



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Electrofisiología de las Células Cardíacas del Corazón
de los Peces (Carassius Auratus)**

T E S I S

Que para obtener el título de:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

p r e s e n t a :

JUAN ARMANDO LOPEZ CASTAÑÓN

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Índice.

	Pág.
INTRODUCCION	1
Factores físicos	1
a) La temperatura	1
b) La luz	3
c) Los movimientos de las aguas	5
Factores químicos.	6
a) Composición química (sales).	6
b) Disolución de gases.	9
c) Concentración de iones hidrógeno (pH).	11
MOTIVOS DEL PRESENTE ESTUDIO	14
MÉTODOS.	16
A.- Anatomía del sistema cardiovascular de los peces.	16
B.- Procedimientos experimentales	23
C.- Métodos de registro	27
RESULTADOS EXPERIMENTALES.	32
Los potenciales cardíacos	32
La actividad espontánea de los músculos cardíacos del <i>C. auratus</i> bajo condiciones experimentales de control	34
Características de las membranas de las diferentes células cardíacas, desde el punto de vista eléctrico	55
Efectos producidos por los cambios extracelulares del pH.	37
A) Sobre el intervalo aurículo-ventricular.	37
B) Sobre la frecuencia espontánea de contracción	37

	Pág.
C) Sobre la depolarización lenta de los potenciales de acción de las células marcadoras del paso del seno venoso.	40
D) Sobre el potencial de membrana de reposo	40
E) Sobre el umbral de estimulación.	41
F) Sobre la velocidad de conducción	42
Efectos de la hipoxia	42
Efectos de las diferentes concentraciones de los iones K^+ , Na^+ y Ca^{++}	44
Efecto de los digitálicos	44
 DISCUSION.	 46
La concentración de hidrogeniones	48
Los potenciales cardíacos	51
El intervalo aurículo-ventricular	53
La frecuencia espontánea bajo condiciones normales.	54
PMR de las células cardíacas.	56
El aumento de la frecuencia producido por las soluciones alcalinas.	59
La hipoxia.	69
 RESUMEN.	 71
 CONCLUSIONES	 74
 BIBLIOGRAFIA	 75

INTRODUCCION

INTRODUCCION.

Es sabido que las características físicas, químicas y fisicoquímicas de las aguas de la tierra modifican activamente las funciones biológicas de los peces y por lo tanto influyen en el desarrollo y distribución geográfica de ésta especie. Una de las particularidades más importantes de la dinámica de los sistemas acuáticos es que permite que los cambios antes mencionados tengan lugar en forma lenta, favoreciendo así la adaptación de las especies. Ya que la sobrevivencia de los peces está determinada por la interacción de ellos con las características del hábitat, es conveniente mencionar, aunque sea en forma general, los factores más sobresalientes que influyen en el crecimiento, desarrollo y reproducción.

Factores Físicos.

Dentro de los factores físicos destacan: a) la temperatura; b) la luz; c) los movimientos de las aguas.

a) La temperatura. Es un hecho de observación general que es raro encontrar peces en aguas con temperaturas encima de 25° - 30° C. (Davenport, 1897). En vista de que el Carassius auratus vive en zonas subtropicales y tropicales, la banda de temperaturas óptimas está entre 18° y 26° C. Ya sea por arriba o por abajo de estos límites podemos observar que los procesos vitales de estos peces se aceleran al aumentar la temperatura y se hacen lentos en

el caso contrario. Podemos mencionar por ejemplo; que a temperaturas bajas (8° - 15°C) la producción de anticuerpos disminuye (Amlacher, 1964) facilitando así las enfermedades producidas por el ataque de hongos, crustáceos y algunos infusorios.

La temperatura es igualmente importante para las funciones reproductoras ya que, una de las especies del género Carassius, la Carpa de Israel desova en la primavera en aguas templadas, en el verano en las aguas frías y durante todo el año en aguas cálidas. La temperatura apropiada para su cultivo es de 18° a 24°C . El desove comienza cuando la temperatura tiene un mínimo de 18°C y la actividad sexual empieza a declinar cuando la temperatura sube a 26°C y cesa por completo cuando ésta alcanza los 28°C (Bardach, 1972). Por otro lado abajo de los 13°C se reduce el grado de crecimiento del pez y a los 0°C suspende su alimentación.

Los peces y los invertebrados marinos mueren a temperaturas inferiores que los insectos o los mamíferos. Los animales superiores son capaces, en cierto grado, de mejorar su resistencia al calor, por medio de sus mecanismos de termoregulación. La evaporación que ocurre en los pulmones es factor importante. Todos los animales que poseen pulmones pierden calor por causa de la evaporación de agua que tiene lugar en las extensas superficies de estos órganos, también se pierde calor por evaporación en la piel (Adolph, 1943).

La muerte por el calor puede depender, no sólo del efecto sobre las proteínas, sino de la acción sobre las grasas o lípidos de la célula. Es un hecho notable el que los animales y vegetales que viven a temperaturas bajas, tengan grasas con puntos de fusión inferiores a las de -

aquellos que viven en temperaturas altas. Así, a las temperaturas ordinarias de laboratorio, las grasas de los peces son por lo general líquidas, y las de las aves y de los mamíferos son sólidas.

La adaptación que el Carassius auratus tiene a la gran banda de temperaturas antes mencionada tiene que ocurrir en forma lenta, ya que en repetidas ocasiones se ha observado que el rápido calentamiento o enfriamiento puede ser fatal. Cabe aquí recordar que los peces son considerados organismos poiquiloterms y por lo tanto se comportan como otros miembros de este grupo, duplicando rápidamente su tasa metabólica cuando se someten a incrementos de temperatura de 10°C (Sumich, 1980). La temperatura de las aguas determina además la migración y distribución geográfica de los peces. Este hecho resulta trascendente en la economía de un país.

b) La luz, es un factor ecológico muy importante en la vida de los peces. Sus efectos pueden ejercerse directa o indirectamente. La incidencia de los rayos luminosos sobre la retina y sobre el tegumento ejemplifican los efectos directos. En referencia a la visión es bien conocida la alta sensibilidad de los bastones retinianos a la luz, ya que Hecht, Schlaer y Pirrenne (1942) demostraron que un solo bastón es capaz de responder a la más pequeña unidad de luz o sea a un fotón. Como las etapas iniciales de la visión son fundamentalmente reacciones fotoquímicas, no es de extrañar que el factor luz afecte los pigmentos específicos que poseen los conos y los bastones de los peces. Aunque todavía no se conocen en detalle los procesos a través de los cuales, los cambios químicos pueden transformarse en señales eléctricas que

excitan al nervio óptico, lo que sí sabemos es que las señales del nervio óptico, son de tres clases a saber: respuesta de "on" o de apertura, respuesta de "off" o de cierre y una respuesta combinada de "on-off". La retina del pez dorado (Carassius auratus) tiene su más bajo -- umbral para las respuestas a la apertura en el espectro azul, y para las respuestas al cierre en la porción roja del espectro, indicando que este tipo de codificación de la función receptora equivale a una aguda visión de contraste, que permite una fina discriminación de los -- movimientos del pez. (Wagner, MacNichol y Wolbarsht, -- 1960).

La coloración externa de los peces varía de acuerdo con el grado de transparencia o turbidez de las aguas, ya que los haces luminosos llegarán al tegumento con mayor o menor intensidad de acuerdo a los filtros que se -- les interpongan. Como en el caso de la retina, la coloración de la piel del pez esta determinada además por la cantidad y calidad de sus pigmentos. Las variedades de -- coloración de la piel var desde los peces albinos que no tienen pigmentos, hasta los peces muy negros con exceso de pigmentación. Entre otras características, la uniformidad del color también depende de la interacción de la luz y los pigmentos, siendo el Carassius un buen ejemplo de uniformidad del color dorado que posee. La coloración de la piel aparte de ser usada como un disfraz para pa-- sar desapercibidos también cubren otras funciones como son la de la comunicación con sus congéneres o con otras especies (Lagler, 1977). No hay duda que la coloración externa sirve en ocasiones para la identificación recí-- proca del macho y la hembra para el apareamiento sexual y desde luego influye en la reproducción. La luz también

afecta el ciclo sexual de los peces. (Hoover, 1937).

Entre los efectos indirectos de la luz, se pueden mencionar los movimientos de migración, las estaciones para la reproducción, así como el grado y patrón de crecimiento. La luz influye también importantemente en los hábitos alimenticios y sobre todo como fuente directa de la energía aprovechada, de ahí que las regiones en donde la intensidad de la luz es suficiente para producir una buena fotosíntesis sea considerada como una zona trofogénica. Se ha observado que en general, las zonas trofogénicas se localizan en la superficie y hasta unos 200 metros de profundidad de las aguas marinas.

c) Los movimientos de las aguas, la influencia de los movimientos de las aguas queda determinada por la velocidad de mezcla y difusión de las partículas suspendidas en las aguas, así como por la intensidad de las corrientes generadas por dichos movimientos. La más sobresaliente función de los movimientos de las aguas es mantener el equilibrio de la temperatura y de la oxigenación, ya que el calor solar es distribuido en el agua a través de los movimientos que pueden ser originados por las olas, las corrientes verticales, los remolinos, etc. Es obvio que las corrientes ayudan a transportar los organismos pequeños que finalmente constituyen los elementos nutritivos y por otro lado alejan los cuerpos o sustancias tóxicas que afectarían a los peces. Además hay una relación estrecha entre la fuerza de las corrientes y la distribución de los peces, o sea que en general a una fauna pobre corresponde una fuerte corriente. (Sumich, 1980).

Factores Químicos. -

Entre los factores químicos más sobresalientes tenemos: a) Composición química (sales); b) Disolución de gases; c) Concentración de iones hidrógeno (pH).

a) Composición química. No mencionaremos aquí la estructura química del agua, sino el tipo y cantidad de sales y nutrientes que ésta contiene y que influyen en las funciones metabólicas y de desarrollo de los peces.

Entre los factores químicos y nutrientes que se encuentran disueltos en las aguas, se incluye el dióxido de carbono que es utilizado para la fotosíntesis de la flora acuática y en otros organismos fotosintéticos que entrarán posteriormente en la cadena alimenticia de los peces: el magnesio, el calcio, los carbonatos y los silicatos, que son importantes componentes en la formación del esqueleto de los peces; los nitratos y los fosfatos que son requeridos por las plantas para la síntesis de material orgánico, que viene siendo otra fuente de alimentación de los peces. Por otro lado contamos con la presencia de elementos que son indispensables en la vida de los peces, como son el sodio, el potasio y el cloro. Así, es sabido que los líquidos que rodean a los organismos y a las células son, ante todo, soluciones salinas, cuya presión osmótica es debida principalmente a los iones que llevan disueltos.

Es casi indudable que la vida de este planeta comenzó en el mar. Quizá sea a causa de este origen, por lo que los fluidos corporales se caracterizan por contener

Las sales comunes del agua de mar, a menudo en las mismas concentraciones relativas, por más que el contenido salino total de la sangre de los animales superiores sea decididamente más bajo que el del agua de mar ordinaria.

En el agua de mar, sin que importe de dónde provenga o la concentración que tenga, las relaciones entre el Na, el Ca, el K y el Mg son por lo general las mismas.-- También en los líquidos corporales de los animales, los iones sodio, calcio y potasio guardan entre sí, aproxima la misma relación y solo se ven variaciones considerables en lo referente al magnesio. Mencionaremos ahora algunas de las características más sobresalientes de estos elementos así como las funciones en que participan.

Sodio.- De los diversos cationes que contiene el -- agua de mar o los líquidos corporales, el sodio es el que se halla a mayor concentración. Es obvio que la mayor parte de la presión osmótica del medio que rodea a una célula, es debida a las sales de sodio. Así, "el cloruro de -- sodio puede ser en parte reemplazado en el medio, por -- cualquier no electrolito que no penetre a las células y -- que sea fisiológicamente inerte, con tal que, por adi-- ción de sacarosa la presión osmótica sea mantenida" (Clark, 1927).

Sin embargo la acción del ión sodio no es únicamente osmótica, pues ejerce otras acciones sobre muchos tipos de material viviente. Uno de los más importantes es su participación en el mantenimiento de la diferencia de potencial eléctrico a los lados de la membrana celular así como en la generación y conducción de los impulsos elctri-

cos de la mayor parte de los tejidos excitables. Las soluciones de las sales de sodio puro son claramente tóxicas ya que afectan seriamente diferentes funciones de varios organismos. (véase Heilbrunn pp. 619).

Potasio.- Se halla a concentraciones mucho menores que el sodio, tanto en el agua de mar como en los líquidos corporales, y por lo mismo no es tan importante como fuente de presión osmótica, sin embargo hoy en día está ampliamente demostrado el papel del potasio como factor responsable del mantenimiento de los potenciales eléctricos de reposo de las membranas celulares de la gran variedad de estructuras excitables que habitan las aguas (Bernstein, J., 1902; Conway, F.J., 1957; Hodgkin, A.L., and R.D. Keynes, 1953).

Calcio.- Tiene como propiedad característica, su tendencia a formar compuestos insolubles. De las sales de calcio, muchas son insolubles, pero desde el punto de vista biológico, a lo que se concede mayor importancia es a los geles o jaleas que origina la presencia de dicho ión, tales como el pectato o caseinogenato de calcio. La coagulación de dos líquidos biológicos importantes, la sangre y la leche, dependen estrechamente del ión calcio. La acción coagulante del ión calcio es importante, tanto en el exterior como en el interior de la célula. Si falta el calcio, las células tienden a separarse unas de otras. Ya que el cemento que los mantiene unidas debe en gran parte su firmeza a la presencia del calcio.

Característica esencial del ión calcio, en su facul

tad de contrarrestar las propiedades tóxicas del sodio y del potasio, bastando a veces para ello, ponerlo en muy pequeña cantidad (Sainsbury, 1894). De modo general, el ión calcio es el principal antagonista de los otros iones. En ausencia del calcio, todos los tipos de músculo pierden su facultad de contraerse. Así también las fibras nerviosas, pierden la facultad de responder a la excitación cuando falta el calcio. (Rubinstein, 1928).

b) Disolución de gases. La solubilidad de los gases en el agua de los mares es función de la temperatura, aumentando esta solubilidad a bajas temperaturas. Por otra parte, se sabe que la solubilidad de los gases atmosféricos en las aguas es muy limitada. Los gases más abundantes disueltos en los mares son el nitrógeno, bióxido de carbono y oxígeno, (Sumich, 1980), siendo el nitrógeno considerado como gas inerte en cuanto a su participación en los procesos básicos de la vida. Por otro lado el CO_2 y el O_2 son muy activos desde el punto de vista metabólico. El bióxido de carbono y el agua son utilizados por las plantas verdes en la fotosíntesis para la producción de oxígeno y azúcares. Así también el bióxido de carbono en asociación con el agua forma el ácido carbónico, que debido al movimiento continuo de las aguas no se acumula en grandes cantidades, las cuales en cierto momento podrían alcanzar niveles tóxicos para los organismos acuáticos, (Lagler, 1956).

El bióxido de carbono en altas concentraciones causa dificultades en la respiración a pesar de que las concentraciones de oxígeno sea elevadas. El metabolismo activo decrece en presencia de altos niveles de CO_2 y las con-

centraciones de oxígeno disueltos se disminuyen proporcionalmente en el medio. La respuesta a un incremento de CO_2 , en relación al metabolismo activo, está en proporción logarítmica directa, (Basu, 1958).

Al disminuir el metabolismo activo baja la tasa de crecimiento y actividad del pez, por lo que éste factor puede ser determinante en el cultivo de las especies.

La concentración de oxígeno en el agua depende de factores ambientales y de la altitud, a mayor altitud menor concentración de oxígeno. La temperatura juega también un papel muy importante en la concentración, a mayor temperatura menor concentración de oxígeno. La máxima saturación esperada en los sistemas de cultivo de los peces es de 90%. La concentración de oxígeno en sistemas de cultivo intensivo debe de ser mayor de 3.0 mg/l.

El oxígeno disuelto en el agua es requerido para la respiración y liberación de energía de los alimentos. La abundancia y cantidad de oxígeno en los mares influye marcadamente en la distribución de la vida acuática.

Por lo general, los vertebrados consumen oxígeno a velocidad constante, sin que importe la proporción a que se encuentra dicho gas en el medio que los rodea, a menos que la concentración del oxígeno se haga muy baja, lo cual ocasionaría un descenso en la actividad respiratoria, (Knogh, 1916; Hyman, 1929; Tana, 1933; Harnisch, 1937).

Para determinar cualquier deficiencia de oxígeno, se emplea el término "anoxia" (Van Liere, 1942). Se reconocen varios tipos de anoxia, pues la falta de oxígeno para las células, puede ser debida a falta de oxígeno en el medio, a falta de hemoglobina, o a incapacidad de las células mismas que los tejidos para utilizar el oxígeno existente en la sangre circulante. Tanto en los vertebrados como en los invertebrados, puede combatirse la anoxia, aumentando la ventilación (Jordan y Guittart, 1938).

c) Concentración de iones hidrógeno (pH). Las aguas de los lagos y los estanques varían ampliamente en concentración de hidrogeniones. El pH del agua dulce puede variar desde 3.2 a 10.6. La acidez extrema puede ser debida a los ácidos propios del humus.

Los cambios de pH no sólo se presentan en las aguas de una región comparada con otra, sino que para un mismo lago o estanque hay variaciones, ya que se ha descrito un ritmo bien definido de los cambios de pH de un estanque que ocurren a lo largo de las 24 horas del día, - el pH tiene un máximo al medio día y un mínimo en la madrugada. Las diferencias pueden ser tales que a las 12 del día tienen un pH de 9.5 y a las 5 de la mañana pueden llegar a ser de 7.7 (Snieszko, S.F. y Axelrod, H.R., 1971).

La mayor parte de las células son aparentemente poco sensible a los cambios de pH, (Heilbrunn, L.V., 1944). En general, la escasa sensibilidad de los sistemas vivos ante los cambios de concentración de hidrógeno

nes, puede ser atribuida al hecho de que los dos iones, hidrógeno e hidróxilo, penetren muy lentamente. Si así ocurre hay probabilidades de que sean neutralizados por los sistemas amortiguadores del protoplasma. Por otro lado, este mismo autor (Heilbrunn) menciona que la célula muscular lisa es relativamente permeable a los iones, por lo que, no es sorprendente que sea sensible especialmente a los cambios de pH. En ocasiones, la sensibilidad es tan grande, que los vasos sanguíneos responden a un cambio de 0.2 y aún de solo 0.05 de unidad de pH. Por lo general un aumento ligero en la acidez, produce vasodilatación de las arterias y de los capilares. Esto tiene significación fisiológica, ya que el ácido carbónico es producido en cantidades crecientes durante la actividad vigorosa de los tejidos.

La química fisiológica del balance ácido - base en los vertebrados puede dividirse adecuadamente en dos partes: 1) acción tampón, aquella que tiende a estabilizar el pH, impidiendo que se produzcan grandes variaciones en el mismo, por adición o pérdida de ácido o de base, y; 2) excreción o retención de ácidos y de bases. - Estos dos mecanismos operan simultáneamente. (Fernández, de la Vega, 1977).

Desde un punto de vista fisiológico, la capacidad de tamponamiento para cualquier organismo representa la cantidad de ácido que sus fluidos pueden aceptar antes de que se alcance el límite de pH inferior peligroso.

Es sabido que cada especie tiene una banda óptima de concentración de iones hidrógeno para su desarrollo.

En particular las carpas (*Cyprinus carpio*), se desarrollan en una banda óptima de pH 6.5 a 8.9 (Bardach, - 1973).

Davson y Reiner (1942) han observado que en muchos de los sistemas biológicos, la permeabilidad del sodio es mucho menor que la del potasio, probablemente debido a la mayor hidratación del ión sodio. Estas observaciones, así como que la permeabilidad del sodio es extremadamente sensible a cambios medioambientales, revelan que hay una temperatura y un pH óptimo para la permeabilidad del sodio, y que estas condiciones óptimas existen en un animal intacto, i. e., 33°C y un pH 7.2 - 7.4. -- Davson y Reiner concluyen que la penetración del sodio es mediada por una sustancia enzimática que será sensible a pH, temperatura, narcóticos, etc., mientras que la penetración del potasio es probablemente un simple proceso de permeabilidad.

MOTIVOS DEL PRESENTE ESTUDIO

MOTIVO DEL PRESENTE ESTUDIO

Se ha mencionado en la introducción que las aguas en las que viven los peces, poseen características muy variadas. Una serie de factores físicos y químicos son susceptibles de cambio y por lo tanto pueden afectar las funciones de los peces. Dentro de las variables químicas es de relevancia extrema el papel que juega el oxígeno de ahí que la primera variable que se analizó fue la diferente concentración de oxígeno. Los tejidos cardíacos aislados de un pez se escogieron para el estudio experimental. Desde las primeras etapas se observó que los efectos producidos por las diferentes concentraciones de oxígeno estaban acompañados de cambios en el pH.

En vista de que la solución de Rovainer usada para perfundir los tejidos de los peces contiene bicarbonato de sodio, es aconsejable el empleo de un gas, el bioxido de carbono para así constituir un sistema amortiguador y finalmente obtener el equilibrio ácido-básico. Este hecho limitaba importantemente el análisis arriba propuesto, ya que junto con las variaciones de oxígeno se alteraban -- también las concentraciones de la mezcla fija oxígeno--- bioxido de carbono con la cual se burbujeara el líquido de perfusión y esto finalmente producía invariablemente cambios en el pH. Aunque los cambios del pH producidos en esta forma son de pequeña magnitud (décimos de unidad) por sí solos bastan para modificar algunas de las propiedades del músculo cardíaco. Este hecho nos condujo a analizar primero los efectos producidos por los cambios de concentración de los hidrogeniones independientemente del factor oxígeno. Como hemos visto en los párrafos anteriores..

Hay investigadores que defienden la poca sensibilidad de algunos peces a los cambios de pH y otros por el contrario enfatizan la influencia decisiva de dichos cambios; de ahí que nuestro interés se dirigiera a las membranas celulares de las células cardíacas del pez Cara-ssius auratus para tratar de aclarar ese punto en dichos tejidos.

Algunos de nuestros experimentos iniciales revelaron una alta sensibilidad de la membrana celular para cambios muy pequeños del pH extracelular, por lo que se reforzó la idea de estudiar los efectos producidos por los hidrogeniones. Por otro lado al explorar la literatura, se encontró que los mecanismos a través de los cuales los cambios de pH operan no estaban ampliamente descritos y mucho menos en los peces.

Si se tiene en consideración que las aguas en las que viven los peces son susceptibles de cambios de su acidez o alcalinidad, inclusive durante el curso de un día, es importante que se conozcan las alteraciones fisiológicas de los peces producidas por los cambios del pH.

Es obvio que la ampliación del conocimiento de estas especies, frente a los cambios en el hábitat, trascienden en los aspectos ecológicos y económicos de una región o país. En el caso especial de México urgen estudios experimentales sobre los peces, ya que tanto la industria pesquera como la de los alimentos requieren de la información científica y tecnológica, sobre todo porque las estimaciones realizadas hasta ahora demuestran recursos muy ricos de la fauna acuática nacional.

M E T O D O S

METODOS

A.- Anatomía del sistema cardiovascular de los peces.

Puesto que en el presente estudio se va a experimentar con las células del sistema cardiovascular de los teleosteos, conviene hacer una revisión de éste desde el punto de vista anatómico e histológico. Cuatro cámaras en serie constituyen el corazón branquial de los elasmolobranquios y de los teleosteos: el seno venoso, la aurícula, el ventrículo y el cono arterioso o bulbo. (Romer, 1970; Kent, 1978).

El seno venoso. Es un delicado saco colector de la sangre venosa, en el cual se mezclan la sangre proveniente de las venas hepáticas con la de los conductos de Cuvier. En cuanto al tejido de particular interés, a saber: 1) El seno venoso de los teleosteos (*Pleuronectes platessa*) ha sido descrito por Santer y Cobb (1972), como una cámara de paredes delgadas y que está cubierta en su lado interno por una capa endotelial y en su lado externo por un mesotelio epicárdico. Su matriz es un tejido colágeno que contiene fibrocitos, haces localizados de células musculares cardíacas y un plexo de ganglios parasimpáticos. En ocasiones han sido observados también cromatóforos sobre todo en la región submesotelica del epicardio. En algunos teleosteos como la *Anquilla vulgaris* se han detectado en el seno venoso células musculares cardíacas que están irrigadas por numerosos vasos e innervadas densamente. Aparte de las células cardíacas, la anguilla contiene en su seno venoso algunas escasas células musculares lisas. En cambio en otros

representantes de la misma clase (osteichthyes) Carassius auratus y en la carpa Cyprinus carpio, las células musculares lisas predominan sobre las cardíacas, en tal forma que los músculos lisos parecen ser los únicos constituyentes del seno venoso. Esta última característica se confirma en las lochas (Misgurnus anguillicaudatus) y en la trucha café (Salmo trutta) y en el pez zebra (Zebra danio), Yamauchi, et. al. (1973).

