



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS DEL CONDICIONAMIENTO DE LA CONTRACTILIDAD
DEL MIOCARDIO DE RANA PRODUCIDO POR SISTOLES MUY
PROXIMAS.

T E S I S

Que para obtener el Título de

B I O L O G A

P r e s e n t a

GERTRUDIS HORTENCIA GONZALEZ GOMEZ



México, D. F.

Noviembre 1984



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

' ... Pensemos, por ejemplo, en las pirámides construidas por los gobernantes egipcios, cada una de ellas mayor que la anterior; nada nos indican del tipo de vida que proporcionaban a los esclavos que las construyeron con la fuerza de sus brazos. Del mismo modo, las maravillosas ciudades romanas, eran mantenidas por esclavos que circulaban en los túneles subterráneos. Sabemos claramente que estos proyectos estaban basados en la dominación y en la explotación de miles de hombres y mujeres.

Hoy, en el mundo capitalista contemporáneo, la filosofía del desenfrenado y necesario avance de la tecnología, tiene idéntico propósito. El bulldozer del progreso constituye un aparato global de dominación para la optimización de las ganancias, que combina la imposición de las proezas técnicas con el control ideológico.

Por eso es necesario cambiar de rumbo.

Conducirnos a un nivel diferente del que Europa y sus herederos han manifestado, es preciso entonces inventar, es preciso: descubrir ... '



La rana

*Salta de vez en cuando
sólo para comprobar su radical
estático*

*el salto tiene algo de latido
viéndolo bien, ... es todo corazón.*

***Análisis del condicionamiento de la
contractilidad del miocardio de rana
producido por sístoles muy próximas***

CONTENIDO

	Página
1. ASPECTOS GENERALES DE LA FUNCIONALIDAD CARDIACA	
1.1 Características estructurales del miocardio de rana	1
1.2 Resumen del ciclo funcional cardíaco	3
1.3 Determinantes del comportamiento cardíaco	6
1.4 El corazón como bomba	13
2. ELECTROFISIOLOGIA	
2.1 Potencial de membrana y potencial de acción	18
2.2 Modificaciones del potencial de acción por cambios en el patrón de estimulación	39
3. ACOMPLAMIENTO EXCITACION-CONTRACCION	57
4. EL CORAZON COMO MUSCULO	70
5. EL CONCEPTO DE CONTRACTILIDAD CARDIACA	83
6. CONDICIONAMIENTO DE LA CONTRACTILIDAD POR ACTIVIDAD PREVIA	90
7. DESCRIPCION FORMAL Y PREDICCION DE LOS FENOMENOS DE MEMORIA INOTROPICA EN EL MIOCARDIO	106
8. FENOMENOS DE MEMORIA PARA SISTOLES INTERCALADAS Y MUY PROXIMAS ENTRE SI	115
9. MATERIAL Y METODOS	121

10. RESULTADOS	
10.1 Curva de efecto inotrópico para intervalos breves.	130
10.2 Cambio de la tasa de desarrollo de fuerza asociado a la curva de efecto inotrópico para intervalos breves.	137
10.3 Descripción del curso temporal de contracciones 'netas' cuando hay sumación	145
10.4 Estimación de la fuerza neta desarrollada en caso de fusión parcial	151
10.5 Expresión de la potenciación a través de la curva Velocidad-Carga.	151
10.6 Sumación de contracciones a la luz del modelo de HILL y una hipótesis adicional simple.	158
10.7 Simulación de contracciones parcialmente sumadas incluyendo hipótesis adicionales.	162
11. DISCUSION GENERAL	166
12. REFERENCIAS	172

***Aspectos Generales de la
Funcionalidad Cardíaca***

1. ASPECTOS GENERALES DE LA FUNCIONALIDAD CARDIACA

1.1 CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES DEL MIOCARDIO DE RANA

Los anfibios se caracterizan por tener una doble circulación pese a poseer un corazón tricavitario, esto es con un ventrículo no dividido pero que en su interior intercala muchas bandas musculares que en gran medida mantienen separados los dos flujos sanguíneos; además un arreglo de cuerdas tendinosas sujetas a las válvulas atrioventriculares evita que la sangre sea regresada cuando el ventrículo se contrae.

Si se le mira desde su superficie interna, el músculo ventricular tiene una apariencia esponjosa, que se debe precisamente a la abundancia de pequeñas fisuras entre las bandas musculares que se ramifican e interconectan en una red compleja. Cada banda muscular o trabécula está limitada por una sola capa de células endoteliales, cuya membrana basal es continua (165) y su tamaño varía considerablemente, así como su forma. Sólo las más pequeñas tienen una sección circular, el resto son acintadas. Como consecuencia de esta irregularidad se observa que el diámetro menor de las bandas rara vez excede las 50 o 60 μm .

La pared muscular no contiene vasos capilares y la perfusión a las células se produce aparentemente mediante las fisuras, o sea, a través de la capa endotelial de cada trabécula, que como se indicó, por la irregularidad de sus formas reducen las distancias de difusión, la cual no rebasa los 25 μm .

Entre el endotelio y la membrana celular de cada fibra hay un espacio en el que pueden encontrarse fibras de colágena, nerviosas y a veces macrófagos o fibroblastos y aunque en el espacio subendocárdico la colágena es escasa, en el espacio subepicárdico es abundante. Las fibras nerviosas que llegan al tejido ventricular son básicamente simpáticas y se ha observado que al estimularlas se produce un aumento en la frecuencia cardíaca; en menor proporción pueden hallarse fibras parasimpáticas con la función antagónica (165) (135).

Las trabéculas junto con su cubierta endotelial miden de 10 a 50 μm , y contienen entre 10 y 15 células musculares separadas entre sí por hendiduras limitadas por una membrana continua que se comunica con el sarcolema que envuelve todo un haz (135). La abundancia de estas hendiduras determina que el diámetro de las células sea relativamente pequeño (1 a 5 μm), y a la vez constituye una verdadera frontera entre las células adyacentes. Este carácter, junto con la ausencia de una membrana basal bien definida, la frecuencia de desmosomas a lo largo del sarcolema y los estrechamientos que aparecen, sugieren la existencia de uniones de baja resistencia eléctrica a través de las cuales puede propagarse la excitación (3). Por otro lado se ha visto que en el corazón de rana aparecen aposi-

ciones celulares del tipo llamado FASCIA ADHERENS, de estructura variada que constituyen los DISCOS INTERCALADOS que establecen la unión entre dos células extremo con extremo (150).

Sólo se distingue una población de fibras contráctiles con una composición y arreglo general similar al de las células musculares esqueléticas, pero estas células carecen de TUBULOS TRANSVERSOS y el RETICULO SARCOPLASMICO (RS) es muy escaso, pues se reduce casi en su totalidad a vesículas pequeñas aisladas y espaciadas por toda la célula, sin relación obvia con su topografía. Sin embargo, PAGE y NIEDERGERKE (155) reportan haber encontrado cierta regularidad en el arreglo del RS, por ejemplo: observaron que la mayor proporción de túbulos está orientada transversalmente a nivel de la línea Z a la que rodean hasta en un 60%; así como que algunos túbulos se distribuyen longitudinalmente en varias porciones del sarcómero, aunque son siempre muy cortos. También señalan la asociación de vesículas terminales de estos túbulos con la membrana celular, donde forman estructuras discoidales especialmente a nivel de la banda I, estas estructuras pudieron observarlas en un 75% de las miofibrillas superficiales.

De cualquier modo, el volúmen de RS representaría alrededor de un 0.5% del volúmen celular formado por 0.2% de túbulos transversales, 0.1% de longitudinales y 0.2% de terminales. Lo que sugiere que juegan un papel menos significativo que en el músculo esquelético.

En cambio, en mamíferos y aves el RS está mucho más definido y rodea a las miofibrillas en niveles distintos del de la línea Z, presenta túbulos transversos sin comunicación directa con el RS, y uniones con el sarcolema en diferentes puntos, LO CUAL CONSTITUYE UNA DIFERENCIA CON SIGNIFICACION FISIOLOGICA MUY GRANDE.

El núcleo de las células cardíacas es muy grande y contiene nucleolos muy notorios; la envoltura nuclear es porosa y en uno de sus polos se observa el aparato de Golgi. El espacio intermiofibrilar está ocupado por abundantes mitocondrias, en mayor proporción que en el músculo esquelético, y de forma elíptica.

Todas estas características son importantes para explicar el acoplamiento excitación-contracción en el corazón de rana, pues a diferencia de lo que ocurre en el músculo esquelético y en el miocardio de mamífero, la señal eléctrica no se distribuye transversalmente al interior de la célula, porque no hay TUBULOS T. Así que se plantea que el Calcio activador puede estar almacenado en la membrana o en algún sitio próximo a ella (123) y que otra cantidad similar proviene directamente del exterior (4) (120).

Si este planteamiento es cierto, se esperaría que las células ventriculares de rana, mostrasen algunas de las propie-

dades que se pueden observar en los preparados de RS-MIOFI-BRILLAS aislados, por lo cual puede considerarse como un modelo adecuado y simplificado para estudiar la estructura y funcionamiento del acoplamiento excitación-contracción en general.

1.2. RESUMEN DEL CICLO FUNCIONAL CARDIACO

El miocardio posee automatismo para originar su propia excitación, por lo cual resulta fácil obtener preparaciones aisladas en las que se pueden estudiar los fenómenos eléctricos, mecánicos, hidráulicos y térmicos que ocurren durante un ciclo cardíaco.

Los cambios de volumen y de presión del ventrículo aislado de rana constituyen los aspectos más evidentes del ciclo cardíaco y su relación puede visualizarse en el diagrama de la figura 1, donde se identifican dos fases principales: SISTOLE, durante la cual aumenta la presión y/o disminuye el volumen y DIASTOLE, durante la cual disminuye la presión y/o aumenta el volumen, o bien, estos se mantienen prácticamente constantes durante un intervalo de reposo más o menos prolongado.

A su vez, dentro de ambas fases pueden identificarse claramente dos subfases: una ISOVOLUMICA (intervalo 2 a 3 en el diagrama) durante la cual varía en forma importante la presión, mientras que el volumen se mantiene constante debido a que tanto la "válvula" de salida como la de entrada permanecen cerradas, porque la presión ventricular es superior a la auricular -ésto determina el cierre de la "válvula" de entrada- e inferior a la presión arterial -ésto determina el cierre de la "válvula" de salida-. Si tenemos en cuenta que el trabajo mecánico se define como:

$$dW = - \int P.dV \quad (1)$$

dónde:

$$P = \text{Presión}$$

$$dV = \text{Cambio de volumen}$$

vemos que durante las subfases isovolumicas el corazón no realiza trabajo externo, aunque más adelante se explica que en realidad existe una liberación energética importante durante las mismas. En la subfase ANISOVOLUMICA SISTOLICA (intervalo 3 a 4 en el diagrama) la "válvula" de salida se abre porque la presión ventricular supera a la arterial y entonces la sangre es expulsada hacia las arterias, donde recibe un impulso:

$$I = - \int P.dt \quad (2)$$

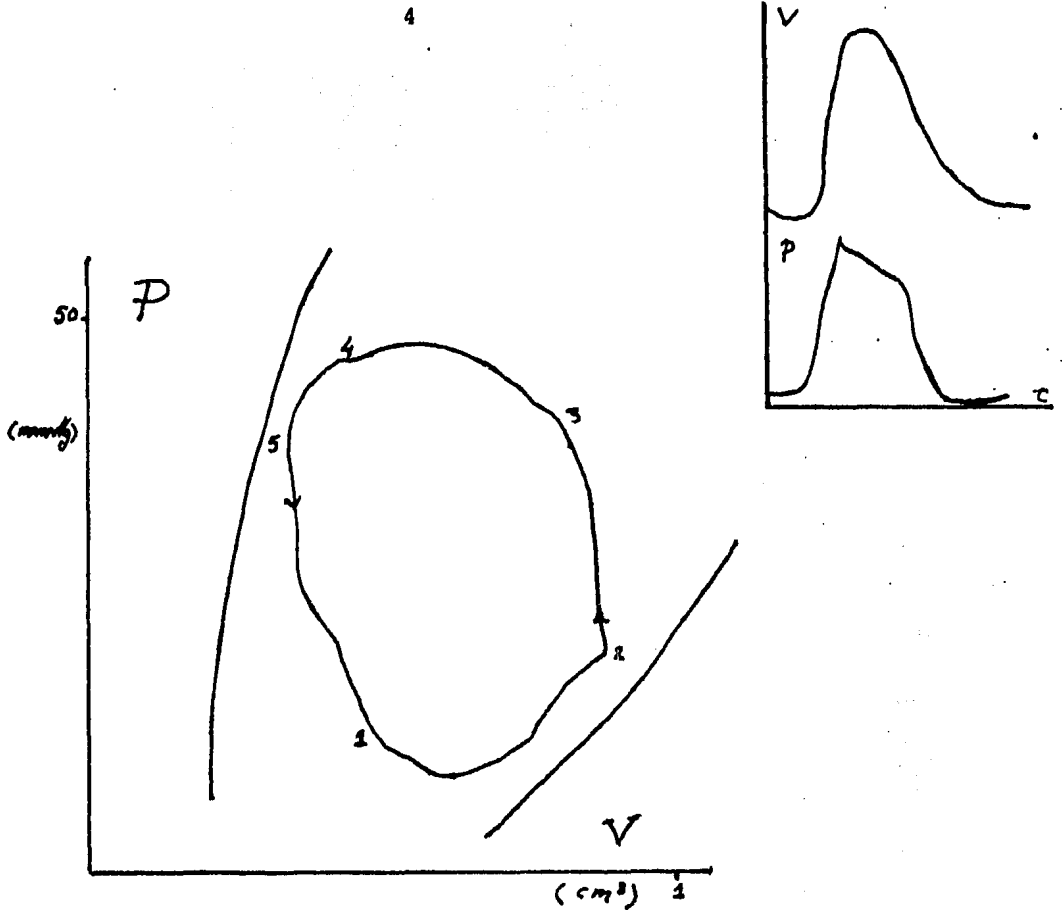


Fig. 1. BUCLE DE TRABAJO MECANICO DURANTE UN CICLO CARDIACO

Ventrículo de rana, registros simultáneos de presión y de volumen (ver inserción), cuya combinación en "Figura de Lissajous" genera la gráfica P vs V.

La flecha indica el sentido según el curso temporal.

Se pueden reconocer cuatro fases sucesivas: 2 a 3 sistólica isovolúmica (contracción isovolúmica); 3 a 4 sistólica anisovolúmica, subfase 1 (expulsión rápida); 4 a 6 sistólica anisovolúmica, subfase 2 (expulsión reducida); 5 a 1 diastólica isovolúmica (relajación isovolúmica) y 1 a 2 diastólica anisovolúmica (llenado).

El área del bucle corresponde al Trabajo Cardíaco Neto, y en este caso vale:

$$\text{Area} = 29.6 \text{ cm}^2 \quad 1 \text{ cm}^2 = 5.3 \text{ mmHg} \times 0.1 \text{ cm}^3$$

$$W \approx 1 \text{ g cm}$$

donde:

dt = diferencial de tiempo

y ocurre también un RETROCESO BALISTICO del ventrículo. Mientras tanto la "válvula" de entrada permanece cerrada porque la presión ventricular del orden de 20 mmHg o 260 mmH₂O en la rana, es muy superior a la articular que es del orden de 1 mmHg.

Durante casi 2/3 de la duración de la subfase anisovolumica sistólica, la presión aumenta pese a que el ventrículo está expulsando sangre, debido a que el gasto cardíaco supera a la sumatoria de los gastos por las ramificaciones arteriales:

$$\text{Gasto Card.} > \Sigma \text{ Gasto arterial;} \quad (3)$$

entonces la pared elástica del árbol arterial es distendida y desarrolla tensión T , que se relaciona con la presión P de una manera aproximadamente descrita por la ley de LAPLACE para el caso de una esfera:

$$T = P \cdot r / 2; \quad r = \text{radio} \quad (4)$$

Durante el tercio final de la parte expulsiva la presión disminuye porque el gasto cardíaco se reduce, debido al vaciamiento ventricular, y también las frecuencias próximas a la normal porque finaliza el estado de excitación del miocardio. Cuando la presión arterial determinada por la reacción elástica de la pared, iguala la presión ventricular que está disminuyendo debido a la terminación del estado excitado, se produce el cierre de la "válvula" de salida y se inicia la SUBFASE ISOVOLUMICA DIASTOLICA. Al final de dicha subfase la presión ventricular llega a ser menor que la auricular, y entonces se abre la "válvula" de entrada y ocurre la SUBFASE ANISOVOLUMICA DIASTOLICA, durante la cual el ventrículo se llena de sangre y se desarrolla una tensión elástica de la pared ventricular en reposo que determina, a través de la relación de LAPLACE la presión diastólica ventricular.

La actividad mecánica que se acaba de resumir es controlada en cuanto a su duración por una actividad eléctrica que puede registrarse fácilmente mediante un electrograma, entre cualquier punto de la superficie ventricular y un punto "indiferente" suficientemente alejado como para considerarse a potencial constante pero en continuidad eléctrica. Dicho registro tiene el aspecto que se muestra en la figura 6 y en esta puede verse que hay una señal rápida que comienza inmediatamente al inicio de la sístole y otra señal lenta que precede muy cercanamente al comienzo de la diástole.

Mucho más difícil de evidenciar que los fenómenos anteriores es la ocurrencia de fenómenos térmicos durante el ciclo cardíaco, debido a la capacidad calorífica del propio corazón y a la conducción térmica realizada por la sangre. Sin embargo el consumo de Oxígeno constituye una estimación promedio adecuada, siempre que se conozca el sustrato energético utilizado (162) (24) (152):

$$\frac{dQ}{dt} = E \frac{dVO_2}{dt} \quad (5)$$

donde: dQ/dt = potencia térmica
 E = Coeficiente térmico del sustrato
 dVO_2/dt = Oxígeno consumido

y se verifica (152) una relación lineal del tipo:

$$TII \times \text{Frec.} = k \, dVO_2/dt \quad (6)$$

donde:

TII = Tensión Isométrica Integrada

Asociados a las manifestaciones energéticas referidas, pueden evidenciarse procesos bioquímicos como el cambio de actividad ATP-ásica mediante RNM (resonancia magnética nuclear) del fosfato (199) y también las modificaciones moleculares mediante la difracción de Rayos X (110).

1.3. DETERMINANTES DEL COMPORTAMIENTO CARDIACO

En 1895 FRANK (57) demostró que la presión sistólica desarrollada por el ventrículo de rana depende del volumen diastólico previo, como se muestra en la figura 2. En dicho diagrama también se ve que debido al comportamiento elástico del corazón la presión diastólica es mayor. Asimismo, puede verse que la presión sistólica neta depende del volumen diastólico dentro de cierto intervalo hasta alcanzar la meseta. Pero debe destacarse que estos registros son efectuados a frecuencias cardíacas suficientemente bajas como para dar tiempo a que se complete la relajación diastólica.

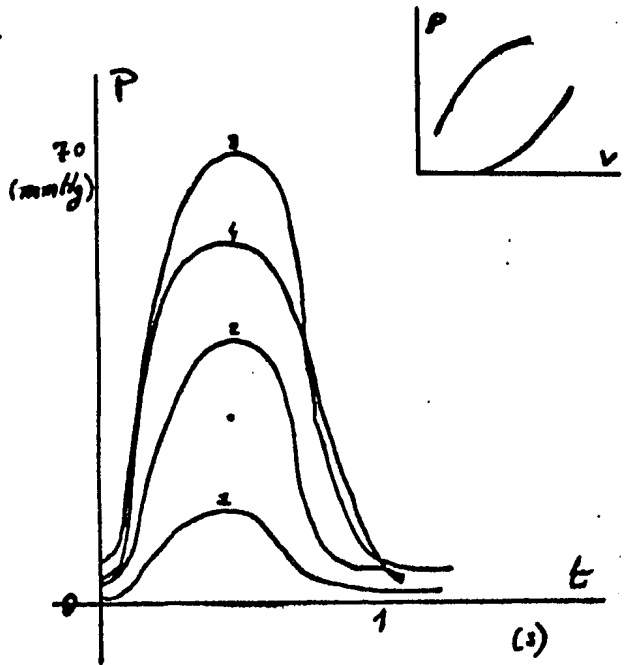


Fig. 2 MODIFICACION DEL COMPORTAMIENTO MECANICO DEL MIOCARDIO DE RANA POR CAMBIOS DEL LLENADO DIASTOLICO

Ventriculo de rana, registro auxotónico simultáneo de presión y de volumen. La numeración indica llenados crecientes, que determinan presiones diastólicas cada vez mayores (comportamiento elástico).

Los tiempos de subida al pico sistólico son prácticamente iguales.

La amplitud sistólica aumenta para los tres primeros llenados, pero disminuye para el cuarto, que corresponde a un volumen diastólico de aproximadamente 0.5 cm^3 (considerar la relación P-V ilustrada en el inserto).

Adaptado de FRANK, 1895 (57).

Al superponer los registros de contracciones potenciadas se verifica que existe un aumento de la tasa de desarrollo tensional dp/dt y de la impulsión, pero que los tiempos al pico (tp) son iguales. De modo que existe una proporcionalidad entre ambas. En 1963 SIEGEL, y SONNENBLICK (155) propusieron precisamente como un Índice del Estado Contráctil del miocardio, la siguiente relación:

$$IC = ((dF/dt) \max) / \int Pdt$$

Si se asegura un mínimo llenado diastólico y se aumenta la frecuencia cardíaca mediante la estimulación externa, se verifica que dentro de cierto intervalo aumenta la presión sistólica, aunque más adelante disminuye. La frecuencia óptima para el corazón de rana depende de la temperatura (173).

Como puede verse en la figura 3, al superponer registros de las contracciones potenciadas se verifica que el tiempo al pico se ha acortado, de modo que las tasas de desarrollo de presión son proporcionalmente mayores a las impulsiones. También es notorio el aumento de la velocidad de relajación.

Durante la transición desde una frecuencia a otra se observa la ocurrencia de cambios graduales en la amplitud de las contracciones, mismas que se conocen con el nombre de "escaleras", propuesto por BOWDICHT (19) en 1871 (fig. 4).

Si se mantienen constantes el llenado diastólico y la frecuencia, pero se varía la presión en el árbol arterial, es posible verificar una tercera dependencia, señalada inicialmente por ANREP (6), y sistematizada por ROSENBLUETH, ALANIS y RUBIO (146): dentro de cierto intervalo de cargas arteriales, la presión sistólica aumenta con base en un incremento de la tasa de desarrollo de tensión como se muestra en el diagrama de la figura 5.

De modo que en situación metabólica constante, la Presión Sistólica de un corazón aislado es una función simultánea de cierto número de variables:

$$PS = f \quad (\text{Llenado, Frecuencia, Impedancia medida})$$

Pero aún en condiciones de aislamiento físico del corazón, pueden continuar actuando los elementos nerviosos que constituyen parte del sistema regulador, lo que complica el estudio, pues las hormonas desde ellos liberadas producen simultáneamente cambios de las tres variables determinantes de la presión sistólica, y de las funciones intrínsecas de su respuesta.

Tal superposición de relaciones dificulta notablemente la comprensión de los resultados experimentales, y hace aconsejable iniciar el estudio de la fisiología cardíaca en condiciones de "variable aislada".

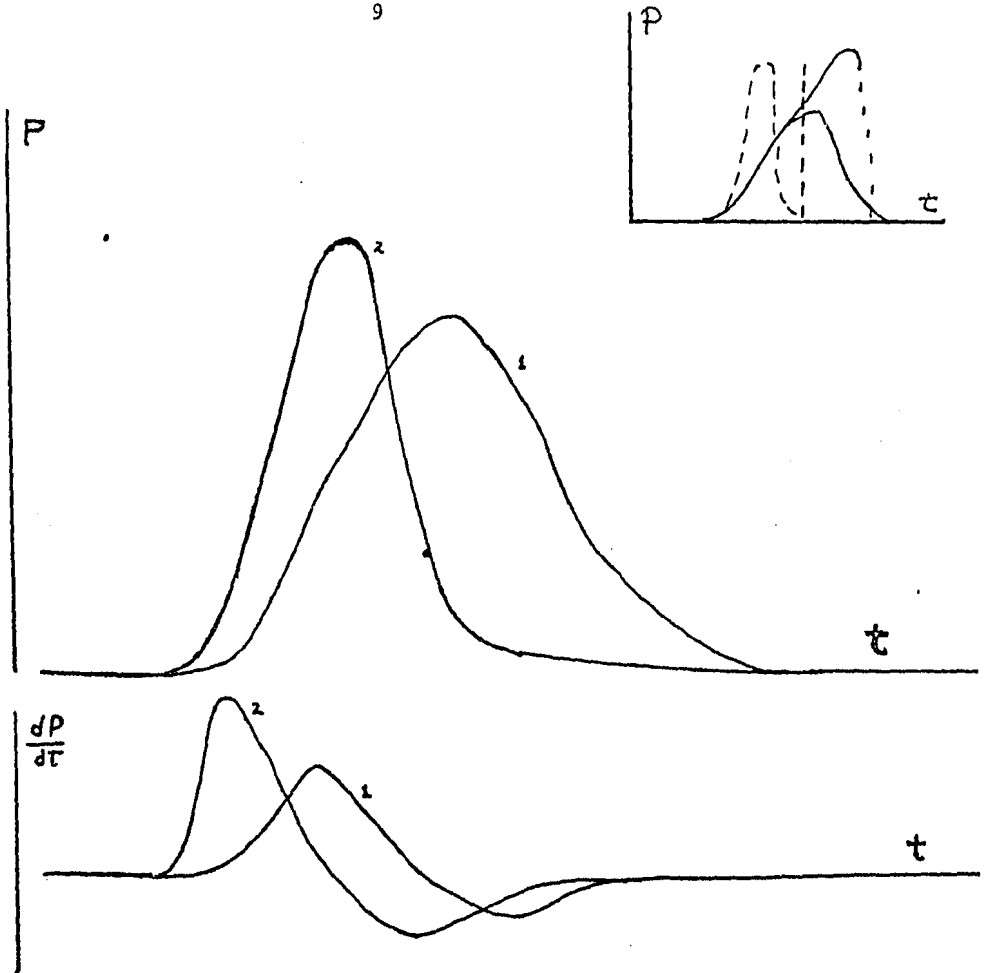


Fig. 3 MODIFICACION DE LAS SISTOLES DEL MIOCARDIO DE RANA POR AUMENTO DE LA FRECUENCIA A VOLUMEN CONSTANTE

Ventrículo de rana, registro isovolúmico de presión, estimulación a $1/20 \text{ s}^{-1}$ (curva 1) y a $1/5 \text{ s}^{-1}$ (curva 2).

Se puede observar el acortamiento del tiempo al pico de la presión y el aumento del valor $(dP/dt)_{\text{máx}}$ al pasar a frecuencia mayor.

El esquema insertado muestra que si la misma amplitud sistólica se hubiese alcanzado con igual (dP/dt) , el área subyacente a la fase de subida hubiera sido mayor.

Adaptado de MAZZELLA et al., 1958 (111).

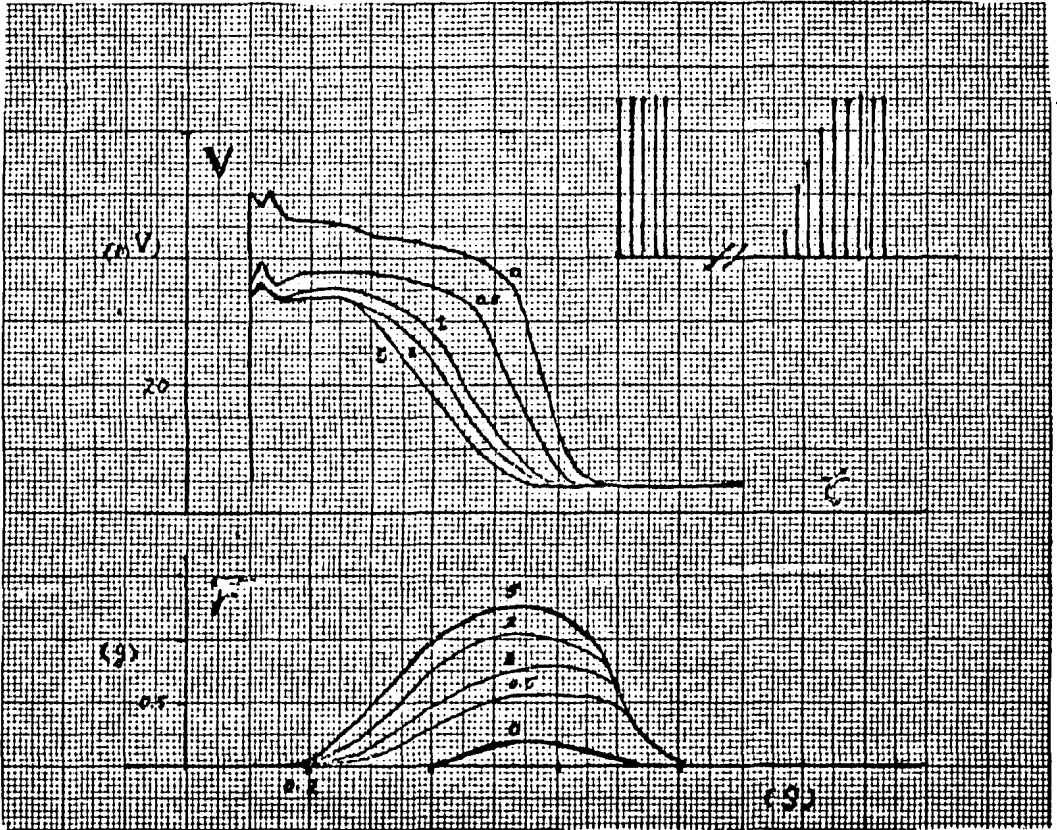


Fig. 4 MODIFICACION DE LOS POTENCIALES DE ACCION Y LOS MIOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LAS SUCESES SISTOLES DE UNA ESCALERA POS-REPOSO.

Tira de ventrículo de rana, registro isométrico de fuerza y eléctrico mediante trampa aisladora.

Frecuencia de estímulos: $1/5 \text{ s}^{-1}$

Reposo: 20 minutos

Solamente se presentan las sístoles ocurridas a los intervalos indicados en minutos, desde el primer estímulo luego del reposo.

Adaptado de NIEDERGERKE, 1956 (123).

A. El ventrículo derecho (RV) de un corazón aislado de perro se hace trabajar contra una post-carga determinada por la altura del embudo 'O', a través de la válvula artificial de salida ' V_0 '; mientras que la pre-carga es determinada por la altura del embudo 'I', conectado a través de la válvula ' V_1 '.

Ambas vías se conectan por la arteria pulmonar (PA). Se registra el volumen mediante pletismógrafo (PL) y la presión aórtica con el manómetro (PT).

El corazón es perfundido desde la carótida (D) de otro perro. El volumen perfundido a la red coronaria se recoge por el sifón 'S2' y se retorna a la yugular 'J' del segundo perro.

Se registran las presiones arteriales (M1 y M2) de ambos perros, y el flujo coronario mediante rotámetro (CFR).

Se destruyó el nodo S-A, y se estimula eléctricamente a $1/2 \text{ s}^{-1}$

B. Un aumento del 40% en la Presión Aórtica determina solamente aumentos muy pequeños del Volumen Ventricular Diastólico, y el Volumen Expulsado prácticamente no cambia (el trabajo mecánico aumenta).

Adaptado de ROSENBLUETH, ALANIS y RUBIO, 1959 (146).

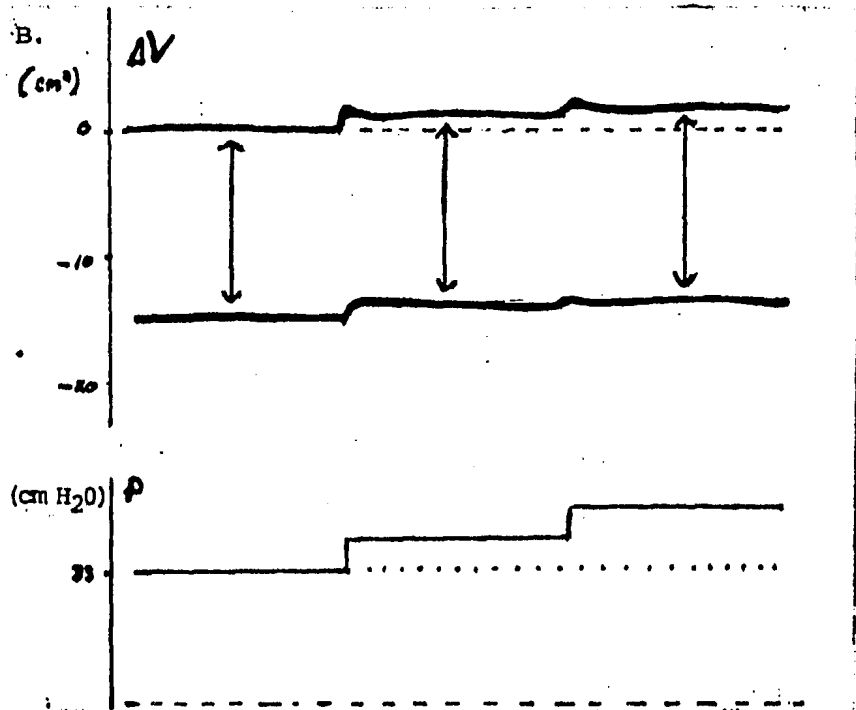
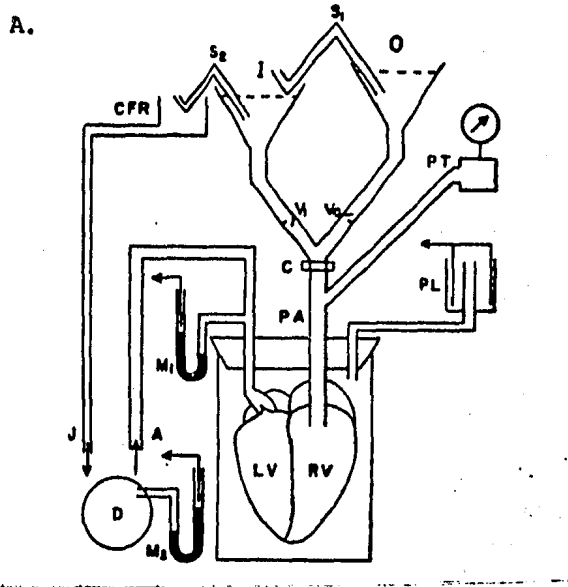


Fig. 5. - DEMOSTRACION DEL AUMENTO DEL INOTROPISMO COMO ADAPTACION ANTE EL INCREMENTO DE LA POST-CARGA.

1.4. EL CORAZON COMO BOMBA

El comportamiento mecánico global del corazón queda descrito por dos CURVAS CARACTERISTICAS DE PRESION Y VOLUMEN, una para el reposo y otra para el pico de la sístole. Habitualmente se obtienen al establecer diferentes llenados diastólicos y registrar para cada uno de ellos la amplitud de la sístole isovolúmica (fig. 1). Si la frecuencia del ritmo es suficientemente baja, los valores diastólicos de presión y volumen pueden coincidir con los de la curva característica en estado basal.

Por el contrario, la amplitud de la sístole solamente puede alcanzar el nivel de presión correspondiente a su volumen diastólico sobre la curva característica de actividad si no hay expulsión (contracción isovolúmica), y como en las sístoles fisiológicas ocurre expulsión, se suceden volúmenes cada vez menores y presiones variables sin que la duración de la actividad contráctil sea suficiente para alcanzar un punto de la Curva Característica, a menos que la temperatura y la frecuencia sean suficientemente bajas.

De manera que la mayoría de las veces el ciclo cardíaco normal se registra como un bucle de presión vs. Volumen que queda inscrito entre ambas Curvas Características, pero sin tocarlas en ningún punto. Si las condiciones generales no cambian, absolutamente todos los ciclos quedan comprendidos entre ambas curvas.

El área abarcada por el bucle de un ciclo normal con expulsión de sangre, corresponde al Trabajo Mecánico Neto, y es la diferencia entre el trabajo activo realizado en la expulsión ($-W_{sist}$) y el trabajo pasivo recibido en el llenado (W_{dias}):

$$W_{neto} = W_{sist} - W_{dias} = - \int P.dv + \int P.dv$$

En la fig. 1 se muestran los registros simultáneos de Presión y Volumen ventricular de batraccio, así como el diagrama de Presión vs. Volumen correspondiente.

La curva de Trabajo Sistólico presenta un punto de inflexión bien definido, que corresponde al máximo de Potencia Instantánea (dW/dt), el cual es una función aproximadamente lineal de la masa muscular ventricular de acuerdo a los trabajos de CHAPMAN et. al. (41).

Pero si bien durante la fase sistólica isovolúmica no hay realización del trabajo mecánico externo, el desarrollo de tensión por las fibras musculares de la pared, que hace subir la presión dentro de la cavidad, implica una considerable

liberación energética, como lo demuestra el hecho de que exista relación lineal entre el consumo de Oxígeno y la integral de la presión durante esta fase (152).

$$dV O_2/dt = \alpha \int P \cdot dt$$

En preparados corazón-pulmón de perro se ha demostrado que es posible aumentar hasta 20 veces el trabajo mecánico con aumento muy ligero (5%) del consumo de Oxígeno, siempre que se manejen volúmenes mayores de sangre a la misma presión, lo cual confirma que la parte sustancial de la energía metabólica del corazón se emplea en elevar la tensión, como lo ha enfatizado BURTON (33).

Con métodos microcalorimétricos COULSON (46) ha registrado liberación energética en corazones aislados durante sístoles isovolúmicas, verificando la relación prácticamente lineal de aquella con el desarrollo de presión.

De modo que la Eficiencia Cardíaca (EF) se obtiene de la siguiente forma:

$$EF = \frac{\int P \cdot dV}{\int P \cdot dV + \alpha \int P \cdot dt}$$

Su valor difícilmente excede del 15% y puede llegar a ser tan bajo como el 3%. Pero resalta el hecho de que al representar el Trabajo Mecánico en función del incremento del volumen y sin subir la presión, la eficiencia aumenta mucho.

La energía proporcionada a la sangre por el corazón se disipa muy poco a nivel de las grandes arterias, por lo que puede aceptarse que siguiendo el Principio de Bernouille quède distribuida entre una componente potencial ($\int P \cdot dt$), un componente cinético ($1/2 \int \rho v^2 dt$) - ρ es la densidad - y un componente hidrostático ($\int \rho gh dt$) que varía según la posición del animal, pero que es poco importante. En estos vasos el componente cinético es poco importante (3%), pero durante el ejercicio puede llegar a ser de cerca del 20% (114).

En las arteriolas y capilares es donde el flujo se hace claramente disipativo de energía por efecto viscoso. A ese nivel el flujo es aproximadamente laminar y queda bien descrito por la ley de Poiseville:

$$dV/dt = \pi/8 \cdot 1/\eta \cdot R^4/l \cdot \Delta P$$

donde: η - viscosidad sanguínea
 l - longitud del vaso
 R - radio del vaso
 ΔP - gradiente de presión entre extremos

$$\text{Llamando: } K = \pi/8 \cdot l/\eta \cdot R^4/l ; \quad dV/dt = K \cdot \Delta P$$

y la disipación energética por flujo sanguíneo a través del vaso considerado se define entonces como:

$$dQ/dt = (\Delta P)^2 / K$$

En las grandes venas y en la aurícula el componente cinético es aún más grande (12%) que en las grandes arterias, pero la energía total es mucho menor. Sin contraerse la aurícula ni haber acción auxiliar de bombeo venoso por los músculos, el ventrículo vuelve a recuperar una parte del trabajo que realizó durante la expulsión.

Para ejercer presión sobre la sangre, la pared del ventrículo debe desarrollar tensión, que corresponde a la fuerza ejercida por cada unidad de longitud de acortamiento en dirección tangente a la superficie en el punto considerado.

Si el ventrículo fuese esférico, se tendría que por acción de la presión sanguínea se ejercería una fuerza que tendería a separar los lados semiesféricos, cuyo valor sería:

$$F = (\pi \cdot R^2) \cdot P$$

Pero a esta fuerza se opondría otra generada por la reacción elástica a nivel de la superficie en todo lo largo del plano ecuatorial considerado:

$$\bar{r} = (2 \pi R) \cdot T$$

En equilibrio:

$$\pi \cdot R^2 \cdot P = 2\pi RT$$

$$P = (2/R) T$$

que es la expresión de la Ley de Laplace para los volúmenes esféricos.

En el caso más general, se pueden considerar dos radios de curvatura principales (r_1 y r_2) correspondientes a los arcos trazados sobre la superficie, y que se cruzan en ángulo recto a nivel del punto considerado. Entonces la presión se

define con otra expresión de la misma ley:

$$P = (1/r_1 + 1/r_2) T$$

En 1892 WOODS (197) demostró que el espesor de la pared cardíaca es proporcional en cada punto a la relación $1/r_1 + 1/r_2$, que expresa la curvatura total, de forma que en términos generales puede aceptarse la modelación referida.

Pero un problema muy grande se origina por el cambio de forma del corazón aún durante la fase isovolúmica, por lo que resulta muy complicado estudiar el comportamiento contráctil de la pared a partir de datos de presión. Esto tiene dos vías de solución: registrar el comportamiento longitudinal de un segmento de pared, lo que puede hacerse implementando detectores resistivos o ultrasónicos de longitud, o bien con preparados constituidos por una parte de la masa muscular, aislada y con geometría relativamente sencilla.

En 1932 DALE (47) utilizó tiras de miocardio ventricular de rana, en 1959 ABBOTT y MOMMAERTS (1) popularizan el uso del músculo papilar, y en 1968 ROUGIER et al. (149) el uso de la trabécula auricular de rana. Hacia 1970 (55) se desarrolla por FABIATO et al. una técnica para obtener fibras cardíacas desprovistas del sarcolema, y en 1976 TARR y TRANK (175) iniciaron los estudios en fibras aisladas intactas de aurícula de rana.

Electrofisiología

2. ELECTROFISIOLOGIA

2.1. Potenciales de Membrana

La actividad eléctrica del miocardio fue registrada por primera vez en el año 1883 por BURDON-SANDERSON y PAGE (32) en la rana, utilizando un electrómetro capilar de Lippmann, aunque este hecho es mucho menos conocido que el primer registro electrocardiográfico humano efectuado cuatro años más tarde por WALLER (181) empleando la misma técnica. También se menciona en la literatura un antecedente más: KOELLIKER y MILLER (98) habrían detectado la actividad eléctrica del corazón de rana en el año 1856.

Con base en estos registros extracelulares o "electrogramas" (fig. 6) se señalaron las siguientes peculiaridades:

- 1 - La actividad eléctrica ES MUCHO MAS PROLONGADA que la del nervio o del músculo esquelético, pues resulta del orden de 800 ms.
- 2 - La duración de la actividad DISMINUYE AL AUMENTAR LA FRECUENCIA, se puede reducir hasta 1/20 del máximo.
- 3 - La VELOCIDAD DE PROPAGACION ES MUY BAJA (10 cm/s en el ventrículo de rana a 20 °C con Q_{10} de 2).

Al considerar para el miocardio de rana la velocidad de propagación y la distancia a recorrer por el frente excitatorio, que es necesario para activar a todo el ventrículo (1 cm. como máximo), encontramos que tal proceso se completa en 100 ms de modo que DURANTE MAS DE 500 ms TODAS LAS CELULAS ESTAN DEPOLARIZADAS SIMULTANEAMENTE, lo cual es fundamental para la función de bombeo sanguíneo.

El primer registro intracelular que empleó microelectrodos fue efectuado, también en ventrículo de rana por WOOD BURY y HECHT (194) en el año 1950 y confirmó en términos generales los datos previos que se interpretaban con base en la aplicación de la electroquímica para soluciones diluidas, cuya máxima expresión se encuentra en los trabajos de HODGKIN, HUXLEY (83) (84) de 1952.

El Potencial de Reposo de la membrana del miocardio ventricular de rana es de 80 mV con el interior negativo, y puede ser aceptablemente previsto aplicando la Ecuación de Goldman para el comportamiento iónico a través de una membrana en cuyo interior el campo eléctrico es constante:

$$E_m = RT/F \cdot \ln \frac{[K]_e + \alpha [Na]_e + \alpha' [Cl]_i}{[K]_i + \alpha [Na]_i + \alpha' [Cl]_e}$$

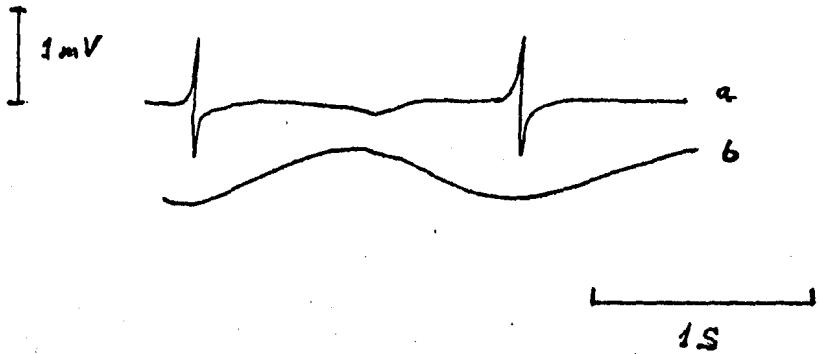


Fig. 6 REGISTRO EXTRACELULAR DE LA ACTIVIDAD ELECTRICA DEL MIOCARDIO VENTRICULAR.

El trazo a corresponde al registro de la actividad eléctrica del miocardio ventricular, utilizando electrodos de pabulo.

El trazo b representa la actividad mecánica registrada por manometría.

Adaptado de BOGUE y MENDEZ, '1930 (16).

con las concentraciones y permeabilidades iónicas determinadas experimentalmente como:

mM/cm ³	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Ca ⁺⁺
Ext.	110	2.5	112.5	2.1
Int.	18	90	15	4.9

A diferencia de lo que ocurre en el nervio o músculo esquelético, el cambio de concentración extracelular del ión Potasio producen notables cambios en la forma del potencial de acción (fig. 7), además del cambio de potencial de reposo previsto por la ecuación de Goldman.

En el año 1960, BRADY y WOODBORY (23) mostraron que en el ventrículo de rana la tasa máxima de depolarización -que es de 25 V/s en condiciones normales-, varía proporcionalmente a la concentración extracelular del ión Sodio (fig. 8). Asimismo la forma y la duración del potencial de acción muestran notables modificaciones al cambiar la concentración de Sodio.

Estas observaciones permitieron postular que la depolarización inicial debía ocurrir en forma similar que en el nervio, con una corriente entrante del ión Sodio, debida al cambio de la conductancia instantánea (g_{Na}) para este ión inducido en forma regenerativa por el cambio del potencial de la membrana. La corriente entrante tendría una intensidad dada, para cada instante, por la Ley de Ohm:

$$i_{Na^+} = g_{Na^+} (E_m - E_{Na^+})$$

donde E_{Na^+} es el potencial de equilibrio electroquímico para el ión Sodio, que se admite constante en la medida en que la cantidad de iones que ingresa a la célula, no alcance para alterar significativamente su concentración intracelular; y E_m es el potencial de membrana considerado en cada instante.

Como la técnica de fijación de voltaje no podía aplicarse al miocardio, pues no existían técnicas para aislar fibras y además el tamaño de estas resultaría demasiado pequeño, el estudio de la dependencia de las conductancias respecto al voltaje E_m se realizaba por una técnica introducida por WEIDMANN (fig. 9), en la que la tasa de variación del voltaje de membrana (dE_m/dt) en el punto de inflexión de la subida de un potencial de acción evocado por un pulso depolarizante, era tomada como medida de g_{Na^+} . Estos cálculos realizados en fibras de Purkinje de perro -debido a su gran diámetro y débil contracción- concuerdan notablemente con lo observado en el axón de invertebrado al medir directamente las corrientes.

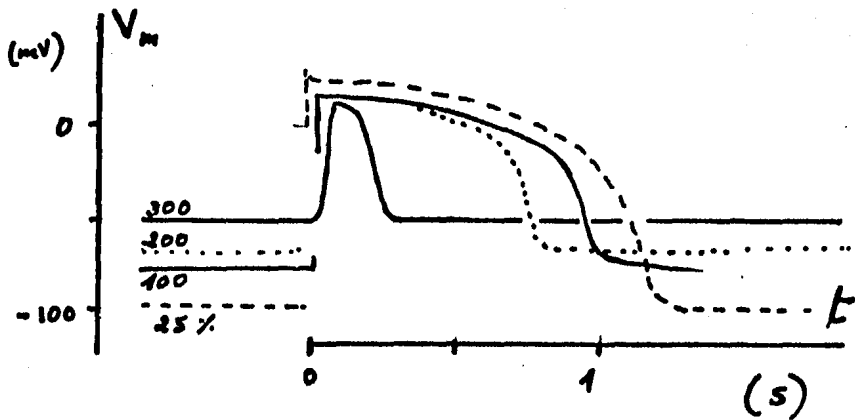


Fig. 7 MODIFICACION DEL POTENCIAL DE ACCION DEL MIOCARDIO VENTRICULAR DE RANA POR VARIACION DE LA CONCENTRACION EXTRACELULAR DEL ION POTASIO.

El aumento en la concentración del Potasio extracelular, reduce el nivel de potencial de reposo, y acorta notablemente la duración del Potencial de Acción.

Tomado de BRADY y WOODBURY (23).

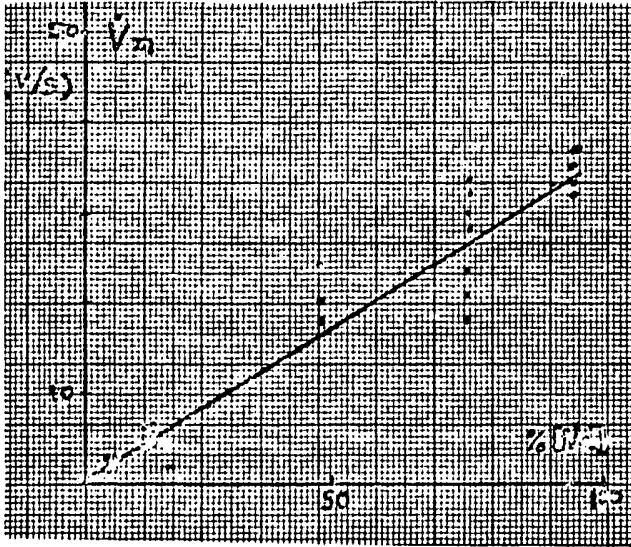
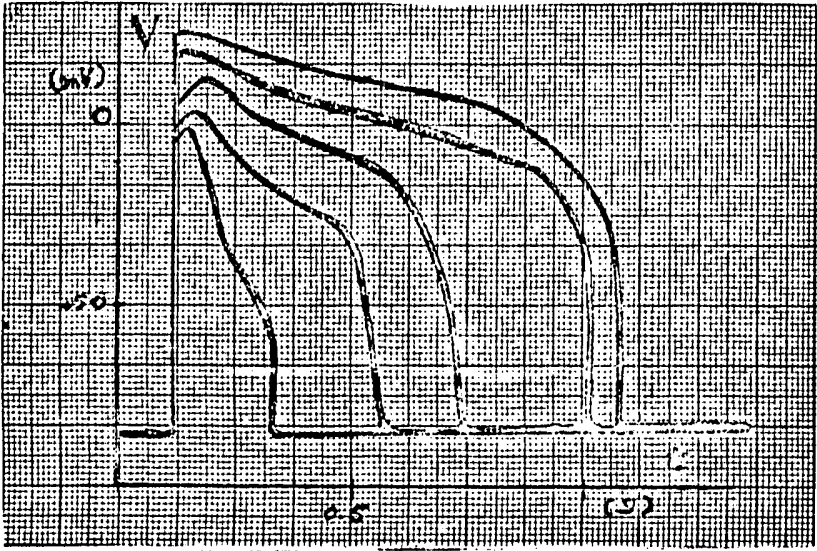


Fig. 8 EFECTO DEL CAMBIO EN LA CONCENTRACION EXTERNA DEL ION SODIO SOBRE EL POTENCIAL DE ACCION DEL MIOCARDIO VENTRICULAR DE RANA.

Registro con microelectrodos y estimulación basal a $1/10 \text{ s}^{-1}$.

Nótese arriba el fuerte cambio de forma del potencial por disminución en la amplitud y en la duración al disminuir la cantidad de ión Sodio externo.

Se verifica la existencia de relación lineal entre la tasa máxima de depolarización y la concentración del So dio.

Adaptado de BRADY y WOODBURY, 1960 (23).

A. Fibra de Purkinje de cabra con dos electrodos intracelulares

B. El nivel de V de membrana en que se alcanza la máxima tasa (dV/dt) es independiente del voltaje condicionante de modo que:

$$K(dV/dt)_{\max} \approx i_{Na} = g_{Na} (V - E_{Na})$$

$$g_{Na} = K \frac{(dV/dt)_{\max}}{V - E_{Na}}$$

C. Curvas de inactivación de g_{Na} para dos $|Na^+|$ externas diferentes.

Tomado de WEIDMANN (183).

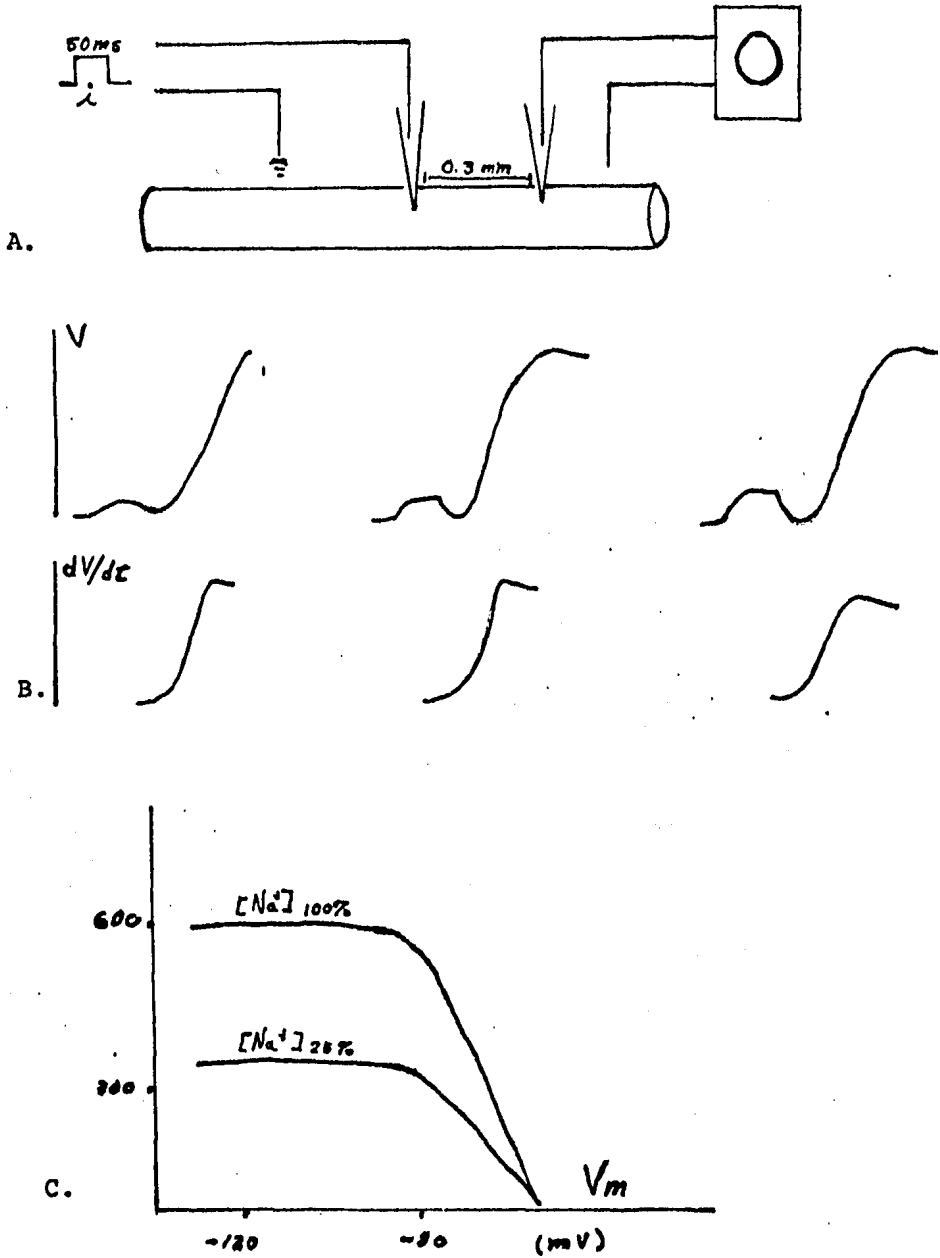


Fig. 9 MODIFICACION DE LA CONDUCTANCIA PARA EL SODIO POR DEPOLARIZACION CONDICIONANTE

En ambos casos la expresión puede ajustarse:

$$G_m = \frac{G}{1 + \exp. ((E_m - E_{Na}^+) / 5)}$$

Esta concordancia conduce a admitir que al menos en las primeras partes de la depolarización, el comportamiento es el mismo en el miocardio y en el nervio.

Sin embargo, ya entonces se aceptaba que otros iones de berían estar participando en la depolarización, pues el pico de esta de 20mV a lo sumo, es significativamente menor que el potencial de equilibrio electroquímico para el ión Sodio en el miocardio (60mV) (23).

La interpretación del proceso de repolarización se inició con el reconocimiento de tres fases (fig. 10), la primera de las cuales sería la única presente en condiciones de muy baja concentración externa de Sodio, mientras que la última presenta una propiedad en extremo interesante: tiene UN MISMO CURSO TEMPORAL PESE A QUE LA DURACION TOTAL DEL POTENCIAL DE ACCION HAYA VARIADO NOTABLEMENTE DEBIDO AL CAMBIO DE LA FRECUENCIA (fig. 11).

Durante la segunda parte de la repolarización la tasa de variación del potencial de membrana (dE_m/dt) es muy baja y cambia casi linealmente con el valor instantáneo del mismo (fig. 12), por lo tanto la corriente capacitativa ($i_c = C_m \cdot dE_m/dt$) es mínima, mientras que la corriente iónica únicamente puede ser:

1. Casi inexistente, y esto implicaría la supresión transitoria de las conductancias iónicas de la membrana.
2. Conducida por dos iones del mismo signo en sentidos opuestos, por dos iones de signo opuesto en el mismo sentido, o por una combinación de ambos modos, pero siempre compensado para que la corriente sea mínima.

