

T
612.171
M385c
1967
F. Med.

081422

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR $\Sigma \Delta - 3$

FACULTAD DE MEDICINA

CONTRIBUCION AL ESTUDIO
ELECTROFISIOLOGICO DE LA
ACTIVIDAD CARDIACA

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR

FREDY EDMUNDO MARTINEZ JAIME

PREVIA A LA OPCION DEL TITULO DE

DOCTOR EN MEDICINA



JULIO DE 1967

378-7284
UES-T.M
M.S.C
1967

ES-3-13429

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR



DR. ANGEL GOCHEZ MARIN

SECRETARIO

DR. GUSTAVO ADOLFO NOYOLA

FACULTAD DE MEDICINA

DECANO

DRA. MARIA ISABEL RODRIGUEZ

SECRETARIO

DR. TITO CHANG PEÑA

JURADOS QUE PRACTICARON
LOS EXAMENES PRIVADOS DE DOCTORAMIENTO

CLINICA OBSTETRICA

Presidente: Dr. Antonio Lazo Guerra
Primer Vocal: Dr. Tomás Mariano Cáceres
Segundo Vocal: Dr. Jorge Alberto Escobar

CLINICA MEDICA

Presidente: Dr. Juan José Fernández h.
Primer Vocal: Dr. Donaldo Moreno Bulnes
Segundo Vocal: Dr. Fernando Villalobos

CLINICA QUIRURGICA

Presidente: Dr. Salvador Infante Díaz
Primer Vocal: Dr. Manuel Morán h.
Segundo Vocal: Dr. Mario Reni Roldán

DOCTORAMIENTO PUBLICO

PRESIDENTE

DRA. MARIA ISABEL RODRIGUEZ

PRIMER VOCAL

DR. JOSE RICARDO MARTINEZ

SEGUNDO VOCAL

DR. RAFAEL ANTONIO CEDILLOS

D E D I C A T O R I A

A M I S P A D R E S

A M I S M A E S T R O S

AGRADECIMIENTOS

A mi Maestra Doctora MARIA ISABEL RODRIGUEZ

Al Personal del Departamento de Fisiología y Farmacología
de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Salva-
dor, y en especial al Ingeniero GERARDO SOULA, por su
asistencia técnica.

CONTENIDO

- I INTRODUCCION
- II MATERIAL Y METODOS
- III RESULTADOS
- IV DISCUSION Y CONCLUSIONES
- V RESUMEN
- VI BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

El estudio del mecanismo que desencadena y mantiene la función cardíaca ha constituido por mucho tiempo un interesante campo de investigación.

Durante varios siglos se asoció el funcionamiento de este órgano con el origen de la vida. Las hipótesis emitidas al respecto por los primeros investigadores estaban influenciadas lógicamente del dogmatismo de la época.

Una progresiva y fructífera disminución de tal influencia es evidente como producto del desarrollo de la investigación y del método científico, a través del desarrollo histórico.

Por considerar la evolución de los conocimientos sobre este campo y particularmente sobre el fenómeno eléctrico cardíaco, como un modelo del desarrollo histórico del conocimiento científico, me pareció conveniente introducir el presente trabajo con una somera revisión de los acontecimientos sobresalientes.

Partiendo de los antiguos griegos, encontramos a Galeno, quien expresó una teoría según la cual consideraba el corazón como un reservorio al que llegaba la sangre que se había formado en el hígado a partir de los productos alimenticios obtenidos en el intestino y conducidos a éste por la vena porta; del hígado la sangre pasaba al ventrículo derecho, desde donde era distribuida a todo el organismo y también a los pulmones, sitio donde se impregnaba del principio vital, "el pneuma" introducido a los pulmones durante la respiración y se liberaba de las impurezas, que a su vez eran expulsadas durante la expiración.

Consideraba que la sangre de los ventrículos se mezclaba por medio de poros diminutos é invisibles localizados en el septum interventricular y que la sangre que llegaba al cerebro se impregnaba de "espíritu animal", siendo después transportada por los nervios, que él suponía huecos durante la vida, a todo el cuerpo, dando a éste sensación y movimiento.

Galeno reconoció que las arterias contenían sangre y no aire. Además postulaba que la sangre estaba en movimiento, pero no tenía idea que circulaba, explicando los movimientos del corazón por un continuo flujo y reflujo de sangre.

Sus ideas tenían tanta autoridad que permanecieron por mucho tiempo como verdades, llegando aún algunos de sus seguidores a decir que posiblemente el cuerpo humano había sufrido modificaciones desde el tiempo de Galeno, cuando en las disecciones se encontraba alguna estructura anatómica que no correspondía a lo descrito por él. Guthrie (44).

Otro renombrado médico y anatomista, Andrés Vesalio, en su "De Humanis Corporis Fabrica", publicada por segunda vez en 1555, sostiene que los poros interventriculares propuestos por Galeno no existen y por lo tanto la sangre de los ventrículos no se mezcla a través del septum. Parece originarse aquí la oposición a las teorías aceptadas por tanto tiempo, e iniciarse el aporte de conocimientos fundamentales que ayudaron a Harvey, posteriormente, en la elaboración de su teoría sobre la circulación. (44)

Miguel de Servet, pagó con su vida el importante descubrimiento de la circulación menor, descrito en su obra "Restitutio Christianismi", publicada en 1553, en la que decía: "La sangre es conducida de la arteria pulmonar a la vena pulmonar por un largo camino a través de los pulmones, en el curso del cual se vuelve de un color encendido y es liberada de vapores fuliginosos durante la expiración". Acusado de herejía por Calvino, fué quemado vivo junto con su obra, de la cual se conservan sólo tres ejemplares. En su descripción Servet aún no hace uso del término circulación. Guthrie, (44).

En 1559 Realdus Columbus, sucesor de Vesalio en Padua, en su libro "De Re Anatómica", ofrece la demostración experimental de que la sangre pasa de la vena arteriosa a los pulmones y de allí por la arteria venosa al ventrículo izquierdo; aparentemente él no sabía de la descripción hecha seis años antes por Servet. (44)

En el siglo XVII el mundo vivió una época de gran actividad científica que afectó todos los campos del saber humano, se destacan en ella hombres como Descartes y también como Bacon, quienes conceden mayor importancia a un experimento que a un argumento y sostienen que la verdad no se deriva de la autoridad sino de la experiencia. Guthrie (44).

Durante esta corriente científica renacentista, aparece William Harvey, quien a partir de su extenso trabajo de disección, tanto del cuerpo humano como de las especies más variadas, dió a luz su famoso descubrimiento de la circulación de la sangre, en el cual describió al corazón como el órgano responsable de impulsar la sangre y mantenerla en circula-

ción a través del cuerpo. Aunque estos descubrimientos fueron publicados en su "Exercitatio Anatómica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus" en el año 1628 (45), ya los había expuesto en sus conferencias semanales desde 1616. Este descubrimiento fué completado con la descripción de los capilares sanguíneos por Malphigi, hecho en el cual desempeñó un papel decisivo el desarrollo del microscopio por Antonj van Leeuwenhoek. [Leake (76).]

En 1856, Kölliker y Müller (74) introducen el concepto de fenómeno eléctrico asociado al fenómeno cardíaco. Ellos observaron que al colocar el nervio ciático de una rana sobre el corazón del mismo o de otro animal, cada contracción del corazón era seguida de una contracción del músculo inervado, lo cual fué interpretado como una estimulación del nervio por una corriente eléctrica producida durante la contracción cardíaca.

Una vez reconocida la actividad eléctrica que acompañaba a cada sístole, surgió la controversia entre los partidarios de dos teorías: 1) la teoría neurogenista, apoyada en la descripción hecha por Ludwig, Remak y Bidder de los ganglios nerviosos que llevan sus nombres, y que a juicio de ellos eran los responsables de la iniciación y propagación del impulso cardíaco. 2) La teoría miogenista, que le concedía a las células miocárdicas la capacidad de iniciar y propagar dicho impulso.

Stannius en 1852 (119) ideó la colocación de las ligaduras que llevan su nombre, experiencia que ayudó a Gaskell (42) en su interesante serie de trabajos experimentales a rebatir la teoría neurogenista.

La utilización del electrómetro capilar de Lippmann por Burdon-Sanderson & Page (10, 11) y el descubrimiento posterior del galvanómetro de cuerda por Einthoven, hizo posible el estudio de la actividad eléctrica del corazón. La contribución de Einthoven dió además nacimiento a la Electrocardiografía, método diagnóstico de gran utilidad clínica.

A partir de entonces, la electrofisiología cardíaca se enriquece con las contribuciones de Gaskell (42), Burdon Sanderson & Page, (10, 11) Erlanger (31, 32), Lewis (79), Eyster & Meek (33, 84, 116), Hering, Einthoven, Wilson, Wiggers y otros.

No se puede pasar por alto la importante contribución de los anatomistas Keith,

Flack, Aschoff, Tawara, His, Purkinje, con el descubrimiento de los sistemas especializados de conducción. (33)

Como resultado de la incesante investigación, se llegó a precisar las vías que sigue el impulso cardíaco, el cual, originándose en el nodo sinusal, activa las aurículas, y a través del nodo aurículo-ventricular, donde sufre un retardo, alcanza el sistema descrito por His y Purkinje que lo distribuye a los ventrículos, desencadenando su actividad. [Eyster & Meek (23), Erlanger (31,32), Lewis (79).]

Lewis en 1925 (79), en su libro "The Mechanism and Graphic Registration of the Heart Beat", expone y analiza en forma admirable el proceso de activación del corazón, el electrocardiograma normal y un buen número de arritmias cardíacas. Este mismo autor, por medio de un ingenioso sistema, midió la velocidad de conducción del tejido auricular y el retraso de la onda de contracción en relación con el fenómeno eléctrico, encontrando un valor de 0.02 seg., en el retraso mencionado.

El mismo Lewis analiza el electrocardiograma de acuerdo a la teoría de la membrana propuesta por Bernstein en 1920 (6), en la cual ya se concede importancia a las diferencias iónicas entre el interior y el exterior de la célula, como determinantes de las alteraciones eléctricas que ocurren en las células excitables.

El avance de la electrónica trajo consigo el desarrollo de nuevos y mejores sistemas de registro. Aparece el osciloscopio de rayos catódicos, instrumento que hizo posible medir con mayor exactitud y observar fenómenos eléctricos tan rápidos como el potencial de acción del nervio.

La relativa lentitud del fenómeno eléctrico cardíaco, propiedad que lo hacía útil para el estudio electrofisiológico, perdió terreno con la aparición del osciloscopio. Fue entonces que se pudo estudiar con detalle el potencial de acción del nervio y muchas de sus propiedades fundamentales. [Hodgkin (48,49,50,51,52,53,54,55 y 56).]

Los experimentos en axones gigantes de calamar, llevaron a Cole & Curtis (15,28) y a Hodgkin & Huxley (52,53,54,55 y 56) a establecer las bases que permitieron a estos últimos formular la teoría sobre la relación de las diferentes concentraciones iónicas y

las diferencias de potencial entre el interior y el exterior de la célula. También pudo demostrarse que la permeabilidad temporal y selectiva de la membrana celular, facilita o dificulta los desplazamientos iónicos, que a su vez causan las alteraciones de potencial que experimentan las células excitables.

Los resultados obtenidos en las células nerviosas contribuyeron a explicar con más precisión algunas propiedades de las células cardíacas.

Las características del potencial de acción cardíaco se estudiaron inicialmente con registros obtenidos entre tejido sano y tejido lesionado (34, 79), y más tarde con la ayuda de los electrodos de succión (63) y con microelectrodos intracelulares, desarrollados por Ling (80), con los cuales se puede perforar la membrana celular sin afectar prácticamente sus propiedades y medir las diferencias de potencial entre el interior y el exterior de la célula.

Weidmann (30, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135 y 136), Coraboeuf (16, 17, 18, 19, 20 y 25), Hoffman (57, 58, 61, 62, 63, 64 y 65), Woodbury (8, 140, 142), desarrollaron y perfeccionaron la técnica del registro intracelular, sentando así las bases de la nueva electrofisiología cardíaca a nivel celular.

Gracias a los resultados obtenidos por estos autores, se conocieron las características de los potenciales de acción de las distintas células cardíacas, así como las modificaciones causadas por la alteración de las concentraciones electrolíticas extracelulares, la acción de agentes farmacológicos (77), la aplicación de corrientes eléctricas (22, 25, 122), También pudo demostrarse la validez de las teorías de Hodgkin en las células miocárdicas (30).

Los registros extracelulares permitieron estudiar la secuencia de activación ventricular (100, 101, 111, 112, 118), pero el estudio del sistema de conducción presentó mayor dificultad, pues la localización anatómica de estos tejidos los hace difícilmente accesibles. Sin embargo, inicialmente Roseblueth (107, 108), Kraycer, Mandoki y Méndez (75), Moe y col. (85), utilizando registros epicárdicos, pudieron investigar indirectamente

tamente este sistema. Posteriormente, Scher, Rodríguez, Liikane y Young (103,113, 114,115), Pruitt y Essex (97), obtuvieron registros extracelulares directamente del nodo A-V. Van der Kooi y Durrer (123), obtuvieron potenciales extracelulares que al parecer corresponden al nodo sinusal. Alanis, González y López (2), hicieron registros extracelulares directos del tronco del haz de His.

Por último, con registros intracelulares, Weidmann (129,130,131,132,134, 135), Hoffman (62,63,64,65), Paes de Carvalho (91,92,94,96), Sano y Tasaki y Shimamoto (137,138), Hutter y Trautwein (67), del Castillo y Katz (29), Alanís y Benítez (1), han obtenido información adecuada de los tejidos especializados y sus diferencias con el resto de las células cardíacas, llegando a explicar ciertos fenómenos que habían originado gran controversia.

Las características de los potenciales de acción normales obtenidos en preparaciones de tejidos aislados y perfundidos han sido confirmados en preparaciones in-situ, por medio de los "microelectrodos flotantes" desarrollados por Woodbury (142).

El registro con microelectrodos intracelulares

Cuando un microelectrodo atraviesa la membrana celular, se registra una diferencia de potencial entre el interior y el exterior de la célula del orden de los 90 milivoltios (mV.), siendo negativo el interior. Esta diferencia de potencial, de acuerdo con las teorías de Hodgkin, corresponde al potencial de equilibrio del ion K^+ , al cual la membrana es altamente permeable durante el reposo. Se conoce este valor, como potencial de reposo o potencial de membrana (E_m).

Sabemos que cuando dos soluciones electrolíticas de distinta concentración están separadas por una membrana semipermeable, se ponen en juego dos fuerzas principales que tienden a desplazar los iones a través de la membrana: 1o. la presión osmótica, que está relacionada al gradiente de concentración, y 2o. la carga eléctrica de los solutos. En determinadas condiciones, como en el equilibrio del tipo Gibbs-Donnan, en el que existe un ión no difusible, la distribución final de los iones alcanza un equilibrio dinámico que mantiene diferentes concentraciones en los compartimientos separados por la membrana.

Si en ese momento se coloca un aparato de registro entre ambos compartimientos, se puede medir una diferencia de potencial, que es generado por la desigual distribución de las partículas cargadas eléctricamente. Esta diferencia de potencial se denomina potencial electroquímico.

El equilibrio iónico de una sustancia se alcanza cuando su potencial electroquímico es igual al potencial de membrana (109). En otras palabras cuando $E_m = E_{ion}$. (E_{ion} = potencial generado por el ión en cuestión). Este valor puede ser calculado por medio de la ecuación de Nernst:

$$E_{ion} = \frac{R}{Z} \frac{T}{F} \log_e \frac{[ion]_{extracelular}}{[ion]_{intracelular}}$$

donde E_{ion} = potencial electroquímico del ión, R = constante general de los gases, T = temperatura absoluta, Z_n = valencia del ión, F = constante de Faraday, $[ion]$ = concentración del ión. Para el K^+ se puede escribir:

$$E_K = \frac{R}{Z_K} \frac{T}{F} \log_e \frac{[K^+]_{ext.}}{[K^+]_{int.}}$$

Sustituyendo valores a $37^\circ C$ y desarrollando la fórmula con logaritmos de base 10 para facilidad de cálculo, tendremos:

$$E_K = 61 \cdot \log_{10} \frac{[K^+]_{ext.}}{[K^+]_{int.}}$$

$$E_K = 61 \cdot \log_{10} \frac{4 \text{ mEq/L.}}{155 \text{ mEq/L.}}$$

$$E_K = -97 \text{ mV.}$$

El valor teórico calculado de -97 mV (milivoltios), es cercano al valor obtenido por métodos experimentales, explicándose las pequeñas diferencias por el trabajo activo de la membrana celular, ya que los cálculos de la ecuación se aplican a un sistema pasivo.

Cuando la célula es activada, la permeabilidad al sodio sufre un gran incremento. El valor del potencial de membrana tiende entonces a igualarse con el potencial de equi-

librio para el ión Na.

Si calculamos este valor de la manera descrita anteriormente, obtenemos un valor teórico de $+66$ mV., siendo el interior positivo con respecto al exterior, lo que se refleja en el potencial de acción cuando éste sobrepasa el nivel de potencial cero, desplazamiento habitualmente conocido como "overshoot".