Como un detalle curioso Keith y Flack (1907) Keith y Mackenzie (1910) y Mackenzie, (1913), hablan reportado la presencia de un tejido nodal especializado y que está localizado en el borde del seno venoso, en su unión con la aurícula de muchas de las especies de teleosteos arriba mencionadas. Este tejido nodal rodea el orificio seno auricular que está localizado en la base de la válvula del seno; 2) El seno venoso es la cámara donde se inician los impulsos cardíacos; 3) El seno no tiene un sistema de conducción anatómico bien definido en su interior; 4) Las células musculares cardíacas del tejido nodal tienen una característica muy particular, en cuanto a que los granulos específicos miocárdicos no existen, en comparación con la abundancia de ellos en los músculos auriculares, adyacentes al tejido nodal (Yamauchi, A., 1960); 5) La innervación de axones autónomos es muy densa en el tejido nodal de los teleosteos, en tal forma que cada célula muscular tiene una y a veces varias terminaciones nerviosas; 6) Se considera que las terminales nerviosas del tipo colinérgico son muy numerosas en el tejido nodal y representan la mayor parte de la innervación nodal (Laurenç, 1961); 7) En el seno venoso no se han encontrado cuerpos celulares que contengan

catecolaminas usando técnicas variadas de histoquímica. Esto se aplica igualmente para las otras cámaras cardíacas de los corazones de los teleosteos. (Falck et. al., 1966; Campbell, 1970; Santer, 1977); 8) Tampoco hay reportes específicos sobre el diámetro y longitud de las células musculares cardíacas presentes en el seno venoso, aunque sí sabemos que son más pequeñas que las células que constituyen los tejidos adyacentes, esto es el atrio y la aurícula.

En general los peces teleosteos poseen el marcapaso localizado en la unión seno auricular. (Blaschko, 1929; Kisch, 1948; Jullien y Réplinger, 1957; Laurent, 1962; Saito, 1969, 1973).

El sitio de marcapaso primario en los peces pulmonados se encuentra en el seno venoso, el cual, es localizado en unión con la vena cardíal izquierda, (Arbel, E.R.; Libentson, R.; Langendorf, R., 1977).

La aurícula y el ventrículo. La aurícula ocupa una amplia parte de la región dorsal pericardial y muy particularmente envuelve al ventrículo de manera simple, tiene una forma piramidal invertida.

El ventrículo es muy resistente, de pared gruesa y musculosa, encontrándose éste en la porción ventrocaudal del saco pericardial. Tiene una forma casi redonda y en la mayoría de estos peces aparece como un disco aplanado. Generalmente en todos los peces el ventrículo es una capa muscular esponjoso con numerosas trabéculas que forman subdivisiones dentro de esta cámara. (Grodzinski, A. 1938).

Se han hecho varios estudios sobre la estructura de

la aurícula y del ventrículo usando técnicas finas de histología, tales como los realizados por Couteau y Laurent (1957, 1958) en la Anguilla, por Challice y Edwards (1960) en el pez dorado, por Martínez - Palomo y Méndez (1971) y Anderson et. al., (1976) en la percha (Perca fluviatilis), Lebisters reticularis, Gobius minutus y Ammodytes Tobianus por Kilarski (1967), en la trucha café (Salmo trutta) por Yamauchi y Burnstock (1968), por Schüpp y Wehren (1970) en el pez gato (Galeichthys felis y Baore marina), por Howse et. al., (1970) en el pez escorpión (Myxoxcephalus Scorpius) y trucha (Salmo gairdneri) por Cobb (1974), en el Pleuronectes platessa por Santer (1972), Santer y Cobb (1972) y Cobb (1974), en el pez japonés (Oryzias latipes) por - - - Lemanski et al., (1975), y en la trucha arcoiris (Salmo irideus) por Shibata (1977).

Los diámetros de la células musculares cardíacas de la aurícula y del ventrículo que diversos autores han medido (Santer y Cobb, 1972; Shibata, 1977; Lemanski et. al., 1975; Yamauchi y Burnstock, 1968), varían entre 3.3 a 9.0 micras (con un promedio de 5.5 μ m), estas medidas fueron hechas en diferentes especies, pero las proporcionadas para el pez dorado Carassius auratus son de 5.6 micras para la aurícula y de 6.6 para el ventrículo. Se ha señalado por otro lado que las miofibrillas se distribuyen principalmente en la periferia de las células miocárdicas auriculares y ventriculares de los teleosteos (Kilarski, 1967; Howse et al., 1970; Santer y Cobb, 1972; Lemanski et. al., 1975). Yamauchi y Burnstock (1968) reportaron que en la aurícula solo el 37% del área citoplasmática total está ocupada por miofibrillas, mientras que en el ventrículo el porcentaje es de 47%, dándole así a las células del músculo ventricular posibilidades de una más rica maquinaria contractil.

que la que poseen las células auriculares. Los sarcómeros no son más largos que 1.2 micras en Ammodytes tobianus; - 2.2 μm en Gobius minutus; 2.5 μm . en Perca fluviatilis y Lebistes reticularis (Kilarski, 1967); 2.0 μm en Pleuronectes platessa (Santer y Cobb, 1972). Todas estas medidas han sido realizadas bajo el microscopio electrónico, el que ha revelado además que en la aurícula y en el ventrículo de los teleosteos las líneas H y N son prominentes, en cambio la línea M no está bien definida (Kisch y Philippott, 1963 a.b.; Kisch, 1966; Kilarski, 1967 Schipp y Wehren, 1970; Santer y Santer y Cobb, 1972; Lemanski et. al., 1975). La línea M sólo es posible observarla si el miocardio se trata con permanganato de potasio (KMnO_4) para su fijación como ha sido hecho en Salmo trutta por Yamauchi y Burnstock (1968).

En referencia a los gránulos miocárdicos específicos, tanto la aurícula como el ventrículo contienen dentro de su célula dichos gránulos, a semejanza de los vertebrados no mamíferos (Trillo, et. al., 1966; Bencosme y Berger, - 1971). En cambio los tubos transversos parecen no existir en las células miocárdicas de los teleosteos o cuando menos no fueron encontrados por los siguientes autores: - Howse, et. al., (1970), Lemanski et. al., (1975); Shibata, (1977).

Algunos autores como Yamamoto (1967), reportaron que las células musculares cardíacas Carassius auratus no son sinciciales sino más bien unicelulares y que están unidas físicamente a las células vecinas por medio de los desmosomas típicos, las uniones intermedias y los discos intercalados primitivos, Yamamoto, insiste en que él no pudo encontrar uniones tipo nexus, ya que las membranas plasmáticas, están separadas por una distancia pequeña de 200 Å o más en la que no intervienen materiales de la membrana

basal. Sin embargo las uniones celulares tipo nexus entre dos fibras musculares fueron descritas por primera vez en los teleosteos por Martínez - Palomo y Méndez (1971), después confirmado por Santer y Cobb (1972), Cobb (1974) y Shibata (1977). En cuanto a la inervación podemos decir que en el miocardio auricular es menos densa que en el tejido nodal senoauricular.

Los nervios que inervan a la aurícula son en general axones mielinizados y están distribuidos alrededor de toda la aurícula y probablemente representen las terminaciones aferentes que ha descrito Laurent (1956, 1962). En contraste con esta distribución uniforme en la aurícula, al examinar el ventrículo se puede observar que las terminaciones nerviosas son escasas y muy frecuentemente son fibras no mielinizadas que están distribuidas principalmente en el endocardio e en el espacio perivascular de los vasos coronarios que irrigan al miocardio. Gannon y Burnstock (1969) han demostrado que existe una inervación tipo excitatoria adrenérgica tanto en las células miocárdicas del seno venoso, de la aurícula y de la capa compacta del ventrículo de la trucha.

El cono arterioso de los teleosteos es un segmento tubular del sistema cardiovascular que se encuentra localizado entre el orificio de salida del ventrículo y la aorta ventral. Tiene generalmente la forma de una dilatación ovoide, aunque en ocasiones se presenta como una estructura menos conspicua en la cavidad pericárdica. El cono arterioso actúa como válvula en el orificio de salida del ventrículo (Torrey, 1971). En cuanto a la estructura fina del cono arterioso, podemos decir que no hay un acuerdo unánime entre los autores que han trabajado este aspecto

de la histología. Por ejemplo Santer y Cobb (1972) niegan la existencia tanto de fibras musculares lisas como de fibras elásticas dentro del cono o bulbo arterioso y defienden que el principal componente de sus paredes es simplemente una matriz de fibras colágenas con muchos fibroцитos. Esta aseveración está en contraposición total con el conocimiento proporcionado por la microscopía de luz realizado por Benninghoff, (1933) y Satchell (1971). De hecho algunas observaciones recientes con el microscopio electrónico han mostrado también la presencia de fibras musculares lisas en muchas especies dentro de las cuales se encuentra el Carassius auratus. No hay por otro lado evidencia de que estas células musculares lisas estén inervadas.

En cuanto a la cubierta exterior del bulbo se sabe que la parte externa está constituida por una única capa de células mesoteliales y la superficie interior del bulbo por células típicas endoteliales. Las células musculares lisas en las cuales hay fibras elásticas miden de 3.4 a 7.4 micras en el género Cyprinus y de 3.7 a 6.4 micras para el género Carassius. (Yamauchi, A., 1980).

La circulación de la sangre. En los peces la sangre expulsada por el ventrículo se dirige hacia adelante por la aorta ventral, la cual conecta con las branquias, a través de una serie de vasos conocidos también como arcos aórticos que se dirigen hacia arriba y a ambos lados entre las hendiduras branquiales sucesivas. En las membranas de la branquia, cada arco se divide en capilares que permiten la aereación de la sangre y vuelven a formar en la porción dorsal otros vasos que constituyen el árbol arterial, que va por una parte a los tejidos del cuerpo y por otra a la cabeza. Este árbol arterial recibe el nombre de aorta dorsal y no es sino un simple tronco en posición media que lleva la sangre hacia todos los órganos corporales.

La sangre proveniente de los órganos irrigados por la aorta dorsal retorna al corazón a través de diferentes conductos. La sangre venosa de la región facial orbital, postorbital y cerebral retorna al corazón mediante el par de venas cardinales (conductos de Cuvier). La sangre del intestino va a una o varias venas hepáticas, que después del hígado y a través de las venas suprahepáticas llega al seno venoso, después a la aurícula y finalmente al ventrículo del corazón.

B.- Procedimientos experimentales

Los experimentos se realizaron con peces del género Carassius auratus, que fueron escogidos de acuerdo a las siguientes características; 1) que el pez perteneciera a una cepa con una edad entre uno o dos años; 2) que tuviera un peso entre los 5 a 15 gr.; 3) con un tamaño de 8 a 15cm. Estas características nos permiten mantener una uniformidad en cuanto al tamaño del corazón; 4) que no presentara síntomas de enfermedad o algún parásito; 5) que proviniera de un acuario mantenido a la temperatura de laboratorio entre los 22° a 26° C.

Una vez elegido el pez se procedió a realizar la disección de éste con la finalidad de extirpar el corazón. Este procedimiento comprende varios pasos:

a) Se coloca al pez en una caja de plástico, la cual tiene el fondo de parafina con la forma y tamaño del animal. Este recipiente contiene una solución salina (Ringer Rovai ner).

b) Se fija con alfileres el espécimen en tal forma que el lado izquierdo del tórax quede hacia arriba cuando todo el pez queda bañado por la solución salina, la cual permite mantener vivo al animal y el poder suministrarle un aerea

do mediante un burbujeo de oxígeno puro o bien una mezcla de gases de oxígeno 95% y bióxido de carbono 5%.

c) Una vez que se tiene al pez bajo estas condiciones se procede a extirpar, bajo el microscopio estereoscópico - adaptado a un monitor de televisión, la aleta pélvica, el opérculo, así como la primera costilla para dejar de esta forma, después de abrir el pericardio, descubierto el corazón.

d) Posteriormente se corta la unión del bulbo arterioso - con las branquias (aorta ventral), lo cual provoca una hemorragia profusa que aumenta la formación de coágulos y - que interfieren grandemente en la disección fina.

Para retirar los coágulos y lavar el corazón, se utiliza una pizeta con la misma solución salina en que se mantiene al pez, lavando con ésta las zonas en que se van acumulando grandes cantidades de sangre. Una vez que se visualiza con facilidad las estructuras que forman al corazón, se levanta éste por medio de una pinza de disección, tomando del extremo del bulbo arterioso ya seccionado y separado de la aorta.

e) Después se procede a seccionar el otro extremo del corazón, o sea las venas cardinales (conductos de Cuvier) y - las venas hepáticas, procurando que el corte se haga de - tal forma que quede alejado lo más posible del seno venoso. En esta etapa debe tenerse especial cuidado en no retirar demasiado estos tejidos al levantar el bulbo arterioso, - pues cuando el estiramiento es excesivo, el seno venoso - puede perder su automatismo debido a la lesión de los tejidos generadores de potenciales eléctricos, o sea de los - "marcadores del paso", que se sostiene por medio de una fina y delicada estructura membranosa.

Una vez, que el corazón se ha aislado se pasa a una cámara, para su perfusión con la solución salina, tomándolo por la parte de la aorta ventral (nunca por la zona de las venas). Para fijar el corazón en el fondo de la cámara es recomendable el uso de agujas finas tipo alfiler entomológico de acero inoxidable, para evitar las sustancias tóxicas que se desprenden de las agujas de hierro, en la preparación. El fondo de la cámara está hecho de un material elastomérico de silicon (Silgard 184, Dow Corning), el cual tiene como propiedades el ser blando, elástico, --- transparente e inerte. Estas características ne permiten la formación de sustancias tóxicas o sales, lo cual sería muy perjudicial para los tejidos del corazón y aún para los electrodos de registro, los cuales también son susceptibles de ser atacados por las sales.

Para fijar el corazón las agujas se colocan de tal forma que logren minimizar, pero ne abatir, los movimientos producidos por las contracciones de estos tejidos. Esta precaución se toma en vista de que los desplazamientos bruscos y en todas las direcciones, producidos por la contracción de los tejidos, pueden en un momento dado quebrar las puntas finas de las micropipetas de vidrio insertadas en los músculos cardíacos para el registro o la estimulación eléctrica de ellos.

Este aspecto es de trascendental importancia desde el punto de vista técnico experimental, ya que de hecho, en los experimentos en que se registraba la actividad de las células marcadoras del paso del seno venoso con micropipetas intracelulares, era necesario e indispensable eliminar una gran proporción del tejido auricular que circunda a la región del seno venoso, pues la contracción de

estos músculos auriculares produce desplazamientos que no permiten registrar por mucho tiempo la actividad de una sola célula, puesto que mecánicamente destruyen la célula e inclusive en ocasiones quiebran la punta del microelectrodo de vidrio. Es así que a esta última situación experimental podríamos llamarle para fines de exposición la "preparación de seno venoso aislado".

La camarita tiene un sistema que regula la velocidad con la que fluye la solución salina. La velocidad de control de la perfusión era de 2-3 ml/min.

La composición del Ringer Rouvainer utilizado durante la perfusión de las preparaciones biológicas, es la siguiente:

NaCl	115 mM/l.	MgCl ₂	2.0 mM/l
KCl	2.1 "	Glucosa	3.0 "
CaCl ₂	2.6 "	NaHCO ₃	5.0 "

(J. T. Baker, Xalostoc, México).

Durante la preparación del Ringer Rouvainer es aconsejable que la dilución del CaCl₂ se haga por separado y se mezcle al último con la solución que ya contiene las otras sales, pues esto evita que el calcio se precipite.

El pH de la solución salina utilizada como control fue de 7.2 y la banda de pH que se varió durante los experimentos fue de 3.4 a 9.6, las cuales se controlaban con ácido clorhídrico o bien con hidróxido de sodio según el caso.

En algunos experimentos se utilizó el Tris-HCl como amortiguador. La solución de Tris-HCl usada tenía una con-

centración de 0.2 M. Con este amortiguador es posible obtener alcalinidades de 7.20 a 9.40; cuando se deseaban soluciones ácidas se agregaba ácido clorhídrico hasta obtener el pH requerido.

Para registrar los cambios del pH en la cámara, se colocaba un electrodo de pH cerca del lugar en donde estaba la preparación (pH Master, VWR Scientific).

Las cifras suministradas por el medidor de pH podían ser medidas continuamente, ya sea por observación visual o conectando el aparato a un amplificador de corriente directa y éste a su vez a un galvanómetro de cuerda, para su registro final en el papel del polígrafo (Grass, Modelo 7 D).

El aereado de la solución salina, se realizaba por medio de un burbujeo de oxígeno (95%) y bioxido de carbono (5%) o con oxígeno puro únicamente.

La temperatura a la cual se llevaron a efecto los experimentos fluctuaba entre 22°- 26° C., y era mantenida a voluntad por medio de un sistema termostático.

C.- Métodos de registro

I.- Extracelulares.

Los registros extracelulares se realizaron con electrodos finos de succión, los cuales son hechos con tubo capilar de vidrio, alargados hasta llegar a obtener una punta de varias micras de diámetro (20-50 μ m). Estos electrodos se conectan a un dispositivo, que consta básicamente de una pequeña jeringa con la cual se puede lograr una succión gradual del tejido, en tal forma que éste no sea dañado, pero que quede adherido a la pipeta de registro.

Este dispositivo va lleno de la misma solución salina de Ringer Rovainer con que se está perfundiendo la preparación para facilitar la conducción de los impulsos eléctricos de la zona del tejido escogida para registrar.

Una vez que los electrodos de succión han sido fijados en la aurícula y en el ventrículo, se conectan a un preamplificador A.C. (Grass P-18) y éste a su vez a un polígrafo (Grass) o a un oscilógrafo con emisión de dos rayos (Tektronix 5440), para registrar y medir las características de los potenciales generados por los tejidos cardíacos.

11.- Intracelulares.

Para los registros intracelulares se utilizan microelectrodos (Tipo Ling-Gerard, 1949), hechos con tubos de vidrio especial (Pyrex) de paredes con poca permeabilidad iónica, para así limitar el paso de los iones tanto de fuera a adentro y viceversa. Frederick Haer & Co. y A-M Systems Inc., fabrican tubos con un microfílamento en su interior, lo cual sirve para que al momento en que estos se llenan con una solución de KCl (3.0 M), el llenado se efectúe en forma rápida, debido al fenómeno de capilaridad. El llenado es complementado manualmente a través de una aguja larga y fina (No. 29-30), conectada a una jeringa pequeña. La solución de KCl (3.0 M) que contiene la jeringa, se introduce a la micropipeta por su extremo más ancho hasta que el líquido rebasa con abundancia y desplaza todas las pequeñas burbujas de aire adheridas a las paredes interiores del tubo de vidrio. Este procedimiento se debe de realizar sistemáticamente con cada una de las micropipetas de registro, ya que la presencia de una microburbuja de aire eleva en tal forma la resistencia eléc

trica del microelectrodo, hasta hacerlo inútil para el propósito que se fabricó.

Esta característica de las micropipetas facilita importantemente el uso inmediato de los electrodos, pues de otra forma se tendría que esperar de 24 a 48 hrs., para que estas micropipetas se lograran llenar por difusión lenta. Por otro lado minimiza el manipuleo mecánico de los electrodos que propician la destrucción de las micropuntas.

La preparación de estos microelectrodos se realiza con una microfornia vertical (modelo 700c de David Kopf -- Instruments), la cual produce primero el adelgazamiento del tubo por medio de una resistencia incandescente de nicromo. Una vez que el tubo de vidrio se funde, se le aplica un restiramiento brusco, activado por un sistema de electroimanes. Como este restiramiento puede ser graduado eléctricamente, es posible obtener así, puntas de los microelectrodos de acuerdo a las características que se deseen. En nuestro caso la característica requerida, era la de obtener una punta con 50 - 150 megahoms de resistencia eléctrica, que equivale a un diámetro de la punta de aproximadamente 0.5 - 0.2 μm .

En vista de que en el caso experimental que nos ocupa vamos a utilizar células de diámetro muy pequeño (3 a 6 μm) es indispensable fabricar micropipetas de punta menor a 0.5 μm . El control del diámetro de la punta no puede ser hecho con los métodos de microscopía de luz debido a la limitación óptica del sistema ojo humano - lente del microscopio. Es conveniente por lo tanto usar una técnica indirecta para la estimación o medida de la punta de la micropipeta. Una técnica muy usada es la de medir la re-

sistencia eléctrica total de la micropipeta, ya que a mayor resistencia óhmica, la punta permeable de la micropipeta sera menor y viceversa. Hay que recordar aquí que la micropipeta se llena con una solución conductora de KCl (3.0 M), para aumentar en cierta magnitud la conductividad iónica de la solución. Es así como al aplicar una diferencia de potencial a través de la micropipeta se podrá registrar en un aparato de medida, la caída de voltaje -- producido por la alta resistencia de la micropipeta. Esta caída de potencial se compara con la magnitud de caída -- producida por una resistencia bien conocida. Al aplicar la fórmula dada por la ley de Ohm, se podrá conocer la -- resistencia de la micropipeta e inferir por lo tanto la -- magnitud de punta permeable de la misma.

Ya preparados los microelectrodos, estos son introducidos en su portaelectrodo, el cual va conectado a un preamplificador D.C. (Grass P-18) y este a su vez a un osciloscopio de emisión de dos rayos (Tektronix 5440), para registrar la actividad espontánea de la célula cardíaca explorada, ya sea ésta del seno venoso, de la aurícula o del ventrículo. Los registros oscilográficos se fotografian con una cámara cinematográfica apropiada (Grass - C4J).

En los experimentos en los cuales se deseaba estimular el tejido cardíaco se aplicaba a dichos tejidos, electrodos de platino conectados a un generador de pulsos cuadrados (Estimulador Grass S88) y con una unidad aisladora de tierra (Grass SIU 6 B).

Los breves periodos de hipoxia fueron producidos al discontinuar temporalmente la aereación de la solución -
Rovainer.

Para los experimentos en los cuales la concentración de cloruro de sodio o el cloruro de calcio era disminuída en la solución de perfusión, ésta fue sustituida por sacarosa, de tal forma que se conservara la molaridad normal.

La ouabaina (Arnaud) y la digital (digilanid, Sandoz) se adicionaban a la solución de perfusión o directamente a la camarita. Las concentraciones de estos digitálicos variaban entre 1 a 1.5 μ gr/ml.

RESULTADOS EXPERIMENTALES.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Los potenciales cardíacos

Como ya lo hemos mencionado, el corazón del pez dorado (*Carassius auratus*), está constituido por cuatro cámaras a saber: el seno venoso, el atrio o aurícula, el ventrículo y finalmente el cono arterioso. Tanto los registros extracelulares realizados con los electrodos de succión, como los registrados intracelularmente mostraron que los tejidos de las tres primeras cámaras generan diferencias de potencial al entrar en actividad. Cada uno de estos potenciales muestran características especiales que permiten su identificación y su diferenciación. Cuando se colocó un electrodo en la aurícula cerca de su --- unión con el seno venoso y otro electrodo en la porción central de la aurícula, se registró un potencial difásico pequeño, que precede al potencial auricular de mayor magnitud, como lo ilustra la fig. 1 B. Este pequeño potencial del seno venoso varía su magnitud de acuerdo a la cercanía del electrodo de succión activo, con respecto al sitio en que se encuentra localizado el grupo de células marcadoras del paso. En cuanto al potencial generado por el ventrículo, también es fácilmente reconocido, tanto por su forma, como por la latencia que guarda con respecto a la activación auricular, fig. 1, A o con respecto a la activación del seno venoso, fig. 1, C.

En lo que se refiere al potencial del cono arterioso, podemos decir que en algunas ocasiones es posible detectar un tipo de actividad eléctrica muy peculiar, pero nunca con las características de los potenciales de las células cardíacas, a pesar de que a la luz del microscopio óptico.

