

21

Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Ciencias

POTENCIALES DE ACCIÓN QUE RESULTAN DE
VARIACIONES EN LA FRECUENCIA DE
ELECTROESTIMULACIÓN DE MÚSCULO
PAPILAR DE COBAYO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

GABRIELA ZULEICA ARRIOLA CADENA

DIRECTOR DE TESIS:
DR. JORGE HUMBERTO ARCE RINCÓN

2002



DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCIÓN ESCOLAR

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

"Potenciales de acción que resultan de variaciones en la frecuencia
de electroestimulación de músculo papilar de cobayo"

realizado por Arriola Cadena Gabriela Zuleica

con número de cuenta 9206855-3 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dr. Jorge Humberto Arce Rincón

Propietario

Dra. Gertrudis Hortensia González Gómez

Propietario

Biol. Alfonso José Vilchis Peluyera

Suplente

Biol. Jaime García Ruiz

Suplente

M. en C. José Luis Villarruel Ordaz

FACULTAD DE CIENCIAS
U. N. A. M.

Consejo Departamental de Biología

Dr. Patricia Ramos Morales
Dra. Patricia Ramos Morales



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

Dedicatoria.

Este trabajo está dedicado a quienes por años me han hecho feliz con su cariño y su tiempo. Gracias a su paciencia ha sido posible convertir un sueño en realidad:

A Citlali, Fernando, Cristhian y Mijail.

A Nicté y Esther.

A Pablo.

Agradecimientos.

Mis más sinceros agradecimientos a los integrantes del laboratorio de biofísica de sistemas excitables por el apoyo que en todos aspectos recibí para la realización de este trabajo, en especial a la Q. F. B. Araceli Torres cuyo esfuerzo y amabilidad significan parte medular de esta tesis.

RESUMEN

En este trabajo se analiza el efecto del incremento de la frecuencia de electroestimulación en los potenciales de acción del tejido cardíaco. Para ello se estimularon músculos papilares de cobayo extraídos de ejemplares adultos utilizando electrodos con los que se aplican trenes de pulsos aumentando gradualmente la frecuencia a intervalos regulares.

El objetivo que se persigue es indagar el efecto que tiene amentar la frecuencia de estimulación con la finalidad de simular diferentes ritmos de trabajo del corazón, ya que conocer las condiciones en que se generan las anomalías en la conducción proporciona la pauta para determinar cómo se originan, cuál es su desarrollo y las vías posibles para corregirlas.

Encontramos patrones de actividad denominados ritmos que se mantienen en un intervalo de frecuencias a través de las cuales se observan modificaciones en los parámetros de los potenciales de acción, de modo que al aumentar suficientemente la frecuencia de estimulación se presentan otros patrones en que aumenta cada vez más el número de pulsos que no generan respuesta. Así mismo se encontraron diferentes formas de transición de un ritmo a otro.

El análisis de los resultados se aborda considerando las dinámicas de los iones a través de la membrana celular que enmarcan la actividad eléctrica, caracterizada por el potencial de acción, y que involucra mecanismos especializados de transporte de iones.

CONTENIDO

Capítulo I. Introducción	1
I.1 Preliminares	2
I.2 Consideraciones clínicas sobre el corazón humano	5
I.3 Consideraciones acerca de la circulación sanguínea	9
I.4 Actividad eléctrica del corazón	11
I.4.1 Canales rápidos de sodio	14
I.4.2 Canales de potasio	16
I.4.3 Canales de calcio	17
I.4.4 Bomba sodio potasio	17
I.5 Fases del potencial de acción	20
I.5.1 Reposo	20
I.5.2 Fase 0: Elevación del potencial de acción	22
I.5.3 Fase 1: Repolarización temprana	27
I.5.4 Fase2: Meseta	28
I.5.5 Conducción de potasio durante la meseta	29
I.5.6 Fase 3: Repolarización final	31
I.5.7 Restauración de concentraciones iónicas	32
I.6 Mediciones en el potencial eléctrico de membrana	33