El registro intracelular de la célula cardíaca presenta particularidades especiales, tal como se muestra en el esquema. (Figura 1).

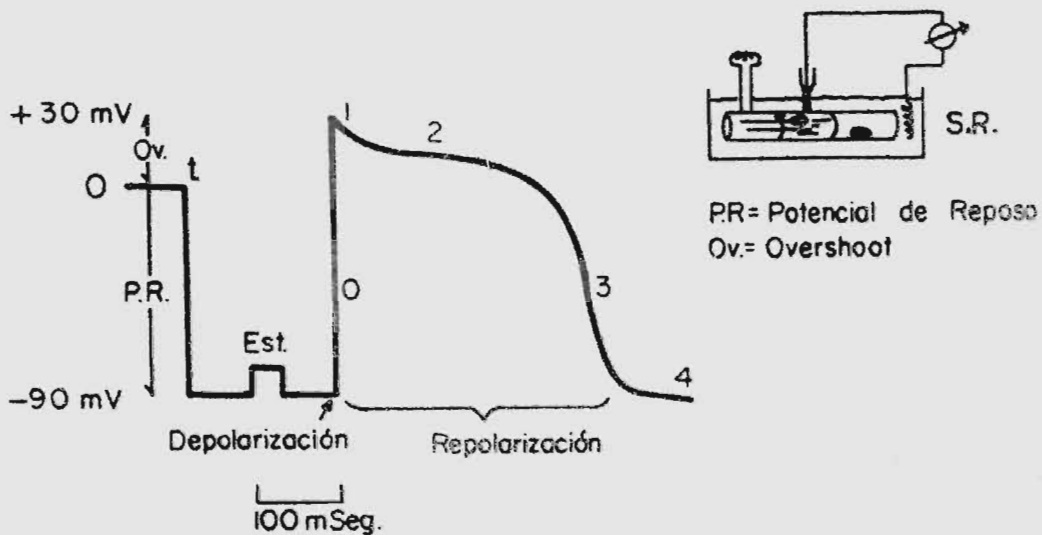


Figura 1 - Potencial de acción de una célula ventricular con sus diferentes fases.

S. R. : esquema del sistema de registro. Explicación en el texto.

La diferencia de potencial entre un punto cualquiera del medio extracelular y un microelectrodo colocado fuera de la célula es cero, pero en el momento que el microelectrodo traspasa la membrana celular (t) se registra una diferencia de potencial, siendo negativo el interior; tal diferencia es lo que se conoce como potencial de reposo. Si aplicamos un estímulo eléctrico (Est) de magnitud suficiente, provocamos una alteración de este potencial de reposo, que llegado a cierto nivel, conocido como umbral, condiciona un aumento pasajero de la permeabilidad de la membrana al ión Na, el cual penetra a la

célula produciendo un cambio de potencial que vuelve positivo el interior de ésta, regresando después en una secuencia determinada a su potencial de reposo. La primera fase conocida como depolarización, de acuerdo con la denominación propuesta por Weidmann (30), constituye la fase cero del potencial de acción. La recuperación del potencial de reposo se conoce como repolarización, y en la célula cardíaca ventricular y en las fibras de Purkinje presenta tres fases: fase 1 ó repolarización rápida inicial, fase 2 ó repolarización lenta llamada también meseta, y fase 3 ó repolarización rápida final. El potencial de reposo o fase 4 es estable en las células ventriculares y auriculares. En algunas células cardíacas la magnitud de este potencial disminuye progresivamente y llegado a cierto nivel, que se conoce como potencial umbral, produce un aumento de la permeabilidad al Na que desencadena la serie de fenómenos explicados anteriormente como depolarización y repolarización. Esta propiedad les confiere a estas células capacidad automática y se describen usualmente como células con actividad de marcapaso, ya que en un determinado momento pueden asumir esta función.

Las distintas células del tejido cardíaco presentan variaciones del esquema general como se muestra en la figura 2.

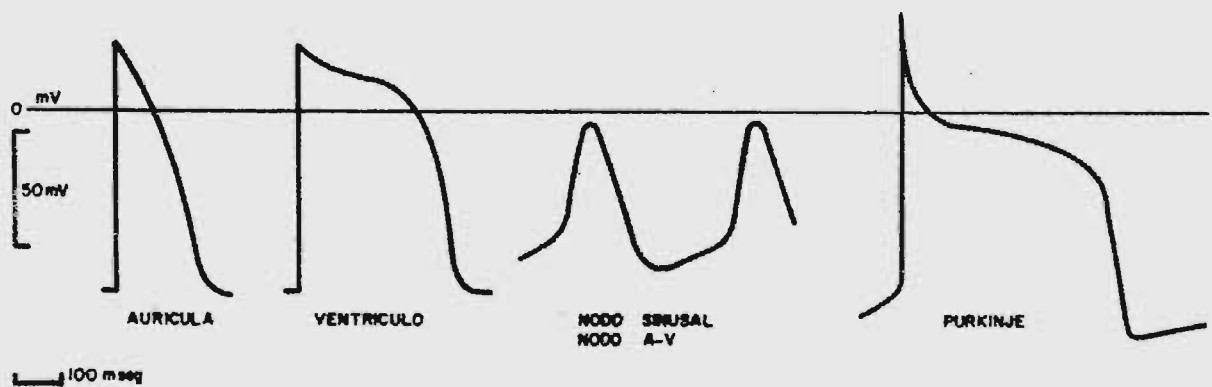


Figura 2 - Representación esquemática de la morfología de los potenciales de acción de las distintas células cardíacas. Nótese que los potenciales de las células del sistema especializado de conducción, presentan depolarización diastólica (Nodo sinusal, Nodo A-V, Purkinje).

Calibración: 50 milivoltios y 100 milisegundos.

El agunos animales como en la rata y el ratón, Weidmann (132), Hoffman (63), Coraboeuf (16,18,20,21,23), Gargouil (36,37,38,39,40), han encontrado un potencial de acción ventricular sin la meseta antes descrita, y más aún, con una repolarización muy rápida.

En una serie de investigaciones llevadas a cabo por Rodríguez y colaboradores (104), en ratones con miocarditis chagásica experimental, se observó que pese a las importantes alteraciones histológicas, no mostraban cambios significativos en los registros extracelulares. Este hecho despertó nuestro interés por estudiar el problema a nivel celular, lo cual volvió imperativo el desarrollo de la técnica de registros intracelulares.

Este trabajo resume los resultados de la primera fase de la investigación, y en él, además del estudio de las características de los registros intracelulares de las células musculares cardíacas, se realizó la exploración de las células del sistema de conducción, analizando las características de sus potenciales de acción, el período refractario y los tiempos de conducción.

Se prefirió el corazón de la rata como modelo experimental, por razones técnicas.

II - MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas blancas de la cepa Wistar, mantenida en el vivero de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador, cuyo peso oscilaba entre 115 y 230 gms., las cuales eran anestesiadas con éter etílico. Se abría rápidamente el tórax y se extraía el corazón, el cual era colocado inmediatamente en un recipiente con solución de Tyrode a 37° C convenientemente oxigenada. Se comenzaba aquí la primera fase de la preparación, cortando la punta del corazón y eliminando restos de sangre de la pieza; después se trasladaba el corazón al baño de perfusión, que tenía el mismo tipo de solución a una temperatura de 37° C con burbujeo de una mezcla gaseosa $O_2 = 95\% + CO_2 = 5\%$. El flujo de la solución era continuo. La temperatura podía ser variada a voluntad de acuerdo a las necesidades del experimento. Luego se extirpaba una parte de la pared libre del ventrículo izquierdo y se hacía después un corte en la pared libre del ventrículo derecho en sentido ascendente y aproximadamente por su línea media, hasta llegar al surco aurículoventricular, de donde se seguía el corte por el borde de la orejuela derecha, prolongándola lo más cerca posible de la vena cava superior. Fué necesario poner especial cuidado en no tocar la región del tabique interauricular ni ejercer tracción sobre los tejidos, pues de lo contrario la preparación inmediatamente mostraba disociación aurículoventricular. Como etapa final, se cortaba la parte anterior de la pared libre ventricular derecha en dirección al trayecto de salida de la arteria pulmonar.

Una vez finalizada esta operación, la pieza era fijada al fondo de parafina que tenía el baño, por medio de pequeños alfileres de vidrio, de manera que la superficie endocárdica quedara al descubierto.

La figura 3 muestra las fases principales del procedimiento descrito.

La composición del Tyrode era la siguiente:

NaCl	137.0 mM/L.
KCl	2.7 "
CaCl ₂	2.6 "

MgCl ₂ .6 H ₂ O	0.5 mM/L.
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	7.2 "
NaHCO ₃	12.0 "
Dextrosa	5.5 "

Al ser saturada esta solución con una mezcla gaseosa de O₂ = 95% + CO₂ = 5%, equilibra su pH a 7.3 a una temperatura de 37° C.

La presión parcial de Oxígeno y CO₂ de la solución fué controlada en el transcurso de varios experimentos encontrando valores de PO₂ que oscilaron entre 350 y 480 mm de Hg. y de PCO₂ nunca mayores de 20 mm. de Hg.

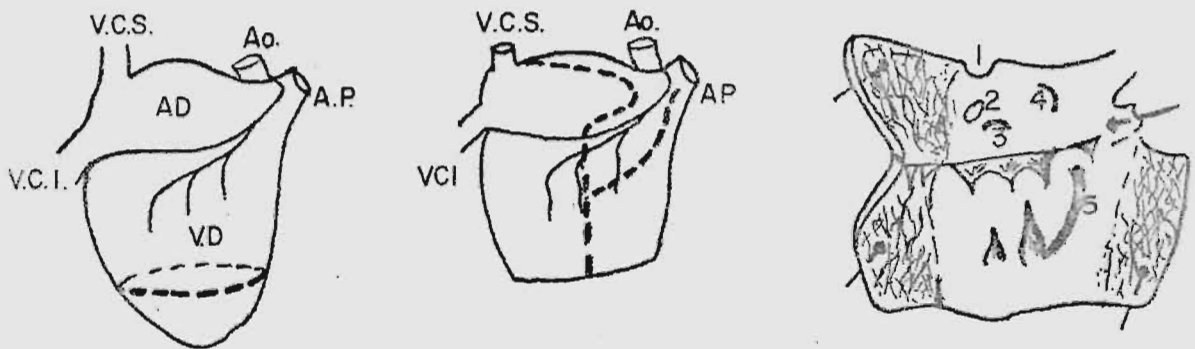


Figura 3 - Esquema de las etapas seguidas en la disección de la preparación (---) Líneas de corte, (V.C.S.) Vena Cava Superior, (V.C.I.) Vena Cava Inferior, (Ao) Aorta, (A.P.) Arteria Pulmonar, (V.D.) Ventrículo Derecho, (A.D.) Aurícula Derecha, 1: V.C.S., 2: V.C.I., 3: Seno Coronario, 4: Fosa Oval, 5: Rama Septal de la arteria coronaria descendente.

La preparación descrita proporciona una exposición adecuada del septum inter-auricular e interventricular, pudiendo así explorarse con relativa facilidad las células del sistema especializado de conducción que tienen una localización subendocárdica.

Cámara de Perfusión.- En la figura 4 puede observarse un esquema de la cámara del baño de perfusión, dividida en dos compartimientos comunicados por dos agujeros en la base de la división. Esto tiene por objeto evitar que las burbujas se desplacen hacia la preparación

y ocasionen problemas, tanto mecánicos por el movimiento que podía sacar un microelectrodo de su lugar, como eléctricos por las alteraciones que tales burbujas producen al estallar. La circulación constante del líquido de perfusión se mantiene por medio de una división del primer compartimiento, la cual mantiene una corriente constante del líquido de perfusión con el desplazamiento que da a la solución el burbujeo, tal como lo indican las flechas del esquema (Figura 4).

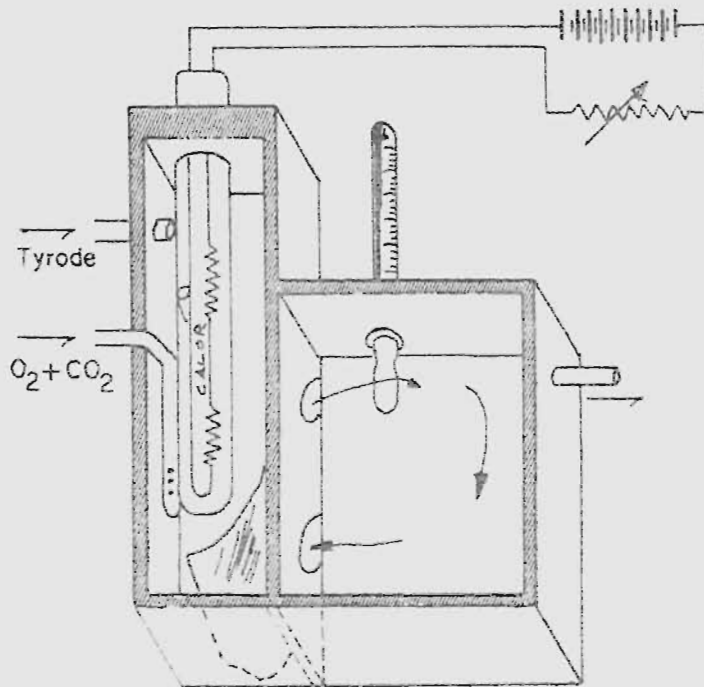


Figura 4 - Cámara de Perfusión para tejidos aislados. Vista superior.

Sistema de Registro Eléctrico. - El registro eléctrico se llevó a cabo con electrodos intra y extracelulares.

Para el registro extracelular se utilizaron electrodos bipolares cercanos (1 mm. distancia), contruidos de alambre de tungsteno de 100 micras de diámetro y aislados con polietileno, dejando libre sólo la punta. Estos electrodos eran sostenidos por un manipulador de cremallera, que permitía colocarlos en cierto lugar, y dejarlos fijos durante el experimento. El sitio usual de colocación fué: 1) a nivel de la pared libre auricular, en el endocardio, y 2) en el septum interventricular, inmediatamente abajo y atrás del músculo papilar anterior. Estos electrodos eran utilizados tanto para regis-

tro como para estímulo.

El registro intracelular se verificó con micropipetas de vidrio del tipo Ling Gerard, las cuales se pueden utilizar para registro eléctrico, ya que al llenarse con KCl 3M se vuelven conductores. El diámetro de la punta de estas micropipetas es alrededor de 0.5 micras, y su resistencia eléctrica entre 15-50 Mega Ohms ($M\Omega$). No se utilizaron las que tenían una resistencia mayor de 50 Mega Ohms, porque en algunas ocasiones fueron examinadas al microscopio y tenían algunas partículas o pequeñísimas burbujas en su interior, lo que ocasionaba problemas de registro, aumentando el nivel de la alterna (60 ciclos) registrada en la línea base y disminuyendo, además, la fidelidad del sistema de amplificación.

El método utilizado para llenar estas micropipetas es el descrito por Caldwell & Downing, 1955 (14), modificado. Este método expone la punta a menos maltrato y generalmente se obtienen microelectrodos más uniformes, ya que éstos no se rompen, tal como sucedía en experiencias iniciales, cuando se llenaban hirviéndolas al vacío. Este sistema, según Gerard (citado por Ware, Bennet y McIntyre (127)), disminuye los problemas de potenciales de unión. En caso de trabajar con células pequeñas es adecuado utilizar micropipetas con un diámetro de punta muy pequeño, para que la selladura de la membrana pinchada sea buena y no haya fuga de electrólitos intracelulares, efecto que se hace visible cuando rápida y progresivamente disminuye el potencial de reposo registrado en una célula con una micropipeta de punta gruesa o quebrada.

Es necesario utilizar un sistema de amplificación que posea una gran resistencia de entrada (12) (72), ya que la resistencia del electrodo utilizado oscila entre 15 y 50 Mega Ohms. Para ello se utilizaron amplificadores de corriente directa con entrada a seguidor catódico que provee una impedancia de entrada de 5.000 Mega Ohms y cuya corriente de reja es 10^{-13} amperios. El aparato utilizado tiene, además, un sistema de retroalimentación a través de un condensador variable, que le dá una compensación para los efectos capacitivos creados por las conexiones de entrada y la conexión de tierra y mejora notablemente la respuesta para las altas frecuencias, Woodbury (141) dando al amplificador una banda de paso de 0-30 kilociclos.

El registro extracelular era hecho a través de preamplificadores con entrada acoplada a condensador-resistencia, cuyas características de respuesta a las distintas frecuencias podían ser cambiadas a voluntad, pero siempre se utilizó con 0.06 c/s para las bajas frecuencias y 20-60 kcs. para las altas.

Se utilizó un osciloscopio de rayos catódicos Tektronix 551, provisto de amplificadores verticales con switch electrónico que proporciona cuatro canales para registro. Las marcas de tiempo provenían de un marcador de tiempo Tektronix 180-A, y eran continuamente registradas en uno de los rayos del osciloscopio.