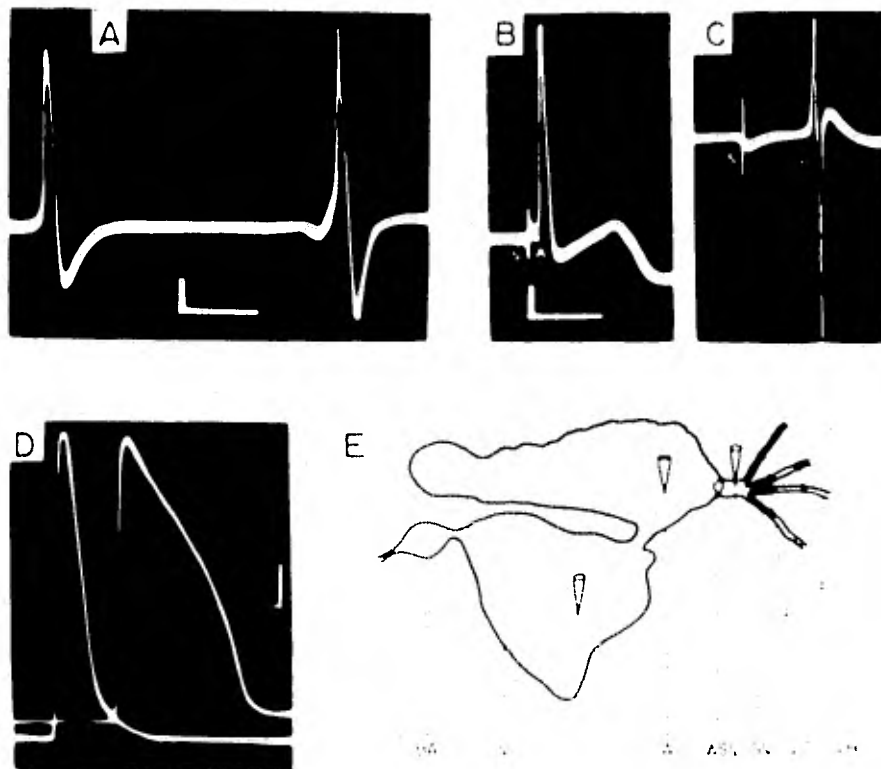


Figura No. 1

Los potenciales de acción del corazón del pez. A.- Registro extracelular de la actividad espontánea de la aurícula y del ventrículo. Nótese la magnitud del intervalo aurículo-ventricular. Calibración, 40 msec., 2mV. B.- Registros extracelulares del seno venoso (S) y de la aurícula (A). Obsérvese la precedencia del potencial S con respecto al potencial A. C.- La actividad del seno venoso y del ventrículo. Calibración 200 msec. 2 mV. D.- Registros intracelulares de la actividad de la aurícula y del ventrículo. El potencial auricular es de duración más breve que el ventricular. Calibración 100 msec. 20 mV. E.- Diagrama de la posición aproximada de los electrodos y de la anatomía de la preparación. ASV, ostioletos aurículo-seno venoso, región del marcador del paso; SV, seno venoso; VC, venas cardinales; VA, venas hepáticas.

es posible observar que el cono arterioso se contrae, o sea, tiene actividad mecánica sincronizada con la expulsión de sangre producida por la contracción ventricular.

Bajo las condiciones experimentales normales (Ringer de pH 7.2, temperatura de 22-25°C. y burbujear con mezcla de gases O₂ 95% y CO₂ 5%) y con los electrodos de succión colocados aproximadamente como lo ilustra la fig. 1, E, podemos observar que el tiempo que transcurre desde la iniciación de la activación del seno venoso (S) a la contracción de la aurícula (A), es alrededor de 8-12 mseg., fig. 1, B. Esta cifra se confirma al practicar registros más detallados con electrodos intracelulares (fig. 2, C). Mientras que el tiempo que media entre la activación de la aurícula y del ventrículo (A-V) es de 125-175 mseg.

En referencia a la latencia entre el seno y la aurícula, podemos agregar que los registros intracelulares con dos micropipetas, una colocada en una célula marcadora del paso en el seno venoso y la otra micropipeta introducida a una célula muy cercana a la primera (200-400 μ m), confirma que la latencia de activación entre un tejido y el otro, es del orden de magnitud de 6 a 8 mseg., cifra similar a la proporcionada por las medidas realizadas por medio de los registros extracelulares.

La velocidad de conducción o la velocidad con que se propagan los impulsos eléctricos a lo largo de cada uno de los tejidos cardíacos, es variable, ya que la velocidad de conducción de la aurícula fue de 0.20 a 0.30 m/seg. y en cambio la velocidad de conducción en el músculo ventricular sólo alcanzó 0.06 a 0.10 m/seg. Estos valores se

calcularon al aplicar la técnica clásica experimental - usada por el físico alemán Helmholtz (1850) para medir la velocidad de conducción del nervio.

La actividad espontánea de los músculos cardíacos del --
Carassius auratus bajo condiciones experimentales de con-
trol.

Bajo las condiciones experimentales mencionadas en métodos la actividad automática o espontánea tuvo una -- frecuencia promedio de 70 latidos por minuto (40-85/min.) La actividad del corazón mostró cambios poco apreciables, en cuanto a su frecuencia si se le mantenía por 12 a 15 horas bajo las condiciones estables de la perfusión normal.

La actividad espontánea se inicia exclusivamente en el tejido del seno venoso que circunda el esfínter o esfínter que existe entre las venas cardíacas y el seno venoso. Este tejido está muy localizado alrededor del esfínter, pero en algunas ocasiones se extiende hacia las paredes del seno venoso en forma de hilos muy delgados, o sea, trabéculas musculares finas que simulan un sistema de conducción rudimentario. Es importante señalar que en el corazón de Carassius auratus, solamente esta zona presenta la capacidad de generar automáticamente señales eléctricas, ya que la separación quirúrgica o el machacamiento de la región mencionada producen el paro total - del corazón. En el primer caso, cuando se separa quirúrgicamente el seno, este sigue latiendo mientras que la aurícula y el ventrículo dejan de hacerlo. Cuando se lesiona específicamente el sitio del seno donde se locali-

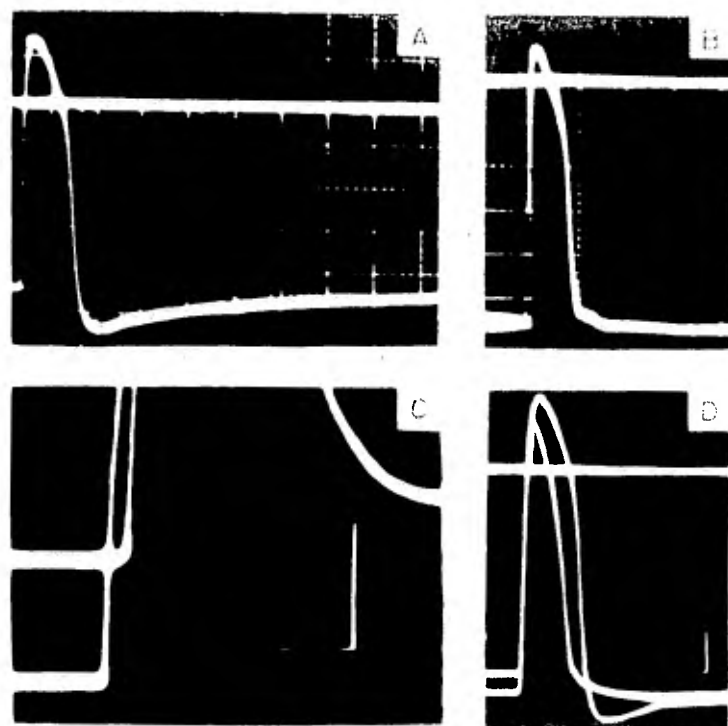


Figura No. 2

Características de los potenciales de autorritmia y de acción de las células marcapasos del seno. A.- Registro intracelular de la actividad espontánea de una célula marcapasos del seno. Obsérvese la depolarización y repolarización también vistas al compararse con los del potencial de la aurícula en B. Escala: 200 msec., 20 mV. C.- La precedencia de un potencial de una célula marcapasos del seno con respecto a un potencial de la aurícula. Obsérvese el intervalo breve de 7,5 msec. entre el seno y la aurícula. 50 msec., 20 mV. D.- Los potenciales del seno venoso y auricular simultáneos, superpuestos para mostrar las diferencias en duración y polarización. 20 msec., 20 mV.

TABLA 1

Cambios del intervalo auriculo-ventricular (A-V) y de la frecuencia de la aurícula producidos por los diferentes valores del pH.

<i>De normal a alcalino</i>			<i>De normal a ácido</i>		
<i>pH</i>	<i>Intervalo A-V</i>	<i>Frecuencia aurícula</i>	<i>pH</i>	<i>Intervalo A-V</i>	<i>Frecuencia aurícula</i>
7.4	210 mseg.	120 /min.	7.4	235 mseg.	120 /min.
9.2	160 "	138 "	4.1	275 "	102 "
9.3	150 .	150 "	3.6	325 "	84 "
			3.4	375 "	72 "

zan las células "marcadoras del paso" cesan también las contracciones rítmicas del seno venoso. De los muchos experimentos en que se exploró este aspecto, sólo en uno se pudo detectar un foco automático localizado en la unión de la aurícula con el ventrículo.

Características de las membranas de las diferentes células cardíacas, desde el punto de vista eléctrico.

Entre los caracteres distintivos de las células miocárdicas podemos mencionar; a) La diferencia que existe en los potenciales de membrana de reposo (PMR) de los diferentes tejidos que forman el corazón. Es así como el PMR promedio de las células del seno venoso fue de 79.8 mV (62.4-96 mV), mientras que la aurícula tuvo 88.3 mV (68.0-120.0 mV) y el ventrículo 94.4 mV (76.8-104.0 mV), (Vease figs. 2 A, B y Tabla II); b) La forma de los potenciales. Esta característica se vuelve de importancia práctica, ya que la forma de los tres potenciales en estudio es diferente y por lo tanto permite la identificación rápida de ellos, cuando aparecen en el oscilógrafo. Hay que recordar que la introducción de las puntas de las micropipetas se hace en forma ciega, ya que el microscopio solo permite localizar la superficie externa del pericardio, pero nunca se ve la punta real del microelectrodo y mucho menos las células que ésta punta va perforando. Como muestra la fig. 1 D, el potencial auricular siempre es más breve en duración que el ventricular, o sea que la fase de repolarización es más lenta en el ventrículo y la fase de depolarización es más rápida en la aurícula. La figura 2 D, ilustra la diferencia que existe entre el potencial del seno venoso y el potencial

TABLA II

Valores del Potencial de Membrana de Reposo de las células
miocárdicas del Carassius auratus.

Seno Venoso		Aurícula		Ventrículo
62.4 mV	80.0 mV	68.0 mV	86.4 mV	76.8 mV
66.4	80.0	68.0	88.0	86.4
68.0	81.6	72.0	88.0	92.0
72.0	81.6	76.0	89.6	92.0
72.0	83.2	76.0	92.0	94.4
72.0	84.0	78.4	92.0	94.4
72.0	84.0	80.0	92.0	97.6
75.2	84.0	80.0	97.6	100.0
76.0	85.6	81.6	100.0	100.0
76.0	86.4	84.0	104.0	101.6
76.0	86.4	84.0	104.0	104.0
76.0	87.0	84.0	108.0	
76.8	88.0	84.0	110.0	
78.2	88.0	86.4	120.8	
78.4	91.2			
80.0	92.0			
80.0	96.0			
80.0				
(62.4 - 96.0)		(68.0 - 120.8)		(76.8 - 104.0)
$\bar{X} = 79.8 \text{ mV}$		$\bar{X} = 88.3 \text{ mV}$		$\bar{X} = 94.4 \text{ mV}$

de la aurícula.

El potencial de una célula "marcadora del paso" posee una velocidad de depolarización muy lenta (figs. 5, 10, 11, 15, 16 y 17). La depolarización lenta que precede a la fase rápida tiene una velocidad de 15 mV/seg. como promedio (10-20 mV/seg.), durante la perfusión con soluciones salinas de pH 7.2 - 7.4. Las cifras fueron obtenidas al aplicar un método gráfico que amplifica el potencial y después se mide la inclinación de la hipotenusa de un triángulo cuyos catetos son el tiempo y la amplitud de la depolarización. La magnitud de la depolarización lenta aunque es muy variable tiene aproximadamente de 10 a 18 mV/seg. para las condiciones de control.

Cuando esta depolarización alcanza un valor determinado (valor umbral de disparo), la fase rápida del potencial propagado se inicia. La velocidad lenta de depolarización contrasta con la iniciación del potencial auricular que empieza sin ser precedida de una depolarización gradual (figs. 1 D y 2 D). En cuanto a la fase de repolarización del seno venoso, tiene una caída más lenta que el potencial auricular (fig. 2 D); e) La precedencia del potencial del seno.- Si de actividad espontánea se trata, en todos los experimentos realizados, siempre apareció primero el potencial del seno venoso y después de una breve latencia se activa la aurícula (fig. 2 C).

Esta breve latencia que es de 8-12 msec., desde luego depende de la distancia existente entre las dos micro-pipetas de registro, pero los valores arriba mencionados son de más o menos esa orden de magnitud a pesar que la distancia inter-electrodos sea pequeña (200-400 μ m).

Efectos producidos por los cambios extracelulares del pH

A) Sobre el intervalo aurículo-ventricular (A-V).

Cuando se variaba el pH de la camarita de perfusión y se registraba y medía el intervalo de tiempo entre la activación de estas dos estructuras, se observó que el intervalo aurículo-ventricular se acortaba en proporción de 20 a 30%: cuando el pH se variaba de 7.2 (normal) a 9.0 (alcalino). En cambio, cuando el pH se disminuía de normal a ácido (3.4), el intervalo A-V se aumentaba aproximadamente de 50 a 60% (véase tabla 1).

B) Sobre la frecuencia espontánea de contracción

a) Las soluciones alcalinas

El cambio de pH normal a pH alcalino produjo un aumento gradual de la frecuencia de la actividad espontánea como lo ilustra la fig. 3A y B, que muestra el intervalo entre dos potenciales de acción de una célula del seno venoso. El acortamiento del intervalo entre los dos potenciales de acción es considerable ya que por ejemplo, en el experimento ilustrado en la fig. 3A, la magnitud del intervalo es de 1235 mseg. (o sea con una frecuencia espontánea de 0.8/seg.), cuando el pH era de 7.35. En cambio, el intervalo fue de 766 mseg. (equivalente a una frecuencia de 1.3/seg.), cuando el pH alcanzó un valor de 9.40 (fig. 3 B).

Los cambios de la frecuencia se ilustran en la gráfica de la fig. 4, en la cual se cambió el Ringer normal (pH 7.35) por un Ringer alcalino, que después de varios minutos (14-15 min.) alcanzó un pH de 9.50. Durante

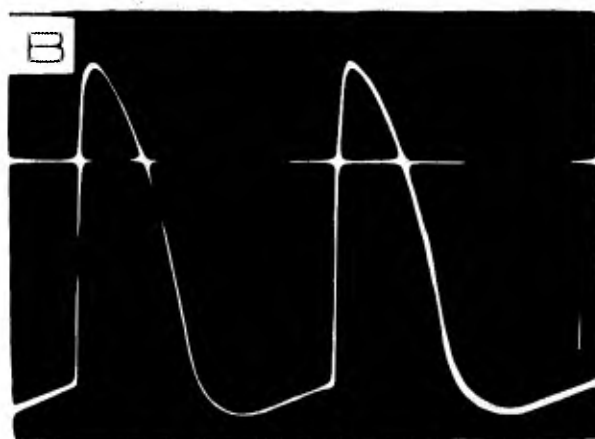
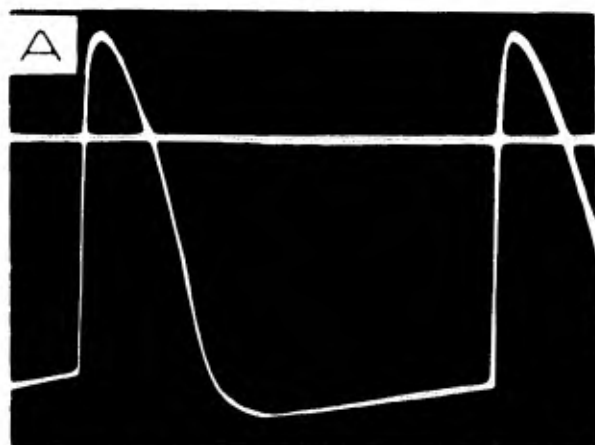


Figura No. 10

Efecto de las relaciones iónicas, sobre la frecuencia de una célula marcadora del paso. A.- pH de 7.65; B.- pH de 9.40. Calibración 200 mseg., 20mV.

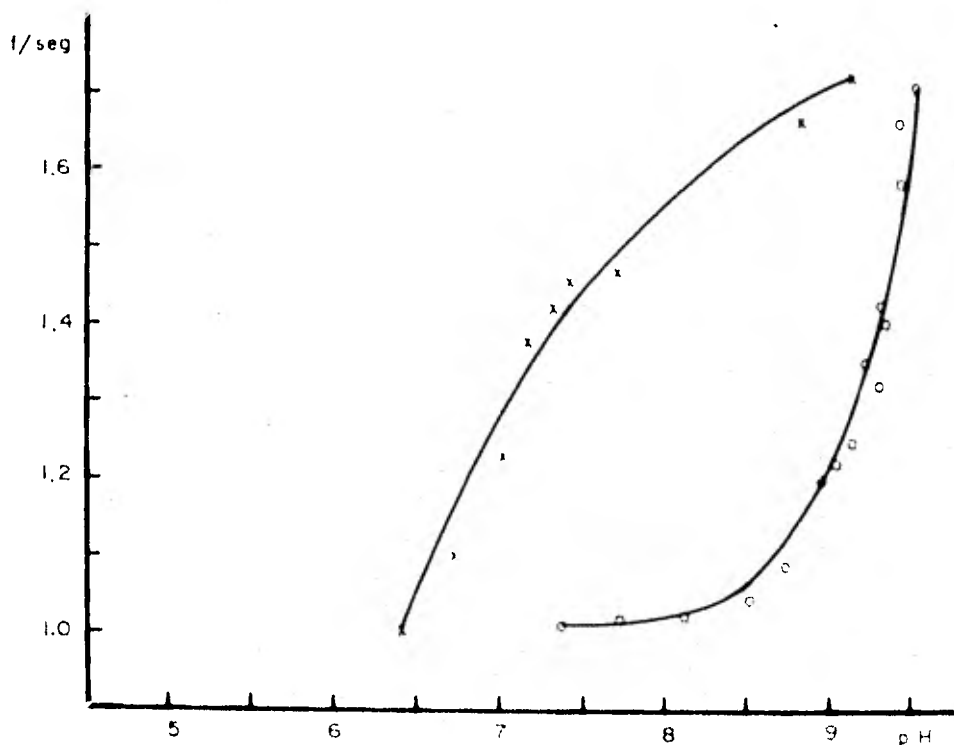


Figura No. 4

La magnitud de los cambios de la frecuencia producidos por las soluciones alcalinas. Para un mismo valor del pH, la magnitud de la frecuencia de la actividad espontánea es mayor después de que la solución alcalina se ha reemplazado por una solución normal que durante la acción de una alta alcalinidad. Es así que la curva de recuperación (X) de la frecuencia aparece arriba y a la izquierda de la curva dada por el efecto de las soluciones alcalinas (O). Ordenadas, frecuencia por seg., Abscisas, valores del pH.

este tiempo y simultaneamente con el incremento gradual del pH también la frecuencia aumentó en la misma forma, o sea gradualmente, de 1 a 1.7/seg. Cuando el Ringer alcalino se reemplazó por un Ringer normal, la frecuencia empezó a decaer, pero sin coincidir con la curva del aumento de la frecuencia.

Esto implica que la frecuencia permanece aumentada para un determinado pH. Este hecho nos sorprendió de tal forma, que procedimos en diferente manera, o sea, que como lo ilustran las figuras 5 y 6, primero se partió originalmente de una preparación perfundida con un Ringer alcalino de pH 9.40 que tenía una frecuencia control de 1.5/seg. En estas condiciones se reemplazó el Ringer alcalino por un Ringer ácido, que gradualmente produjo una disminución de la frecuencia, que al llegar el pH a 6.7, alcanzó un valor de 0.4/seg. En ese momento se volvió a perfundir con Ringer alcalino, que finalmente produjo un pH de 9.4 con el consiguiente aumento gradual de la frecuencia, que alcanzó los valores del control, o sea, 1.5/seg. Como puede verse en la gráfica de la figura 5, las dos curvas tienen valores diferentes para un mismo pH, como en el caso anterior de la figura 4, que demuestran que independientemente del orden en que se hagan los cambios del Ringer, el efecto producido por las soluciones alcalinas parece ser el mismo, es decir que dichas soluciones prolongan el efecto de aumento de la frecuencia que ellas mismas desencadenan.

Aunque en la mayoría de los casos, los cambios de la frecuencia espontánea producidos por las modificaciones del pH hacia el lado alcalino ocurrieron en forma gradual, hubo algunos experimentos que fueron la excep-

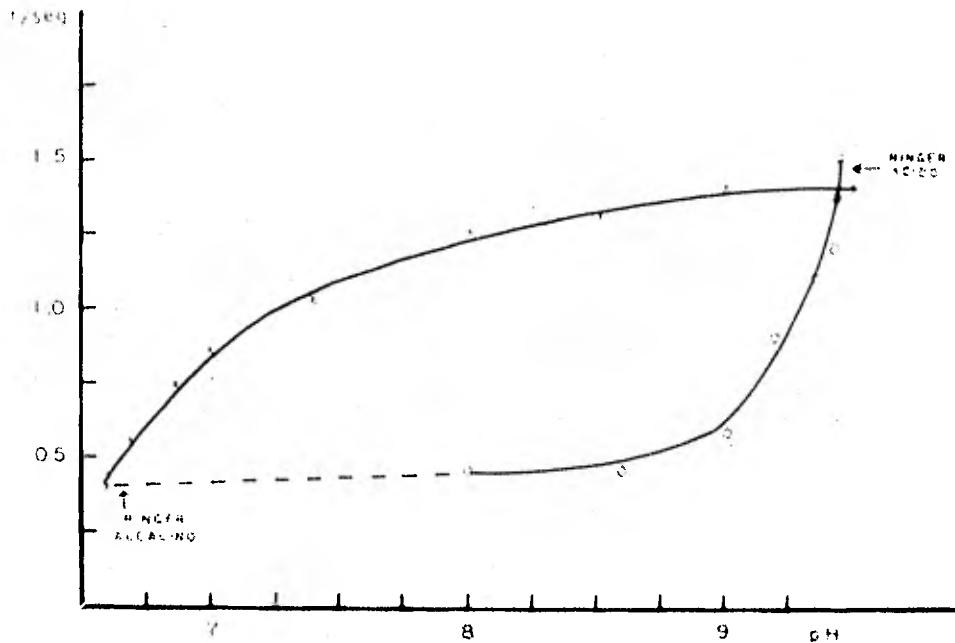


Figura No. 5

El aumento de la frecuencia producido por el cambio a soluciones alcalinas perdura después de que estas se reemplazan por soluciones ácidas. La frecuencia de una preparación perfundida originalmente con Ringer alcalino era de 1.45/seg., y al reemplazar este por un -- Ringer ácido la frecuencia disminuyó (X). Al agregar de nuevo Ringer alcalino la frecuencia aumento gradualmente (O). Notese que las dos curvas no coinciden, ya que los valores de la frecuencia después de que se retira la solución alcalina son mayores para un mismo valor de pH que los obtenidos cuando se vuelve a perfundir con una solución alcalina después del Ringer ácido. Ordenadas frecuencia por segundo. Abscisas, valores de pH.