Capítulo II. Método	37
II.1 Preparación	38
II.2 Procedimiento	43
Capítulo III. Resultados	45
III.1 Tendencias Generales en el Universo de Resultados	46
III.2 Ritmo 1:1	48
III.3 Ritmo 2:1	55
III.4 Formas de transición de ritmo 1:1 a ritmo 2:1	60
III.4.1 Alternancia 2:2	63
III.4.2 Transición tipo Ráfaga	67
III.4.3 Transición tipo Wenckebach	73
III.5 Otros ritmos	79
III.5.1 Ritmo 4:2	79
III.5.2 Ritmo 3:1	82
III.5.3 Ritmo 4:1	84
III.5.4 Ritmo 5:1	86
III.5.5 Ritmo 6:1	88
III.5.6 Ritmo 9:1	90
III.5.7 Ritmo 10:1	91
III.5.8 Ritmos Irregulares	92

III.6	Formas de transición entre ritmos diferentes de 1:1 a 2:1	93
Capítulo IV. Discusión		102
IV.1	Consideraciones generales	103
IV.2	Efecto del incremento de frecuencia sobre el ritmo 1:1	105
IV.3	Formas de transición de ritmos	108
IV.3.1	Bases iónicas del paso directo	109
IV.3.2	Alternancia 2:2	110
IV.3.3	Transición tipo Wenckebach	112
IV.3.4	Transición tipo Ráfaga	113
IV.4	Los otros ritmos	115
IV.5	Una concepción general de los ritmos	116
IV.6	Nuevas líneas de trabajo	118
Capítulo V. Conclusiones		120
Referencias		124

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

I.1 Preliminares.

Las diversas necesidades alimenticias, de intercambio gaseoso y de factores hormonales de los distintos tejidos y órganos del cuerpo de los vertebrados requieren una circulación adaptada y bien integrada. En aves y mamíferos, la regulación de la temperatura del cuerpo depende muchísimo de que la distribución de la sangre sea hacia el corazón o hacia la periferia donde el calor puede disiparse.

El equilibrio electrolítico y la eliminación de los desechos se regulan en gran medida por la integración equilibrada del flujo sanguíneo renal, asimismo, se efectúan respuestas hormonales apropiadas al detectar en las glándulas endocrinas o áreas relacionadas ligeros cambios químicos en la sangre. A su vez, los agentes hormonales llegan a los órganos receptores a través del plasma sanguíneo.(11)

Estas actividades requieren la propulsión de la sangre por una bomba bien regulada, que a la par de resistencias variables en la periferia controlen la distribución regional del gasto cardiaco.

Por otro lado la invasión de multitud de hábitats por diversos grupos de vertebrados ha sido posible en gran parte por adaptaciones cardiovasculares y respiratorias especiales. La progresiva separación de las circulaciones pulmonar y sistémica parece ser una tendencia necesaria para los animales terrestres de respiración aérea, alcanzando su máximo en mamíferos y aves. El

hecho de que diversos grupos hayan colonizado las alturas o las profundidades acuáticas implica cambios cardiovasculares que hacen posible la supervivencia en situaciones extremas.(1, 11, 29) Ver figura I.1-1.



Figura I.1-1 La jirafa, un ejemplo peculiar de vertebrado que cuenta con adaptaciones cardiovasculares especiales para lograr que la sangre llegue desde el corazón en la cavidad torácica, hasta el cerebro. (Modificada de Young, 1980).

Para comprender el funcionamiento del corazón de los vertebrados, es necesario profundizar en cuanto a los fenómenos biofísicos que ocurren a nivel tisular y celular, en un marco evolutivo orientado a explicar las adaptaciones por las cuales el tejido cardíaco ha desarrollado las características que en términos generales se conocen actualmente (tales como ritmicidad y automaticidad), y de cuya eficiencia dependen las probabilidades de supervivencia de los individuos que integran una población determinada (figura I.1-2).

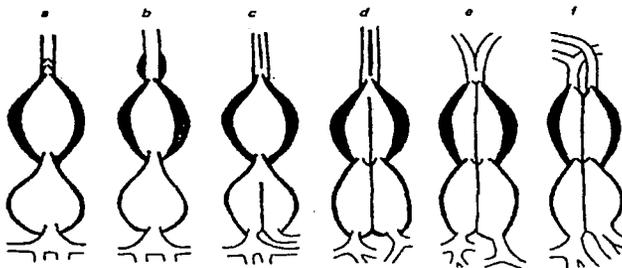


Figura. I.1-2 Tipos de corazón de diversos grupos de vertebrados: a) bicavitario de clasmobranquios, b) bicavitario de teleostomos, c) tricavitario de anfibios, d) tetracavitario de reptiles no cocodrilianos, e) tetracavitario de cocodrilo y f) tetracavitario de aves y mamíferos. (Modificada de Álvarez, 1988).