En varias ocasiones se verificó un registro electrocardiográfico antes de sacrificar el animal para comparar las medidas de PR, QRS, QT con las obtenidas durante la perfusión. Este registro se hizo en un Polígrafo Schwarzer de 6 canales tipo EPS de inscripción directa, con una velocidad máxima de 200 mm/seg. Los estímulos eléctricos utilizados eran proporcionados por un estimulador GRASS modelo S-8, provisto de unidades aisladoras de estímulos. Por medio de un aparato divisor externo, diseñado y construido en el taller del Laboratorio del Departamento de Fisiología, se puede obtener un segundo pulso eléctrico con una frecuencia $\frac{1}{4}$ de la frecuencia basal, que puede ser variado en duración, voltaje y retardo independientemente. Este dispositivo es muy útil para las medidas de período refractario y para las curvas de conducción. La figura 5 muestra un esquema del montaje utilizado:

La conexión del microelectrodo se hizo a través de un alambre de plata o tungsteno, conectado a la reja de la válvula de entrada. Un alambre de plata sumergido en el baño sirve como electrodo indiferente. El líquido del baño es un medio conductor que está en contacto con el líquido extracelular tisular y sus variaciones de potencial son muy bajas (aproximadamente 10^{-4} voltios). Comparado con los cambios de potencial intracelulares, aproximadamente 100 mV. (10^{-1} voltios), el potencial del electrodo indiferente puede ser considerado como cero.

Los registros fueron fotografiados con una cámara Grass modelo C-4 sobre una pe

lícula que se desplazaba continuamente a una velocidad que puede ser variada de acuerdo con las necesidades del registro. En nuestra serie utilizamos usualmente velocidades de 25 y 50 mm x seg.

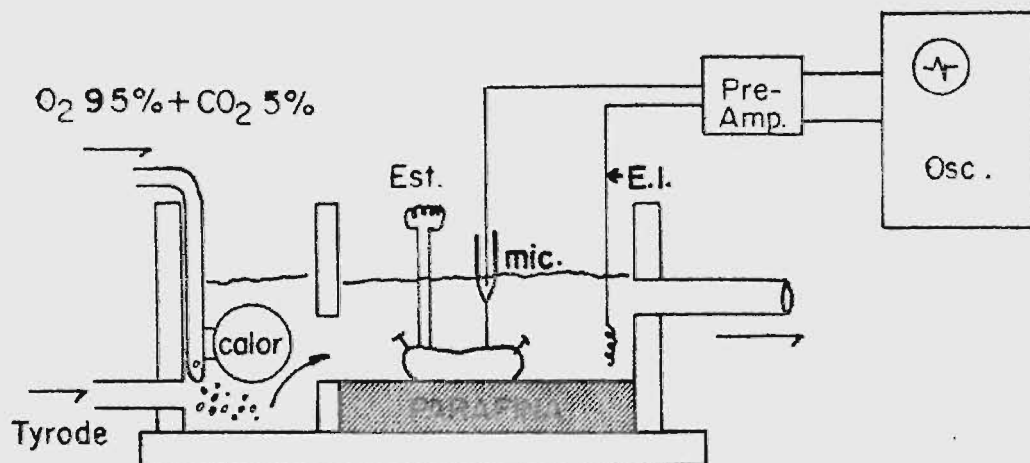


Figura 5 - Esquema del montaje utilizado para los registros intracelulares. Est. = Electrodo de estímulo, mic. = microelectrodo, E.I. = Electrodo Indiferente, PreAmp. = preamplificador de acoplamiento directo (D.C.), Osc. = Osciloscopio de rayos catódicos.

Medidas de los Potenciales de Acción.

Las medidas de los potenciales de reposo, potencial de acción y "overshoot", fueron hechas por comparación con una señal de corriente directa de 50 mV., inyectada a través del sistema de amplificación.

Las marcas de tiempo conectadas continuamente a uno de los canales de registro, permiten mantener un patrón de tiempo que elimina prácticamente los posibles errores debidos a un cambio en la velocidad del desplazamiento de la película fotográfica.

Para las medidas de período refractario se estimuló la preparación por medio de electrodos extracelulares bipolares cercanos, con impulsos eléctricos supraumbrales de frecuencia mayor que la basal, que llamaremos estímulo condicionante (S_1). A través de los mismos electrodos de estímulo se aplicó un segundo estímulo (S_2), o estímulo de prueba, de magnitud cuatro veces umbral, y que descargaba cada 4o. estímulo de la frecuencia de S_1 . Por medio de un circuito de retardo este estímulo podía ser va-

riado libremente en su relación temporal con S_1 .

En los registros se midió el tiempo transcurrido entre la depolarización de la respuesta ocasionada por S_1 y la depolarización de la respuesta más temprana que podía dar S_2 , considerando esta medida como el valor del período refractario funcional (P.R.F.) o período refractario efectivo (P.R.E.) Hoffman (59,60,61). La misma operación se verificó para medir P.R.F. auricular ventricular y del tejido de Purkinje. Para las medidas de velocidad de conducción se colocaron dos microelectrodos en células de la rama derecha del haz de His y se midió el tiempo que transcurría entre las dos respuestas, relacionándolo con la distancia medida entre los dos microelectrodos.

Conducción y Período Refractario del sistema A-V

Para la exploración del sistema de propagación A-V se colocó un microelectrodo en una célula auricular, generalmente cerca de la unión aurícula-nodo, otro en una célula de Purkinje de la rama derecha del haz de His y un registro bipolar cercano extracelular en el septum interventricular.

Con electrodos extracelulares bipolares cercanos colocados en la pared libre de la aurícula, se estimuló la preparación con pulsos eléctricos supraumbrales, de frecuencia creciente, determinando la frecuencia máxima que era capaz de conducir el sistema A-V, de acuerdo al momento en que se produce el bloqueo A-V. Luego se invirtió el sentido de la propagación, cambiando el estímulo al par de electrodos extracelulares ventriculares y teniendo como indicador el registro de los electrodos extracelulares auriculares, determinando así el límite de frecuencia de propagación en la misma forma que para el sentido A-V.

Para estudiar si existía diferencias entre el comportamiento del sistema A-V cuando se usaban estímulos de frecuencia creciente (S_1 S_1) y con extrasístoles tempranos intercalados en una frecuencia basal constante, se determinó el límite crítico de la propagación en ambos sentidos (A-V y V-A) con el mismo dispositivo descrito en el párrafo anterior, pero esta vez aplicando un estímulo S_1 de frecuencia constante mayor que la basal y un

segundo estímulo S_2 de magnitud cuatro veces umbral, que se producía cada cuarto S_1 , con un retardo variable en relación a S_1 . Se determinó así el intervalo más corto entre dos respuestas auriculares que podían ser conducidas al ventrículo y también el tiempo de conducción entre aurícula y ventrículo. Con este sistema también se estudió la propagación en sentido V-A.

En la propagación A-V, se midieron los intervalos entre las respuestas auriculares, las de Purkinje y los del ventrículo, así como los intervalos aurícula-Purkinje y aurícula-ventrículo. En la propagación en el sentido V-A las medidas se relacionaron con el registro extracelular auricular en la misma forma que se hicieron con el extracelular ventricular para el sentido A-V.

Con los datos obtenidos se construyeron curvas de conducción A-V y de período refractario del sistema A-V tanto en la propagación anterógrada (A-V), como retrógrada (V-A), de acuerdo al criterio de Roseblueth (107, 108) Kraye Méndez y Mandoki (75) Moe Preston y Burlington (85), Cabezas, G. A. (13), Rodríguez y Méndez (102).

La figura siguiente ilustra el procedimiento utilizado.

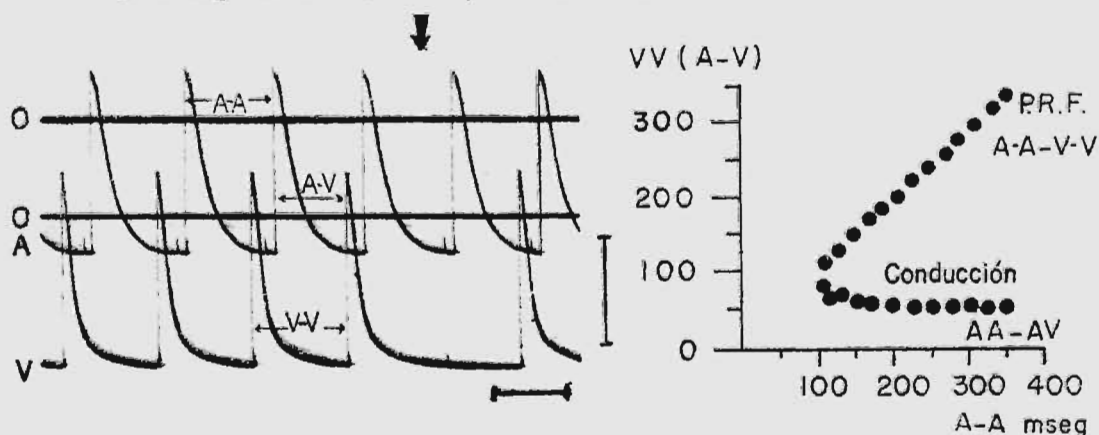


Figura 6 - a-Exploración del sistema de propagación A-V con estimulación auricular de frecuencia creciente progresiva. A = registro auricular, V = registro ventricular, A-A = intervalo entre respuestas auriculares, V-V = intervalo entre respuestas ventriculares, A-V = tiempo de conducción aurículo-ventricular; flecha = bloqueo de la conducción.

- b - Curvas de conducción (cond) y de período refractario funcional (P.R.F.) del sistema de propagación A-V construídas en base a las medidas de los intervalos presentados en a.

RESULTADOS

1 - Exploración auricular

El estudio de la superficie endocárdica auricular mostró tres tipos de potencial de acción. En los tres casos la fase de depolarización es muy rápida y el potencial de reposo similar. La repolarización presenta algunas particularidades que permiten clasificarlas en tres grupos, de los cuales los más frecuentes fueron los del tipo 1 y 2; el tipo 3 fué bastante raro (figura 7).

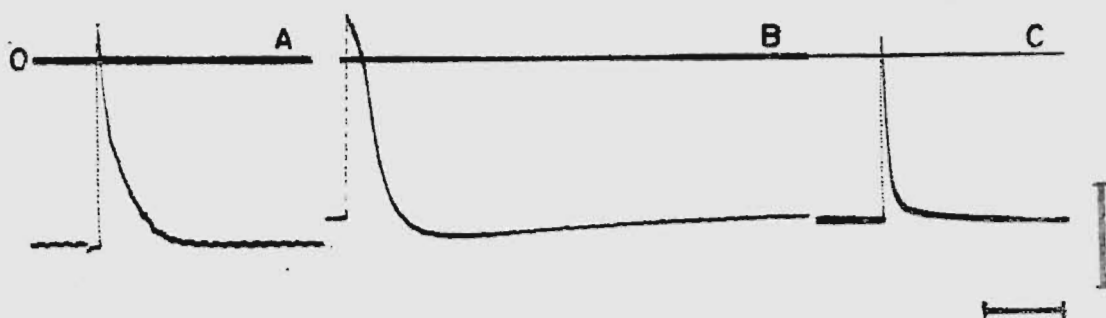


Figura 7 - Potenciales de acción registrados al explorar la superficie subendocárdica del tejido auricular. A = Tipo 1, B = Tipo 2, C = Tipo 3. Nótese que el potencial tipo 2 presenta depolarización diastólica. Calibración 50 milivoltios, 100 milisegundos. Fase de depolarización retocada.

El potencial de reposo fué de 80 ± 6 mV., el potencial de acción de 105 ± 8 mV. La duración del potencial de acción fué de 90 ± 10 milisegundos (mseg) y el período refractario funcional (P.R.F.) de 45 ± 5 mseg. en los registros con morfología 1 y 2. Los registros con morfología tipo 3, presentaron potenciales de reposo y potenciales de acción similares a los del tipo 1 y 2 pero la duración del potencial de acción fué de 60 ± 5 mseg. y el (P.R.F.) de 12 mseg.

Algunas células auriculares mostraron actividad automática, evidenciada por un prepotencial diastólico (Ver figura 7). La morfología del potencial de acción correspondió al tipo 2 descrito anteriormente y el mapeo de la superficie demostró que se agrupaban principalmente en la región anatómica conocida como crista terminalis y en un trayecto descendente localizado en la porción posterior del tabique interauricular. Ocasionalmente se obtuvo este tipo de morfología en la pared libre auricular.

2 - Exploración Ventricular.

En el músculo ventricular se encontró un potencial de acción con una fase de depolarización muy rápida y una repolarización en la que se puede reconocer dos fases principales: repolarización rápida inicial que lleva el potencial de membrana hasta un valor de -60 a -70 mV y que dura entre 20 y 30 mseg., seguido de una fase de repolarización lenta que prolonga el potencial de acción hasta una duración de 100 a 120 mseg. El potencial de reposo varió alrededor de 80 ± 5 mV y el valor del P.R.F. fué de 40 ± 10 mseg. (figura 8).

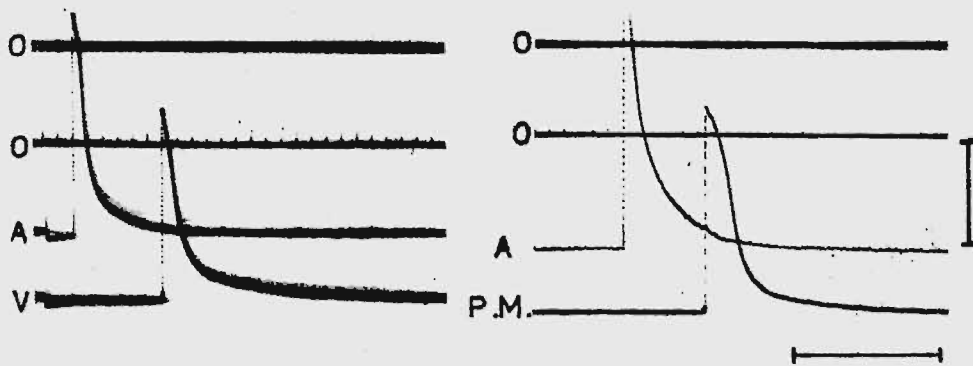


Figura 8 - Potenciales de acción obtenidos del músculo auricular (A) ventricular (V) y de una célula transicional Purkinje-músculo, (P.M.) Como se puede apreciar la fase de repolarización de la célula transicional presenta diferencias apreciables respecto a la célula muscular ventricular. Calibración 50 milivoltios 100 milisegundos.

3 - Sistema especializado de Conducción.

La exploración del sistema especializado de conducción permitió localizar el marcapaso o nodo sinusal, en las vecindades de la vena cava superior. El registro intracelular presentaba una morfología similar a la reportada en el nodo sinusal, en las vecindades de la vena cava superior. El registro intracelular presentaba una morfología similar a la reportada en el nodo sinusal de otras especies. (63, 91, 92, 137, 138). Desafortunadamente, el movimiento de la preparación desalojaba rápidamente el microelectrodo e hizo imposible obtener una fotografía adecuada.

En la parte inferior del tabique interauricular, después de atravesar tres o cuatro capas de células con morfología auricular, se encontraba un pequeño espacio en el que la introducción del microelectrodo no evidenciaba cambios, pero en una zona un poco más profunda se obtuvieron registros que presentaban características especiales:

a) potencial de reposo bajo de 50 a 60 mV., b) depolarización diastólica acentuada, c) fase de depolarización lenta y en ocasiones con muescas, d) ausencia de "overshoot"

En resumen estos hallazgos son similares a los reportados en el nodo aurículo-ventricular en otras especies (26, 62, 63, 64, 65, 89, 92, 93, 94, 95, 96).

El registro de las células en esa zona era muy inestable, especialmente si la resistencia del microelectrodo era menor de 15 Mega Ohms, el potencial disminuía rápidamente y la movilidad de la preparación desalojaba rápidamente el microelectrodo. Se pensó que ésto podía explicarse si las células exploradas tuvieran un diámetro muy pequeño. El estudio histológico de esta zona permitió individualizar el nodo aurículo-ventricular así como su conexión con el tejido auricular y con el tronco del haz de His, observándose que en efecto las células del nodo presentan un diámetro muy pequeño y una disposición irregular.

La exploración cuidadosa de las capas subendocárdicas auriculares permitió localizar el tronco del haz de His en la parte inferior del tabique interauricular cerca del septum membranoso. Las morfologías de los potenciales registrados en este sitio presentaron un potencial de reposo cuyo valor osciló entre 80 y 90 mV., una fase cero muy rápida con "overshoot" y una fase de repolarización con meseta bien individualizada. La fase cuatro presentaba ocasionalmente cierto grado de depolarización diastólica. En las uniones del nodo con la aurícula y el tronco del haz de His se encontraron morfologías con características intermedias entre los potenciales de aurícula y nodo y del nodo con el haz de His respectivamente.