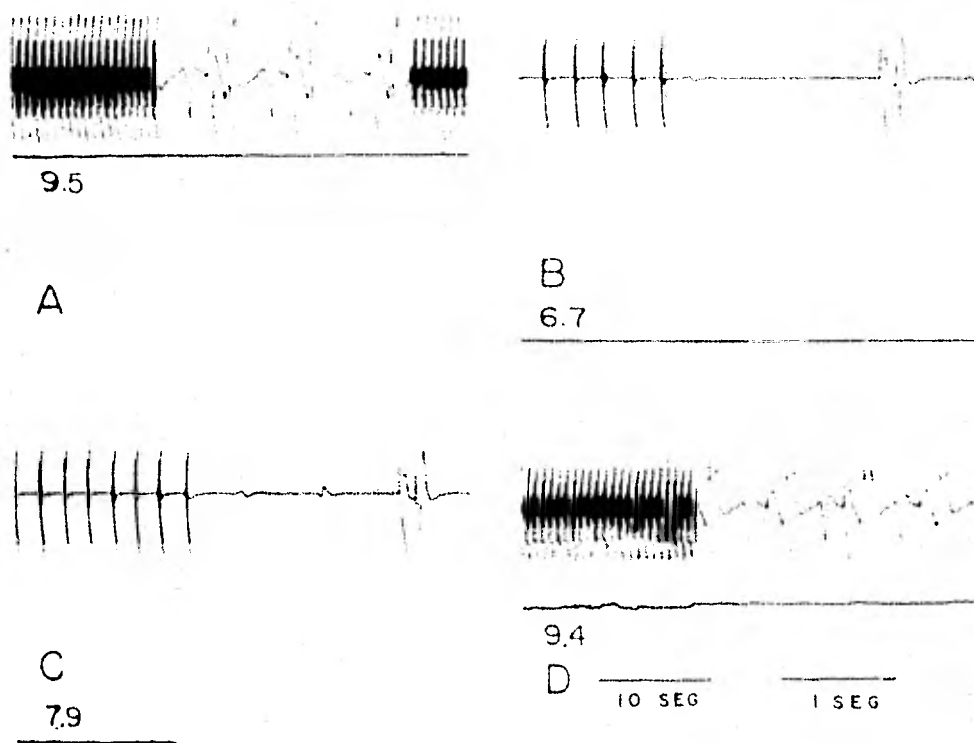


Figura No. 6

A.- Corazón aislado perfundido originalmente con una solución alcalina de pH 9.5. Potenciales extracelulares de aurícula y ventrículo. B.- Efectos producidos sobre la frecuencia por una solución ácida de pH 6.7. C.- Durante la administración de una solución alcalina, la frecuencia a pH 7.9. D.- Al llegar el pH a 9.4, la frecuencia volvió a los valores del control. Calibración. Velocidad lenta 10 seg. Velocidad rápida 1 seg.

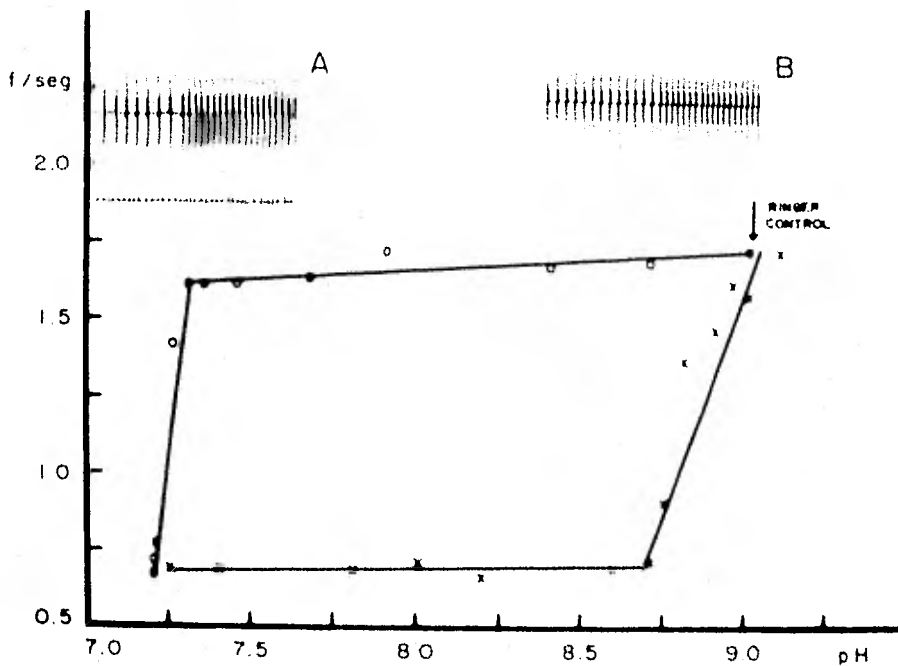


Figura No. 7

Cambios bruscos de la frecuencia producidos por las soluciones de perfusión. Si una solución de perfusión de pH 7.2, se reemplaza por una solución alcalina y el pH de la camarita aumenta gradualmente no se observan cambios considerables de la frecuencia sino hasta que se alcanza un valor de pH de 8.7 (curva de X), en ese momento aparece un aumento brusco ilustrado en el inserto. B.- Si la solución alcalina se reemplaza por Ringer control normal, simultáneamente con la disminución del pH se observa una ligera disminución de la frecuencia y cuando esté alcanza un valor de 7.2 se presenta una disminución brusca de la frecuencia como lo ilustra la curva de círculos (O) y el inserto A. Ordenadas, frecuencia por seg. Abscisas, valores del pH.

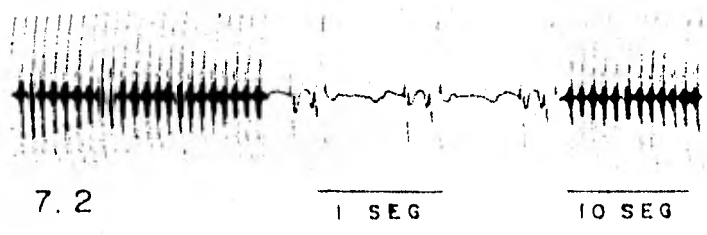
ción, uno de ellos queda ilustrado en la figura 7, en la que tanto el aumento producido por las soluciones alcalinas, como en la recuperación de la frecuencia cuando se regresa al Rínger control, aparecieron en forma brusca.

b) Las soluciones ácidas.

El cambio de pH normal a pH ácido, causó en general una disminución de la actividad espontánea de la aurícula y del ventrículo, como en el caso ilustrado en la fig. 8, en el cual un discreto cambio de 7.7 a 6.5 en el pH provocó una disminución de la frecuencia de 1.05/seg. a 0.73/seg. y una posterior disminución del pH a 6.3 aumentó el efecto hasta obtener una frecuencia de 0.4/seg.

Otros experimentos que muestran el mismo efecto son los siguientes. Cuando se perfundió un corazón con una solución de pH 7.2 y ésta se reemplazó por un Rínger más ácido, que alcanzó un pH de 3.4, se pudo observar que la frecuencia cardíaca disminuyó de 2.0/seg. a 0.5/seg. (fig. 9). En este momento se reemplazó el Rínger ácido por el Rínger control, que produjo la recuperación gradual de la frecuencia de contracción, que se acercó a su valor original de 2.0/seg. La magnitud de estos efectos vuelve a ser muy diferente, ya que la frecuencia de recuperación queda bien por debajo de las frecuencias de la actividad espontánea durante la acción del Rínger ácido.

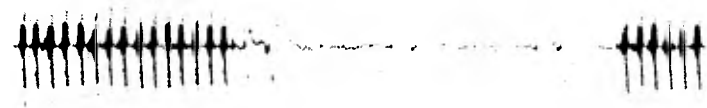
Un hecho sobresaliente en este caso experimental, es que las soluciones ácidas produjeron efectos más acentuados de la disminución de la frecuencia de la actividad espontánea, cuando se parte de una preparación perfundida con un Rínger de pH neutro, que en los casos en que la preparación se sujeta a una alcalinidad previa.



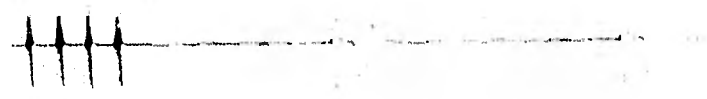
7.2

1 SEG

10 SEG



6.5



6.3

Figura No. 8

Efectos de las soluciones ácidas sobre la frecuencia de los corazones del pez. El trazo superior, actividad de la aurícula y el ventrículo durante pH 7.2. Durante pH 6.5 la frecuencia disminuye, - trazo intermedio. Y con una disminución ulterior del pH la frecuencia se hizo más lenta, trazo inferior.

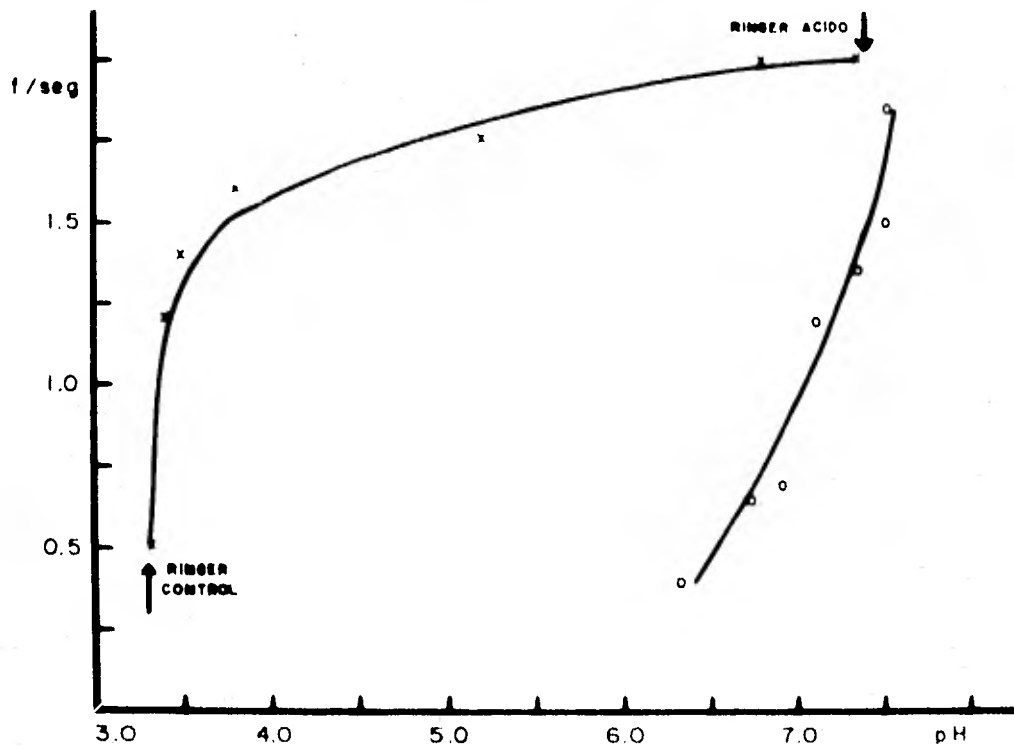


Figura No. 9

Disminución de la frecuencia cardíaca producida por las soluciones ácidas. Curva de equis (X). Al reemplazar la solución ácida por Ringer control y al adquirir el pH un valor de 6.3 la frecuencia inicio gradualmente su recuperación. Curva de recuperación queda siempre por abajo y a la derecha. Ordenadas frecuencia por segundo; -- Abscisas valores del pH.

C) Sobre la depolarización lenta de los potenciales de acción de las células marcadoras del paso del seno venoso.

Es sabido que la frecuencia de la actividad espontánea de las células cardíacas depende de la velocidad con la cual se depolariza la membrana celular. A mayor velocidad de depolarización una mayor frecuencia de los potenciales de acción. En las figuras 10 A y B, se muestra el efecto producido por las soluciones alcalinas, sobre el grado de depolarización previa a los potenciales de acción de una célula marcadora del paso.

Las soluciones de pH alcalino produjeron un aumento de la velocidad de depolarización, mientras que las soluciones ácidas provocaron una disminución de dicha velocidad de depolarización. (fig. 10 A y B y Tabla VI).

La gráfica de la figura 12, ilustra la magnitud de los cambios de la velocidad de depolarización diastólica en relación a los cambios del pH y muestra además que el curso temporal de los procesos de depolarización lenta-diastólica y de la frecuencia de los potenciales de acción, guardan cierto paralelismo desde el punto de vista de su curso temporal, o sea, que a mayor velocidad de depolarización mayor frecuencia de descarga.

D) Sobre el potencial de membrana de reposo (PMR).

Las soluciones alcalinas produjeron una disminución del potencial de membrana o depolarización de las células marcadoras del paso del seno venoso (figuras 3 y 10), mientras que las soluciones ácidas produjeron el efecto contrario, o sea un aumento del potencial de membrana o hiperpolarización (fig. 11). La tabla III muestra la magnitud de estos cambios del PMR, ya que para un pH de 7.35 se registró un PMR de 62.4 mV que se va disminuyendo gra

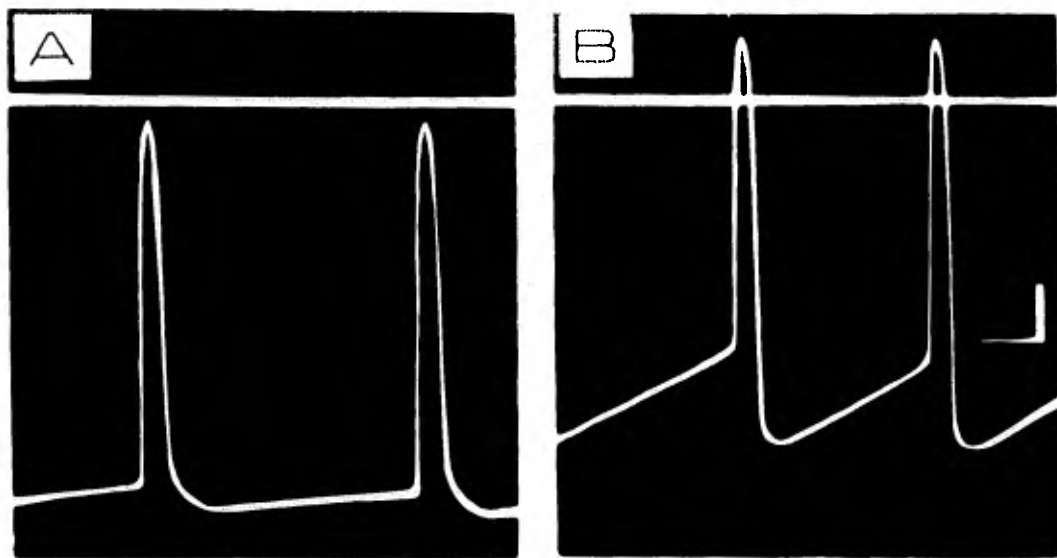


Figura No. 10

Efecto de las soluciones alcalinas sobre la velocidad de depolarización diastólica de una célula muscular de codo. A.- Potenciales con un pH de 7.5. B.- Cuando el pH alcanza un valor de 9.4. Observe se que la velocidad de depolarización precede a la actividad esta aumentada así como la frecuencia de contracción y que hay una disminución del potencial de membrana. Calibración, 200 msec., 20 mV.

TABLA III

Variaciones del PMR producidas por los cambios del pH

Normal a Alcalina		Normal a Acido	
pH	PMR	pH	PMR
7.35	62.4 mV	7.40	64.8 mV
7.70	56.8 "	6.80	65.2 "
8.10	56.0 "	6.35	69.2 "
8.50	56.8 "	5.90	74.4 "
8.70	56.0 "	5.40	89.6 "
8.90	59.2 "		
9.00	60.0 "		
9.20	58.5 "		
9.25	52.8 "		
9.30	56.0 "		
9.40	55.2 "		
9.50	46.4 "		

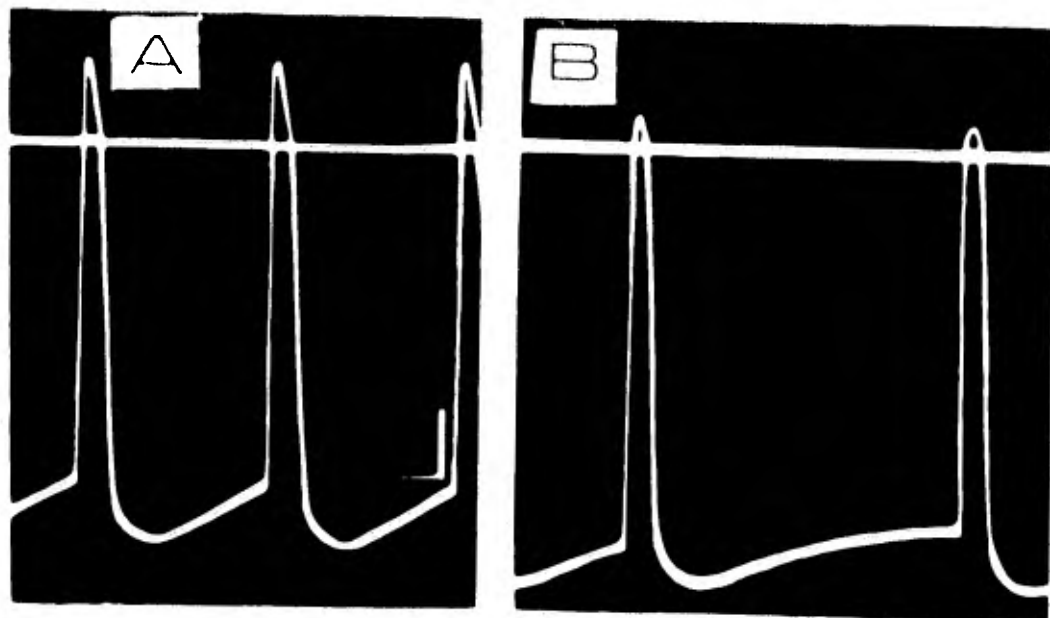


Figura No. 11

Efectos producidos por las sujeciones A. y B. sobre la velocidad de depolarización diastólica de las células marcapasos del seno venoso. A. - pH 7.50. B. - pH 6.8. Nótese que tanto en velocidad de depolarización diastólica como en amplitud de la actividad diastólica, mientras que el pH de sustrato se reduce se aumenta. Calibración, 200 msec., 50 mV.

TABLA IV

Cambios del PMR causados por el efecto
acumulativo.

De Normal a Alcalino	pH	de Alcalino a Normal (efecto acumulativo)	Δ
67 mV	7.0	75 mV	8 mV
65 "	7.5	72 "	7 "
59 "	7.6	73 "	14 "
58 "	7.9	72 "	14 "
56 "	8.2	70 "	14 "
58 "	8.5	70 "	14 "
56 "	8.8	70 "	14 "
56 "	9.1	70 "	14 "
56 "	9.3	70 "	14 "

dualmente hasta 46.4 mV. Cuando se alcanza un pH de 9.50. En este caso los cambios expresados en por ciento fueron de 26%. El efecto opuesto se ve cuando se aplican soluciones ácidas, ya que a partir de un pH de 7.40 se tiene un PMR de 64.8 mV y cuando el pH es de 3.40 se llega a -89.6 mV. Este aumento del PMR llega a ser de 28%.

Estos efectos están ilustrados en las gráficas de las figuras 13 A y B, en las que además se correlacionan con los cambios de la frecuencia espontánea causados por los diferentes valores del pH. A este respecto se observó que los cambios del PMR, producidos por las modificaciones extracelulares de la concentración de hidrogeniones, variaron su magnitud, dependiendo de la secuencia con la que se reemplazaron las soluciones. Cuando se reemplazó el Ringer de perfusión normal por un alcalino, (fig. 13 A) el PMR se abatió de 92 a 75 mV. En cambio cuando la variación se realizó en el sentido opuesto, o sea que una solución alcalina se reemplaza por la solución normal (fig. 13 B) el PMR se incrementó de 87 a 116 mV. Las cifras que aparecen en la tabla IV demuestran que, para un determinado valor de pH, es mayor el efecto cuando se pasa de una solución normal a una alcalina (16.5%) que cuando se hace el proceso inverso (6.7%). Además esta tabla también ilustra que los valores absolutos del PMR son siempre mayores, cuando se pasa de un Ringer alcalino a uno normal, como queda evidenciado por la columna de las diferencias del PMR.

E) Sobre el umbral de estimulación

Tanto las soluciones de perfusión alcalina como las ácidas produjeron cambios en la excitabilidad eléctrica de la aurícula del corazón del Carassius auratus, esto

TABLA VI

Efecto del pH sobre la velocidad de depolarización diastólica
lenta de las células "marcadoras del paso".

pH	mV/seg.	δ/seg.	Fecha
7.35	18.2	0.97	Nov. 27 - 80 A.M.
9.00	27.3	1.20	
9.40	34.8	1.56	
9.50	35.0	1.66	
9.50	35.0	1.66	
8.10	10.0	1.13	Dic. 10 - 80
9.20	15.0	1.38	
8.15	22.6	1.4	Dic. 9 - 80
7.40	22.8	0.96	
6.00	16.0	0.92	
5.00	17.0	0.80	
7.40	17.1	1.15	Nov. 27 - 80 P.M.
6.35	8.2	0.94	
5.90	4.4	0.90	
3.40	4.4	0.88	

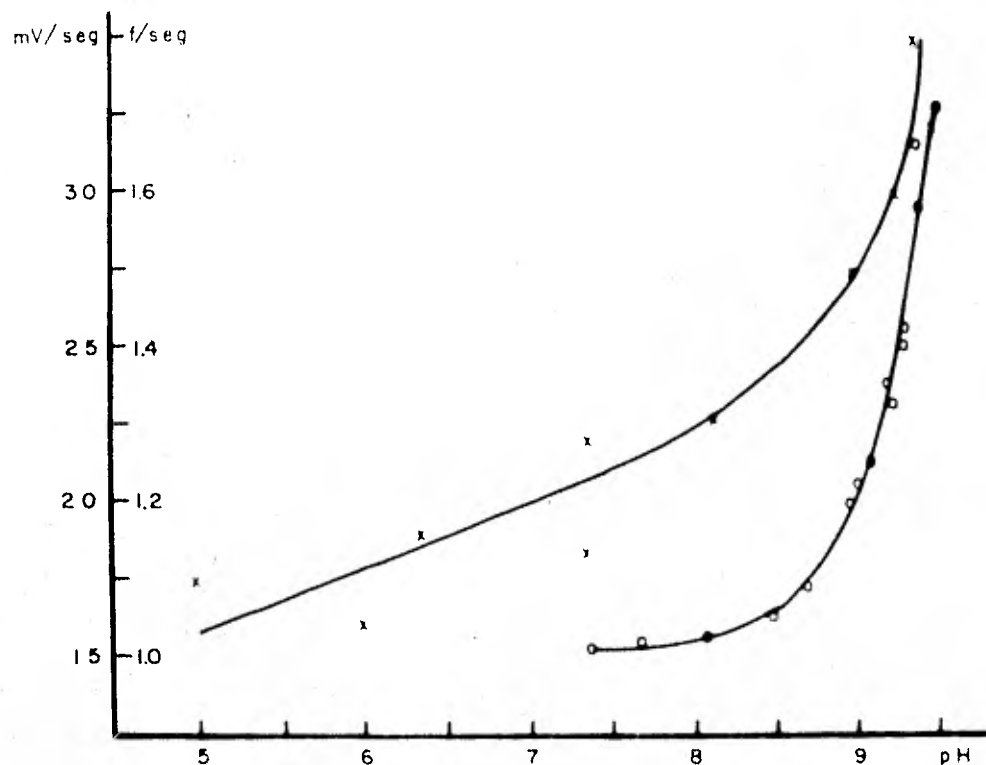


Figura No. 12

Correlación entre los aumentos de la velocidad de depolarización diastólica (X) y los aumentos de la frecuencia cardíaca (O) determinadas ambas por los cambios del pH. Notese que a mayor velocidad de depolarización diastólica mayor frecuencia durante las soluciones alcalinas. Ordenadas milivolts por segundo y frecuencia por segundo. Abscisas valores del pH.

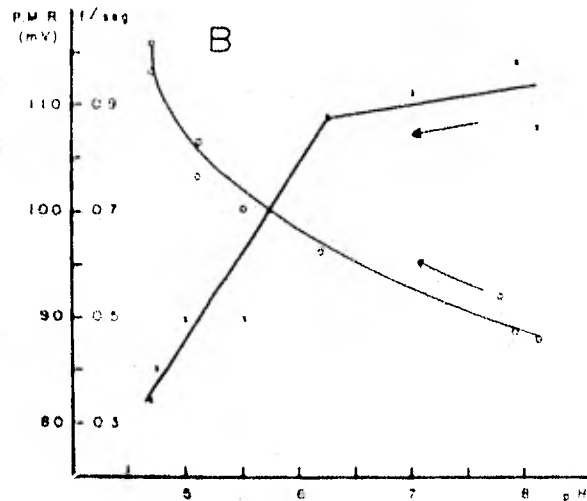
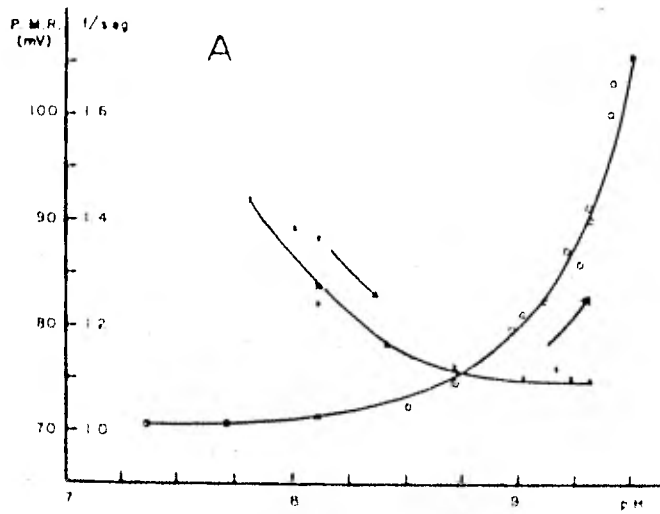


Figura No. 13

Efectos del pH sobre el potencial de membrana de reposo (PMR) sobre las células marcadoras del paso. En A, al aumentar el pH de 7.2 a 9.4 la frecuencia aumenta gradualmente de 1 a 1.7/seg. (O) y simultáneamente el PMR disminuye de 92 a 75 mV (X). En las curvas de B se partió originalmente con un corazón perfundido con una solución alcalina de 8.2 que al ser reemplazado por una solución ácida produjo una disminución gradual de la frecuencia (X) y simultáneamente un aumento del PMR (O). Ordenadas milivoltios y frecuencia por segundo. Abscisas, cambios del pH.

queda ilustrado en la tabla V en la que se observa, que el umbral de estimulación decrece de 73 μ Amp para un pH de 7.1 y llega a ser de 34 μ Amp, para un pH de 9.6. El fenómeno opuesto ocurre con las soluciones ácidas las cuales producen un incremento de la intensidad del estímulo de 38 μ Amp. a 128 μ Amp.