La medida de la impedancia relativa al reposo de la membrana debió efectuarse con la técnica de WEIDMANN (183), introducida en el año 1951, y en la cual aquélla se estimaba con base en el cambio de voltaje registrado desde un microelectrodo intracelular en respuesta a un pulso de corriente aplicado desde otro microelectrodo intracelular muy próximo. Pese a sus limitaciones, esta metodología sirvió para comprobar que durante la meseta del potencial de acción la conductancia global de la membrana es claramente menor que durante el reposo.

Si las permeabilidades iónicas persisten durante la meseta del potencial de acción, entonces el ión Potasio ha de poder salir durante todo el tiempo que dure el mismo, ya que ambos

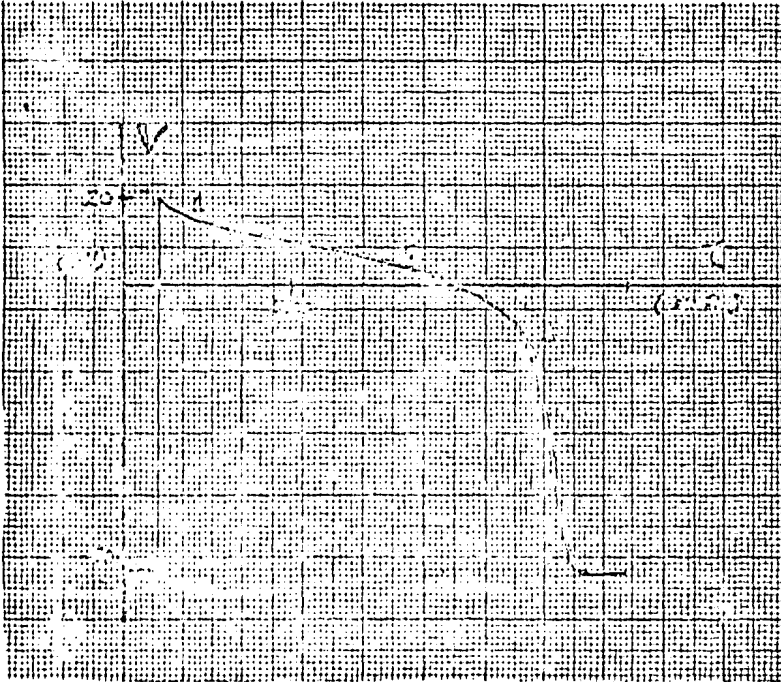


Fig. 10 DISTINCION DE PASOS DEL POTENCIAL DE ACCION DEL MIOCARDIO

Registro con microelectrodo intracelular en miocardio ventricular de rana, estimulado a muy baja frecuencia.

La fase inicial de repolarización es apenas notoria, a diferencia de lo que ocurre en el mamífero, pero la fase de la meseta es muy nítido.

Debe destacarse la prolongada duración del potencial.

Tomado de MORAD et al., 1973 (120).

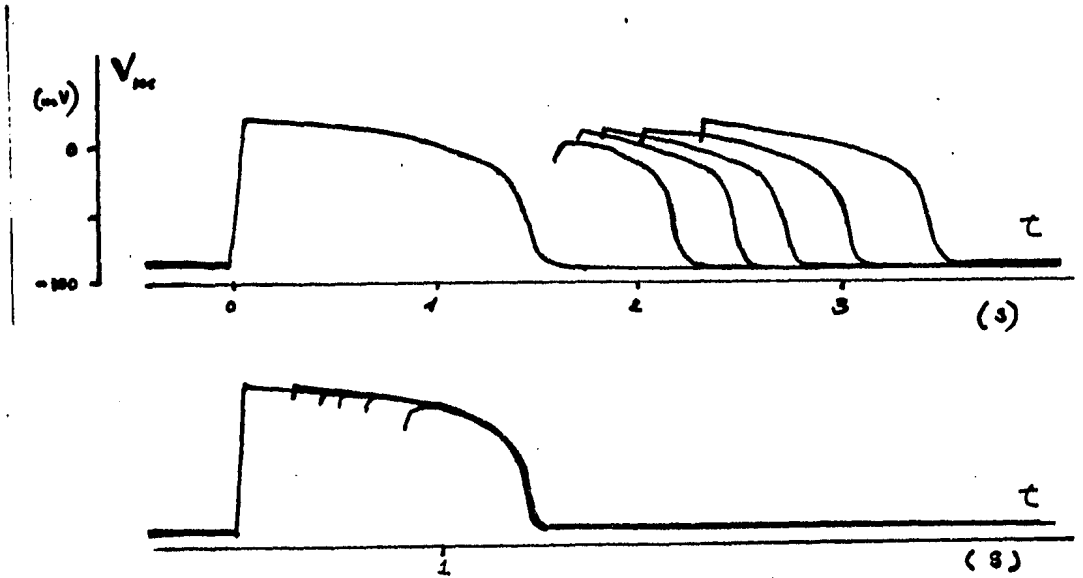


Fig. 11. MODIFICACION DEL POTENCIAL DE ACCION DEL MIOCARDIO VENTRICULAR DE RANA EN FUNCION DEL INTERVALO DE ESTIMULACION

Registro efectuado con microelectrodo sobre ventrículo perfundido. Los diferentes trazos fueron obtenidos al incrementar la frecuencia de estimulación.

En la parte inferior aparecen superpuestos los registros desplazándolos en el tiempo, para mostrar que la fase de repolarización rápida coincide pese al notable cambio de forma que presentan los potenciales prematuros.

Adaptado de WOODBURY y KIRK (195).

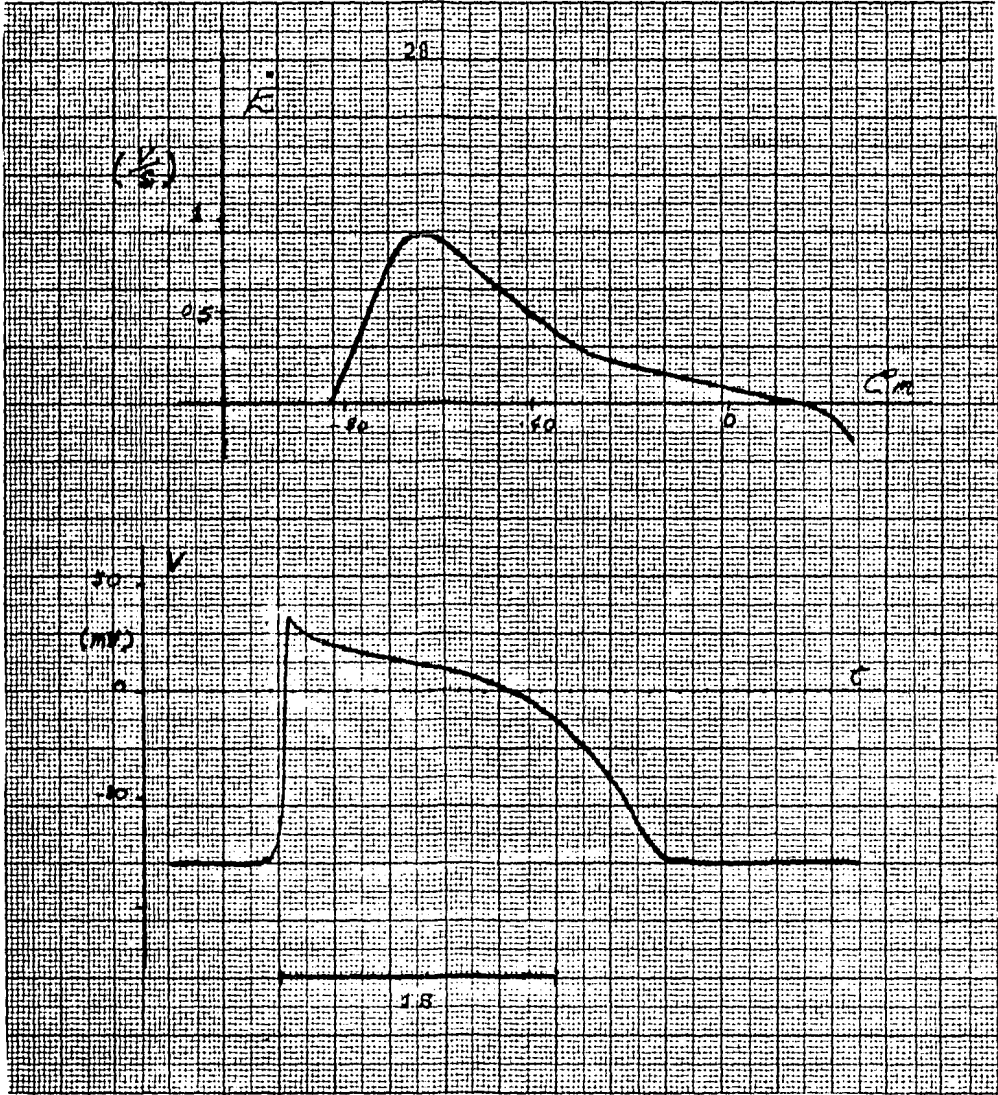


Fig. 12 VARIACION DEL POTENCIAL DE MEMBRANA DURANTE LA REPOLARIZACION

En el trazo superior se ilustra la tasa de cambio del potencial de membrana en función del propio E_m .

En el trazo inferior se presenta el curso temporal del potencial de acción.

Adaptado de WOODBURY, 1962 (195).

gradientes de concentración y de voltaje, tienen el mismo sentido.

En el año 1953 HADJU (75) estimó la cantidad de Potasio que sale de las células durante la actividad del ventrículo de rana, que resultó de 20 pm/cm^3 .

En el año 1956 WILDE, O'BRIEN y BAY (190) lograron suficiente resolución temporal en el registro de eflujo de Potasio desde el corazón de tortuga a bajas temperaturas, para poder confirmar la importante salida de ión Potasio durante el potencial de acción, por lo menos 30 veces más grande que en el nervio.

En relación con esto, WEIDMANN (186) mostró que en el ventrículo de tortuga es posible inducir acortamiento del potencial de acción por aumento del Potasio extracelular durante el mismo ciclo, y planteó la posibilidad de que un aumento transitorio localizado de la concentración de este ión pudiese ser la causa desencadenante de la tercera fase de repolarización, al inducir cambios en las conductancias iónicas en forma directa o a través del potencial de membrana.

En relativo acuerdo con lo anterior, tenemos la comprobación de que es posible inducir acortamiento del potencial de acción con pulsos de corriente repolarizantes, hecha por HOFMANN y CRANFIELD en el año 1958 (85).

En 1960, BRADY y WOODBURY (23) postularon una hipótesis acerca de la repolarización en el ventrículo de rana, basada en el modelo de HODGKIN y HUXLEY, pero con las siguientes peculiaridades:

- 1 - La activación y la inactivación de las conductancias al Sodio tendrían dos componentes, uno rápido y otro lento, cada una.
- 2 - La cinética de la conductancia al Potasio sería igual a la del nervio, pero disminuye con la depolarización en vez de aumentar.

Dentro de este esquema, que permitía predicciones muy ajustadas a los datos experimentales, prácticamente toda la meseta del potencial de acción sería explicada por la existencia de una conductancia al Sodio que se inactiva lentamente.

Poco después HUTTER y NOBLE (87) presentaron otro modelo, muy análogo en términos generales, pero en el que la cinética del Potasio se interpretaba de modo distinto.

Sin embargo, en esos momentos la atención se desplazó fuertemente hacia un problema más fundamental: la pertinencia de las interpretaciones basadas en mecanismos iónicos específicos y en su descripción mediante la electroquímica para soluciones diluidas. En el año 1962, VAN DER KLOOT y RYBIN (180)

así como SINGH (157), presentaron evidencias de que los preparados de miocardio de rana, mantenían su exitabilidad normal; por más de dos horas de perfusión con sacarosa isotónica exclusivamente; lo cual sugería que LOS IONES NO JUGABAN EL PAPEL CENTRAL QUE SE LES HABIA ATRIBUIDO.

Cuatro años más tarde BRADY y TAN (22) lograron demostrar que en realidad este hecho es debido a la extrema lentitud del lavado, y al papel conjunto de varios iones. Los acuciosos estudios realizados para llegar a esta conclusión, aportaron muchos datos de interés en la interpretación de los fenómenos de "memoria", de entre ellos la importancia del balance entre el Sodio y el Calcio, ya señalada por LUTTGAW y NIEDERGERKE (105).

En el año de 1963, NIEDERGERKE (126) (127) demostró que DURANTE LA ACTIVIDAD DEL MIOCARDIO DE RANA OCURRE UN INCREMENTO DE 30 VECES EN EL INFLUJO DEL ION CALCIO RESPECTO AL REPOSO, y además estimó que en cada potencial de acción debería producirse la entrada de aproximadamente 1 nM/g de tejido seco, lo que representaría alrededor de un 2% DE LA CANTIDAD NECESARIA PARA SATURAR TODOS LOS SITIOS de Troponina en la célula.

Tres años después NIEDERGERKE y ORKAND (128) demostraron, también para el ventrículo de rana, que el sobretiro (máximo positivo) en la depolarización del potencial de acción, se deprime por la estimulación repetitiva en alto Calcio, en cambio aumentaba para estimulación a baja frecuencia, lo que sugiere la movilización de este ión durante la depolarización y por tanto su contribución significativa en el desarrollo del potencial de acción.

Estos autores explican el efecto depresor del Calcio durante la estimulación prolongada, al suponer una acumulación progresiva del propio ión, que paulatinamente dispone de menos energía potencial para moverse. Concilian estas ideas con las propuestas para explicar los "fenómenos de escalera" y manejan más abiertamente la noción de "depósitos" de Calcio intracelular, así como su variación para condicionar la respuesta electromecánica del miocardio. Esta hipótesis también da cuenta de los efectos de "facilitación" observados al aumentar la frecuencia de estimulación y activación del bombeo de otros iones.

Dichos trabajos de alguna manera marcaron el límite de cuanto podría avanzarse con métodos indirectos para aclarar la electrofisiología del corazón, que presentaba muchos problemas específicos diferentes a los del nervio.

En este sentido, cabe mencionar la comprobación de que en el ventrículo de rana completo EL CAMBIO DE OPERACION ISOVOLUMICA A ISOVOLUMICA PRODUCE ACORTAMIENTO DEL POTENCIAL DE ACCION, hecha por STAUCH (167) y adecuadamente interpretada como evidencias de retroalimentación de información desde el efector mecánico, ya que el referido efecto aumenta con la

carga. Poco después LAB (100) describió que en el ventrículo de rana el potencial de acción dura más en el lado epicárdico que en el endocárdico, y que LA DIFERENCIA SE ATENUA SI EL VENTRICULO SE DISTIENDE.

También por esa época MASHIMA y MATSUMURA (108) estudian simultáneamente las dependencias térmicas del potencial de acción y de la contracción en el miocardio ventricular de rana, hallando que la duración de éste disminuye al aumentar la temperatura con un Q_{10} de 2 entre 8 y 25 °C, pero que el proceso contráctil no varía en forma directamente proporcional (fig. 13).

La introducción de la técnica de "trampa aisladora", desarrollada inicialmente por STAMPFLI (168) para estudios en el nervio, permitió un avance fundamental en el conocimiento electrofisiológico cardíaco.

En esta técnica, se coloca una tira de miocardio a lo largo de varios compartimientos separados entre sí por diaframas de hule o sellos de vaselina (fig. 14); en uno de los compartimientos hay Ringer normal, y a su nivel las células funcionan normalmente, mientras que en el otro compartimiento las células se depolarizan con alto Potasio y permite inyectar corriente longitudinalmente hacia la porción mantenida en condiciones normales; entre ambos compartimientos uno tercero se perfunde con medio isotónico no conductor, como la sacarosa o glicerol.

El voltaje de membrana se registra mediante un microelectrodo intracelular a nivel de la porción normal de la tira (trampa híbrida) o con dos macroelectrodos externos, uno en la zona normal y otro en un cuarto compartimiento en que la tira se depolariza, separándolo con un quinto compartimiento aislador de la zona normal (doble trampa).

La inyección de corriente necesaria para fijar el voltaje de membrana dentro del valor deseado se efectúa de modo convencional.

De esta forma MASHER y PEPER (107) en fibras de Purkinje y ROUGIER, VASSORT, GARNIER, GARGOUIL y CORABOEUF (148) en trábecula auricular de rana, pudieron registrar directamente las corrientes de membrana en sus trabajos de 1969.

En la aurícula de rana, según se ve en la figura 15, se tiene un registro formado por un componente capacitativo inicial con constante de tiempo entre 0.2 y 5 ms, seguido por un pico de corriente entrante que se produce entre los 70 y 200 ms. a partir de la aplicación del estímulo. Esta corriente exhibe una dependencia característica con respecto al voltaje impuesto a la membrana, con una zona de conductancia negativa entre +20 y +50 mV, y una región de inversión de su sentido para valores próximos a +120 mV, muy cercanos al potencial de

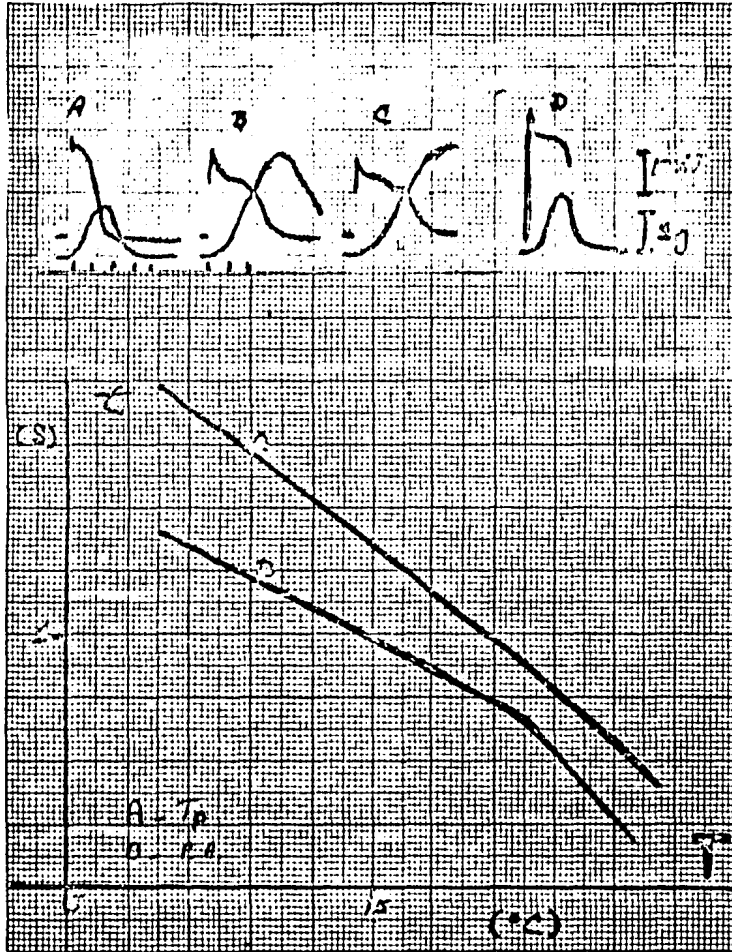


Fig. 13 DEPENDENCIA TERMICA DEL COMPORTAMIENTO ELECTRO-MECANICO DEL MIOCARDIO DE RANA.

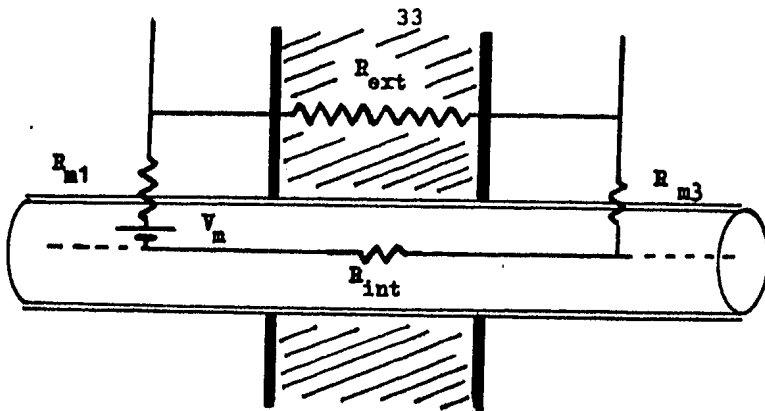
Tira de miocardio ventricular, registro isométrico de fuerza y eléctrico con microelectrodos intracelulares.

Se observa que el Tiempo al Pico sistólico (T_p) se mantiene coincidente con la Duración del Potencial de Acción (PA), y ambos exhiben dependencia térmica diferente a la de la Amplitud, a baja temperatura la contractilidad intrínseca está aumentada.

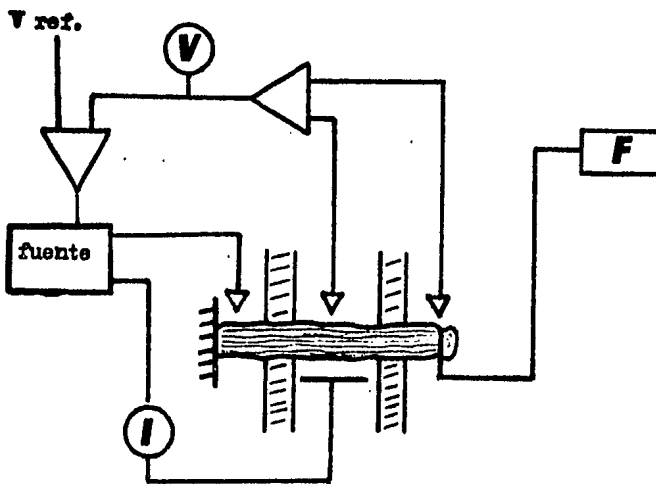
Temperaturas: A : 20, B : 10, C : 5, D : 15

Estimulación a frecuencia basal de $1/10 \text{ s}^{-1}$

Tomado de MASHIMA y MATSUMURA, 1964 (108).



A



B

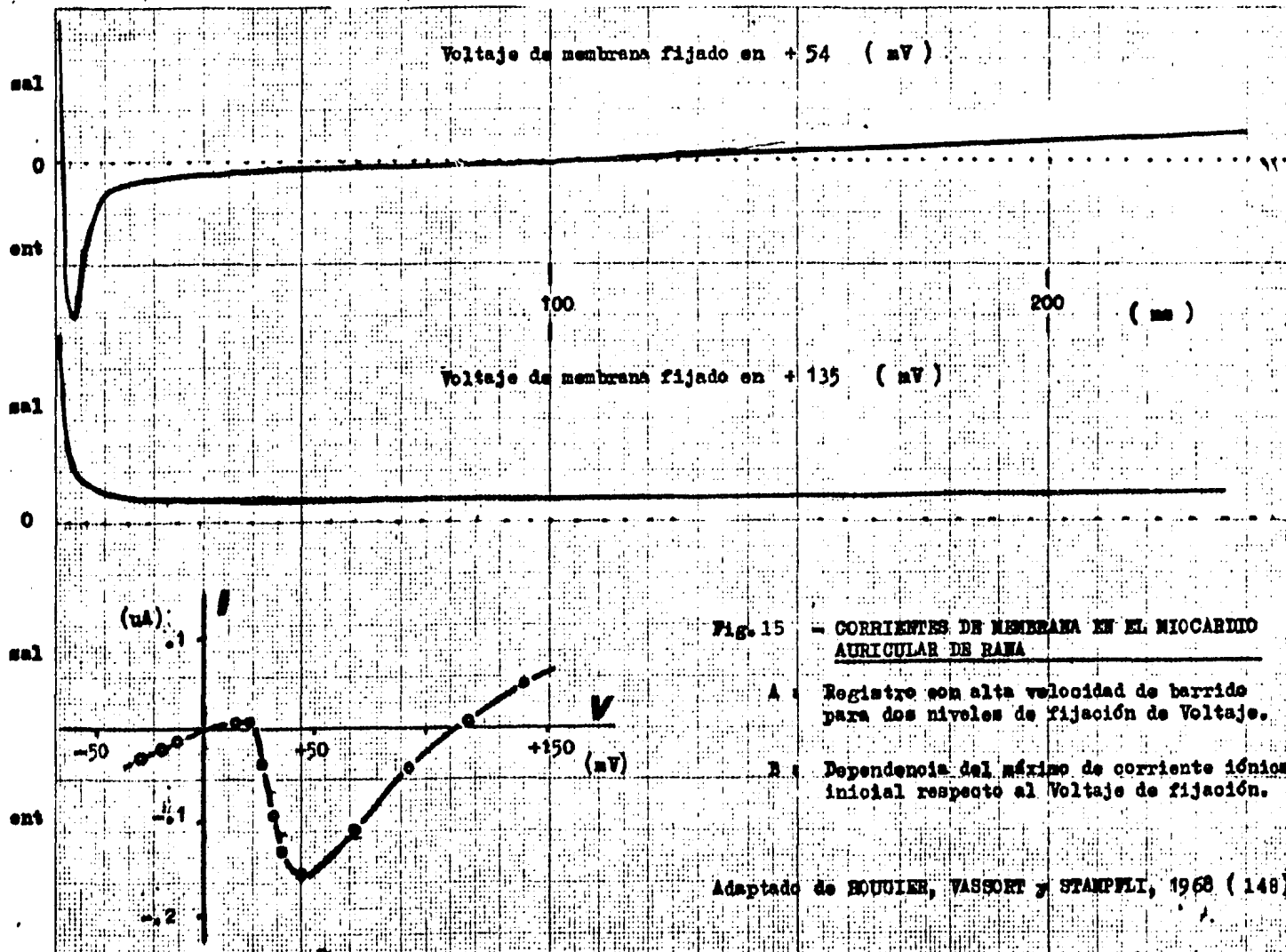
Fig. 14 REGISTRO DE CORRIENTE DE MEMBRANA MEDIANTE LA TECNICA DE TRAMA AISLADORA

A. Circuito equivalente, donde puede verse que el voltaje de salida está definido por:

$$V = V_m \frac{R_{ext}}{R_{ext} + R_{int} + R_{m1} + R_{m3}}$$

B. Montaje en doble trampa aisladora con registro isométrico simultáneo.

Adaptado de TRITHART et al., 1973 (179).



equilibrio del Sodio. Más allá de los 200 ms, únicamente queda una corriente saliente que puede ser abatida por el Tetraetilamonio (TEA) 20 mM, o por el cambio en la concentración de potasio, lo cual comprueba la dependencia con ese ión.

Al aplicar Tetrodotoxina (TTX) 1×10^{-7} g/cm³, se verifica una reducción de la corriente y disminuye su velocidad, junto con un corrimiento de la curva de unos 30 mV hacia la derecha (inversión a +170 mV), todo esto sugiere la supresión del movimiento del ión Sodio por un canal análogo al del nervio, la corriente lenta remanente se anula si se reemplaza totalmente al Calcio por Magnesio, y menos claramente si se utiliza ácido Etildiamintetracético (ÉDTA). A la vez, si se reduce el Sodio y se sustituye por colina, la corriente referida se modifica ligeramente lo que evidencia que por el canal lento se mueve también cierta cantidad de iones Sodio.

De modo que la corriente registrada en presencia de TTX y colina, necesariamente debería circular por un canal no descrito hasta entonces con afinidad preponderante para el ión Calcio. Al mismo tiempo, esta corriente lenta sería responsable de la segunda parte de la repolarización y jugaría un papel importante durante el sostenimiento del platillo, como lo demuestran los registros del potencial de acción incluidos en el mismo trabajo. (figs. 16 y 17).

Al emplear una técnica de "trampa aisladora" muy compleja, GOLDMAN y MORAD (69) publicaron en 1977 una exhaustiva revisión del proceso de repolarización en el miocardio ventricular de rana.

En primer lugar establecieron que efectivamente existe un PROCESO REGENERATIVO INVOLUCRADO EN LA REPOLARIZACION RAPIDA de la tercera fase, y que éste puede inducirse precozmente si se aplican pulsos repolarizantes entre los 30 y 150 ms, para los cuales puede determinarse con precisión los umbrales correspondientes (fig. 18).

En segundo lugar, descartaron la posible participación del acúmulo transitorio extracelular del ión Potasio, ya que este es más importante a nivel de la meseta de potencial de acción, (+15 y -5 mV) que a nivel del pulso de repolarización entre -20 y -30 mV, y pese a ello induce la repolarización rápida precoz. Una consideración análoga les conduce a descartar la posible participación del ión Calcio ingresado a la célula.

En tercer lugar, mediante el uso de la TTX pudieron descartar la participación del canal rápido de Sodio en la génesis del platillo del potencial de acción.

En cuarto lugar, obtuvieron clara evidencia de que durante la fase 2 y 3 de repolarización existe relación lineal entre la corriente y el voltaje instantáneo de membrana

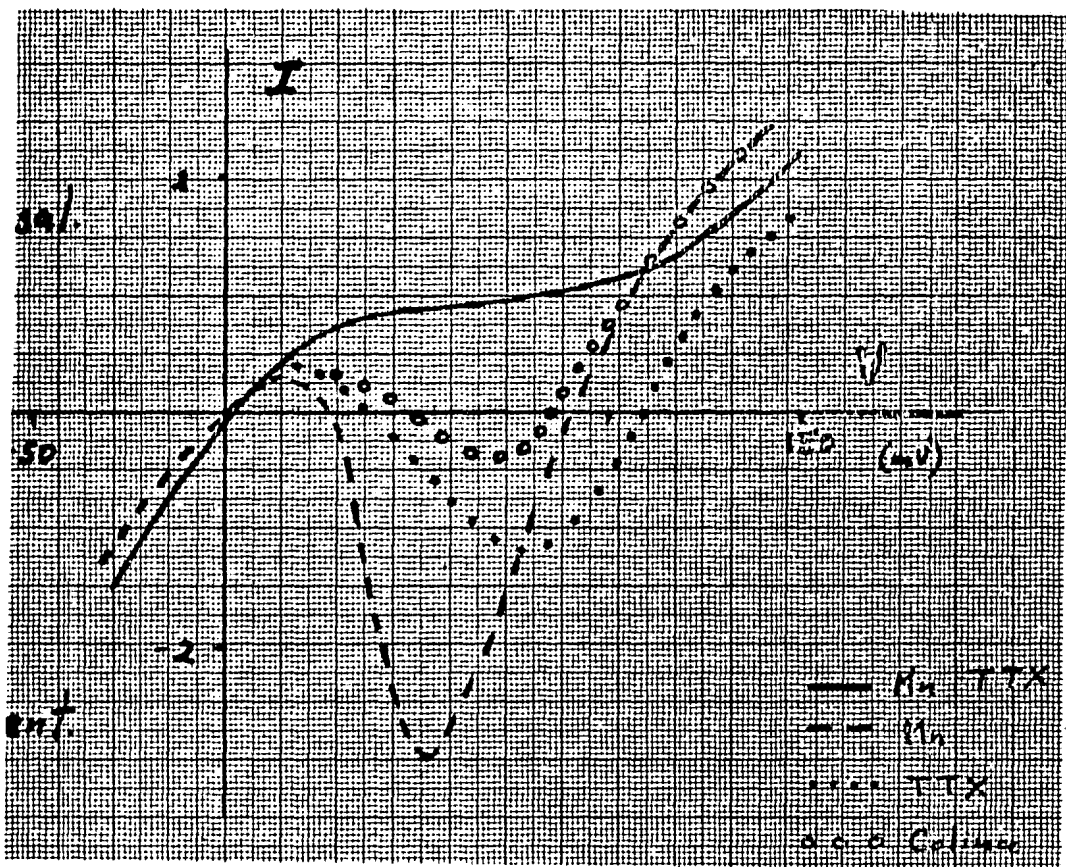


Fig. 16 CORRIENTE DE MEMBRANA EN EL MIOCARDIO AURICULAR DE RANA EN DIFERENTES SOLUCIONES

La grafica se obtuvo a partir de registros con técnica de doble trampa de sacarosa.

Las corrientes negativas corresponden al sentido entrante.

El trazo continuo 'Mn y TTX' corresponden a las corrientes de pérdida y de Potasio, que deben ser sumadas algebraicamente a las demás.

La curva 'TTX' corresponde a la corriente lenta de Sodio y Calcio una vez bloqueado el canal rápido de Sodio.

Adaptado de ROUGIER et al., 1968 (148).

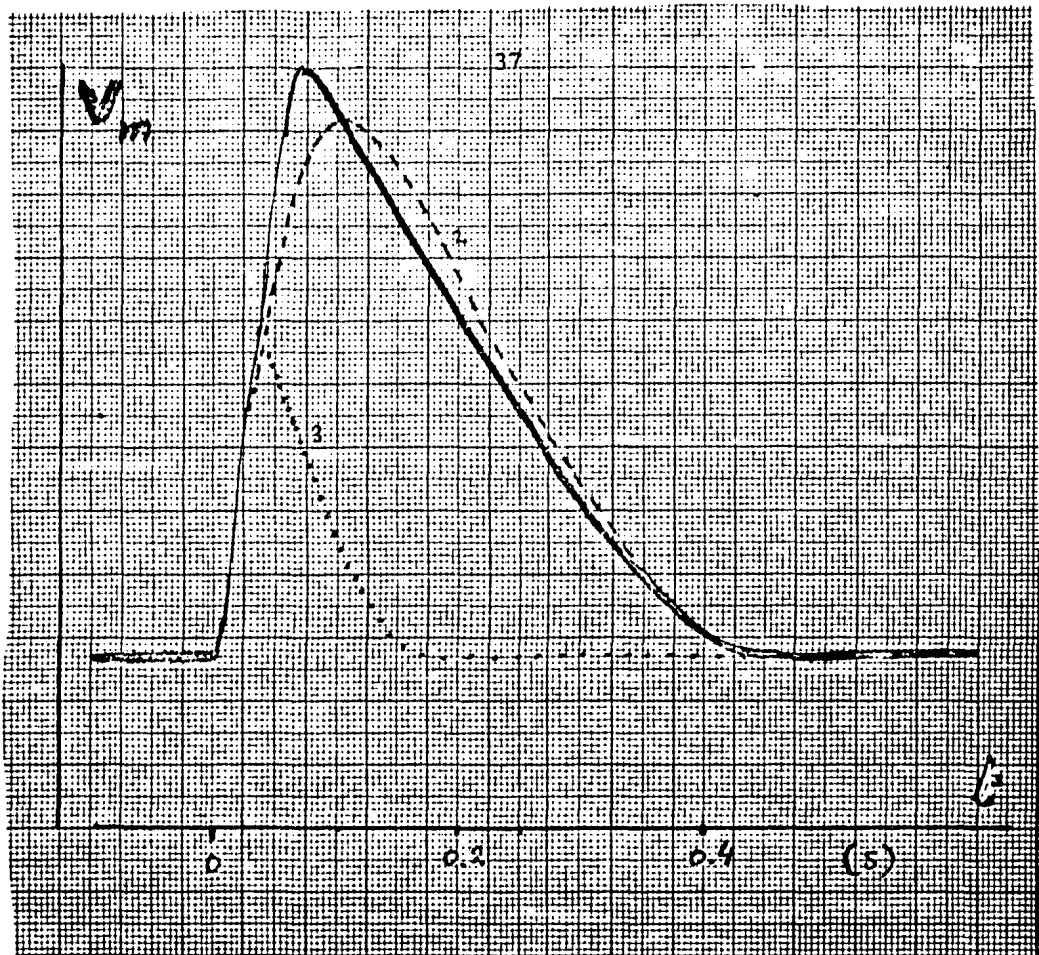


Fig. 17 MODIFICACIONES DEL POTENCIAL DE ACCION DEL MIOCARDIO AURICULAR DE RANA POR BLOQUEO DE LOS CANALES IONICOS.

Registros efectuados con la técnica de doble trampa de sacarosa sobre los mismos preparados en que se midieron las corrientes iónicas de membrana.

Nótese que en presencia de TTX se enlentece la depolarización inicial y disminuye el sobretiro del potencial, pero se mantiene la meseta (2).

Si al bloqueo con TTX se agrega la acción del Mn, bloqueo del canal de Calcio, desaparece también la meseta y resta únicamente una pequeña y breve depolarización producida por el ión Sodio que entra por el canal lento (3).

Adaptado de ROUGIER et al. 1968 (148).

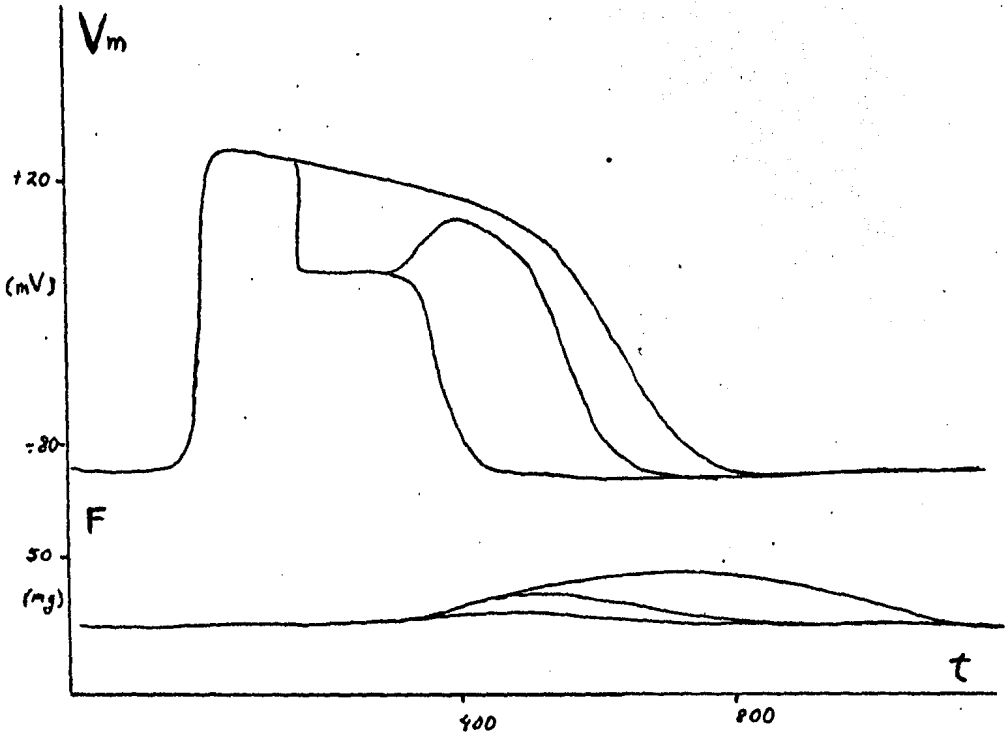


Fig. 18 VERIFICACION DE LA EXISTENCIA DE UN UMBRAL PARA DESENCADENAR LA REPOLARIZACION PREMATURA MEDIANTE UN PULSO ASEGURADOR DE VOLTAJE DE MEMBRANA

Técnica de doble trampa de sacarosa con guarda adicional, y registro isométrico de fuerza.

se aplica un pulso de 50 ms de duración que fija el voltaje de la membrana en un nivel variado a los 35 ms del estímulo, si el E_m rebasa determinado valor límite, el Potencial de Acción se termina preaturamente.

Adaptado de GOLDMAN y MORAD, 1977 (69).

(fig. 19), lo que sugiere que los sistemas de transporte iónico pueden ser descritos en términos de conductancias óhmicas, y por lo tanto permitir el reconocimiento de las especies involucradas (70).

En quinto lugar, evidenciaron que LA CONDUCTANCIA TOTAL DE LA MEMBRANA NO CAMBIA A LO LARGO DE LAS FASES 2 y 3 DE REPOLARIZACIÓN, manteniéndose en un valor 3 veces menor que el de reposo, y que existe un estricto valance entre una corriente entrante de Sodio y una saliente de Potasio, junto a otra entrante de Cloro pero, de menor importancia (69).

En efecto, sus cálculos plantean un problema nuevo que requiere otras técnicas (¿"patch-clamp"?) para dilucidarlo: si realmente existen dos canales diferentes que obedecen a una cinética específica o si existe un único canal cuya especificidad va cambiando (fig. 20),

GOLDMAN y MORAD aportaron además datos muy importantes acerca del papel del ión Cloro, cuya conductancia específica representaría el 20% de la total y cuya corriente durante un potencial de acción sería suficiente para reducir a la mitad su duración, de aquí el notable efecto prolongante al substituir el ión Cloro por Sulfato.

Ellos reportan un resultado sorprendente: LA CONDUCTANCIA TOTAL NO CAMBIA SIGNIFICATIVAMENTE CUANDO SE REMUEVE AL ION CALCIO DEL MEDIO. Aunque este dato debe merecer cierta reserva, porque el potencial de acción no se prolonga tanto como se observa en condiciones habituales. Sin embargo, sus cálculos parecen concluyentes en cuanto a excluir la posibilidad de que fuese una disminución en la conductancia para el Calcio la causa central de repolarización (70).

2.2. MODIFICACIONES DEL POTENCIAL DE ACCION POR CAMBIO EN EL PATRON DE ESTIMULACION

La dependencia de la duración del intervalo Q-T del electrocardiograma respecto a la frecuencia cardíaca en el hombre, fue bien establecida en el año 1920 por BAZETT (9):

$$QT = (0.386) \sqrt{(RR)}$$

En el batracio se cumple una relación similar, pero solamente con el uso de la técnica de microelectrodo intracelular se puede definir con precisión el comportamiento a nivel celular. En el año 1955, CARMELIET (34) estudió la duración (D) del potencial de acción en ventrículo de rana como función del período (T) de la frecuencia, resumiendo los resultados en la

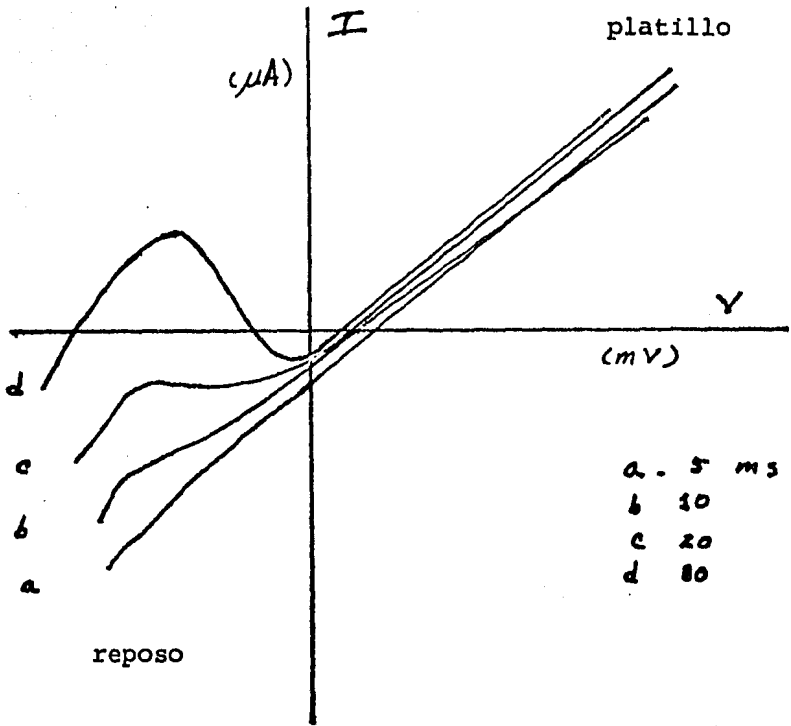


Fig. 19 APLICACION DE PULSOS DE FIJACION DE VOLTAJE CON EXTREMO CONTROL DURANTE EL PLATILLO.

Obsérvese que la conductancia de la membrana es mayor durante el reposo que durante el platillo.

Las letras indican la duración del pulso de voltaje

Tomado de GOLDMAN y MORAD, 1977 (69).

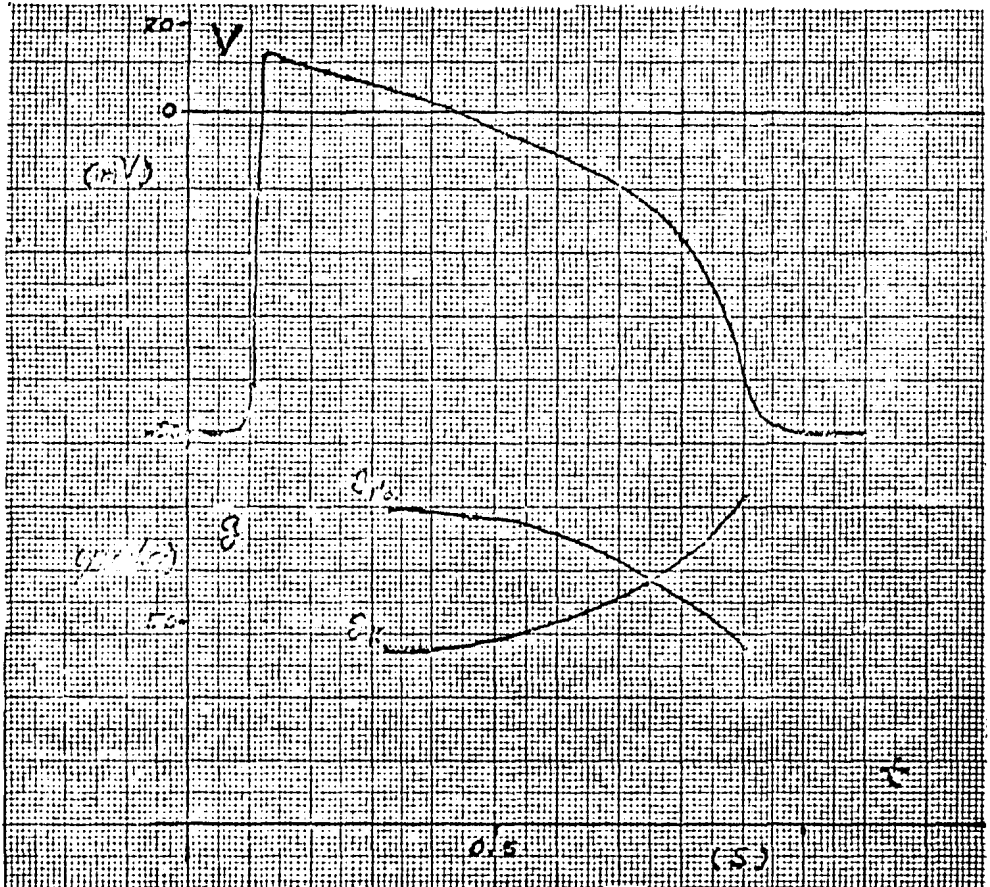


Fig. 20 CINETICA ESTIMADA DE LAS CONDUCTANCIAS AL SODIO Y AL POTASIO DURANTE UN POTENCIAL DE ACCION DE VENTRICULO DE RANA

Las conductancias se calcularon suponiendo un $E_{Na} = 60$ mV y de -100 mV para el E_K . Se observa que las variaciones en las conductancias a estos iones son muy graduales durante la meseta, y más rápidas hacia la fase inicial rápida de repolarización.

Las conductancias siguen un curso casi especular entre sí.

La corriente saliente del ión Potasio estimada, sería del orden de $5\mu A/cm^2$, que sería suficiente para repolarizar totalmente a la membrana en 20 ms.

expresión:

$$D = D_{\infty} (1 - e^{-kT})$$

donde D_{∞} indica el valor asintótico de la duración para períodos basales (T) del orden de 5 s, dicha duración es del orden de 850 ms, mientras que la constante k tiene un valor de 0.85 s^{-1} . La interpretación de CARMELIET se basa en suponer que la ocurrencia de una activación determina un cambio transitorio en la conductancia de la membrana al Potasio, tal que un nuevo potencial de acción tendría una duración acortada en un monto proporcional a la intensidad del referido cambio, indicado por X , el cual DISMINUYE EN FORMA EXPO-NENCIAL a medida que el segundo potencial de acción se sitúa más lejos en el tiempo:

$$X = X_0 \cdot E^{-kt}$$

Dentro de una frecuencia basal estacionaria, en cualquier instante se suman las contribuciones "abreviantes" de todas las actividades previas, y sí se admite QUE DICHA SUMACION SEA LINEAL SIMPLE, se tiene:

$$X = X_0 \cdot e^{-kt} + X_0 \cdot e^{-k(t+T)} + \dots + X_0 \cdot e^{-k(t+nT)}$$

para $t = nT$

$$X_{nT} = X_0 \cdot \frac{e^{-knT} - e^{-kt}}{1 - e^{-kt}}$$

para $n \rightarrow \infty$ se tiene:

$$X_{nT} = X_0 \frac{1}{1 - e^{-kT}}$$

Como la duración (D) se supone inversamente proporcional a la intensidad del cambio X :

$$D = \frac{1}{X_0} (1 - e^{-kT})$$

$$D = D_{\infty} (1 - e^{-kT})$$

Poco después CARMELIET y LACQUET (37) mostraron que los dos parámetros de esta función varían en forma lineal descendente con el cambio de la concentración extracelular del ión Potasio (fig. 21). Asimismo, ellos observaron que el acortamiento del potencial de acción al aumentar la frecuencia se hace principalmente a expensas de la meseta.

Al partir de la observación de HAJDU (75) realizada en el sentido de que cada activación pierde $1/400$ del Potasio celular y que éste se distribuye en un compartimiento extracelular de aproximadamente 30% del volumen total, predicen un aumento de la concentración externa del orden de 0.6 mM o sea de 32% de su valor normal.

Si este aumento transitorio de la concentración externa interfibrilar de Potasio se extinguiese con una constante k igual a la observada en la función $D = f(T)$, dicha concentración se hallaría en el instante previo a una sístole basal en el valor 3.68 mM, por ejemplo para una frecuencia de T igual a 0.55 s, y esto determinaría un acortamiento de sólo el 23%, mientras que el observado es de 66%. De manera que un aumento transitorio en la concentración externa de Potasio únicamente explicaría $1/3$ del acortamiento que produce la frecuencia.

CARMELIET y LACQUET formularon entonces la hipótesis de que el ión Potasio salido de la célula no se difunde uniformemente en todo el espacio interfibrilar, sino que de alguna manera su distribución queda restringida a una zona inmediatamente adyacente a la membrana, por lo que su concentración externa resulta más elevada.

Sin embargo, existiría cierto grado de inconsistencia en la información obtenida por este grupo de investigadores, pues en un trabajo de CARMELIET y BOULPAEP (35) se estudia el curso temporal de un potencial de acción asociado por intervalos variables a otro potencial previo, producido luego de un reposo de muchos minutos (para borrar todo condicionamiento) pero la rapidez de extinción es mayor que la hallada para la función $D = f(T)$.

Esto resalta un hecho muy importante: durante las transiciones por cambio de frecuencia, por intercalamiento de extrasístoles o por decalamiento, ocurren efectos transitorios diferentes a los procesos elementales supuestos durante un ritmo estacionario o al menos se comportan en forma diferente.

El posible papel de la acumulación extracelular del ión Potasio había sido ya demostrado en el año 1957 por WEIDMANN (186) y continúa aceptándose para el miocardio de rana aunque en 1976 KLINE y MORAD (96) registraron la actividad iónica extracelular, y en 1978 los mismos autores aportaron aún mayor evidencia en este sentido. (97).

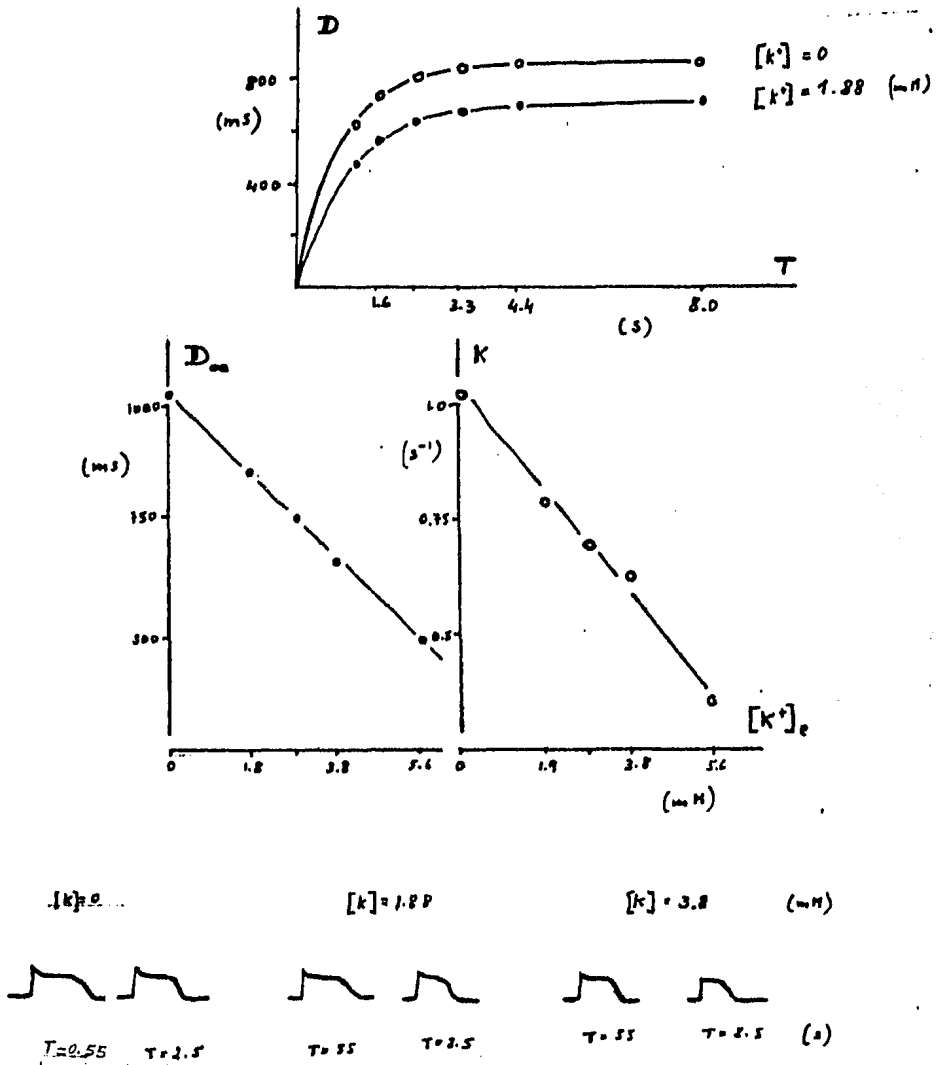


Fig. 21 EFECTO DEL CAMBIO DE LA CONCENTRACION DE POTASIO SOBRE LA DEPENDENCIA DE LA DURACION DEL POTENCIAL DE ACCION RESPECTO A LA FRECUENCIA BASAL.

Miocardio ventricular de rana. Registro con micro-electrodos. En los registros de la línea inferior se destaca el que el acortamiento ocurre principalmente a expensas de la meseta.

Tomado de CARMELIET y LACQUET, 1958 (37).

Pero antes de resumir estos resultados conviene considerar la proporción entre la duración del potencial de acción y la duración total del período para cada frecuencia, como se deduce de la ecuación de CARMELIET y se muestra en la figura 22, a medida que aumenta la frecuencia es cada vez mayor el porcentaje de tiempo que la membrana se haya depolarizada; para una frecuencia límite de 2 Hz, dicho porcentaje alcanza el valor de 62%: la membrana está más tiempo depolarizada que polarizada y en este intervalo aparece contractura parcial intersistólica.

Los resultados de KLINE y MORAD (97) muestran que existe acumulación del ión Potasio (figs. 23a y b) detectable para períodos que aún no producen acortamientos apreciables del potencial de acción. Para un período de 667 ms, con frecuencia de 1.5 Hz, existe acortamiento asociado a un aumento de más del doble en la actividad del ión Potasio extracelular, lo cual se aproxima a las predicciones de CARMELIET y LACQUET.

Pero el hecho central de su trabajo consiste en mostrar la existencia de una DEPOLARIZACION ASOCIADA A LA ACTIVIDAD RAPIDA, que llega a ser de 20 mV para frecuencias de 1.5 Hz. Previamente NIEDERGERKE y ORKAND (128) también habían reportado este hecho, pero KLINE y MORAD son los primeros en presentar una gráfica completa. (fig. 24).

El aumento transitorio de la actividad extracelular del ión Potasio, asociado a la ocurrencia de un potencial de acción que estos autores registran es superior al 50% de lo normal, sistemáticamente más alto que lo previsto por CARMELIET y LACQUET.

En condiciones que prolongan el potencial de acción, como bajas temperaturas o bajo Calcio, la actividad iónica del Potasio puede alcanzar un valor doble de lo normal.

Poco antes de estas observaciones BRUM, ALVAREZ, BARRIOS y RIOS (28) habían obtenido resultados concordantes estudiando los postefectos de corrientes depolarizantes en miocardio ventricular de rana.

Como ilustra la figura 25, dichas corrientes determinan tres efectos sobre los potenciales de acción posteriores:

- 1 - Reducción de amplitud
- 2 - Acortamiento de duración
- 3 - Depolarización remanente

La extinción del efecto de acortamiento sigue cinética de primer orden, con constante de tiempo de alrededor de 37 s para frecuencias basales de estimulación de $1/20 \text{ s}^{-1}$ o menos. A su vez la depolarización remanente se extingue con igual cinética, pero de constante de tiempo más breve: 18 s, y un comportamiento análogo del potencial de membrana puede observarse por cambio de una frecuencia relativamente alta a otra menor (ver fig. 26).

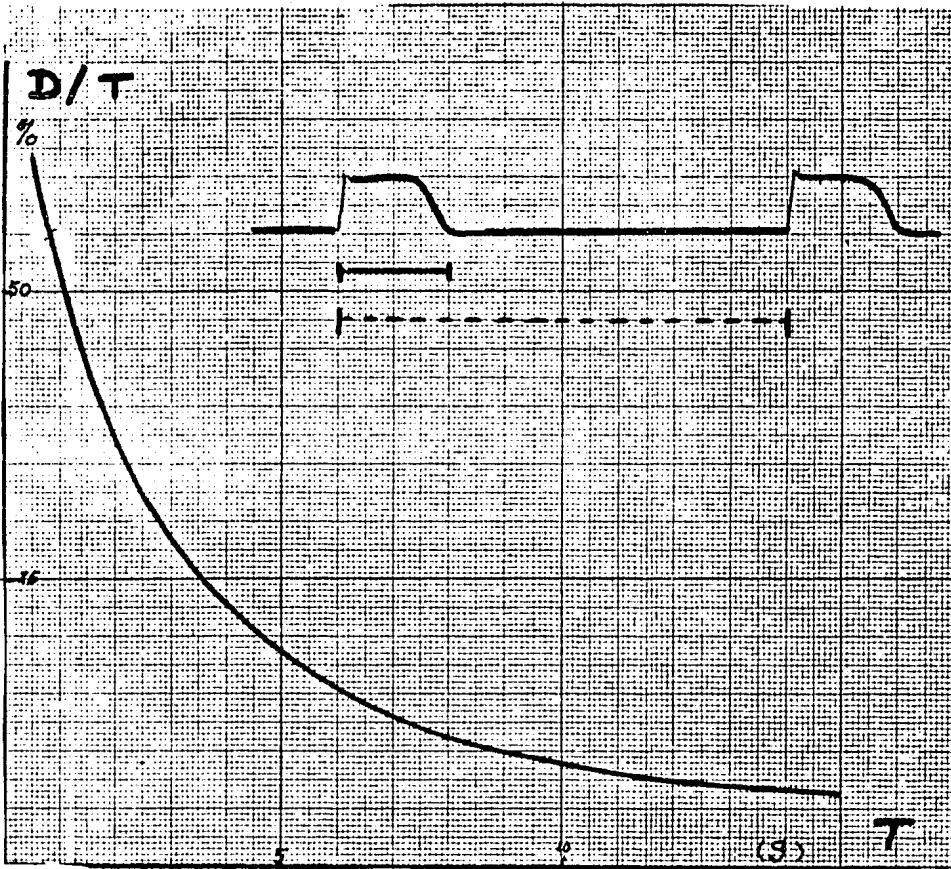


Fig. 22 PROPORCION ACTIVIDAD/REPOSO EN EL MIOCARDIO VENTRICULAR DE RANA PARA DIFERENTES FRECUENCIAS DE ESTIMULACION A RITMO FIJO.

$$D = (0.9) \cdot (1 - \exp.(- (0.85) \cdot T))$$

Repárese en que para Frecuencia de 1 c.p.s. ($T=1s$) son prácticamente iguales los tiempos de actividad y reposo.