En este trabajo se tratan aspectos del funcionamiento del corazón que tienen que ver con su comportamiento eléctrico cuyo origen se encuentra en la dinámica de las concentraciones de iones al interior y al exterior de las células cardíacas, lo cual se ha abordado mediante la observación y el análisis de la respuesta del tejido cardíaco a la electroestimulación.

Más específicamente nuestro objetivo es investigar el comportamiento de un tejido cardíaco: el músculo papilar de cobayo, cuando lo estimulamos a muy distintas frecuencias. Exploramos desde una frecuencia muy baja (un pulso por segundo) hasta la máxima frecuencia en que el tejido muestra alguna respuesta. Una investigación en que se estudie un intervalo de frecuencias tan amplio no se había realizado anteriormente.

I.2 Consideraciones clínicas sobre el corazón humano.

El corazón es un trabajador incansable. Empieza a latir antes de nuestro nacimiento y sólo dejará de hacerlo hasta nuestra muerte.

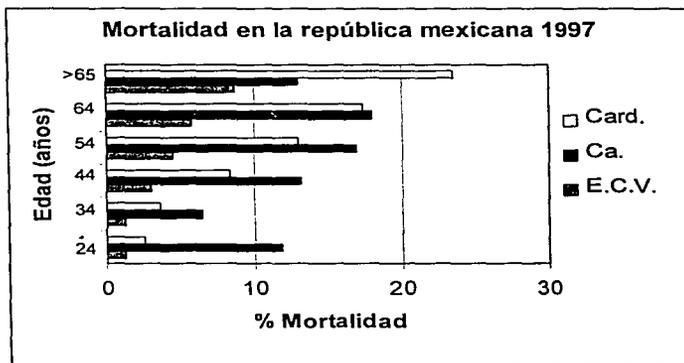


Figura I.2-1 La mortalidad por cardiopatía isquémica (Card.) en México es de las causas más importantes, junto con el cáncer (Ca.) y la enfermedad cerebro-vascular (E.C.V.). Aquí se comparan las principales causas en grupos de edades. En el grupo de 20 a 30 años la principal causa es por accidentes. (Tomada de Lorenzo, 2001).

Este latir permanente del corazón se puede dar porque éste, y más generalmente, nuestro sistema cardiovascular cuenta con mecanismos de protección y control, que le permiten mantenerse funcionando en las más variadas circunstancias. A pesar de todo ello desde hace algunos años las

enfermedades cardiovasculares se han convertido en la primera causa de muerte en varios países. En México, este fenómeno debe tener una o dos décadas, en países más desarrollados económicamente como Estados Unidos este fenómeno empezó en 1900.

En la figura I.2-1 hemos reproducido una gráfica publicada en la revista “Archivos de Cardiología” (22) editada en México, gráfica que fue construida con datos recopilados por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, donde se muestran los porcentajes por grupo de edades, que ocupan las tres principales causas de muerte en el país. Como puede apreciarse las enfermedades cardiovasculares están entre los primeros lugares como causa de muerte.

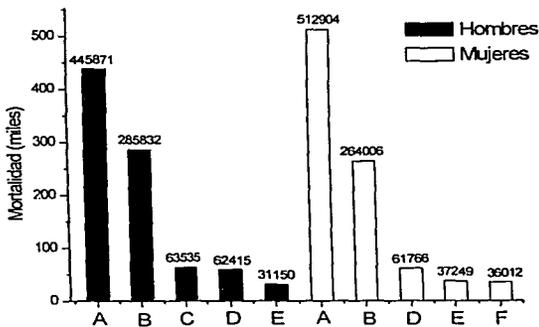


Figura I.2-2 Principales causas de muerte para hombres y mujeres en Estados Unidos en el año de 1999. A. Enfermedades cardiovasculares. B. Cáncer. C. Accidentes. D. Enfermedades respiratorias crónicas. E. Diabetes melitus. F. Influenza y neumonía. (Tomada de “American Heart Association”).

En las figuras I.2-2 y I.2-3 hemos reproducido los datos correspondientes para los Estados Unidos (40). La figura I.2-2 nos permite notar que las enfermedades cardiovasculares constituyen con mucho la primera causa de muerte para los norteamericanos. Estas enfermedades cobraron en 1999 (que es el último año para el cual se ha completado el censo de mortalidad) 958,775 vidas, de las cuales 529,659 (más del 50%) fueron por enfermedades en las coronarias (figura I.2-3).