F) Sobre la velocidad de conducción.

Como ya hemos dicho en el capítulo de "Los potenciales cardíacos", la velocidad de conducción de la aurícula varía entre 0.20 y 0.30 m/seg. para un pH normal de 7.2. Cuando la velocidad de propagación se midió bajo diferentes condiciones experimentales de pH, se observó que las soluciones alcalinas aumentaron la velocidad de conducción aproximadamente en un 50%, mientras que las soluciones ácidas la disminuyeron más o menos en la misma proporción. Este proceso queda ilustrado en la curva de la fig. 14.

Efectos de la hipoxia sobre algunas de las características de los potenciales de la membrana y de acción de las células cardíacas "marcapase"

Cuando se perfundió una preparación aislada de seno venoso con soluciones salinas de pH 7.2-7.3 y se registraron los potenciales de acción con un microelectrodo intracelular se observó que al suspender provisionalmente durante 4 minutos el burbujeo del oxígeno, se produjo una depolarización de la membrana (fig. 15 A y B), cuya magnitud varió de acuerdo con el intervalo de la hipoxia. Cuando la misma preparación se equilibró en una solución alcalina de pH 9.20 y en esas condiciones se le sujetó a un período de 6.5 minutos de hipoxia se produjo simultáneamente con un aumento de la frecuencia espontánea, una de-

TABLA V

Efectos del pH sobre los umbrales de estimulación de la
 aurícula del Carassius auratus.

Alcalinas		Acidas	
pH	μ Amps	pH	μ Amps
7.1	75	7.15	38
8.0	70	6.20	45
8.7	50	4.50	80
8.8	42	3.70	128
8.9	36		
9.6	34		
8.1	36		
7.7	76		
7.6	80		

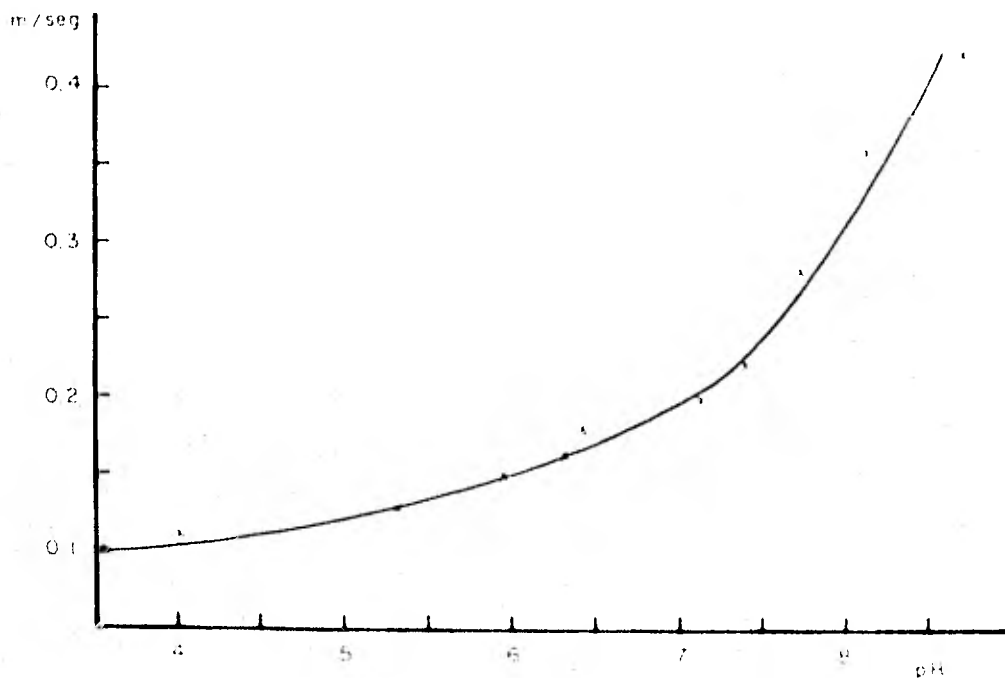


Figura No. 14

Efectos del pH sobre la velocidad de conducción de la aurícula. Las soluciones alcalinas produjeron un aumento en la velocidad y las soluciones ácidas, una disminución. Ordenadas, velocidad de conducción. Abscisas, valores del pH.

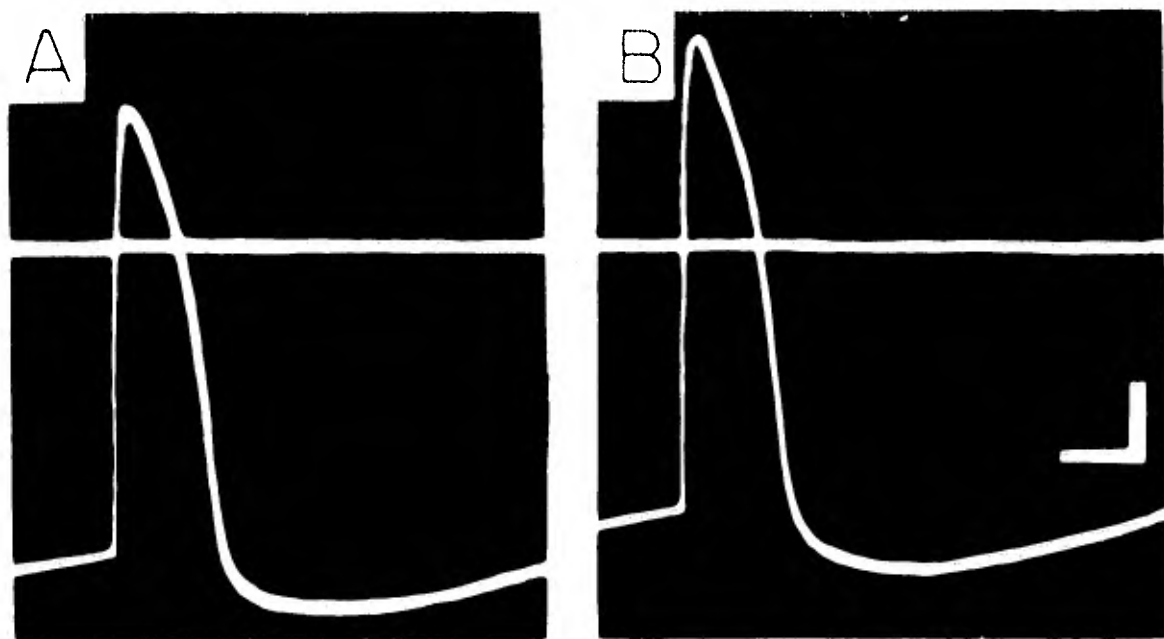


Figura No. 15

Efectos producidos por potenciales evocados de la corteza sobre las potenciales de una célula marcadita del pso, en condiciones normales de pH 7.4. A.- Señal batiente por estímulo. B.- Después de 4 minutos de estímulo. Nótese la mayor amplitud y mayor distribución del P18. Calibración: 200 mV., 20 ms.

polarización de la membrana semejante a la descrita arriba (fig. 16 A y B).

Un período de hipoxia de 7 minutos de duración provocó también una depolarización en las células perfundidas con un medio salino ácido de pH 4.70 (fig. 17 A y B).

Por otra parte, los períodos de hipoxia provocaron simultáneamente con los cambios arriba mencionados, un aumento de la velocidad de depolarización lenta de las células marcadoras del paso, como lo ilustra la tabla VII. La magnitud de estos cambios es variable para cada experimento y según la duración de la hipoxia.

Las curvas de la figura 18, muestran el curso temporal de los efectos de la hipoxia sobre la frecuencia de la actividad espontánea, en las dos situaciones estudiadas de alcalinidad y acidez.

En vista de que la hipoxia puede, en ocasiones, cambiar ligeramente el pH extracelular, se realizó el siguiente experimento. Si en una preparación perfundida con una solución de pH 7.1, se reemplaza ésta por una de pH alcalino (9.4) se observa (como lo ilustran las figuras 19 y 20) que ocurre un aumento gradual de las frecuencias de contracción auricular y ventricular. En estas condiciones se intercaló un período de hipoxia de 8 minutos, y se observó que la frecuencia prosiguió su curso temporal de aumento y cuando la hipoxia se suspendió, al iniciar de nuevo el burbujeo de oxígeno, la frecuencia cardíaca también, continuó aumentando en la forma que lo hacía antes de que los dos últimos procedimientos se intercalaran (fig. 20). O sea que el efecto preponderante es el producido por el pH al hacerse la solución más alcalina.

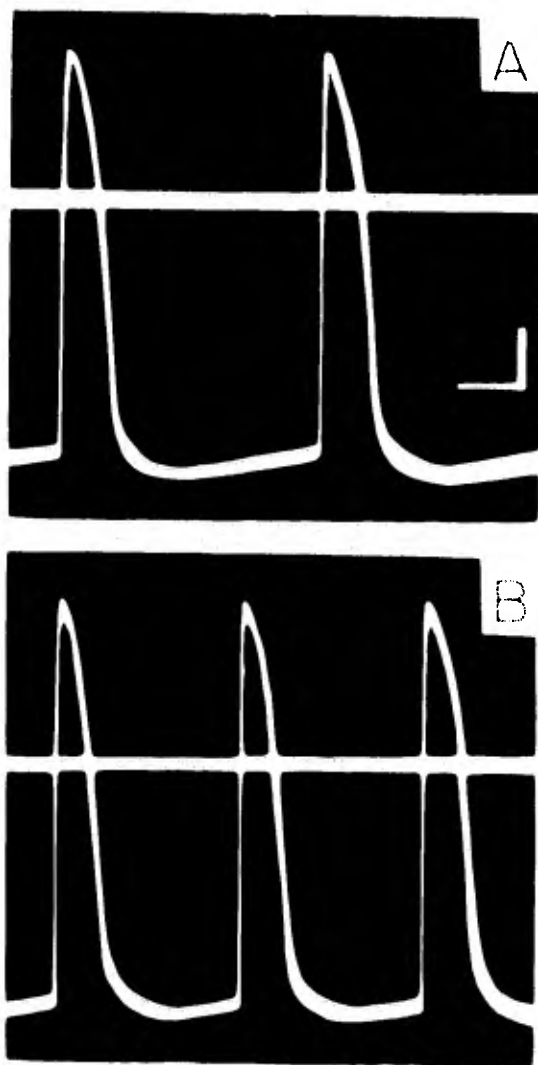


Figura 4. 10

Efectos de la hipoxia durante la medida de las soluciones alcalinas (pH 9.22). A.- Preparación con oxígeno. B.- Después de 6.5 minutos de hipoxia. Obsérvese la disminución y el aumento concomitante de la frecuencia, a pesar de que se mantiene un pH constante. Calibración, 200 mseg., 20 mV.

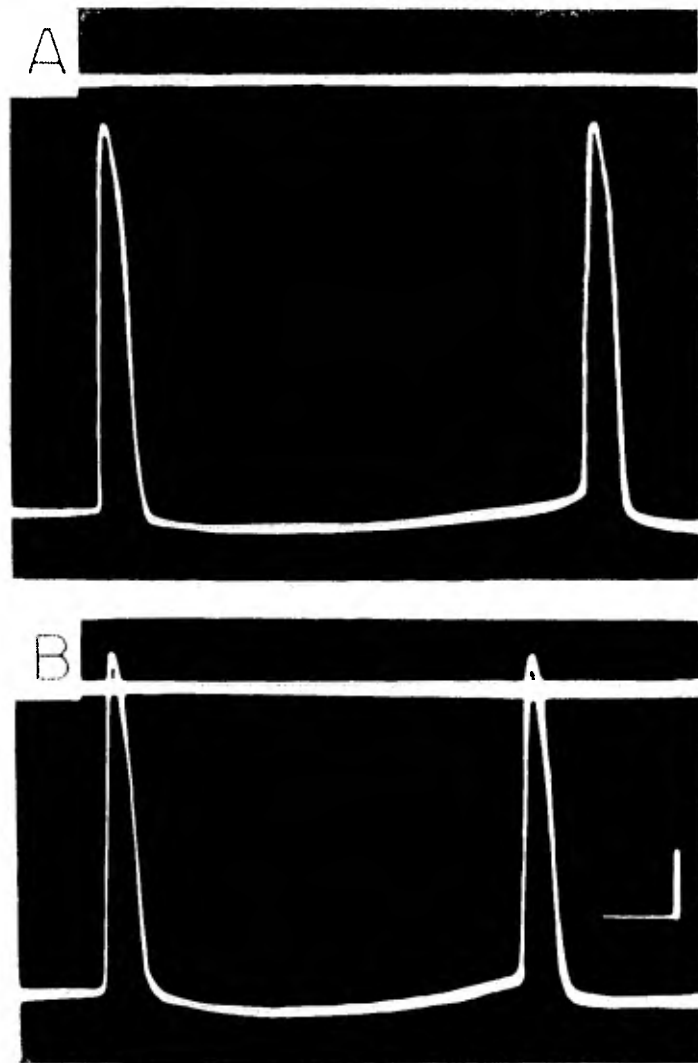


Figura No. 17

El efecto de la temperatura en la resolución de las fracciones ácidas
 pH 4.70 a 4.80 en 10 minutos. Se muestra el efecto de 5 minutos sin bur-
 bujeo de aire en la resolución de las fracciones ácidas. Se muestra la disminución
 del pH de 4.70 a 4.80 en 10 minutos.

TABLA VII

Efecto de la hipoxia sobre la velocidad de la depolarización
lenta de las células marcadoras del paso.

Hipoxia mín.	pH	mV/seg.	μ/seg.	Fecha
8.0	7.80	7.45	0.42	Nov. 18 - 50
	7.60	10.86	0.52	
1.0 2.5 9.0	7.80	16.32	1.25	Nov. 25 - 50
	7.75	21.30	1.25	
	7.70	23.80	1.28	
	7.50	21.70	1.28	
1.0 1.5 3.0 8.0 12.0	8.15	13.75	0.96	Dic. 9 - 50
	8.15	16.29	0.96	
	8.15	13.71	0.96	
	8.15	13.00	0.97	
	8.15	16.00	0.98	
	8.15	16.30	1.06	
1.0 2.0 4.0 5.0 6.0	9.20	8.51	1.00	
	9.20	13.30	1.05	
	9.20	14.40	1.07	
	9.20	13.60	1.17	
	9.20	12.90	1.20	
	9.20	14.00	1.20	

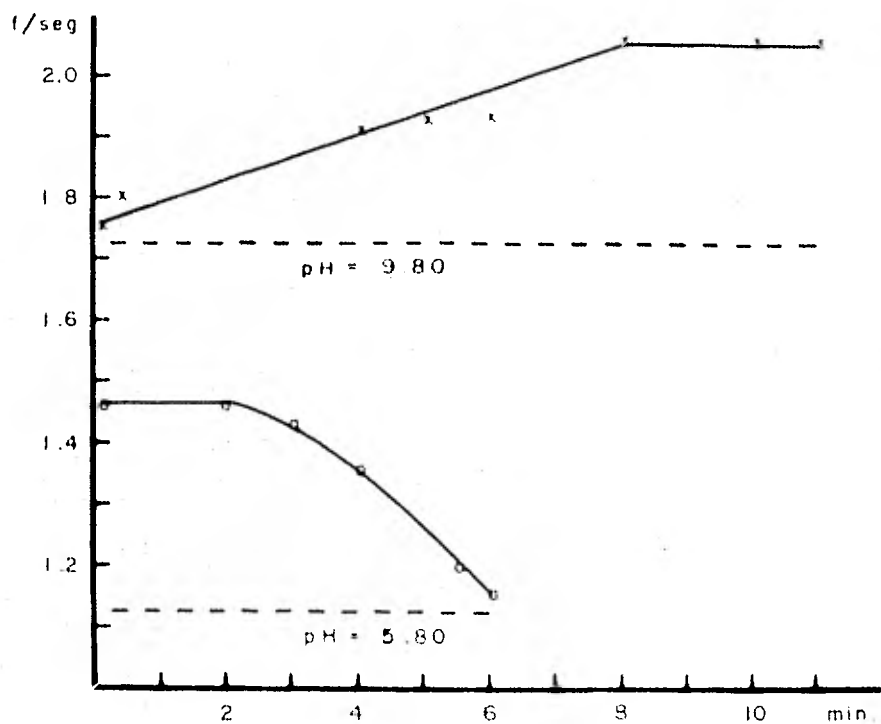


Figura No. 15

Curso temporal de los cambios de la frecuencia producidos por las soluciones alcalinas y las soluciones ácidas. La curva superior (X) - demuestra los aumentos de la frecuencia producidas por las soluciones alcalinas. La curva inferior (O) los efectos de disminución producidos por las soluciones ácidas. Ordenadas, frecuencia por segundo. Abscisas, tiempo en minutos.

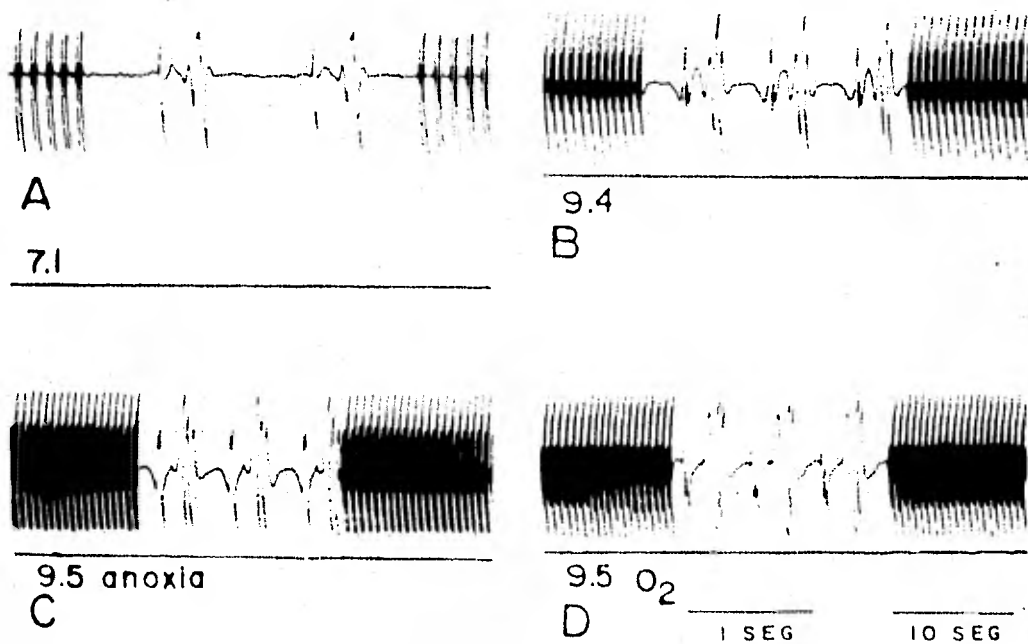


Figura No. 19

Efecto de las soluciones alcalinas y de la hipoxia sobre la frecuencia cardíaca. A.- Electrogramas auricular y ventricular a pH normal. B.- aumento de la frecuencia producida por las soluciones alcalinas. C.- La frecuencia continua aumentando durante un periodo intercalado de hipoxia de 8 minutos. D.- Al burbujear de nuevo oxígeno, igualmente se continuaron observando los efectos provocados por las soluciones alcalinas.

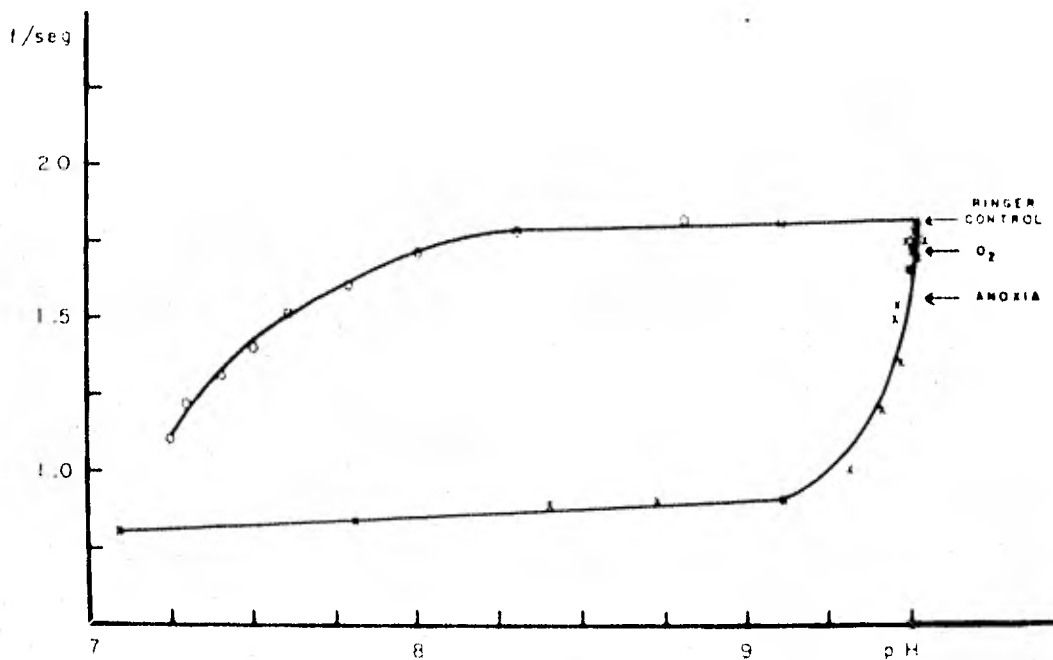


Figura No. 20

Curvas que muestran los cambios de la frecuencia provocados por las modificaciones del pH ilustradas en la figura 19. El ciclo se inició agregando solución alcalina (X) y posteriormente se agregó Ringer control para obtener la curva de recuperación (O). Ordenadas, frecuencia por segundo. Abscisas, valores del pH.

Efectos de las diferentes concentraciones de los iones K^+ , Na^+ y Ca^{++} , sobre los aumentos de la frecuencia de la actividad espontánea que producen las soluciones alcalinas.

La disminución (25-50%) del ión potasio e inclusive las soluciones libre de potasio, produjeron en general una disminución de los efectos de incremento de la frecuencia determinados por las soluciones alcalinas de la perfusión. El aumento (25-50%) del ión potasio produjo alteraciones que no pudieron ser sistematizadas, ya que obtuvimos casos con menos efectos, sin cambios e incluso algunos con un mayor efecto.

En cuanto al ión sodio se refiere, cuando se disminuyó en 50% (reemplazándolo por su equivalente de sacarosa) o cuando se aumentó en 50%, no se encontraron cambios importantes en la magnitud de los efectos estudiados. --- Semejantes resultados se obtuvieron con el ión calcio cuando este se aumentó o disminuyó en un 50%.

Efecto de los digitálicos sobre la frecuencia de la actividad espontánea de las células cardíacas.