Calculada sobre los datos de CARMELIET y LAQUET (37).

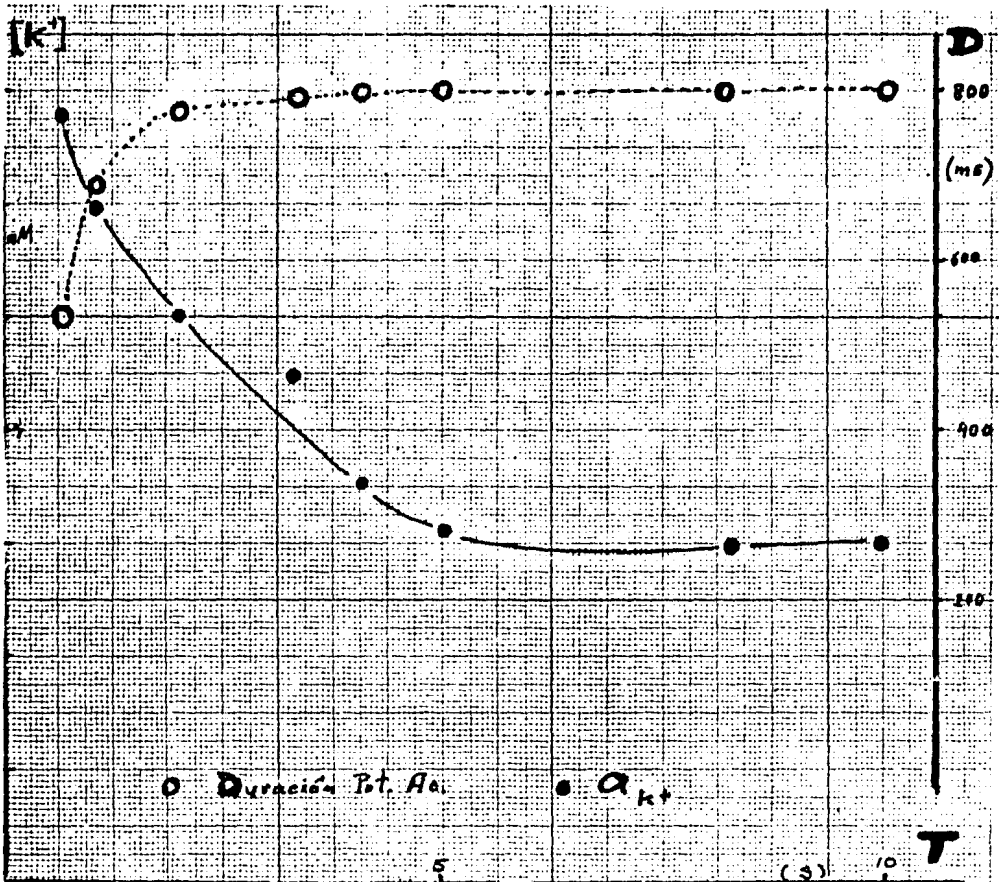


Fig. 23 ACUMULACION DEL ION POTASIO EN EL ESPACIO EXTRACELULAR AL AUMENTAR LA FRECUENCIA DE ESTIMULACION CON UN RITMO FIJO

Tira de miocardio ventricular de rana a 22 °C, Ca = 0.2 mM
 Registro con microelectrodos especificos para Potasio
 Frecuencia de 2 Hz, se ve que existe ya un aumento de-
 detectable en la concentración de Potasio.

Adaptado de KLINE y MORAD, 1978 (97).

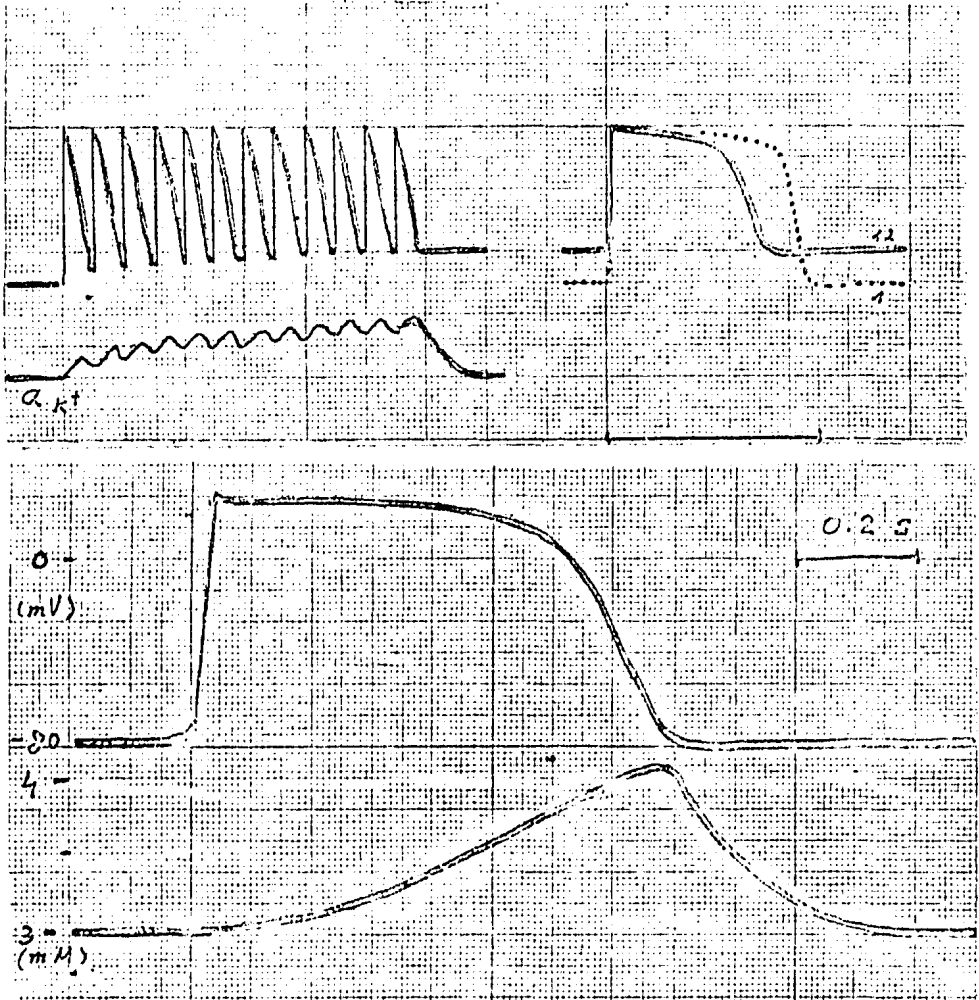


Fig. 23b MODIFICACION DEL POTENCIAL DE ACCION Y ACUMULACION EXTRACELULAR DE POTASIO EN VENTRICULO DE RANA

Tren de 12 sístoles a frecuencia de 0.8 Hz, $T = 1.25$ s
 La superposición de los potenciales de acción muestra el apreciable cambio de duración así como el cambio de potencial de reposo.

El registro de actividad del Potasio muestra un efecto de escalera.

Adaptado de KLINE y MORAD, 1978 (97).

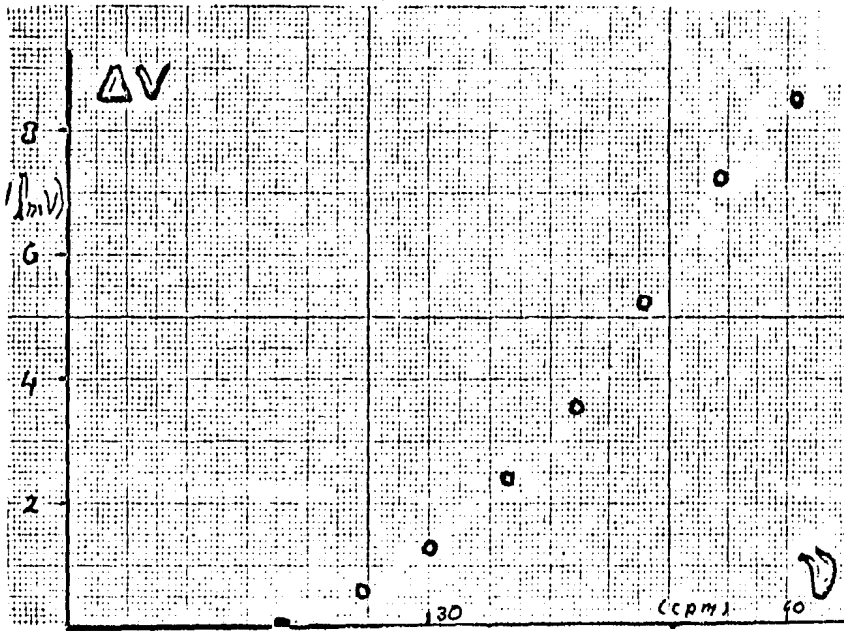


Fig. 24 DEPOLARIZACION DIASTOLICA ASOCIADA A LA ACTIVIDAD CON ALTA FRECUENCIA

Tira de miocardio ventricular de rana a 22 °C.

Grafica obtenida de registros con microelectrodo intracelular, 5 minutos de estabilización previos para cada frecuencia, Ca = 0.2 mM.

Tomado de KLINE y MORAD, 1978 (97).

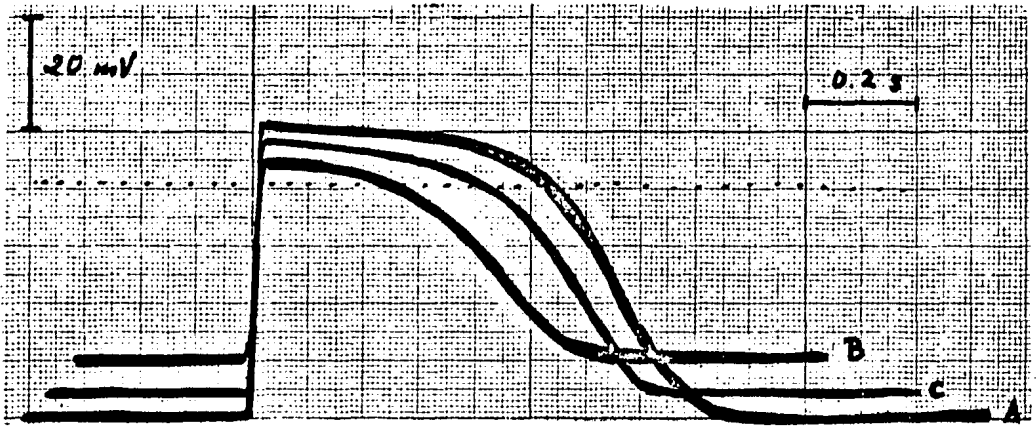


Fig. 25 POST-EFECTOS DE UN CURSO DE CORRIENTE DEPOLARIZANTE SOBRE LOS POTENCIALES DE ACCION POSTERIORES.

Tira de miocardio ventricular de rana, registro y polarización mediante doble trampa de sacarosa. $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Frecuencia basal $1/20\text{ s}^{-1}$. Pulso de $15\text{ }\mu\text{A}$ durante 5 s.

- A. Superposición de dos potenciales previos al curso
- B. Primer potencial basal siguiente al pulso, 10 s de separación.
- C. Tercer potencial basal luego del pulso, 50 s de separación.

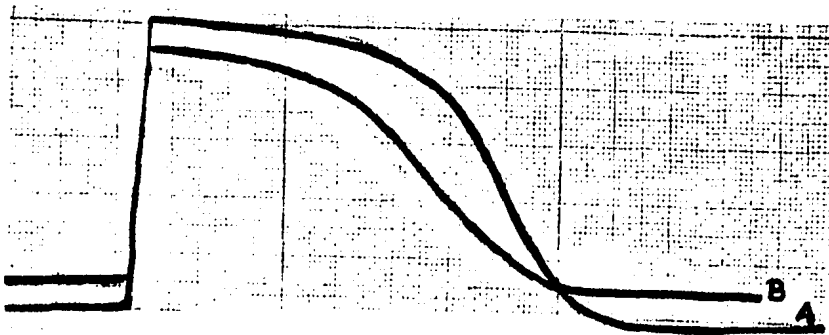


Fig. 26 CAMBIOS DEL POTENCIAL DE ACCION DURANTE UN ESCALON DE LA FRECUENCIA BASAL.

- A. Registro luego de 5 minutos a $1/20\text{ s}^{-1}$.
- B. Registro a la frecuencia previa de $1/1.7\text{ s}^{-1}$.

Adaptado de BRUM et al., 1977 (28).

BRUM *et al.* concluyeron que la reducción de la duración del potencial de acción inducida por ambos mecanismos, tendría como base común una discreta depolarización, del orden de 10 a 20 mV, debida a la acumulación externa y próxima a la membrana, del ión Potasio.

Sin embargo, el cuerpo de evidencia hasta aquí expuesto acerca de tal posibilidad resulta parcialmente contradictorio con las verificaciones casi simultáneas de GOLDMAN y MORAD (68) acerca de la repolarización regenerativa en el miocardio ventricular de rana. Una alternativa eventual con ciliatoria sería la posibilidad de que el mecanismo de acumulación extracelular de Potasio REVISTIESE SIGNIFICACION UNICAMENTE A NIVEL DE LAS ZONAS CENTRALES DE LA TIRA, Y QUE LA REPOLARIZACION PREMATURA INDUJERE ELECTROTONICAMENTE REPOLARIZACION REGENERATIVA DE LAS ZONAS MAS SUPERFICIALES, cuya impedancia durante el platillo es mayor que durante el reposo.

Sin embargo NIEDERGERKE en su trabajo clásico del año 1956 (123) describió un único curso temporal (fig. 4). Para frecuencias algo menores $1/3 \text{ s}^{-1}$, y asimismo MAZZELLA, CARLEVARO y GARCIA MULLIN (111), en el año 1958, describieron el curso descendente monótono de la duración del potencial a lo largo de la escalera, también trabajando a frecuencias relativamente bajas, $1/5 \text{ s}^{-1}$.

Una descripción formal de la dependencia básica de la duración del potencial de acción para una sístole intercalada en un ritmo basal fue efectuada por GARCIA MOREIRA y CARLEVARO (61) en el año 1965, utilizando la técnica de NIEDERGERKE y la misma frecuencia basal:

$$D_I = D_\infty - (D_\infty - D_T) \cdot I^{-\alpha}$$

donde D_∞ y D_T tienen el significado habitual, I es el intervalo y α una constante adimensional que vale 0.675 para la frecuencia basal mencionada.

En igual forma, aún para escaleras durante las cuales la fuerza sistólica sigue un curso complejo, como en la 'potenciación transitoria', GARCIA MOREIRA y CABEZUDO (59) describieron un curso monótono para la duración del potencial de acción.

En el miocardio de mamífero el comportamiento es muy diferente, porque el potencial de acción puede ser más prolongado que el basal, como lo demostraron BONNET SEDANE (17) y GIBBS, JOHNSON y TILLE (66), pero el siguiente potencial puede estar muy acortado: 'inhibición post-extrasistólica'.

Estos últimos autores utilizaron por primera vez el término de MEMORIA, para referirse a la retención de información que implica este fenómeno, y propusieron un modelo según el cual el área del potencial sería una función lineal del producto de dos variables independientes: M y N.

$$\text{Area} = A + B \cdot N \cdot M \quad A \text{ y } B, \text{ constantes numéricas}$$

N sería incrementada en un monto ΔN durante cada potencial de acción, y disminuiría durante el reposo con una cinética descrita por:

$$-\frac{dK}{dt} = b \cdot K$$

Los incrementos sistólicos ΔN y ΔK a su vez serían funciones monótonas crecientes del tiempo transcurrido desde el estímulo previo:

$$\Delta N = 1 - \exp. \left(-\frac{t - z \cdot D}{c} \right)$$

$$\Delta K = 1 - k \cdot K$$

donde z, c y u son constantes numéricas y D la duración del potencial previo.

Así, el valor de la variable N al instante t se definiría como:

$$N_t = N_0 \cdot \exp. \left(-(a/b) K_0 (1 - e^{-bt}) \right)$$

Por su parte la variable M cambiaría lentamente al disminuir una pequeña cantidad durante cada potencial de acción, pero regenerándose en todo momento según:

$$\frac{dM}{dt} = \phi \mu (1-M)$$

$$\frac{dM}{dt} = C.M. (1-\mu)$$

Esta descripción cuantitativa permite un buen ajuste a los resultados experimentales en miocardio de conejo, pero incluye demasiados parámetros cuyo valor numérico se ajusta arbitrariamente.

Trece años después se propuso una modificación de este planteamiento para el caso del miocardio de rana, por parte de ANDERSON y JOHNSON (5); nos detendremos brevemente en su exposición.

En primer lugar, estos autores prefieren referirse a la integral voltaje-tiempo (área) del potencial de acción, para incluir tanto los cambios de duración como los cambios discretos de forma de amplitud.

Su esquema experimental considera dos tipos básicos de curva:

- 1 - Area = f (Intervalo) para una sístole intercalada
- 2 - Area = f (Intervalo) para una segunda extrasístole previa que tiene un intervalo fijo con la basal anterior.

En la figura 27 se muestran estas curvas tanto en la rana como en mamífero, pudiéndose apreciar la notable diferencia que existe.

La proposición de ANDERSON Y JOHNSON reemplaza al factor N por otro factor S con diferentes propiedades, básicamente un acortamiento respecto a un valor b, característico de la frecuencia de estimulación y una disminución $-\Delta S$ asociada a cada potencial en vez del incremento ΔN :

$$\frac{dS}{dt} = a \cdot (b - S)^2$$

de modo que el curso temporal de S se define como:

$$S = \frac{S_0 + (a \cdot b) \cdot (b - S_0) \cdot t}{1 + a \cdot (b - S_0) \cdot t}$$

A. Esquema del procedimiento experimental que considere extrasístoles simples (.) a intervalo variable, o extrasístoles apareadas () luego de intervalo variable a una extrasístole fija.

B. Ventrículo de conejo a 37 °C

Frecuencia basal $1/3.2 \text{ s}^{-1}$, posición de la primera extrasístole: 200 ms

C. Ventrículo de rana a 23 °C

Frecuencia basal $1/5 \text{ s}^{-1}$, posición de la primera extrasístole:

900 ms
+ 1000
1250

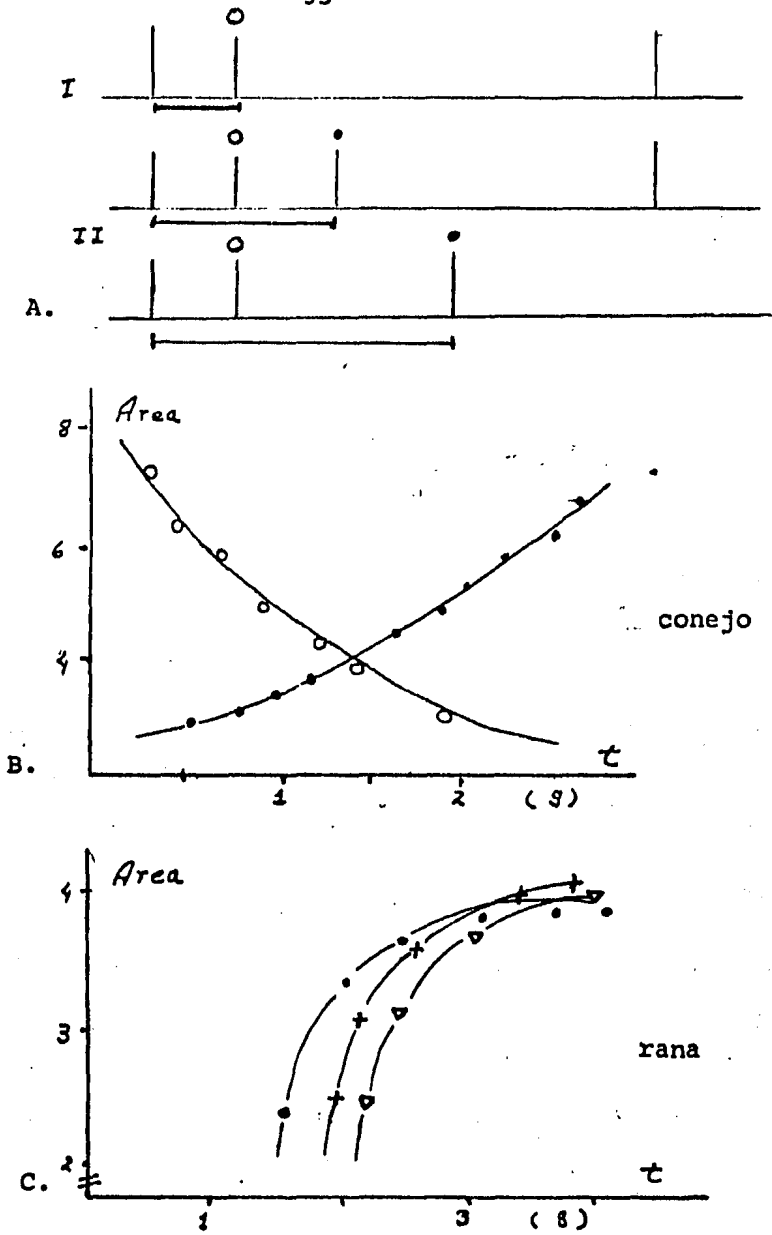


Fig. 27 DESCRIPCION DE LOS EFECTOS DE MEMORIA SOBRE EL AREA DEL POTENCIAL DE ACCION

***Acoplamiento Excitación-
Contracción***

3. ACOPPLAMIENTO EXCITACION CONTRACCION

El miocardio presenta a este respecto dos diferencias sustanciales con el músculo esquelético, a saber:

- 1 - La duración del potencial de acción controla estrictamente la duración de la contracción.
- 2 - La entrada directa del ión Calcio desde el exterior celular juega un papel central.

Y a lo anterior se añade, en el caso del miocardio de rana lo siguiente:

- 3 - Carencia de un sistema retículo sarcoplásmico bien organizado y abundante.
- 4 - Ocurrencia de cambios transitorios pero muy marcados en la disponibilidad intracelular de AMP-cíclico.

Desde el año 1883 RINGER (142) demostró que la supresión del ión Calcio en el medio externo, suprime la contractilidad cardíaca, pero en el año 1913 MINES (116) demostró que la excitabilidad se mantiene e incrementa bajo dicha circunstancia, existe pues una clara distinción entre ambas propiedades fisiológicas.

El papel del ión Calcio como agente de acoplamiento entre ambas propiedades fue demostrado por WEIDMANN (187) en el año 1959, mediante la inyección rápida del mismo luego de iniciada la activación en un corazón de tortuga enfriado; el cambio de inotropismo observado en la misma sístole indica que el Calcio actúa después de iniciada la excitación.

Paralelamente, MOULIN y WILBRANDT (121), así como PAYNE y WALSER (39), y MARTINEZ y MAZZELLA (106) demostraron que dicho ión produce alteraciones nítidas del fenómeno de escalera en el miocardio de rana, y sugirieron que esto podría significar un papel del mismo ión, asociado, pero no restringido a su acción sobre el sistema de acto-miosina, descrito en el año 1953 por SZENT-GYORGYI (173).

En tal sentido existían evidencias previas aportadas por BORNSTEIN desde el año 1906 (18) y por TRAUTWEIN y ZINK (177) desde 1952, acerca de la cinética de difusión del ión y su efecto fisiológico.

Sin embargo, es en el trabajo clásico de NIEDERGERKE (123) del año 1956 donde se postula con total claridad la hipótesis de que una entrada del ión Calcio durante el potencial de acción produzca la actividad contráctil del miocardio, basándose sobre todo en la rapidez y reversibilidad de los cambios de contractilidad producidos por dicho ión (fig. 28).

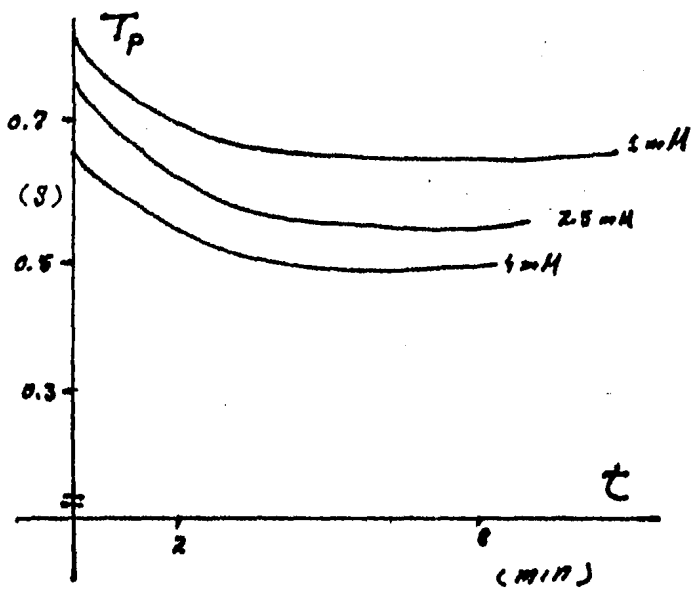
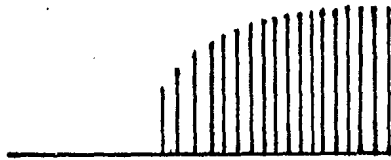
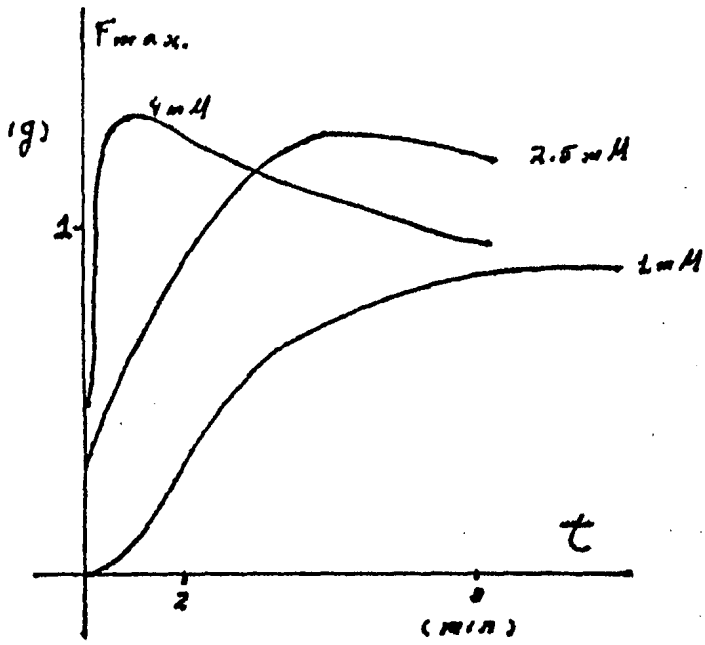
**Fig. 28 - MODIFICACION DE LAS ESCALERAS DE CONTRACCION
POR CAMBIO EN LA CONCENTRACION DE CALCIO, EN
MIOCARDIO DE RANA.**

Tira de ventrículo, registro de Fuerza isométrica,
Frecuencia de Estimulación: $1/3 \text{ S}^{-1}$.

Las gráficas corresponden a las envolventes de trenes de contracciones a Frecuencia constante, luego de un período de reposo de 20 minutos, precedido por estabilización a la misma Frecuencia.

Nótese que para altas concentraciones de Calcio los Tiempos al Pico de las contracciones se hallan notablemente acortados, pero siguen un curso temporal análogo. Mientras que la Fuerza cambia considerablemente su curso y da lugar a una escalera negativa.

Adaptado de NIEDERGERKE, 1956 (123).

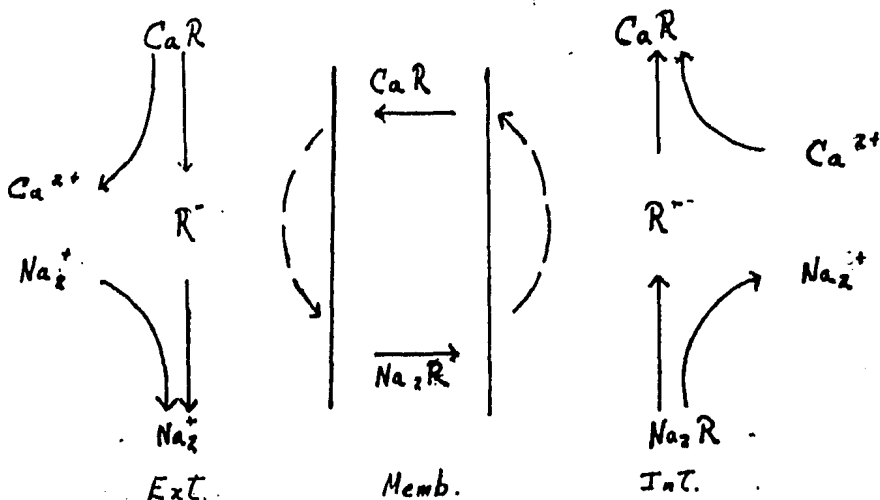
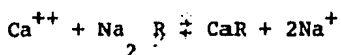


En otro trabajo simultáneo NIEDERGERKE (124) estudió el efecto del Calcio sobre las contracturas inducidas por depolarización mediante alto Potasio, también en miocardio de rana y verificó que el aumento de aquél incrementa tanto la amplitud como la rapidez de desarrollo tensional sin afectar significativamente el curso de la depolarización (fig. 29).

Esta evidencia apoyaba la hipótesis de que el Calcio juega un papel decisivo durante el tiempo posterior a la depolarización de la membrana, y como a la vez el mantenimiento de la contractilidad normal demanda la presencia de Calcio externo, NIEDERGERKE supuso que debía ingresar a la célula durante el potencial de acción.

Dos años más tarde LUTTGAW y NIEDERGERKE (105), también estudiaron contracturas en el ventrículo de rana y demostraron que el desarrollo de fuerza (fig. 30) tiene su umbral en torno a -70 mV y sigue creciendo hasta los 200 mV, existe pues una relación lineal $F = f(E_m)$ entre +5 y +80 mV, aunque esto no se ponga de manifiesto en las sístoles fisiológicas.

Asimismo, dichos autores comprobaron que la fuerza de contractura no cambia de amplitud por disminución simultánea del Calcio y del Sodio externo, toda vez que se mantenga constante la relación: $\frac{\text{Calcio}}{(\text{Sodio})^2}$ cuyo valor normal es de $\frac{2}{(114)^2}$ (fig. 31), y propusieron un modelo interpretativo según el cual la entrada de Calcio durante el potencial de acción se efectuaría mediante la asociación a una molécula acarreadora (R) capaz de aceptar con igual facilidad a un ión Calcio o a dos iones Sodio:



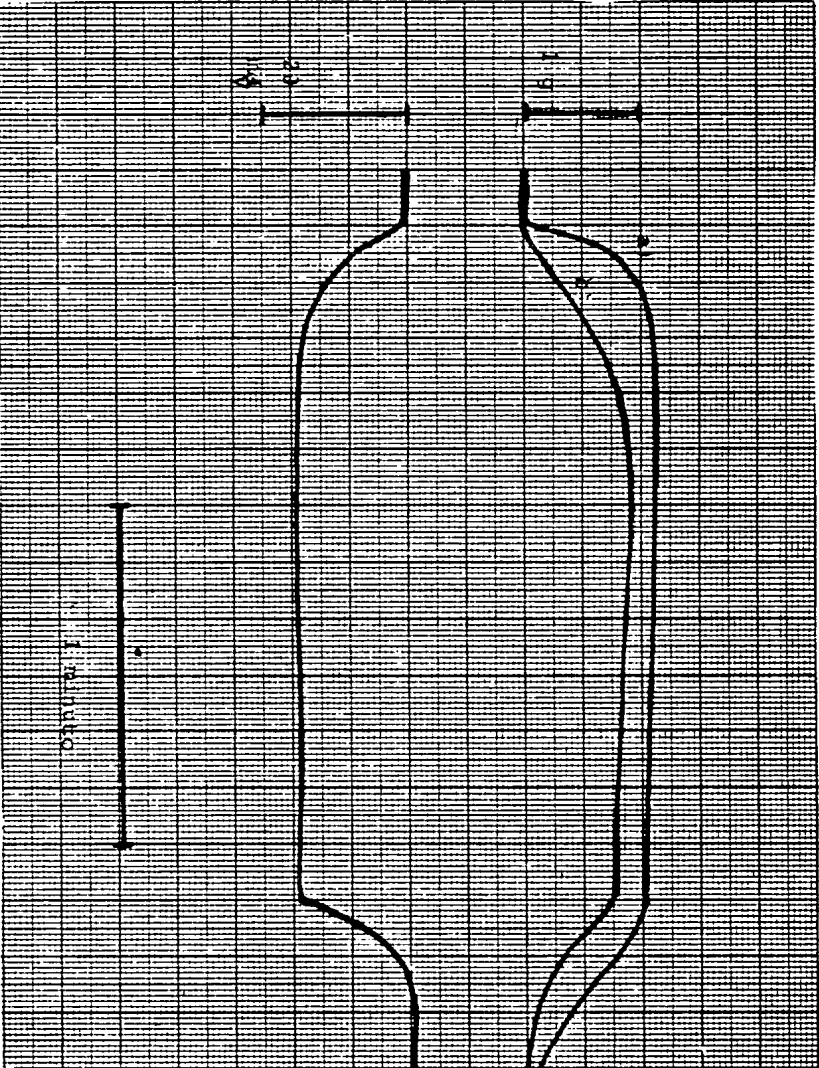


Fig. 29 DEPENDENCIA DE LA CONTRACCIÓN POR ALTO POTASIO RESPECTO A LA CONCENTRACION DE CALCIO.

El trazo superior presenta los registros de fuerza, a) 10 mm y b) 2 mm

El trazo inferior ilustra los cursos temporales superpuestos del potencial, para las contracciones en a) y b).

$$K = 100 \text{ mm}$$

Adaptado de NIEDERGERKE, 1956

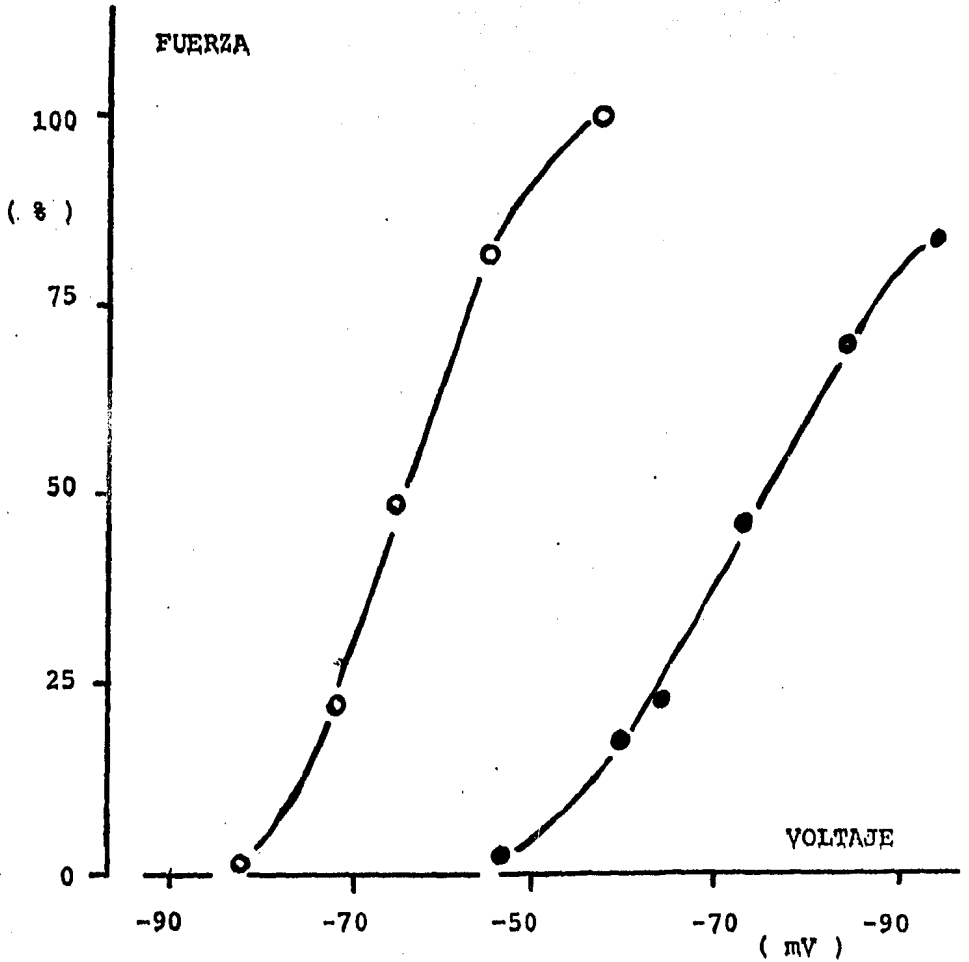


Fig. 30 - DEPENDENCIA DE LA FUERZA DE PICO DE CONTRACCIONES RESPECTO AL POTENCIAL DE MEMBRANA

Ventrículo de rana (tira) a 20 °C

O Sodio normal O Sodio a la mitad

Adaptado de LUTTGAW y NIEDERGERKE, 1958 (105)

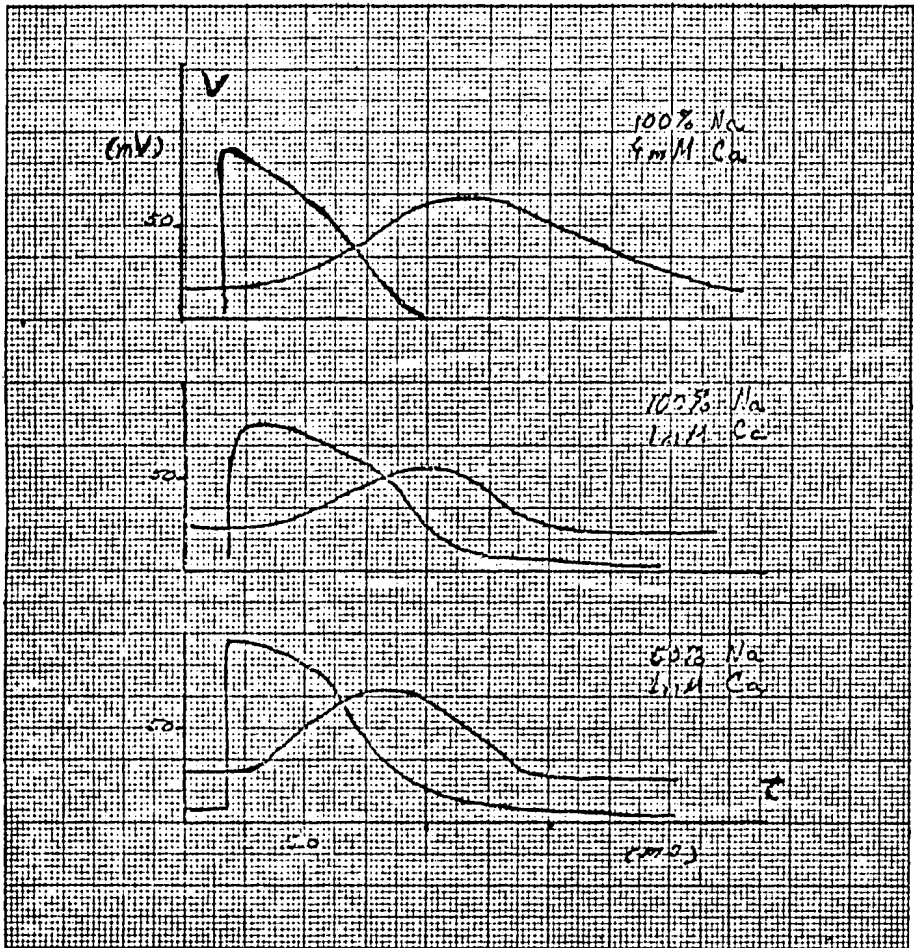


Fig. 31 EFECTO DE LA RELACION DE CONCENTRACIONES
Ca/Na SOBRE LA SISTOLE DE AURICULA DE
RANA

Se destaca la constancia de las propiedades electrofisiológicas del músculo cardíaco, siempre que se mantenga constante la relación Ca/Na^2 .

Tomado de BENNINGER, 1876 (12).

El complejo ión-acarreador tendría carga eléctrica negativa, y esto a su vez explicaría la relación lineal entre la fuerza y el potencial de membrana (fig. 32): la depolarización facilitaría la entrada del complejo y de este modo ingresaría más Calcio determinando mayor fuerza de contracción.

El propio NIEDERGERKE en el año 1963 (127) demostró, mediante análisis cinético con Ca^{45} , que durante la activación ocurre en el miocardio ventricular de rana un ingreso neto de Calcio. Y un paralelismo estrecho entre el desarrollo de escalera e incremento de Calcio interno en el mismo preparado fue confirmado en el año 1970 por SANDS y WINERGRAD (151).

En el año 1971, MORAD y ORKAND (119) obtuvieron evidencia directa del control de la actividad contráctil por el potencial de membrana en el miocardio ventricular de rana (fig. 32) Dentro de su descripción se destacan los siguientes puntos:

- 1 - El tiempo al pico de la sístole, en condiciones de voltaje de membrana asegurado, coincide con la duración del pulso asegurador.
- 2 - La tasa de desarrollo tensional depende linealmente del grado de depolarización de la membrana.
- 3 - La tasa de desarrollo tensional depende en forma directa de la concentración extracelular del ión Calcio
- 4 - No ocurren fenómenos de memoria al variar la configuración o el espaciamiento de los pulsos de voltaje.
- 5 - No existe coincidencia entre el curso temporal de la corriente entrante de Calcio y la contracción, ni de dependencia similar de ambas respecto al voltaje de membrana.

En el mismo año GOTO, KIMOTO y KATO (72) obtuvieron resultados análogos utilizando técnicas de control de voltaje mediante doble trampa de glicerol, en el mismo preparado.

Sin embargo, al año siguiente LEOTY y RAYMOND (103) trabajando en trabécula auricular de rana con doble trampa de sacarosa describieron un COMPONENTE TENSIONAL FASICO Y OTRO TONICO (fig. 33), separables mediante la aplicación de Manganeso. El primero aparece asociado a la corriente entrante lenta, pero no coincide con esta en su dependencia respecto al voltaje de membrana, por lo que dichos autores proponen un efecto de disparo de la contracción, pero no un determinismo directo. El componente lento tiene una amplitud dependiente del voltaje y la duración de la depolarización, en forma semejante al único componente descrito en el miocardio ventricular.

Este resultado fue confirmado en términos generales para el mismo preparado por GOTO, WADA y SAITO (73) en el año 1974, se acepta desde entonces que el comportamiento del miocardio auricular de rana es similar al descrito para el miocardio de mamífero por McGUIGAN (113), GIBBONS y FOZZARD (63) y OCHI y TRAUTWEIN (133) entre otros.

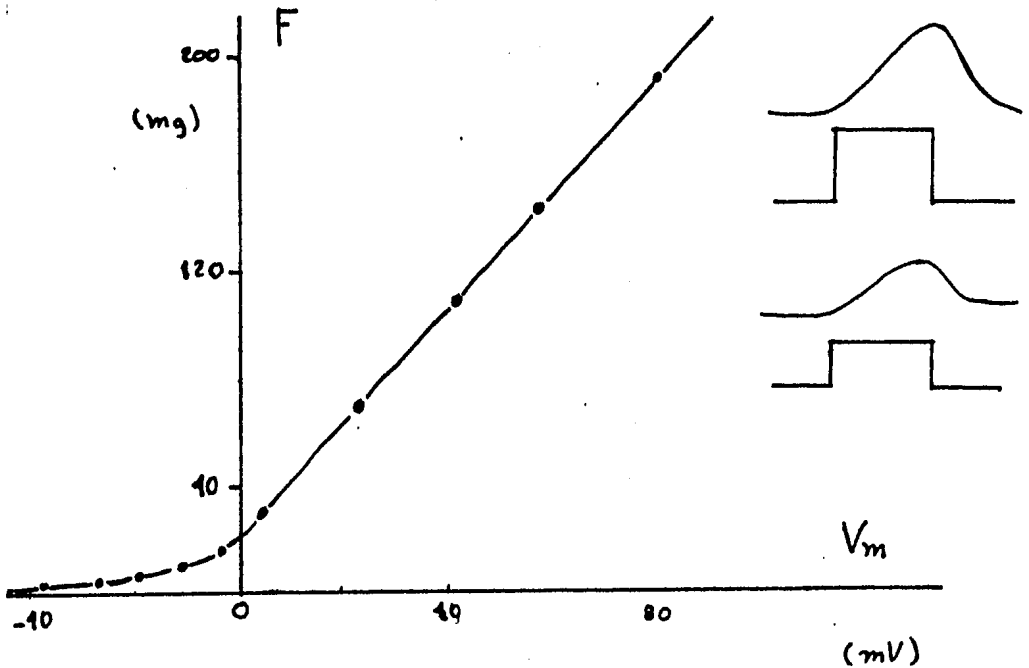


Fig. 32 DEPENDENCIA DE LA FUERZA ISOMETRICA DEL MIOCARDIO VENTRICULAR DE RANA RESPECTO AL VOLTAJE DE MEMBRANA EN EXPERIMENTO DE VOLTAJE ASEGURADO

Técnica de trampa híbrida y registro isométrico de fuerza.

Pulsos del orden de 100 ms de duración y amplitud variable.

Nótese que el pico de fuerza se produce a la terminación de la depolarización y que su valor depende linealmente del potencial de membrana sobre un amplio intervalo.

Adaptado de MORAD et al., 1973, (20).

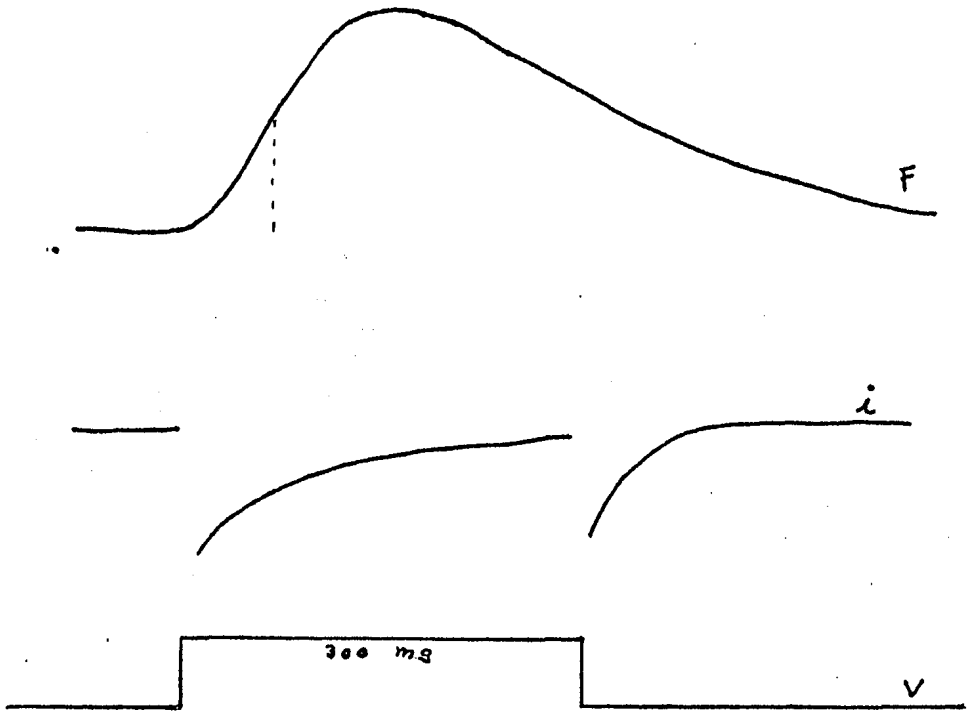


Fig. 33 VERIFICACION DE LA EXISTENCIA DE DOS COMPONENTES DE TENSION EN TRABECULA DE RANA

Cuando la duración del pulso rebasa los 100 ms y tiene una amplitud mayor de -75 mV, aparece en el registro de fuerza una segunda respuesta más lenta, el componente tónico.

Adaptado de LEOTY y RAYMOND, 1972 (103).

Sin embargo, aún para el miocardio auricular de rana y para sus dos componentes tensionales se verifica la dependencia Ca/Na^2 descrita por LUTTGAU y NIDERGERKE para el ventrículo de rana; si bien la fuerza de una contracción fásica (auricular) para una depolarización sigue esta relación sólo de manera aproximada. En el año 1976 BENNIGER et al. (12) realizaron un estudio detenido de estas relaciones mediante técnica de doble trampa de sacarosa.

Para cualquiera de las hipótesis revisadas el Ca^{++} proveniente del exterior celular juega por lo menos dos papeles: activador directo de la contracción y mensajero para la liberación del Calcio intracelular almacenado en el caso de la rana ligado en algún sitio del sarcolema.

Una vez revisados los mecanismos más probables para la acción del Calcio, quedaban por establecerse las causas y direccionalidades de sus movimientos, pues se conocía que por sí solo el gradiente electroquímico no explicaba la entrada del Calcio.

Su potencial de equilibrio electroquímico (E_{Ca}) estaría siempre desplazado y hasta invertido, según el nivel de potencial de membrana que se alcanzara durante el potencial de acción. De modo que debiera existir otra fuente de energía para la entrada del Calcio, que bien pudiera ser el gradiente electroquímico de otro ión. El Potasio pareció ser ese ión involucrado, ya que se sabe fluye durante la repolarización (75), (190), y su gradiente se incrementa durante el rango de potenciales de membrana en que la tensión aumenta linealmente (119).

Si durante la depolarización causada por el potencial de acción, la fuerza motriz para el eflujo de Potasio aumenta, y si la salida de Potasio está acoplada a la entrada de Calcio, tendremos necesariamente la activación de la contracción.

Hay que señalar de nuevo, que la fuente de Calcio activador podría ser según esta hipótesis, extracelular o Calcio ligado a la membrana, o a ambas. En apoyo a estos argumentos se tienen los datos de que la disminución de la concentración de Potasio extracelular aumenta la tasa de desarrollo de tensión para un potencial de acción normal (123). Siguiendo este esquema, el Calcio funcionaría como activador del acarreador que podría unirse a Calcio o a Potasio; también podría ocurrir competencia por el acarreador entre los iones Na-Ca, lo que explicaría el antagonismo observado entre los mismos en diferentes aspectos de la fisiología del miocardio de rana (12). Asimismo se pueden explicar con base en este modelo las observaciones siguientes: que el potencial de acción no se vea acortado en su duración cuando se reduce la concentración de Calcio externo, sino que por el contrario se incrementa y esto sugiere que es necesario para el mantenimiento

de una permeabilidad normal al potasio durante el platillo de repolarización, o sea, que la salida de Potasio debe estar acoplada a la entrada de Calcio. Que durante la meseta se vea disminuida la permeabilidad al Potasio con respecto al reposo, pues si las depolarizaciones incrementan la afinidad de intercambio del acarreador Ca-K, el Potasio se movería menos libremente siguiendo su gradiente y la velocidad de reacción propia del acarreador impondría el efecto descrito (86), (103).

Sin embargo BENNINGER et al. (12) no encontraron cambios en la corriente lenta saliente (K^+) al alterarse marcadamente la tensión por variaciones en las concentraciones de Calcio y Sodio.

El Corazón como Músculo

4, EL CORAZON COMO MUSCULO

Vimos en el numeral 1.4, que la tensión superficial de la pared ventricular guarda con la presión intraventricular una relación que depende de la forma del ventrículo, pero que en todos los casos, cuanto mayor es el volumen, mayor es la tensión parietal necesaria para desarrollar una misma presión.

Sobre una tira de miocardio es posible realizar los mismos estudios mecánicos que permiten describir al músculo esquelético en términos del modelo de HILL (81), (82), que incluye tres componentes:

- Componente Elástico en Serie (CES), que se halla a su longitud intrínseca cuando el músculo está en reposo y a la longitud basal.
- Componente Contráctil (CC), que en reposo es libremente distensible y en actividad realiza fuerza y/o acortamiento.
- Componente Elástico en Paralelo (CEP), que en reposo genera el comportamiento elástico del músculo.

La existencia de los dos primeros componentes se demuestra mediante un experimento de "liberación retardada" como el de JEWELL y WILKIE (92) en que el músculo activo se mantiene trabado durante cierto tiempo, ocurriendo una contracción isométrica, luego se libera abruptamente enfrentando una carga de inercia despreciable y de monto inferior a la fuerza ya desarrollada isométricamente (fig. 34).

Entonces se obtiene una fase prácticamente instantánea de acortamiento que corresponde a la recuperación elástica del CES, que estuvo sometido a estiramiento al acortarse el CC a expensas de su longitud durante el intervalo isométrico previo.

A continuación ocurre una fase de acortamiento mucho más lenta, que expresa el comportamiento de CC cuya velocidad de acortamiento es menor cuanto mayor sea la carga aplicada.

Al efectuar el referido experimento con cargas mayores, cada vez se tienen acortamientos menores del CES (dado que es menor la diferencia de fuerza entre el CC y la carga). Se obtiene así una curva a la cual se ajusta una función exponencial cuyo parámetro presenta valores muy parecidos entre individuos, y no es afectado por las variables experimentales habituales (138).

Asimismo en tiras de miocardio ventricular de rana MASHIMA-KUSHIMA (109) obtuvieron resultados similares, a los cuales hemos ajustado la función:

$$F = (0.04) e^{-(5.37)\Delta L}$$

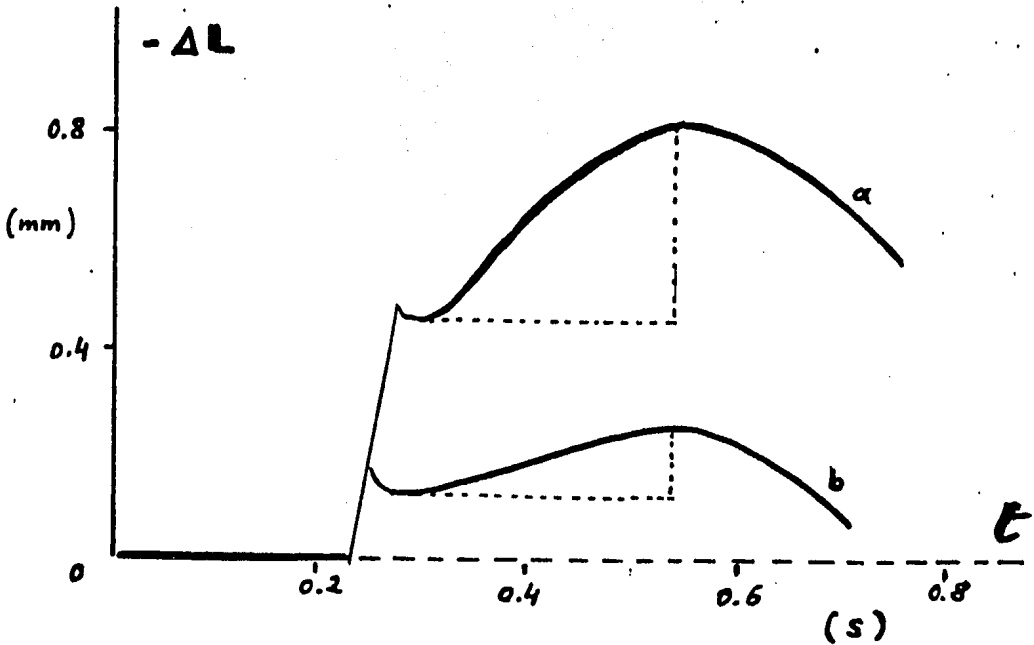


Fig. 34 - DEMOSTRACION EXPERIMENTAL DE LA EXISTENCIA DE DOS COMPONENTES MECANICOS SERIADOS EN EL MIOCARDIO DE RANA.

Tira de ventrículo $T = 20^{\circ}\text{C}$ Frecuencia = $1/3 \text{ s}^{-1}$
 $L_0 = 10 \text{ mm}$

La tira se contrae isométricamente hasta ser liberada (a los 230 ms), para ese momento ha desarrollado el 80% de la F isométrica (1.4 g).

En ' a ' la post-carga es de 0.5 g y en ' b ' de 0.9 g
 Nótese la diferencia de velocidades en la fase lenta.

Adaptado de MASHIMA-KUSHIMA, 1971 (109).

Sobre el mismo preparado pueden estudiarse las curvas características F vs. L_0 de reposo y actividades análogas a la presión vs. volumen, vistas para el corazón entero.

Sin embargo ahora estas curvas pueden interpretarse directamente a la luz de la Teoría de Deslizamiento de Filamentos introducida por HUXLEY y HANSON (88), tal como lo efectuaron SONNENBLICK et al. (161) en músculo papilar y WINEGRAD (192) en trabécula auricular de rana. Como puede verse en la figura 35, la longitud de reposo absoluto del sarcómero es de $2 \mu\text{m}$, y también para esta longitud diastólica es que ocurre el máximo desarrollo de fuerza.

Al registrar sístoles isotónicas para diferentes cargas (fig. 36) MASHIMA y MATSUMARA (108) verificaron en miocardio ventricular de rana para temperaturas menores a 10°C que la velocidad máxima de acortamiento (v) depende de la carga (F) según la ley de HILL (81):

$$v = \frac{(F_0 - F) b}{F + a}$$

donde F_0 indica la fuerza de la sístole isométrica para la longitud diastólica considerada, mientras que el parámetro b , con dimensión física de velocidad, se vincula a la tasa de liberación energética, y el parámetro a -con dimensión física de fuerza- se asocia al número de elementos generadores en paralelo disponibles (160).

La relación dinámica a/F_0 vale aproximadamente 0.7 y por tanto es muy similar a la observada por SONNENBLICK (159) en músculo papilar de gato, pero en cambio la relación cinética L/b vale aproximadamente 7 y en músculo papilar de mamífero es de alrededor de 2.

