. *Escritos de Psicología*, 3(1), 37-42.
- Vila, J., Guerra, P., Muñoz, M. Á., Vico, C., Viedma-del Jesús, M. I., Delgado, L. C., ... & Rodríguez, S. (2007). Cardiac defense: From attention to action. *International Journal of Psychophysiology*, 66(3), 169-182.
- Weissler, A. M., Harris, W. S., & Schoenfeld, C. D. (1968). Systolic time intervals in heart failure in man. *Circulation*, 37(2), 149-159. doi: 10.1161/01.CIR.37.2.149
- Wit, F. R., Scheepers, D., & Jehn, K. A. (2012). Cardiovascular reactivity and resistance to opposing viewpoints during intragroup conflict. *Psychophysiology*, 49(11), 1691-1699. doi:10.1111/j.1469-8986.2012.01456.x

Zhou, T., & Bishop, G. D. (2012). Culture moderates the cardiovascular consequences of anger regulation strategy. *International Journal of Psychophysiology*, 86(3), 291–298. doi:10.1016/j.ijpsycho.2012.10.010