Al agregar al líquido de perfusión un digitálico - - (Digilanid, Sandoz), en concentraciones de 0.5 a 1.5 μ gr/ml. se produjo, después de unos 10 a 20 minutos, una disminución de la frecuencia cardíaca. Este efecto no parece ser reversible por lo menos en un período de tiempo corto (45 minutos) para explorar el posible efecto de un digitálico sobre los cambios causados por las soluciones alcalinas, o sea el aumento de la frecuencia cardíaca, se agregó al medio extracelular de la preparación, una solución de ouabaina

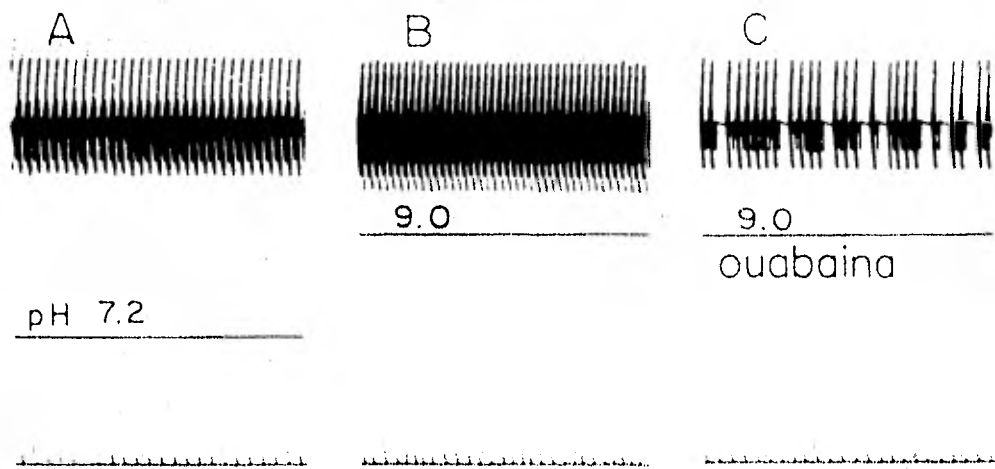


Figura No. 21

Efectos de la ouabaina sobre la respuesta del corazón a las soluciones alcalinas. A.- Registro de la actividad de la aurícula y del ventrículo durante pH normal. B.- Aumento de la frecuencia producido por una solución alcalina. C.- Disminución de la frecuencia durante perfusión con el mismo Ringer alcalino con ouabaina. (1.5 μ gr/ml). Señal de tiempo 1 segundo.

(ouabaína, Arnaud) en tal proporción que alcanzara una -- concentración de 1 a 1.5 $\mu\text{gr}/\text{ml}$. en el momento en que el efecto de la alcalinidad era máximo. (fig. 21 B). En estas condiciones se observó que después de unos 15 a 20 minutos, la frecuencia empezó a disminuir sustancialmente e inclusive empezaron a aparecer algunos paños y bloqueos aurículo-ventriculares al finalizar el experimento (fig. 21 C). Estos últimos cambios se presentaron a pesar de que la preparación se seguía perfundiendo con una solución solución alcalina (pH 9).

Cuando las soluciones de ouabaína se administraban previas a la alcalinidad, esta última no producía el aumento de la frecuencia que normalmente desencadenaba. Por otra parte, al aplicar simultáneamente la solución de ouabaína y el Ringer alcalino, se observó que los cambios de la frecuencia no ocurrían en igual manera que aquellos -- producidos por las soluciones alcalinas solas. Recordemos aquí que después de que una preparación ha estado bajo -- perfusión alcalina, al regresar al Ringer control, la frecuencia espontánea permanece con valores más altos para un mismo pH determinado (véase figuras 4, 5, 7 y 20). La persistencia del efecto producido por las soluciones alcalinas que perdura aún después de que éstas se han reemplazado por soluciones normales, queda abolida cuando se -- agrega ouabaína, como lo ilustra la curva de la figura 22. En estas condiciones el reemplazo por una solución de control (pH 7.2) logra reestablecer los valores de la frecuencia de la que se partió originalmente e inclusive, -- ésta cae posteriormente por abajo de los valores iniciales, o sea que los efectos de la ouabaína persisten a pesar de que se perfunda con Ringer control.

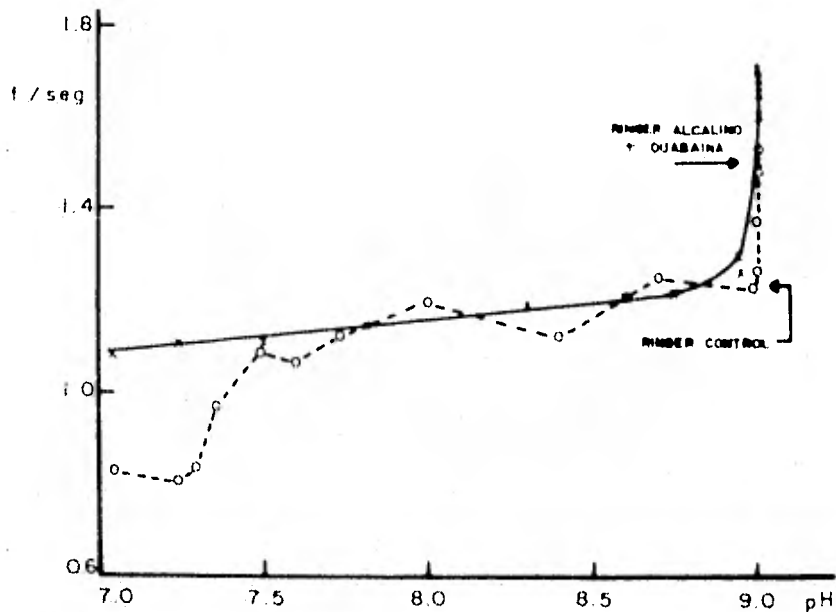


Figura No. 22

La ouabaina como inhibidor de los efectos producidos por las soluciones alcalinas. Al pasar de un pH de 7.0 a un pH de 9.0 se produjo un aumento gradual de la frecuencia, curva de (X). Durante el final de este proceso se agregó ouabaina 1.5 gr/ml. al líquido de perfusión y durante 15 minutos después, la frecuencia continuó aumentando para luego decrecer y continuar así a pesar de que el pH se disminuyó al agregar Ringer control. El efecto de la ouabaina se manifestó posteriormente abatiendo los valores de la frecuencia control. Curva líneas interrumpidas (O). Observese, en este caso, que la curva de recuperación coincide con la de aumento de la frecuencia, contrastando así, con las curvas de las figuras 4, 5, 7 y 19. Ordenadas, frecuencia por segundo. Abscisas valores del pH.

D I S C U S S I O N

DISCUSION

Es interesante mencionar que la especie experimental escogida o sea, el pez dorado Carassius auratus, crece -- abundantemente en los tanques y lagos de todas las zonas geográficas de México. Su interés comercial como animales de ornato por su gran variedad de colorido, hace que desde el punto de vista lucrativo sea un renglón explotable. Este hecho facilita grandemente la obtención de esta especie para nuestros fines experimentales. Además el Cara--ssius auratus, es un buen representante en cuanto a sus -- hábitos y funciones de otras dos especies; Cyprinus carpio y la Carpa de Israel, las cuales adquieren cada día -- mayor importancia en el renglón alimenticio de nuestro -- país.

En cuanto a que se haya escogido el corazón del -- Carassius auratus como material experimental se pueden -- hacer las siguientes observaciones. En primer lugar, para cumplir con los requisitos previos a la obtención del Título de Licenciatura de la carrera de Biología en la -- UNAM. Para ello se exploraron las posibilidades en cuanto a facilidades de laboratorio y se encontró que la Unidad Experimental de Electrofisiología "Arturo Rosenblueth" -- del municipio de Jiutepec, Morelos, llenaba algunos de -- los requisitos para el propósito arriba mencionado. En la Unidad Experimental de Jiutepec, se estaba llevando a ca--bo un programa experimental que continuaba el análisis de la organización celular cardíaca y de los mecanismos de -- propagación de los impulsos eléctricos en los tejidos cons--tituidos por dichas células. En estudios previos realiza--dos por varios investigadores sobre la propagación de im--pulsos y el acople celular de los tejidos cardíacos, se -- usaron diversas técnicas experimentales en varias especies

animales, (Alanís, González y López, 1958; Alanís, López y Mandoki, 1959, Alanís Mandoki y Pilar 1960; Alanís, -- López Mandoki y Pilar, 1959; Alanís y Pilar, 1960; Alanís, 1960; Alanís Benítez, 1967; Alanís y Benítez, 1970; --- Alanís, Benítez, López y Martínez-Palomo, 1973; Martínez-Palomo, Alanís y Benítez, 1970; Martínez-Palomo, Benítez y Alanís, 1973; Martínez-Palomo y Alanís, 1980).

Los primeros estudios de estos autores, trataban de explicar los mecanismos de los retardos de la propagación de los impulsos eléctricos, en las zonas de unión de dos tejidos cardíacos diferentes de los mamíferos. La complejidad de estructuras histológicas y de las propiedades eléctricas de las células participantes en este proceso, limitan el estudio experimental. De ahí que los autores se preocuparan por analizar sistemas celulares más sencillos, como son los corazones de los vertebrados inferiores y en ellos realizar un estudio comparativo, morfológico y electrofisiológico. Hay que recordar que la poca complejidad de los corazones de los reptiles y anfibios, por ejemplo, estriba en que estos no tienen un sistema especializado de la conducción, como el bien conocido de los mamíferos. De acuerdo con algunos autores (véase -- Chiodi y Bartolami, 1967), no existen ni nodo auriculo-ventricular ni fibras de Purkinje intercalados entre la aurícula y el ventrículo y sin embargo existen retardos de la propagación en estos corazones, por lo que pudieran ser éstos un mejor modelo para el estudio de los retardos auriculo-ventriculares. Otro aspecto relacionado con la complejidad anatómica es que los nexos o uniones especializadas de comunicación entre dos células, parecen no -- existir cuando menos en el miocardio de los anfibios y reptiles (Fawcett y McNutt, 1969). Si se recuerda que --

Los peces también carecen de los sistemas histológicos involucrados en la conducción de impulsos de los mamíferos, entonces es interesante hacer un estudio experimental de estos animales con la esperanza de encontrar alguna información diferente a la que se tiene actualmente. Esta posibilidad originó la iniciación de la presente tesis.

En la literatura más reciente y después de haber realizado el presente estudio experimental se encontró que - Martínez-Palomo y Mendez, 1971; Santer y Cobb, 1972; Cobb 1974, y Shibata en 1977, describieron uniones tipo nexus entre las células musculares de los corazones de los teleosteos. Esta información reciente excluirla a los nexus como caracter diferencial con los mamíferos, pero persistirían las diferencias en cuanto a las estructuras intermedias entre la aurícula y el ventrículo, o sea la ausencia en los peces del nodo aurículo-ventricular y de la red de Purkinje.

La concentración de hidrogeniones.

El pH de la solución salina con que se perfunde un corazón aislado debe de ser semejante al pH que tenga el líquido extracelular que rodea a las células. El pH de la sangre de los peces es de 7.7 a 7.8 de acuerdo con Rahn, (1967) y de 7.7 según Holeton et. al. (1967). El pH intracelular es bien sabido que es menor que el del medio extracelular y el de la sangre según los estudios de Robin -- (1964), en los cuales reporta que para Squalus acanthias el pH intracelular es más bajo que el extracelular (pH 6.95 para intracelular y 7.52 para el extracelular). Puesto que el pH del medio extracelular es de 7.4-7.5, se ha considerado que las soluciones salinas de la perfusión

de las preparaciones cardíacas debieran de tener tal valor. Al Ringer Rovainer de pH 7.2-7.4 lo hemos llamado -- Ringer control, a las cifras por encima de este valor las llamamos alcalinas y a las que están por debajo, soluciones ácidas. Aunque conocemos el hecho de que el pH del medio extracelular no necesariamente refleja el pH protoplasmático o intracelular, ya que, el equilibrio de los iones hidrógeno entre el interior y el exterior de la célula parece ser realizado por un proceso metabólico que ocurre en la membrana independientemente de los procesos de difusión, según los resultados publicados por Hill --- (1955) en músculo esquelético, de todas formas estamos en condiciones de evaluar los cambios del pH, ya que el pH intracelular guarda finalmente una relación estrecha que debe ser más o menos constante, con los cambios de pH extracelular. Esto queda confirmado por el hecho de que en uno o dos minutos después de que se cambia el pH extracelular, observamos un cambio de la frecuencia del corazón o los otros efectos producidos y reportados en los resultados; indicando con ello que la variable aplicada fue -- detectada por las células o sus membranas. La situación ideal para medir el pH celular protoplasmático sería el uso de microelectrodos especiales sensible a las diferentes concentraciones de hidrogeniones. Sin embargo, si tenemos en cuenta que las marcadoras del paso cuyo potencial nos interesa, tienen tan sólo entre 4 a 6 micras de diámetro, queda excluido, en principio, cualquier microelectrodo sensible a la concentración de los iones hidrógeno en el interior de la célula, ya que aparte de la micropipeta llena con la solución de cloruro de potasio, para registrar la actividad eléctrica, habría que introducir en la misma célula una segunda micropipeta de vidrio sensible a los hidrogeniones, tal como lo hicieron Spray, Bennett y Harris (1980) en las células nerviosas

embrionarias del ajolote, (*Ambystoma mexicanus*), en donde las células son de mayor diámetro.

Otro punto que debe ser analizado en cuanto al pH se refiere, es el de los efectos que puedan tener los amortiguadores usados para mantener los valores del pH deseados y estar seguros de que los resultados obtenidos no sean debidos al cambio de amortiguador. Como información pertinente agregaremos que el sistema natural de amortiguación del corazón es menos efectivo (50%) que el del músculo esquelético (Andrus et. al., 1926). En el caso presente, el uso del "Tris-HCl" nos permitió mantener las soluciones alcalinas a pH muy constante y observar exactamente los mismos resultados, al aplicar las variables estudiadas, que en el caso en que se empleaba el otro sistema amortiguador constituido por bicarbonato-bióxido de carbono. Esta sustitución es recomendable ya que hay varios estudios que señalan la importancia de la relación de CO_2 y bicarbonato así como sus efectos directos sobre las respuestas celulares (Vaughan W., et. al., 1967, Mc Elroy et. al., -- 1958). En este mismo sentido Johansson et al. (1975) reemplazaron el CO_2 y bicarbonato por histidina como sistema amortiguador.

Los resultados experimentales de Karaki (1981), mostraron, al realizar un estudio comparativo entre las soluciones amortiguadas con Tris-HCl y las amortiguadas con bicarbonato, que el "Tris" no inhibe las respuestas contractiles de los músculos lisos de los vasos y del intestino delgado, como habían reportado otros investigadores. Estos resultados obtenidos en el músculo liso son semejantes a los reportados en el presente estudio, ya que en ambos casos los resultados analizados son los mismos con

los amortiguadores.

La banda de los valores del pH que se han explorado en el presente estudio va de 3.4 a 9.6, debido a que estos valores cubren ampliamente las variaciones naturales normales tanto del ritmo diurno del estanque de los peces (pH 7.5 a 9.5: Snieszko y Axelrod, 1971), como las variaciones que se reportan para las aguas dulces (3.2 a 10.6).

Los potenciales cardíacos.

El primer potencial que aparece en los registros extracelulares, se puede atribuir a la activación de las células marcadoras del paso del seno venoso. Los siguientes hechos favorecen esta interpretación. La magnitud del potencial crece con la cercanía del electrodo al sitio de unión de la aurícula con el seno venoso. El potencial -- siempre precede a la actividad eléctrica y mecánica de la aurícula y cuando se registra simultáneamente con un electrodo extracelular y con una micropipeta intracelular, -- los dos fenómenos concuerdan en el tiempo, confirmando así que el pequeño potencial que aparece primero (fig. 1 B) pertenece a la activación del seno venoso, y que la morfología del potencial registrado intracelularmente no deja dudas de que se trata de una célula marcadora del paso -- (fig. 2 C).

La latencia registrada entre la activación del seno venoso y la aurícula (8-12 msec.), puede ser interpretada en dos formas diferentes. Por una parte, las células de la zona de unión de los dos tejidos vecinos, el seno venoso y la aurícula, pudieran tener características histológicas diferentes a las de las células del tejido nes

tante de cada una de ellas. Por ejemplo, el pequeño diámetro de las células y la escases de uniones especializadas de las membranas celulares serían factores limitantes de la velocidad de conducción de los impulsos, como ha sido sugerido por Alanís, et. al., (1969, 1970, 1972, y 1973). La otra interpretación sería el hecho de que las células que constituyen el seno venoso, fueran las que poseen una velocidad de conducción lenta debido a su muy escaso diámetro y longitud. Las condiciones experimentales del presente estudio no nos permiten dilucidar el sitio exacto del retardo, ya que habría que registrar de células únicas contiguas, para conocer así sus propiedades en cuanto a su comunicación eléctrica. En los resultados se presentaron evidencias de que aún para distancias interelectrodiales muy pequeñas (200-400 μm) el tiempo de activación entre el seno y la aurícula es muy largo (6-8 msec.) comparado con las mismas medidas realizadas en el músculo auricular. Sin embargo como no es posible hacer lo mismo de dos células del seno venoso, esta diferencia sólo queda como explicación tentativa de que la velocidad de conducción es muy lenta en la zona de unión de los tejidos, pero sin ser demostrativa.

En referencia a los potenciales eléctricos de los músculos que constituyen el cono arterioso, ya se mencionó que éste se contrae regularmente siguiendo cada una de las contracciones del ventrículo al cual está conectado. No es fácil, sin embargo distinguir si la contracción del cono arterioso es realizada por el acortamiento activo producido por los potenciales de acción, o si solamente ocurre un estiramiento de las fibras elásticas que se están distendidas pasivamente por la sangre expulsada a presión durante la contracción ventricular. Además las

capas del tejido celular conjuntivo, el tejido fibroso y colágeno que rodean al bulbo o cono arterioso dificultan la introducción de electrodos finos a esta estructura. Solamente en pocas ocasiones se detectó un tipo de actividad eléctrica que desde luego no fue posible identificar como potenciales de células cardíacas. Existe la posibilidad en este último caso de que sean solamente músculos lisos estimulados por los potenciales propagados del ventrículo.

El intervalo aurículo-ventricular (A-V).

En los corazones de los peces la latencia o intervalo aurículo-ventricular, tiene características semejantes a las descritas en los corazones de los mamíferos. El retardo de la propagación tiene una magnitud considerable y se comporta ante variables diferentes al igual que lo hacen los corazones del mamífero. (Alanís, et. al., 1959, 1960). También en los peces hemos encontrado que el intervalo A-V se modifica cuando se perfunde el corazón con soluciones salinas con diferente pH, como se puede ver en la tabla I. Las soluciones alcalinas tienden a disminuir el intervalo A-V y simultáneamente aumentan la frecuencia de la actividad espontánea. Las soluciones ácidas producen exactamente el fenómeno opuesto, o sea, un alargamiento del intervalo A-V y consecuentemente una disminución de la frecuencia de contracción. Resultados semejantes fueron reportados por Andrus et. al., (1924) que registró un aumento de la propagación aurículo-ventricular cuando se hacía ligeramente alcalina la solución de perfusión en el corazón del conejo. Por otro lado Dale et. al. (1914) demostraron que las soluciones ácidas disminuyen la frecuencia y alargan el intervalo seno-auricular (S-A) y aurículo-ventricular (A-V) del corazón de la rana. Mines -

(1913) también reportó un aumento del intervalo A-V con las soluciones ácidas y una disminución con soluciones al calinas en el corazón de la rana. El porcentaje de los cam bios del intervalo A-V son mayores que los producidos por la misma variable de pH en cada uno de los tejidos, o sea en la aurícula y del ventrículo, reconfirmando que la región de unión de la aurícula y del ventrículo es una zona crítica para la propagación de los impulsos eléctricos, a pesar de que en los peces no están presentes entre la au rícula y el ventrículo, las estructuras especializadas de la conducción, o sea el nodo aurículo-ventricular (Tawara, S., 1906), el haz de His (His W., 1893) y ni la red de -- Parkinje (Palíki, B., 1839; Purkinje, J., 1845). En cuanto al mecanismo del retardo A-V se puede sugerir el mismo que se presente en la sección anterior para el retardo -- S-A.

La frecuencia espontánea bajo condiciones normales.

Puesto que los procedimientos quirúrgicos y el manipuleo del corazón, al ser extraído del pez, provoca una disminución acentuada de la frecuencia cardíaca, siempre hubo que esperar de 10 a 20 minutos para que la preparación aumentara gradualmente su frecuencia de contracción y finalmente quedara estable durante largos períodos.

Como una información adicional, relacionada con la actividad espontánea de la preparación, hemos observado que entre más pequeña es la talla del animal, la frecuencia cardíaca es más alta, para las mismas condiciones de perfusión. Igualmente conviene mencionar que cuando los peces están parasitados por copepodos (Argulus o Lernaea), o bien por hongos (Saprolegnia), la frecuencia cardíaca

tiende a ser menor que en los animales sanos, de ahí la importancia de usar animales de cepas no contaminadas. -- Otro factor que tiene que ser tomado en consideración es el restiramiento mecánico que se aplica al fijar el corazón a la base de la camarita, ya que si éste es excesivo, la frecuencia puede disminuir y en ocasiones las contracciones cardíacas se abolen. En algunos corazones se observaron en el pericardio y en el tejido graso que rodea a los músculos cardíacos unos gránulos blancos y nacarados con la apariencia de depósitos de sales cálcicas. Aunque no podemos afirmar que estas pequeñas esferas blancas -- afecten directamente la frecuencia del latido del corazón, lo que sí podemos decir es que afectan la excitabilidad y las buenas condiciones de una preparación ya que estos corazones eran inestables por lo que en general fueron descartados para los propósitos del presente estudio.

Se ha mencionado que la porción de tejido cardíaco en la que se encuentran localizadas las células marcadoras -- del paso está bien circunscrita y localizada. En algunas ocasiones y bajo alto poder de amplificación del microscopio, se pudo detectar pequeñas y finas prolongaciones trabeculares que se contraían sincrónicamente con el tejido del seno. Aunque estas prolongaciones invaden algunos segmentos del seno venoso simulando un tejido de conducción, no es posible describirlo así, ya que Yamauchi. (1980), ha reportado la ausencia de un tejido organizado de la conducción con las características especiales correspondientes en el tejido del seno venoso de los teleosteos.

En referencia a la localización limitada de las células marcadoras del paso, hay que aclarar que cuando se practican las separaciones quirúrgicas o las lesiones me-

cánicas, mencionadas en el capítulo correspondiente de resultados, y de los músculos cardíacos involucrados dejan de contraerse, la cesación de dicha actividad no es debido a la posible inexcitabilidad que las secciones hayan producido, ya que la aplicación de pulsos eléctricos cuadrados a través de electrodos de platino hacen responder en forma activa cada uno de los tejidos separados, sin -- que se necesite usar estímulos de alta intensidad. Llama la atención entonces, que el corazón del Carassius auratus tenga solamente una región generadora de actividad automática. Esta característica la convierte en una especie con pocas posibilidades de adaptación en lo que al corazón se refiere y contrasta con las observaciones aportadas por Lagler (1977), que describe en el corazón del pez bruja (Myxínidae), varios sitios con actividad automática en los tejidos cardíacos.

Potencial de membrana de reposo (PMR) de las células cardíacas.

El hecho de que el potencial de membrana de reposo de las células marcadoras del paso del seno venoso sea menor, en promedio, que el potencial de reposo de las células auriculares y de las ventriculares requiere una explicación. Antes de comparar estas cifras conviene analizar primero los factores responsables del PMR de las células cardíacas clásicas o sea, las células de los músculos auricular y ventricular. Desde luego que la distribución de los iones potasio fuera y dentro de la célula es de acuerdo con Hodgkin y Katz, (1949) de suma importancia. Si la concentración de los iones potasio dentro y fuera de la membrana, es el factor determinante de los valores del

PMR, entonces, las células cardíacas deberían de tener un potencial de reposo de valor semejante al del músculo estriado y del nervio. En general, hay un acuerdo en referencia a que los potenciales de reposo de los tejidos cardíacos son semejantes, a los de las estructuras arriba mencionadas, ya que de acuerdo con Trautwein (1961) la concentración interna de potasio es alta (130-160 mM) y la concentración interna de sodio es baja (7-13 mM) en los músculos auriculares y ventriculares del corazón. De acuerdo con esto, los potenciales de membrana de reposo de los músculos cardíacos deberían de tener el mismo orden de magnitud que los de los músculos esqueléticos, ya que su valor estaría determinado finalmente por las concentraciones de potasio fuera y dentro de la membrana celular. Las cifras proporcionadas por Trautwein (1961) son semejantes a los valores del PMR de las células cardíacas auriculares y ventriculares del Carassius auratus aquí reportadas.