Asimismo este parámetro ventricular de la rana es mucho más alto que en el músculo esquelético del propio animal, alrededor de 2.

La determinación del Estado Activo en el miocardio presenta dificultades técnicas considerables, básicamente debidas a la imposibilidad de tetanizarlo en condiciones normales, y a su activación paulatina.

Una medida aproximada de la intensidad del estado activo (EA) se obtuvo de los experimentos de contractura por alto Potasio (108), y de ellos se dedujo que la relación entre la primera y la amplitud de la sacudida es mucho menor que en el músculo esquelético.

TRENDELENBURG y LULLMAN (178) realizaron en el año 1958 los primeros registros del curso temporal del EA en miocardio de rana, pero hasta el año 1964 y empleando la técnica de RITCHIE (144), MASHIMA y MATSUMURA obtuvieron registro completo, verificando que no existe meseta como en el músculo esquelético.

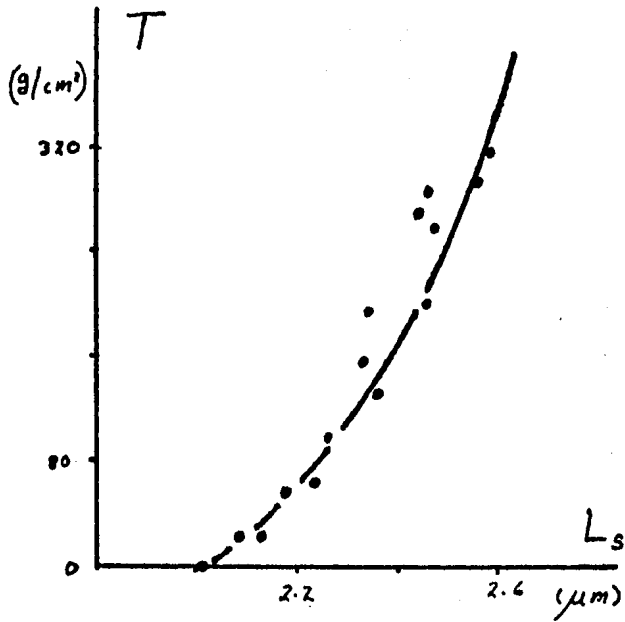


Fig. 35 CURVA TENSION-LONGITUD PARA SARCOMERO

Obsérvese que la longitud de reposo, 0 de tensión es de $2\mu\text{m}$ y es para esta longitud que ocurre el mayor desarrollo de fuerza por parte del CC.

Tomado de WINEGRAD, 1974 (192),

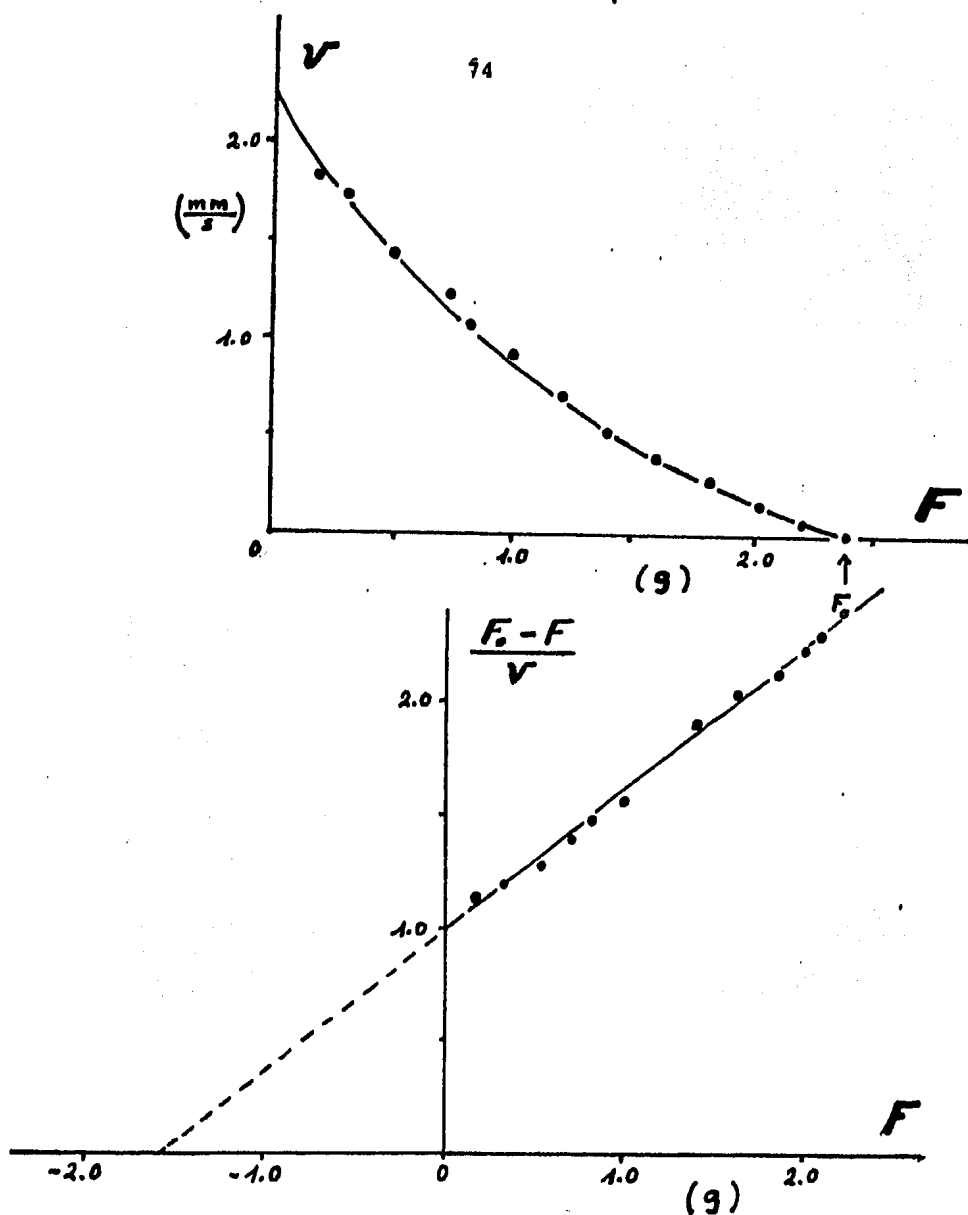


Fig. 36 - AJUSTE DE LA ECUACION DE HILL A LA CURVA VELOCIDAD = f(Fuerza) DEL MIOCARDIO VENTRICULAR DE RANA.

Tira de 11 mm

Pre-carga 0.2 g

T = 8°C

Frecuencia 1/10 s⁻¹

a = 1,7 (g)

b = 1.67 (mm/s)

Adaptado de MASHINA-MATASUMARA, 1971 (108).

Estos datos coinciden con lo observado en el músculo papilar de mamífero por ABBOTT y MOMMAERTS (1) en el año 1959. Sin embargo los resultados sobre miocardio de rana se perfeccionaron posteriormente con base en la experiencia de BRADY (21), y se pudieron obtener registros como el que muestra la figura 37.

Al resumir lo expuesto hasta aquí, puede decirse que el funcionamiento del CC está descrito por la curva de velocidad = f (Fuerza) pero a la vez el EA depende del tiempo y de la longitud.

En el análisis clásico de HILL únicamente se consideraba la velocidad máxima inicial del músculo tetanizado postcargado, pero es evidente que la situación del miocardio es distinta, porque no hay platillo de EA ni tetanización, además la curva Fuerza = f (Longitud) tampoco exhibe meseta, de manera que todo acortamiento ha de variar la intensidad del EA.

En el año 1965 SONNENBLICK (162) publicó resultados muy importantes acerca de la dependencia de la velocidad de acortamiento y la longitud durante cada instante de la contracción, del mismo modo que lo observado para la velocidad inicial. Una primera evidencia la obtuvo registrando la velocidad instantánea en función del tiempo y de la longitud instantánea para un músculo papilar sometido a la misma carga en sucesivas contracciones postcargadas, para diferentes longitudes iniciales. Como muestran las figuras 38a y b, las curvas velocidad_t = f (Longitud)_t convergen a una misma curva, de manera que efectivamente existe en cada instante dependencia de la velocidad respecto a la longitud, sin importar la longitud de reposo desde la cual se inició la contracción.

Cuando el músculo inicia su contracción desde una longitud de reposo grande, demora más tiempo en disminuir su velocidad de acortamiento hasta igualar a la de otra contracción iniciada desde menor longitud. Solamente al final de esta curva se nota que cae antes la que corresponde a la longitud inicial mayor, lo cual demuestra que el tiempo de actividad sólo constituye una limitante hacia el extremo.

Una segunda evidencia (fig. 38c), se obtuvo al variar la carga y la longitud inicial y graficando la velocidad instantánea en función de la fuerza para longitudes determinadas. Se verifica que para cada longitud instantánea hay una curva velocidad vs. fuerza característica.

Con base en los experimentos descritos, se construyó una representación tridimensional de las relaciones Fuerza-Longitud-Velocidad (FLV) que comprende toda la información acerca del estado activo (fig. 39).

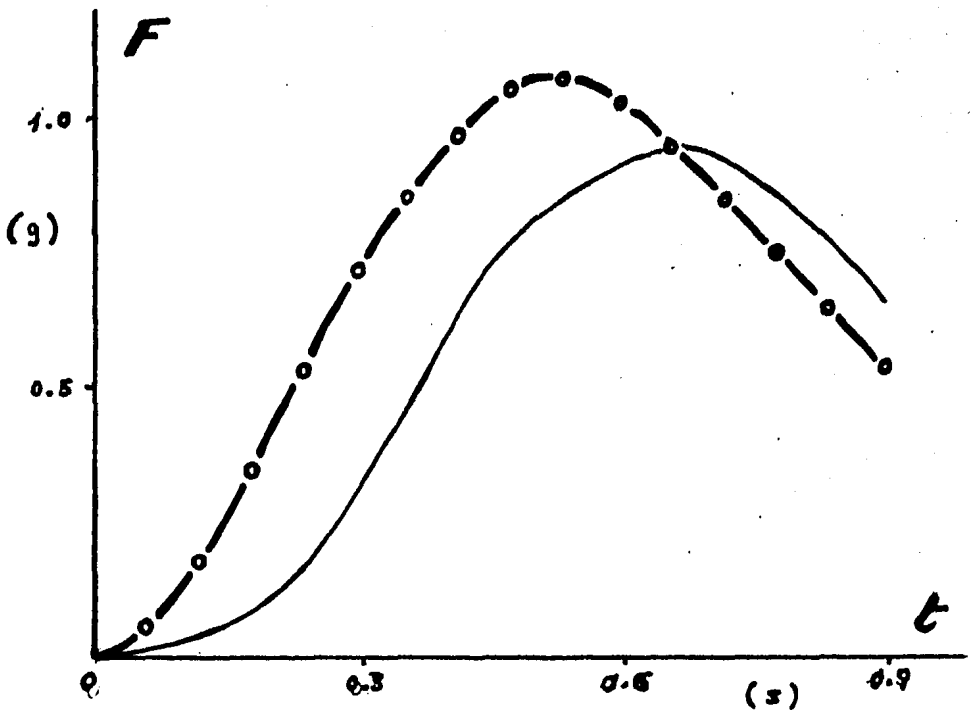


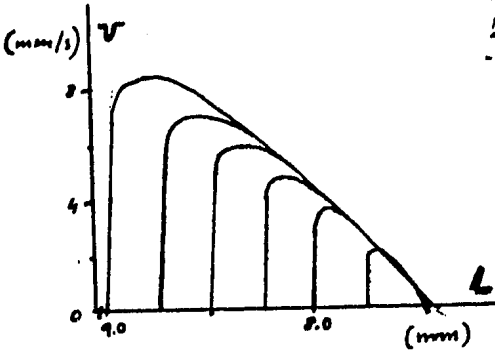
Fig. 37 CURSO DEL ESTADO ACTIVO EN EL MIOCARDIO VENTRICULAR DE RANA

Los círculos corresponden a los datos determinados por el método de liberación rápida.

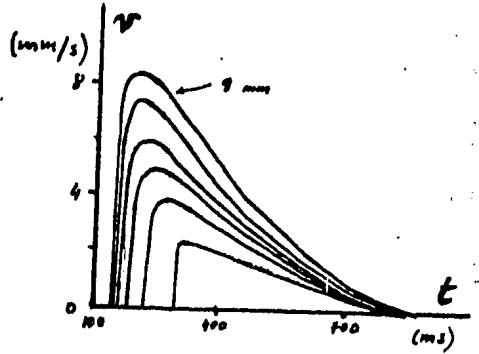
tira de 9 mm $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\text{Frec.} = 1/3\text{ s}^{-1}$

El trazo fino corresponde a una sístole isométrica.

Adaptado de MASHIMA y KISHIMA, 1971, (109).



a.



b. Fig. 38 DEPENDENCIA DE LA VELOCIDAD INSTANTANEA DE ACORTAMIENTO RESPECTO DE LA LONGITUD ACTUAL

Músculo papilar de gato

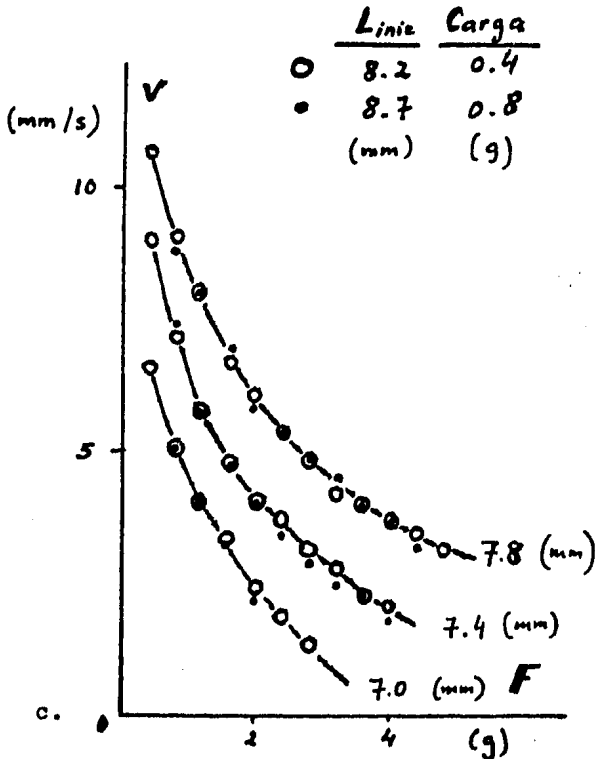
$T = 25^{\circ}\text{C}$ $\tau = 1/5 \text{ s}^{-1}$

A: Carga cosntante (2.3 g) y diferente Longitud inicial.

B: Carga y Longitud iniciales variables.

C: Curvas construidas a para el instante en que la longitud tiene los valores indicados.

Tomado de SOMMENBLICK, 1965 (162).



c.

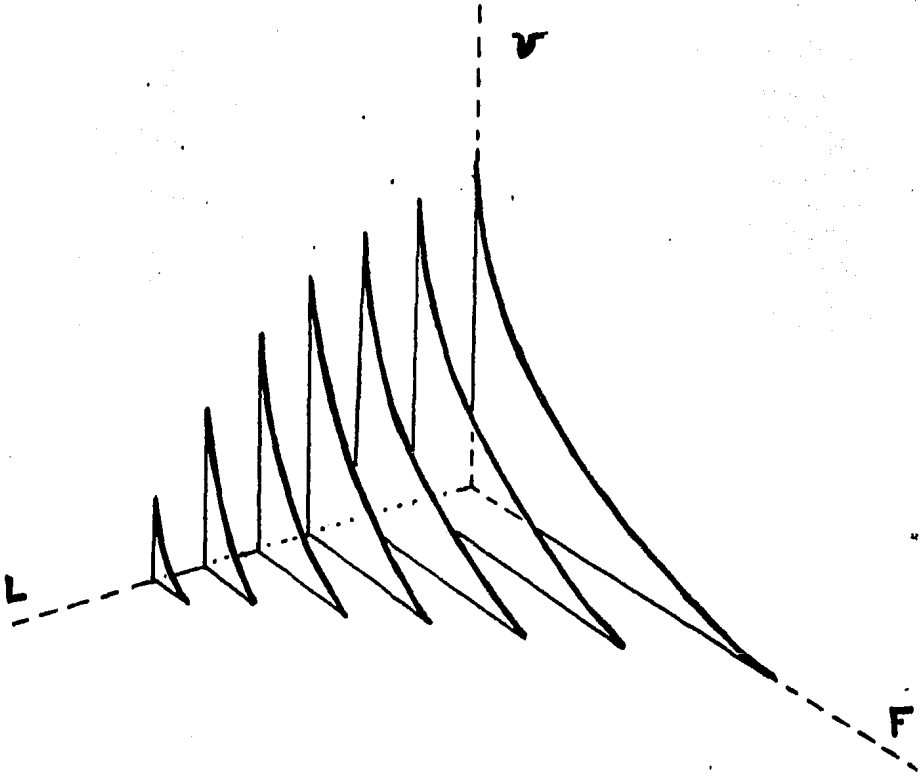


Fig. 39 - RELACION CONJUNTA ENTRE FUERZA, LONGITUD Y VELOCIDAD DE ACORTAMIENTO INSTANTANEAS DEL MIOCARDIO.

Se han representado las curvas Velocidad = f (Fuerza) como sucesivos planos, que generan un volumen. Los comportamientos experimentales se inscriben sobre la superficie de respuesta característica que corresponde a dicho volumen.

Adaptado de SONNENBLICK, 1965 (162).

Sin embargo, el conjunto de estos experimentos fue realizado bajo condiciones de carga constante, cabría la posibilidad de que las precisas relaciones descritas fuesen fortuitas, generadas por una lenta intensificación del EA asociada a la disminución de la longitud en forma continua. Para analizar esta posibilidad BRUTSAERT *et al.* (29) utilizaron la técnica de "carga asegurada", que permite introducir cambios abruptos de ésta en cualquier instante de una contracción isotónica y sobre todo generar secuencias de cambios durante una misma contracción; los resultados prueban que el curso de la velocidad de acortamiento está determinado solamente por la carga total y la longitud instantánea, independientemente de la secuencia de cambios de la longitud y fuerza a través de los que se llegó a dicha longitud.

En tiras de miocardio ventricular de rana HENDERSON y BRUTSAERT (79) demostraron, en el año 1974, que existe también relación FLV independiente del tiempo durante cierta parte de la sístole, pero si la duración de ésta se acorta mediante cafeína se pierde dicha propiedad (fig. 40); sin embargo estos autores no aclaran si el cambio se debía al acortamiento de la sístole o a la acción de la cafeína.

En el año 1981, TARR *et al.* (175) (176) perfeccionaron las técnicas para aislar células de trabécula auricular de rana y registrar en forma simultánea la fuerza y la longitud; de esta manera obtuvieron un resultado muy interesante: el sarcómero se acorta a velocidad constante hasta que su longitud disminuye a más o menos $1.6 \mu\text{m}$, aunque la fuerza esté creciendo en forma importante (fig. 41).

Para interpretar este hallazgo, los autores recurren a un modelo cuantitativo basado en la ley de HILL, dentro del cual asignan al parámetro F_0 una dependencia lineal respecto a la longitud del sarcómero y otra dependencia simultánea respecto al tiempo, de forma:

$$F_0 = F_0^* (1 - e^{-t/\tau})$$

que simularía el proceso de activación con un valor de τ , constante de tiempo, bastante grande, $\tau = 250 \text{ ms}$.

De tal forma, que con ligeros ajustes la descripción clásica de SONNENBLICK parece constituir un marco aceptable para describir el comportamiento del miocardio de rana a escala elemental.

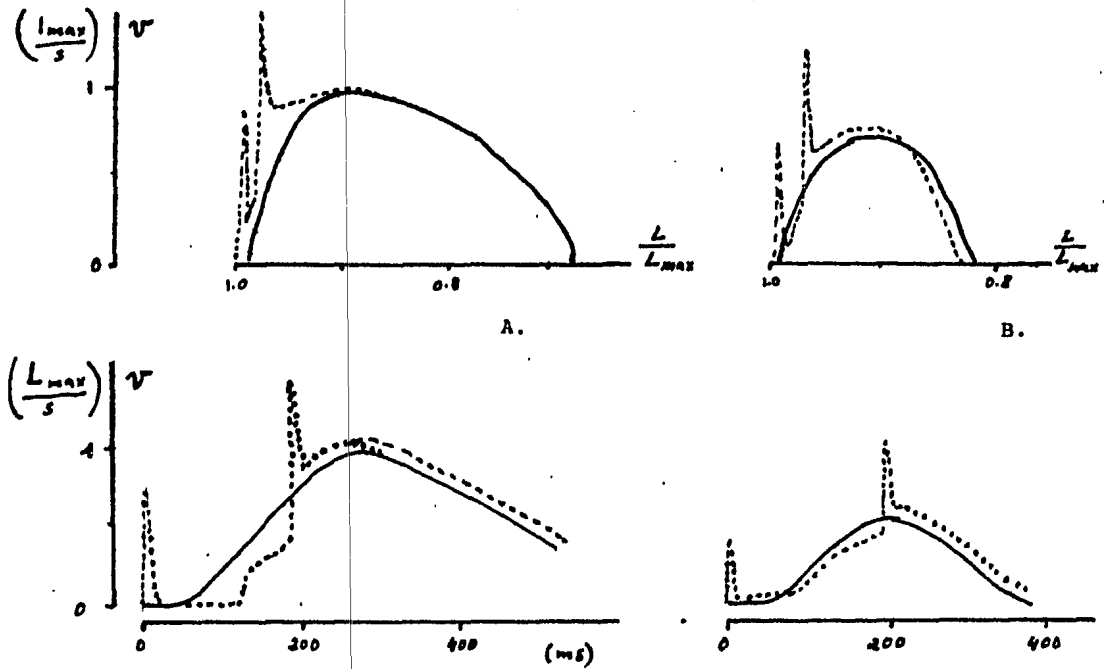


Fig. 40 - ESTUDIO DE LA RELACION F-L-V EN EL MICARDIO VENTRICULAR DE RANA MEDIANTE LA TECNICA DE CARGA ASEGURADA.

Los trazos punteados corresponden a una sístole en que primero la carga se reduce de 300 a 100 mg, y luego en sentido inverso.

Trazo continuo: control con carga constante.

A: Ringer normal

B: Cafeína (10 mM)

Nótese que por acción de la Cafeína deja de existir fusión de las curvas $V=f(L)$, aunque también hay notable acirtamiento de la sístole.

Adaptado de HENDERSON-BRUTSAERT, 1974 (79).

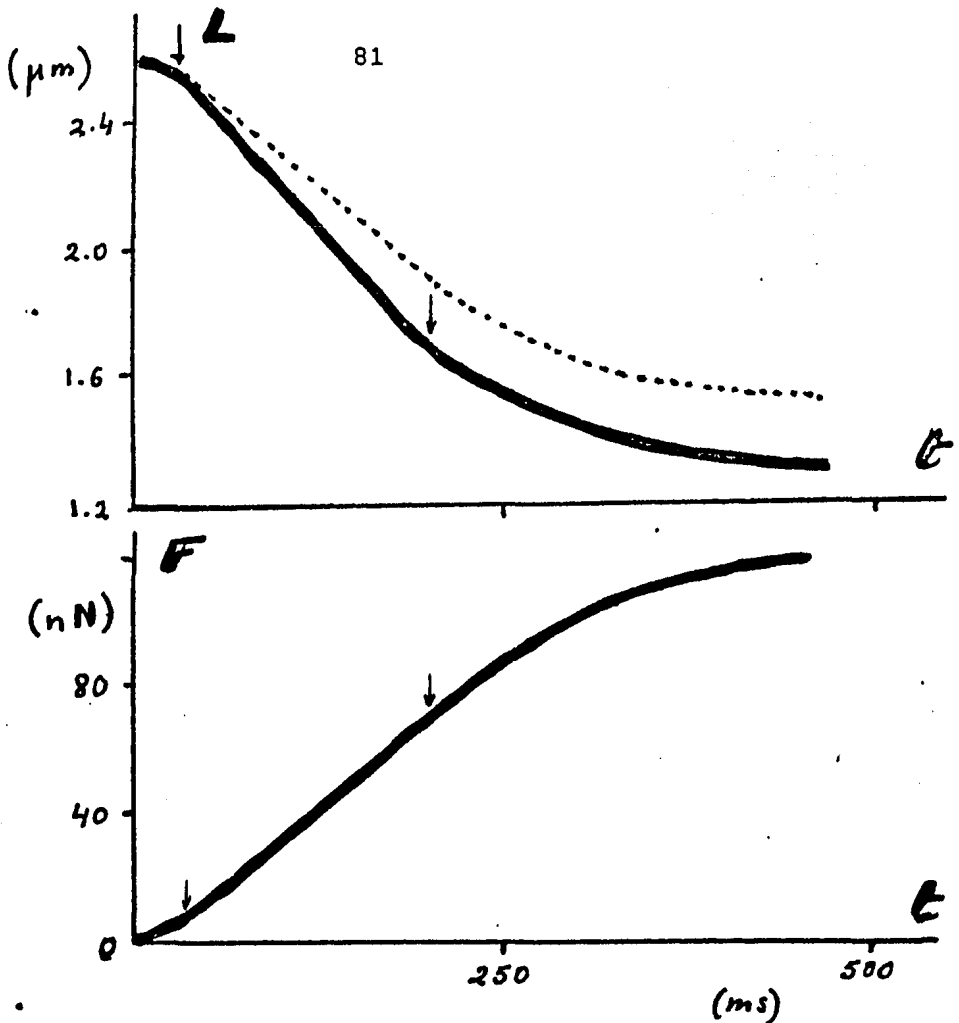


Fig. 41 -- CONTRACCION AUXOTONICA EN SARCOMERO AURICULAR DE RANA Y SIMULACION MEDIANTE MODELO.

Las flechas indican el segmento aproximadamente lineal

Valores paramétricos incluidos en la Ecuación de HILL:

$$a = 100 \text{ (nN)}$$

$$b = 4.6 \text{ (}\mu\text{m/s)}$$

$$P_0^* = 400 \text{ (nN)}$$

$$K = 473 \text{ (nN/}\mu\text{m)}$$

La línea punteada corresponde a los valores simulados.

Adaptado de TARR, TRANK, LEIFFER y SHEPHERD, 1981 (176).

***El Concepto de Contractilidad
Cardíaca***

5. EL CONCEPTO DE CONTRACTILIDAD CARDIACA

Mientras que en el músculo esquelético únicamente es posible obtener mayor desarrollo de fuerza en la sacudida mediante estiramiento o prolongación del estado activo por frío, en el músculo cardíaco esto se puede lograr también variando la frecuencia de estimulación o aplicando algunos fármacos (catecolamina, digitálicos). Ambas intervenciones intensifican el estado activo del componente contráctil del miocardio, sin variar su duración.

Sobre la curva velocidad vs. carga correspondiente a una contracción isotónica dicha intensificación del EA implica un cambio en la Velocidad Máxima Absoluta a carga 0, como se muestra en la figura 42.

Mientras que el mecanismo de aumento de fuerza por estiramiento del músculo durante el reposo no altera dicha velocidad máxima absoluta, sino al valor de la Fuerza Isométrica Máxima (F_0).

De modo que un aumento de fuerza puede explicarse por uno o por ambos mecanismos; es el aumento de la Velocidad Máxima Absoluta el único que realmente implica un cambio en la tasa de liberación energética de la maquinaria contráctil.

También podría darse el caso en que la Velocidad Máxima Absoluta estuviese aumentada, pero la fuerza registrada externamente resultase igual o menor a la basal, debido a un acortamiento de la duración del EA, figura 42. La tasa máxima de Desarrollo de Fuerza (dF/dt)_{max}, resulta un indicador apropiado del cambio de la Contractilidad, siempre y cuando se normalice respecto al área inscrita por el registro de la contracción (155).

Una de las observaciones más características de la relación entre estimulación y desarrollo de fuerza, nos revela que en el caso del miocardio y para la intensidad de estimulación dada, cada contracción que se desarrolla crea o mantiene, según se trate de una inicial o de una perteneciente a un ritmo basal, cierta "condición favorable" en el medio electrolítico intracelular, ocasionada por la pérdida de Potasio (75), y por la ganancia de Calcio (151). Ambos fenómenos conducirían a un mayor desarrollo de fuerza o al mantenimiento de un nivel basal.

Esta facilitación explica el efecto conocido como "escalera" (19) en el cual, al cabo de un tiempo de reposo un preparado de miocardio al ser estimulado eléctricamente, desarrolla contracciones progresivamente crecientes en amplitud. Como la correspondiente amplitud de los potenciales de acción extracelulares se mantiene normal, se descarta la posibilidad de un proceso de reclutamiento para explicar este fenómeno (123).

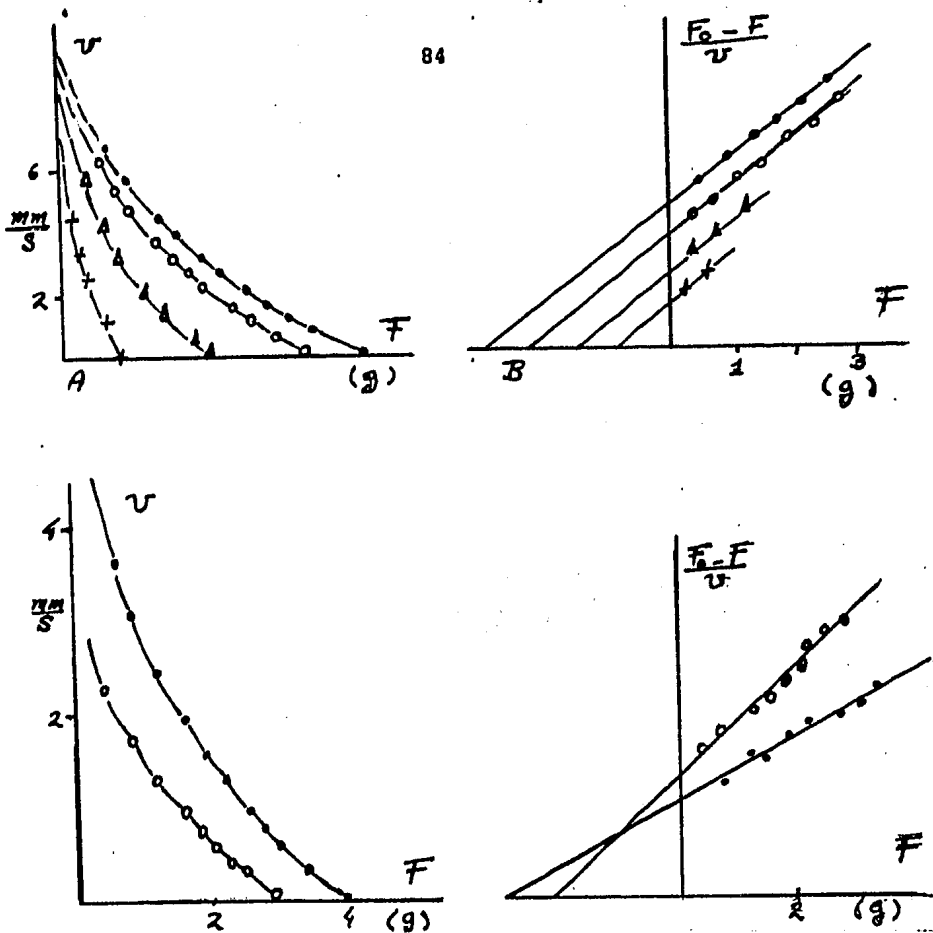


Fig. 42 MODIFICACIONES DE LA CURVA VELOCIDAD = f (FUERZA) ISOTONICA POR CAMBIOS DE LA LONGITUD DIASTOLICA Y DE LA FRECUENCIA DE ESTIMULACION

A. Diferentes longitudes diastólicas:

7.0, 8.2, 8.8, 9.0 mm

Frec. = $1/3 \text{ s}^{-1}$

B. Diferentes frecuencias de estimulación:

1 s^{-1} , $1/2 \text{ s}^{-1}$

$b = 3.8, b = 2.3$

$l_0 = 8.5 \text{ mm}$

Músculo papilar de gato a 21°C

Adaptado de SONNENBLICK, 1962 (159).

Esta interpretación tiene como evidencias experimentales los resultados observados cuando en un medio libre de potasio se acorta notablemente la "escalera", es decir las primeras contracciones son algo menores y en unas cuantas más se alcanza el máximo de amplitud. Debido también a la ausencia de Potasio en el medio, el potencial de acción se prolonga.

Exactamente el resultado opuesto, una escalera "decreciente" se obtiene cuando se coloca el músculo en un baño con concentración de Calcio muy alta (8 mM) (fig. 28) por la misma razón estas contracciones se presentan casi sin meseta de depolarización en los correspondientes potenciales de acción (123).

De manera tentativa varios autores, (14) (123) (58), han sugerido la hipótesis de la existencia de un factor potenciador que se acumula durante el desarrollo de fuerza hasta un nivel estacionario. Esta "facilitación" podría utilizarse en el instante inmediatamente anterior a la ocurrencia de cada contracción del ritmo basal. Dentro de esta forma de pensar el miocardio podría ser visto como una "caja negra", cuya salida en respuesta a una entrada excitatoria retroalimentaría positivamente al sistema (fig. 43), aunque su efecto se extinguiría en el tiempo con una cinética sencilla de curso monótono.

El modelo más ilustrativo de esta situación se tiene en un circuito eléctrico R-Cm en el cual el componente capacitivo se conectaría alternadamente a dos componentes resistivos de diferente magnitud (fig. 44).

Si ahora analizamos el condicionamiento que sobre los efectos mencionados puede tener la velocidad a la que se acumulan las señales estimuladoras, es decir la frecuencia, vemos que existe una frecuencia óptima para el desarrollo de tensión, por arriba de la cual tanto la amplitud como el tiempo al pico de la contracción se ven disminuidos. A concentraciones de Calcio extracelular mayores, este óptimo aparece antes, pero la cinética es equivalente.

Un aspecto interesante en este análisis es el incremento en la tasa de desarrollo de fuerza conforme aumenta la frecuencia, en algunos casos aún después de alcanzada la frecuencia óptima y a pesar de disminuir el máximo de tensión desarrollada.

Si tratamos de resumir esta información diríamos que los fenómenos de escalera muestran que existe **CONDICIONAMIENTO DE LA CONTRACTILIDAD CON CADA CONTRACCION PRODUCIDA** y que este involucra al balance electrolítico logrado por las sucesivas depolarizaciones, y determina las propiedades del sistema contráctil. Incluimos también las modificaciones en la

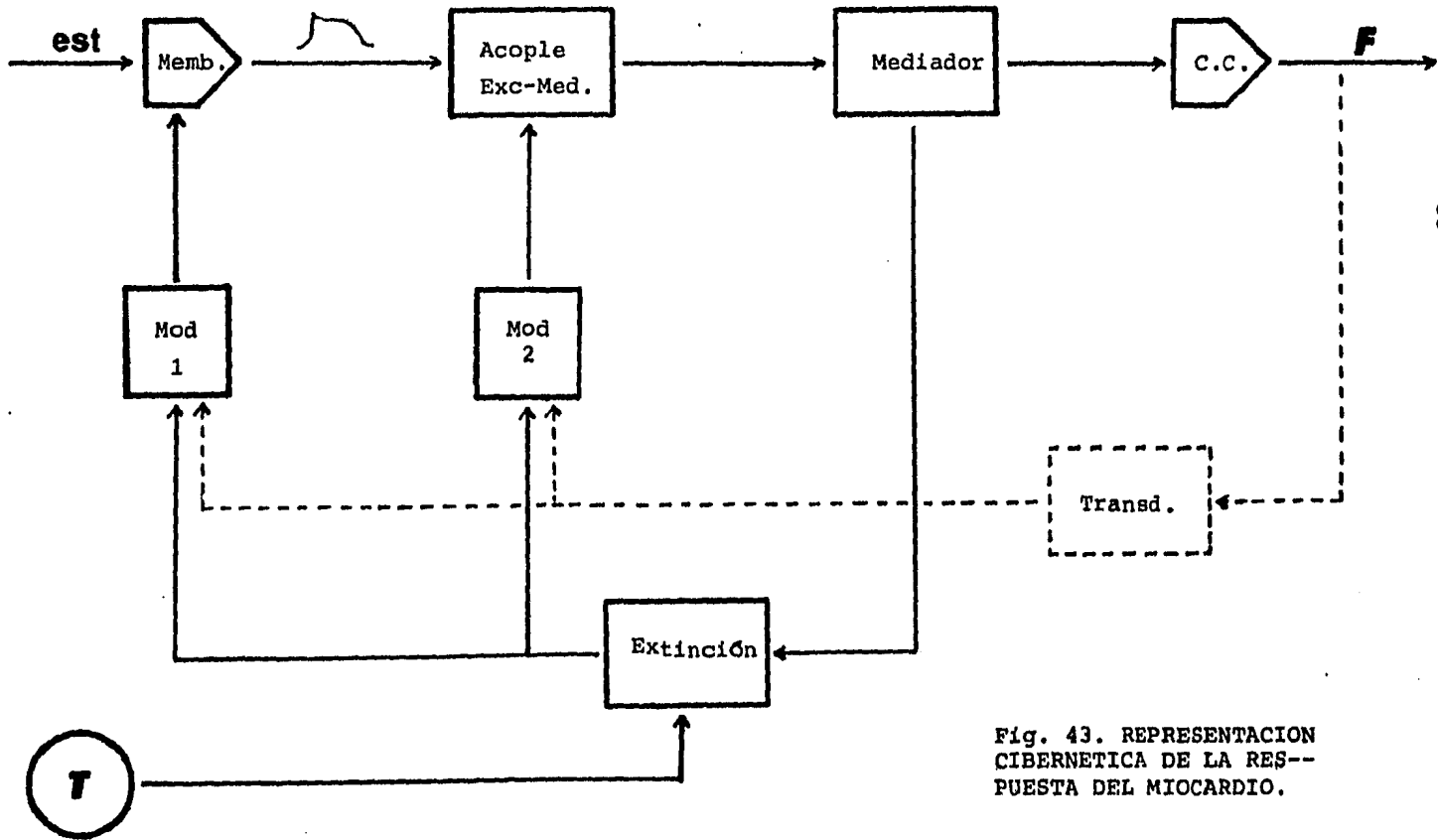


Fig. 43. REPRESENTACION CIBERNETICA DE LA RESPUESTA DEL MIOCARDIO.

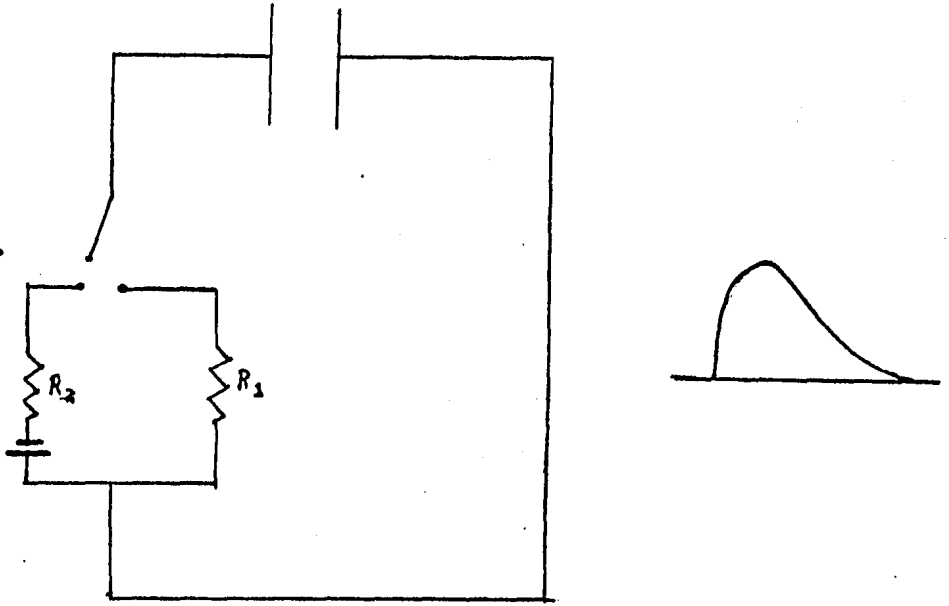


Fig. 44 MODELO ELECTRICO DE LA RESPUESTA MECANICA DEL MIOCARDIO

La fase rápida de subida se representa por la carga del capacitor a través de una resistencia pequeña. En cambio la descarga más lenta ocurre a través de una resistencia mayor.

contractilidad por cambios probables en la amplitud o la duración del EA, y quizás las alteraciones a nivel del acoplamiento excitación-contracción,

Aunque existe una frecuencia óptima para el desarrollo de la fuerza máxima, ya NIEDERGERKE señalaba que por arriba de estas frecuencias se presenta un aumento en la tasa de desarrollo de fuerza, a pesar de disminuir la tensión máxima lograda (123). En 1962 SONNENBLICK (159) analiza estos rangos superiores a la frecuencia óptima, encontrando que efectivamente se incrementa la Velocidad Máxima de Acortamiento y en consecuencia la Tasa de Desarrollo de Fuerza, acompañados estos incrementos de una reducción en el tiempo al pico de la contracción, sin mayor fuerza desarrollada.

Con tales evidencias SONNENBLICK propone que se reconozcan dos regiones para el efecto de la frecuencia de estimulación, una en la que supone se incrementan la velocidad y fuerza desarrolladas, que se manifiesta como una "escalera de fuerza"; y otra en la que podrían estarse incrementando la velocidad de acortamiento y la tasa de desarrollo de fuerza sin cambio en la fuerza desarrollada, manifiesta como una "escalera de velocidad". En esta región el músculo cardíaco es capaz de desarrollar la misma fuerza en un período más corto conforme aumenta la frecuencia. Expresado de otra forma, puede suponerse que una escalera de fuerza representa un incremento en el trabajo realizado por el músculo, y que una escalera de velocidad representa un incremento en la potencia.

Como se ve, quedan por discernirse los mecanismos de intercambio iónico en la membrana superficial; los sitios o mecanismos para la acumulación temporal de estos iones y la modulación del EA de la que es capaz el miocardio, al variar el tiempo o la frecuencia de estimulación, sin descartar que alguno de estos mecanismos tuviesen un sustrato no sólo iónico, sino probablemente también metabólico.

***Condicionamiento de la
Contractilidad por Actividad
Previa***

6. CONDICIONAMIENTO DE LA CONTRACTILIDAD POR LA ACTIVIDAD PREVIA

En el numeral 5 se ha expresado que el músculo cardíaco, a diferencia del esquelético, exhibe intensificación del EA en respuesta a la acción de ciertas hormonas (catecolaminas), de cambios de ritmo en la estimulación o de las concentraciones iónicas, principalmente la del Calcio.

Sin embargo, en la mayoría de las situaciones experimentales y/o funcionales en que la contractilidad se halla condicionada, están presentes simultáneamente efectos de la modificación del EA, de la propia excitabilidad, o aún de las cargas mecánicas pre y post-expulsivas.

Como mencionamos más arriba, fueron BOWDITCH (19), WOOD WORTH (198) y DALE (47) quienes abordaron el estudio de los fenómenos de potenciación de la fuerza desarrollada por el miocardio a través de diferentes patrones de actividad.

Dado que los referidos fenómenos de potenciación se desarrollan a lo largo de tiempos prolongados (decenas de minutos), y si se tiene en cuenta el conocimiento detallado del metabolismo energético ya alcanzado hacia 1940, encontramos que REYNOLDS y EVANS (54) postulan la hipótesis de que el efecto facilitador pudiese consistir en la acumulación de cierto sustrato energético, cuya velocidad de síntesis fuese aumentada por la activación. Esta idea gozó de aceptación muy generalizada, luego de ser demostrada por WHALLEN (188) la participación en dicho efecto de la liberación local de catecolaminas, así como la relación entre éstas y el metabolismo energético (64).

Una línea interpretativa diferente, que postula la naturaleza iónica del efecto facilitador, se desarrolló en torno a los trabajos de HAJDU (75) quien midió en un preparado de ventrículo de rana aislado, una pérdida acumulativa del Potasio celular asociada al fenómeno de la escalera. Este autor, utilizó técnicas de espectrofotometría de flama y el radioisótopo K^{42} y determinó una pérdida de 20 picomoles por cm^3 de líquido tisular, asociada a cada contracción.

Asimismo, señaló que el efecto modificador acumulado a través de contracciones sucesivas no sería lineal dentro de ciertos intervalos, alcanzándose la saturación y desapareciendo el fenómeno de la escalera para concentraciones de Potasio intracelular menores que $0.14 \mu M/g$.

Una serie de trabajos de SZENT-GIORGYYI (173), (76), (102), en colaboración con el propio HAJDU y con LEONARD, pretendieron conciliar ambas líneas interpretativas, y generaron un importante volumen de información fenomenológica acerca del miocardio de batracio, fundamentalmente del cambio de fuerza para diferentes frecuencias y temperaturas.

Paralelamente en España, BONNET-SEDANE (17) postularon una hipótesis acerca del fenómeno de la escalera en el miocardio de mamífero, centrada en la formalización de dos procesos fisiológicos de diferente curso temporal y efecto opuesto: liberación local de acetilcolina y pérdida del ión Potasio.

Mientras tanto en Checoslovaquia BRAVENY y KRUTA (26), analizando también las escaleras registradas en el miocardio de cobayo, postulan la existencia de dos procesos de condicionamiento de la contractilidad, a los que designaron Potenciación y Restitución, sin atribuirles una naturaleza específica. De sus trabajos resulta particularmente importante la metodología empleada para reconocer y medir dichos procesos, la cual se resume en las figuras 45a y b.

En el año 1959, ABBOTT Y MOMMAERTS (1), publicaron un trabajo, que como se explica en el numeral 3 confirmó la hipótesis de NIEDERGERKE, al demostrar que en músculo papilar de gato, el aumento de frecuencia de estimulación, de Calcio exterior, o la aplicación de catecolaminas intensifica el EA del CC.

Inmediatamente después, NAYLER (122) en Australia intentó una simulación aproximada de la escalera en el miocardio de rana, exponiéndolo a concentraciones crecientes de Calcio durante activaciones sucesivas, y aunque esta aproximación resulta cuestionable si se consideran las cinéticas de intercambio del Calcio entre los compartimientos involucrados, aportó datos confirmatorios de las hipótesis de NIEDERGERKE en el sentido de que durante el fenómeno de la escalera ocurre un aumento de la fuerza simultánea a un acortamiento de la duración del estado activo.

La hipótesis de una ganancia neta del ión Calcio intracelular como causa del efecto potenciador de la activación, recibió considerables evidencias a favor en los trabajos de NIEDERGERKE (126), NIEDERGERKE y ORKAND (128) y de SANDS y WINEGRAD (151). En el primero, se midió utilizando radioisótopos la entrada del ión Calcio asociada a cada activación, en el segundo se demostró que la forma y las relaciones del potencial de acción dependen muy estrechamente del ión Calcio, y en el tercero se demostró por autoradiografía la acumulación intracelular del ión luego de un período de actividad en alta frecuencia.

También durante el año 1963 aparecieron los importantes trabajos de BLINKS y KOCH-WESSER (14), que revisan toda la información existente hasta entonces y también postulan dos procesos condicionadores asociados a la activación, que denominan PIEA ('Positive Inotropic Effect of Activation') y NIEA ('Negative Inotropic Effect of Activation'). La determinación experimental de estos procesos se muestran en la

**Fig. 45- DETERMINACION EXPERIMENTAL DE LA POTENCIACION Y LA
RESTITUCION EN EL MIOCARDIO DE MAMIFERO.**

La actividad produce un marcado efecto depresor que se extingue durante el reposo, por lo que la primera contracción luego de este aparece muy aumentada (esquema A). Pero también hay un efecto potenciador mucho menos marcada, que determina la ocurrencia de una escalera.

Graficando la amplitud de la primera contracción post-reposo en función del intervalo se obtiene la curva de RESTITUCION DE LA CONTRACTILIDAD (esquema C, curva 1).

La amplitud de la contracción que sigue, con intervalo igual al período basal, a una contracción precoz, se supone que está determinada por una Restitución constante asociada al período entre ambas y por una POTENCIACION que depende de la separación entre la última sístole basal y la precoz (esquema B).

Repitiendo la determinación para diferentes separaciones, se obtiene el curso temporal de la Potenciación (esquema C, curva acumulada durante el ritmo basal, pues se considera que el cambio de Restitución debido a la supresión del ritmo afecta únicamente a la contracción precoz.

Adaptado de BRAVENY y KRUTA , 1958. (26)

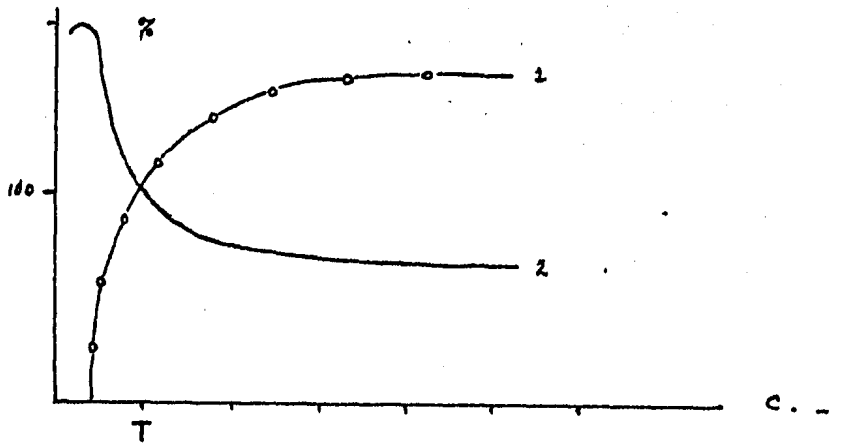
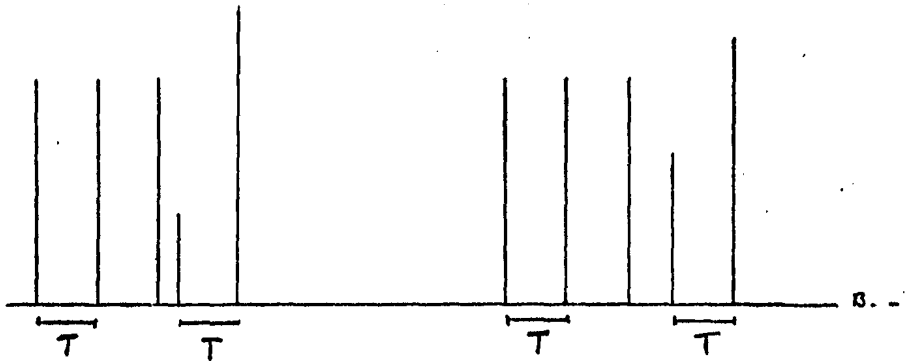
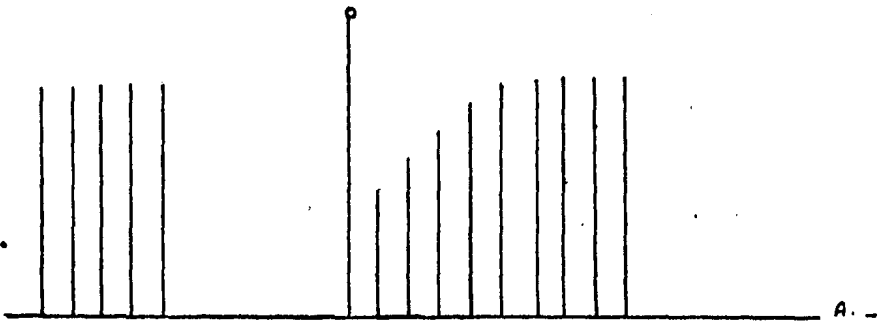


figura 46, los que combinados mediante suma algebraica determinarían la fuerza de la contracción actual. Pero debe señalarse que en los referidos trabajos no se efectúan predicciones cuantitativas acerca de la contractilidad bajo condiciones experimentales específicas.

Por ese entonces, en Australia GIBBS, JOHNSON y TILLE (66) formularon un modelo matemático de la determinación del EA, en el cual influyen dos factores de diferentes acciones y curso temporal y utilizan por primera vez el concepto de "Memoria" para referirse a la retención de información en el miocardio a través de intervalos de tiempo.

Asimismo, en el IX Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiológicas (59) se aportó evidencia en el sentido de que contracciones de la misma amplitud obtenidas mediante diferente tipo de actividad previa, contienen montos diferentes de información condicionante del inotropismo, como se ilustra en las figuras 47a y b.

En el año 1969 MASCHER y PEPER (107) obtuvieron el primer registro de corriente iónica de Calcio entrante utilizando la técnica de fijación de voltaje en el miocardio de mamífero, y de esta forma se confirmó eléctricamente de manera directa el ingreso del ión Calcio a la célula durante la activación, como lo postulara NIEDERGERKE.

En el mismo año WOOD, HEPNER y WEIDMANN (196) trabajan do con el músculo papilar de perro y la técnica de corriente asegurada, aportaron una voluminosa cantidad de información en el sentido de que durante el potencial de acción ingresa ión Calcio a la célula y esto "imprime" en la "memoria" una cantidad de condicionamientos que luego se pierde con un curso temporal muy lento durante el reposo, o bien en proporciones fijas e importantes al ocurrir nuevas activaciones. Esto es, cada contracción generaría un efecto condicionante inotrópico positivo, que permanecería disponible durante un tiempo relativamente prolongado mientras no ocurriese una nueva activación, ya que esta utilizaría una fracción sustancial de la reserva potenciadora.

La potenciación sería pues, dentro del esquema propuesto por dichos autores, un procesos "latido-dependiente" cuyo monto disminuiría en cantidades fijas durante las activaciones subsiguientes. En la misma dirección MORAD y GOLDMAN (120) efectuaron posteriormente cálculos sobre los resultados experimentales de otros autores y confirmaron dicho esquema.

Sin embargo, debe señalarse que desde un punto de vista formal, la referida descripción también sería compatible con una naturaleza metabólica del sustrato potenciador.

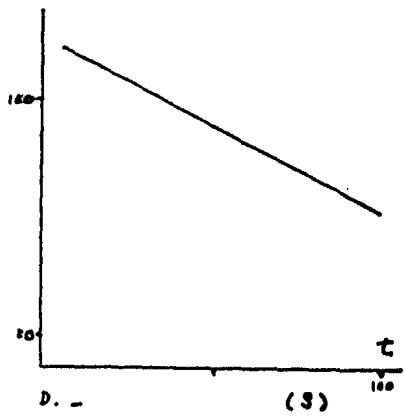
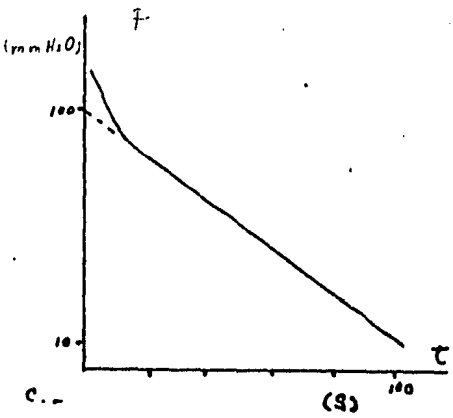
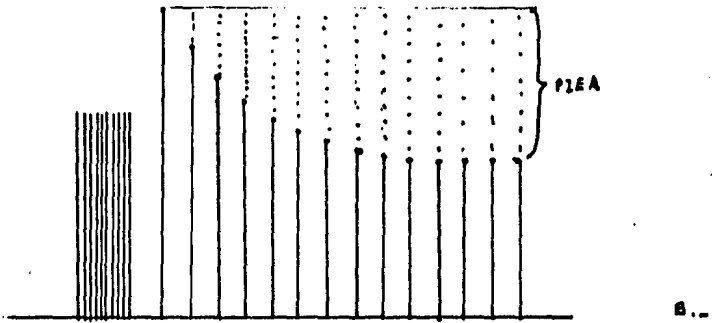
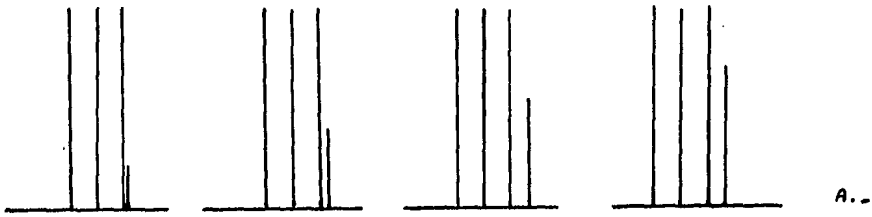
También en el año 1972 se realizó por parte de EINWACHTER, HAASS y KERN (53) una investigación muy interesante, aplicando la técnica de corriente asegurada para prolongar o acortar

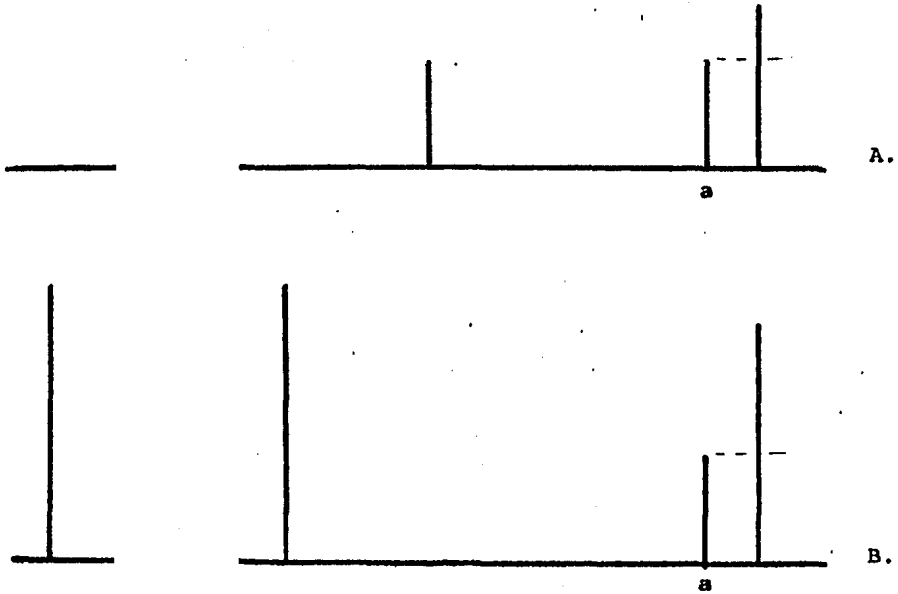
Fig. 46- DETERMINACION EXPERIMENTAL DE LOS EFECTOS INOTROPICOS
POSITIVO Y NEGATIVO DE LA ACTIVACION ("PIEA" y "NIEA")
EN EL MIOCARDIO DE MAMIFERO.

Trabajando a frecuencia basal muy baja, el efecto potenciador acumulado es despreciable y la amplitud luego de intervalos variables de reposo puede considerarse expresion del Efecto Negativo aislado (esquema A), el cual sigue un curso temporal simple y muy rapido. (esquema C).