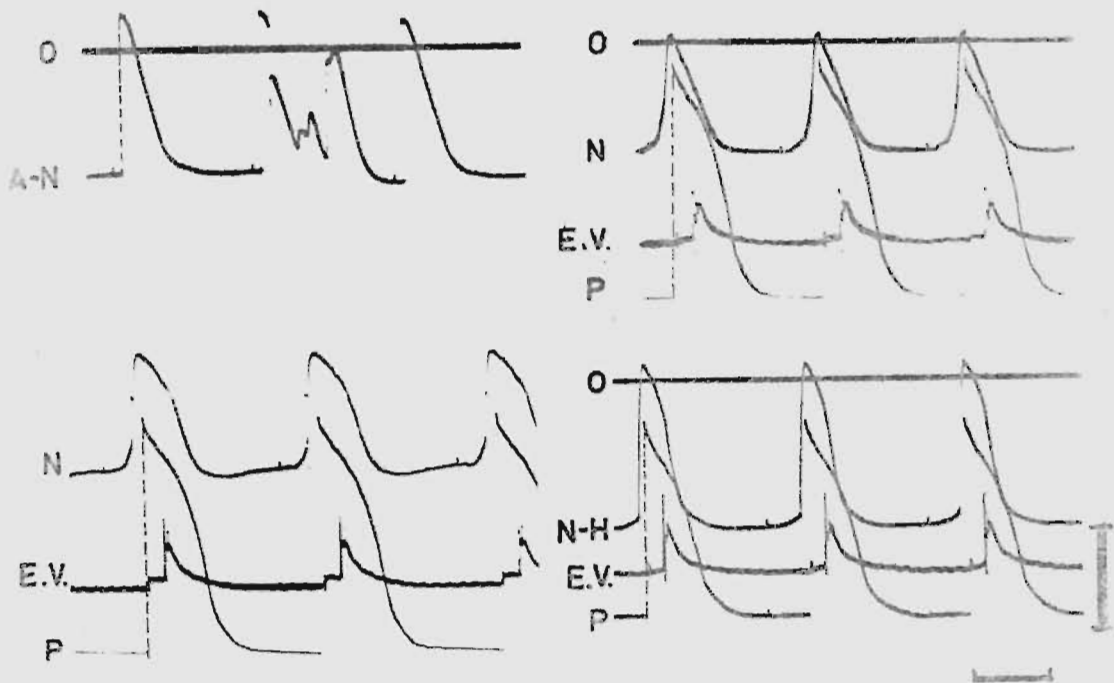


Figura 9 - Potenciales de acción registrados en las zonas de transición aurícula-nodo (A-N) transición nodo-His (N-H) y en diferentes partes del nodo aurículo-ventricular (N). Las respuestas ocasionadas por un estímulo aplicado en los límites del P.R.F. muestran con mayor claridad las diferencias del registro A-N (Compárese con figura II) P = potencial de acción de una célula de Purkinje de la rama derecha, E.V. = registro bipolar cercano extracelular ventricular. Calibración 50 milivoltios y 100 milisegundos. La depolarización de los primeros registros de A y P se ha retocado para mayor claridad.

En el septum interventricular se puede localizar, con ayuda del microscopio el trayecto de la rama derecha del haz de His, y al penetrar una célula, se registra un potencial de reposo mayor que en todas las células descritas anteriormente, cuyo valor es de 90 ± 3 mV., un potencial de acción que tiene una fase cero muy rápida y una repolarización más lenta con una meseta bien definida. La magnitud del potencial de ac -

ción es de 120 ± 3 mV, el "overshoot" de 30 ± 5 mV, la duración de 120 ± 10 y el P.R.F. de 85 ± 5 mseg. Con frecuencias bajas se puede observar una fase de depolarización diastólica.

Una característica notoria del registro intracelular de las células de Purkinje de la rama derecha del haz de His, fué la presencia de una muesca rápida en la meseta del potencial de acción. (Figura 10), la cual es atribuible a depolarización de la célula subyacente, ya que en repetidas ocasiones, al atravesar las células de Purkinje y registrar la célula subyacente, se encontró que la fase cero de esta última, correspondía exactamente al momento en que se producía la muesca del registro de la célula de Purkinje. Figura 10.



Figura 10 - Registro intracelular de una célula de Purkinje de la rama derecha del haz de His (P) y un registro extracelular bipolar cercano del músculo ventricular (E.V.) En el potencial de acción del tejido de Purkinje, se puede apreciar una muesca rápida cuyo origen se discute en el texto. Calibración 50 milivoltios y 100 milisegundos.

También llamó la atención el hecho de que el potencial de la célula muscular subyacente al Purkinje tenía ciertas diferencias en la repolarización con el de las células musculares ventriculares descrito anteriormente, siendo más rápida que la de Purkinje, pero más lenta que la célula ventricular. Al estudiarla en detalle se encontró un potencial de reposo de 80 ± 5 mV., un potencial de acción de 100 ± 5 mV., "overshoot" de 17 ± 3 mV., una fase de repolarización rápida inicial que dura 35 a 40 mseg. y la fase

final lenta que se extiende hasta 110 a 120 mseg. de la duración del potencial de acción. (Ver fig. 8). El P.R.F. era de 36 ± 3 mseg.

4 - Medidas de período Refractario.

Al efectuar las medidas de período refractario funcional, considerado como el intervalo mínimo entre dos respuestas propagadas, fué notorio el hecho de que la segunda respuesta presentaba una velocidad de depolarización más lenta y un potencial de acción de menor magnitud. Con frecuencia, la respuesta producida en los límites del período refractario funcional era seguida de una serie de respuestas repetitivas en número variable. Este tipo de comportamiento fué encontrado tanto en el tejido auricular como en el ventricular y en el de Purkinje (Figura II)

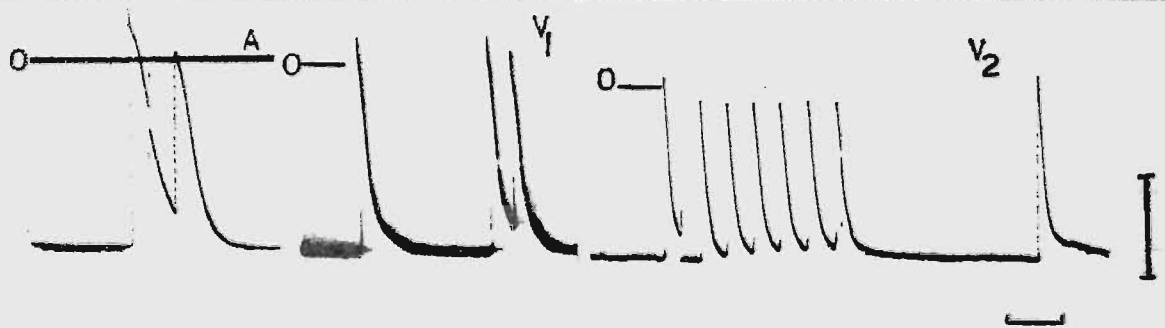


Figura II - Medidas de Período Refractario Funcional en células auriculares (A) y ventriculares (V₁ y V₂). Se puede notar la presencia de respuestas repetitivas en el registro V₂. Calibración 50 milivoltios y 100 milisegundos.

Las células nodales, por otra parte, se comportan de una manera diferente y se puede observar en la figura 12, que corresponde a un registro de una célula del nodo aurículo-ventricular, que al aumentar progresivamente la frecuencia de estimulación, y aproximarse al intervalo crítico del bloqueo, el potencial nodal experimenta alteraciones evidentes en la fase de depolarización, representadas en el registro como muescas, las cuales son más marcadas a medida que se acerca el límite crítico

del bloqueo. Se produce además una evidente disminución de la velocidad de depolarización, y al ocurrir el bloqueo de la conducción, el potencial nodal muestra cambios de posible naturaleza electrotónica o pequeñas respuestas locales (Figura 12).

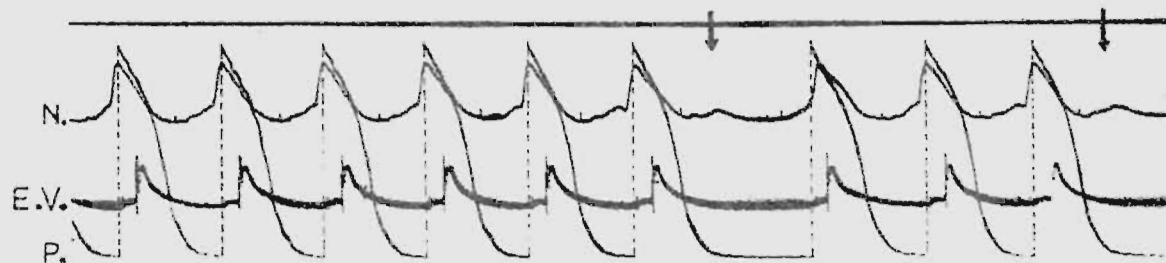


Figura 12 - Registros intracelulares de Nodo A-V (N) Purkinje de la rama derecha del haz de His (P) y una bipolar cercana extracelular (E.V.). Estimulación de frecuencia creciente progresiva. Nótese los cambios que sufre el potencial nodal previo al bloqueo y el pequeño potencial que aparece al ocurrir el bloqueo de la propagación (flecha). Calibración 50 milivoltios y 100 milisegundos.

De acuerdo con la exploración efectuada se construyó el esquema presentado en la figura 13 que muestra la localización de las estructuras individualizadas.

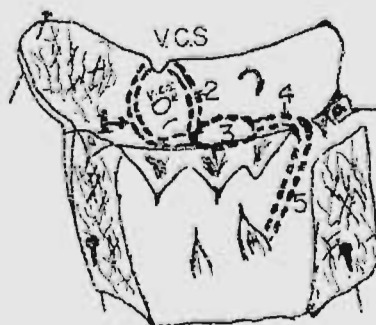


Figura 13 - Representación esquemática de las estructuras individualizadas de acuerdo a la exploración. - 1 y 2 = células auriculares tipo 2 que ocasionalmente presentan depolarización diastólica, 3 = nodo A-V, 4 = tronco del haz de His, 5 = Rama derecha del haz de His. V.C.S. = Vena Cava Superior.

La gráfica 1 (figura 14) muestra la distribución de los valores del potencial de reposo y "overshoot" de las células estudiadas, y la tabla (1) los valores medidos en los potenciales.

5 - Exploración del Sistema de Propagación A-V

Las gráficas 2 y 3 (figuras 15 y 16) muestran las curvas de período refractario y conducción del sistema de propagación aurículo-ventricular, cuando el impulso se propaga de aurícula a ventrículo (A-V) o bien de ventrículo hacia aurícula (V-A).

Como puede observarse, no todas las preparaciones conducían en el sentido V-A y el período refractario del sistema es siempre mayor en el sentido V-A que en el A-V, gráfica 4 (figura 17).

Los tiempos de conducción en las gráficas presentadas, muestran latencias A-V más largas que las V-A, obtenidas con frecuencias de estimulación semejantes. Tales diferencias son resultado simplemente de la forma en que se dispusieron los electrodos de registro.

La exploración del sistema de propagación con incrementos progresivos de la frecuencia de estimulación ($S_1 - S_1$) y con estímulos de prueba intercalados ($S_1 - S_2$), presenta curvas de período refractarios funcional ligeramente diferentes. Como puede apreciarse en la gráfica 5 (figura 18), las curvas se pueden superponer a intervalos entre estímulos $S_1 - S_1$ y $S_1 - S_2$ más o menos largos, pero a intervalos que se acercan a los límites críticos, las curvas se separan pudiéndose obtener un valor de P.R.F. más corto con $S_1 - S_2$ que con $S_1 - S_1$. No se observan diferencias importantes en los tiempos de conducción correspondientes, excepto para frecuencias críticas, cuando el bloqueo ocurre más tempranamente con $S_1 - S_1$ que con $S_1 - S_2$.

La tabla II muestra los valores obtenidos de la exploración del sistema de propagación.

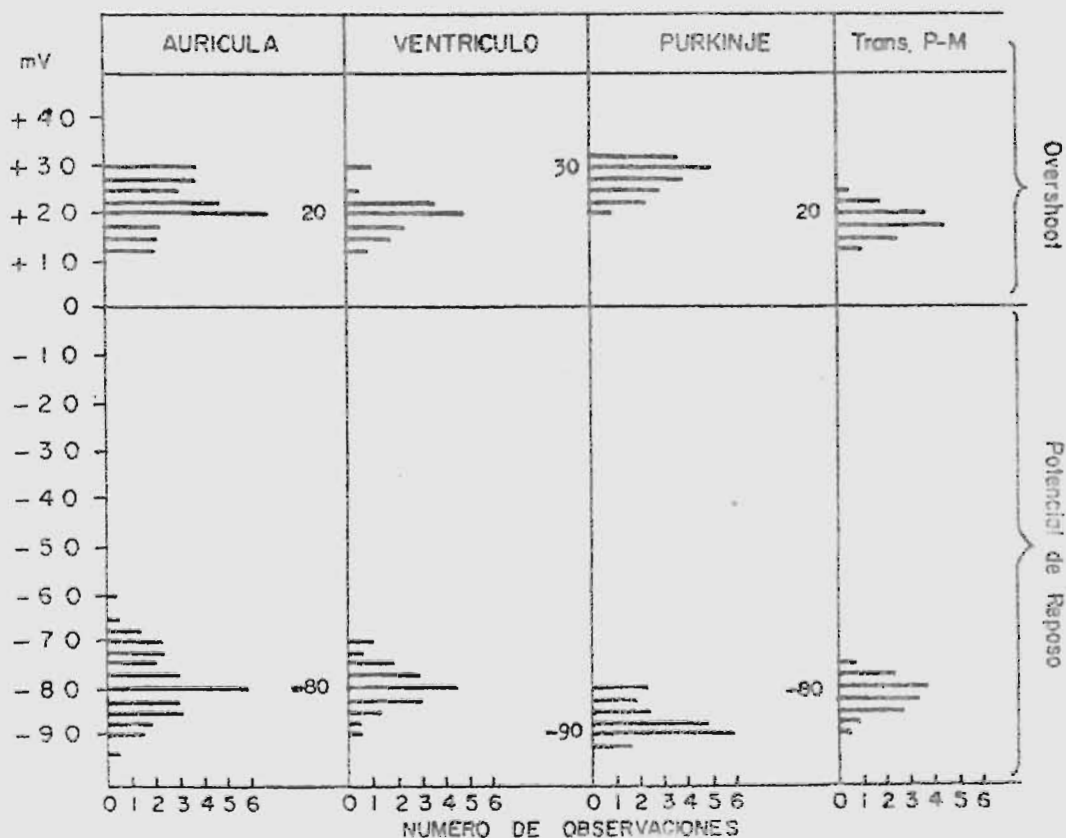


Figura 14 - (Gráfica 1) Distribución de las medidas de Potencial de Reposo, Potencial de acción y Overshoot mostrado por las células estudiadas. Mínimo de observaciones para cada distribución : 30, Trans. P.M. = Transicional Purkinje-músculo mV. = milivoltios.

	Potencial de reposo mV	Potencial de Acción mV	Overshoot mV	Duración mseg.	P. R. F. mseg.
Aurícula	80 ± 6	105 ± 8	23 ± 6	90 ± 10	45 ± 5
Ventrículo	80 ± 5	100 ± 5	20 ± 5	Fase I : 25 á 30 Fase 2 : 110 á 120	40 ± 10
Purkinje	90 ± 3	120 ± 3	30 ± 5	120 ± 10	85 ± 5
Transicional P-M	80 ± 5	100 ± 5	17 ± 3	Fase I : 35 á 40 Fase 2 : 110 á 120	36 ± 3
Nodo A-V	50 ± 60	45 ± 65	Variable	120	**

Tabla I - Medidas de los valores estudiados en los diferentes tejidos. Las células del nodo A-V, generalmente no presentaban "overshoot", pero en algunas ocasiones se registró un pequeño desplazamiento nunca mayor de 5 milivoltios.

** El período refractario funcional P.R.F. del nodo A-V se presenta en las medidas del sistema de propagación A-V (Tabla II).

Animal No.	P.R.F. de la propagación A-V en mseg.		P.R.F. de la propagación V-A en mseg.	
	S ₁ - S ₁	S ₁ - S ₂	S ₁ -S ₁	S ₁ - S ₂
1	119		164	
2	105	118	120	
3	115		140	
4	123		120	
5	105	99	††	
6	143	140	No-Conduce	
7	153		163	135
8	135	107	No-Conduce	

Tabla II - Medidas de P.R.F. (Período Refractario Funcional) del sistema de propagación auriculoventricular con estímulos de frecuencia creciente progresiva S₁-S₁ y estímulos de prueba intercalados en una frecuencia basal constante S₁ - S₂ en los sentidos A-V = auriculoventricular y V-A = ventriculoauricular.

†† = conduce V-A pero con margen muy estrecho.