Como se ve en la tabla II los valores del PMR de las células del seno venoso son menores (78.8 mV) que los de las células auriculares (88.3 mV) y ventriculares (94.4 mV). Estas cifras concuerdan con los valores publicados por Hutter y Trautwein (1956), quienes encontraron un potencial de membrana del nodo S-A de los mamíferos, significativamente menor que los potenciales de reposo de la aurícula. Iguales resultados fueron reportados por Alanís et. al., (1964 a y b) en referencia al nodo atrio-ventricular del corazón del conejo. En este punto conviene hacer una aclaración en cuanto a que el hablar de potencial de reposo en una célula generadora de actividad espontánea, o sea, de una célula marcadora del paso, no es más que una forma teórica, ya que la depolarización gradual continua de la membrana, no permite que ésta alcance un equili-

brío real que sería el verdadero valor del potencial de reposo. De ahí que algunos autores hayan sugerido el término de "potencial diastólico máximo". A pesar de esta dificultad de nomenclatura, la mayor parte de los investigadores siguen hablando de potencial de reposo y así lo seguiremos haciendo en el presente estudio.

Sí es un hecho que en los peces, los valores del potencial de reposo del seno venoso son menores que en las otras estructuras cardíacas, entonces tenemos que buscar el o los factores responsables de esta situación. La primera observación en ese sentido es la de De Mello y Hoffmann (1960) que demostraron que los nodos S-A y A-V, son poco afectados cuando se eleva la concentración externa del potasio, en comparación con lo que ocurre en el músculo auricular. Estos mismos autores, calcularon el potencial de reposo y reportaron que para las fibras auriculares el potencial era de 20 mV menor que el calculado de acuerdo con la fórmula de Nernst y en cambio el potencial del nodo S-A era mucho menor, o sea 37 mV menos que el potencial de Nernst. Estos experimentos sugieren que las membranas de las células marcadoras del paso tienen una alta permeabilidad para los iones sodio, o lo que es más probable a la luz de los estudios de Noble (1962 a y b), una baja permeabilidad al ión potasio que explicaría más ampliamente el hecho de que el potencial de reposo de las células marcadoras del paso sea menor que el determinado por el equilibrio iónico del potasio. Si semejante situación se presentara en las membranas de las células marcadoras del paso de los peces, entonces quedaría explicado el hecho de que su PMR sea menor que el de la aurícula y del ventrículo. Sin embargo, hasta que las permeabilidades iónicas de las membranas no sean medidas y comparadas

en los peces, no se puede admitir la explicación sino en forma hipotética.

El aumento de la frecuencia producido por las soluciones alcalinas.

Los mecanismos a través de los cuales las soluciones alcalinas aumentan la frecuencia de la actividad espontánea de las células cardíacas marcadoras del paso, pueden ser explicados por cada uno de los cambios de las propiedades de las membranas celulares que acompañan al aumento de la frecuencia.

Antes de analizar cada uno de los cambios arriba mencionados, señalaremos los antecedentes de la literatura sobre el aumento de la frecuencia que las soluciones alcalinas producen. De hecho la mayor parte de los autores -- que estudiaron estos aspectos coinciden con nuestros resultados a saber:

En 1914 Dale, et. al., observaron que las soluciones alcalinas provocan un aumento de la frecuencia del corazón de la rana. Observaciones realizadas sobre la frecuencia del nodo, seno-auricular y del nodo auriculo-ventricular del corazón de conejo por Andrus, et. al. (1926), demostraron que la frecuencia de la actividad espontánea de estas estructuras aumenta al cambiar el pH de 7.0 a 7.8. Por otro lado Carter, (1926), al estudiar el período refractario de los músculos cardíacos encontró que las soluciones alcalinas disminuían el período refractario de la aurícula y del ventrículo de los corazones de conejo al aumentar el pH de 7.0 a 7.8. Puesto que la frecuencia cardíaca máxima que puede seguir un tejido, está en proporción

inversa a la magnitud del período refractario, se puede entonces asegurar que la frecuencia aumenta bajo la influencia de las soluciones alcalinas. Otros experimentos que indirectamente apuntan en la misma dirección son los realizados por Andrus, (1925) que demuestra que en el corazón de conejo, la acción del vago se disminuye con soluciones alcalinas y que la acción de la adrenalina se aumenta. Estos efectos implicarían que la frecuencia cardíaca está aumentada y que debido a eso, la acción de la acetilcolina, liberada por el vago, es menor y los efectos de la adrenalina se verían potenciados por el aumento basal de la frecuencia. Hay un trabajo de Vaughan, et. al., (1967) que reporta que las soluciones alcalinas producen una disminución de la frecuencia y que las soluciones ácidas provocan un aumento, en el corazón de conejo. Sin embargo, este mismo autor agrega que en algunos casos hay un ligero aumento de la frecuencia con las soluciones alcalinas. Los experimentos de Vaughan W., fueron realizados para estudiar los efectos del bioxido de carbono y bicarbonato de sodio más que los cambios de pH. Para este propósito el autor altera experimentalmente -- las relaciones entre estos dos elementos químicos, que tienen cada uno de ellos acciones directas sobre la frecuencia cardíaca, que no necesariamente están asociados con el cambio de pH o cuando menos modifican por sí mismos los efectos que los cambios de pH producen. De ahí que estos últimos resultados no puedan ser comparados con los del presente estudio.

Simultáneamente con los efectos producidos por las soluciones alcalinas sobre la frecuencia cardíaca, se pueden detectar otros cambios, como ya se describió en la sección de resultados y que son relevantes para expli

car el aumento de la frecuencia en cuestión. Cuatro de ellos se describen a continuación, a saber:

- 1) Un aumento de la velocidad de depolarización lenta o diastólica del potencial de acción de las células marcadoras del paso; 2) Una disminución del potencial de reposo de la membrana de estas mismas células; 3) Una disminución del umbral de estimulación de los músculos auriculares; 4) Un aumento de la velocidad de conducción de la aurícula.

En lo referente a la velocidad de depolarización diastólica, hay un acuerdo unánime en cuenta a que a mayor velocidad mayor frecuencia de la actividad espontánea. Este hecho queda explicado por los cambios de la permeabilidad de la membrana para el ión sodio así como al proceso activo que aumenta la conductancia de dicho ión. De acuerdo con esto, uno de los mecanismos a través del cual la frecuencia aumenta con el cambio del pH hacia el lado alcalino quedaría explicada precisamente por el aumento de la movilidad de los iones que cruzan la membrana celular en ambas direcciones.

Este mismo mecanismo puede aducirse para entender la disminución del PMR, ya que también está bien establecido que dicho potencial depende de la relación de las concentraciones del ión potasio adentro y afuera de la célula. Aquí de nuevo, los cambios del pH que producen aumento de la frecuencia estarían haciendo variar también la permeabilidad al ión potasio.

El hecho de que el umbral de estimulación se abata durante la acción de las soluciones alcalinas queda expli-

cado por el cambio que acabamos de mencionar o sea, la de polarización de la membrana.

En cuanto a los aumentos de la velocidad de conducción observados con soluciones alcalinas no sería sino -- una resultante de la combinación de los cambios que acabamos de analizar. En este respecto hay un trabajo publicado por Drury, et. al. (1924) en el que asevera que el tejido cardíaco de los corazones de mamífero es muy sensible a las alteraciones del pH y que ligeros cambios de éste en la dirección alcalina producen aumentos en la conducción intra-auricular. Recientemente Vaughan W., et. al. (1967) con registros intracelulares, demostró que las soluciones alcalinas producen un aumento de la velocidad de conducción de la aurícula y también de la velocidad de de polarización.

Otro argumento de tipo experimental que refuerza la sugestión que la movilidad iónica es la que cambia cuando se modifica el pH extracelular, es el hecho de que al perfundir con sustancias digitálicas es posible evitar el aumento producido por las soluciones alcalinas. Los digitálicos no sólo evitan el aumento de la frecuencia sino que cuando se agrega la ouabaina una vez que el aumento ha ocurrido, éste empieza a decrecer para llegar en ocasiones a valores por abajo del control. Como es bien sabido, los digitálicos y muy en especial la ouabaina inhibe a la -- enzima ATPasa que ejerce su acción principal sobre la bomba sodio-potasio; queda entonces claro que la alteración de la permeabilidad a dichos iones o a la cantidad de canales específicos de la membrana celular para estos iones se traduce en una mayor o menor eficiencia de la bomba sodio-potasio.

En relación al papel jugado por la ATPasa para el so dio y el potasio y a las otras ATPasas para el calcio y el magnesio, existen numerosas demostraciones experimentales como las que a continuación se refieren. En 1964, Bonting, et. al., demostraron que la ouabaína y la eritofleína inhiben o reducen la actividad de la Na-K ATPasa en la vejiga del sapo. En el mismo año (1964) Judah et. al., demostraron que los glicósidos influyen sobre el transporte de sodio y potasio. Otras sustancias aparte de la ouabaína, también inhiben el transporte activo del potasio como, son la prometazina, la difenhidramina, la clorpromazina y la quinina según estos mismos autores. Otro reporte que demuestra que hay un proceso metabólico involucrado en el transporte de sodio y de potasio es el presentado por De Mello, W. C. (1959), en el cual los cambios producidos en los tejidos marcadores del paso del corazón del conejo -- por el 2-4 dinitro fenol (DNP), pueden ser revertidos al agregar ATP. Los efectos del DNP, según De Mello, consisten en bradicardia, disminución en la duración del potencial de acción, disminución en el potencial de reposo y disminución en la depolarización diastólica. Estudios realizados por Haas, et. al., (1970) en ranas, demostraron que el DNP suprime o reduce la entrada rápida del sodio, sin modificar la cinética de la activación o inactivación del sistema sodio. Esto sugiere que un menor número de canales de sodio quedarían abiertos y posteriormente el gradiente de concentración de sodio se disminuiría. Ernst, et. al., (1970) en experimentos realizados en la glándula salada de las aves y en las branquias de teleosteos y con ayuda del microscopio electrónico e isotopos radioactivos demostró la presencia de una ATPasa para el ión magnesio en las membranas de los tejidos en estudio. Dendy, et. al. (1973) en experimentos realizados en las pseudobranquias

de los teleosteos (*Lagodon rhomboides*), encontró que existe un pH óptimo que fluctua entre 6.6 y 7.3 para la Na-K ATPasa y entre 6.6 y 7.7 para la MgATPasa. Además estos mismos autores describieron que tanto hacia el lado alcalino como hacia el lado ácido disminuye la actividad de las ATPasas. Este último punto difiere de nuestros resultados en los corazones de los peces, ya que las soluciones alcalinas parecerían favorecer la actividad de las ATPasas de acuerdo con los aumentos de la frecuencia registrados. Sin embargo, las estructuras analizadas son distintas así como las especies, por lo que, no se pueden minimizar los resultados de Dendy et. al., . Además en el presente estudio no se midió la actividad de las ATPasas y sólo se está interpretando su intervención a través de las citas indirectas de la literatura.

En el nervio de la rana se ha demostrado que (Woodhull, M., 1973), un cambio en el pH hacia el lado ácido (de 7 a 5) reduce la permeabilidad al sodio y lo hace en proporción: a mayor voltaje de membrana, menor reducción y viceversa. Renfro, et. al., (1976), señalaron que la ouabaina puede considerarse, de acuerdo a sus resultados experimentales en la vejiga urinaria de *Pseudopleuronectes americanus*, como un inhibidor específico de la enzima Na-K ATPasa y que esta enzima participa en el transporte activo del sodio. Además estos mismos autores reportaron que la reducción de la actividad enzimática producida por la ouabaina se acompaña simultáneamente de una disminución del transporte activo del sodio. Hoetman, et. al., (1979) describe que 10 mM de ouabaina abole los productos de la reacción en las membranas de las branquias y agrega que la enzima ATPasa es exclusiva de la membrana plasmática. Esto indicaría que cualquiera que sean los efectos del

pH serían ejercidos o iniciados dentro de la membrana celular y no en el protoplasma.

Todos estos hechos enfatizan la participación de las ATPasas en el transporte iónico y por lo tanto en la generación o alteraciones de los potenciales eléctricos. Hay otras citas que demuestran que también la actividad mecánica de los músculos puede variar en función de la concentración de iones hidrógeno y en relación íntima con los cambios de las ATPasas; ejemplo de estos trabajos, son los siguientes. La primera información a este respecto fue proporcionada por Mines, G.R. (1913) en experimentos realizados en la rana que consistió en que las soluciones ácidas provocaban un paro diastólico, mientras que las alcalinas determinaban un paro sistólico. Mc Elroy, et. al., (1958) reportó que las soluciones ácidas disminuyen la frecuencia y la amplitud de concentración en los corazones de los conejillos de las Indias. Lorkovic, H. (1966) demuestra que la acidosis produce una disminución de la tensión de las fibras ventriculares en los corazones de la rana y sobre las contracturas de potasio. Pannier, et. al., (1968) en experimentos realizados en músculo papilar de gato encontraron que las contracciones isotónicas aumentan la velocidad de acortamiento cuando se realizan cambios en el pH hacia el lado alcalino (de 7.0 a 7.95) y las contracciones isométricas aumentan la tensión. González-Serratos, et. al., (1974) encontraron que al bajar 0.7 el pH probablemente se deprime la actividad de la ATPasa para el calcio en las fibras esqueléticas de los músculos de la rana. Jóhannsson, et. al., (1975) observó que la acidosis produce la disminución de la amplitud de las contracciones en el miocardio de conejo y Köhlerhardt, et. al., (1976) en corazones de gato demostraron que la acidosis disminuye la

fuerza contráctil isométrica y sugieren que esto va acompañado de una disminución de la corriente lenta de calcio y a una depresión de la corriente rápida de sodio. Kentish (1977) demostró que la acidosis de 7.2 a 6.4 disminuye la sensibilidad de la ATPasa de las miofibrillas relacionadas con las curvas de activación del calcio. Por último Fabiato y Fabiato (1978) encontraron que en el músculo cardíaco - del ventrículo de la rata desposeído de su sarcolema, la acidosis de 7.40 a 6.20 deprime la tensión máxima de los - miofilamentos y se aumenta la cantidad de calcio que requieren los miofilamentos para desarrollar el 50% de su - máxima tensión.

En relación a los efectos producidos por las soluciones ácidas sobre la frecuencia cardíaca, o sea la disminución de dicha actividad, pueden ser explicados por los mismos mecanismos que acabamos de mencionar para explicar los efectos de las soluciones alcalinas. Esta sugerencia queda reforzada por el hecho de que cada uno de los cambios producidos por las soluciones ácidas no son, sino los efectos opuestos, a los observados durante la acción de las soluciones alcalinas. En relación a los efectos producidos por las soluciones ácidas hay que mencionar los trabajos de Vaughan, W. (1955) realizadas en corazones de conejo, en los cuales observó que la frecuencia cardíaca disminuye cuando el pH cae por abajo de valores de 7.2. Por otro lado Pannier, et. al., (1968) encontraron que las soluciones ácidas en los músculos papilares de gato disminuyen la velocidad de acortamiento en las contracciones isotónicas y en las contracciones isométricas disminuyen la tensión. Recordemos que no solo la actividad eléctrica es afectada por la acidosis, sino que también la actividad mecánica es alterada por las soluciones ácidas,

como lo demuestran los resultados de Mc Elroy, et. al., (1958); Lorkovic, H (1966); Hille, B (1968); Jóhannsson, et. al., (1975); Kohlhardt, et. al. (1976) y Fabiato y -- Fabiato (1978).

De acuerdo con lo discutido, todos los hechos parecen indicar que los efectos de la frecuencia producidos por las modificaciones del pH extracelular, son debidas a mecanismos iónicos que tienen lugar en la membrana de las células marcadoras del paso. Si en efecto son mecanismos iónicos los involucrados en el cambio de la frecuencia, entonces era de esperarse que las diferentes concentraciones de los iones extracelulares cambiaran la magnitud o sentido de los cambios de la frecuencia, producidos por los cambios del pH. De ahí que en forma preliminar hallamos variado los líquidos de perfusión en cuanto a diversas concentraciones de los iones sodio, potasio, y calcio. Como puede verse en los resultados los efectos de estos iones sobre el fenómeno estudiado no son nada consistentes, probablemente debido a que el tiempo para que se logre el equilibrio entre el interior y el exterior de las células sea más largo que el que en los presentes experimentos se espera. La falta de consistencia de los efectos producidos por los cambios experimentales de los iones, no significa que estos no participen durante los cambios de pH, ya que es indispensable hacer un estudio experimental específico para resolver este punto bajo un control más crítico de las variables en cuestión.

Hay un punto que merece ser conectado y es el que los efectos producidos por las soluciones alcalinas o las soluciones ácidas persisten un largo tiempo después de que el pH se ha refrescado a su valor original de control. Este -

efecto que estamos llamando "acumulativo" hace que las curvas de los cambios de la frecuencia no sean las mismas durante la acción de los cambios del pH y después de estos (vease figuras 4, 5, 7 y 20). El efecto acumulativo no desaparece al introducir un periodo de Hípoxia durante el aumento de la frecuencia provocado por las soluciones alcalinas (figuras 19 y 20), y en cambio la ouabaina hace desaparecer dicho efecto acumulativo, como ya se ha discutido anteriormente (figuras 21 y 22). Esto indicaría que las alteraciones de la permeabilidad de la membrana para los iones sodio y potasio principalmente. Una vez desencadenadas, mantendrían la magnitud de los efectos muy incrementada aún después de que el agente que los produjo desapareció, o sea, que a pesar de que el pH regreso a su valor de control, los efectos de los cambios de éste persisten. Es así como las curvas de los cambios de la frecuencia y las de recuperación no son coincidentes (figs. 4, 5, 7, y 20) en cuanto a sus valores absolutos. Estas consideraciones se refieren a los casos, que son la mayoría, en los cuales los cambios de la frecuencia se presentaron en forma gradual, ya que hay algunos experimentos ilustrados en la figura 7 en que los cambios aparecen en forma brusca e igualmente desaparecen con la misma brusquedad. Este último hecho llama la atención y es difícil de explicar, pues da idea de que existiera un grupo de células marcadoras del paso con un umbral alto para los cambios del pH y que hasta que no se alcanza un valor determinado, las células responden; en cambio en el otro caso en que se presentan los cambios en forma gradual, las membranas celulares serían sensibles a toda la banda de los cambios graduales del pH.

La hipoxia

Es interesante comparar los efectos de la hipoxia entre la frecuencia cardíaca en dos diferentes situaciones; Una de ellas es la del corazón "in situ" en los peces y la otra en el corazón aislado de los mismos que fué la preparación usada en el presente estudio. De acuerdo con Kent, et al., (1978) la hipoxia produce una bradicardia en el corazón in situ del tiburón *Squalus acanthias*. Otro ejemplo en el mismo animal demuestra también que la anoxia produce bradicardia de acuerdo con Satchell (1971). Y en la trucha arcoiris *Salmo gairdineri*, igualmente Holeton et. al., (1967) encontraron que un período de hipoxia producía una bradicardia. Los efectos de hipoxia descritos en los animales intactos son de naturaleza refleja. En cambio el efecto de los períodos de hipoxia en el corazón aislado de *Carassius auratus* fue el de aumento de la frecuencia o taquicardia. Entre los cambios que las soluciones alcalinas producen y que aparecen simultáneamente con el aumento de la frecuencia, están la disminución del potencial de membrana de reposo (PMR), así como el aumento de la velocidad de depolarización diastólica. Ambos cambios ocurren con y sin cambios en el pH, o sea que la hipoxia por sí misma produce aumento de la frecuencia del corazón, sin embargo aunque son de mayor trascendencia - los aumentos de la frecuencia producidos por el pH, cuando ambos factores, la hipoxia y el pH están presentes y sus efectos tienden a sumarse ya que tanto la hipoxia como el cambio a soluciones alcalinas tienden a aumentar la frecuencia. La hipoxia no parece limitar la taquicardia producida por el pH alcalino. Hay que insistir en que a veces pequeños cambios en el pH, de uno a dos décimos de unidad, pueden causar aumentos de la frecuencia, y en --

cambio largos periodos de hipoxia tienen poco o nada de efecto sobre la frecuencia del corazón. Esto puede ser interpretado como que parece ser de mayor relevancia el pH extracelular de las células cardíacas que la concentración de oxígeno. Probablemente está debido a que el corazón -- aislado tenga un consumo bajo de oxígeno o que además posea mecanismo o procesos metabólicos de oxigenación anaeróbica.

R E S U M E N

RESUMEN

- 1.- En el corazón aislado y perfundido (con Ringer - - Rovainer) del pez Carassius auratus, se estudiaron los efectos producidos por las variaciones del pH extracelular. Los amortiguadores usados fueron, bicarbonato de sodio-bióxido de carbono y Tris HCl. El aeneado se realizo por medio de oxígeno 95% y -- bioxido de carbono 5% y en otros experimentos con oxígeno puro. La temperatura vario entre 22 a 26° C.
- 2.- La actividad eléctrica del corazón se registro por medio de electrodos de succión y micropipetas intracelulares.
- 3.- El corazón del Carassius auratus consta de cuatro - estructuras: el seno venoso, la aurícula, el ven--trículo y el bulbo arterioso. Los registros intracelulares de la actividad del seno venoso se realiza--ron en la preparación aislada de ésta estructura.
- 4.- Las células marcadoras del paso estan localizadas - exclusivamente en una zona limitada del seno venoso del corazón del Carassius auratus. Dichas células - tienen dimensiones muy pequeñas (4 a 7 micras). Se presentan algunas citas pertinentes relacionadas - con la histología y ultraestructura de las células cardíacas en estudio.
- 5.- La actividad eléctrica del seno venoso, de la auri--cula y del ventrículo, tiene características típicas de potenciales cardíacos en contraste con el -- bulbo arterioso que no las posee.

- 6.- La secuencia temporal de los potenciales cardíacos, demuestra que la actividad se genera exclusivamente en el seno venoso, para propagarse después a la aurícula y de ahí al ventrículo, con sus respectivas latencias (intervalo S-A e intervalo A-V).
- 7.- La velocidad de conducción de la aurícula fue de -- 0.20 a 0.30 m/seg. y la del ventrículo alcanzó 0.06 a 0.10 m/seg.
- 8.- El potencial de membrana de reposo (PRM) de las células del seno venoso (marcadoras del paso), fue en promedio, menor que el PRM de las células auriculares o las ventriculares. La forma de los potenciales intracelulares permite la identificación en cuanto al sitio y origen, ya que las tres estructuras tienen características distintas.
- 9.- Las soluciones alcalinas (pH 7.4 a 9.5) disminuyen el intervalo A-V y aumentan la velocidad de conducción de la aurícula. Las soluciones ácidas (pH 7.0 a 3.4) producen el efecto opuesto.
10. Las soluciones alcalinas aumentan gradualmente la frecuencia de la actividad espontánea de las células marcadoras del paso. Este aumento de la frecuencia perdura aún después de que el pH extracelular se baje a valores normales (efecto acumulativo).
- 11.- Las soluciones alcalinas producen simultáneamente - con los cambios de la frecuencia, una disminución - del PMR, un aumento de la velocidad de depolarización diastólica y una disminución del umbral de es-

tímulación eléctrica. Las soluciones ácidas producen los efectos opuestos.

- 12.- Los aumentos de la frecuencia producidos por las soluciones alcalinas, son inhibidos por los digitálicos (ouabaína y digilánid) e igualmente, los efectos posteriores a las soluciones alcalinas, o sea sus -- efectos acumulativos, son bloqueados por la adición de ouabaína.
- 13.- Periodos breves de hipoxia produjeron un aumento de la frecuencia de la actividad espontánea y una disminución del PRM. Cuando la hipoxia se acompaña con -- cambios de pH extracelular, los efectos de las soluciones alcalinas y la hipoxia se refuerzan mutuamente.
- 14.- Se discuten los mecanismos a través de los cuales -- las soluciones alcalinas y ácidas producen sus efectos y se sugiere que las modificaciones del pH actúan principalmente en la membrana celular, interfiriendo o cambiando el transporte y permeabilidad -- ionica, afectando principalmente la bomba sodio-potasio.

C O N C L U S I O N E S

CONCLUSIONES

Los presentes resultados indican que cambios muy pequeños del pH extracelular, hasta de un décimo de unidad, pueden ser detectados por las membranas de las células -- marcadoras del paso, y ésta alta sensibilidad parece predominar sobre otras variables, como sería la concentración de oxígeno. Este hecho sugiere una peculiaridad de dichas membranas y justifica el análisis experimental posterior. Desde el punto de vista práctico puede tener aplicaciones de trascendencia económica en el sector pesca, ya que el conocimiento detallado de los cambios de acidez o alcalinidad en las aguas obviamente mejorara tal renglón. Aunque es conocido que los peces poseen otros mecanismos para mantener el equilibrio ácido-básico, queda en todas formas el recurso de la membrana celular del corazón para mantener en forma apropiada, las funciones mecánicas y -- eléctricas de dicho órgano.