Luego de un tren de estímulos a frecuencia alta, el cambio a frecuencia mas baja determina una escalera descendente (esquema B) debida a la diferencia entre ' niveles basales de -- Potenciacion ' acumulada, que se extingue lentamente; en cambio la diferencia de Depresion se extingue mucho mas rapido, por lo que el curso temporal de la escalera corresponde practica - mente al Efecto Potenciador aislado (esquema D).

*Adaptado de BLINKS-KOCH WESER, 1961 (14).





47 DIFERENCIA DE CONTENIDO DE INFORMACION
 INOTROPICA ENTRE CONTRACCIONES DE IGUAL
 AMPLITUD OBTENIDA POR DIFERENTES CONDI-
 CIONAMIENTOS

Preparado de rana a 20 °C

La sistole 'a' pertenece a un ritmo basal de baja frecuencia.

La sistole 'a' es decalante respecto a un ritmo basal de frecuencia mayor que el de arriba.

Preparado de GACIA MOREIRA et al., 1969 (59).

la duración del potencial de acción y con registros simultáneos de la fuerza isométrica. Al hacer finalizar prematuramente un potencial de acción se obtiene en el miocardio de rana menor fuerza en la contracción actual. Sin embargo, estos autores no observaron ningún efecto de memoria, lo que es contradictorio con lo observado en condiciones habituales.

Existiendo un cuerpo de evidencias coherentes en cuanto a interpretar a la potenciación con base en la entrada y acumulación del ión Calcio durante el Potencial de Acción, y a su pérdida durante el reposo mediante expulsión activa y/o difusión, resultaba necesaria una confrontación cuantitativa entre predicciones y medidas experimentales del fenómeno de la escalera. Tal tipo de estudio, referido sobre todo al comportamiento lineal del sistema, fue llevado a cabo por ORKAND (134) en el año 1968.

Este trabajo de ORKAND consistió esencialmente en medir el efecto potenciador de una contracción intercalada dentro de un ritmo basal de baja frecuencia, período de 100 s, y luego comparar la suma de dichos efectos con el registro de una escalera obtenida por cambio a frecuencia de estimulación doble. Como muestran los diagramas de la figura 48, en este trabajo se verificó un comportamiento casi lineal, porque el efecto potenciador conjunto de varias contracciones fue prácticamente igual a la suma de los efectos individuales de cada una de las contracciones por separado.

También en el año 1971 MORAD et al. (119) publican su primer registro electromecánico en el miocardio de rana mediante la técnica de voltaje asegurado, donde verifican un control directo de la fuerza por el potencial de membrana y confirman la ocurrencia de una corriente entrante del ión Calcio. Sin embargo, es importante destacar que al igual que EINWACHTER, HASS y HERN no hallan ningún efecto de memoria.

El principal resultado experimental de este trabajo es la gráfica $F = f(E_m)$ para el miocardio de rana, misma que se muestra en la figura 32, así como la determinación directa del tiempo al pico de la contracción por la duración del pulso eléctrico depolarizador de la membrana.

Reuniendo el conjunto de datos cualitativos y cuantitativos referentes al miocardio de rana CHAPMAN y NIEDERGERKE (39) formularon un modelo físico-matemático para explicar la regulación del inotropismo, partiendo de la envolvente del curso temporal de la amplitud de contracciones sucesivas para un cambio abrupto de la frecuencia basal de estimulación.

Con base en el ajuste de funciones exponenciales sumadas para describir la referida envolvente, estos autores postularon dos componentes para el efecto potenciador, asociados a la retención del ión Calcio en otros tantos compartimientos.

Fig. 48 ADITIVIDAD DE LA POTENCIACION INOTROPICA EN EL MIOCARDIO DE RANA ESTIMULADO A MUY BAJA FRECUENCIA.

Tita de ventrículo estimulada a $1/10 \text{ (s}^{-1}\text{)}$, $\text{Ca} = 2 \text{ mM}$

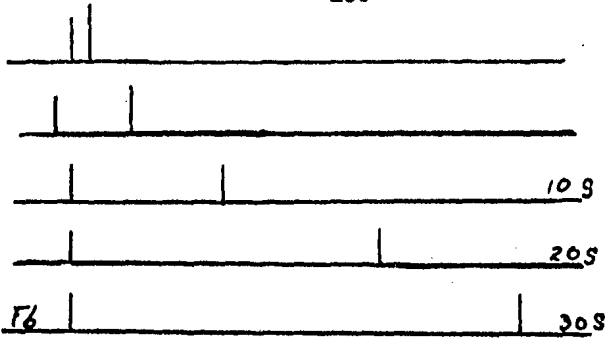
A - Registro isométrico de Fuerza mostrando la potenciación de una extrasístole que sigue a una sístole del ritmo basal con intervalos crecientes.

B - Dependencia de la Potenciación Relativa : $(F - F_b) / (F_b)$ respecto al intervalo que separa ambas contracciones. La fase lenta de la extinción sigue una cinética de primer orden con una constante de tiempo de 60 (s) .

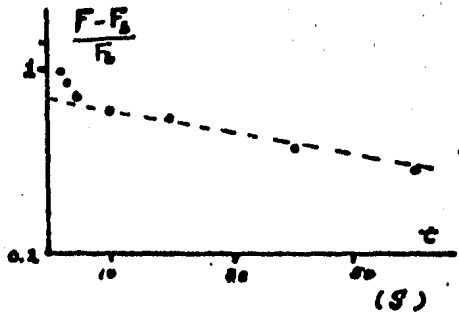
C - Comparación de la amplitud de las sucesivas contracciones de escaleras posteriores a un reposo de 20 min. con frecuencia de $1/10$ y $1/40 \text{ (s}^{-1}\text{)}$ con la predicción teórica (curva continua) basada en la convolución de los cursos temporales del cuadro B para cada una de las contracciones.

En ambos casos existe concordancia teórico-experimental, y se verifica que la envolvente se aproxima más a una recta cuanto más pequeño es el período (10 s) respecto a la constante de tiempo (60 s) con que se extingue la Potenciación.

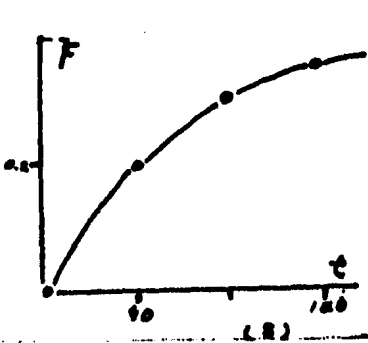
Adaptado de ORKAND , 1968 (134).



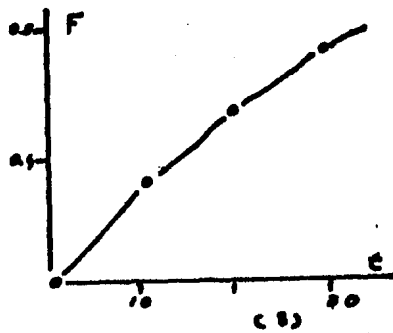
A



B.



C.



C.

En el año 1975, empleando una técnica de perfusión muy rápida y trabécula de rana, LAMMEL et al. (101) obtuvieron una comprobación importante: el monto del efecto potenciador de un breve baño depolarizante no depende de la concentración del ión Calcio existente en la solución aplicada, sino de la concentración presente en la solución que baña al miocardio en el momento de ocurrir una contracción posterior, que resulta potenciada. De otro modo, el efecto potenciador parecería consistir en un aumento persistente de la asequibilidad del ión Calcio al interior celular durante la activación subsiguiente, más que en la propia retención del mismo dentro de las células luego de terminada una contracción. Esto se resume en los diagramas de la figura 49.

Conciliando las ideas de CHAPMAN y NIEDERGERKE con las de BRAVENY y KRUTA, y al hacer énfasis en la existencia de efectos condicionantes negativos cuyo proceso determinante puede aislarse experimentalmente en condiciones de alto Calcio RIOS, CASTRO, y GARCIA MOREIRA (143) postularon un modelo dentro del cual la fuerza se supone determinada por la combinación multiplicativa de los montos de dos factores, uno responsable de la Potenciación y otro de la Inhibición antes mencionada.

De dicho trabajo se ha tomado el esquema experimental para la presente tesis, aunque aquí únicamente se intenta dilucidar un aspecto muy restringido de la problemática, sobre todo en cuanto a la previsión de situaciones complejas.

Al generalizarse la comprobación de que la cafeína y otras metilxantinas liberan ión Calcio desde el retículo sarcoplásmico, se aplicó el modelo de CHAPMAN y NIEDERGERKE para la predicción cuantitativa de los resultados experimentales hallados al aplicar esta droga durante la estimulación a frecuencia constante en aurícula de rana, y la obtención de resultados satisfactorios (200) se consideró como una prueba adicional en favor del mismo por parte de CHAPMAN y MILLER.

Un procedimiento análogo fue empleado durante los años 1976 y 77 en nuestro Laboratorio de Biofísica para analizar el efecto de la cafeína sobre el miocardio ventricular de rana, donde los tiempos de intercambio fueron más largos, pero igualmente se obtuvieron resultados que sugieren la participación de más de un componente en la respuesta a la cafeína.

Como estas observaciones concuerdan con lo encontrado más tarde por GOTO (201) en el registro directo de corrientes de membrana en este tejido, la operatividad de los modelos resultó destacada.

Estas y otras concordancias teórico-prácticas condujeron a una referencia cada vez más frecuente a los modelos cuantitativos como un esquema de guía para interpretar observaciones o predecir resultados referentes al condicionamiento de la contractilidad.

Fig. 49 ANALISIS EXPERIMENTAL DE LA NATURALEZA DEL EFECTO DE MEMORIA PRODUCIDO POR UNA CONTRACTURA EN EL MIOCARDIO DE RANA.

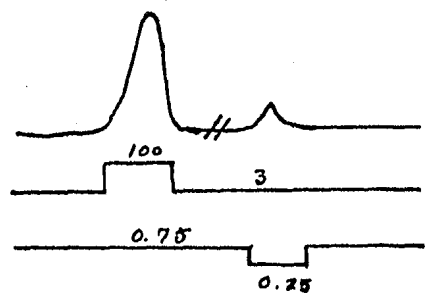
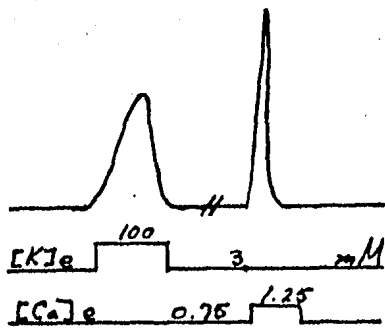
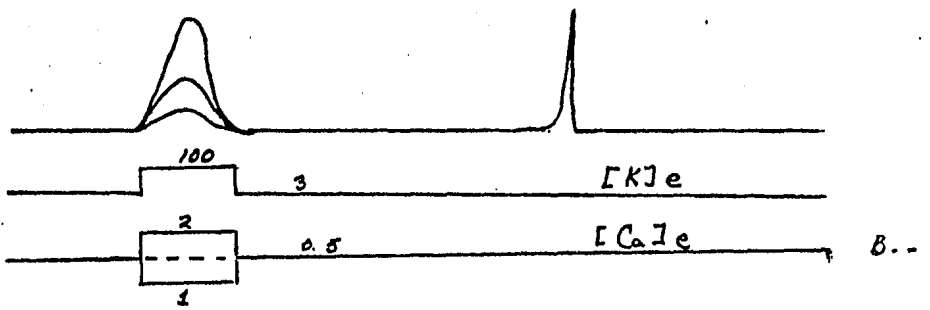
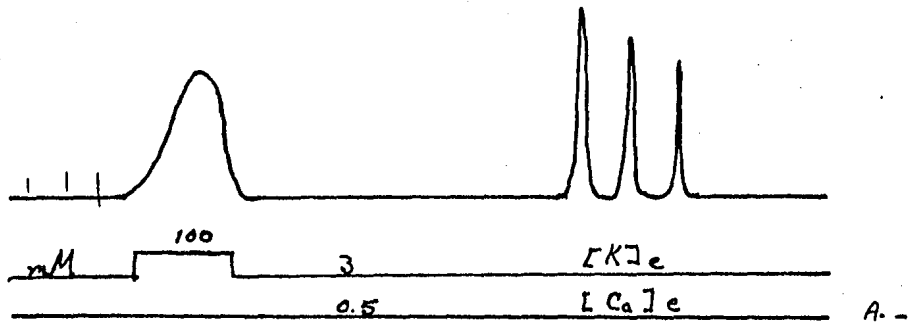
Trabécula auricular, a 20 °C, estimulada 1/4 s cuya contractura se induce por un pulso de alto K (100mM) de 3 s de duración, dejando reposar el preparado durante 10 s, para reiniciar la estimulación.

Las sucesivas contracciones post-reposo forman una escalera descendente en lugar de la ascendente que se esperaría por haber interrumpido el ritmo basal, y corresponde a la extinción del efecto potenciador de la contractura (esquema A).

El efecto potenciador no depende de la amplitud de la contractura condicionante (registro B), cuyo cambio se logra asociando un pulso en la concentración de Calcio. Y esto también demuestra que no quedan remanentes intra-celulares de este ión al cabo del reposo.

Por el contrario, si el pulso de Calcio (adicionado o sustraído) se aplica 300 ms antes del estímulo de prueba, la amplitud de esta respuesta depende de la concentración de Calcio; lo cual se interpreta como evidencia de que la potenciación consiste en un aumento de la entrada de Calcio durante la activación de prueba.

Adaptado de LAMELL-NIEDERGERKE-PAGE, 1975 (101).



C.

Los trabajos de MILLER-MOISESCU (115) y de CHAPMAN (42) han extendido el alcance de este tipo de análisis hacia la interpretación de la cinética y mecanismos de acción de las catecolaminas, y se han obtenido algunos resultados particularmente interesantes.

Sin embargo, cada vez más el interés por la problemática del condicionamiento contráctil se va centrando en aspectos parciales referentes a la naturaleza fisicoquímica concreta de los procesos descritos formalmente, e identificados en términos de la función global del sistema.

Dentro de este concepto se enmarca la presente tesis, en la medida en que se analiza una situación muy concreta, es decir el condicionamiento para contracciones muy cercanas, tomando como referencia un modelo cuantitativo previamente formulado (62) y se procura dilucidar cuáles son los procesos químicos y físicos involucrados.

***Descripción Formal y Predicción
de los Fenómenos de Memoria
Inotrópica***

7. DESCRIPCION FORMAL Y PREDICCION DE LOS FENOMENOS DE MEMORIA INOTROPICA EN EL MIOCARDIO DE BATRACIO.

Durante la revisión efectuada previamente acerca del desarrollo histórico general del conocimiento de la fisiología del corazón, hemos señalado consideraciones cibernéticas que plantean la actividad previa del corazón como condicionante de su respuesta, con base en interpretar los eventos asociados a cada activación como paquetes de información que pueden retenerse durante cierto tiempo.

De aquí que algunos autores hablen de "Memoria Inotrópica" para referirse a la expresión de dicha información al producirse la nueva sacudida (143) (66).

Si bien existen en la literatura numerosos esquemas experimentales para abordar el estudio de este tema, el más simple parece ser el introducido originalmente por GARB y PENNA (58), donde se intercala una extrasístole dentro de un ritmo basal que permite definir un estado estacionario de referencia a las condiciones electromecánicas del miocardio, y reconocer la perturbación introducida en el mismo por la ocurrencia de la activación agregada (fig. 50).

Dentro de este esquema, indicaremos por "X" al intervalo que separa la extrasístole intercalada de la sístole basal siguiente, cuya modificación de amplitud respecto a las sístoles basales precedentes se adopta como medida del EFECTO INOTROPICO DE LA ACTIVACION OCURRIDA UN TIEMPO "X" ANTES:

$$E(X) = F(x, nT) - F(nT)$$

donde $F(nT)$ denotan la fuerza basal para el ritmo, que está determinada por las n activaciones previas, cuyo efecto condicionante se prolonga hasta el instante en que ocurre la sístole basal de prueba.

Al aplicar este método, la verificación más importante es que EL SISTEMA NO SE COMPORTA DE MANERA LINEAL dentro de las condiciones más parecidas a las fisiológicas, en efecto, sistemáticamente se halla que el EFECTO INOTROPICO CONJUNTO PRODUCIDO POR DOS ACTIVACIONES PREVIAS ES MENOR QUE LA SUMA DE LOS EFECTOS INDIVIDUALES PRODUCIDOS POR CADA UNA DE ELLAS ACTUANDO SEPARADAMENTE:

$$E(x_1, x_2) < E(x_1) + E(x_2)$$

se puede probar esto experimentalmente en forma muy sencilla y directa por la imposibilidad de construir una escalera por sumatoria de Efectos Inotrópicos individuales (fig. 51).

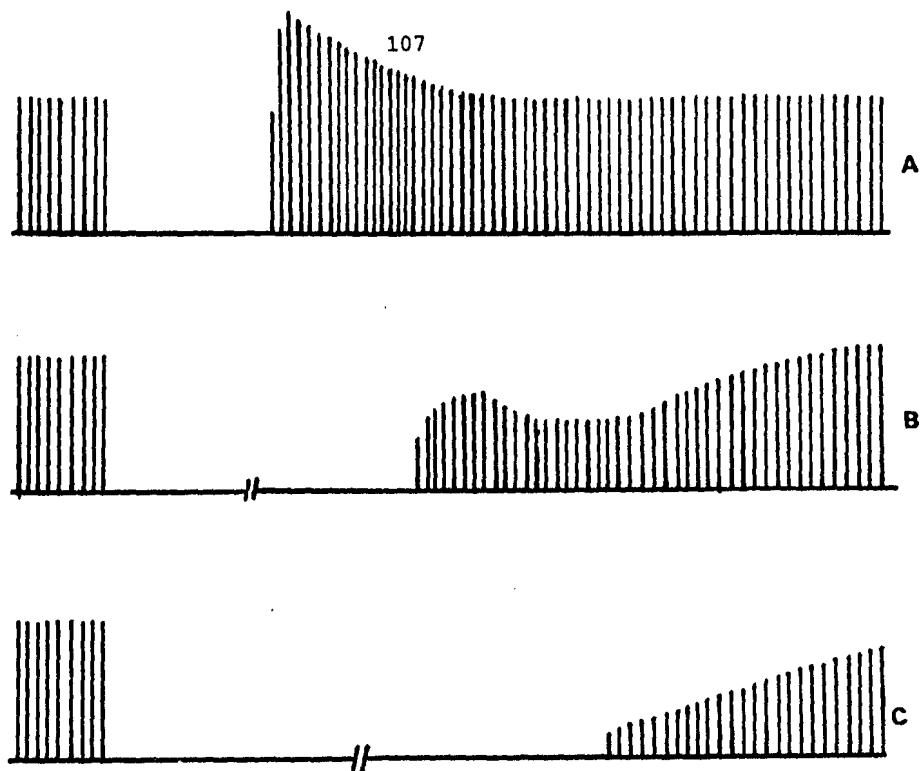


Fig. 50 CAMBIO DEL FENOMENO DE ESCALERA EN FUNCION DEL INTERVALO DE REPOSO PREVIO

Tira de ventrículo de rana, Frec. Basal = $1/3 \text{ s}^{-1}$

A - 1 m

B - 7

C - 15

El curso temporal bifásico constituye una manifestación de la existencia de un factor de memoria intróptica negativa.

Adaptado de GARCIA MOREIRA y CABEZUDO (60).

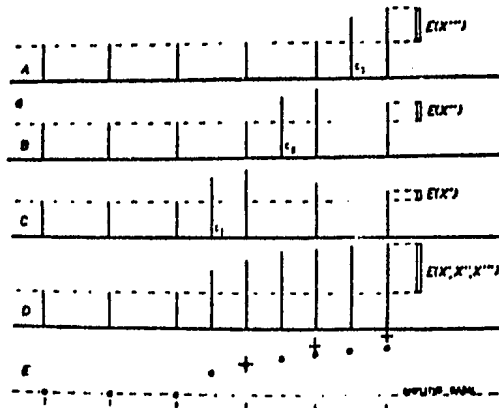


Fig. 51 IMPOSIBILIDAD DE RECONSTRUIR LA ESCALERA MEDIANTE SUMA DE EFECTOS INOTROPICOS

A, B y C: determinación de los efectos de extrasístole situados en la mitad de los periodos basales a diferente distancia de la contracción de prueba.

D: Escalera obtenida experimentalmente por duplicación de frecuencia mediante intercalación de las 3 extrasístoles.

E: Comparación entre la amplitud experimental de las contracciones de la escalera (O), y la amplitud prevista por suma de efectos individuales. (+)

Tomado de GARCIA MOREIRA et al., 1977 (62).

Sin embargo, cuando la frecuencia basal se reduce en forma extrema (143) o la concentración de Calcio se eleva en forma importante (134) el SISTEMA SE APROXIMA NOTORIAMENTE A UN COMPORTAMIENTO LINEAL, lo que sugiere que dentro del intervalo fisiológico podría ocurrir una combinación no lineal de factores cuyo comportamiento por separado sea lineal.

Midiendo el efecto potenciador de una activación intercalada a diferentes intervalos de la activación basal siguiente, se obtiene una CURVA DE EFECTO INOTROPICO (143). Cuidando que la separación entre contracciones no llegue a ser menor de cuatro segundos, se obtiene una curva descendente monótona (fig. 52) que se adopta como criterio para evaluar globalmente los cambios de la memoria inotrópica.

El hecho de que la Curva de Efecto Inotrópico no presente "escalones" asociados a la ocurrencia de activaciones basales intercaladas resulta particularmente llamativo, pues si el efecto potenciador recidiese en la acumulación celular de alguna sustancia, cabría esperar que al consumirse cierta cantidad de ésta durante la activación se detectara un decremento discreto del nivel de potenciación luego de ella. Aunque puede entenderse si se postula la recirculación total del factor potenciador, o bien que éste consista en un cambio de permeabilidad de la membrana.

Si se determina la Curva de Efecto Inotrópico sobre frecuencias basales cada vez más altas, pero dentro del intervalo fisiológico, se verifica que para valores medianos del intervalo "X" OCURREN VALORES NEGATIVOS DE EFECTO INOTROPICO, es decir, inhibición en vez de potenciación (fig. 52), lo que de nuevo sugiere la posibilidad de que los efectos de memoria pudiesen involucrar la participación de dos factores, uno de los cuales podría reducirse por actividad.

En medio de alto Calcio (10 mM) los efectos potenciadores desaparecen totalmente, y la curva de efecto inotrópico se transforma en una exponencial simple dentro del cuadrante negativo (fig. 53), y como además en esta condición los efectos inotrópicos -que ahora son puramente negativos- se tornan linealmente aditivos, se concluye que EXISTE UN FACTOR DE MEMORIA QUE SE REDUCE POR LA ACTIVACION Y QUE INDIVIDUALMENTE OBEDECE A UNA CINETICA DE PRIMER ORDEN.

Trabajando a frecuencias muy bajas, la curva de efecto inotrópico es totalmente positiva y puede describirse mediante la composición de dos exponenciales; además los efectos inotrópicos son linealmente aditivos, por lo que puede concluirse que EXISTE UN FACTOR DE MEMORIA QUE AUMENTA CON CADA ACTIVACION Y QUE INDIVIDUALMENTE SE COMPORTA EN FORMA LINEAL.

En condiciones fisiológicas ambos factores estarían actuando simultáneamente y se compondrían mediante producto para determinar el valor de la contractilidad en un momento dado.

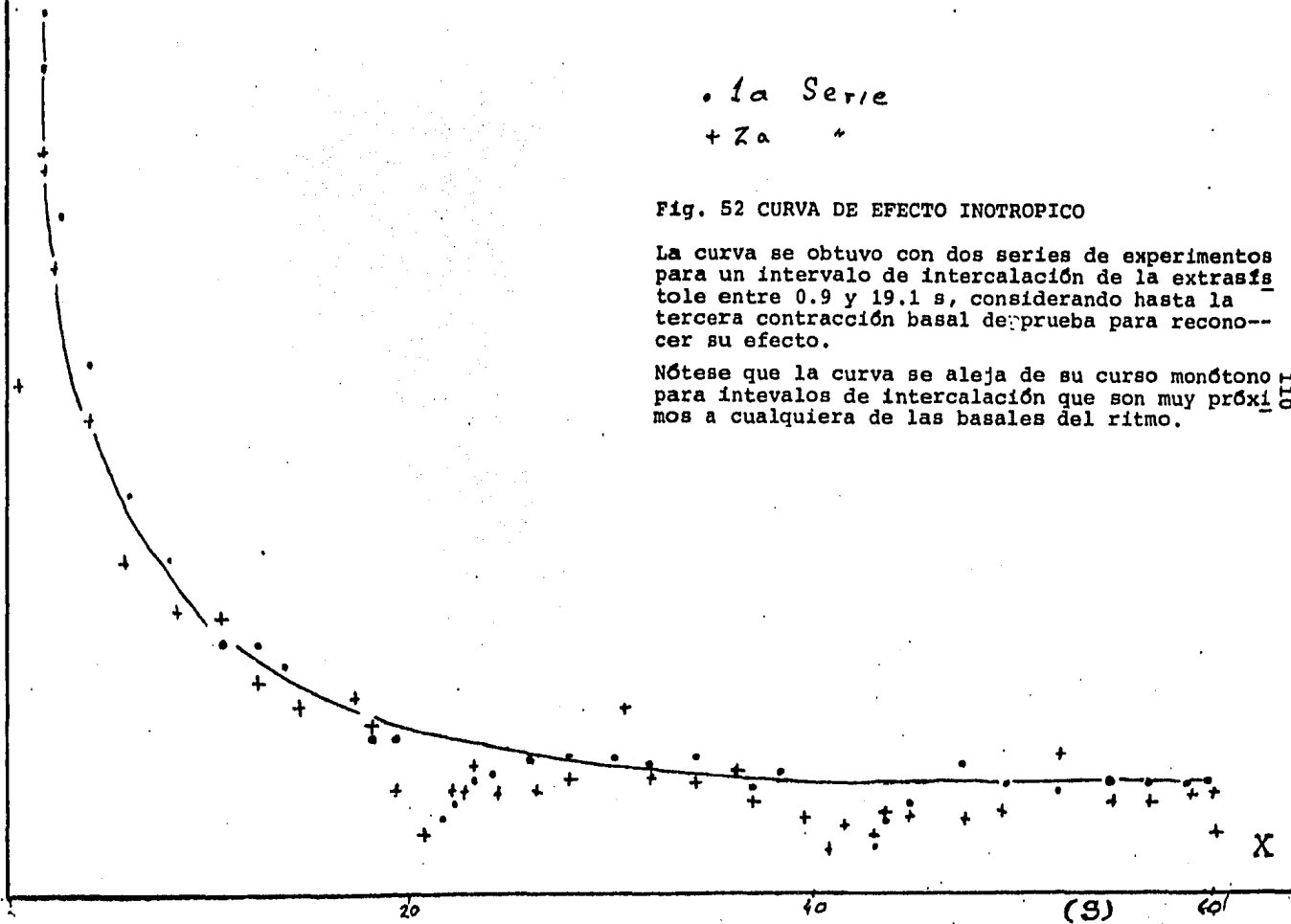
$E(x)$

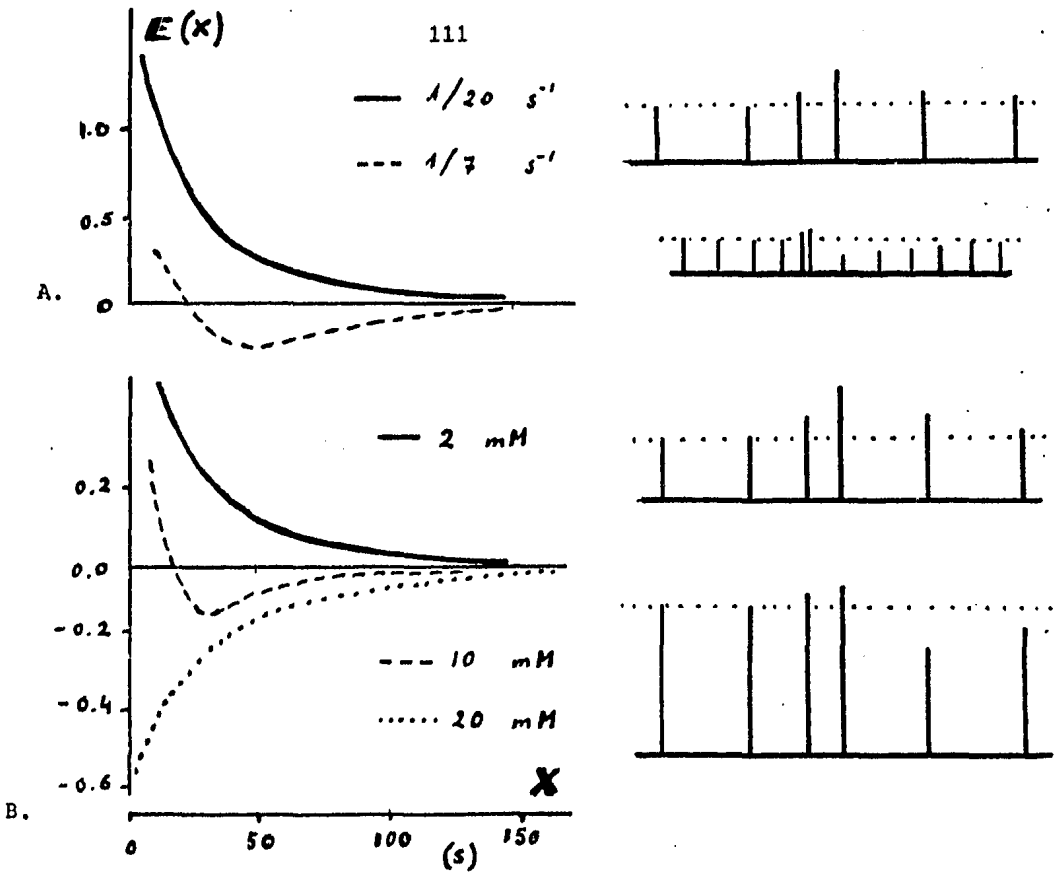
. 1a Serie
+ 2a "

Fig. 52 CURVA DE EFECTO INOTROPICO

La curva se obtuvo con dos series de experimentos para un intervalo de intercalación de la extrasístole entre 0.9 y 19.1 s, considerando hasta la tercera contracción basal de prueba para reconocer su efecto.

Nótese que la curva se aleja de su curso monótono para intervalos de intercalación que son muy próximos a cualquiera de las basales del ritmo.





A. Sobre un ritmo basal rápido

B. En presencia de alto Calcio

Adaptado de RIOS et al., 1975 (143)

Entonces, la fuerza basal $F(nT)$ correspondiente a las contracciones de un ritmo de período T se definiría como:

$$F(nT) = K \left[A + P(jT) \right] \cdot \left[B - I(jT) \right]$$

Donde P e I son funciones empíricas que describen el curso temporal de cada uno de los factores mencionados, y las constantes A y B representan los montos mínimos posibles de estos mismos, que existirían en el miocardio dependiente de toda actividad previa.

Esta expresión significa que durante el ritmo basal cada activación agrega al factor potenciante un monto de potenciación que se extingue según el curso temporal descrito por la función $P(jT)$, y que se suma a los montos determinados por las activaciones previas que ocurrieron dentro de un tiempo limitado al alcance significativo de la función. Otro tanto ocurre con el factor inhibible.

En concordancia con lo anterior, una contracción "aislada", es decir, suficientemente alejada en el tiempo de toda actividad previa como para que se disipe su efecto condicionante, tendría un valor de fuerza dado por el producto de los montos mínimos posibles de los factores referidos:

$$F(0) = K \cdot A \cdot B$$

y a su vez el efecto inotrópico de una activación intercalada al intervalo antes de la basal se definiría como:

$$E(x) = F(x, nT) - F(nT)$$

donde $F(nT)$ es el valor de la fuerza basal antes calculada, y el valor de la fuerza en presencia de la extrasístole sería:

$$F(x, nT) = K \left[A + P(jT) + P(x) \right] \cdot \left[B - I(jT) - I(x) \right]$$

La obtención experimental de la función $P(t)$ se efectúa mediante rectificación semilogarítmica compuesta de la curva efecto inotrópico obtenida cuando la frecuencia basal es extremadamente lenta:

$$\frac{E(x)}{F_0} = \frac{P(x)}{A} = \frac{P(0)_1 \cdot e^{-x/\tau_1}}{A} + \frac{P(0)_2 \cdot e^{-x/\tau_2}}{A}$$

A su vez, la obtención experimental de la función $I(t)$ se efectúa en medio de alta concentración del ión Calcio, porque se saturan los efectos potenciadores, y quedan únicamente los efectos de inhibición, cuyo curso temporal se ajusta bien a una función exponencial:

$$\frac{E'(x)}{F'_0} = \frac{I'(x)}{B'} = \frac{I'(0)}{B'} \cdot e^{-x/\tau'_1}$$

Aunque debe señalarse que mientras la función $P(t)$ se determina en condiciones normales, $I(t)$ se calcula en condiciones extremas y podría resultar no totalmente válido aplicar la misma constante de tiempo para condiciones normales. Por esto el parámetro I'_0 debe estimarse a partir de la simulación correcta de los datos experimentales.

De esta manera se llegó a postular la siguiente relación para los valores típicos de los parámetros:

$$\frac{P(0)_1}{A} = 2.2 \pm 0.45; \quad \frac{P(0)_2}{A} = 0.3 \pm 0.11$$

$$\tau_1 = 8 \pm 0.15 \text{ s}; \quad \tau_2 = 110 \pm 30 \text{ s}.$$

$$\frac{I'(0)}{B'} = 0.068 \pm 0.017; \quad \tau'_1 = 30 \pm 7.1 \text{ s}$$

Mediante operación por computadora de este modelo resulta posible predecir con un buen ajuste el comportamiento con tráctil del miocardio de rana, ante diferentes patrones de estimulación (62), y por esto constituye el antecedente más afín a la problemática que se aborda en el presente tra bajo.

*Fenómenos de Memoria para
Sístoles Intercaladas y muy
Próximas Entre Sí*

8. FENOMENOS DE MEMORIA PARA SISTOLES INTECALADAS Y MUY PROXIMAS ENTRE SI

La curva de efecto inotrópico a que nos referimos en el numeral anterior omite valores de intervalos x para los cuales la separación entre la extrasístole y la sístole basal previa o posterior sea inferior a 4 s, ya que entonces ocurren depresiones del efecto inotrópico respecto a la tendencia general de la curva (fig. 52).

Sin embargo resulta evidente que una descripción correcta del comportamiento de la Memoria Inotrópica debe incluir necesariamente la adecuada predicción de lo que ocurre en estas zonas particulares.

La primera pauta para ello proviene de las modificaciones de la duración de los potenciales de acción; en efecto para valores del intervalo x poco menores que el período basal T , la extrasístole ocurre muy poco después de la sístole basal previa y entonces su potencial de acción está significativamente acortado, según la siguiente expresión:

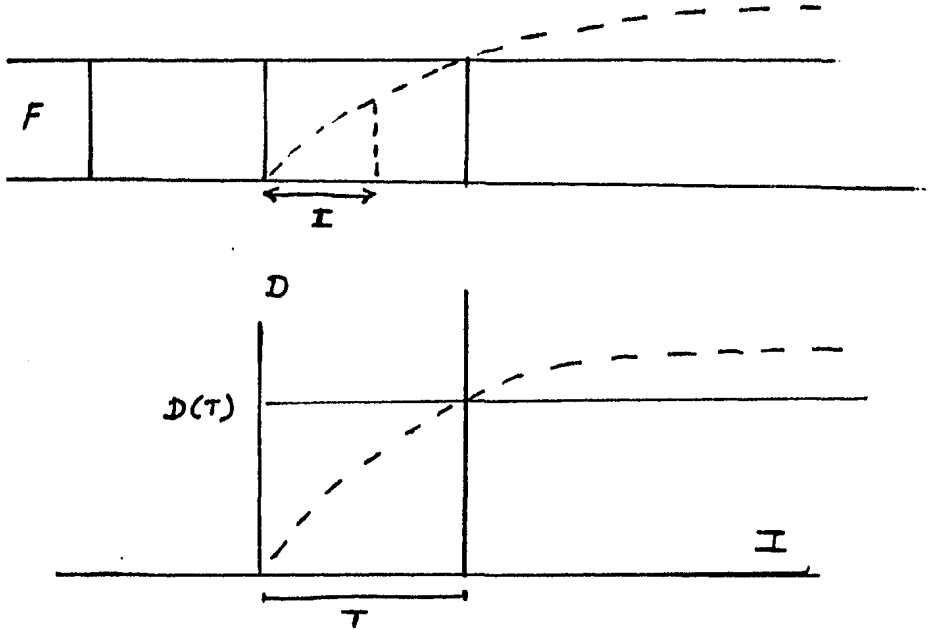
$$D(x) = \left| D(T) \cdot x^b \right| \cdot D(T) (1 - x^b)$$

donde $D(T)$ es la duración correspondiente al potencial de acción de la sístole basal (fig. 54).

Si la ordenada al origen de las funciones $P(t)$ e $I(t)$ correspondientes al monto de una "impresión" de información en la memoria durante el potencial de acción, en sentido análogo a lo expuesto por WOOD, HEPNER y WEIDMANN (196), entonces resultaría explicable el hecho de que el efecto inotrópico fuese menor que lo previsto con base en la tendencia general de la curva, ya que en este caso las funciones quedarían de la siguiente manera:

$$P(x) = \left| \frac{D(T) \cdot x^b}{D_0} \right| \left| \frac{P(0)_1}{A} \cdot e^{-\tau_1 x} + \frac{P(0)_2}{A} \cdot e^{-2x} \right|$$

$$I(x) = \left| \frac{D(T) \cdot x^b}{D_0} \right| \left| \frac{I_0}{B} \cdot e^{-\tau_3 x} \right|$$



$$D(I) = D(\infty) - [D(\infty) - D(T)] I^{-\alpha}$$

$$D(\infty) = 900 \text{ ms} \quad \alpha = 0.675$$

Fig. 54 -MODIFICACION DEL TIEMPO DE ACTIVACION PARA UNA SISTOLE INTERCALADA DENTRO DE UN RITMO BASAL SEGUN EL INTERVALO ENTRE ESTA Y LA SIGUIENTE DEL RITMO.

Tira de miocardio ventricular de rana, registro isométrico de fuerza, estimulación basal $1/3 \text{ S}^{-1}$.

Se estima la duración de la activación mediante el Tiempo al Pico de la Contracción.

$D(T)$ es la duración de una sístole basal.

Adaptado de GARCIA MOREIRA y CARLEVARO (61).

De manera similar, para intervalos x muy breves la extrasístole precede muy cercanamente a la sístole basal de prueba, y entonces el potencial de acción de ésta resulta con duración menor que el de la basal, aunque no se dispone para este caso de una descripción cuantitativa previa.

Si la "expresión" del contenido de la memoria (143) dependiese de la duración del potencial de acción actual, entonces cabría esperar un desarrollo de fuerza menor que el obtenido para el mismo monto de condicionamiento, pero con duración normal de potencial de acción (fig. 55).

El uso de técnicas para modificar artificialmente la duración del potencial de acción ofrecería una alternativa para obviar estos problemas, pero se ha mencionado antes que las mismas alteran drásticamente los fenómenos de memoria en el miocardio de rana (53), (119), (72), de modo que resultan excluidas a los fines del estudio mismo.

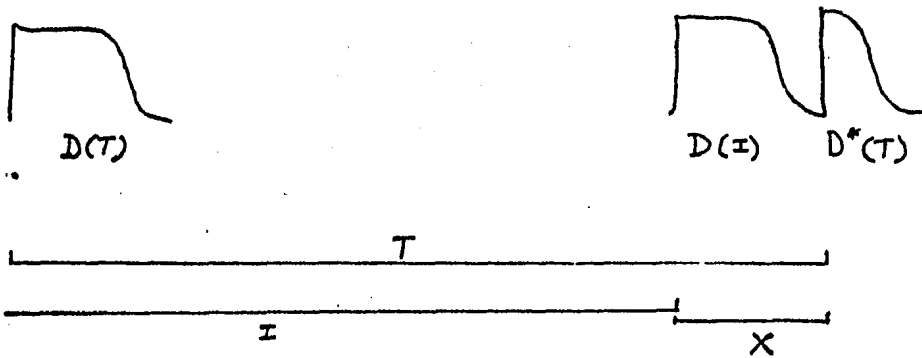
En cambio resultarían aplicables las técnicas para estimar la contractilidad en los términos descritos dentro del numeral 5 de esta tesis, pues su definición es independiente de la duración del potencial de acción.

Para tal situación la contracciones condicionadas por extrasístoles que las preceden con intervalos muy breves, de berían exhibir aumento en la tasa máxima de desarrollo tensional $(dF/dt)_{\max}$, aún cuando su tiempo al pico estuviese disminuido por el acortamiento del potencial de acción, y su amplitud determinada entre ambos factores resultara inferior que la prevista con base en la tendencia general de la curva de efecto inotrópico (fig. 52). Para comprobar experimentalmente esta hipótesis, debería hallarse que la curva de efecto inotrópico para $(dF/dt)_{\max}$ carece de las depresiones antes mencionadas. Pero dado que a la vez (dF/dt) tiene un curso temporal que determina el retardo para alcanzar la (dF/dt) máxima, podría suceder que la duración del potencial de acción fuese insuficiente para que aquél se expresara. En este caso debería recurrirse al estudio de la segunda derivada.

Sin embargo, también podría ocurrir que el cambio significativo del potencial de acción alterase no solamente la duración y la intensidad del estado activo; sino a la vez la configuración misma del curso temporal.

Esto nos conduce a la necesidad de manejar expresiones más "panorámicas" de la contractilidad, tales como la curva de Velocidad-Carga y la curva de Estado Activo, explicadas antes en este trabajo.

Tal tipo de análisis ha sido empleado para el estudio del miocardio de mamífero (162) y de rana (109) a diferentes frecuencias basales para distinguir entre acciones inotrópicas homeométricas y heterométricas, por lo que resulta indicada su aplicación a la presente problemática.



$$D(I) = D(T) / D^*(T) < D(T)$$

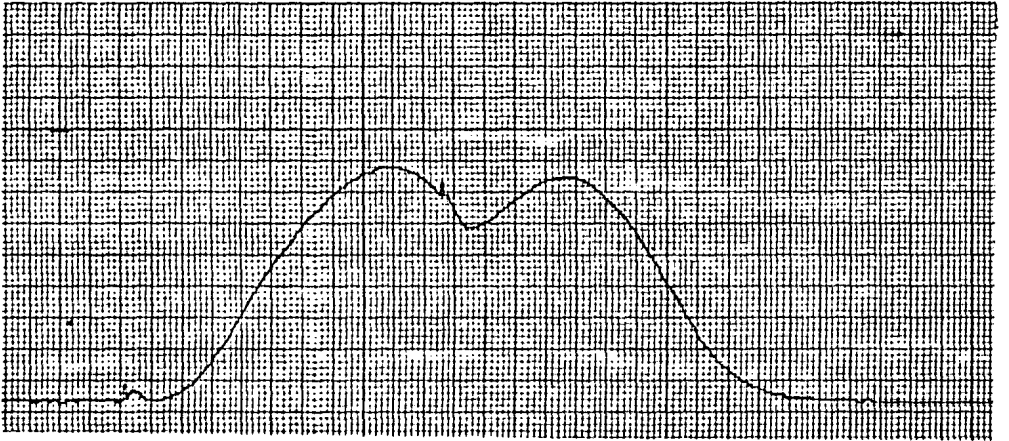
$$F(nT) = K \left[\frac{D(T)}{D_0} + \sum P(nT) \right] \left[\frac{D(T)}{D_0} - \sum I(nT) \right]$$

$$F(x, nT) = K \left[\frac{D^*(T)}{D_0} + \sum P(nT) \right] - I(nT)$$

Fig. 55- MODIFICACION DE LA "EXPRESION" DEL CONDICIONAMIENTO DE LA CONTRACTILIDAD DEBIDO A LA EXTREMA PROXIMIDAD DE LA EXTRASISTOLE RESPECTO A LA BASAL SIGUIENTE

Los montos de reposo de ambos factores se suponen afectados por la duracion del Potencial. Para la sistole "aislada" $D(T) = D(0)$ de modo que $D(T)/D(0) = 1$, pero para cualquier valor de T menor (frecuencia alta) el cociente es menor de 1. A su vez, si la extrasistole está muy cercana, se agrega un cierto acortamiento del Potencial, que ahora vale $D^*(T)$ y esto hace que sea menor el monto A de factor potenciante que se suma a cualquier monto de Potenciación ρ determinado por la actividad previa.

Pero a las interrogantes planteadas debe añadirse una más, al aproximarse entre sí la extrasístole y una de las sístoles basales, ocurre que los respectivos registros se FUSIONAN PARCIALMENTE, debiéndose dilucidar la naturaleza de este proceso y la medida en que se relaciona con los fenómenos de memoria.



Material y Métodos

9. MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron tiras de miocardio ventricular de rana, *Rana sp*, de aproximadamente 12 x 3 mm obtenidas a partir de un anillo de ventriculo, formado después de seccionar el ápice y el surco atrio-ventricular, cuidando en ésto último de no dejar tejido auricular, a efectos de que la preparación no presentase actividad espontánea.

Los extremos de la tira se ligaron utilizando hilo delgado inextensible de 'nylon' y luego se ataron uno a un soporte fijo dentro de un baño, y el otro a un vástago de ankambre de acero inoxidable de 8 cm de longitud, mediante el cual se conectó la tira a un detector de fuerza.

Se utilizó un baño de forma tubular construido en acrílico (fig. 56), de 0.64 cm² de sección y 2.3 de altura, de modo que su volumen era de 1.5 cm³, de los cuales aproximadamente el 2.4% quedaba ocupado por la tira.

A través del baño se perfundió Ringer mediante un frasco de Mariotte, (para asegurar constancia en el gasto independiente del volumen contenido en el frasco), con régimen de aproximadamente 0.6 (cm³/min) que determinaba un recambio del baño cada dos minutos y medio.

La perfusión se efectuó en sentido ascendente, evitando que el líquido que rebosaba del baño introdujese al caer, un artefacto apreciable en el registro de fuerza.

Sobre las paredes del baño y paralelamente a la tira se colocaron dos electrodos laminares de plata clorurada de aproximadamente 1 mm de grosor y altura igual a la de la cámara, para asegurar que la longitud total de la tira recibiese la misma densidad de corriente estimuladora y la excitación fuese simultánea en todas sus partes y por tanto no hubiese fenómenos atribuibles a la propagación de la misma.

El ringer utilizado en condiciones normales tenía la siguiente composición:

Sustancia		Concentracion (mM)
Na	Cl	113.5
K	Cl	3.0
Ca	Cl	2.0
TRIS	Cl	2.0
Glucosa		5.5

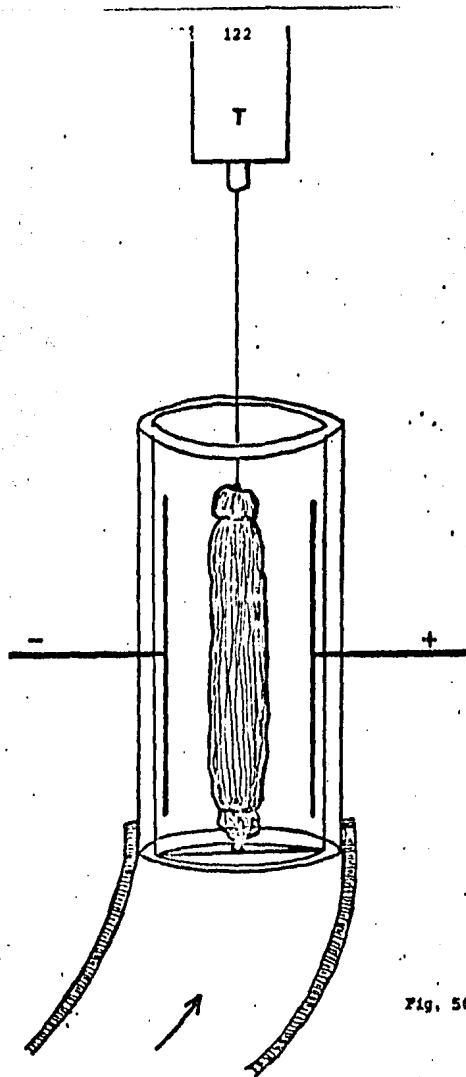
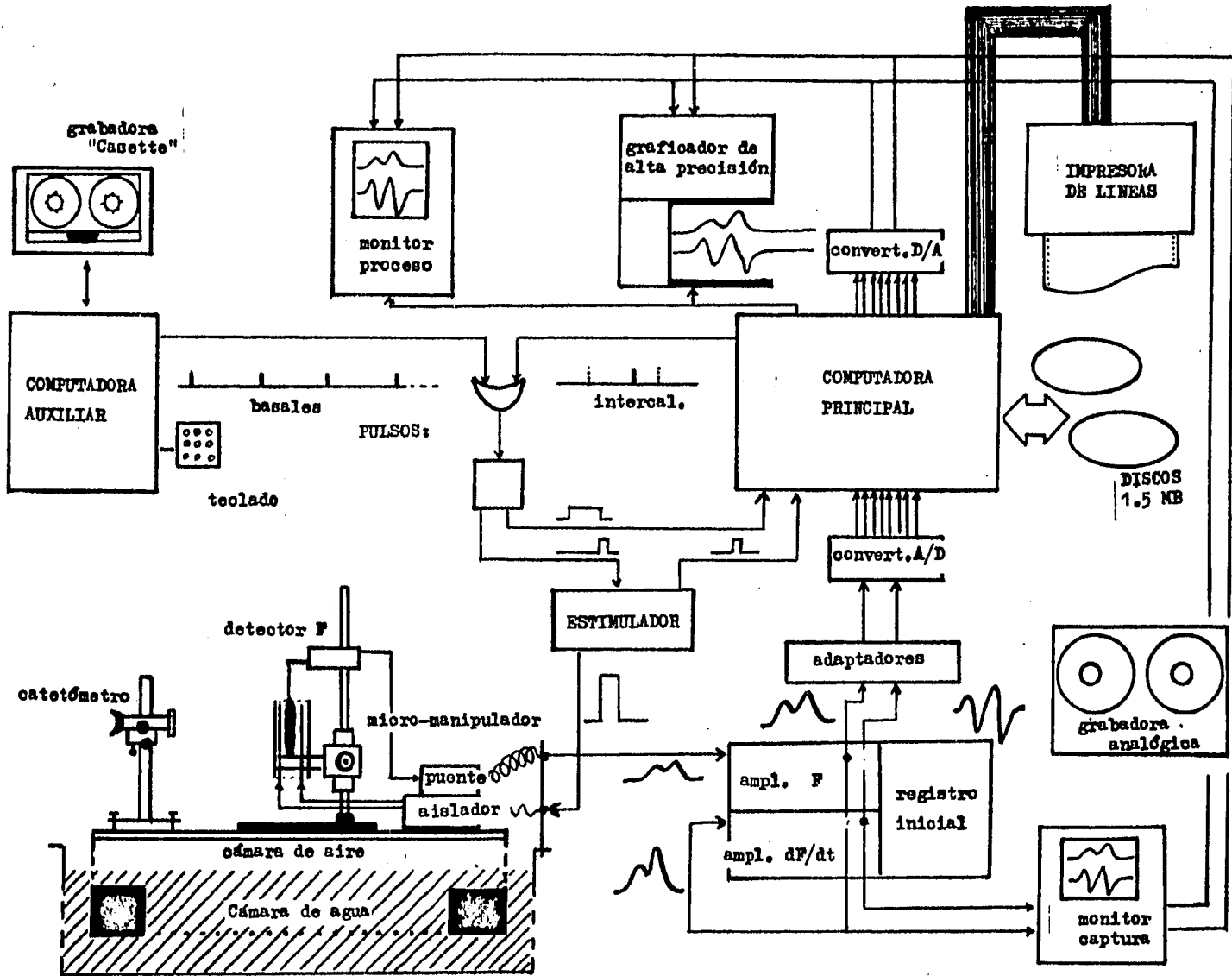


Fig. 56

Fig. 56 BAÑO DE PERFUSION

La perfusión se efectuó en sentido ascendente, con régimen de aproximadamente $0.6 \text{ cm}^3/\text{m}$ que determina un recambio del baño cada 2.5 m.



Antes de colocar esta solución en el frasco de Mariotte se hacía burbujear enérgicamente una mezcla de Oxígeno (96%) y anhídrido Carbónico (5%) durante 5 minutos.

En los casos en que se requirió exagerar los fenómenos de memoria inotrópica, se redujo a la mitad la concentración de Calcio, sin efectuar corrección para isotonicidad, teniendo en cuenta que este cambio era poco significativo para la molaridad total (3/250 aproximadamente, si no se consideran restricciones de la actividad osmótica). Por otra parte, se sabe que el miocardio de batracio es poco sensible a los cambios osmóticos.

Todos los experimentos se realizaron a la temperatura ambiente, que varió entre 10 y 25 °C, según la estación del año.

Las tiras fueron estimuladas mediante pulsos eléctricos de forma cuadrada y duración de 10 ms obtenidos de un estimulador marca 'GRASS' modelo 'S-88' y aislado de la tierra física general mediante una unidad aisladora marca 'GRASS' modelo 'SIU-46/8'. El voltaje de estos pulsos se ajustó en todos los casos a un valor superior al necesario para inducir una respuesta de fuerza máxima. La densidad de corriente a través de la tira para satisfacer tal condición, fue en general del orden de 0.4 mA/cm^2 .

Este aspecto técnico mereció especial atención debido a que cuando las activaciones están muy próximas entre sí, el segundo estímulo se ubica dentro del período refractario relativo y entonces puede suceder que una zona de la tira se exciten antes que otras. Para descartar esto se verificó que en dichos casos, un aumento de 10 veces en el voltaje estimulador, no determinase cambios apreciables en la respuesta.

La frecuencia basal fue en todos los casos de $1/20 \text{ s}^{-1}$ y la ubicación del estímulo intercalado varió entre 0.5 y 19.5 s, asignándose cada uno de ellos aleatoriamente dentro de cada serie.

Para el registro de la fuerza se utilizó un detector marca 'GOULD-STATHAM' modelo 'UC3' cuya distensibilidad es de $2 \text{ } \mu\text{m/g}$. Dado que la fuerza desarrollada por las tiras fue en todos los casos inferior a los 10 g, esto significó que el desplazamiento pudo ser como máximo de $20 \text{ } \mu\text{m}$, lo cual es despreciable respecto a la longitud de la tira (20/1 500), por lo cual pudieron considerarse todos los registros como estrictamente isométricos.

La frecuencia natural del transductor era cercana a los 300 Hz, por lo que se excluía toda posibilidad de resonancia entre la excitación mecánica por la contracción de la tira, cuyos componentes sinusoidales de mayor frecuencia no superan los 20 Hz.

Asimismo las especificaciones del detector indican una respuesta mecánica uniforme dentro del 5% para frecuencias hasta de 60Hz, por lo que no se consideró la función de transferencia del mismo para obtener la fuerza real.

Dado que el detector empleado consiste en un puente de Wheastone, constituido por resistencias que varían al deformarse, es preciso alimentarlo con corriente continua cuyo voltaje depende del factor de sensibilidad del arreglo. Para nuestro caso, dicho factor fue 150 ($\mu\text{M}/\text{v.g}$) de manera que aplicando un voltaje excitador de 5 B, el puente genera una salida de 0.75 mV/g.

El voltaje excitador y la amplificación inicial de la salida del puente se consiguieron mediante una unidad marca 'GOULD' modelo 'SC 1105'.

La salida de esta unidad se conectó a un canal de un polígrafo marca 'NARCO' modelo 'DMP-48' integrado por un pre-amplificador modelo '7170' y un amplificador de potencia modelo '7070', a su vez la salida del pre-amplificador se conectó a otro canal con una unidad diferenciadora modelo '7301' y un amplificador de potencia para obtener en el tiempo real la primera derivada (dF/dt).

La relación de fases entre ambos canales de registro fué cuidadosamente ajustada mediante un osciloscopio de seguimiento continuo, marca 'HEWLETT-PACKARD' modelo '181 A', de almacenamiento en pantalla, verificando con un barrido de alta velocidad 10 ms/cm la coincidencia del pico de una contracción muy amplificada con el cruce por cero de la correspondiente derivada.

Durante todo el transcurso de los experimentos se registró sobre papel a baja velocidad, para controlar el curso temporal de la fuerza. También se monitoreó sobre la pantalla del osciloscopio cada contracción, utilizando barrido disparado por el estímulo, con velocidad de 100 ms/cm.

En algunas ocasiones se grabaron las señales de F, dF/dt y estímulo sobre cinta magnética a velocidad de 0.5 (cm/min) en una grabadora analógica marca 'HEWLETT-PACKARD' modelo '3964 A' con canales de frecuencia modulada para el manejo de señales continuas. En estos casos se grabó también en un cuarto de canal un pulso cuadrado de 5 s de duración, generado por un circuito auxiliar inmediatamente antes de cada estímulo a efectos de poder controlar con precisión un graficador sobre papel de alta calidad y de esta forma economizar al máximo dicho papel ('GOULD' modelo '2400').

Para el control del experimento y la adquisición de señales se utilizó una microcomputadora marca 'CROMEMCO' modelo 'THREE', con microprocesador marca 'ZILOG' modelo 'Z-80' operado con un ciclo de máquina de 1 μs y sistema operativo 'DOS'. La memoria central era de 32 Kbytes y representó una limitación para el proceso en línea, ya que el acceso a los archivos sobre disco magnético resultó excesivamente lento.

Para el almacenamiento de información la computadora con-
taba con dos unidades para disco flexible de 20 cm de diámetro,
grabado por ambos lados a doble densidad, para dar una capaci-
dad aproximada de 1.2 millones de Bytes por disco.

La impresión de programas por el despliegue de gráficas
con baja resolución; 132 puntos horizontales x 48 verticales,
se efectuó en una impresora de línea marca 'CENTRONICS' mode-
lo '3703'.

La adquisición de señales de F y dF/dt se realizó median-
te un convertidor analógico-digital de 8 bits (resolución
 $1/256$, equivalente a 0.2 mm sobre el papel polígrafo si se
asignase todo el intervalo dinámico a una señal inscrita con
deflexión de 50 mm). La frecuencia de conversión fue de 200
muestras por segundo, 5 ms entre cada dato, la cual resultaba
suficiente para captar señales de hasta 100 Hz de acuerdo al
Teorema del Muestreo (104) (fig. 56b). Debido a que no se dis-
ponía de suficiente información acerca del sistema, la fre-
cuencia de muestreo debió ajustarse mediante ciclos de espera
del programa de captura.