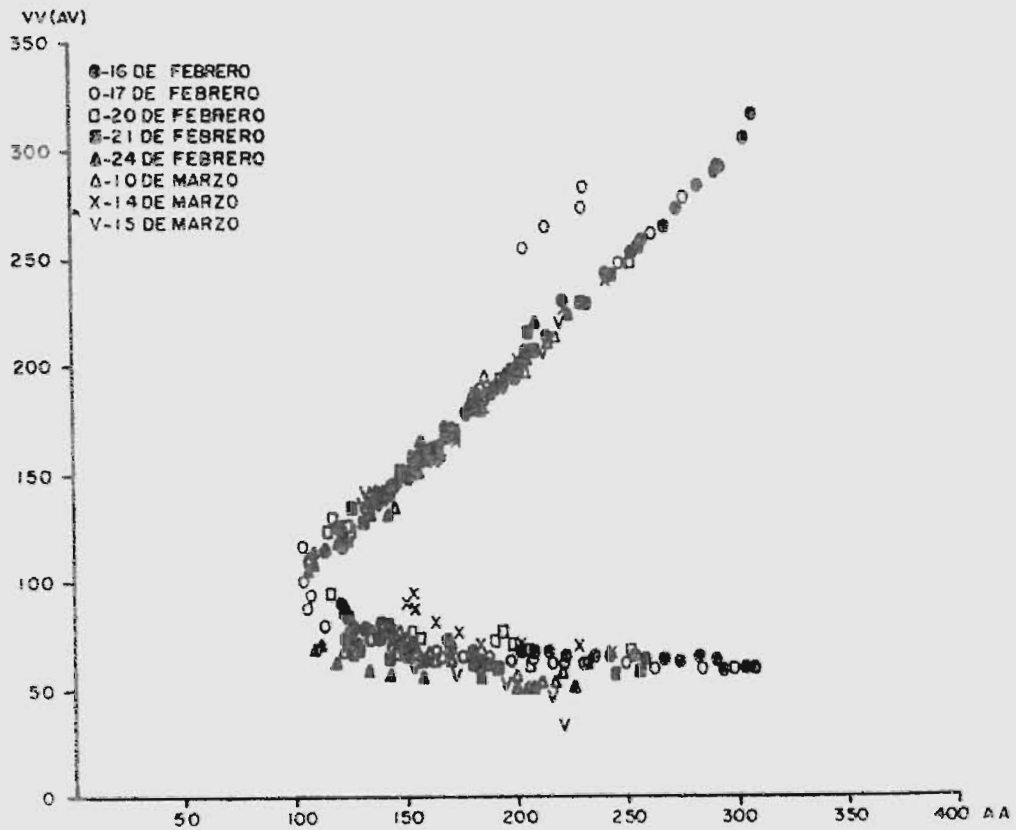


Figura 15 (Gráfica 2) Curvas de conducción y Período Refractario Funcional del Sistema de Propagación Aurículo-Ventricular durante la estimulación Auricular (propagación A-V), a frecuencia creciente progresiva ($S_1 - S_1$)

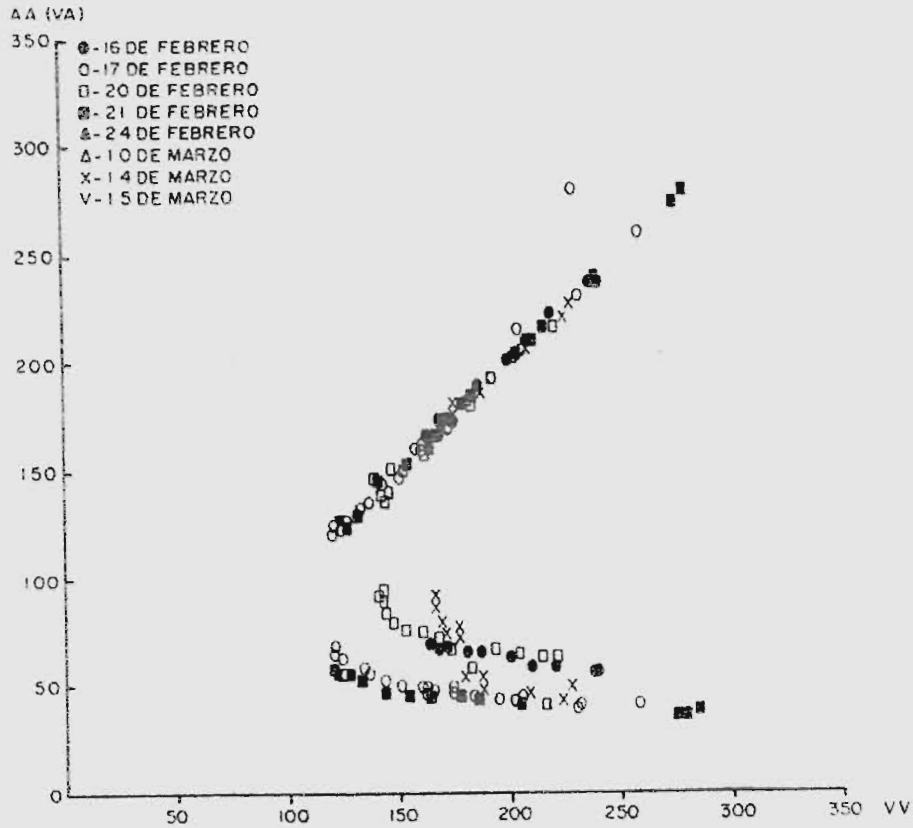


Figura 16 (Gráfica 3) Curvas de conducción y Período Refractorio Funcional del Sistema de Propagación Aurículo-Ventricular con estímulos de frecuencia creciente progresiva aplicados al ventrículo (Propagación V-A)

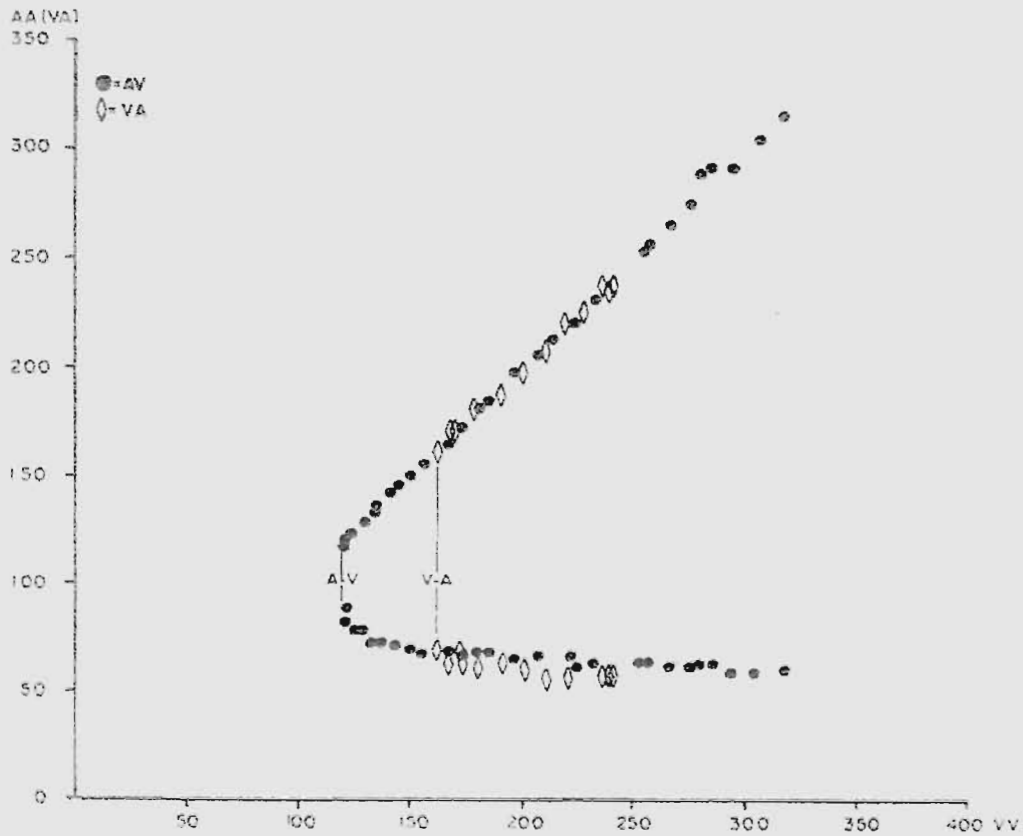


Figura 17 - (Gráfica 4). Curvas AV y VA del animal I (16 de Febrero) La curva AV tiene P.R.F. más corto que la curva VA. Ver texto.

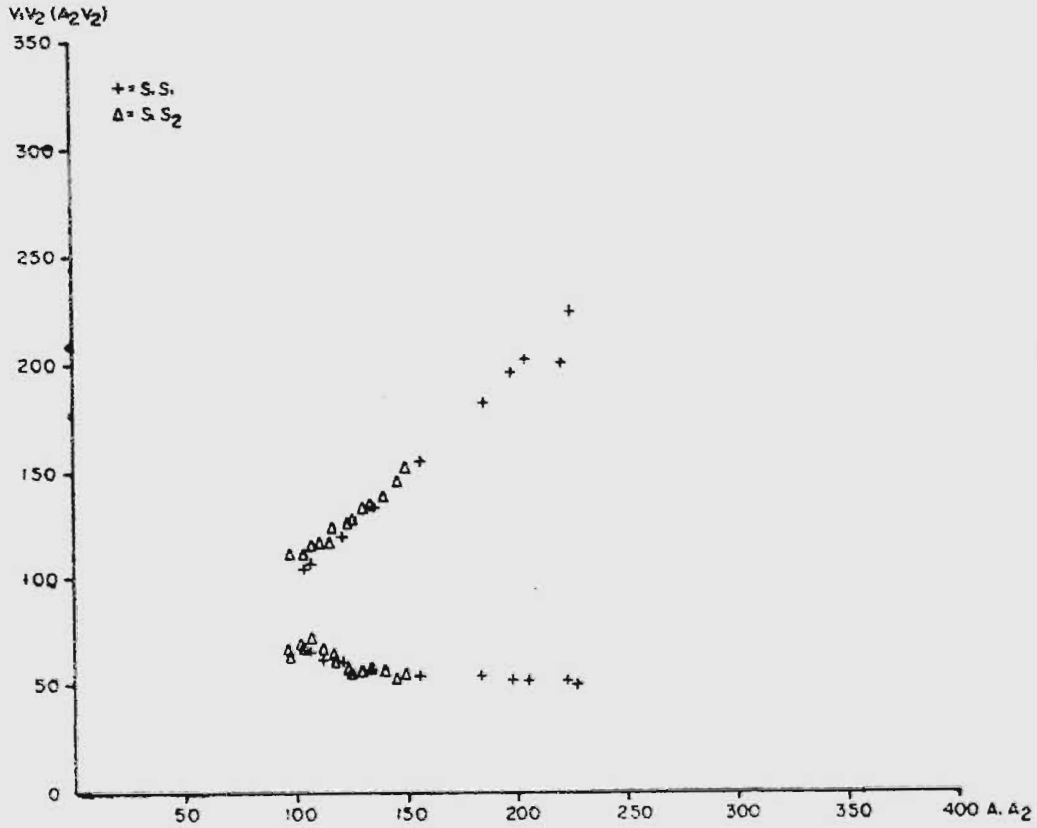


Figura 18 - (Gráfica 5) Curvas A-V con S₁-S₁ y S₁- S₂ animal 6, (10 Marzo)

Note que el P. R. F. del sistema es menor cuando se estimula con

S₁ S₂ que con S₁ - S₁ . Ver texto .

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La actividad eléctrica del corazón registrado por medio del electrocardiograma en distintos animales ha puesto en evidencia características especiales en algunos de ellos. El electrocardiograma de la rata y el ratón se aleja del patrón bien conocido en el mamífero, por no presentar intervalo ST definido y porque inmediatamente después del complejo QRS se inscribe una onda lenta de menor voltaje que el fenómeno rápido, la cual se inicia antes de que el complejo QRS regrese a la línea isoelectrica.

[Richards, Simonson y Visscher (98), Lombard (81), Packchanian y Robinson (90), Rodríguez (104).]

Este hallazgo llevó inicialmente a negar la presencia de onda T en el trazo electrocardiográfico de estos animales, y es así como Lombard (81), llamó R' a esta onda lenta que se inscribe después del complejo QRS, explicando la aparente ausencia de onda T por una posible repolarización lenta o irregular que favorece la cancelación de los vectores resultantes de esta repolarización.

Richards, Simonson y Visscher (98) después de estudiar el electrocardiograma de estos animales bajo efecto de frío, calor, hipoxia, y alteraciones en la concentración extracelular de K consideraron que la onda lenta del trazo electrocardiográfico corresponde a la onda T.

Rodríguez (104), verificó una serie de estudios en ratones con miocarditis chagásica experimental y considera la onda lenta descrita como fenómeno de repolarización. Packchanian y Robinson (70), por otro lado, han verificado estudios semejantes, pero en sus análisis consideran la onda lenta como parte del complejo QRS y la denominan R' al igual que Lombard, señalando como onda T a un pequeño accidente que parece corresponder a alteraciones de la línea base ocasionadas por la corriente eléctrica de la red, y obtienen como es de esperarse conclusiones diferentes a las reportadas por Rodríguez (104).

Lepeschkin (78), analizando esta particularidad electrocardiográfica en los diferentes géneros de la escala animal atribuye las diferencias de repolarización a las concentraciones iónicas particulares de los líquidos corporales de estos animales, que, a su

juicio, pueden estar condicionados por el tipo de alimentación.

El hecho de que estos animales son excelentes modelos experimentales para el estudio de la miocarditis chagásica y con el objeto de obtener una explicación adecuada de las diferencias electrocardiográficas encontradas, se procedió a explorar los potenciales de acción de la rata y el ratón mediante registros intracelulares.

El complejo QRS se origina de los componentes eléctricos de la fase cero del potencial de acción ventricular en todas las especies hasta ahora estudiadas. El segmento ST corresponde a una fase de depolarización sostenida o meseta del potencial de acción ventricular y la onda T a una asimetría en la recuperación rápida o fase tres de los potenciales intracelulares.

En las células miocárdicas ventriculares de la rata y el ratón se ha observado una fase de repolarización rápida inicial muy importante, seguida de una fase lenta que alcanza luego el potencial de reposo Hoffman (63), Weidmann (134), sin presentar una meseta como los potenciales ventriculares obtenidos en la mayoría de las especies, [Hoffman (57, 58, 61, 65), Weidmann (30, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136), Coraboeuf (16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25), Hetch (47), Brady y Woodbury (8), Paes de Carvalho (91, 92, 93, 94, 95, 96) Woodbury (140)].

Esta característica proporciona una explicación a la particularidad del registro electrocardiográfico, ya que si el factor responsable del origen de la onda T es la fase rápida de repolarización, la existencia de esta fase rápida inicial de gran magnitud en la repolarización de las fibras ventriculares de estos animales, perfectamente puede dar como resultado el apareamiento de una onda T inmediatamente después del complejo QRS. Es decir, que debe considerarse a la onda T como la expresión de una repolarización acelerada, que, en la mayoría de animales, sucede después de una fase dos apreciable y en la rata y el ratón, ocurre tempranamente.

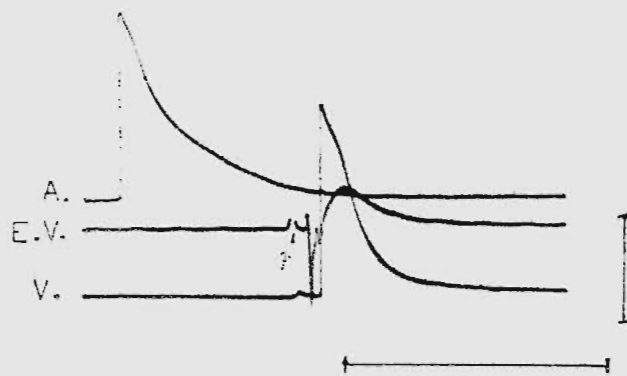


Figura 19 - Potenciales de acción de una célula auricular (A), una célula ventricular (V) y un registro bipolar cercano extracelular (E . V .) de una zona vecina a la explorada por el registro intracelular ventricular . Se puede apreciar que la onda lenta que sigue al complejo rápido del registro extracelular , corresponde en tiempo a la repolarización ventricular . El registro extracelular muestra además un complejo rápido antes del QRS (flecha) que corresponde a la activación del tejido de Purkinje . Calibración 50 milivolios y 100 milisegundos .

Coraboeuf, Gargouil y Wallon (4,18,20,21,36,37,38,39,40,71,120,124, 126), han estudiado los potenciales de acción ventriculares de la rata bajo la influencia de diferentes factores, y bajo la acción de drogas. Han investigado la aplicación de las teorías de Hodgkin a las células ventriculares de la rata, la acción de inhibidores metabólicos (38), de la temperatura (39,40), esteroides (36), la evolución que el potencial ventricular experimenta a través de la vida intrauterina (40,45) y los primeros días de la vida extrauterina (37). Estos últimos hallazgos han sido relacionados con las variaciones fisiológicas que ocurren en el transcurso del desarrollo, como es el inicio del funcionamiento tiroideo (43) y suprarrenal (86), así como las variaciones en concentraciones iónicas extracelulares de K^+ (82). A 24° C, reportan un potencial de reposo de 80 mV, un potencial de acción de 104 mV. con una fase de repolarización inicial rápida de

grán magnitud, seguida de una más lenta, lo cual da al potencial de acción una duración de 100 mseg. . A 37°C la morfología del potencial de acción es similar a la auricular de otros animales (Ver fig. 1), hallazgo que no invalida la explicación del origen de la onda T del electrocardiograma propuesto anteriormente. Nuestros resultados concuerdan con los hallazgos de Hoffman (63) y Weidmann (134) y presentan diferencias con los de Coraboeuf y Gargouil, que serán discutidos posteriormente.