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

- Adolph. (1943). *Physiological regulations*. Lancaster, Pa.
(Cit. en Heilbrunn, L.V. 1944 "Tratado de Fisiología General" pp. 612).
- Alanís, J. (1960). Propagation of the impulses through the specialized tissues of the mammalian heart. Symposium sobre los Tejidos Especializados de Corazón. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, Rio de Janeiro. p.199
- Alanís, J., and Benítez, D. (1964 a). Regions of the Rabbit heart atrio-ventricular node at which impulse propagation becomes critical. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 72 : 751-764.
- Alanís, J., and Benítez, D. (1964 b) Action potential from A.V node transitional cells. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 72 : 765-775.
- Alanís, J., and Benítez, D. (1967). In "Electrophysiology and Ultrastructure of the heart" (Eds. Sand, T., -- Mizukura, V., and Matzuda, K.) pp. 155-175. Bunkodo, Tokyo.
- Alanís, J., and Benítez, D. (1970). Calcium ions and the propagation of impulses through the mammalian heart junctional regions. *Jpn. J. Physiol.* 20 : 233-249.
- Alanís, J., Benítez, D., López, L., and Martínez-Palomo, A. (1973). Impulse propagation through the cardiac junctional region of the axolotl and the turtle. *Jpn. J. Physiol.* 23 : 149-164.

- Alanís, J., Benítez, D., y Martínez-Palome; A. (1969). El sistema de conducción del corazón. Estudio Electrofisiológico y ultraestructural. Memorias del XXV Aniversario del Instituto Nacional de Cardiología. --- pp. 61-74.
- Alanís, J., González, H., and López, E., (1958). The electrical activity of the bundle of His. *J. Physiol.* -- (London). 142:127.
- Alanís, J., López, E., and Mandoki, J.J. (1959). El bloqueo unidireccional de la conducción en el haz de His. XXI Congreso Internacional de Ciencias Fisiológicas, Resumen de las comunicaciones. Buenos Aires, Argentina. pp. 11.
- Alanís, J., López, E., Mandoki, J.J., and Pilar, G. (1959) Propagation of impulses through the atrio ventricular node. *Am. J. Physiol.* 197: 1171.
- Alanís, J., Mandoki, J.J., and Pilar, G. (1960). The functional discontinuities of the auriculo-ventricular node. *Acta Physiol. Latinoamer.*, 10: 96-103.
- Alanís, J., and Pilar, G. (1960). Propagation of impulses in the His-Purkinje-Ventrielle System. *Amer. J. Physiol.* 199 : 775: 778.
- Amlacher, F. (1964). Manual de enfermedades de los peces (Tr. por Jordano, E. B.). Ed. Acribia, Zaragoza, España.

- Anderson, P.A.; Manning, A., Sommer, J. R., and Johnson, E.A. (1976). Cardiac muscle: an attempt to relate structure to function. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 8:123-143.
- Andrus, E. C. (1925). The effect of certain changes in the perfusate upon the isolated auricles of the rabbit. *J. Physiol.* 1X. 361
- Andrus, E.C., and Carter, E.P. (1924). The development and propagation of the excitatory process in the perfused heart. *Heart.* XI: 97
- Andrus, E. C., and Carter, E.P. (1926). The mechanisms of the action of the hydrogen ion upon the cardiac Rhythm. *J. Clin. Invest.* 3,555- 564.
- Arbel, E. R., Liberthson, R., Langendorf, R., Pick, A., - Lev, M., and Fishman, A.P. (1977). Electrophysiological and anatomical observations of the heart of the African lungfish. *Am. J. Physiol.* 232(1): H24-34 or *Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.* 1(1): H24-34.
- Bardach, J. E. (1973). Cit. en: *Criterios de Bioingeniería para cultivo de carpa de Israel y carpa común. Cyprinus carpio.* L. Por Garcia, E.M., M. E. Martínez, H. Alvarado (1979). Dpto. de Pesca. Dir. Gral. de acuacultura.
- Bardach, J.E., Rither, R., and McLarney, W(1972) *Aquaculture: The farming and husbandry of freshwater and marine organisms.* Wiley Interscience. John Wiley and Sons. New York pp. 868.

- Basu, A.K. (1958). Cit. en: *Criterios de Bioingeniería para cultivo de carpa de Israel y carpa común. Cyprinus carpio*. L. Por García, E.M., M.E. Martínez, H. Alvarado (1979). Depto de Pesca. Dir. Gral. de acuicultura.
- Bencosme, S. A., and Berger, J. M. (1971) Specific granules in mammalian and non-mammalian vertebrate cardiocytes. *Methods Archiv. Exp. Pathol.* 5:173-213.
- Bennínghoff, A. (1933). Herz. In "Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere". (C. L. Bolck, E. Göppert, E. Kallius, W. Lubosch, eds.) Band IV, pp. 467-556. Urban und Schwarzenberg, Berlin.
- Bernstein, J. (1902). Untersuchungen zur Thermodynamik der bioelektrischen Ströme, *Pflügers. Arch. Ges. Physiol.* 92: 521-562.
- Blaschko, H. (1929) Über die Wirkungsweise der Nerven bei den Fischen II. *Z. Vgl. Physiol.* 10: 357-366.
- Bonting, S. L., and Canady, M. R. (1964). Na-K activated adenosine Triphosphatase and sodium transport in toad bladder. *Am. J. Physiol.* 207: 1005 -1009.
- Campbell, G. (1970). Autonomic nervous system. In "Fish - Physiology" (Hoar, W.S., and D.J. Randall, eds). V- IV, pp. 109-132. Academic Press, New York.
- Carter, E.P., and Dievaide, F.R. (1926). The influence of changes in hydrogen ion concentration upon the refractory period of the perfused mammalian heart. *Johns - hopkins hosp. Bull.* XXXIX: 99.

- Challice, C. E., and Edwards, G. R. (1960). The intercalated disc of the Goldfish heart. *Experientia*. 16:70-72.
- Chiodi, V., and Bortolami, R. (1967). The conducting system of the vertebrate heart. Calderini, Bologna.
- Clark. (1927) *Comparative physiology of the heart*. New York. Cambridge. Inglaterra.
- Cobb, J.L. (1974). Gap junctions in the heart of the teleost fish. *Cell. Tissue Res.* 154: 131-134.
- Conway, E.J. (1957). Nature and significance of concentration relations of potassium and sodium ions in skeletal muscle. *Physiol. Rev.* 37: 84-132.
- Couteau, P., and Laurent, P. (1957). Etude au microscope électronique du coeur de l'Anguille: observations sur la structure du tissu musculaire de l'oreillette et son innervation. *C. R. Acad. Sci.* 245: 2097 - 2100.
- Couteau, P., and Laurent, P. (1958). Observations au microscope électronique sur innervation cardiaque de téléostéens. *C. R. Assoc. Anat.* 97:230-234.
- Dale, D., and Thacker, C.R.A. (1914). Hydrogen ion concentrations limiting automaticity in different regions of the Frog's heart. *Jour. Physiol.* 47: 493-508.
- Davenport, C. B. (1897). *Experimental Morphology*. Vol. 1. New York.

- Davson, H., and Reiner, J. M. (1942). Tonic permeability an enzyme-like factor concerned in the migration of Na through the cat erythrocyte membrane. *J. Cell. - Comp. Physiol.* 20, 325.
- De Mello, W. C. (1959). Metabolism and electrical activity of the heart: Action of 2,4 - dinitrophenol and ATP. *Amer. J. Physiol.* 196: 377-380.
- De Mello, W. C., and Hoffman, B. F. (1960). Potassium ions and electrical activity of specialized cardiac fibres. *Amer. J. Physiol.* 199: 1125 -1130.
- Dendy, L. A., Deter, R. L., and Philpott, C. W. (1973) Localization of Na+K+-ATPase and other enzymes in teleost pseudobranch. I. Biochemical characterization of subcellular fractions. *J. Cell Biol.*, 57: 675-688.
- Drury, A. M., and Andrus, E. C. (1924). The influence of hydrogen-ion concentration upon conduction in the auricle of the perfused mammalian heart. *Heart*, XI:389.
- Ernst, S. A., and Philpott, C. W., (1970). Preservation of Na-K-activated and Mg-activated adenosine triphosphatase activities in avian salt gland and teleost gill with formaldehyde as fixative. *J. Histochem. Cytochem.* 18: 251-263.
- Fabiato, A., and Fabiato, F. (1978). Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles. *Jour. Physiol.* (London). 276: 233 -255.

- Falk, B., von Mecklenburg, C., Myhrberg, H., and Persson, H. (1966). Studies on adrenergic and cholinergic receptors in the isolated hearts of *Lampetra fluviatilis* (Cyclostomata) and *Pleuronectes vetulus* (Teleostei). *Acta physiol. Scand.* 68: 64-71.
- Fawcett, D. W., and Menutt, M. C. (1969). *J. Cell. Biol.* 42: 1-45.
- Fernández, R.P.V., (1977). Tesis: "Tratamiento de las principales emergencias cardiovasculares y uso de antiarrítmicos", en la unidad de cuidados intensivos del INN. Medicina. UNAM.
- Gannon, B.J., and Burnstock, G. (1969). Excitatory adrenergic innervation of the fish heart. *Comp Biochem. Physiol.* 29: 765-773.
- González-Serratos, H., Barrero, L. M., and Franzini-Armstrong, C. (1974). Changes of mitochondria and intracellular pH during muscle fatigue. *Fedn. Proc.* 33, 1401.
- Grodzinski, Z. (1938). Das blutgefäßsystem. In Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Band 6, Abt. 1, Buch 2, Teil 2, Lieferung 1: 1-77.
- Haas, H. G., Kern, R., and Einwächter, H. M. (1970) Electrical activity and metabolism in cardiac tissue: an experimental and theoretical study. *J. Membrane. Biol.* 3: 180-209.
- Harnisch. (1937). Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. 39:129 (Cit. en Heilbrunn L.V. "Tratado de Fisiología General", p.362).

- Hecht, S., Shlaer, A. and Pirrenne, M. H. (1942) Energy, quanta and vision. *J. Gen. Physiol.* 25:819-840.
- Heilbrunn, L. V. (1944). *Tratado de Fisiología General*. (Tr. por Izquierdo, J.J., y R. J., García). Imp. Universitaria, México, Caps. VI, VII, XIV, XX, XXVIII, XXXI y XXXIII.
- Helmholtz, H. L. F. (1850). *Arch. f. Anat. Physiol. u. wiss. med.* p. 328.
- Hill, A. V. (1955). The influence of the external medium on the internal pH of muscle. *Proc. Roy. Soc.* 144:1-21
- Hill, B. (1968). Charges and potentials at the nerve surface: Divalent ions and pH. *J. Gen. Physiol.* 51: 221-236.
- His, W. (1893). Die thätigkeit des embryonalen herzens und deren bedeutung für die lehrevonder herzbewegung beim erwachsenssen. *Arb. med. Klin. Leipzig.* p. 14.
- Hodgkin, A.L., and Katz, B (1949). The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol. (London)*. 108: 37-77.
- Hodgkin, A.L. and Keynes, R. D. (1953). The mobility and diffusion coefficient of potassium in giant axons from *sepia*. *J. Physiol. (London)*. 119: 513-528.
- Holeton, G. F., and Randall, D. J. (1967). The effect of hypoxia upon the partial pressure of gases in the blood and water afferent and efferent to the gills of rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 46: 317-327.

- Hootman, R. S. and Philpott, W.C. (1979). Ultracytochemical localization of Na⁺K⁺- activated ATPase in chloride cells from the gills of a euryhaline teleost. *Anat. Rec.* 193(1) : 99-130.
- Hoover, E. E. (1937). Experimental modification of the sexual cycle in trout by control of light. *Science*, 86:425-526.
- Howse, H. D., Ferrans, V. J., and Hibbs, R. G. (1970). A comparative histochemical and electron microscopic study of the surface coating of cardiac muscle cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1 : 157-168.
- Huttler, O.F., and Trautwein, W. (1956). Vagal and sympathetic effects on the pacemaker fibres in the sinus venosus of the heart. *J. Gen. Physiol.* 39:715-735.
- Hyman. (1929). *Physiol. Zool.* 2:505. [Cit. en Heilbrunn. I. V. 1944; tratado de Fisiología General. pp. 362].
- Johannsson, M., and Nilsson, E. (1975 a). Acid-base changes and excitation-contraction coupling in rabbit myocardium. I. Effects on isometric tension development at different contraction frequencies. *Acta. Physiol. Scand.* 93:295-309.
- Johannsson, M., and Nilsson, E. (1975 b). Acid-base changes and excitation-contraction coupling in rabbit myocardium. II. Effects on Resting Membrane Potential, action potential characteristics and propagation velocity. *Acta. Physiol. Scand.* 93:310-317.

- Jordan and Guittart. (1938). *Proc. Konink. Akad. Wetenschappen te Amsterdam*. 41:2 (Cit. en Heilbrunn, L. V. 1944, *Tra-tado de Fisiología General*. pp. 362.)
- Judah, J. D., and Ahmed, K. (1964). Inhibitors of transport and cation activated ATP-ases. *J. Cell. comp. Physiol.* 64: 355-362.
- Jullien, A., and Ripplinger, J. (1957). *Physiologie du coeur des poissons et son innervation extrinsèque*. *Ann. Sci. Univ. Besancon, Zool. Physiol.* 9: 35-92.
- Karaki, H., Suzuki, T., and Urakawa, N. (1981). Tris does not inhibit isolated vascular or intestinal smooth muscle contraction. *Am. J. Physiol.* 241(3): H 337- H 441.
- Keith, A., and Flack, M. (1907). The form and nature of the muscular connections between the primary divisions of the vertebrate heart. *J. Anat.* 41: 172 -189.
- Keith, A., and Mackenzie, I. (1910). Recent researches on the anatomy of the heart. *Lancet*. 1: 101-103.
- Kent, B., and Converse Pierce II, E. (1978). Cardiovascular responses to changes in blood gases in dogfish shark, *Squalus acanthias*. *Comp. Biochem. Physiol.* 60c: 37-44.
- Kent, G. C. (1978). *Comparative Anatomy of the vertebrates*. 4 th. ed. Mosby. St. Luis, Missouri.
- Kentish, J. and Nayler, W. G. (1977). Effect of pH on the Ca^{++} -dependent ATPase of rabbit cardiac and white skeletal myofibrils. *J. Physiol.* 265: 18P -19 P.

- Kilarski, W. (1967). The fine structure of striated muscles in teleosts. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 79: 562 -580.
- Kisch, B. (1948). Electrographic investigations of the heart of fish. *Exp. Med. Surg.* 6: 31 -62.
- Kisch, B. (1966). The ultrastructure of the myocardium of fishes. *Exp. Med. Surg.* 24: 220-227.
- Kisch, B., and Philpott, D. E. (1963 a). Electron microscopy of the heart of fish. I. The goldfish heart. *Exp. Med. Surg.* 21: 28-53.
- Kisch, B., and Philpott, D. E. (1963 b). Electron microscopy of the heart of fish. II. The heart of selachian (Dogfish and Torpedo). *Exp. Med. Surg.* 21: 54 -74.
- Kohlhardt, M., Haap, K., and Figulla, H. R. (1976). Influence of low extracellular pH upon the Ca inward current and isometric contractile force in mammalian ventricular myocardium. *Pflugers. Arch.* 366: 31 -38.
- Krogh. (1916). The respiratory exchange, animals and man. London. (Cit. en Heilbrunn, L. V. , 1944. *Tratado de Fisiología General.* pp. 362).
- Lagler, K. F. (1956). *Freshwater fishery Biology* 2a. Ed. WCB. Co. Publishers. Iowa, USA.
- Lagler, K. F., Bardach, J. E., and Miller, R. R. (1977). *Ichthyology.* 2a. Ed. John Wiley and Sons. Inc. New York.

- Laurent, P. (1956). Mode de détermination et signification fonctionnelle des fibres myélinisées innervant sans relais ganglionnaire le tissu musculaire de l'oreillette des téléostéens. *C. R. Acad. Sci.* 243: 534 - 536.
- Laurent, P. (1962). Contribution à l'étude morphologique et physiologique de l'innervation du cœur des téléostéens. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 51: 337 - 458.
- Lemanski, L. F., Fitts, E. P., and Mark, B. S. (1975). Fine structure of the heart in the Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *J. Ultrastruct. Res.* 53: 37 - 65.
- Ling, G., and Gerard, R. W. (1949). The normal membrane potential of frog sartorius fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.* 34: 383 - 396.
- Lorkovic', H. (1966). Influence of changes in pH on the mechanical activity of cardiac muscle. *Circulat. Res.* 19: 711 - 720.
- Mackenzie, I. (1913). The excitatory and connecting muscular system of the heart. *Trans. Int. Congr. Med. London Sect.* 711: 121 - 150.
- Martínez-Palomo, A., and Alanís, J. (1980). The amphibian and reptilian hearts: Impulse, propagation and ultrastructure. (In "Hearts and Heart-Like organs", ed. Bourne G. H.). Academic Press. pp. 171 - 197.
- Martínez-Palomo, A., Alanís, J., and Benítez, D. (1970). Transitional cardiac cells of the conductive system of the dog heart: Morphological and electrophysiological distinguishing features. *J. Cell. Biol.* 47: 1 - 17.

- Martínez-Palomo, A., Alanís, J., and Benítez, D. (1972).
Celulas transicionales del sistema de conducción del
perro. (En "Fisiología del corazón". Ed. "Medicina",
Moscu, U.R.S.S.). pp. 121 - 141.
- Martínez-Palomo, A., Benítez, D., and Alanís, J. (1973).
Selective deposition of Lanthanum in mammalian
cardiac cell membranes. *J. Cell. Biol.* 58: 1 - 10.
- Martínez-Palomo, A., and Mendez, R. (1971). Presence of
gap junctions between cardiac muscle cells in the
heart of nonmammalian species. *J. Ultrastruct. Res.*
37: 592 - 600.
- McElroy, Jr. W. T., Gerdes, A. J., and Brown, Jr. E. B.
(1958). Effects of CO₂, bicarbonate and pH on the
performance of isolated perfused guinea pig hearts.
Amer. J. Physiol. 195 (2): 412 - 416.
- Mines, G. R. (1913). On functional analysis by the action
of electrolytes. *J. Physiol.* (London). 46: 188- 235.
- Noble, D. (1962 a). A modification of the Hodgkin-Huxley
equations applicable to Purkinje fibre action and
pace-maker potentials. *J. Physiol.* 160: 317 - 352.
- Noble, D. (1962 b). The voltage dependence of the cardiac
membrane conductance. *Biophys. J.* 2: 381 - 393.
- Palicki, B. (1839). De musculari cordis structura. Disser-
tation. Breslau. Purkinje, J. E., 1964. Opera omnia,
6: 265 - 289.

- Pannier, J. L., and Levens, I. (1968). Contraction characteristics of papillary muscle during changes in acid-base composition of the bathing-fluid. *Arch. Int. Physiol. Biochim.* 76: 624 - 634.
- Purkinje, J. (1845). Mikroskopisch-neurologische beobachtungen. *Arch. Anat. Physiol. wiss. Med.* p 281. Reprinted in: - *Opera omnia* 2, 1937. Gull, W. W.: Microscopical observations on the nerves. *London. Med. Gaz.* 1: 1066 - 1069, 1156 - 1158.
- Rahn, H. (1967). Gas transport from the external environment to the cell. *Ciba Found. Symp. Develop. Lung.* pp. 3 -29.
- Renfro, J. L., Miller, D. S., Karnaky, Jr. K. J., and Kinter, W. B. (1976). Na-K-ATPase localization in teleost urinary bladder by [^3H] ouabain autoradiography. *Am. J. Physiol.* 231 (6): 1735 - 1743.
- Robin, E. D., Murdaugh, H. V., and Weiss, E. (1964). Acid-base, fluid and electrolyte metabolism in the elasmobranch. I. Ionic composition of erythrocytes, muscle and brain. *J. Cellular Comp. Physiol.* 64: 409 - 422.
- Remer, S. A. (1970). "The Vertebrate Body". 4th. ed. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
- Rubinstein. (1928). *Protoplasma* 4: 259. (Cit. en Helbrunn, L. V., 1944. "Tratado de Fisiología General. pp. 618).
- Sainsburg, H., and Ringer, M. (1894). The action of potassium, sodium and calcium salts on *Tubifex rivulorum*. *J. Physiol.* 16: 1 - 9.

- Saito, T. (1969). Electrophysiological studies on the pacemaker of several fish hearts. *Zool. Mag.* 78: 291 - 296.
- Saito, T. (1973). Effects of vagal stimulation on the pacemaker action potential of carp heart. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 44: 191 - 199.
- Santer, R. N. (1977). Monoaminergic nerves in the central and peripheral nervous system of fishes. *Gen. Pharmacol.* 8: 157 - 172.
- Santer, R. M., and Cobb, J. L. S. (1972). The fine structure of the heart of the teleost, *Pleuronectes platessa*. *L. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 131: 1 - 14.
- Satchell, G. H. (1971). *Circulation in fishes*. Cambridge. *Monogr. Exp. Biol.* 18: 1 - 131.
- Schipp, R., and Wehren, A. B. (1970). Zur funktionellen bedeutung der osmiophilen Granula in herzorganen niederer vertebraten. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 108: 243 - 267.
- Shibata, Y. (1977). Comparative ultrastructure of cell membrane specialization in vertebrate cardiac muscles. *Arch. Histol. Jpn. (Niigata, Jpn.)*. 40: 391- 409.
- Snieszko, S. F., and Axelrod, H. R. (1971). *Diseases of fishes*. T. F. H. Publications, Inc. Ltd. New Jersey. pp. 28 - 31.
- Spray, D. C., Bennett, M. V. L., and Harris, A. L. (1980). Conductance of gap junctions is highly sensitive to cytoplasmic pH. In 10TH Annual meeting. Society for Neuroscience. Cincinnati, Ohio. Abs. 6, pp. 96.

- Sumich, L. J. (1980). *An introduction to the Biology of Marine Life*. 2a. Ed. WCB, U.S.A. caps. 2, 6 y 9.
- Tang. (1933). *Quart. Rev. Biol.* 8: 260. (Cít. en Heilbrunn, L. V., 1944. "Tratado de Fisiología General". pp.362).
- Tawara, S., (1906). *Das reizleitungssystem des säugetierherzens*. Fisher Verlag, Jena.
- Torrey, T. W. (1971). "Morphogenesis of the vertebrates". 3rd. ed. Wiley. New York.
- Trautwein. W. (1961). *Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser*. *Ergebn. Physiol.* 51: 131 - 198.
- Trillo, A., Martínez-Palomo, A., and Bencosme, S. A. (1966). *Estudio ultraestructural del músculo cardíaco en relación a los granulos específicos. II. Estudio comparativo*. *Arch. Inst. Cardiol. Méx.* 36: 45 - 57.
- VanLiere E. J. (1942). *Anoxia, its effect on the body*, Chicago. The University of Chicago press. 269 p.
- Vaughan, W. E. M. (1955). *The individual effects of CO₂, bicarbonate and pH on the electrical and mechanical activity of isolated rabbit auricles*. *J. Physiol.* 129: 90 - 111.
- Vaughan, W. E. M., and Whyte, T. M. (1967). *Chemosensitivity of cardiac muscle*. *J. Physiol. (London)*, 139: 119 - 137.
- Wagner, H. G., MacNichol, L. J. Jr., and Wolbarsht, M. (1960). *Opponent color responses in retinal ganglion cells* *Science*, 131: 1314.

- Woodhull, A. M. (1973). Tonic blockage of sodium channels in nerve. *J. Gen. Physiol.* 61: 687 - 708.
- Yamamoto, T. (1967). Observations on the fine structure of the cardiac muscle cells in goldfish (*Carassius auratus*). In "Electrophysiology and ultrastructure of the heart" Ed. by Sano, T. Mizuhira, V., Matzuda, K., Bunkodo Co., LTD. Tokyo, Japan.
- Yamauchi, A., and Burnstock, G. (1968). An electron microscopic study on the innervation of the trout heart. *J. Comp. Neurol.* 132: 567 - 588.
- Yamauchi, A., Fujimaki, Y., and Yokota, R. (1973). Fine structural studies heart of a teleost fish, *Misgurnus*, with particular reference to the cardiac internuncial cell. *Am. J. Anat.* 138: 407 - 430.