Debido a que la excursión del galvanómetro del polígra-
fo se obtenía con +1.25 V (cero central) y a que el interva-
lo dinámico del convertidor era de +2.5 V (cero central), se
intercaló en la entrada del canal de fuerza un amplificador
de ganancia 2 (operacional u-741).

Para el despliegue en el osciloscopio o graficador de
papel se usó un convertidor digital-analógico de 8 bits cu-
ya frecuencia se ajustó según el dispositivo, y para el caso
del papel de alta calidad se redujo mucho para poder traba-
jar con velocidad muy baja.

A efectos de indicar al programa el inicio de un ciclo
de medida del Efecto Inotrópico y grabación de los datos, se
utilizó un pulsador conectado a una de las líneas de entrada
digital del sistema, leyéndose desde el programa el estado
lógico del bit correspondiente en el registro asociado a di-
cha entrada.

Otra entrada digital se utilizó para capturar el pulso
de sincronía enviado por el estimulador 200 ms antes de apli-
car el estímulo, para capturar una porción de la línea de bá-
se. Como esta señal era muy breve y la entrada se leía desde
el programa, se intercaló un circuito monoestable (u-74121)
que al ser disparado desde el estimulador generaba un pulso
'TTL' de 5 ms que se alimentaba a una entrada lógica de la
computadora y aseguraba su detección aún cuando se leyese
desde programa de alto nivel.

Para disparar el estimulador desde la computadora, pul-
so condicionante intercalado, se utilizó una salida digital
de ésta, a la cual se conectó una etapa amplificadora y o-
tra seguidora de voltaje, debido a que dicho instrumento no
cumplía la norma 'TTL'.

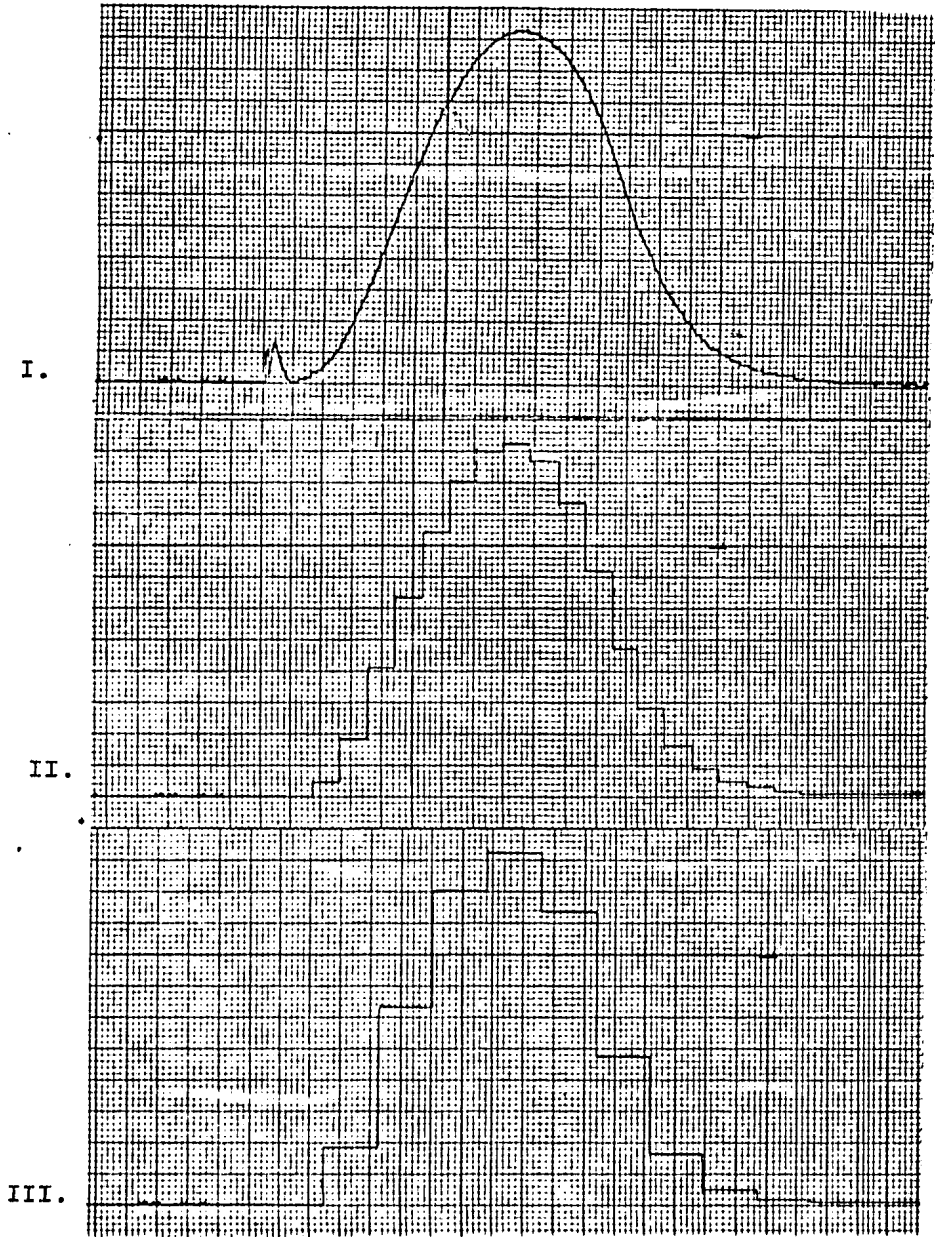
**Fig. 56b EFECTO DE LA FRECUENCIA DE CONVERSION
ANALOGICA-DIGITAL SOBRE LA INFORMACION
CAPTURADA**

Los trazados corresponden al registro construido mediante conversi3n Digital-Anal3gica de una sístole del ventrículo de rana muestreada con diferentes frecuencias de conversi3n Anal3gico-Digital.

I - 200 mps , 5 ms entre muestra

II - 10 mps , 100

III - 5 mps , 200



Como graficador de papel de alta resolución se utilizó un instrumento marca 'HOUSTON' modelo 'Omniscribe' con ancho de excursión de 25 cm.

La programación de la computadora se realizó en lenguaje FORTRAN IV e incluyó los siguientes programas básicos:

1. CAPTURA. Mide cada contracción basal y despliega los resultados; cuando el operador decide iniciar un ciclo de prueba, solicita la ubicación del estímulo intercalado, registra las contracciones condicionantes y condicionadas, graba en disco los datos, mide las tres contracciones y calcula el efecto inotrópico.
2. INSPECCION. Despliega los datos contenidos en el segmento escogido de un archivo.
3. CALCULO. Efectúa mediciones sobre las contracciones contenidas en cualquier archivo a efectos de 'control de calidad' de resultados del programa en línea.
4. DESPLIEGUE. General las salidas análogicas necesarias para graficado o visualización en el osciloscópio.
5. GRAFICA. Calcula los puntos para dibujar aproximadamente, mediante impresora de línea, gráficas o contracciones.
6. CURVAFV. Calcula y grafica la curva Velocidad-Carga, estimada para el componente contráctil de una contracción seleccionada.
7. SIMULA. Predice el curso temporal de la fuerza en contracciones sucesivas, con base en el modelo de HILL modificado con parámetros variables, y curso del estado activo estimado a partir de los registros experimentales.

PROGRAMA CAPTURA.

CAPTURA TRES SISTOLES BASALES LUEGO DE LA CONTRACCION INTERCALADA PARA DETERMINAR LA CURVA DE EFECTO INOTROPICO.

Captura 25 seg. de tiempo real a 100 m. p. s. Se muestrean los canales de (F) , (dF/Dt) y de estimulo (E).

La captura se inicia a partir del instante de recibirse la señal de disparo para un pulso basal (cuyo retardo se fija en el estimulador y sirve para determinar la línea basal previa a la contracción).

Genera un archivo tipo DAT

APLICA PULSO DE PRUEBA A INTERVALO DESEADO.

julio 10 / 84

INTEGER * 1 F(7000) , DFDT(7000) , E(7000) , PULBAS
 INTEGER * 1 DAT(128) , ESTADO
 INTEGER RESP , IFIRST , ILAST , JREC , INTERV , CONTEO
 INTEGER INICIO , FINAL , ESTIM , IEST1 , IEST2 , IEST3
 LOGICAL * 1 NOMBRE(11) , MES(3) , DIA(2) , TRAZ(3).

Poner en cero las 3 salidas analogicas

F(1) = 0
 DFDT(1) = 0
 E(1) = 0
 CALL OUT (31 , F(1))
 CALL OUT (30 , DFDT(1))
 CALL OUT (29 , E(1))

Pedir el intervalo para el estimulo intercalado

1 WRITE (1,2)
 2 FORMAT (15X, ' INTERVALO EN MILISEGUNDOS ?')
 READ (1,3) INTERV
 3 FORMAT (116)
 CONTEO = INTERV / 5

```

-----
c Poner a su nivel basal la salida de disparo.
-----

```

```
CALL OUT (24, 119)
```

```

-----
c Ajuste del valor de CONTEO para que el pulso intercalado
c tenga un retardo de 200 ms (40 muestras) respecto al punto
c seleccionado, igual al introducido por el procesador auxi-
c liar para los pulsos basales.
-----

```

```
CONTEO = CONTEO + 39
```

```
I = 0
```

```

-----
c Leer la entrada de pulsos basales (pata 13) .
-----

```

```
10 PULBAS = INP (24)
```

```

-----
c Si no hay pulso basal, volver a leer la entrada de este,
c (si no hubo pulso se lee el valor 30, si hubo 94).
-----

```

```
IF (PULBAS.LT. 94) GO TO 10
```

```

-----
c Si ya hubo pulso basal, tomar 5000 muestras sucesivas
c de acuerdo al siguiente esquema de conexiones:
c F=INP(31) [pata 21] dF/dt=INP(30) [pata 31] E=INP(29) [pata 41]
c luego generar las salidas analogicas de acuerdo al esquema:
c F=OUT(31) [pata 39] dF/dt=OUT(30) [pata 38] E=OUT(29) [pata 37]
-----

```

```
20 I = I + 1
```

```
IF (I.EQ. 5000) GO TO 110
```

```

-----
c Entrada de los datos.
-----

```

```

F(I) = - INP (31)
DFDT(I) = -INP (30)
E(I) = INP (29)

```

```

-----
c Salida analogica (C.D-A.) de los datos para control.
-----

```

```
CALL OUT (31 , F(I))
CALL OUT (30 , DFDT(I))
CALL OUT (29 , E(I))
```

 Poner a su nivel basal la salida de disparo.

CALL OUT (24, 119)

 Ajuste del valor de CONTEO para que el pulso intercalado
 tenga un retardo de 200 ms (40 muestras) respecto al punto
 seleccionado, igual al introducido por el procesador auxi-
 liar para los pulsos basales.

CONTEO = CONTEO + 39

I = 0

 Leer la entrada de pulsos basales (pata 13).

10 PULBAS = INP (24)

 Si no hay pulso basal, volver a leer la entrada de este.
 (si no hubo pulso se lee el valor 30, si hubo 94).

IF (PULBAS.LT.94) GO TO 10

 Si ya hubo pulso basal, tomar 5000 muestras sucesivas
 de acuerdo al siguiente esquema de conexiones:
 F=INP(31) [pata 2] dF/dt=INP(30) [pata 3] E=INP(29) [pata 4]
 luego generar las salidas analogicas de acuerdo al esquema:
 F=OUT(31) [pata 39] dF/dt=OUT(30) [pata 38] E=OUT(29) [pata 37]

20 I = I + 1

IF (I.EQ.5000) GO TO 110

 Entrada de los datos.

F(I) = - INP (31)
 DFDT(I) = -INP (30)
 E(I) = INP (29)

 Salida analogica (C. D-A.) de los datos para control.

CALL OUT (31 , F(I))
 CALL OUT (30 , DFDT(I))
 CALL OUT (29 , E(I))

```

c -----
c
c   Conteo para ajustar el intervalo entre muestras
c   al valor de 5 milisegundos (200 m. p. s.)
c -----

100 DO 100      J = 1 , 267
    CONTINUE
c -----
c
c   Ver si ya es tiempo de aplicar el pulso intercalado, y
c   si lo es aplicarlo.      (pata 25)
c -----

    CONTEO = CONTEO - 1
    IF (CONTEO.NE.0) GO TO 20
    (CALL OUT (24,127)
    DO 105  I=1 , 2
105  CONTINUE
    CALL OUT (24,119)
    GO TO 20
c -----
c
c   Esperar que ocurra el disparo de la 2da. basal
c -----
110  I = 4999
112  PULBAS = INP(24)
    IF (PULBAS.LT.94) GO TO 112
c -----
c
c   Ocurrido del 2do. disparo basal, tomar 1000 muestras (5 s)
c -----
114  I = I + 1
    IF (I.EQ.6000) GO TO 120
    F(I) = - INP(31)
    DFDT(I) = - INP(30)
    E(I) = INP(29)
    (CALL OUT (31,F(I))
    CALL OUT (30,DFDT(I))
    (CALL OUT (29,E(I))
    DO 116  J = 1 , 267
116  CONTINUE
    GO TO 114
c -----
c
c   Esperar que ocurra el disparo de la 3a. basal
c -----
120  I = 5999
122  PULBAS = INP(24)
    IF (PULBAS.LT.94) GO TO 122
c -----
c
c   Ocurrido el 3er. disparo basal, tomar 1000 muestras (5 s)
c -----
124  I = I + 1
    IF (I.EQ.7000) GO TO 140
    F(I) = - INP(31)
    DFDT(I) = - INP(30)
    E(I) = INP(29)
    (CALL OUT (31,F(I))
    CALL OUT (30,DFDT(I))
    (CALL OUT (29,E(I))
    DO 126  J = 1 , 267
126  CONTINUE

```

```

GO TO 124
-----
c
c Volver al nivel cero las salidas analogicas de monitoreo
c
140 F(1) = 0
DFDT(1) = 0
E(1) = 0
CALL OUT ( 31 , F(1) )
CALL OUT ( 30 , DFDT(1) )
CALL OUT ( 29 , E(1) )
-----
c
c Búsqueda de los puntos de aplicacion de los 3 estímulos
c
I = 0
152 I = I + 1
IF (E(I).LT.4) GO TO 152
IF (I.GT.50) GO TO 135
IEST1 = I
I = I + 9
GO TO 152
153 IF (I.GT.4020) GO TO 160
IEST2 = I
I = I + 9
GO TO 152
160 IEST3 = J
-----
c
c Despliegue selectivo de los datos adquiridos:
c
-----
180 WRITE (1,181) IEST1 , IEST2 , IEST3
181 FORMAT (10X, ' ESTIMULOS EN LOS PUNTOS ',3(10X,114), '//')
200 WRITE (1,201)
201 FORMAT (5X, ' SE VA A INSPECCIONAR ? (si=3 no=7) ',//)
202 READ (1,202) RESP
202 FORMAT (111)
IF (RESP.EQ.7) GO TO 350
IF (RESP.EQ.3) GO TO 210
GO TO 200
210 WRITE (1,211)
211 FORMAT (40X, ' Punto inicial : ')
212 READ (1,212) INICIO
212 FORMAT (114)
213 WRITE (1,213)
214 FORMAT (40X, ' Punto final : ')
215 READ (1,212) FINAL
DO 230 I = INICIO , FINAL
IF (E(I).GT.4) GO TO 216
ESTIM = E(I)
GO TO 220
216 ESTIM = 9999
220 WRITE (1,221) I , F(1) , DFDT(1) , ESTIM
221 FORMAT (5X,114,10X,114,10X,114,10X,114)
230 CONTINUE
GO TO 200

```

```

c      =====
c      GRABACION EN DISCO DE TODOS LOS VALORES CAPTURADOS.
c      =====

350     WRITE (1,351)
351     FORMAT (5X,' SE VA A GRABAR ? (si=1) (no=999)  ')
      READ (1,352) RESP
352     FORMAT (1I3)
      IF (RESP.EQ.999) GO TO 365
      NOMBRE(9) = 'D'
      NOMBRE(10) = 'A'
      NOMBRE(11) = 'T'
      WRITE (1,355)
355     FORMAT (40X,' MES ?      (3 letras)  ')
      READ (1,360) NOMBRE(1) , NOMBRE(2) , NOMBRE(3)
360     FORMAT (3A1)
      WRITE (1,365)
365     FORMAT (40X,' DIA ?      (2 numeros)  ')
      READ (1,370) NOMBRE(4) , NOMBRE(5)
370     FORMAT (3A1)
      WRITE (1,375)
375     FORMAT (40X,' TRAZADO  (3 numeros)  ')
      READ (1,380) NOMBRE(6) , NOMBRE(7) , NOMBRE(8)
380     FORMAT (3A1)

-----
c      Apertura del archivo.
c      -----

      CALL OPEN (12,NOMBRE,2)
      I = 1
      JREC = 1

c      -----
c      Grabacion de un registro con 64 pares de valores de F y df/dt
c      arregladas de la siguiente manera:
c      F(1),DFDT(1);F(2),DFDT(2);...;F(64),DFDT(64)
c      -----

410     DO 415      K = 1 , 128 , 2
          DAT(K) = F(I)
          DAT(K+1) = DFDT(I)
          I = I + 1
415     CONTINUE
          WRITE (12,REC=JREC)  ( DAT(K) , K = 1 , 128)

c      -----
c      Avanzar un registro, finalizando en caso de llegar al
c      registro numero 111 ( 7000 / 64 = 110 )
c      -----

      JREC = JREC + 1
      IF (JREC.LE.110) GO TO 410

c      -----
c      Grabar la posicion de los tres estímulos

```

```

c      en el registro numero lll
c      -----
WRITE (12,REC=lll)  IEST1 , IEST2 , IEST3
c      -----
c      Fin de la grabacion de los datos.
c      -----

ENDFILE 12
WRITE (1,420)
420   FORMAT (5X,' GRABACION TERMINADA ',/)

c      -----
c      Preguntar si se va a efectuar otra captura.
c      -----

565   WRITE (1,570)
570   FORMAT (20X,' SE VA A EFECTUAR OTRO REGISTRO ? ')
WRITE (1,580)
580   FORMAT (20X,'                (si=2 no=8 ) ',/)
READ (1,590) RESP
590   FORMAT (1I1)
      IF (RESP.EQ.8) GO TO 700
      IF (RESP.EQ.2) GO TO 1
      GO TO 565

c      =====
c      Fin del programa
c      =====

700   WRITE (1,710)
710   FORMAT (///,' =====')
WRITE (1,720)
720   FORMAT (5X,' FIN DE LA SESION DE CAPTURA ',/////)
STOP

```

Resultados

10. RESULTADOS

10.1 CURVA DE EFECTO INOTROPICO PARA INTERVALOS BREVES

Las curvas de Efecto Inotrópico obtenidas fueron semejantes a las descritas previamente (143), pero mostraron un máximo para intervalos menores que lo previsto entonces y que CORRESPONDE AL INTERVALO EN QUE YA OCURRE FUSION PARCIAL entre la extrasístole intercalada y la sístole basal siguiente (fig. 57).

El valor del intervalo X al que se obtiene dicho máximo varía entre 1.2 y 1.7 s.

Para intervalos menores, el Efecto Inotrópico decrece en forma muy marcada, y esta es una característica que se presenta en todas las preparaciones.

El cambio de intensidad del estímulo no altera la amplitud de la contracción en el intervalo de densidad de corriente utilizada (0.4 mA/cm^2), debido a que la estimulación resulta supramáxima y a que además se está aplicando más allá de la terminación del periodo refractario relativo. Esto puede visualizarse en la figura 58b, donde se reconoce el final de dicho periodo al cesar la dependencia respecto a la intensidad del estímulo (meseta).

La existencia de un máximo de efecto inotrópico podría estar determinada por la ocurrencia de ACORTAMIENTOS CRITICOS DE LA DURACION DEL ESTADO ACTIVO, estimada a través del Tiempo al Pico (T_p); sin embargo, este sigue un curso temporal monótono, como muestra la figura 59.

Señalemos desde ahora que también debe considerarse la posibilidad de que los estímulos de prueba aplicados muy precozmente durante la extrasístole MODIFIQUEN EL CURSO TEMPORAL DEL ESTADO ACTIVO. Tal como es discutido más adelante, aclarando que no ocurre cuando los estímulos se aplican luego del pico de la extrasístole, como lo prueban los registros de la figura 58, pese a que el intervalo X sea menor que el correspondiente al máximo de $E(X)$.

Es preciso destacar que el T_p se considera desde la detección del primer cambio de fuerza, del orden del 0.5% en nuestro sistema, en razón del convertidor analógico-digital utilizado, y sigue un curso temporal diferente del Tiempo de Latencia (fig. 60), aunque existe una indeterminación de límites se podría enmascarar la proporción real entre ambos tiempos si cambiase la relación del desarrollo de fuerza -- subliminal.

Dado que el máximo $E(X)$ ocurre para valores de X en que hay fusión parcial de contracciones, se planteó la posibilidad de considerar una "Fuerza neta" de la sístole basal de prueba.

Una primera aproximación consistió en restar la Fuerza Residual existente al instante de inicio de la extrasístole (F_0); la aplicación de ésta se ilustra en la figura 61 y mues

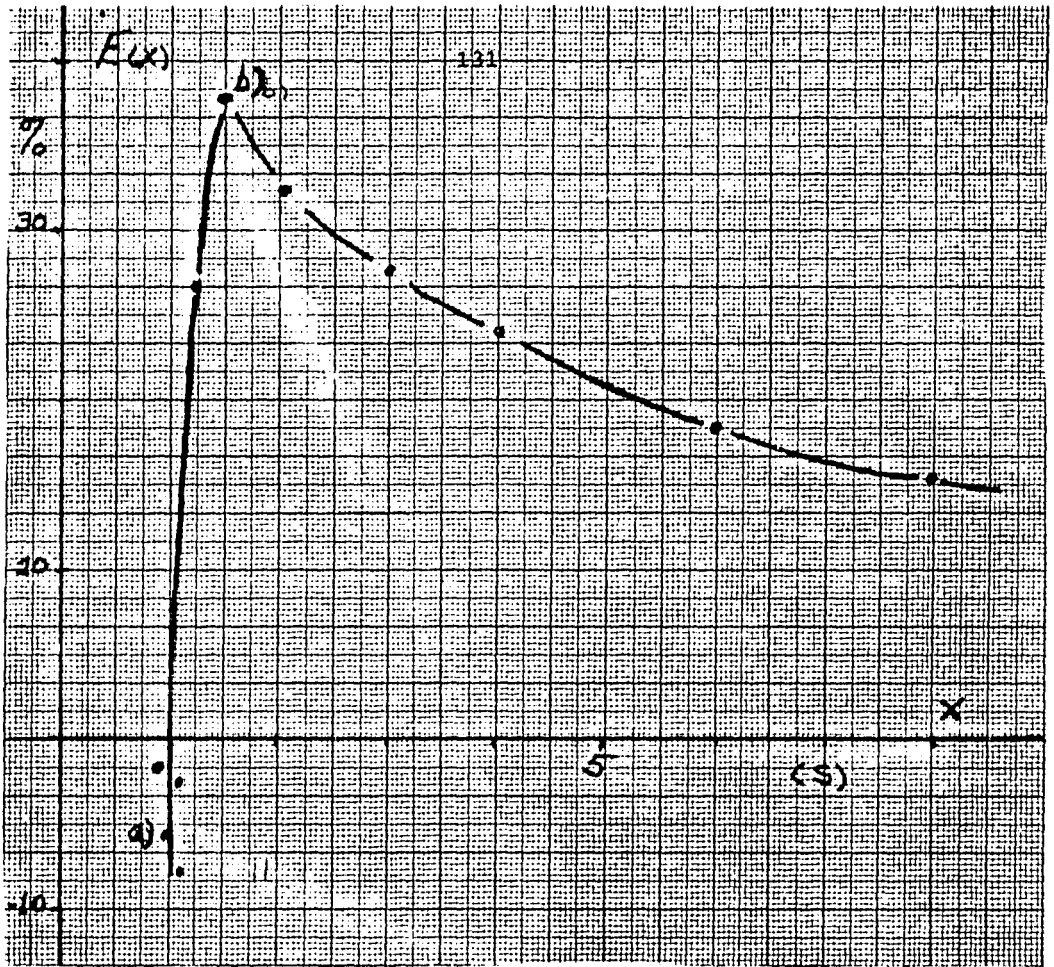
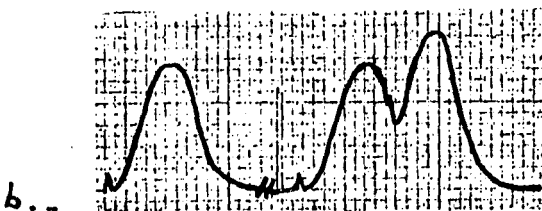
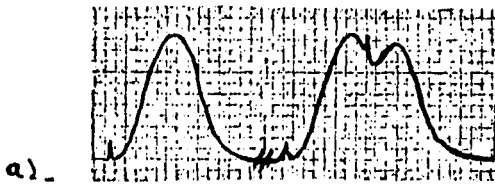


Fig. 57 CURVA DE EFECTO
INOTROPICO PARA
INTERVALOS MUY
BREVES



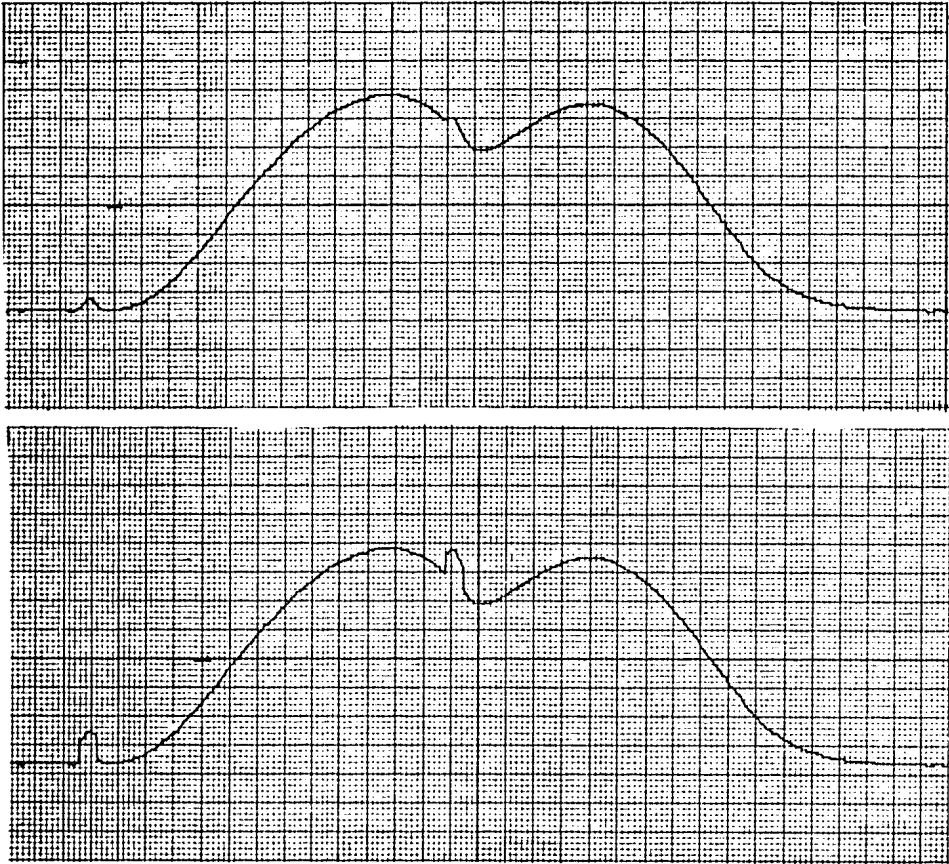


Fig. 58 EFECTO DE LA INTESIDAD DE ESTIMULACION SOBRE LA AMPLITUD DE LA CONTRACCION

Debido a que la estimulación empleada fue supramáxima, y a que se aplica hasta aún después de la terminación del periodo refractario relativo, no afecta la amplitud de la contracción de prueba.

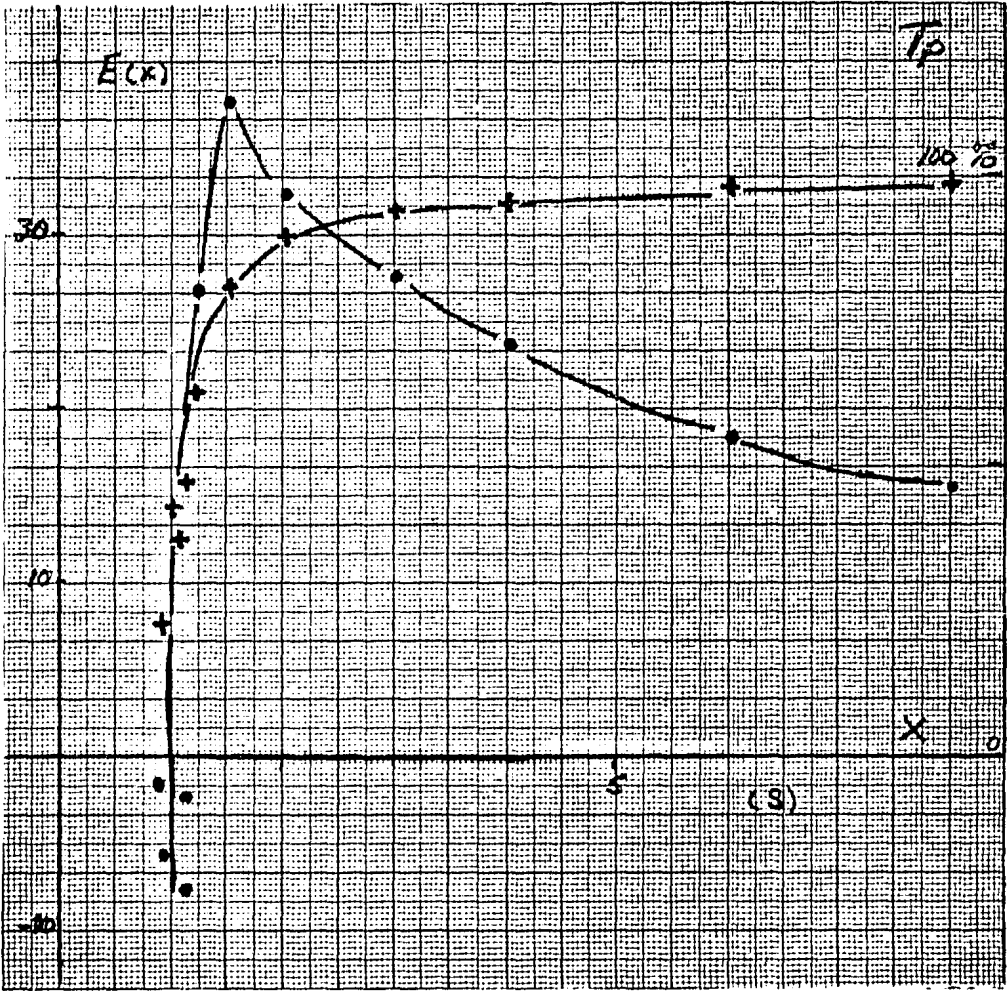


Fig. 59 COMPARACION DE LAS CURVAS DE EFECTO INOTROPICO Y DE TIEMPO RELATIVO AL PICO.

Los puntos corresponden a la curva de la Figura 57

Las cruces corresponden a los Tiempos al Pico expresados porcentualmente respecto al de la sistole basal.

tra que el punto notable, cero de efecto Inotrópico "Neto", no se asocia a puntos notables de la curva $E(X) = f(X)$.

En esta nueva curva, los valores negativos indican que la "fuerza neta" de la basal posterior a la extrasístole es menor que la basal previa.

Pero tal criterio resultó insatisfactorio cuando se aplicó en la forma expuesta, debido a dos objeciones:

- a) se considera una fuerza que está presente en el instante de inicio y no en el instante de desarrollo máximo de fuerza de la sístole de prueba.
- b) se considera directamente a la fuerza como tal, sin que exista una relación lineal entre esta y la intensidad del estado activo.

Para analizar el punto b), fue preciso elaborar estimaciones de la amplitud sistólica neta que podría esperarse a partir de la longitud del Componente Contráctil en el instante en que se iniciaban las sístoles de prueba.

En efecto, considerando que la longitud del componente contráctil (L_{cc}) al instante de inicio de la sístole de prueba determinase la intensidad del estado activo, como lo postula la teoría clásica, podemos elaborar estimaciones de la amplitud, una vez conocidas las curvas de elasticidad del Componente Elástico, de Fuerza-Longitud, de Velocidad-Fuerza y del curso del Estado Activo del Componente Contráctil.

Tales cálculos se presentan en el numeral 10,4 de esta tesis, pero conviene señalar que contradicen parcialmente lo visto en el numeral 4 acerca del "Ajuste mecánico instantáneo" del miocardio, independientemente de la longitud inicial.

La objeción a) al criterio de "Fuerza Neta" restada de la inicial se intentó superar con base en el criterio de restar una extrasístole completa para el mismo valor X de intervalo con el registro experimental de aquellas, y la basal de prueba parcialmente fusionada; de esta manera se obtiene una "Sístole neta" cuya amplitud es la considerada para la curva de $E(X)$.

Un aspecto adicional considerado durante el desarrollo de esta tesis consiste en que tradicionalmente las curvas de "restitución" y de "potenciación" se han construido tomando como variable independiente al intervalo de reposo. Pero en la medida en que tanto los tiempos al pico como de latencia cambian, es preciso considerar los tiempos verdaderos de ocurrencia del pico de la contracción. Este criterio se ilustra en la figura 62.

Sin embargo, como se discutirá luego, es previsible admitir que el curso temporal de la fuerza en una sístole está pre-determinado por su historia previa en la aplicación del estímulo.

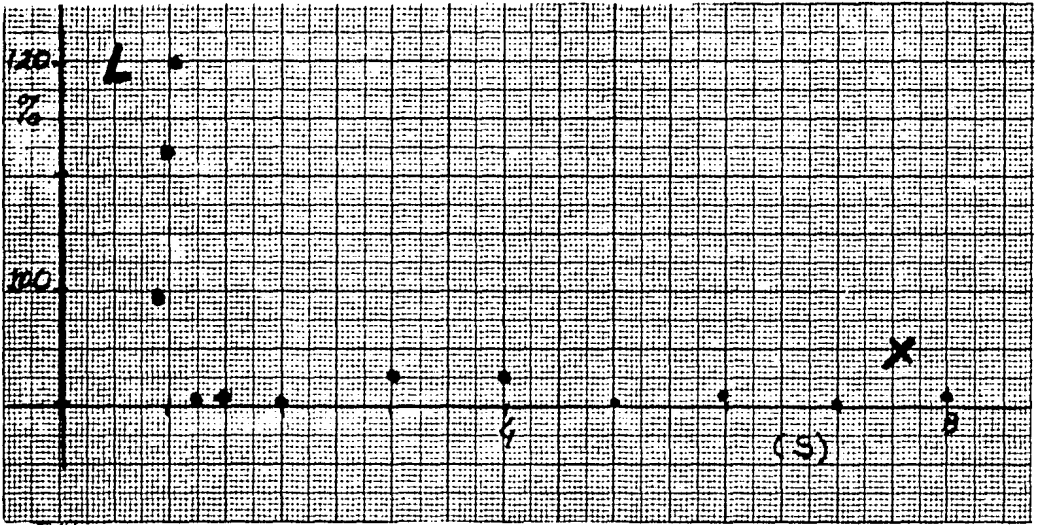
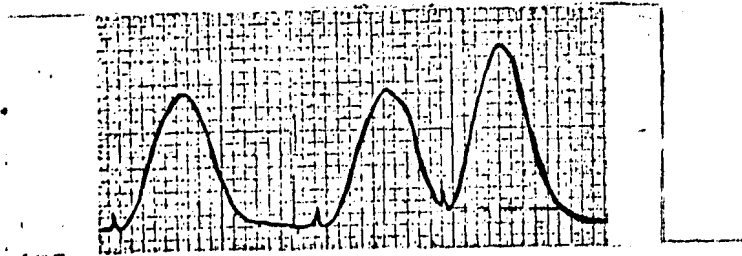
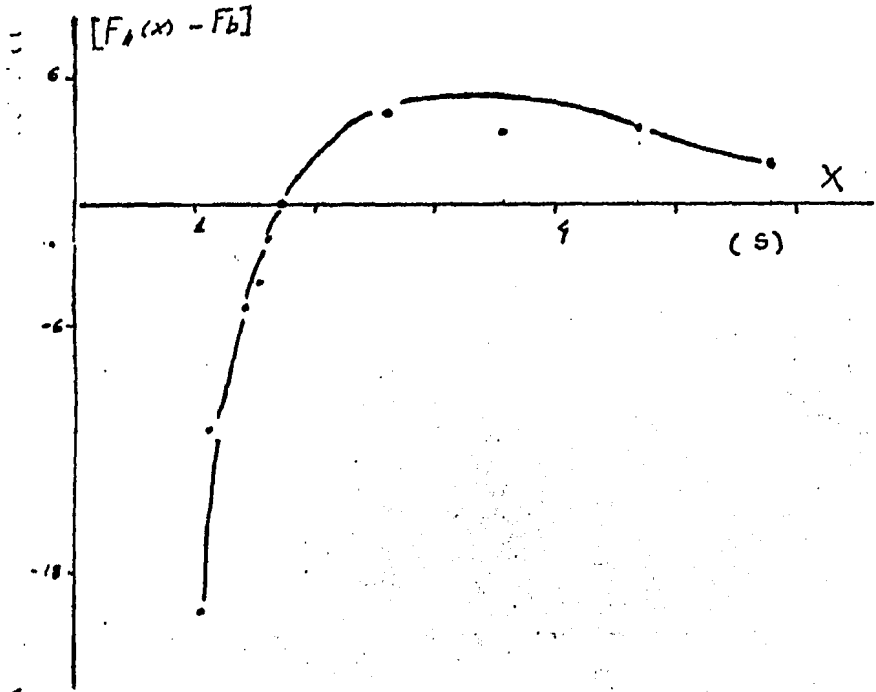


Fig. 60 CAMBIOS EN LA LATENCIA DE LAS CONTRACCIONES PARA DIFERENTES INTERVALOS DE LA EXTRASISTOLE.

La latencia se representa en forma porcentual para cada extrasistole, utilizando como referencia el tiempo de latencia de las contracciones basales.



$$E_n(x) = (F_n - F_0) - F_b$$

Fig. 61- PRIMERA APROXIMACION A UNA CURVA DE EFECTO INOTROPICO " NETO " .

LA GRAFICA SE CONSTRUYO CON BASE EN LAS FUERZAS NETAS DETERMINADAS SEGUN SE ILUSTRAN EN LA FIGURA.

Se observa que el punto 'notable' de la curva, el cero de Efecto Inotropico Neto, no corresponde a ningun valor significativo de la curva de Efecto Inotropico directo.

Comparando las figuras 57 y 62 se constata que existe muy poca diferencia, excepto para intervalos muy breves que corresponden a la zona de variación de latencia (fig. 60).

10.2 CAMBIOS DE $(dF/dt)_{\max}$ ASOCIADOS A LA CURVA DE EFECTO INOTROPICO PARA INTERVALOS BREVES.

En el numeral 4 de esta tesis, se ha visto que un acortamiento en la duración del EA determina disminución de la amplitud de la contracción, y que éste es el principal mecanismo de variación en el músculo esquelético, pero no en el cardíaco.

No obstante, la curva de la figura 59 muestra que para intervalos muy breves el tiempo al pico de la sístole condicionada es de casi la quinta parte de la basal. De modo que necesariamente hay restricción al desarrollo de fuerza por el tiempo disponible.

El aumento del inotropismo, de acuerdo a lo visto en el numeral 5, se expresaría de cualquier modo en un valor máximo mayor para la tasa de desarrollo de fuerza.

En tal caso, podría afirmarse que existió amplitud reducida asociada a inotropismo aumentado, debido a la restricción por duración del EA.

Para dilucidar esta posibilidad, se estudió en todos los casos la primera derivada de la fuerza respecto al tiempo, y se construyó la curva de "Efecto Inotrópico en Tasa Máxima", como la mostrada en la figura 63.

En forma análoga, se estudiaron los máximos de tasa de relajación, que aparecen representados en la misma figura.

Se verificó que existe concordancia entre la curva de $E(X)$ y la de $(dF/dt)_{\max}$, de modo que no existiría un efecto limitante por acortamiento del EA, contrariamente a lo propuesto por RUMBERGER y REICHEL (150).

En cambio la tasa de relajación sigue un curso diferente, con una fase inicial ascendente más prolongada para X pequeñas. Como muestra la figura 64, este fenómeno expresa en ocasiones los efectos de memoria en forma muy marcada.

Un aspecto importante a ser tenido en cuenta es que la tasa máxima de contracción puede sostenerse durante un lapso más prolongado en las sístoles potenciadas. La existencia de tal efecto fue estudiada con base en la relación $F_{\max} = F(dF/dt)_{\max}$, donde la pérdida de linealidad para intervalos muy breves está indicando la ocurrencia del cambio descrito (fig. 65).

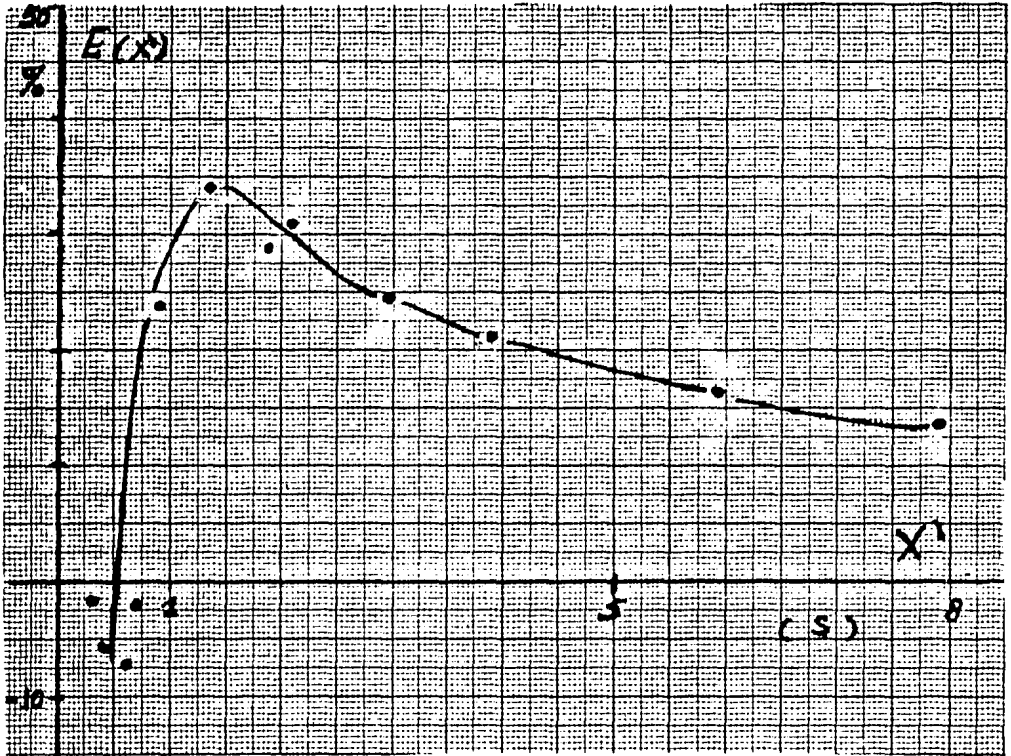


Fig. 62 CORRECCION DE LA VARIABLE INDEPENDIENTE EN LAS CURVAS DE EFECTO INOTROPICO.

Se han corregido los intervalos de intervención inotrópica, - considerando los tiempos reales de ocurrencia de los picos de contracción para cada punto de la curva de Efecto Inotrópico, ahora $E(x')$, y su basal de prueba correspondiente.

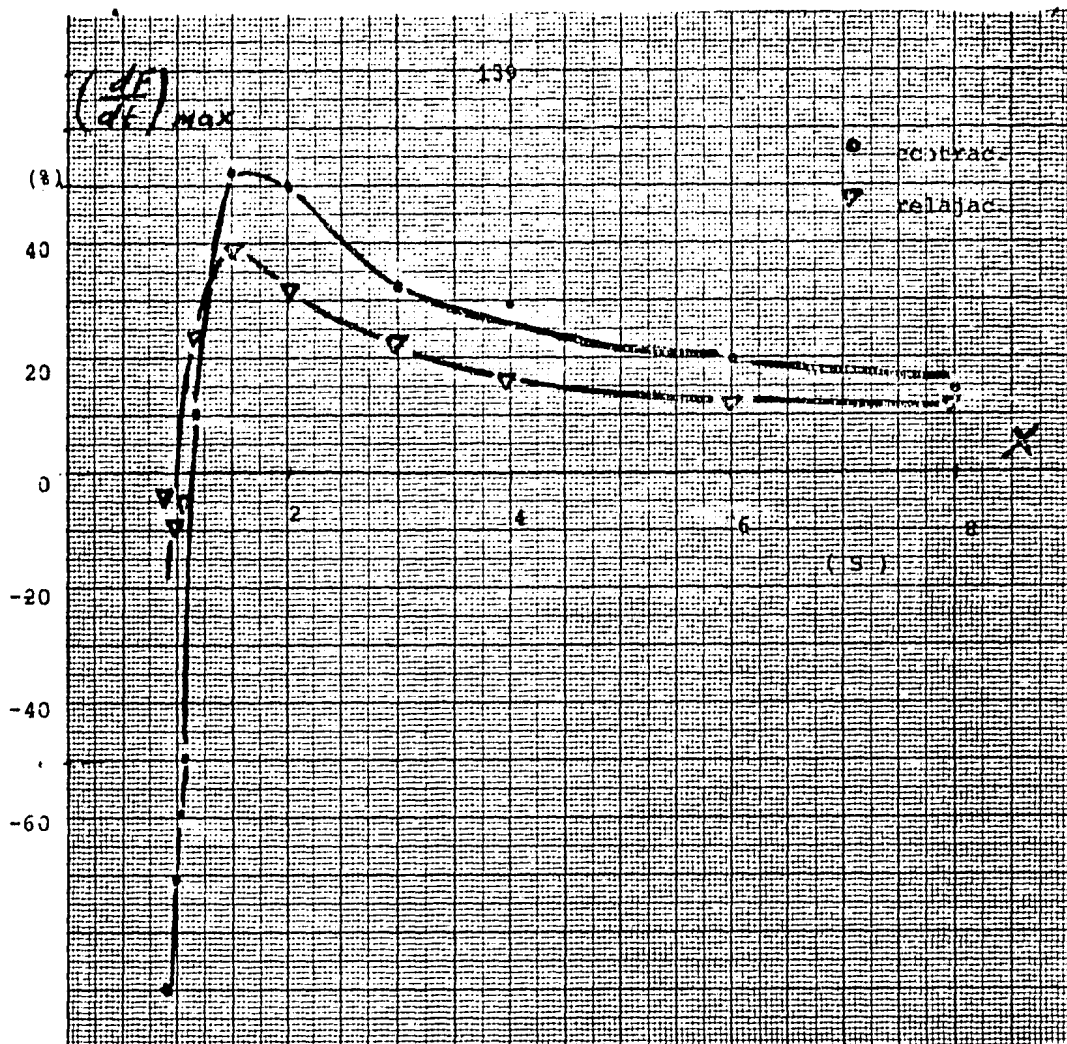
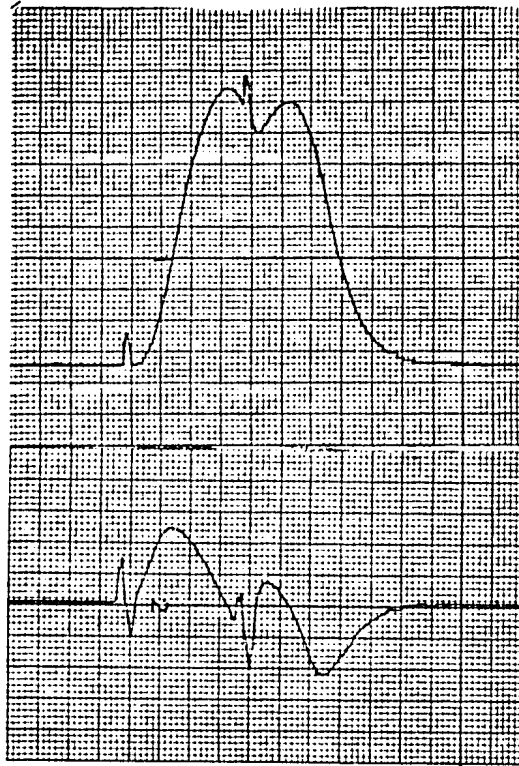


Fig. 63 VARIACION EN LAS TASAS MAXIMAS DE DESARROLLO DE FUERZA Y RELAJACION PARA DIFERENTES INTERVALOS DE LA EXTRASISTOLE.

Notese que los cursos temporales de ambas graficas son paralelos al de la curva de Efecto Inotropico Directo.



G.

Fig. 64 CAMBIOS EN LA TASA DE DESARROLLO DE FUERZA POR EFECTO DE LA EXTRASISTOLE INTERCALADA.

En cada figura el trazo superior corresponde al registro de fuerza y el inferior a su derivada respecto al tiempo.

Los intervalos para la extrasístole respecto a la basal de prueba son:

- | | |
|------------------|------------------|
| A.- 3.0 segundos | E.- 1.5 segundos |
| B.- 1.8 | F.- 0.9 |
| C.- 2.2 | G.- 1.0 |
| D.- 1.1 | |

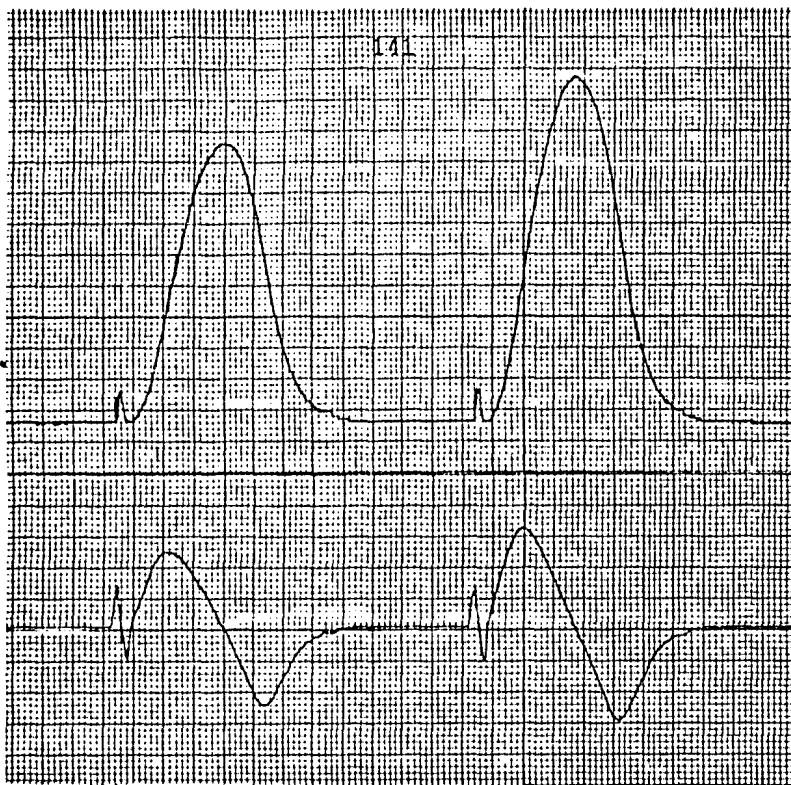
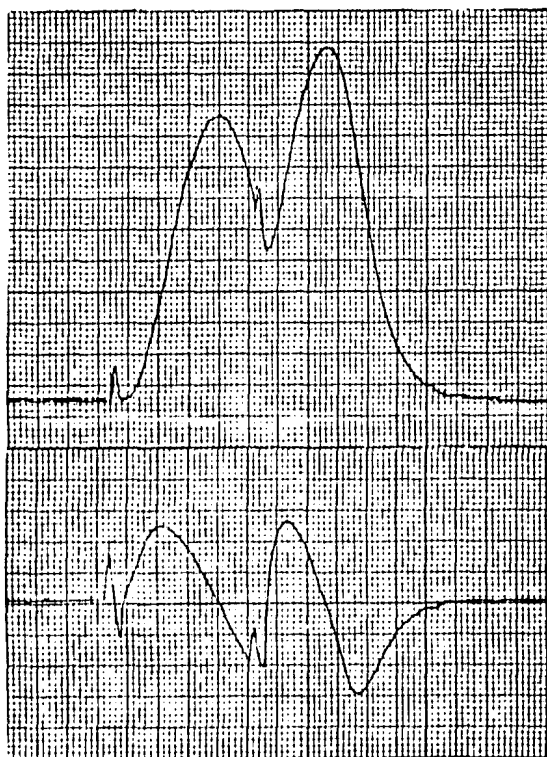


Fig. 64A



B.

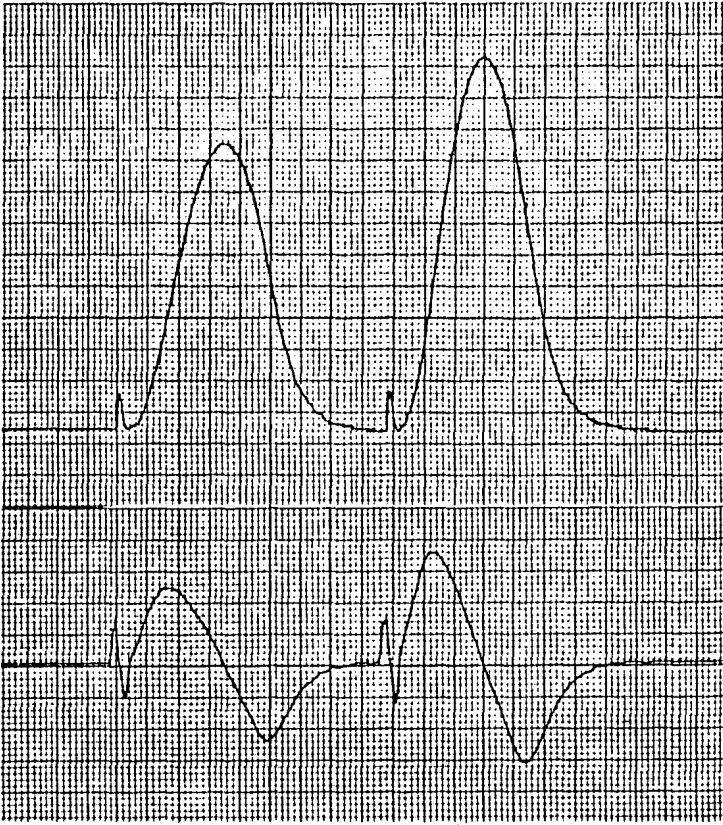
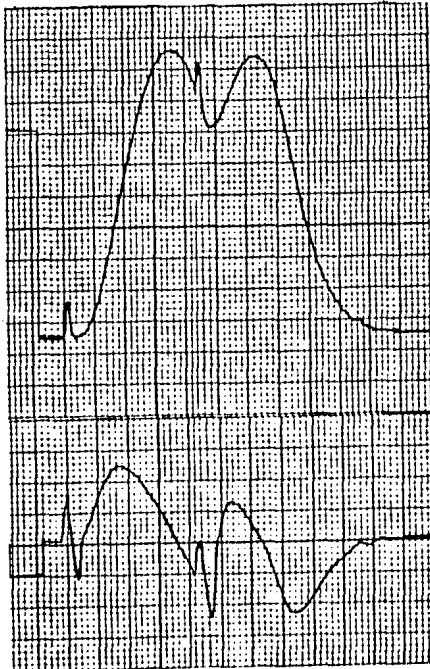


Fig. 64C



D.

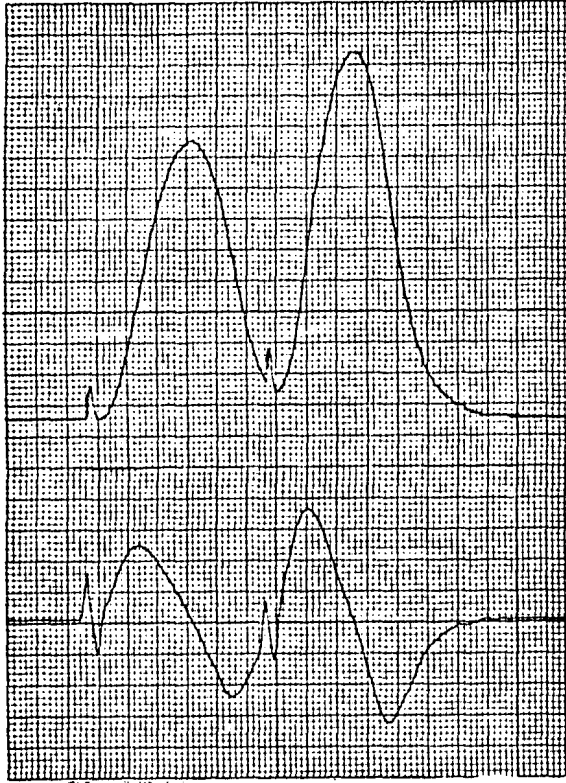
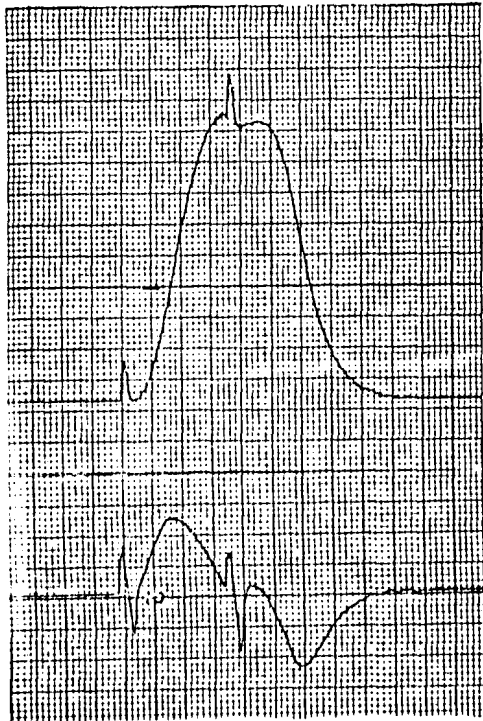


Fig. 64 E.



F.