Recientemente se ha emitido una teoría para tratar de explicar el comportamiento del potencial de acción de las células miocárdicas especialmente por la presencia de la fase 2. Paes de Carvalho (93, 95) y Coraboeuf (24) han propuesto la existencia de dos componentes principales, uno rápido inicial que se modifica de acuerdo a las concentraciones iónicas extracelulares de Na^+ y al potencial de reposo de la célula y otro lento posterior que es afectado por las alteraciones en la concentración de K^+ extracelular, así como por las drogas que modifican la permeabilidad a dicho ión. El comportamiento particular de los potenciales ventriculares de la rata y el ratón, por carecer de la meseta descrita, podría ofrecer un campo de estudio interesante a esta teoría.

Potenciales Auriculares

La existencia de tres tipos diferentes de potencial auricular en la rata fué reportada por Webb y Hollander (66, 128). Sin embargo, estos autores no verificaron un mapeo completo para localizar el origen de estos potenciales de acción. En el presente trabajo es interesante observar la tendencia a localización en trayectos específicos que presentaron los potenciales del tipo 2 y más aún el hecho de que algunos de ellos presentaban depolarización diastólica. Este hecho puede ser interpretado como que la aurícula posee un sistema preferencial especializado de conducción, posiblemente funcional, entre el nodo sinoauricular y el nodo aurículoventricular, pero no descarta la posibilidad de que ésto constituya un simple remanente del proceso de desarrollo embriológico. Thorel (33), Bachman (3) y Erlanger (31, 32) aportaron desde hace muchos años, como resultado de sus estudios en corazones de perro, datos que apoyan

este concepto. Paes de Carvalho (91,92,94) en trabajos efectuados en corazones de conejo con registros intracelulares, ha demostrado la existencia de tales trayectos especializados de conducción en el tejido auricular y su aparente comportamiento como vía preferencial. Las investigaciones efectuadas por Robb y Petri (99) y de James en corazones humanos y de perro (68,69,70) señalan la existencia anatómica de tales vías auriculares, aunque no tan individualizadas como en el caso de sistema descrito por His y Purkinje, el cual se reconoce fácilmente, incluso a veces con exploración macroscópica [Pruit y Essex (97)]. Los potenciales auriculares tipo 1, posiblemente correspondan a las células miocárdicas auriculares sin especialización, pero no me parece adecuado ofrecer explicación al origen de los potenciales del tipo 3, los que necesitarán mayor estudio, con una cuidadosa correlación histológica.

Ventrículo.

La morfología de los registros intracelulares ventriculares fué analizada al principio de esta discusión y en las ilustraciones correspondientes (Fig. 8) puede apreciarse la correspondencia temporal entre la fase rápida de repolarización del potencial de acción y la onda T del registro bipolar extracelular, que presenta una fase ascendente más rápida que la fase de retorno a la línea isoelectrica, evidenciando así una repolarización inicial acelerada con un componente final más lento (Ver fig. 19).

Las células subyacentes al tejido de Purkinje, que llamamos transicionales y que muestran un potencial de acción diferente al registrado de las células musculares ventriculares, constituyen una aparente variación en el tejido muscular ventricular. Es de hacer notar que el término transicional aquí utilizado, expresa una posible transición en la diferenciación anatómica, fisiológica ó de ambas, sin implicar con ello que estas células jueguen papel semejante en la transmisión de la actividad eléctrica entre dos tipos diferentes de tejido especializado, tal como expresa el término transicional de las uniones del nodo aurículoventricular por Alanís (1) Hoffman (62,64), Paes de Carvalho (92,96), ya que la activación de dichas células presenta un retraso apreciable en relación con la célula superpuesta. Truex y Smythe (121) han estu-

diado histológicamente el sistema de conducción en diferentes animales y han reportado variaciones importantes en la diferenciación morfológica de las células de Purkinje; desde células de Purkinje que se encuentran muy bien diferenciadas incluso rodeadas de una vaina de tejido conectivo, que ellos llaman células de Purkinje bien diferenciadas, hasta otras en las que las fibras en cuestión ofrecen gran dificultad y exigen gran experiencia para su reconocimiento. El Purkinje del humano presenta, según esta clasificación, características intermedias. Las células menos diferenciadas, que ellos califican como células con poca o ninguna diferenciación, en las que hacen notar que microscópicamente se presentan escasas diferencias con las células musculares ventriculares en cuanto a estriaciones, fibrillas, núcleo y diámetro de las fibras, son las que se encuentran en la rata. Es interesante el hecho que estas fibras en su mayoría carecen de tejido conjuntivo que las separa de las células musculares ventriculares, como sucede en las que tienen fibras bien diferenciadas.

Este reporte, unido a las particularidades que se han encontrado en nuestra serie de experimentos en los registros de las células adyacentes al tejido de Purkinje, hace pensar que existe una transición en la diferenciación anatómica y fisiológica - de las características de la célula y su membrana, que ocasiona una progresiva modificación de su actividad eléctrica.

Sistema de conducción Auriculoventricular

En la literatura revisada no se encontró estudios sobre potenciales de acción en el tejido de conducción de la rata.

Los potenciales intracelulares del nodo sinusal y nodo auriculoventricular, presentan similitud con los potenciales intracelulares reportados en otros animales por West (137,138), Paes de Carvalho (91,96), del Castillo y Katz (29), Hutter y Trautwein (67), Sano, Tasaki, Shimamoto (108), Alanís y Benítez (1), Nagata (89), aún cuando la rata presenta un potencial de acción ventricular diferente al de la mayoría de las especies.

Los estudios histológicos llevados a cabo permitieron localizar un trayecto

de fibras parecidas a las fibras de Purkinje de la rata en la parte posteroinferior del tabique interauricular, el cual se une al nodo auriculoventricular en su porción posterior. Esta característica ha sido reportada en el perro y en el hombre por James (68,69,70) y parece corresponder a los trayectos especializados de conducción en la aurícula, que según Thorel (33), Robb y Petri (99), y James (68,69,70) están formados por células de características histológicas que recuerdan al tejido de Purkinje. Otro hecho importante es la aparente diferencia en el registro intracelular de esta zona, en el cual se observa una tendencia a desarrollar meseta en el potencial de acción y ocasionalmente a presentar actividad de tipo marcapaso latente.

En las regiones de unión del nodo auriculoventricular con los tejidos auriculares (AN) y con el tronco del haz de His (N-H), se observan potenciales cuya morfología aparenta ser una mezcla de los potenciales de las células que se comunican por este trayecto y que ha permitido a algunos autores denominarlas transicionales. [Alaín y Benítez (1), Hoffman (61,62,63,65), Paes de Carvalho (91,92,93,96)]. Este hecho constituye la expresión de una modificación progresiva de las características de la membrana celular, lo cual se hace más evidente bajo la acción de las variaciones de la concentración del K^+ extracelular, la acetilcolina, y estímulos de alta frecuencia, hechos que, han servido de base a Paes de Carvalho para la postulación de su teoría de un doble origen del potencial de acción cardíaco. (93, 95).

El estudio del retardo que sufre el impulso al pasar por el nodo auriculoventricular mostró que la porción más importante de este retardo tiene lugar en la unión A-N, cuando el impulso viaja en el sentido A-V. Esto ha sido reportado también en el conejo por Hoffman (63), Paes de Carvalho (92), y Nagata (89). Al aumentar la frecuencia de estímulo en la aurícula hasta el límite de bloqueo en la conducción A-V se aprecia un retraso de la fase de depolarización y una disminución de la velocidad de depolarización de la célula nodal hasta obtener registros como se ve en la figura 19, con una respuesta del nodo de tipo local. Este hallazgo ha servido como base para sostener la existencia de una conducción decremental a través del nodo A-V,

[Hoffman (63), Paes de Carvalho (92), Scher, Rodríguez, Liikane y Young (113) y Cabezas (13)] .

Los hallazgos reportados en nuestro estudio nos permiten concluir que el nodo A-V de la rata también posee una conducción de tipo decremental, la cual es causa del retardo de la conducción en dicha estructura, y proporciona un sistema de protección al corazón, para evitar una excesiva frecuencia de contracción ventricular que podría alterar la dinámica cardíaca.

La exploración del tronco del haz de His y la rama derecha del mismo, mostró potenciales de acción de gran magnitud, con una fase de depolarización muy rápida y una meseta bien definida. Fueron los potenciales de mayor duración en nuestro estudio al igual que ha sido reportado en el perro por Hoffman (63), en el conejo por Paes de Carvalho (92) y en el becerro por Weidmann (30).

Los registros de las células del tronco del haz de His y de la rama derecha presentan algunas diferencias, entre ellas la fase uno, que es más notoria en las células de la rama derecha, hecho que ha sido reportado por Hoffman (65) en los registros intracelulares del corazón de conejo, y que puede ser considerado como una característica de los tejidos con mayor velocidad de conducción.

Las células de la rama derecha del haz de His con frecuencia muestran depolarización diastólica y por ende una potencialidad marcapaso como todas las células del sistema especializado de conducción. [Paes de Carvalho (92), Hoffman (63), Coraboeuf (18)] .

Las medidas de velocidad de conducción del tejido de Purkinje verificadas en la rama derecha dieron una velocidad de conducción de 2 m/seg., similar a la reportada por Draper y Weidmann (30) en el tejido de Purkinje de becerro y carnero, lo que permite inferir que el proceso de diferenciación de estos tejidos les confiere propiedades similares aún con diferentes características anatómicas, probablemente porque la adquisición de tales propiedades se basa en las modificaciones de las características de la membrana celular más que en la disposición y arquitectura intracelular, ya que, como -

reportan Truex y Smithe (121), la rata tiene histológicamente muy pocas diferencias entre las células de Purkinje y las células miocárdicas ventriculares. Al presente se dispone de un estudio de las características eléctricas de la membrana celular, llevado a cabo por Weidmann (131) en fibras de Purkinje de becerro, que según el estudio de Truex y Smithe (121), pertenecen a las células de Purkinje bien diferenciadas, pero no se han reportado medidas de los mismos parámetros en las células musculares ventriculares para poder efectuar comparaciones. Las diferencias que existen en los registros intracelulares de los tejidos cardíacos son bastante conocidas é indudablemente sería de mucha utilidad conocer las características eléctricas de la membrana celular para explicar las diferencias en comportamiento de la respuesta eléctrica de los distintos tejidos cardíacos.

La muesca rápida que se observa en la meseta del potencial de acción de las células de la rama derecha del haz de His, que hemos atribuido a la depolarización de la célula subyacente, no se observa en los registros intracelulares del tronco del haz de His, dato que apoya la explicación propuesta, pues las células auriculares que pueden estar adyacentes a las de Purkinje en el tronco del haz de His, se depolarizan mucho antes. Los registros presentados por Hoffman (65) en el corazón del conejo, también muestran esta particularidad, aunque él no la discute. Según Truex y Smithe (121) el corazón del conejo pertenece al grupo con células de Purkinje poco diferenciadas - las cuales además, no tienen vaina conjuntiva que separe las ramas del haz de His, hecho que apoya el origen de la muesca, descrita anteriormente, por la falta de un medio con alta resistencia eléctrica como es el tejido conjuntivo.

Medidas del Período Refractario

De acuerdo a los valores del P.R.F. obtenidos en los diferentes tejidos, se puede calcular la frecuencia máxima teórica que cada tejido en particular es capaz de seguir, encontrándose para la aurícula una frecuencia máxima de 22/seg. para el ventrículo de 25/seg., para el tejido de Purkinje de 11.7/seg. y para el sistema de propagación aurículo-ventricular de 10/seg.

Como ha sido señalado anteriormente, para las medidas de período refractario - del tejido auricular, ventricular y el de Purkinje, se aplicó un estímulo de prueba cuatro veces umbral a través de un par de electrodos cercanos extracelulares. En este método, un posible punto de discusión lo constituye el hecho de que generalmente el estímulo de prueba se aplicaba lejos del sitio de registro y en ocasiones, en un tejido diferente del explorado. Hoffman, Kao y Suckling (61) han estudiado detenidamente este problema, incluyendo el caso particular del P.R.F. del tejido de Purkinje estimulado a través de la masa muscular ventricular y han encontrado que la magnitud del estímulo producido por un potencial de acción celular aún en este intervalo crítico es 4.5 a 6.5 veces mayor que el umbral de la célula registrada.

Las respuestas repetitivas aparecían solamente cuando el estímulo se aplicaba con intervalos cercanos al límite del P.R.F. Si el estímulo de prueba se aplicaba con un intervalo más largo, las respuestas repetitivas no se producían.

La porción del potencial de acción durante la cual se producen respuestas repetitivas corresponde al "período vulnerable" que se ha reconocido en el electrocardiograma del perro y del hombre, [Wiggers y Wegria (139)] , y que corresponde a la parte más alta de la onda T del electrocardiograma, ó sea a la fase 3 del potencial de acción ventricular cercano a los límites del P.R.F.- Se ha demostrado que un pulso eléctrico de suficiente magnitud aplicado en esta fase del ciclo cardíaco es capaz de provocar una fibrilación ventricular (59,60). Brooks y col. (9) han encontrado que la porción del ciclo cardíaco donde es fácil producir fibrilación, corresponde a un quiebre brusco en la curva intensidad-duración, llamado por ellos "DIP" de la curva, el cual se encuentra en las cercanías del P.R.F.- Hoffman reporta además, que la intensidad del estímulo aplicado es importante en la producción de esta serie de respuestas repetitivas (60). La explicación propuesta para el origen de las respuestas repetitivas es que la célula recupera rápidamente grados de excitabilidad diferentes a las recuperaciones de la velocidad de conducción, provocando con ello una heterogeneidad temporal en el tejido que facilita el establecimiento de fenómenos de re-entrada y la producción

de arritmias tipo fibrilación. Sin embargo, en animales muy pequeños, estas arritmias son pasajeras, pero no en los animales con masa cardíaca más grande como el perro, el buey, y el hombre. Se ha demostrado que el volúmen o masa del tejido es importante en la permanencia de las arritmias producidas durante este período.

Garrey (35) encontró que mientras más pequeña es la masa de tejido, existe mayor dificultad para el sostenimiento de la arritmia, é incluso no se puede producir. También se ha demostrado la presencia de potenciales oscilantes (7), los cuales en determinadas condiciones pueden originar focos automáticos ectópicos (18).

Medidas del Sistema de Propagación

El estudio del sistema de propagación aurículo-ventricular permitió construir - curvas de P.R.F. y de conducción en dicho sistema. Como se puede ver en los resultados, el P.R.F. del sistema A-V, es mayor que los P.R.F. de todas las células estudiadas, incluyendo el tejido de Purkinje. Esta característica es de gran importancia, ya que ello proporciona un sistema de protección natural que tiende a evitar la posibilidad de que un impulso prematuro pueda ser conducido y caiga en el período vulnerable de las células ventriculares, pudiendo provocar una fibrilación. Esta característica no es exclusiva del animal considerado en este estudio, ya que también ha sido reportada en otros animales tales como el perro, el becerro y el carnero (13, 87, 105). Un estudio llevado a cabo por Moore en animales recién nacidos (87), indicó la importancia de tal característica, ya que a esta edad el P.R.F. del sistema de conducción aurículoventricular es muy corto y con frecuencia se produce fibrilación ventricular al colocar estímulos prematuros en la aurícula.

Las curvas aquí presentadas muestran tiempos de conducción A-V mayores o iguales que las obtenidas en el sentido V-A, pero como se dijo en los resultados, ésto es producto de la disposición de los electrodos y el tipo de medida llevada a cabo. Sin embargo, cuando se tomó cuidado en la disposición de los electrodos para evitar estos errores, siempre se encontró un intervalo A-V mucho más corto que el V-A correspondiente, tal como ha sido reportado por Hoffman (63), Paes de Carvalho (92).

El período refractario del sistema de conducción en el sentido A-V, es siempre más corto que el período refractario en el sentido V-A, hecho también reportado en otros estudios (13,63,105,106). Esta particularidad es explicable por una posible polarización relativa en la dirección de la conducción, que hace más difícil una propagación en sentido retrógrado. De hecho nuestros animales presentan una conducción A-V con un margen bastante amplio, pero no obligadamente conducen en el sentido V-A, tal como lo podemos observar en la curva presentada en los resultados (Ver gráfica I y II y Tabla II). En ciertas ocasiones puede ocurrir que la conducción A-V está muy deteriorada, pero la V-A se conserve más o menos intacta (105).

En este estudio, el bloqueo de la conducción en el sistema auriculoventricular siempre tuvo lugar en un sitio más arriba de la rama derecha del haz de His.