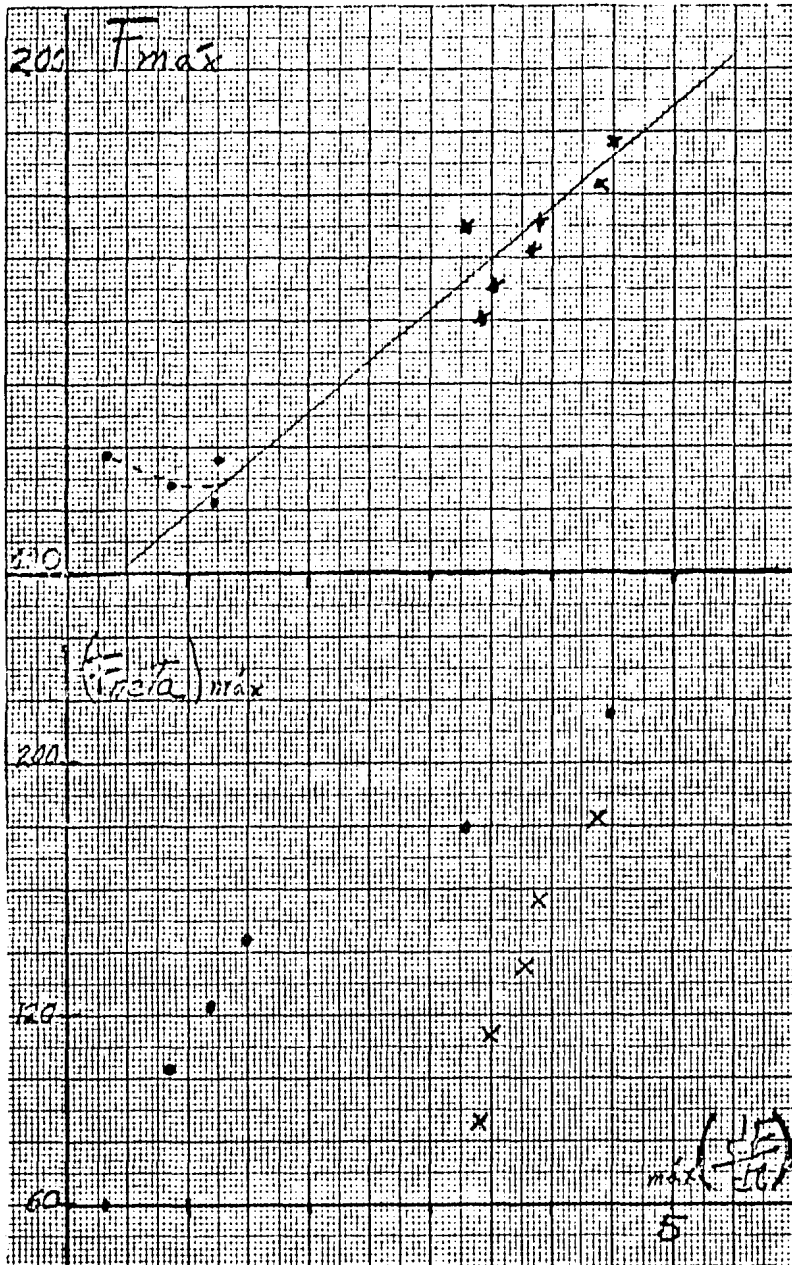


Fig. 65 RELACION ENTRE LA AMPLITUD Y LA TASA MAXIMA DE DESARROLLO DE FUERZA

- A - Amplitud directa de la sístole sin efectuar corrección en caso de fusión parcial.
- B - Amplitud corregida para ocurrencia de fusión (●), (×) indica sístole sin fusión parcial.

10.3 DESCRIPCION DEL CURSO TEMPORAL DE LAS CONTRACCIONES 'NETAS' CUANDO HAY SUMACION

La segunda aproximación esbozada por ROSENBLUETH (147) y utilizada por STEIN y PARMIGGIANI (169) en 1981, consiste en extrapolar el curso temporal de la extrasístole intercalada y restar luego el curso del par extrasístole y basal.

Dichos autores consideran al músculo esquelético, sin efectos de memoria. En cambio, en el miocardio es fundamental que la contracción extrapolada sea la extrasístole situada en IDENTICA POSICION, PERO SIN SER ACOMPAÑADA DE LA SISTOLE BASAL DE PRUEBA (fig. 66).

La diferencia de amplitudes entre esta sístole de prueba y la sístole intercalada, estimada como la diferencia con la sístole basal previa, nos da el Efecto Inotrópico Neto.

Restando punto a punto ambas sístoles, tomando como referencia el inicio, se obtiene una onda de diferencia ya que a todo lo largo del ciclo existen variaciones entre la neta estimada y la basal previa (fig. 67).

Para intervalos menores que 0.9 se obtiene una onda diferencial exclusivamente negativa. A medida que se consideran intervalos mayores, aparece un componente precoz positivo seguido de otro negativo en la onda diferencial. Este último disminuye hasta desaparecer para intervalos aún más largos, cuando ya casi no existe fusión.

Esta nueva forma descriptiva del condicionamiento, destaca el hecho de que para intervalos muy breves existe potenciación del proceso de relajación y no de contracción.

Para intervalos próximos a la ocurrencia del máximo de Efecto Inotrópico se tiene casi la misma potenciación de contracción que de relajación.

Finalmente, para intervalos grandes, donde ya no hay fusión de contracciones sólo persiste en forma apreciable la potenciación de la fase de contracción.

Si ahora se comparan las Curvas de Efecto Inotrópico Directo y Efecto Inotrópico Neto (fig. 68), se verifica que la existencia de un intervalo óptimo es más nítida.

Sin embargo, deben puntualizarse aquí dos aspectos que revisten mucha importancia:

1. No necesariamente coinciden el máximo de diferencia positiva con el máximo de fuerza de la sístole de prueba.
2. La diferencia máxima que se considera para la curva de efecto inotrópico ocurre a distancia variable de la aplicación del estímulo.

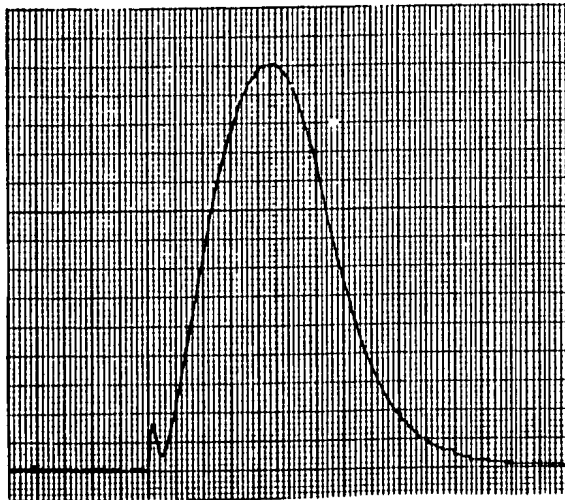
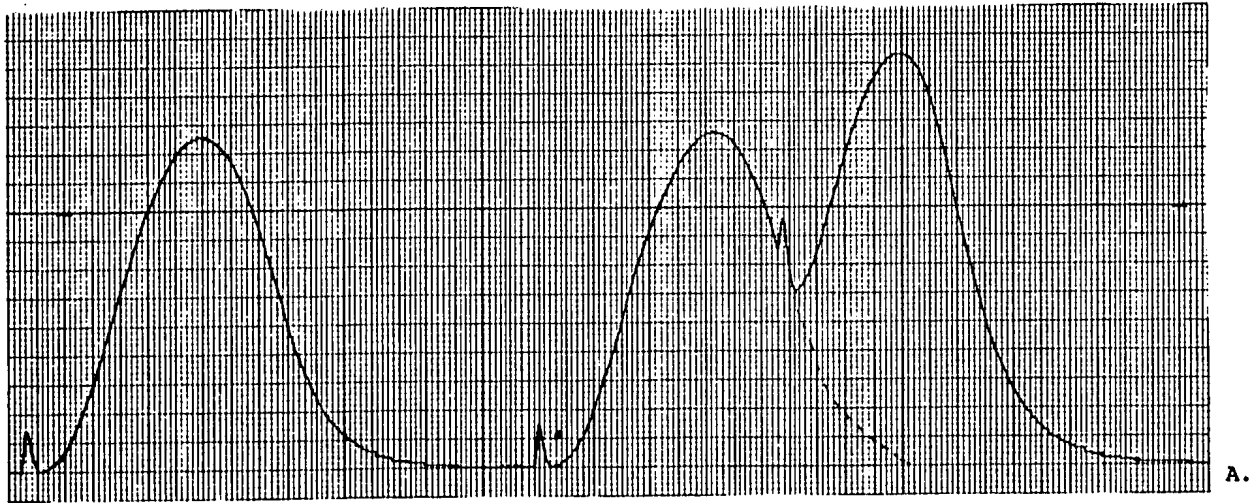


Fig. 66 - ESTIMACION DEL CURSO DE LA SISTOLE NETA POR EXTRAPOLACION DEL CURSO DE LA EXTRASISTOLE PREVIA.

En el registro A se presenta un ciclo de prueba para un intervalo de 1.2 s entre la extrasístole y la siguiente contracción del ritmo.

B. En el registro B se observa la sístole 'netta' estimada por extrapolación del curso de la extrasístole si no se hubiese interrumpido.

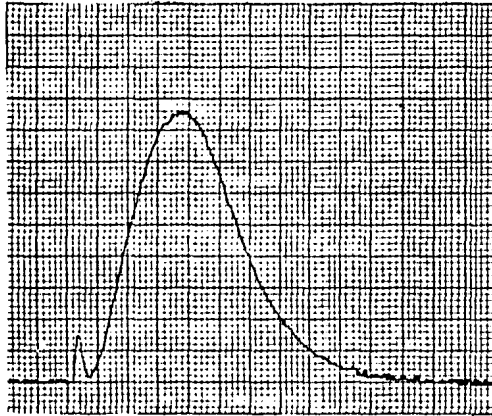
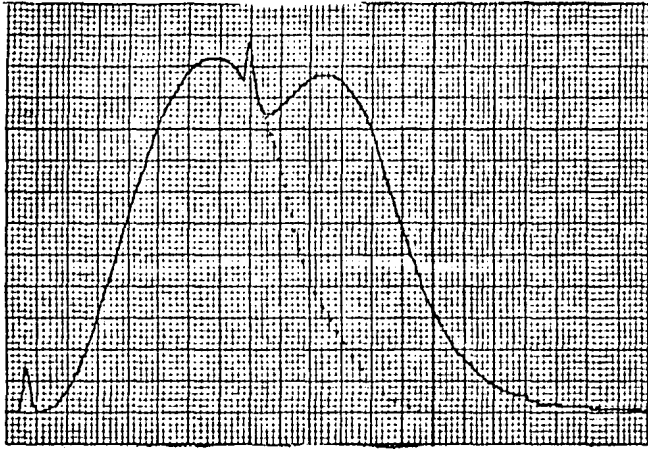


Fig. 66

Como en el registro anterior , el C corresponde a una extrasístole intercalada 1.0 s antes de la basal siguiente, y en el registro D presentamos la contracción 'neta' estimada.

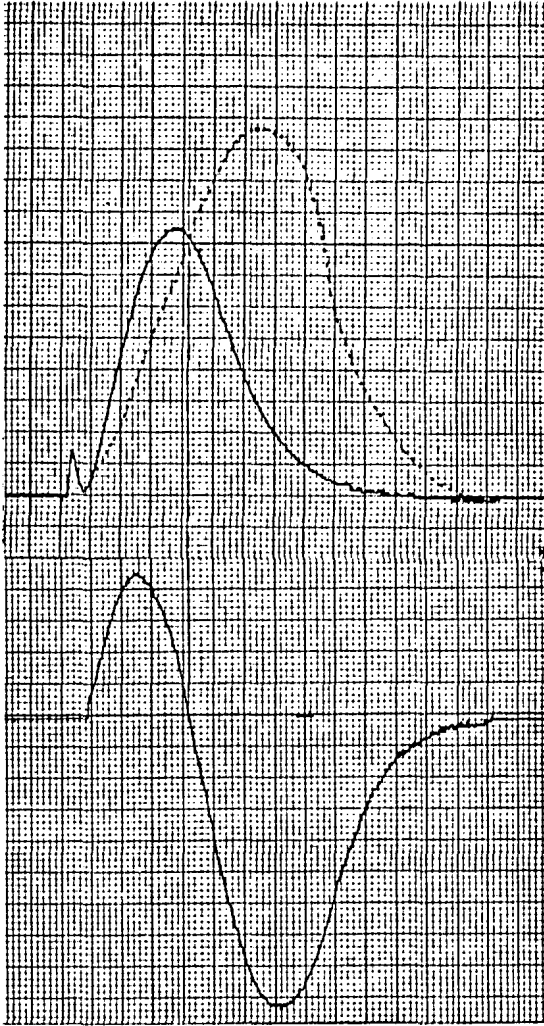
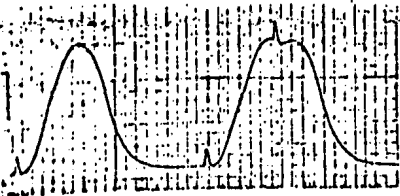


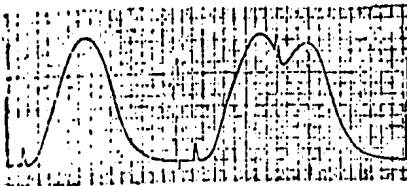
Fig 57. CURVA DIFERENCIAL DE EFECTO INOTROPICO

Se muestra aquí la curva de diferencia entre la sístole basal y la sístole 'neta', nótese la fase positiva pequeña debido al grado de sumación, así como el nivel de intersección a partir del cual la sístole 'neta' es menor.

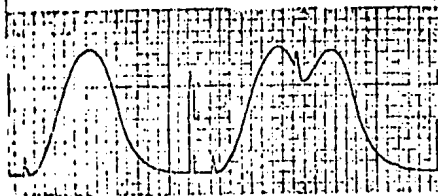
Compárese con el resto de las curvas diferenciales que a continuación se presentan.



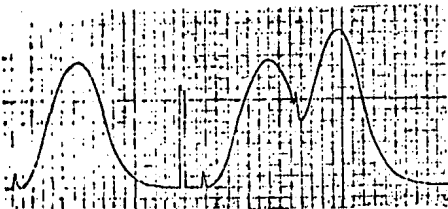
$X = 0.9$ s



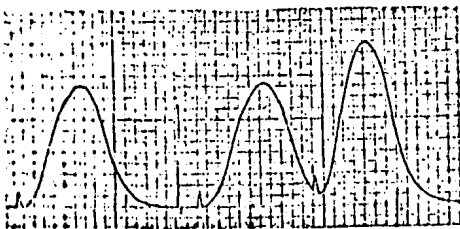
$X = 1.0$



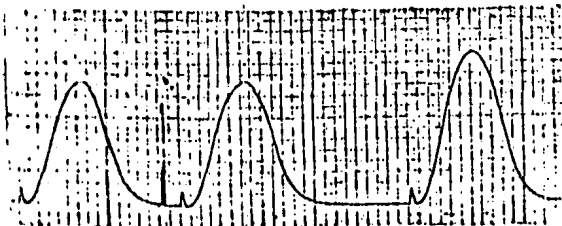
$X = 1.05$



$X = 1.1$



$X = 1.2$



$X = 3.0$

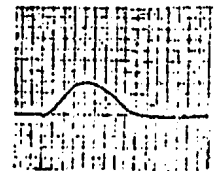
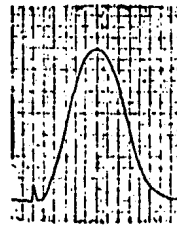
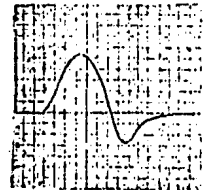
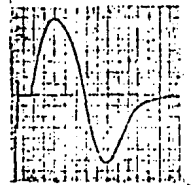
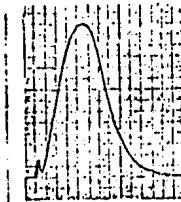
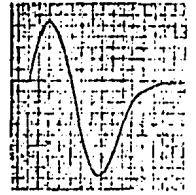
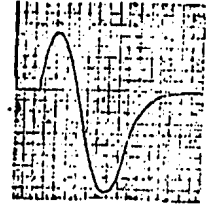
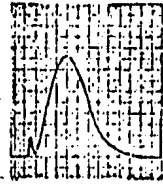
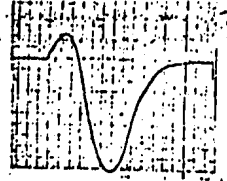


Fig. 67b

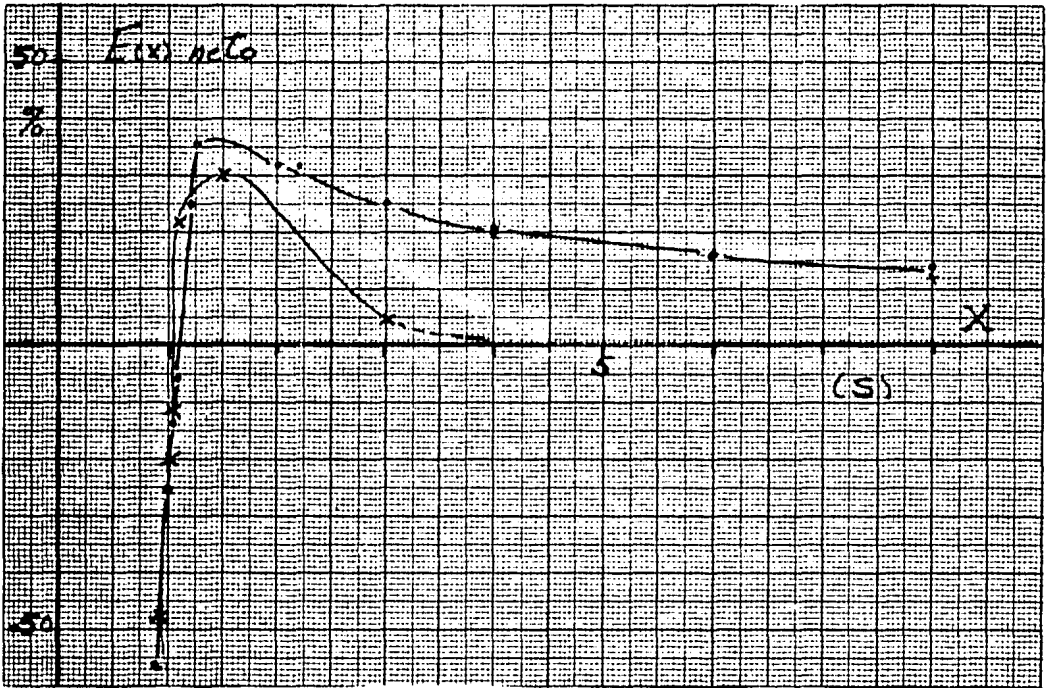


Fig. 68 . SEGUNDA APROXIMACION A UNA CURVA DE EFECTO
INOTROPICO NETO.

La curva se obtuvo con los efectos estimados para cada intervalo según el procedimiento ilustrado en las figuras 66 y 67 .

Los puntos corresponden al $E(X)$ directo, en tanto que las cruces al $E(X)$ 'neto'

10.4 ESTIMACION DE LA FUERZA NETA DESARROLLADA EN EL CASO DE FUSION PARCIAL

En el numeral 10.1 hemos planteado el problema en términos generales y señalado dos aproximaciones posibles: una basada en el estado del componente contráctil al instante del estímulo de prueba, y otra basada en la extrapolación del curso temporal de la extrasístole intercalada.

Para la primera aproximación partimos de la curva de elasticidad del CES determinada experimentalmente por MASHIMA y KUSHIMA (109) y a la cual hemos ajustado la ecuación:

$$F = (0.06) e^{5.37\Delta L}$$

Con base en ésta, cuando tenemos una de nuestras tiras de ventrículo de 10 mm de longitud en reposo absoluto, si desarrolla un gramo de fuerza está estirando al CES aproximadamente 0.6 mm o sea, un 6% de su longitud y por lo tanto el CC se halla acortado en un mismo monto absoluto, aunque su proporción es menor.

En la figura 69 se tiene, para una tira completa, la curva de Fuerza Isométrica desarrollada para cada longitud. Pero en cada una de las sístoles consideradas el CES está estirando un $+\Delta L$ diferente y el CC está acortado en un $-\Delta L$ del mismo valor absoluto. Si aplicamos para cada fuerza experimental la ecuación de elasticidad del CES, y a esta nueva curva experimental ajustamos una recta dependiente 0.28 g/mm, obtenemos la corrección de longitud para el CC (fig. 69b).

Como en nuestros experimentos la tira se trabaja a una longitud que genera una amplitud sistólica ligeramente por debajo del máximo, es preciso tomar la corrección por dependencia de la fuerza con la longitud. En efecto, para una amplitud de 600 mg el CC estaría acortado 0.43 mm, y esto determinaría una pérdida de fuerza dada por $(0.43 \text{ mm}) (0.28) = 0.12 \text{ g}$, o sea un 20% de la amplitud observada.

TARR Y TRANK (176) manejan una relación lineal para describir la dependencia del estado activo respecto a la longitud actual, pero no consideran la elasticidad del CES porque trabajan en condiciones isotónicas, no obstante sus datos son del mismo orden de los predichos por el análisis anterior.

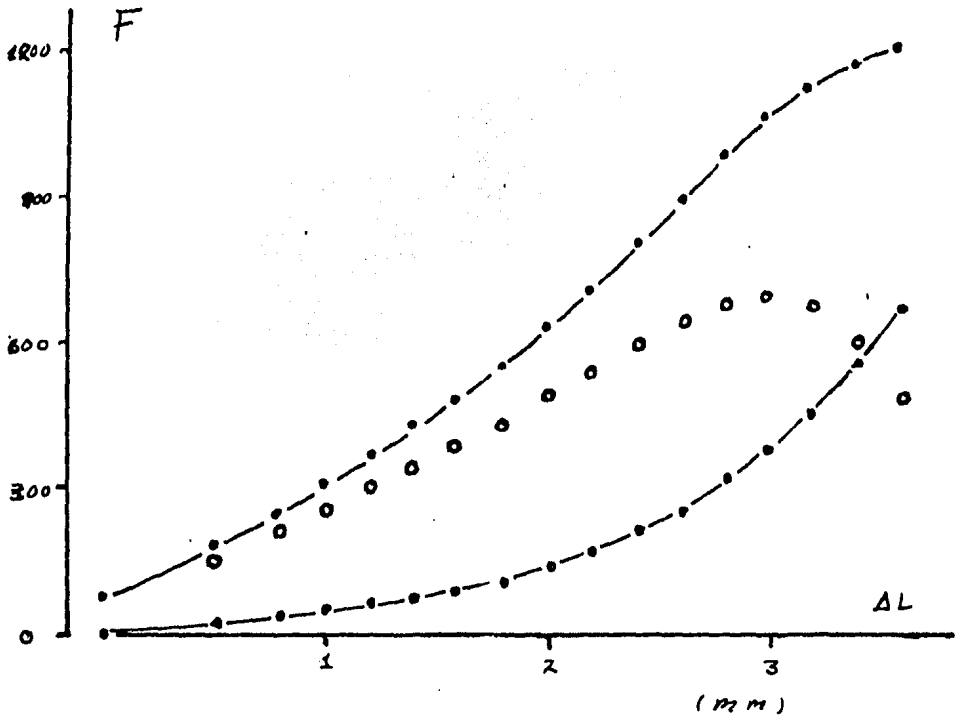
10.5 EXPRESION DE LA POTENCIACION A TRAVES DE LA CURVA VELOCIDAD-CARGA

En el numeral 5 se mostró que el cambio de contractilidad se describe con mayor claridad en términos del comportamiento mecánico intrínseco del CC.

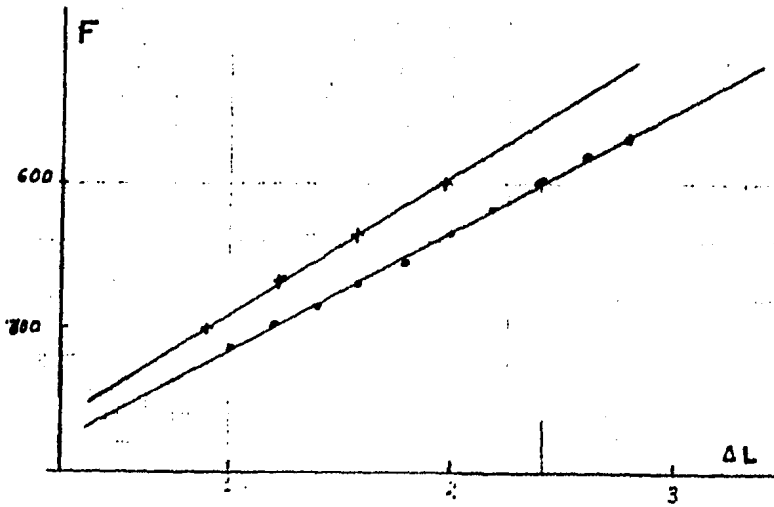
Fig. 69 CURVA FUERZA-LONGITUD PARA EL COMPONENTE CONTRACTIL, ESTIMADA PARA UNA TIRA VENTRICULAR

La gráfica 'a' representa la estimación de la fuerza neta desarrollada por el CC, a partir de las curvas $F-\Delta L$ pasiva y activa.

La gráfica 'b' muestra la corrección efectuada al considerar el comportamiento elástico.



a.



b.

Asimismo, se señaló que luego de los trabajos de EDMAN y NILSSON (52) se acepta estimar la velocidad de acortamiento del CC durante una contracción isométrica mediante la expresión:

$$\frac{dL_{cc}}{dt} = \frac{1}{K} \cdot \frac{1}{F} \cdot \frac{(dF)}{(dt)}$$

siendo K la constante del CES.

En este trabajo hemos ajustado los datos experimentales de MASHIMA y KUSHIMA (109) por medio de la ecuación:

$$F = (0.06) e^{5.37\Delta L} \quad \begin{array}{l} F, (g) \\ L, (mm) \end{array}$$

de modo que $K = 5.37$, $1/K = 0.186$

haciendo que, para cada instante de la sístole isométrica considerada, se estime la velocidad de acortamiento con base en la ecuación.

Para eliminar ruido en la derivada, esta se calcula mediante ajuste de un segmento de recta por el Método de Mínimos Cuadrados, con un alcance de 6 puntos para ambos lados del punto considerado.

La figura 70 muestra un resultado típico de este cálculo para una sístole basal del ritmo.

La fase de contracción de la curva Velocidad = f(Fuerza) puede ajustarse la ecuación de HILL, con resultados satisfactorios sobre la mayor parte del intervalo de variación.

Si se realiza la rectificación, se hallan los siguientes valores de los parámetros:

$$a = 0.20 \quad (g) \quad b = 2.5 \quad (mm/s)$$

tales valores son compatibles con los hallados experimentalmente en condiciones isotónicas por MASHIMA y KUSHIMA (109) y por TARR y TRANK (176).

El mismo procedimiento de estimación se aplicó para las sístoles "netas", cuya obtención se describió antes. En este caso se observó más nítidamente el efecto potenciador. Así por ejemplo, se verifica que mientras el máximo desarrollo de fuerza y de tasa de desarrollo de tensión se obtuvieron para un intervalo $X = 1.5$ s, la curva de fuerza vs. velocidad es máxima para un X de 1.2 s (fig. 72). En cambio sobre la contracción directa este resultado no se evidencia

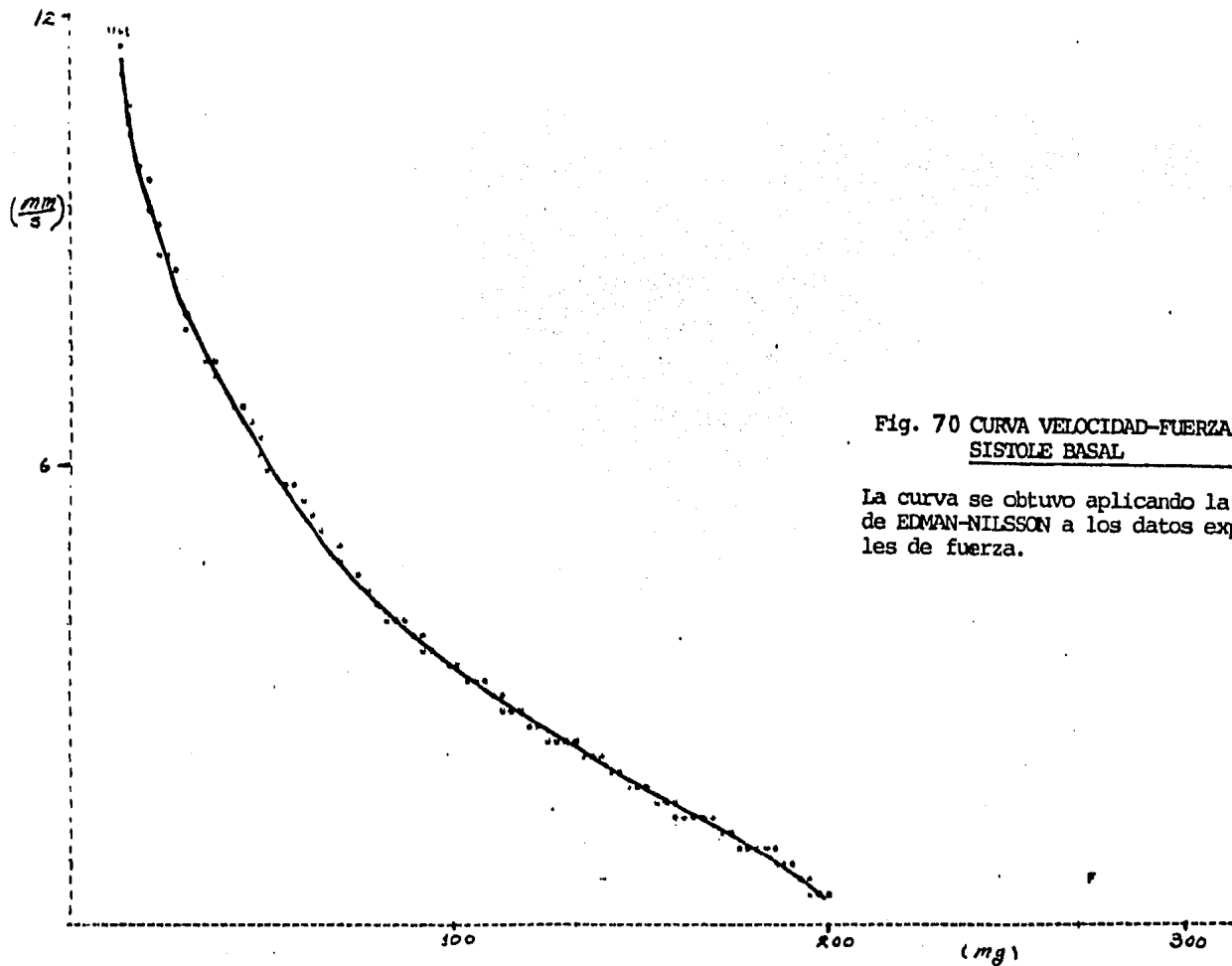


Fig. 70 CURVA VELOCIDAD-FUERZA PARA UNA
SISTOLE BASAL

La curva se obtuvo aplicando la relación de EDMAN-NILSSON a los datos experimentales de fuerza.

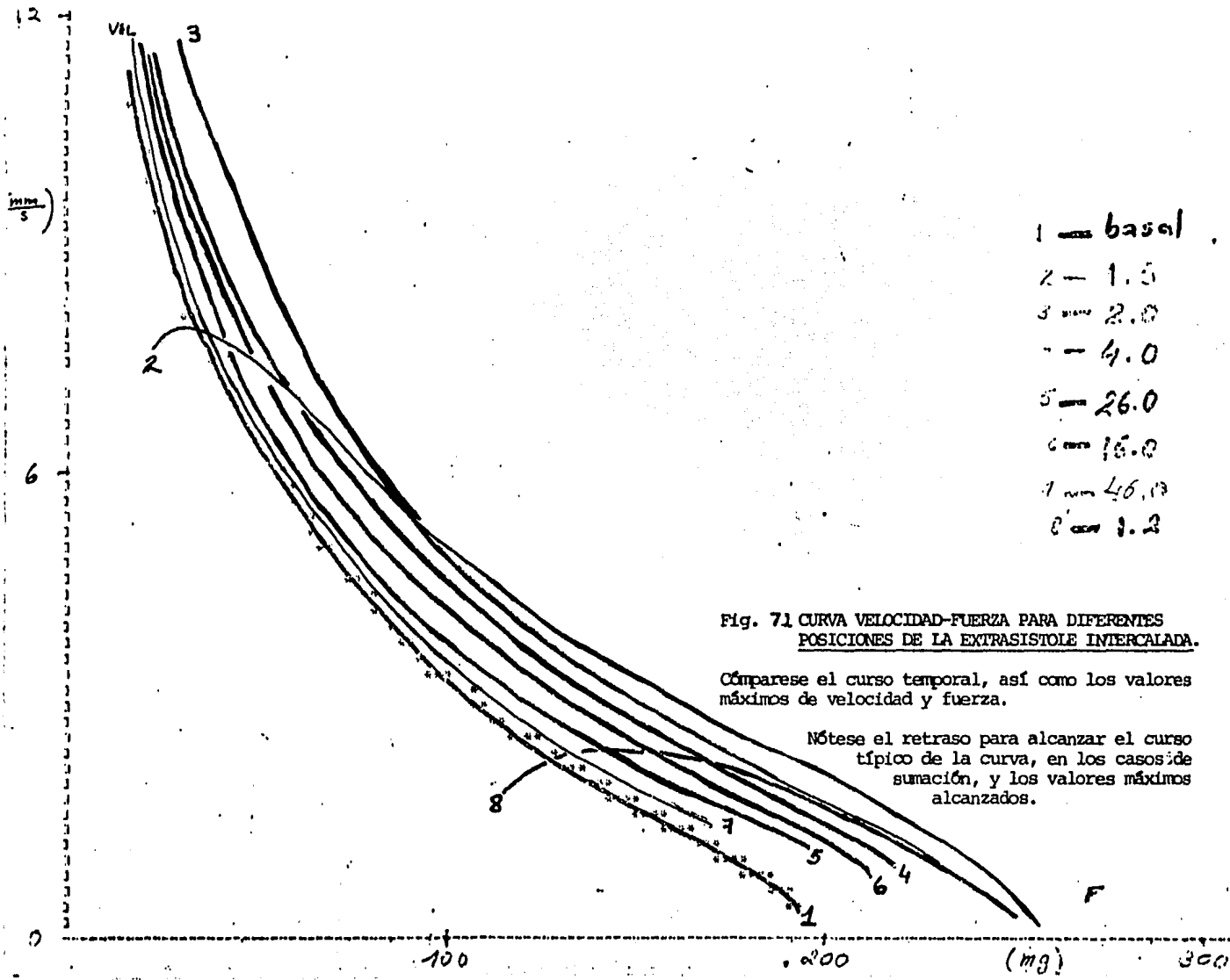


Fig. 71 CURVA VELOCIDAD-FUERZA PARA DIFERENTES POSICIONES DE LA EXTRASISTOLE INTERCALADA.

Cómparese el curso temporal, así como los valores máximos de velocidad y fuerza.

Nótese el retraso para alcanzar el curso típico de la curva, en los casos de sumación, y los valores máximos alcanzados.

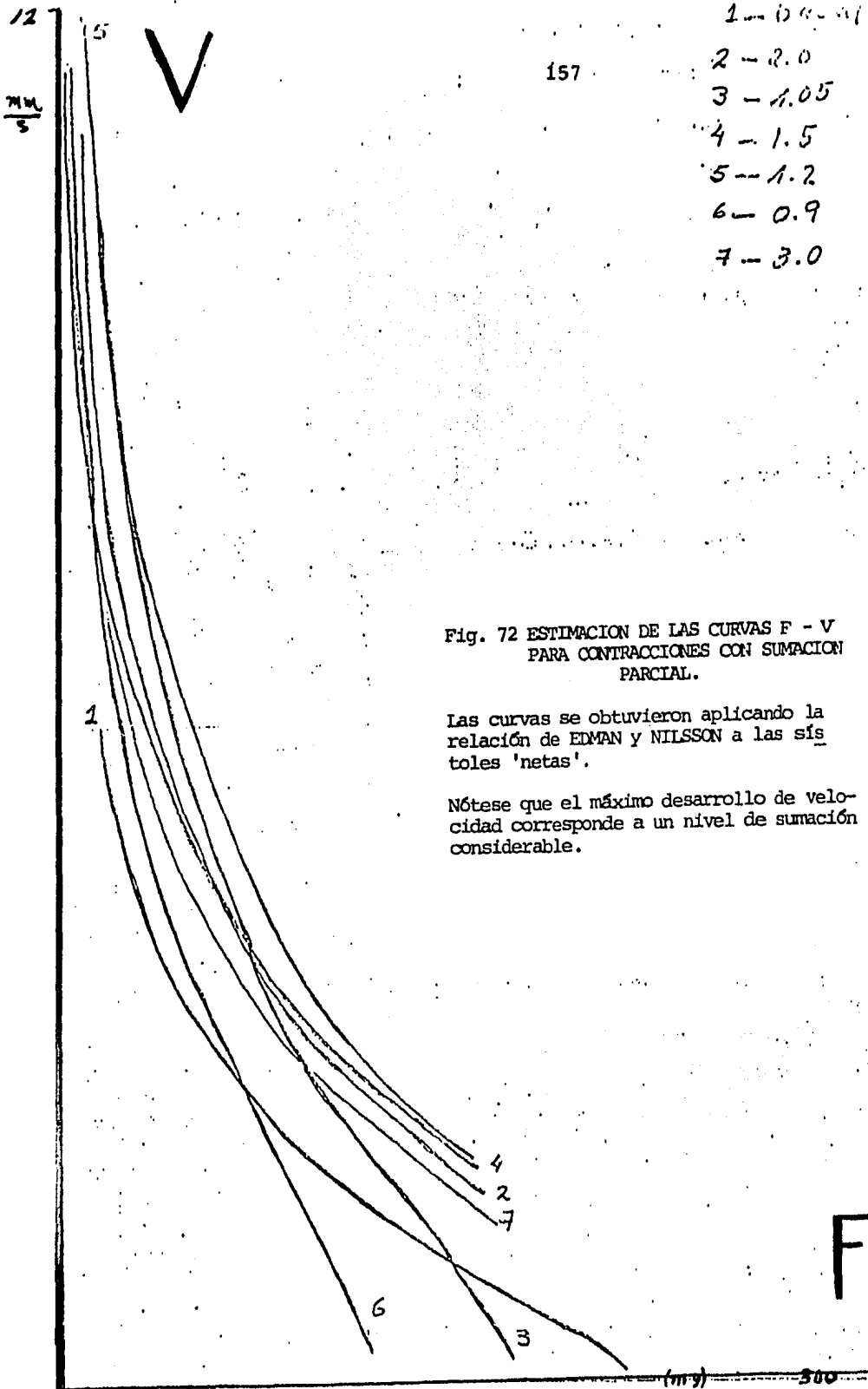


Fig. 72 ESTIMACION DE LAS CURVAS F - V
PARA CONTRACCIONES CON SUMACION
PARCIAL.

Las curvas se obtuvieron aplicando la
relación de EDMAN y NILSSON a las sí-
stoles 'netas'.

Nótese que el máximo desarrollo de velo-
cidad corresponde a un nivel de sumación
considerable.

(fig. 71). De modo que es posible describir el condicionamiento con base en esta curva.

También en este trabajo, se efectuaron en otra sección registros isotónicos, y se verificó concordancia con el intervalo de valores para los parámetros estimados en la sístole isométrica. Asimismo, se comprueba que ambos parámetros de la curva están aumentados, aunque es proporcionalmente mayor el aumento de b .

Para intervalos muy breves, en que hay fusión clara, vemos que los valores iniciales de $-dL/dt$ se hallan separados y por debajo de la tendencia general del resto de la curva (fig. 71).

Pero este apartamiento desaparece si en lugar de los valores directos de fuerza, se considera la diferencia entre estos y el nivel de fuerza residual de la extrasístole al instante del inicio de la contracción de prueba. Tal ajuste puede justificarse con base en un modelo de VOIGT.

10.6 SUMACION DE CONTRACCIONES A LA LUZ DEL MODELO DE HILL Y DE UNA HIPOTESIS ADICIONAL SIMPLE

Se ensayó una simulación computacional de las sístoles isométricas, construidas a partir del curso temporal del EA y con el fin de analizar la situación particular de las contracciones parcialmente sumadas.

La estimación del EA fue tomada del trabajo de MASHIMA y KUSHIMA (109) para ventrículo de rana. El método referido reconstruye el curso temporal utilizando el análisis gráfico de la curva Tensión Isométrica del CC y la Pérdida de Tensión-Velocidad del CES según BAHLER et al. (7), los resultados experimentales son compatibles con los datos reportados por MASHIMA y MATSUMARA (108). Adicionalmente TARR et al. (176) asignaron a la fase ascendente del EA un curso coexponencial de τ igual a 250 ms para miocardio auricular de rana, que también es consistente con los trabajos anteriores, aunque estos autores no hacen ninguna consideración para la relajación.

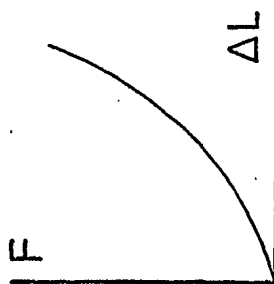
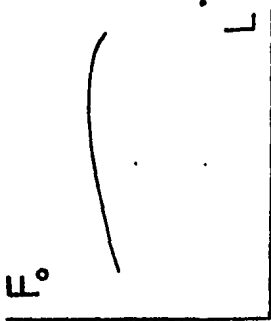
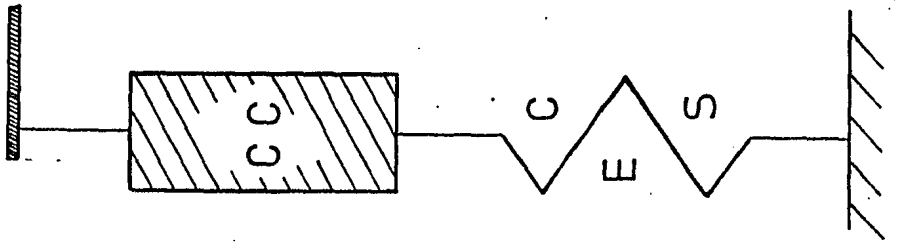
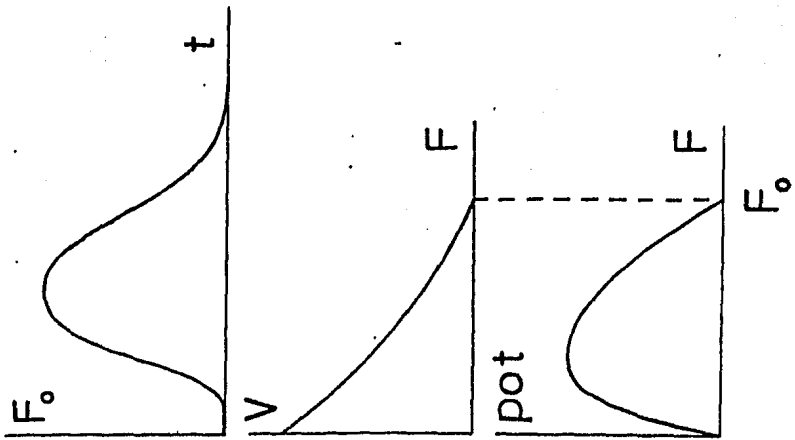
De manera que las funciones incluidas para la predicción computacional y siguiendo el modelo de HILL son:

$$L_{ces} = f_1 (F)$$

$$V_{cc} = f_2 (F)$$

$$F_{cc} = f_3 (t)$$

CURVAS PRINCIPALES DENTRO DEL MODELO



Si tomamos en cuenta el hallazgo de la poca variabilidad del CES (SONNENBLICK et al. (160); BRADY, (20); MIRSKY (117)) se pueden utilizar los datos de MASHIMA y KUSHIMA de 1971 (109) para miocardio de rana, a los cuales ajustamos la función ya mencionada, que aquí hemos llamado f_1 .

Para estimar f_2 aplicamos la ecuación de EDMAN y NILSSON (52), que nos condujo a las curvas $V = f(F)$ vistas en el numeral 10.5.

En el caso de f_3 no se utilizó una expresión analítica, sino directamente una tabla de valores experimentales, también tomados del trabajo de MASHIMA y KUSHIMA y más tarde construida con nuestros resultados.

Con estas consideraciones se realizó la predicción de la sístole, siguiendo el algoritmo que a continuación se describe y teniendo como condiciones iniciales, una longitud de reposo de 10 mm para la cual se desarrolla una tensión basal de 1 g ($F(i)$) y una deformación inicial del CES de 0.60 mm ($D(i)$).

La predicción se hizo con 200 puntos, separados entre sí 10 ms, es decir, el tiempo total de simulación fue de 2 segundos.

Un ensayo inicial del algoritmo de simulación consideró un curso temporal para el EA sobresimplificado, en el cual se alcanza instantáneamente con la activación un platillo, que se mantiene constante durante 500 ms para decaer con una rapidez de -0.01 g/ms y, haciéndose cero a los 900 ms.

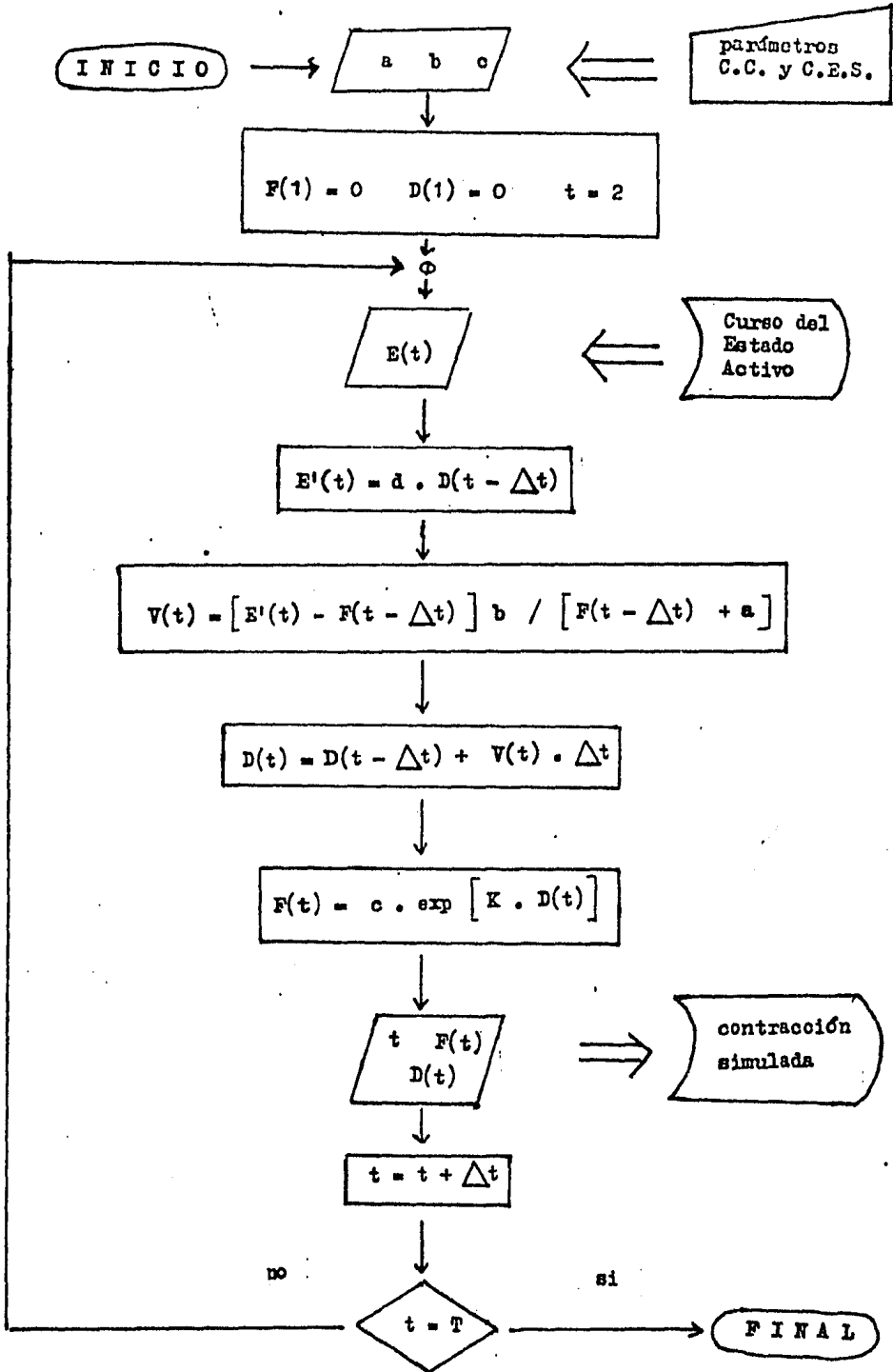
Por este procedimiento se verifica que los tiempos al pico de la contracción son independientes de las longitudes iniciales impuestas, y dependen de la duración del platillo del EA.

El tiempo al pico se acorta en la misma medida que el intervalo entre las sístoles, o de otra manera, el mismo tiempo que 'adelanta' la segunda contracción a consecuencia de la sumación. Y aparece definido por el curso temporal de la fuerza en la segunda sístole, siendo el mismo independiente del instante en que se inicie.

Introduciendo una función empírica al curso temporal del EA, las contracciones simuladas tienen forma más semejante a las experimentales y el comportamiento respecto al tiempo al pico es el mismo.

Cuando en este sistema se simularon contracciones apareadas, vimos que es posible obtener sumación y el $E(X)$ sigue un curso temporal monótono hasta el caso que correspondría al tétanos. (fig. 73).

ALGORITMO PARA SIMULACION DE CONTRACCIONES ISOMETRICAS



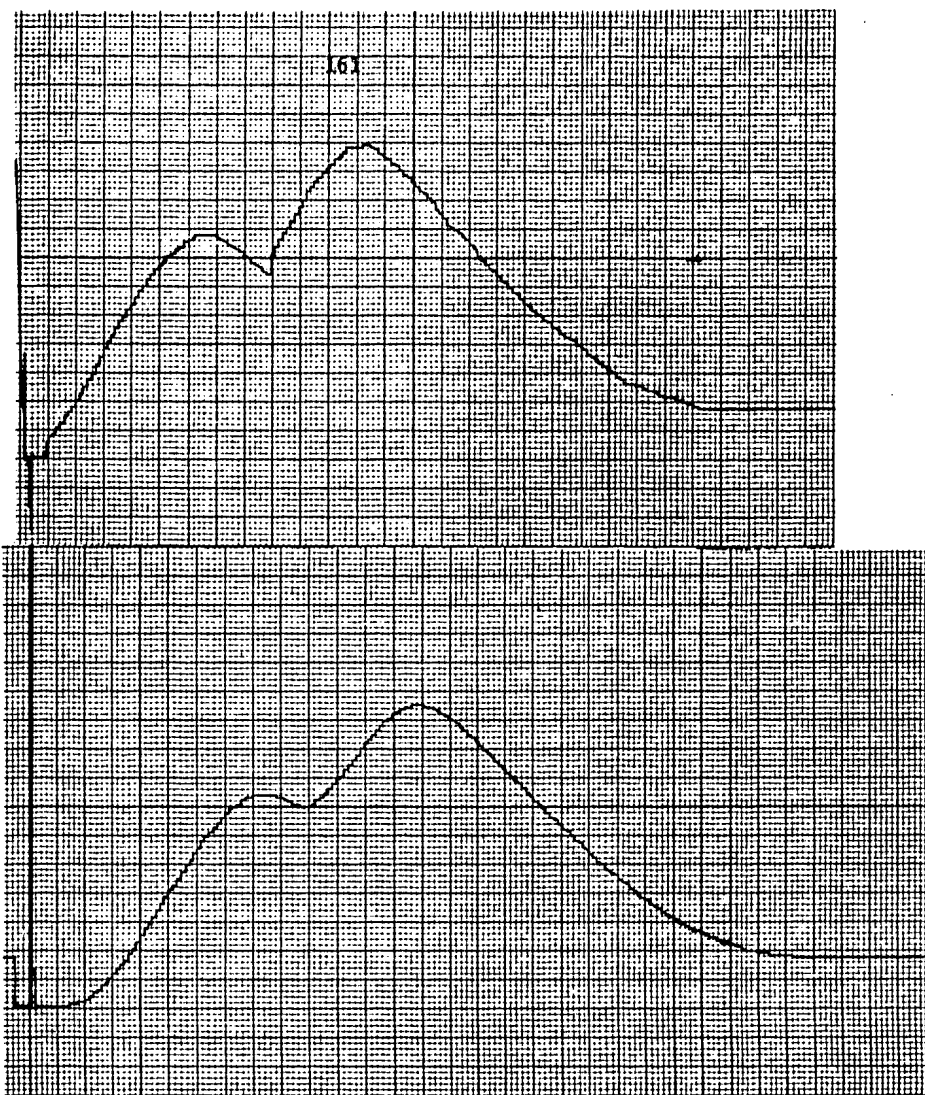


Fig. 73 SIMULACION DE CONTRACCIONES PARCIALMENTE SUMADAS CONSIDERANDO UNA POTENCIACION UNIFORME.

La estimación del EA, trazo superior, se hizo utilizando datos experimentales para la primera sístole, y una potenciación constante para la segunda, a partir de datos experimentales, que en este caso resultó del 20%.

El muestreo fue de $40 \times 10 = 400$ ms.

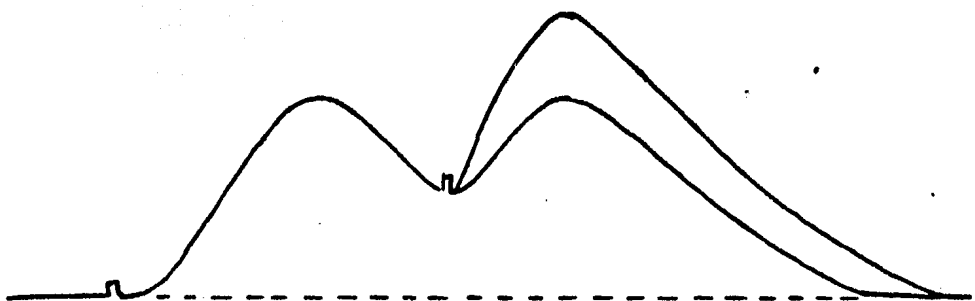


Fig. 73b SUMACION CON Y SIN EFECTO DE
POTENCIACION

El trazo inferior corresponde a una simulación en la que existe sumación, pero no potenciación. El trazo superior representa la simulación para el caso de potenciación al 20%, con una $X = 1.5$ s.

Obviamente aquí no se incluían efectos de memoria y la única potenciación posible está asociada a la ocurrencia de fusión.

Un primer intento por incorporar estos fenómenos de memoria, consistió en asignar un coeficiente de potenciación igual al $E(X)$ hallado experimentalmente para cada intervalo correspondiente, y multiplicar por el mismo a todos los valores de EA en la sístole apareada. Esto es, en el cálculo de la fuerza de la segunda contracción, la tabla de valores instantáneo del EA está aumentada en una proporción constante, que depende del intervalo X en que ocurre.

En este caso se verifica una simulación más aproximada al comportamiento experimental, aunque sistemáticamente la relajación simulada para la segunda contracción tiene un curso temporal más lento, como se muestra en la figura 74.

La extensión de las relaciones instantáneas de F-V a la fase de relajación está justificada por los datos experimentales mostrados en el numeral 5.

También se observó que el acortamiento del T_p sigue una cinética monótona diferente a la del $E(X)$, que T_p aquí se ha tomado como único elemento de potenciación. (fig. 74b).

Sin embargo, debe tenerse presente que dentro de esta modalidad de simulación cuando ocurre fusión parcial queda incluido un efecto de acortamiento del T_p .

10.7 SIMULACION DE CONTRACCIONES PARCIALMENTE SUMADAS, INCLUYENDO HIPOTESIS ADICIONALES

Tales consideraciones adicionales se refieren al empleo de los datos experimentales directos para la relación Fuerza-Velocidad de Acortamiento, pues como hemos señalado el ajuste hiperbólico se cumple sólo en un intervalo estrecho de valores, quedando fuera de él la condición de sumación parcial. Sobre todo si pensamos que se trata de un fenómeno que perturba la relajación y no precisamente el desarrollo de fuerza.

El corrimiento a la izquierda observado en los registros observados para la relajación, ocasionado por la modificación antes descrita mejoró notablemente al variar la constante elástica alrededor de un 10% de su valor, aunque este hecho no tiene una significación fisiológica clara, Quizás esté reflejando algún cambio de las propiedades elásticas intrínsecas del miocardio.

Finalmente se introdujo también un retraso en la expresión del EA proporcional al acortamiento observado en el T_p . Las simulaciones obtenidas de esta forma corresponde mucho mejor a la curva experimental, aún en la fase de relajación (fig. 75).

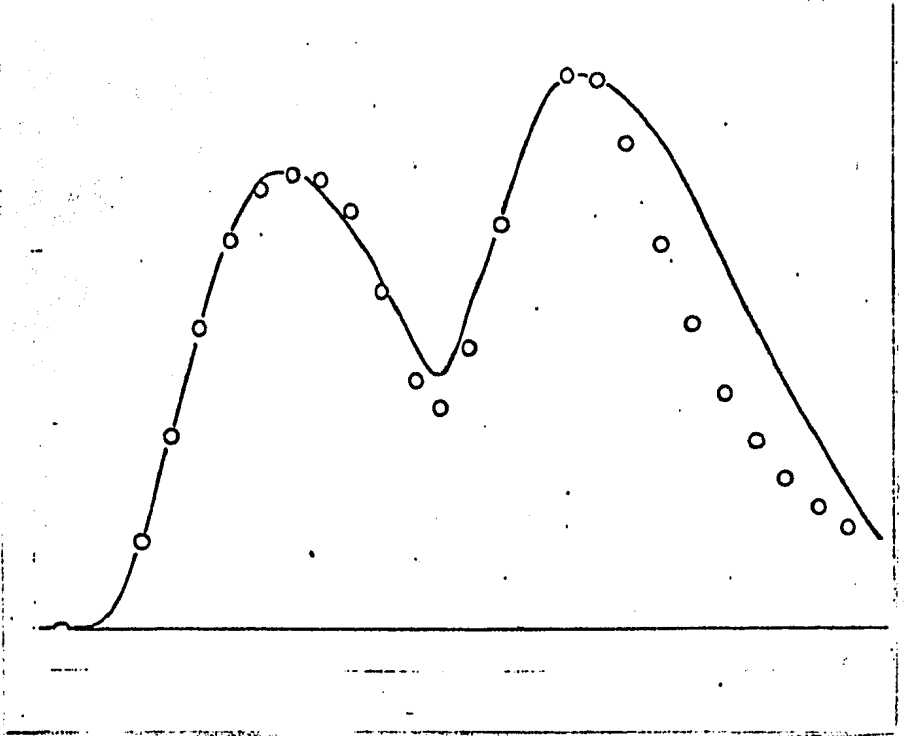


Fig. 74 SINULACION DE CONTRACCIONES PARCIALMENTE SUMADAS

En esta ocasión se asignó un 'coeficiente de potenciación' igual al $E(x)$ hallado experimentalmente, que afectó a todos los valores del EA empleados para la simulación.