Kent (73) describió en la rata la existencia de trayectos musculares que unen directamente la aurícula con el ventrículo, evitando el paso obligado a través del nodo auriculoventricular. Este dato sirvió inicialmente de base a la explicación del síndrome electrocardiográfico descrito por Wolff, Parkinson y White, posiblemente debido a una conducción rápida a través de las conexiones extranodales. Hallazgos anatómicos del mismo tipo han sido reportados en el hombre y en el perro por James (68, 69, 70) quien señaló sin embargo que los electrocardiogramas de corazones que presentaban estos hallazgos histológicos, no tenían la anomalía electrocardiográfica conocida como síndrome de Wolff, Parkinson y White. Los datos aportados por James en su estudio, unidos a los resultados han sido obtenidos en este estudio, en los cuales siempre se observó que el impulso tenía que atravesar el nodo auriculoventricular para estimular el tejido ventricular, sugieren que aún cuando anatómicamente existan estas vías, funcionalmente son de poca importancia. Esto no elimina la posibilidad de que, en un momento dado y de acuerdo al tamaño o a una mejor conexión ventricular de las mismas, pueda producirse conducción rápida.

En las aves se han descrito conexiones de este tipo y se ha dicho que su función principal consiste en activar las partes superiores del músculo ventricular, con

la finalidad de mejorar la dinámica de las válvulas cardíacas, ya que estos animales presentan una frecuencia cardíaca muy alta. Podría ser que los hallazgos reportados constituyan simplemente un remanente embriológico.

El P. R. F. del sistema de propagación es más corto al medirlo con $S_1 S_2$ que con $S_1 S_1$ (Ver gráfica IV). Este hecho también fué reportado por Roseblueth (106) y se ha explicado por un efecto acumulativo en el deterioro de la conducción, ocasionado por estímulos a frecuencias progresivamente crecientes que no dan oportunidad a una recuperación completa del sistema.

Consideraciones acerca del Método Utilizado

a) Sistema de perfusión

La técnica utilizada no llena las condiciones óptimas para la nutrición y oxigenación del tejido, ya que se basa en el proceso de difusión de la solución de perfusión, por la superficie del tejido. Sin embargo, al presente esta técnica es ampliamente utilizada [Hoffman (61,62), Paes de Carvalho (92), Alanís (1)]. Además, comparaciones de intervalos A-V obtenidas en perfusiones tipo Langendorf, in vivo y de material perfundido por superficie, no mostraron diferencias aparentes (Paes de Carvalho (92)). En la presente serie de experimentos, se verificaron en varias ocasiones medidas del intervalo A-V de electrocardiogramas previos a la extracción del corazón e inicio de la perfusión, los cuales, comparados con las medidas de intervalo A-V obtenidos durante la perfusión, dieron también resultados semejantes. Sin embargo, no hay que olvidar que en este tipo de perfusión las capas más profundas del tejido reciben menos perfusión que las superficiales, lo que se refleja en una disminución de la fuerza de contracción al cabo de algunas horas de iniciado el experimento. Para obviar este problema, siempre se trató de no utilizar una preparación que tuviera más de 3 horas de perfusión o en que la contracción no fuera visible, haciendo además el registro de las células más superficiales que se supone están en mejores condiciones.

No se excluye la posibilidad de que los tejidos estudiados hayan estado sometidos a un discreto grado de hipoxia, pues aunque se tuvo cuidado en mantener un aporte de oxígeno elevado, ($P.O_2$ 350 a 480 mm. Hg.), el consumo de O_2 del tejido ventricular de la rata es muy alto. Según Hauge y Øye (46), el consumo de O_2 del miocardio perfundido de perro es de 5 ml/min./100 gm. de tejido, mientras que el de la rata es de 13 ml/min./100 gm.

Al estudiar nuestros registros Gargouil (41) sugiere que muestran cierto grado de hipoxia, pero el hecho de que el sistema de conducción fuera capaz de conducir a frecuencias tan altas como 8 a 10/seg. hace pensar que el posible deterioro ocasionado por la hipoxia no es muy importante. A pesar de esto y de acuerdo a sugerencias de Gargouil (41), se tratará de introducir un sistema de perfusión por vía coronaria.

b) Solución empleada en la perfusión

La solución de Tyrode utilizada en nuestra serie de experimentos originó al principio dudas acerca de los valores de K^+ que aparentemente eran más bajos que los valores de K^+ plasmático de la rata, y también del perro.

Draper y Weidmann (30) han discutido este problema con anterioridad, y han hecho comparaciones entre registros de material perfundido con Tyrode y con plasma, reportando diferencias poco significativas, además, Ropes y Bennet (108) sostienen que un 25% del K^+ plasmático es iónicamente inactivo, por lo cual consideramos que los valores de K^+ de nuestra solución no son bajos.

R E S U M E N

- 1) Se introduce el método de registros intracelulares en el campo de la electrofisiología cardíaca en El Salvador.
- 2) Se verifica el estudio de los potenciales intracelulares en la rata, especie que muestra características particulares en los fenómenos de repolarización observados en el electrocardiograma.
- 3) Se discute la validez de nominar T a la onda lenta que sigue al QRS en el electrocardiograma de la rata y del ratón.
- 4) Se reporta el hallazgo de que los potenciales de acción del sistema de conducción, en estos animales, presentan gran similitud con los reportados en otras especies, aún cuando existen diferencias notables en el registro intracelular ventricular.
- 5) Se verifica un estudio del sistema de conducción, encontrando un comportamiento similar al de los tejidos especializados de conducción de otros animales.
- 6) Se reportan los valores de período refractario de los distintos tejidos cardíacos en la rata y la frecuencia máxima que dichos tejidos pueden seguir.
- 7) Se discuten las condiciones en las que ocurren respuestas repetitivas y algunos de los mecanismos responsables de la aparición de arritmias del tipo de la fibrilación ventricular.
- 8) Se comenta la aparente falta de funcionalidad de los trayectos aurículoventriculares extranodales.

B I B L I O G R A F I A

- 1 ALANIS, J. and BENITEZ, D. Action potential from A-V node transitional cells. Arch. Int. Physiol. et Biochem. 72: 765-775, 1964.
- 2 ALANIS, J., GONZALEZ, H. and LOPEZ, E. The electrical activity of the bundle of His. J. Physiol. (London) 142: 127-140, 1958.
- 3 BACHMAN, G. The inter-auricular time interval. Am. J. Physiol. 41: 309-320, 1916.
- 4 BERNARD, C. et GARGOUIL, Y.M. Evolution de la repolarization du myocarde ventriculaire chez le foetus de rat, C. R. Acad. Sci. 256: 4972-4974, 1963.
- 5 BERNARD, C., MONNEREAU, SOUSTRE, H. and GARGOUIL, Y.M. Evolution chez le foetus de Rat, des potential intra-cellulaires du myocarde ventriculaire, J. Physiol. (Paris) 55: 113-114, 1963.
- 6 BERNSTEIN, J. Die Thermoströme des Muskels und die "Membran-theorie" de bioelektrischen Ströme, Archiv. f. d. ges. Physiol. 131: 589-600, 1910. En: Lewis, Th. The mechanism and graphic registration of the heart beat. 3rd. Ed. London, Shaw & Sons Ltd. 1925.
- 7 BOZLER, E. The initiation of impulse in cardiac muscle. Am. J. Physiol. 138: 273-282, 1943.
- 8 BRADY, A.I. and WOODBURY, J.W. Effects of sodium and potassium on repolarization in frog ventricular fibers, Ann. N.Y. Acad. Sci. 65: 687-692, 1957.
- 9 BROOKS, C. Mc. C., ORIAS, O., GILBERT, J.L., SIEBENS, A.A., HOFFMAN, B.F. and SÜCKLING, A.E.E. Auricular fibrillation: Relationship of vulnerable period to "Dip" phenomenon of auricular excitability curve. Am. J. Physiol. 164: 301-306, 1951.
- 10 BURDON-SANDERSON, J. and PAGE, F. J. M. On the time relations of the excitatory process in the ventricular of the heart frog. J. Physiol. (London) 2: 384-435, 1879.
- 11 BURDON-SANDERSON, J. and PAGE, F. J. M. On the electrical phenomena of the excitatory process in the heart of the frog and the tortoise as investigated photographically. J. Physiol. (London) 4: 327-338, 1883.
- 12 BURES, J., PETRAN, M. and ZACHAR, J. Electrophysiological methods in biological research 2nd. Ed. Praga, Academic Press, 1962.
- 13 CABEZAS, G.A. La influencia de la supresión de las aminas simpaticomiméticas sobre el sistema de propagación aurículo-ventricular. El Salvador, 1966. Tesis doctoral.
- 14 CALDWELL, P.C. and DOWNING, A.C. The preparation of capillary micro electrodes, J. Physiol. (London) 128: 31p. 1955.

- 15 COLE, K.S. and CURTIS, H.J. Electrical impedance of *Nitella* during activity *J. Physiol.* 22: 37- 1938. En: Davson, H.A. Textbook of General Physiology, 3rd. (London) J. & A. Churchill Ltd. 1964.
- 16 CORABOEUF, E., GALAND, G., WALLON, G. et GARGOUIL, Y.M. Effets de milieux hyposodiques sur l'activité électrique du coeur isolé de Mammifère. *C. R. Soc. Biol.* 153: 1837-1841, 1959.
- 17 CORABOEUF, E., GARNIER, D., BLET, G. et GARBOUIL, Y.M. Action du 2-4 dinitrophénol au niveau de la fibre ventriculaire du - coeur de mammifère. *C.R. Soc. Biol.* 154: 1038-1041, 1960.
- 18 CORABOEUF, E. Aspects cellulaires de l'electrogenese cardiaque chez les vertébrés. *J. Physiol. (Paris)* 52: 323-417, 1960.
- 19 CORABOEUF, E., GARGOUIL, Y.M., LAPLAUD, J. et DESPLACES, A. Action de l'anoxie sur les potentiels électriques des cellules cardiaques de mammifères actives et inertes (tissu ventriculaire isolé de cobaye). *C.R. Acad. Sci.* 246: 3100-3103, 1958.
- 20 CORABOEUF, E. KAYSER, CH., et GARGOUIL, Y.M. Enregistrement Parallele de l'electrocardiogramme externe et l'activite électrique d'une fibre myocardique unique chez trois mammifères. *C.R. Acad. Sci.* 243: 1444-1447, 1956.
- 21 CORABOEUF, E., KAYSER, CH. et GARGOUIL, Y.M. La repolarization du myocarde au cours de l'hypotermie chez trois especes de mammifères: Cobaye, Spermophile et Rat blanc. *C.R. Acad. Sci.* 243: 1673-1676, 1956.
- 22 CORABOEUF, E., ZACOUTO, F., GARGOUIL, Y.M. et LAPLAUD, J. Mesure de la resistance membranaire du myocarde ventriculaire de mammifères au cours de l'activité *C.R. Acad. Sci.* 246: 2934-2937, 1958.
- 23 CORABOEUF, E., et. GUILBAULT, P. Action comparés des milieux hyposodiques sur le coeur isolé de Rat et the Cobaye. *C.R. Soc. Biol.* 154: 1503-1506, 1960.
- 24 CORABOEUF, E., GARGOUIL, Y.M. FROMENTY, D. et WALLON, G. Existence de réponses de grand amplitude à stabilissement lent, au - niveau de la cellule cardiaque. *C.R. Soc. Biol.* 153: 1458-1461, 1959.
- 25 CORABOEUF, E., BOISTEL, J., GARBOUIL, Y.M., LAPLAUD, J. et GALAND G. Hyperpolarization transmembranaire au niveau du tissu conducteur du coeur de mammifère. *C.R. Soc. Biol.* 153: 445-450, 1959.
- 26 CRANFIELD, P.F., HOFFMAN, B.F. and PAES DE CARVALHO, A. Effects of Acetylcholine on single fibers of the atrio-ventricular node. *Am. J. Physiol.* 7: 19-23, 1959.
- 27 CRANFIELD, P.F. and HOFFMAN, B.F. Electrophysiology of single cardiac cells. *Physiol. Rev.* 38: 41-76, 1958.
- 28 CURTIS, H.J. and COLE, K.S. Membrane resting and action potentials of the skid giant axon. *Am. J. Physiol.* 133: 254, 1941.

- 29 DEL CASTILLO, J. and KATZ, B. Effects of vagal and sympathetic nerve impulses on the membrane potential of the frog's heart. *J. Physiol.* (London) 129: 48p. 1955.
- 30 DRAPER, M. H. and WEIDMANN, S. Cardiac resting and action potentials recorded with an intracellular electrode. *J. Physiol.* (London) 115: 74-94, 1951.
- 31 ERLANGER, J. Can functional union be re-established between the mammalian auricles and ventricles after destruction of a segment of the auriculo-ventricular bundle. *Am. J. Physiol.* 24: 375-383, 1909.
- 32 ERLANGER, J. Observations on the physiology of Purkinje tissue. *Am. J. Physiol.* 30 (5): 395-419, 1912.
- 33 EYSTER, J. A. E. and MEEK, W. J. The origin and conduction of the heart beat. *Physiol. Rev.* 1: 3-43, 1921.
- 34 EYSTER, J. A. E. and GILSON, W. E. The development and contour of cardiac injury potential. *Am. J. Physiol.* 145: 507-520, 1945.
- 35 GARREY, W. E. The nature of fibrillary contraction of the heart. Its relation to tissue mass and form. *Am. J. Physiol.* 33 (3): 397-414, 1914.
- 36 GARGOUIL, Y. M., TRICOCHÉ R., et LAPLAUD, J. Modifications de l'activité électrique et mécanique du coeur de Rat. Isolé par la Delta-1 Dehydrocortisona. *C. R. Soc. Biol.* 154: 1035-1038, 1960.
- 37 GARGOUIL, Y. M., CORABOEUF, E., TRICOCHÉ, R. and WALLON, G. Evolution des électrogrammes cardiaques chez le Rat au cours de la croissance. *C. R. Soc. Biol.* 153: 450-54, 1959.
- 38 GARGOUIL, Y. M., CORABOEUF, E., FROMENTY, D., WALLON, B. et TRICOCHÉ, R. Modifications des électrogrammes cardiaques intracellulaires par quelques inhibiteurs du métabolisme. *C. R. Soc. Biol.* 153: 1455-1458, 1959.
- 39 GARGOUIL, Y. M., TRICOCHÉ, R., WALLON, G. et CORABOEUF, E. Relations entre l'activité électrique intracellulaire et le mécanogramme ventriculaire global du coeur de Rat refroidi. Influence du Rythme. *C. R. Soc. Biol.* 153: 1832-1837, 1959.
- 40 GARGOUIL, Y. M., Relations entre l'activité électrique cellulaire et globale du coeur et certains aspects de son métabolisme Poitiers, France. Thèse en Science.
- 41 GARGOUIL, Y. M. Comunicación Personal. Poitiers, Francia, 1967.
- 42 GASKELL, W. H. On the innervation of the heart, with special reference to the heart of the tortoise. *J. Physiol.* (London) 4: 43-127, 1863.
- 43 GELOSO, J. P. Date de l'entrée en fonction de la thyroïde chez le foetus de Rat. *C. R. Soc. Biol.* 155: 1239-1244, 1961.
- 44 GUTHRIE, D., A history of medicine. Great Britain. J. B. Lippincot Co. Phila. 1946.

- 45 HARVEY, W. *Excercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in animalibus* "Anatomical studies on the motion of the heart and blood", Traduction by Leake, C.D. 3rd. Ed. Springfield Ill. Charles C. Thomas, publisher 1949.
- 46 HAUGE, A. and ØYE, I. The action of adrenaline in cardiac muscle II. Effect on oxygen consumption in the asystolic perfused Rat heart. *Acta Physiol. Scand.* 68: 295-303, 1966.
- 47 HETCH, H. H. Normal and abnormal transmembrane potentials of the spontaneously beating heart, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 65: 700-734, 1957.
- 48 HODGKIN, A. L. The Nervous impulse as an electrical stimulus. *J. Physiol. (London)* 89: 11p. 1936.
- 49 HODGKIN, A. L. Evidence for electrical transmission in nerve Part I. *J. Physiol. (London)* 90: 183-210, 1937.
- 50 HODGKIN, A. L. Evidence for electrical transmission in nerve. Part II. *J. Physiol. (London)* 90: 211-232, 1937.
- 51 HODGKIN, A. L. and KATZ, B. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol. (London)* 108: 37-77, 1949.
- 52 HODGKIN, A. L. and HUXLEY, A. F., Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of LOLIGO. *J. Physiol. (London)*, 116: 449-472. 1952.
- 53 HODGKIN, A. L. and HUXLEY, A. F. The components of membrane conductance in the giant axon of LOLIGO, *J. Physiol. (London)* 116: 473-496, 1952.
- 54 HODGKIN, A. L. and HUXLEY, A. F. The dual effect of membrane potential on sodium conductance on the giant axon of LOLIGO. *J. Physiol. (London)* 116: 497-506, 1952.
- 55 HODGKIN, A. L. and HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol. (London)* 117: 500-544, 1952.
- 56 HODGKIN, A. L., HUXLEY, A. F. and KATZ B. Measurement of current voltage relations in the membrane of giant axon of LOLIGO. *J. Physiol. (London)* 116: 424-448, 1952.
- 57 HOFFMAN, B. F. and SUCKLING, E. E. Cellular potentials of intact mammalian hearts *Am. J. Physiol.* 170: 357-362, 1952.
- 58 HOFFMAN, B. F. and SUCKLING, E. E. Cardiac cellular potentials: Effect of vagal stimulation and acetylcholine. *Am. J. Physiol.* 173: 312-319, 1953.
- 59 HOFFMAN, B. F., SIEBENS, A. A., CRANFIELD, P. F., McBROOKS, C. The effect of epinephrine and Norepinephrine on Ventricular vulnerability. *Circulation Res.* 3: 140-146, 1955.

- 60 HOFFMAN, B.F., SUCKLING, E.E. and McBROOKS, C. Vulnerability of the Dog Ventricle and effects of defibrillation. *Circulation Res.* 3: 147-151, 1955.
- 61 HOFFMAN, B.F., KAO, C.Y. and SUCKLING, E.E. Refractoriness in cardiac muscle. *Am. J. Physiol.* 190: 473-482, 1957.
- 62 HOFFMAN, B.F., PAES DE CARVALHO, A., MELLO, W.C. and CRANEFIELD, P.F. Electrical activity of single fibers of atrioventricular node. *Am. J. Physiol.* 7: 11-19, 1959.
- 63 HOFFMAN, B.F. and CRANEFIELD, P.F. *Electrophysiology of the heart* New York, McGraw-Hill, Book Co. Inc. 1960, p.p. 323.
- 64 HOFFMAN, B.F. Physiology of atrioventricular transmission. *Circulation*, 24: 506-517, 1961.
- 65 HOFFMAN, B.F. Atrioventricular conduction in mammalian hearts. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 127: 105-112, 1965.
- 66 HOLLANDER, P.B. and WEBB, J.L. Cellular membrane potentials and contractility of normal Rat Atrium, and the effects of temperature, tension and stimulus frequency. *Circulation Res.* 13: 604-612, 1955.
- 67 HUTTER, D.F. and TRAUTWEIN, W. Vagal effects on the sinus venous of the frogs' heart. *J. Physiol. (London)* 129: 48p. 1955.
- 68 JAMES, T.N. Anatomy of the human sinus node *Anat. Rec.* 141: 109-139, 1961.
- 69 JAMES, T.N. Morphology of the human atrioventricular node with remarks pertinent to its electrophysiology. *Am. Heart J.* 62: 756-771, 1961.
- 70 JAMES, T.N. The connecting pathways between the sinus node and A-V node, and between the right and left atrium in the human heart. *Am. Heart J.* 66: 498-508, 1963.
- 71 KAYSER, CH., CORABOEUF, E., GARGOUIL, Y.M. Recherches sur la repolarisation du myocarde chez différents mammifères homeothermes et hibernants on hypothermie. *C.R. Soc. Biol.* 150: 1789-1792, 1956.
- 72 KENNARD, D.W., Glass microcapillary electrodes used for measuring potential in living tissues. Pag. 534-565. En: Donaldson, P.E.K. Electronics apparatus for biological research (London) Butterworths scientific publications, 1958.
- 73 KENT, A.F.S. Researches on the structure and function of the mammalian heart. *J. Physiol. (London)* 14: 233-254, 1893.
- 74 KOLLIKER Y MÜLLER, H. NACHWEISS. Der negation Schwankung des muskels trome am natürlich sich contrahierenden muskel (1856) En: Gargouil, Y.M. (1958) Relations entre l'activité électrique cellulaire et globale du coeur et certains aspects de son metabolisme Poitiers, France. Thèse en Sciences.

- 75 KRAYER, D., MANDOKI, J. J. and MENDEZ, C. Studies on veratrum alkaloids XVI. The action of the epinephrine and of veratramine on the functional refractory period of the auriculoventricular transmission in the heart lung preparation of the dog. *J. Pharmacol. and Exper. Therap.* 103: 412-419, 1951.
- 76 LEAKE, C. O. The historical development of cardiovascular physiology. *En: Handbook of Physiol. Circulation, Vol. 1, Washington, D.C. 1962.* Editor. Am. Physiol. Society. Pags. 11-22.
- 77 LENFANT, J., GARGOUIL, Y. M. et TRICOCHÉ, R. Hormones thyroïdiennes et électrogénèse du centre de l'automatisme cardiaque du Lapin. *J. Physiol. (Paris)* 58: 1966, 1966.
- 78 LEPESCHKIN, E. The configuration of the T wave and the ventricular action potential in different species of mammals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 127: 170178 Sept. 8, 1965.
- 79 LEWIS, TH. The mechanism and graphic registration of the heart beat. 3rd. Ed. London, Shaw & Sons, Ltd. 1925.
- 80 LING, G. Effect of stretch on membrane potential in frog muscle. *Fed. Proc.* 7: 72, 1958.
- 81 LOMBARD, C. A. Electrocardiograms of small mammals. *Am. J. Physiol.* 171: 189-193, 1952.
- 82 MANIEY, J. Variations de la teneur en potassium du plasma de fœtus de Rat au cours des derniers jours de la gestation. *C.R. Soc. Biol.* 155: 1440-1443, 1961.
- 83 MEEK, W. J. and EYSTER, J. A. E. The course of the wave of negativity which passes over the tortoise's heart during the normal beat. *Amer. J. Physiol.* 31: 31-46, 1912.
- 84 MEEK, W. J. and EYSTER, J. A. E. Electrical changes in the heart during vague stimulation. *Am. J. Physiol.* 30 (3): 271-277, 1912.
- 85 MOE, G. K., PRESTON, J. B. and BURLINGTON, H. Physiological evidence for a Dual A-V transmission system. *Circulation Res.* 4: 357-375, 1956.
- 86 MONNEREAU-SOUSTRE, H. Polarization de la fibre ventriculaire cardiaque chez le Rat surrenectomisé influence de quelques corticoïdes. *C.R. Soc. Biol.* 159: 1209-1213, 1965.
- 87 MOORE, E. N. Atrioventricular transmission in newborn calves. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 127: 113-126, 1965.
- 88 MOORHOUSE, V. H. K. The relationship of the sino-auricular node to auricular rhythmicity. *Am. J. Physiol.* 30 (4): 358-368, 1912.
- 89 NAGATA, T. An experimental study on the conduction of excitation in the A-V nodal region (Rabbit) *Japan Circ. J.* 30: 1507-1527, Dec. 1966.
- 90 PACKCHANIAN, A. and ROBINSON, A. Electrocardiographic studies in experimental Chaga's disease in mice. *Texas Rep. Biol. and Med.* 16: 363-380, 1958.

- 91 PAES DE CARVALHO, A: Cellular electrophysiology of the Atrial specialized tissues. En: The specialized tissues of the heart. Amsterdam, Holanda. Elsevier publishing. 115-131, 1960.
- 92 PAES DE CARVALHO, A. Excitacao cardiaca: Algunos aspectos electrofisiológicos. Instituto de Biofísica, Río de Janeiro, Brazil, 1961. Tesis doctoral.
- 93 PAES DE CARVALHO, A. Uma hipótese dualista do potencial de acao cardiaco: Experimentos introductorios. Río de Janeiro, Brazil, 1964, Tesis de libre docencia.
- 94 PAES DE CARVALHO, A. Role of potassium ions in the electrophysiological behavior of mammalian cardiac muscle. Electrolytes and cardiovascular diseases. Ed. by E. Bajusz, N.Y. pp. 55-69, 1965.
- 95 PAES DE CARVALHO, A., HOFFMAN, B.F., LANGAN, W.B. Two components of the cardiac action potential. Nature, 211: 938-940, 1966.
- 96 PAES DE CARVALHO, A. Excitation of the Atrio ventricular node during normal rhythm. Effects of acetylcholine. En: L.S. Dreifus, au Likoff Ed. Mechanisms and Therapy of Cardiac Arrhythmias. pp. 341-352.
- 97 PRUITT, R.D. and ESSEX, H.E. Potentials changes attending the excitation process in the atrioventricular conduction system of Bovine and Canine hearts. Circulation Res. 8: 149-174, 1960.
- 98 RICHARDS, A.G., SIMONSON, E. and VISSCHER, M.B. Electrocardiogram and Phonogram of adult and newborn mice under the effect of cooling hypoxia and potassium. Am. J. Physiol. 174: 293-298, 1953.
- 99 ROBB, J.S. and PETRI, R. Expansions of the atrioventricular system En: The specialized tissues of the heart. Elsevier publishing Ed. Hoffman, B.F., Paes de Carvalho, A., de Mello, W.C., p. 1-20, 1960.
- 100 RODRIGUEZ, M.I., ANSELMINI, A., y SODI PALLARES, D. Activación de las paredes libres ventriculares I. Activación endocárdica. Arch. Inst. Cardiol. México, 23: 624-648, 1953.
- 101 RODRIGUEZ, M.I., SODI PALLARES, D., ANSELMINI, A. Activación de las paredes libres ventriculares II. Activación del espesor de las paredes libres. Arch. Inst. Cardiol. México, 23: 756-778, 1953.
- 102 RODRIGUEZ, M.I., y MENDEZ, R. Acción de la quinidina y de la procainamida sobre la excitabilidad, la conducción y el período refractario del corazón de mamífero. Arch. Inst. Cardiol. Méx. 24: 456, 1954.
- 103 RODRIGUEZ, M.I., SCHER, A.M. A-V nodal conduction. Fed. Proc. 17: 17-134, 1958.
- 104 RODRIGUEZ, M.I. The effect of temperature on the evolution of experimental chagas myocarditis. Fed. Proc. 24: 136, 1955.
- 105 RODRIGUEZ, M.I. y COL. Las discontinuidades en la conducción intracardíaca Acta Physiol. Lat. 16: 243-269, 1966.

- 106 ROPES, M.W., BENNET, G.A., BAUER, W. The origin and nature of normal sinovial fluid. *J. Clin. Invest.* 18: 351-372, 1939.
- 107 ROSEMBLUETH, A. Functional Refractory Period of cardiac tissues. *Am. J. Physiol.* 194: 171-183, 1958.
- 108 ROSEMBLUETH, A. Two processes for auriculoventricular and ventriculoauricular propagation of impulses in the heart. *Am. J. Physiol.* 194: 495-498, 1958.
- 109 RUCH, TH. C. and PATTON, H.D. *Physiology and Biophysics.* 19th Philadelphia, Saunders Co. 1965, pp. 1-68.
- 110 SANO, T., TASAKI, M., SHIMAMOTO, T. Histologic Examination of the Origin of the Action Potential Characteristically Obtained from the Region Bordering the Atrio-Ventricular Node. *Circulation Res.* 7: 700-704, 1959.
- 111 SCHER, A. M., YOUNG, A. C. Spread of excitation during premature ventricular systoles. *Circulation Res.* 3: 535-542, 1955.
- 112 SCHER, A. M., YOUNG, A. C., MALMGREN, A. L. and ERICKSON, R. V. Activation of the interventricular septum. *Circulation Res.* 3: 56-64, 1955.
- 113 SCHER, A. M. Direct recording from the A-V conducting system in the dog and monkey. *Science.* 121: 398-399, 1955.
- 114 SCHER, A. M., LIKANE, J., RODRIGUEZ, M. I. and YOUNG, A. C. Slow potentials change in the atrioventricular node. *Science.* 127: 873-874, 1958.
- 115 SCHER, A. M., RODRIGUEZ, M. I., LIKANE, J. and YOUNG, A. C. The mechanisms of atrioventricular conduction. *Am. J. Physiol.* 7: 54-61, 1959.
- 116 SCHLOMOVITS, B. H., EYSTER, J. A. E. and MEEK, W. J. The relation of the nodal tissue to the chronotropic influence of the inhibitory cardiac nerves. *Am. J. Physiol.* 37: 177-202, 1915.
- 117 SCHLOMOVITS, B. H. and CHASE, C. S. Localization of a primary pacemaker in the turtle's heart. *Am. J. Physiol.* 41: 112-124, 1916.
- 118 SODI PALLARES, D., ANSELMI, A. y RODRIGUEZ, M. I. Activación de las paredes libres ventriculares III. Activación epicárdica. *Arch. Inst. Cardiol. México.* 24: 3-25, 1954.
- 119 STANNIUS, H., ZWEI, Reihen physiologischer Versuche, *Arch. Inst. Physiol. Mullers Arch.* 1852 En: Paes de Carvalho. Tesis doctoral. Exitacao cardiaca. Alguns aspectos electrofisiológicos. Rio de Janeiro, Brazil. 1961.
- 120 TRICOCHÉ, R., LAPLAUD, J. and GARGOUIL, Y. M. Action de l'acétylcholine sur l'activité électrique et mécanique ventriculaires du coeur de Rat en hypothermie C. R. *Soc. Biol.* 154: 1061, 1960.

- 121 TRUEX, R.C. and SMYTHE, M.C. Comparative morphology of the cardiac conduction tissue in animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 127:19-33, 1965.
- 122 VAN DAM, R.T., MOORE, E.N., HOFFMAN, B.F. Initiation and conduction of impulses in partially depolarized cardiac fibers. *Am. J. Physiol.* 204: 1133-1144, 1963.
- 123 VAN DER KOIL, M.W., DURRER, D., VAN DAM, TH. and VAN DER TWEEL, L.H. Electrical activity in sinus node and atrioventricular node. *Am. Heart J.* 51: 684-700, 1956.
- 124 WALLON, G., CORABOEUF, E. et GARGOUIL, Y.M. Relation entre mécanogramme localisé et électrogramme cardiaque intracellulaire sur le coeur de mammifères isolé. Effect inotrope positif des contractions préalables. *C.R. Soc. Biol.* 153: 1451-1455, 1959.
- 125 WALLON, G., CORABOEUF, E. and GARGOUIL, Y.M. Enregistrement simultané de l'électrogramme cardiaque intracellulaire et du mécanogramme sur le coeur isolé des mammifères. *C.R. Soc. Biol.* 153: 826-829, 1959.
- 126 WALLON, G., CORABOEUF, E. et GARGOUIL, Y.M. Relation entre l'activité électrique et l'activité mécanique du coeur isolé de mammifère, perfusé per una solution sans sodium. *C.R. Soc. Biol.* 153: 1575-1579, 1959.
- 127 WARE, F., BENNET, A.L., McINTYRE, A.R. Membrane potentials in normal, isolated, perfused frog hearts. *Am. J. Physiol.* 190: 194-200, 1957.
- 128 WEBB, J.L. and HOLLANDER, P.B. The action of acetylcholine and epinephrine on the cellular membrane potentials and contractility of Rat Atrium. *Circulation* 4: 332-336, 1956.
- 129 WEIDMANN, S. Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle. *J. Physiol. (London)* 115: 227-236, 1951.
- 130 WEIDMANN, S. The electrical constants of Purkinje fibres. *J. Physiol. (London)* 118: 348-360, 1952.
- 131 WEIDMANN, S. Effect of calcium ions and local anaesthetics on electrical properties of Purkinje fibers. *J. Physiol. (London)* 129:568- 582, 1955.
- 132 WEIDMANN, S. The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system. *J. Physiol. (London)* 127: 213-224, 1955.
- 133 WEIDMANN, S. Shortening of the cardiac action potential due to a brief injection of KCL following the onset of activity. *J. Physiol. (London)* 132: 157-163, 1956.
- 134 WEIDMANN, S. Resting and action potentials of cardiac muscle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 65: 663-678, 1957.

- 135 WEIDMANN, S. Membrane excitation in cardiac muscle. *Circulation* 24: 499-505, 1961.
- 136 WEIDMANN, S. Cardiac muscle. The functional significance of the intercalated disks. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 137: 540-542, 1966.
- 137 WEST, T.C. Ultramicroelectrode recording from the cardiac pacemaker. *J. Pharmacol. and Exper. Ther.* 115: 283-290, 1955.
- 138 WEST, T.C. Auricular cellular potentials: ultramicroelectrode recording of drug effects on nodal and extranodal regions. *Fed. Proc.* 14: 393, 1955.
- 139 WIGGERS, C.J., WEGRIA, R. Ventr. Fibr. due to single localized ind. and cond. shock applied during vulnerable phase of cardiac cycle. *Am. J. Physiol.* 128: 500-5, 1939.
- 140 WOODBURY, L.A., HECHT, H.H., CHRISTOPHERSON, A.R. Membrane resting and action potentials of single cardiac muscle fibers of the frog ventricle. *Am. J. Physiol.* 164: 307-318, 1951.
- 141 WOODBURY, J.W. Recording central nervous activity with intracellular ultramicroelectrodes: use of negative capacity amplifier to improve transient response. *Fed. Proc.* 12: 159, 1953.
- 142 WOODBURY, J.W. and BRADY, A.J. Intracellular recording from moving tissues with a flexibly mounted ultramicroelectrode. *Science.* 123: 100-101, 1956.