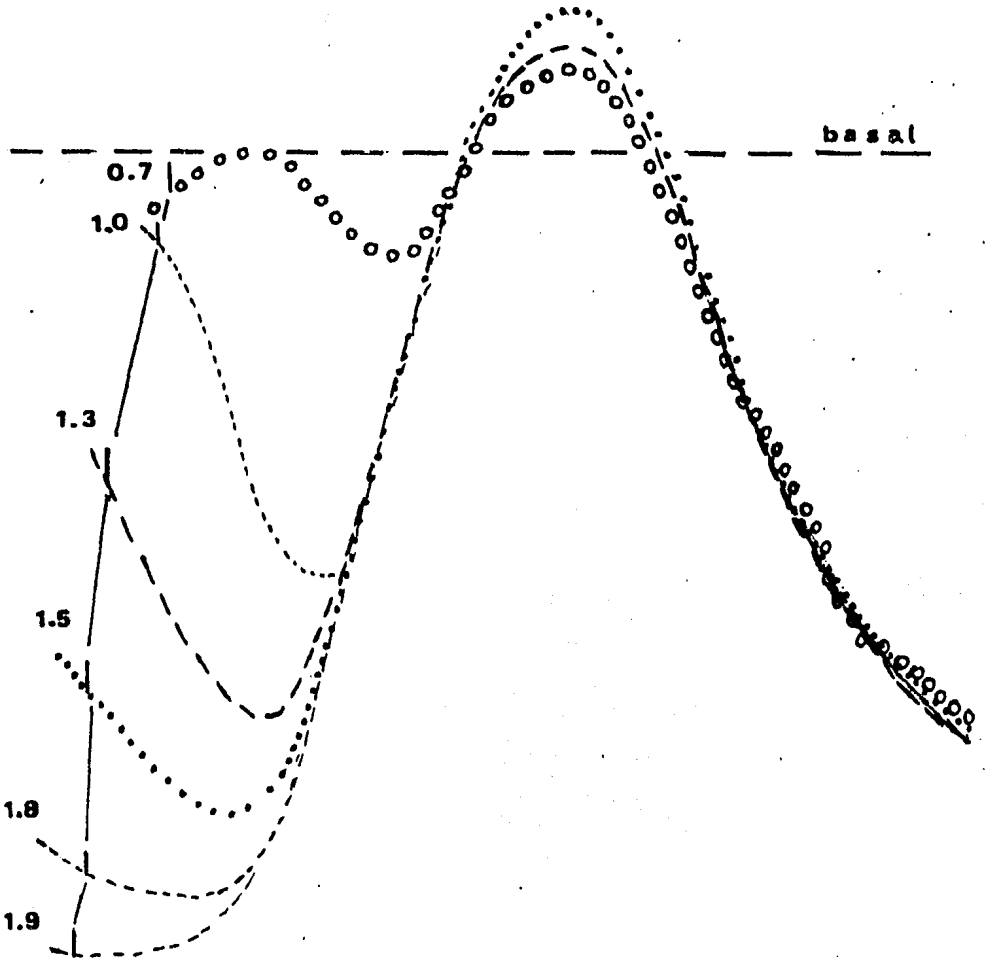


Fig. 74b SUPERPOSICION RESPECTO AL MAXIMO
DE LAS DIFERENTES SISTOLES

Para los intervalos marcados, se muestran las diferentes sístoles y puede observarse un curso temporal único, con tiempo al pico determinado por el punto de inicio.

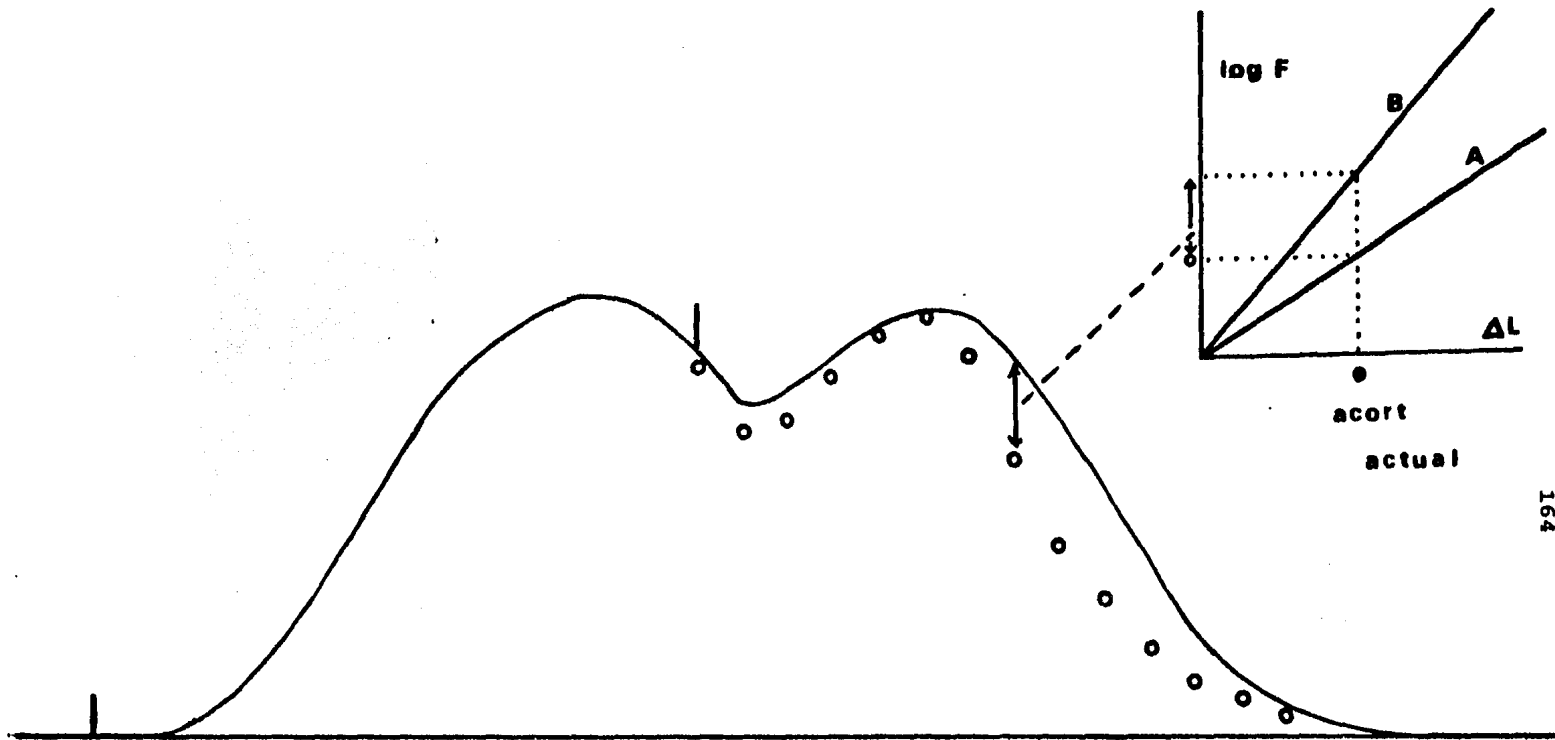


Fig. 75 SIMULACION DE LAS CONTRACCIONES PARCIALMENTE FUSIONADAS INTRUCIENDO RETRASO EN LA EXPRESION DEL EA Y CAMBIO DE LA CONSTANTE ELASTICA

Los puntos corresponden a la simulación, y la inserción muestra el procedimiento empleado para una longitud instantánea.

Discusión General

11. DISCUSION GENERAL

A continuación anotamos en forma resumida los puntos más destacados del presente trabajo, con el fin de facilitar su revisión:

1. Las intervenciones inotrópicas utilizadas, extra-sístoles, sí inducen cambios en la contractilidad del miocardio, expresados en forma directa tanto en la Fuerza Máxima Desarrollada como en la Velocidad Máxima de Acortamiento; y en forma indirecta pero más relevante en los parámetros de la relación de HILL.
2. Bajo las condiciones estudiadas el fenómeno eléctrico, Potencial de Acción, parece regular al fenómeno mecánico sólo a partir de cierto momento en la expresión de la contractilidad cardíaca.
3. Existe un intervalo en el tiempo de activación mecánica estrechamente asociado al nivel de fuerza de desarrollada durante la contracción previa.
4. El curso temporal paralelo en todas las contracciones condicionadas revelaría la existencia de un retardo en la expresión del condicionamiento. Pero que este retardo es menor de lo que pudiera inferirse a partir del estudio directo.
5. Es probable que siempre se presente la autorregulación del evento mecánico, y que a partir de cierto intervalo quede además sujeto al control del evento eléctrico.
6. Para simular contracciones condicionadas con el protocolo señalado, es necesario variar el curso temporal de las mismas, para expresar de esta manera el condicionamiento; incluir la cinética experimental de velocidad de acortamiento y no el ajuste de HILL; y modificar la constante elástica arbitrariamente.

Señalabamos más arriba que una característica particular del músculo cardíaco es la posibilidad de modificar su 'contractilidad' mediante intervenciones inotrópicas, y que esta alteración puede expresarse en un incremento de la Tasa de Desarrollo de Fuerza y a veces como la Fuerza Desarrollada, cuando se varía la longitud del músculo aunque se modifique la duración del EA, o aún a pesar de su acortamiento, lo cual constituye una diferencia fundamental con el músculo esquelético.

El otro parámetro utilizado como índice de la contractilidad, la Velocidad Máxima de Acortamiento, también puede modificarse en el músculo cardíaco como consecuencia de diferentes intervenciones fisiológicas según hemos indicado.

Para el caso analizado, el condicionamiento en la contractilidad se ha dado por variaciones en la frecuencia de estimulación, aislando la situación de la primera contracción posterior a una intervención en la frecuencia.

Como se señaló la primera manifestación estudiada de la contractilidad modificada, fue la potenciación en la fuerza desarrollada por la contracción 'de prueba'. Ahora se puede agregar que con este tipo de intervenciones, sístoles muy próximas, la $V_{\text{máx}}$ de Acortamiento también se ve incrementada y expresa alteraciones de la contractilidad intrínseca del músculo.

Puesto que la potenciación presenta una cinética de decaimiento exponencial y el máximo se da para intervalos de intercalación muy breves, se ha venido interpretando al condicionamiento como un fenómeno transitorio y determinado por los eventos ocurridos entre cada contracción es decir, se trata de un fenómeno de memoria en el que la cantidad de información adicional expresada, depende de la duración de la activación eléctrica y del tiempo que transcurre sin ser utilizada. Por esta razón se llegó a pensar que el condicionamiento estaba en estrecha relación con las corrientes iónicas que se desarrollan durante el potencial de acción, y en particular con el Calcio modulador de la actividad mecánica.

En otras palabras, ya que el efecto de un cambio de frecuencia o de la intercalación de una extrasístole en un ritmo basal se presenta como una potenciación de la capacidad del músculo para desarrollar fuerza, podría pensarse que se trata de una facilitación por efectos de la permanencia del Calcio activador, bien en los reservorios vesiculares, bien en otro tipo de compartimientos.

Predominando así la idea de que el sarcolemma controla la intensidad con que puede desarrollarse el evento mecánico, ya sea a través del tiempo de activación eléctrica, del monto y la duración de la corriente entrante de Calcio o de la regulación de salida del mismo durante la relajación y el reposo.

Sin embargo, las evidencias experimentales señalan que el condicionamiento de la contractilidad no se da como efecto de la acumulación de Calcio, pues ocurre que al realizar intercalaciones en la frecuencia de estimulación con lavados rápidos del Calcio extracelular, no se observa la potenciación referida (101).

Se ha pensado entonces que se trata de un efecto sobre la asequibilidad de la membrana al Calcio extracelular, que se expresa durante la activación de la membrana y en consecuencia se manifiesta como una mayor entrada de Calcio, activador de las proteínas contráctiles en forma más generalizada. Esto puede pensarse como si el ritmo impuesto por la estimulación influyera en la dispersión de la respuesta de las vías de conductancia al Calcio.

En la situación estudiada por nosotros, los intervalos son muy breves y además del efecto mencionada respecto a la entrada del Calcio, pudimos observar que la extrasístole interfiere directamente sobre el curso temporal de los fenómenos mecánicos y químicos.

Mencionabamos en el análisis del curso temporal de las contracciones condicionadas, que la regulación del tiempo al pico no puede ser a través de la duración del potencial de acción, a pesar de lo cual aparece una cinética de desarrollo de fuerza paralela en cualquier condición de intervalo de tiempo, independientemente del momento en que se inicia la nueva contracción, termina en un tiempo fijo.

Pareciera existir un mecanismo de retroalimentación para las estructuras contráctiles en términos de la tensión instantánea desarrollada, la cual permite definir la cinética posterior inmediata. Resulta claro también que en buena medida esta retroalimentación se da durante la relajación, y pudiera explicar el retardo en la manifestación del desarrollo de fuerza o que origina el curso temporal común.

Pensando este mecanismo de retroalimentación fundamentado en el recambio de Calcio dentro del retrículo sarcoplásmico, y del asociado a las proteínas contráctiles, y siguiendo la línea sugerida por STEIN y PARMIGIANI se plantearían dos cinéticas temporales: una para la contracción y otra para la relajación, independientes entre sí y desfasadas en el tiempo, pero reguladas en su activación por la concentración intracelular del propio ión Calcio.

Se podría explicar así que una contracción intercalada muy próxima y con sumación parcial ocasiona un efecto potenciador en la contracción siguiente, pues permite una mayor entrada de Calcio. Pero como el intervalo para que se inicie es muy breve, la relajación no ha concluido cuando se dispara un nuevo proceso de desarrollo de fuerza. Las proteínas contráctiles encuentran una mayor disponibilidad de Calcio durante un tiempo más largo, pero a su vez están limitadas por su cinética enzimática propia, explicando el retraso en la expresión de la potenciación. Simultáneamente se iniciaría el secuestro de Calcio desde los reservorios intracelulares o hacia afuera de la célula, pues su abundancia desencadenaría estos procesos, que con una cinética más lenta demorarían en hacerse notorios.

Quedaría por incluir en esta interpretación otro elemento al proceso de control, que tiene que ver directamente con las propiedades mecánicas del sistema elástico-contráctil y probablemente se encuentren asociados a la facultad de autorregulación de la fuerza desarrollada que exhiben las fibras musculares del miocardio.

Se ha señalado que las proteínas contráctiles varían su afinidad al Calcio según la longitud de los sarcómeros (FABIATO y FABIATO, 1978(56)), es decir, en proporción a la tensión desarrollada a través de ellos. Se describen oscilaciones en la tensión desarrollada estrechamente asociadas a la activación de los sarcómeros para una longitud dada. Estas oscilaciones estaría revelando una distribución heterogénea de sarcómeros, con distantes capacidades elásticas determinadas por diferente afinidad química al Calcio, y por tanto con diferente intensidad de respuesta.

Se puede pensar que las propiedades mecánicas del miocardio y las variaciones en ellas se explican como cambios en su activación química y que se reflejan en su 'contractilidad'.

El modelo queda ilustrado en la figura 76 y contiene las suposiciones generales que hemos venido manejando, incluso quedan incluidas de manera empírica por ahora en la simulación efectuada mediante computadora.

Podemos resumir, que si bien el Calcio disponible durante una contracción es el que determina el grado de desarrollo de fuerza, este mismo Calcio participa en la automodulación de la respuesta mecánica, a partir de regular las propiedades intrínsecas de los miofilamentos, lo cual puede hacerse evidente en un análisis mecánico cuando el tiempo de inactivación es lo suficientemente breve como para separar la cinética eléctrica y mecánica.

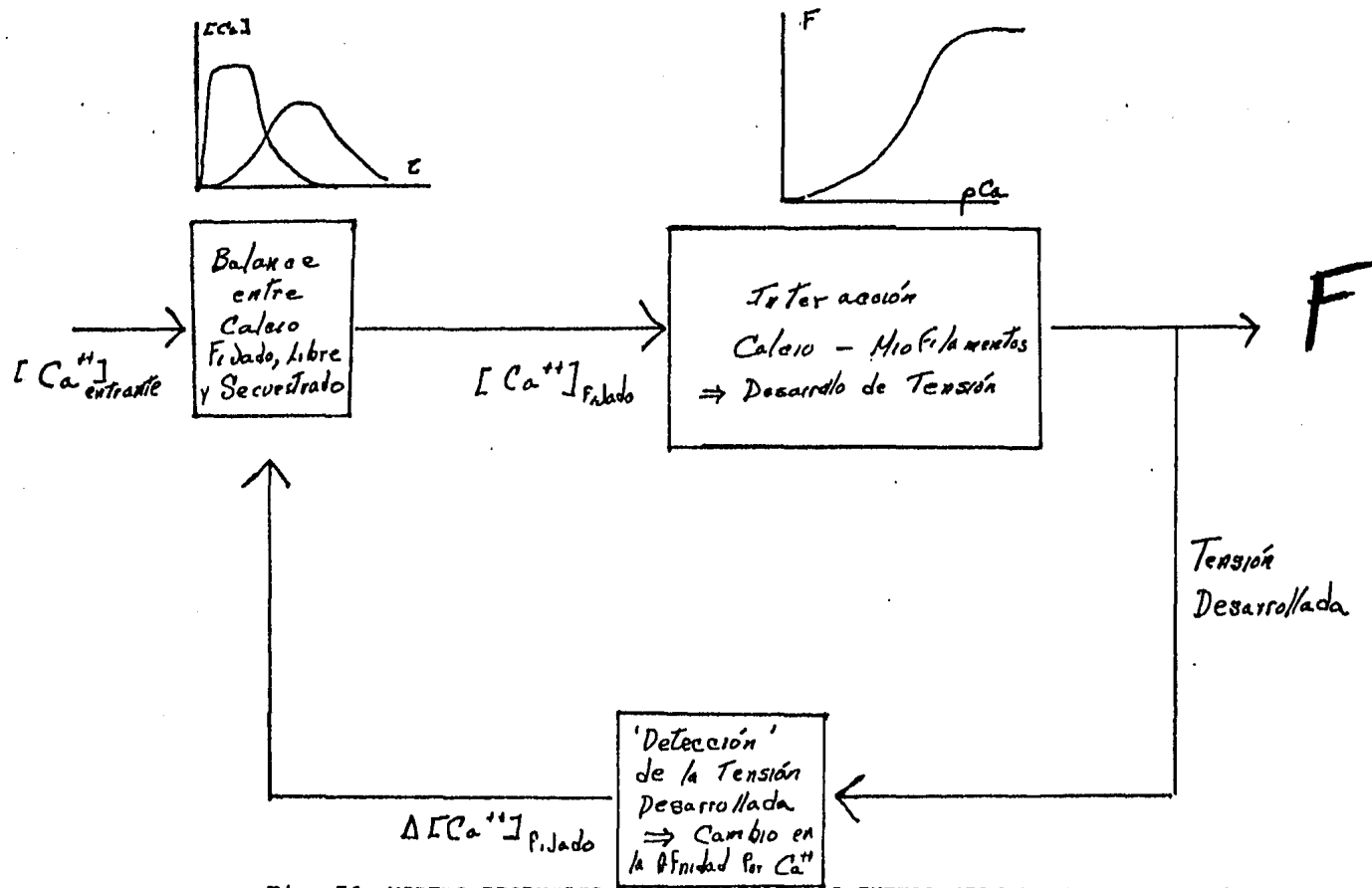


Fig. 76 MODELO PROPUESTO PARA EXPLICAR LAS INTERACCIONES EN EL MIOCARDIO DE RANA, DE LOS DIFERENTES COMPONENTES MECANICOS, ELECTRICOS Y QUIMICOS.

Referencias

R E F E R E N C I A S

- 1 ABBOTT B. y MOMMAERTS W. A Study of Inotropic Mechanism in the Papillary
Muscle Preparation. *J. Gen. Physiol.* 42: 533-553; 1959.
- 2 ABBOTT B. y MOMMAERTS W. The Adaptation of Ventricular Muscle to Different
Circulatory Conditions. *Arch. int. Physiol. Biochim.* 67: 358-363;
1959.
- 3 ANDERSON P. A., MARRING A., SOMMER J. y JOHNSON E. A. Cardiac Muscle: an
Attempt to Relate Structure to Function. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 8: 123-
143; 1976.
- 4 ANDERSON T. W., HIRSCH C. y KAVALER F. Mechanism of Activation in Frog
Ventricular Muscles. *Circulation Res.* 41: 472-480; 1977.
- 5 ANDERSON T. W. y JOHNSON E. The Repolarization Phase of the Cardiac Action
Potential: a Comparative Study of Rate-Induced Changes in its
Waveform. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 8: 103-121; 1976.
- 6 ANREP G. Regulation of the Coronary Circulation. *Physiol. Rev.* 6: 596-
628; 1926.
- 7 BAHLER A., FALES J. y ZIERLER K. The Active State of Mammalian Skeletal
Muscle. *J. Gen. Physiol.* 50: 2239-2253; 1967.
- 8 BASS B. G. Restitution of the Action Potential in Cat Papillary Muscle.
Am. J. Physiol. 228: 1717-1724; 1975.
- 9 BAZETT H. Electrocardiogram and Frequency. *Heart* 7: 353-370; 1920.
- 10 BEELER G. y REUTER H. Voltage Clamp Experiments on Ventricular Myocardial
Fibres (I). *J. Physiol.* 207: 163-190; 1970.
- 11 BEELER G. y REUTER H. Membrane Calcium Current in Ventricular Myocardial
Fibres (II). *J. Physiol.* 207: 191-209; 1970.
- 12 BENNINGER H., EINWACHTER H., HAAS H. y KERN O. Calcium-Sodium Antagonism
on the Frog's Heart: a Voltage Clamp Study. *J. Physiol.* 259: 617-643;
1976.
- 13 BEZANILLA L., ROJAS E. y TAYLOR R. Sodium and Potassium Conductance
Changes During a Membrane Action Potential. *J. Physiol.* 211: 729-
751; 1970.
- 14 BLINKS J. y KOCH-WESSER S. Analysis of the Effects of Changes in Rate
and Rhythm upon Myocardial Contractility. *J. Pharm. Exp. Therap.* 134:
373-389; 1961.

- 15 BLOOMFIELD M., GOLD L., REDDY R., KATZ A. y MORENO A. Thermodynamic Characterization of the Contractile State of the Myocardium. *Circulation Res.* 30: 520-534; 1972.
- 16 BÜGUE J. y MENDEZ R. The Relation Between the Mechanical and Electrical Response of the Frog's Heart. *J. Physiol.* 69: 316-32; 1930.
- 17 BONNET SEUANE A. Potentiation and Intrinsic Regulations in Mammalian Heart Muscle. *Am. J. Physiol.* 207: 1123-1132; 1964.
- 18 BORNSTEIN A. Die Grundergenschaften des Herzmuskels und ihre Beeinflussung Verschiedene Agentien. *Arch. Anat. Physiol. Leipzig (suppl)* 343-386; 1906.
- 19 BOWDITCH H.P. Über die Eigenthümlichkeiten der Reizbarkeit, welche die Muskelfasern des Herzens zeigen. *Ber. Sach. Gej. (Akad)Wiss.* 23: 632-673; 1871.
- 20 BRADY A. The Time and Displacement Dependence of Cardiac Contractility: Problems in Defining the Active State and Force-Velocity Relations. *Fed. Proc.* 24: 1410-1420; 1965.
- 21 BRADY A. Onset of Contractility in Cardiac Muscle. *J. Physiol.* 184: 560-580; 1966.
- 22 BRADY A. y TAN S. The Ionic Dependence of Cardiac Excitability and Contractility. *J. Gen. Physiol.* 49: 781-791; 1966.
- 23 BRADY A. y WOODBURY L. The Sodium-Potassium Hypothesis as the basis of Electrical Activity in Frog Ventricles. *J. Physiol.* 154: 383-407; 1960.
- 24 BRAUNWALD E. The Determinants of Myocardial Oxygen Consumption. *Physiologist* 12: 63-84; 1969.
- 25 BRAUNWALD E. On the Difference Between the Heart's Output and its Contractile State. *Circulation Res.* 43: 171-174; 1971.
- 26 BRAVENY P. y KRUTA V. Dissociation de deux facteurs: Restitution et Potentiation dans l'action de l'intervalle sur l'amplitude de la contraction du myocarde. *Arch. int. Physiol. Biochim.* 66: 633-652; 1958.
- 27 BRAVENY P. y SUMBERA J. Electromechanical Correlations in the Mammalian Heart Muscle. *Pflügers Arch.* 319: 36-48; 1970.
- 28 BRUM, G., ALVAREZ E., BARRIOS E. y RÍOS E. Efectos electricos de las corrientes polarizantes en el miocardio de batracio. XIII Congr. Latinoamer. Ciencias Fisiol. (Mexico): 133; 1977.
- 29 BRUTSAERT D., CLAES V. y SONNENBLICK E. Effects of Abrupt Load Alterations on Force-Velocity-Length and Time Relations during isotonic Contractions of Heart Muscle: Load-Clamping. *J. Physiol.* 216: 319-330; 1971.
- 30 BRUTSAERT D., CLAES V. y DONDEERS J. Effects of Controlling the Velocity of Shortening on Force-Velocity-Length and Time Relations in Cat Papillary Muscle. *Circulation Res.* 30: 310-315; 1972.

- 31 BRUTSAERT D., DE CLERCK N., GOETHALS M. y HOUSMANS P. Relaxation
-- of Ventricular Cardiac Muscle. *J. Physiol.* 283: 469-480; 1978.
- 32 BURDON-SANDERSON J. y PAGE F. On the Electrical Phenomena of the
-- Excitatory Process in the Heart of the Frog and the Tortoise as investigated Photographically. *J. Physiol.* 4: 327-338; 1883.
- 33 BURTON A. "Physiology and Biophysics of the Circulation". (Chicago):
-- Year Book Med. Pub.; 1972.
- 34 CARMELIET E. Influence du Rythme sur la Duree du Potentiel D'Action
-- Ventriculaire Cardiaque. *Arch. int. Physiol. Biochim.* 43: 222-231; 1955.
- 35 CARMELIET E. y BOULPAEP E. L'Adaptation de la Duree du Potentiel D'Action
-- Cardiaque au Changement de la Frequence des Excitants. *Arch. int. Physiol. Biochim.* 66: 87-88; 1958.
- 36 CARMELIET E. Modification de la Duree du Potentiel D'Action Cardiaque
-- sous l'influence des Excitants. *J. Physiol. (Paris)* 50: 204-207; 1958.
- 37 CARMELIET E. y LACQUET L. Duree du Potentiel D'Action Ventriculaire de
-- Grenouille en fonction de la Frequence: influence de variations ioniques de Potassium et Sodium. *Arch. int. Physiol. Biochim.* 66: 1-21; 1958.
- 38 CARMELIET E. Repolarization and Frequency in Cardiac Cells. *J. Physiol.*
-- (Paris) 73: 903-923; 1977.
- 39 CHAPMAN A. y NIEDERGERKE R. Effects of Calcium on the Contraction of the
-- Hypodynamic Frog Heart. *J. Physiol.* 211: 389-421; 1970.
- 40 CHAPMAN A. y MILLER D. The effects of Caffeine on the Contraction of the
-- Frog Heart. *J. Physiol.* 242: 589-613; 1974.
- 41 CHAPMAN C., BAKER O. y MITCHELL . Left Ventricular Function at Rest
-- and During Exercise. *J. Clin. Invest.* 38: 1202-1211; 1959.
- 42 CHAPMAN C. AMP-c Fluorometric Studies in Frog Cardiac Muscle.
-- *J. Gen. Physiology* 59: 135-154; 1972.
- 43 COOPER S. y ECCLES J. The Isometric Responses of Mammalian Muscles.
-- *J. Physiol.* 69: 377-392; 1930.
- 44 CORABOEUF E. y OTSUKA . L'action des Solutions Hyposodiques sur les
-- Potentiels Cellulaires de Tissus Cardiaques de Mammiferes. *Compt. Rend. Acad. Sc. (Paris)* 243: 417 ; 1956.
- 45 CORABOEUF E. Calcium Conductance and Calcium Antagonists. IV int.
-- "Adalat" Symp. (Paris): 15-23; 1979
- 46 COULSON R. Energetics of Isovolumic Contractions of the Isolated Rabbit Heart. *J. Physiol.* 260: 45-53; 1976.
- 47 DALE A. S. The Staircase Phenomenon in Ventricular Muscle. *J. Physiol.*

- 75: 1-16; 1932.
- 48 DRAPER M. y WEIDMANN S. Cardiac Resting and Action Potentials Recorded
-- with an Intracellular Electrode. *J. Physiol.* 115: 74-93; 1951.
- 49 DROUHARD J. y ROBERGE F. The Simulation of Repolarization Events of the
--- Cardiac Purkinje Fiber Action Potential. *IEEE Transc. Biomed. Eng.* 29:
481-493; 1982.
- 50 DROUHARD J. y ROBERGE F. A Simulation Study of the Ventricular Myocar-
-- dial Action Potential. *IEEE Transc. Biomed. Eng.* 29: 494-502; 1982.
- 51 EDMAN K. A. Action of Cardiac Glycosides on the ATP-induced Contraction
-- of Glycerinated Muscle Fibres. *Acta Physiol. Scand.* 30: 69-78; 1953.
- 52 EDMAN K. A. y NILSSON E. The Mechanical Parameters of Myocardial Contraction
--- Studied at a Constant Length of the Contractile Element. *Acta
Physiol. Scand.* 72: 205-219; 1968.
- 53 EINWACHTER H., HASS H. y KERN R. Membrane Currents and Contraction in
-- Frog Atrial Fibres. *J. Physiol.* 227: 141-171; 1972.
- 54 EVANS C. A. Metabolism of the Heart. *Edinburg Med. J.* 46: 733-746; 1939.
--
- 55 FABIATO F., FABIATO A. y SONNENBLICK E. Propriétés mécaniques et élec-
--- triques des cellules isolées de rat adulte. *J. Physiol. (Paris)* 63:
47-48; 1971.
- 56 FABIATO A. y FABIATO F. Myofilament-Generated Tension Oscillations during
--- Partial Calcium Activation and Activation-Dependence of Sarcomere
Length-Tension Relation of Skinned Cardiac Cells. *J. Gen. Physiol.*
72: 667-699; 1978.
- 57 FRANK O. Z. Zur Dynamik der Herzmuskels. *Z. Biol.* 32: 370-447; 1895.
-- (trad. C. Chapman y E. Wasserman) *Am. Heart J.* 38: 282-317 y 467-498;
1959.
- 58 GARB S. y PENNA M. Some Quantitative Aspects of the Relation Between
-- Rhythm and Contractile Force of Mammalian Ventricular Muscle. *Am. J.
Physiol.* 182: 601-606; 1955.
- 59 GARCIA MOREIRA C. y CABEZUDO M. Diferencia del contenido de informacion
--- inotropica entre contracciones miocárdicas de igual amplitud y distinto
condicionamiento. IX Cong. Latinoamer. C. Fisiol. (Belo Horizonte; Brazil) : 75-84; 1969.
- 60 GARCIA MOREIRA C. y CABEZUDO M. Potenciación transitoria y fenomeno de
--- escalera en el miocardio de sapo. Mem. IX Cong. Latinoamer. C. Fisiol.
(Belo Horizonte; Brazil) : 75-84; 1969.
- 61 GARCIA MOREIRA C. y CARLEVARO P. El intervalo de tiempo que separa los
--- estímulos como variable de potenciación de la respuesta contractil en
el miocardio de rana. *Anales Fac. Med. (Montevideo)* 30: 487-497; 1965.
- 62 GARCIA MOREIRA C., RIOS E., ALVAREZ E., BARRIOS E., PEREZ S. y SANCHEZ A.
--- The Inotropic Memory of Amphibian Myocardium. *Arch. int. Physiol. Bi-
chim.* 85: 435-453; 1977.

- 63 GIBBONS W. y FOZARD H. Voltage Dependence and Time Dependence of Con-
-- traction in Sheep Purkinje Fibers. *Circulation Res.* 28: 449-460;
1971.
- 64 GIBBS C. L. Role of Catecholamines in Heat Production in the Myocar-
-- dium. *Circulation Res.* 21 (suppl. 3): 223-230; 1967.
- 65 GIBBS C. L. y CHAPMAN B. Cardiac Heat Production. *Ann. Rev. Physiol.*
-- 41: 507-519; 1979.
- 66 GIBBS C., JOHNSON E. y TILLE J. A Quantitative Description of the
-- Relationship Between the Area of the Rabbit Ventricular Action Poten-
tial and the Pattern of Stimulation. *Biophys. J.* 3: 433-458; 1963.
- 67 GOLDMAN D. Potential, Impedance and Rectification in Membranes. *J.*
-- *Gen. Physiol.* 27: 37-52; 1943.
- 68 GOLDMAN Y. y MORAD M. Regenerative Repolarization of the Frog Ventricu-
-- lar Action Potential: a Time and Voltage Dependent Phenomenon. *J.*
Physiol. 268: 575-611; 1977.
- 69 GOLDMAN Y. y MORAD M. Measurement of Transmembrane Potential and Cur-
-- rent in Cardiac Muscle: a New Voltage Clamp Method. *J. Physiol.* 268:
613-654; 1977.
- 70 GOLDMAN Y. y MORAD M. Ionic Membrane Conductance During the Time Course
-- of the Cardiac Action Potential. *J. Physiol.* 268: 655-695; 1977.
- 71 GORDON A., HUXLEY A. y JULIAN F. The Variations in Isometric Tension
-- with Sarcomere Length in Vertebrate Muscle Fibers. *J. Physiol.* 184:
170-192; 1966.
- 72 GOTO M., KIMOTO Y. y KATO Y. A Study on the Excitation-Contraction
-- Coupling of the Bullfrog Ventricle with Voltage Clamp Technique.
Jap. J. Physiol. 21: 159-173; 1971.
- 73 GOTO M., WADA Y. y SAITO M. Tension Components and Tension Fall of the
-- Bullfrog Atrial Muscle During Depolarization. *Jap. J. Physiol.* 24: 359-
375; 1974.
- 74 HASS H. y MEYER. Intercellular Coupling in Frog Heart Muscle. Elec-
-- trophysiological and Morphological Aspects. *Pflugers Arch.* 399:
321-341; 1983.
- 75 HAJDU S. Mechanism of Staircase and Contracture in Ventricular Muscle.
-- *Am. J. Physiol.* 174: 371-380; 1953.
- 76 HAJDU S. y SZENT-GYORGYI S. Action of DOC and Serum on the Frog Heart.
-- *Am. J. Physiol.* 168: 159-171; 1952.
- 77 HAJDU S. Bioassay for Cardiac Active Principles Based on the Staircase
-- Phenomenon of the Frog Heart. *J. Pharm. Exp. Therap.* 120: 90- ; 1957.
- 78 HELLAM D. y PODOLSKY R. Force Measurements in Skinned Muscle Fibres.
-- *J. Physiol.* 200: 807-819; 1969.

- 79 HENDERSON H. y BRUTSAERT D. Force-Velocity-Length Relationship in
 --- Heart Muscle: Lack of time-Independence during Twitch Contractions of
 Frog Ventricle Strips with Caffeine. *Pflugers Arch.* 348: 59-64;
 1974.
- 80 HILL A. V. The Diffusion of Oxygen and Lactic Acid Through Tissues.
 --- *Proc. Roy. Soc. (London) B* 104: 39-96; 1928.
- 81 HILL A. V. The Heat of Shortening and the Dynamic Constants of Muscle.
 --- *Proc. Roy. Soc. (London) B* 126: 136-193; 1938.
- 82 HILL A. V. The Abrupt Transition from Rest to Activity in Muscle.
 --- *Proc. Roy. Soc. (London) B* 136: 399-420; 1949.
- 83 HODGKIN A. y HUXLEY A. Current Carried by Sodium and Potassium ions
 --- through Membrane of Giant Axons of Loligo. *J. Physiol.* 116: 449-472;
 1952.
- 84 HODGKIN A. y HUXLEY A. A Quantitative Description of Membrane Current
 --- and its Application to Conduction and Excitation in Nerve. *J. Physiol.*
 117: 500- ; 1952.
- 85 HOFFMAN B. y CRANEFIELD P. "Electrophysiology of the Heart". (New York)
 --- : McGraw Hill; 1960.
- 86 HORACKOVA M. y VASSORT G. Slow Inward Current and Contraction in Frog
 --- Atrial Muscle at Various Extracellular Concentrations of Na and Ca
 ions. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 11: 733-753; 1979.
- 87 HUTTER O. y NOBLE D. Rectifying properties of Heart Muscle. *Nature*
 --- 188: 495-496; 1960.
- 88 HUXLEY H. y HANSON J. Changes in the Cross-Striations of Muscle during
 --- Contraction and Stretch and their Structural Interpretation. *Nature*
 173: 281-308; 1954.
- 89 HUXLEY A. F. Muscle Structure and Theories of Contraction. *Prog. Bio-*
 --- *phys. Biochem.* 7: 235-318; 1957.
- 90 ISEBERG I. Is Potassium Conductance of Cardiac Purkinje Fibres Control-
 --- led by $[Ca^{++}]_i$? *Nature* 233: 273-274; 1975.
- 91 ISEBERG I. Cardiac Purkinje Fibres: Control of Potassium Conductance
 --- by Intracellular Calcium. *Abstr. 17th Eur. Congr. Cardiol. (Amsterdam)*
 6: 138-143; 1976.
- 92 JEWELL B. y WILKIE D. An Analysis of the Mechanical Components in
 --- Frog's Striated Muscle. *J. Physiol.* 143: 513-540; 1958.
- 93 JEWELL B. y WILKIE D. The Mechanical Properties of Relaxing Muscle.
 --- *J. Physiol.* 152: 30-47; 1960.
- 94 JOHANSEN K. Cardiovascular Dynamics in the Amphibian *Amphiuma tridac-*
 --- *tylum* Cuvier. *Acta Physiol. Scand.* 60 (suppl.): 5-72 ; 1963.
- 95 KATZ L. Observations on the External Work of the Isolated Turtle Heart.
 --- *J. Physiol.* 72: 211-225; 1931.

- 96 KLINE R. y MORAD M. Potassium Efflux and Accumulation in Heart Muscle.
--- Biophys. J. 16: 367-372; 1976.
- 97 KLINE R. y MORAD M. Potassium Efflux in Heart Muscle during Activity:
--- Extracellular Accumulation and its Implications. J. Physiol. 280:
357-358; 1978.
- 98 KOELIKER A. y MULLER H. Nachweis der Negativen schwankung des muskel-
--- stroms am natuerlich sich contrahierden muskel. Verch. Phys. Med. Ges.
Wurzb 6: 528-543; 1856.
- 99 KOSOWA S. The Mechanical Regulation of the Heart Beat in the Tortoise.
--- J. Physiol. 49: 233-245; 1915.
- 100 LAB M. Comparison of Action Potentials from Endocardial and Epicardial
--- Surfaces of Frog Ventricle. J. Physiol. 219: 44-45; 1971.
- 101 LAMMEL E., NIEDERGERKE R. y PAGE S. Analysis of a Rapid Twitch Facili-
--- tation in the Frog Heart. Proc. Roy. Soc. (London) B 189: 577-590;
1975.
- 102 LEONARD . y HAJDU S. Action of Electrolytes and Drugs on the Contrac-
--- tile Mechanisms of the Cardiac Muscle Cell. in "Handbook of Physio-
logy" Sec. 2 Vol. 1, (Washington): Am. Physiol. Soc.; 1962.
- 103 LEQTY C. y RAYMOND G. Mechanical Activity and Ionic Currents in Frog
--- Atrial Trabeculae. Pflugers Arch. 334: 114-128; 1972.
- 104 LINDIG M. Introduccion al procesamiento discreto de senales. Rev.
--- Mex. Ing. Biomed. 2: 11-19; 1982.
- 105 LUTTGAU H. y NIEDERGERKE R. The Antagonism Between Calcium and Sodium
--- on the Frog's Heart. J. Physiol. 143: 486-505; 1958.
- 106 MARTINEZ M. y MAZZELLA H. Accion de los iones Calcio y Potasio sobre
--- el fenomeno de la escalera. Arch. Soc. Biol. (Montevideo) 23: 83-88;
1958.
- 107 MASCHER D. y PEPER K. Two Components of Inward Current in Myocardial
--- Muscle Fibres. Pflugers Arch. 308: 190-203; 1969.
- 108 NASHIMA H. y MATSUMURA M. The Effect of Temperature on the Mechanical
--- Properties and Action Potential of Isolated Frog Ventricle. Jap. J.
Physiol. 14: 422-438; 1964.
- 109 NASHIMA H. y KUSHIMA H. Determination of the Active State by the Gra-
--- phical, Experimental and Instantaneous Methods in the Frog Ventricle.
Jap. Heart J. 12: 545-561; 1971.
- 110 MATSUBARA I., YAGI N. y ENDOH M. Behaviour of Myosin Projections during
--- Staircase Phenomenon of Heart Muscle. Nature 273: 5657-5667;
1978.
- 111 MAZZELLA H., CARLEVARO P. y GARCIA MULLIN R. On the Ventricular Stair-
--- case Phenomenon. Acta Physiol. Latinoamer. 8: 99-110; 1958.

- 112 McFEE D. A., WHITING G. J. y SIEGEL B. Neurotransmitter and Cyclic Nucleotide Modulation of Frog Cardiac Contractility. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 10: 705-716; 1978.
- 113 McGUIGAN J. Tension in Ventricular Fibres During a Voltage Clamp. *Helv. Physiol. Pharm. Acta* 26: 362-363; 1968.
- 114 MILLER C. A Theoretical Evaluation of Cardiac Energy Output. *J. Theor. Biol.* 63: 89-97; 1976.
- 115 MILLER D. y MOISESCU D. The Effects of Very Low External Calcium and Sodium Concentrations on Cardiac Contractile Strength and Calcium-Sodium Antagonism. *J. Physiol.* 259: 283-308; 1976.
- 116 MINES G. R. On Functional Analysis by the Action of Electrolytes. *J. Physiol.* 46: 188-235; 1913.
- 117 MIRSKY I. y PARMLEY W. Assessment of Passive Elastic Stiffness for the Isolated Heart Muscle and the Intact Heart. *Circulation Res.* 33: 233-243; 1973.
- 118 MOORE J. A. "Physiology of the Amphibia". (New York): Academic Press; 1964.
- 119 MORAD M. y ORKAND R. Excitation-Contraction Coupling in Frog Ventricle: Evidence from Voltage Clamp Studies. *J. Physiol.* 219: 167-189; 1971.
- 120 MORAD M. y GOLDMAN Y. Excitation-Contraction Coupling in Heart Muscle. *Progr. Biophys. Mol. Biol.* 27: 259-313; 1973.
- 121 MOULIN A. y WILBRANDT W. Die Wirkung von Kalium und Calcium auf des Treppen-phenomen am Froschherzen. *Experientia* 11: 72-73; 1955.
- 122 NAYLER W. y McCULLOUGH. The Action of Anions on Cardiac Muscle. *Austr. J. Exp. Biol.* 37: 109-120; 1959.
- 123 NIEDERGERKE R. The Staircase Phenomenon and the Action of Calcium on the Heart. *J. Physiol.* 134: 369-383; 1956.
- 124 NIEDERGERKE R. The Potassium Chloride Contracture of the Heart and its Modifications by Calcium. *J. Physiol.* 134: 384-399; 1956.
- 125 NIEDERGERKE R. The Rate of Action of Calcium Ions on the Contractions of the Heart. *J. Physiol.* 138: 506-522; 1959.
- 126 NIEDERGERKE R. Movements of Calcium in Beating Ventricles of the Frog Heart. *J. Physiol.* 167: 551-580; 1963.
- 127 NIEDERGERKE R. Movements of Calcium in Frog Heart Ventricles at Rest and During Contractures. *J. Physiol.* 167: 315-350; 1963.
- 128 NIEDERGERKE R. y ORKAND R. The Dual Effect of Calcium on the Action Potential of the Frog's Heart. *J. Physiol.* 184: 291-311; 1966.
- 129 NIEDERGERKE R. y PAGE S. Analysis of Catecholamine Effects in Single Atrial Trabeculae of the Frog Heart. *Proc. Roy. Soc. (London) B* 197: 333-362; 1977.

- 130 NOBLE D. A Modification of the Hodgkin-Huxley Equations Applicable to
 --- Purkinje Fibre Action and Pacemaker Potential. *J. Physiol.* 160:
 317-352; 1962.
- 131 NOBLE D. The Voltage Dependence of the Cardiac Membrane Conductance.
 --- *Biophys. J.* 2: 381-393; 1962.
- 132 NOBLE D. y TSIEN R. Outward Currents Activated in the Plateau Range of
 --- Potential in Cardiac Purkinje Fibres. *J. Physiol.* 200: 205-231; 1969.
- 133 OCHI R. y TRAUTWEIN W. The Dependence of Cardiac Contraction on Depola-
 --- rization and slow inward current. *Pflugers Arch.* 323: 187-203; 1971.
- 134 ORKAND R. K. Facilitation of Heart Muscle Contraction and its Dependence
 --- on External Calcium and Sodium. *J. Fisiol.* 196: 311-325; 1968.
- 135 PAGE S. y NIEDERGERKE R. Structure of Physiological Interest in the
 --- Frog Heart Ventricle. *J. Cell Res.* 2: 179-203; 1972.
- 136 PARNIGGIANI F. y STEIN R. Non-Linear Summation of Contractions in Cat
 --- Muscle (II): Later Facilitation and Stiffness Changes. *J. Gen. Physiol.*
 78: 295-311; 1981.
- 137 PARMLEY W., CHUCK L. y SONNENBLICK E. Relations of V_{max} to Different
 --- Models of Cardiac Muscle. *Circulation Res.* 30: 34-43; 1972.
- 138 PARMLEY W., CHUCK L., CLARK S. y MATTHEWS R. Effects of Added Compliance
 --- on Force-Velocity Relations Calculated from Isometric Tension Records.
Am. J. Physiol. 225: 1271-1275; 1973.
- 139 PAYNE J. y WALSER M. The Effect of Multivalent Ions on the Concentration
 --- of Free Calcium as Measured by the Frog Heart Method. *Bull. Johns
 Hopkins Hosp.* 105: 298-315; 1959.
- 140 PODOLSKY J. Mechanochemical Basis of Muscular Contraction. *Fed. Proc.*
 --- 21: 964-974; 1962.
- 141 POLLACK G. y KRUEGER J. Sarcomere Dynamics in Intact Cardiac Muscle.
 --- *Europ. J. Cardiol.* 4 (suppl): 53-65; 1976.
- 142 RINGER S. A further contribution regarding the influence of the differ-
 --- ent constituents of the Blood on the Contraction of the Heart. *J.
 Physiol.* 4: 29-52; 1883.
- 143 RIOS E., CASTRO J. y GARCIA MOREIRA C. The Inotropic Memory of Amphi-
 --- bian Myocardium (I): identification of two simultaneous mechanisms
 and statement of a model. *Arch. int. Physiol. Biochim.* 83: 27-42; 1975.
- 144 RITCHIE J. The Effect of Nitrate on the Active State of Muscle. *J.*
 --- *Physiol.* 126: 155-168; 1954.
- 145 RITCHIE J. y WILKIE D. The Dynamics of Muscular Contraction. *J. Physiol.*
 --- 143: 104-113; 1938.
- 146 ROSENBLUETH A., ALANIS J., LOPEZ E. y RUBIO R. The Adaptation of Ventr-
 --- ular Muscle to Different Circulatory Conditions. *Arch. int. Physiol.
 Biochim.* 67: 358-373; 1959.

- 147 ROSENBLUETH A. y RUBIO R. Tetanic Summation in Isotonic and Isometric Responses. Arch. int. Physiol. Biochim. 68: 165-180; 1960.
- 148 ROUGIER O., VASSORT G., GARNIER D., GARGOUIL Y. y CORABOEUF E. Existence and Rol of the Slow Inward Current During the Frog Atrial Action Potential. Pflugers Arch. 308: 91-110; 1969.
- 149 ROUGIER O., VASSORT G. y STAMPFLI R. Voltage Clamp Experiments on Frog Heart Muscle Fibres with the Sucrose Gap Technique. Pflugers Arch. 301: 91-108; 1968.
- 150 RUMBERGER E. y REICHEL H. The Force-Frequency Relationship: a comparative study between warm and cold-blooded animals. Pflugers Arch. 332: 206-217; 1972.
- 151 SANDS S. y WINEGRAD S. Treppe and Total Calcium Content of the Frog Ventricle. Am. J. Physiol. 218: 908-910; 1970.
- 152 SARNOFF S., BRAUNWALD E., WELCH G., CASE R., STAINSBY W. y MACRUZ. Hemodynamic Determinants of Oxygen Consumption of the Heart with special reference to Tension-Time Index. Am. J. Physiol. 192: 148-156; 1958.
- 153 SARNOFF S., MITCHELL J., GILMORE J. y REMENSNYDER P. Homeometric Autoregulation in the Heart. Circulation Res. 8: 1077-1084; 1960.
- 154 SCHWARTZ A. Regulation of Calcium in Cardiac Muscle. Anals New York Ac. Sc. 397: 117-126; 1982.
- 155 SIEGEL J. y SONNENBLICK E. Isometric Time-Tension Relationship as an Index of Myocardial Contractility. Circulation Res. 12: 597-610; 1963.
- 156 SIMONS J. The Blood Pressure and the Pressure Pulses in the Atrial Arches of the Frog (*Rana temporaria*) and the Toad (*Bufo bufo*). J. Physiol. 137: 12-21; 1957.
- 157 SINGH I. Electrical and Mechanical Activity of Frog's Heart in Electrolyte-Free Solutions. Am. J. Physiol. 203: 422-431; 1962.
- 158 SOMMER J. y JOHNSON E. A comparative Structural study with special reference to Frog and Chicken Hearts. Z. Zell Forsch. 98: 437-468; 1969.
- 159 SONNENBLICK E. Force-Velocity Relations in Mammalian Heart Muscle. Am. J. Physiol. 202: 931-939; 1962.
- 160 SONNENBLICK E. Implications of Muscle Mechanics in the Heart. Fed. Proc. 21: 975-993; 1962.
- 161 SONNENBLICK E., SPIRO D. y SPOTNITZ H. The Structural Basis of Starling's Law of the Heart. The role of the Sarcomere Length in determining Ventricular Size and Volume. Am. Heart J. 68: 336-349; 1963.
- 162 SONNENBLICK E. Determinants of Active State in Heart Muscle: Force-Velocity-Instantaneous Muscle Length-Time. Fed. Proc. 24: 1396-1409; 1965.

- 163 SONNENBLICK E., ROSS J., COVELL J., KAISER J. y BRAUNWALD E. Velocity of
 --- Contraction as Determinant of Myocardial Consumption. *Am. J. Physiol.*
 209: 919-927; 1965.
- 164 SONNENBLICK E., ROSS J., COVELL J. y BRAUNWALD E. Alterations in Resting
 --- Length-Tension Relations of Cardiac Muscle induced by Changes in Con-
 tractile Force. *Circulation Res.* 29: 980-988; 1966.
- 165 SPERELAKIS N. AMpC and Phosphorilation in Regulation of Ca^{++} influx into
 --- Myocardial Cells and Blockade by Calcium. *Am. Heart J.* 107: 347-357;
 1984.
- 166 STALEY N. y BENSON E. The Ultrastructure of Frog Ventricular Cardiac
 --- Muscle and its Relationship to Mechanisms of Excitation-Contraction
 Coupling. *J. Cell Biol.* 38: 99-114; 1968.
- 167 STAUCH M. Elektromechanische Beziehungen am isolierten Froschherzen.
 --- *Archiv für Kreislauf* 49: 1-14; 1966.
- 168 STAMPFELI R. A new method for measuring Membrane Potentials with External
 --- Electrodes. *Experientia* 10: 508-509; 1954.
- 169 STEIN R. y PARMIGGIANI F. Non-Linear Summation of Contractions in Cat
 --- Muscles (I): Early Depression. *J. Gen. Physiol.* 78: 277-293; 1981.
- 170 STEWART C. Graphic Analysis of Frog Heart Tracings.
 --- *J. Physiol.* 77: 15-26; 1933.
- 171 SUGA H. Left Ventricular Time-Varying Pressure Volume Ratio on Systole
 --- as an Index of Myocardial Inotropism. *Jap. Heart J.* 12: 153-160; 1971.
- 172 SUGA H. y SAGAWA K. End-Diastolic and End-Systolic Ventricular Volume
 --- Clamper for Isolated Canine Heart. *Am. J. Physiol.* 233: H718-H722;
 1977.
- 173 SZENT-GIÖRGYI A. Chemical Physiology of Contraction in Body and Heart
 --- Muscle. (New York): Academic Press; 1953.
- 174 TARR M. y TRANK J. Preparation of Isolated Single Cardiac Cells from
 --- Frog Atrial Tissue. *Experientia* 32: 338-339; 1976.
- 175 TARR M., TRANK J. y LEIFFER P. Characteristics of Sarcomere Shortening
 --- in Single Frog Atrial Cardiac Cells During Light Loaded Contractions.
Circulation Res. 48: 189-200; 1981.
- 176 TARR M., TRANK K., LEIFFER P. y SHEPPERD D. Evidence that the Velocity
 --- of Sarcomere Shortening in Single Frog Atrial Cardiac Cells is Load
 Dependent. *Circulation Res.* 48: 200-206; 1981.
- 177 TRAUTWEIN W. y ZINK K. Über Membran und Aktionspotentiale einzelner Myo-
 --- kardfasern des Kalt- und Warmbluterherzens. *Pflügers Arch. ges.*
Physiol. 256: 68-75; 1952.
- 178 TRENDELENBURG U. y LULLMAN H. Über die messung des "active state" an
 --- herzmuskel des frosches. *Biochim. biophys. Acta* 29: 13-20; 1958.
- 179 TRITHART H., KAUFMAN R., VOLKMER H., BAYER R. y KRAUSE H. Calcium Move-

- ment Controlling Myocardial Contractility (I): Voltage Current Time
Dependence of Mechanical Activity under Voltage Clamp Condition.
Pflugers Arch. 338: 207-231; 1973.
- 180 VAN DER KLOOT W. y DANE B. Conduction of the Action Potential in the
--- Frog Ventricle. Science 146: 74-75; 1964.
- 181 WALLER A. D. On the Electromotive Changes Connected with the Beat of the
--- Mammalian Heart and of the Human Heart in particular. Phil. Trans.
B 180: 169-181; 1889.
- 182 WALLINGA DE JONGE W., BOOM H., HEIJINK R. y VAN DER VLIET G. Calcium mo-
--- del for Mammalian Skeletal Muscle. Med. Biol. Eng. Comp. 19: 734-748;
1981.
- 183 WEIDMANN S. Effect of Current Flow on the Membrane Potential of Cardiac
--- Muscle. J. Physiol. 113: 227-236; 1951.
- 184 WEIDMANN S. The Electrical Constants of Purkinje Fibres. J. Physiol.
--- 118: 348-360; 1952.
- 185 WEIDMANN S. The Effect of the Cardiac Membrane Potential on the Rapid
--- Availability of the Sodium-carrying Systems. J. Physiol. 127: 213-
224; 1955.
- 186 WEIDMANN S. Shortening of the Cardiac Action Potential due to a Brief
--- Injection of KCl Following the Onset of Activity. J. Physiol. 132:
157-163; 1957.
- 187 WEIDMANN S. Effect of Increasing the Calcium Concentration During a Sin-
--- gle Heart Beat. Experientia 13: 128-129; 1959.
- 188 WHALEN W., RIEHMAN N. y ERCKSON R. Nature of the Potentiating Substance
--- in Cardiac Muscle. Am. J. Physiol. 194: 573-580; 1958.
- 189 WILDBRANDT W. y KOLLER H. Die Calcium-wirkung am froscherzen als
--- funktion des ionengleichge wiechts zwischen Zellmembran und ungebung.
Helv. Physiol. Pharm. Acta 6: 208-221; 1948.
- 190 WILDE W., O'BRIEN O. y BAY I. Time Relation Between Potassium Outflux
--- at Action Potential and Contraction Phase of Heart Muscle as Revealed
by Efflugram. Proc. Int. Conf. Peace. Uses Atom. Energ. 12: 318-326; 1956.
- 191 WINEGRAD S. Studies of Cardiac Muscle with a High Permeability to Cal-
--- cium Produced by Treatment with Ethyldiaminetetracetic Acid. J. Gen.
Physiol. 58: 71-93; 1971.
- 192 WINEGRAD S. Resting Sarcomere Length-Tension Relation in Living Frog
--- Heart. J. Gen. Physiol. 64: 343-355; 1974.
- 193 WOLLENBERGER A. The Role of Cyclic AMP in the Adrenergic Control of
--- the Heart. in "Contraction and Relaxation in the Myocardium" pp 113-
160 W. G. Nayler ed. (New York). Academic Press; 1975.
- 194 WOODBURY L., HECHT H. y CHRISTOPHERSON A. Membrane Resting and Action
--- Potentials of Single Cardiac Muscle Fibers of the Frog Ventricle.
Am. J. Physiol. 164: 307-321; 1951.

- 195 WOODBURY L. y KIRK D. Cellular Electrophysiology of the Heart.
 --- en "Handbook of Physiology" Sec. 2 Vol. 1, (Washington) Am. Soc.
 Physiol. Sc.; 1962.
- 196 WOOD E., HEPNER R. y WEIDMANN S. Inotropic Effects of Electric Currents.
 --- Circulation Res. 24: 409-445; 1969.
- 197 WOODS R. A Few Applications of a Physical Theorem to Membranes in the
 --- Human Body in a State of Tension. J. Anat. Physiol. 26: 302-340; 1892.
- 198 WOODWORTH R. S. Maximal Contraction, "Staircase", Refractory Period and
 --- Compensatory Pause of the Heart. Am. J. Physiol. 8: 213-249; 1902.
- 199 YAMADA K. y TANAKURA M. Post-Contractile Phosphocreatine Splitting in
 --- Muscle as Revealed by P-NMR time-resolved. Jap. J. Physiol. 33: 909-
 919; 1983.

=====

REFERENCIAS ADICIONALES

- 200 GARCIA RUIZ J. y GARCIA MOREIRA C. Análisis del Efecto de la Cafeína
 sobre la Memoria Inotrópica del Miocardio de Rana. I Congr. Nac.
 Farmacol. (Tampico) 42; 1977.
- 201 GOTO M, TSUDA Y, YATANI A y SAITO M. Effects of Low Temperature on
 the Membrane Currents and Tension Components of Bullfrog Atrial
 Muscle. Jap. J. Physiol. 28: 211-224 (1978).