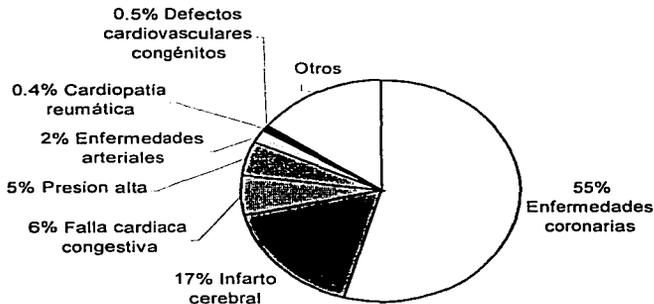


Figura I.2-3 Porcentajes de mortalidad por distintas enfermedades cardiovasculares, en Estados Unidos en 1999. Más de la mitad corresponden a enfermedades de las coronarias. (Tomada de "American Heart Association").

El engrosamiento de las coronarias está involucrado en el síndrome denominado "muerte súbita". Este es un padecimiento que más propiamente debemos denominar accidente cardiovascular, que hace que el 50% de quienes lo sufren fallezcan antes de llegar al hospital.

Las personas que sufren este tipo de accidentes mueren entre los 4 y 7 minutos después de iniciada la pérdida de sincronía. Sin embargo, si dentro de esos primeros 7 minutos se les aplican choques eléctricos con un desfibrilador pueden salvar su vida y vivir varios años más.

Este tipo de accidente cardiovascular puede verse como una pérdida del ritmo cardiaco, causado por una distorsión de la propagación normal de la señal eléctrica que se mueve en el corazón y que se describe en las siguientes secciones. Por isquemia se entiende la interrupción del aporte de oxígeno acompañada de la acumulación de metabolitos a consecuencia de un descenso en la perfusión, y en general las manifestaciones clínicas de la insuficiencia coronaria se deben a los efectos de la isquemia. (2, 24)

La investigación de esta perturbación del ritmo se ha realizado siguiendo diferentes protocolos y términos experimentales, entre los que destacan la estimulación con frecuencia alta de distintas preparaciones experimentales y/o la inducción de isquemia en éstos. Aunque la fenomenología que resulta de estos estudios no es siempre la misma, puede decirse que la taquiarritmia corresponde a una condición de fibrilación del corazón, en la cual la propagación en éste se encuentra enormemente desordenada. Esta fibrilación es precedida en general por una condición de bloqueo que genera la formación de actividad reentrante, en la cual el impulso eléctrico se propaga generando un movimiento circular reiniciando la conducción donde debería terminar, lo cual provoca una contracción ineficiente de las cámaras.

Es por todo lo anterior que resulta importante estudiar el fenómeno de la propagación de la señal eléctrica en el modelo cardiaco.

I.3 Consideraciones acerca de la circulación sanguínea.

Al abordar el estudio del tejido cardíaco es necesario caracterizar el sistema cardiovascular del cual este tejido forma parte, analizando el funcionamiento de bombeo del sistema, el papel que juegan cada una de sus partes y las dinámicas que hacen posibles estos mecanismos.

El papel del corazón es servir a los tejidos impulsando un flujo continuo de sangre a través de los capilares, esto se logra al convertir la energía potencial que en cada latido se acumula en las paredes elásticas de los grandes vasos en energía cinética que adquiere la sangre al moverse hacia los capilares. El corazón es una bomba oscilante caracterizada por pulsaciones intermitentes, con válvulas que guían la dirección del flujo hacia dentro y hacia fuera de las cámaras del corazón.(11)

El sistema cardiovascular de los mamíferos tiene un corazón tetracavitario: la aurícula y ventrículo izquierdos conforman la circulación sistémica mientras que la aurícula y ventrículo derechos son parte de la circulación pulmonar. En la circulación sistémica la sangre arterial del ventrículo izquierdo es impulsada a la aorta por donde viaja hacia un sistema de arterias de distribución paralelas que la llevan a todos los órganos del cuerpo. En cada órgano, la sangre pasa a través de vías arteriales cuyo diámetro puede ser alterado por un control nervioso o metabólico, ya que los cambios en el diámetro arterial pueden regular la presión y el flujo en el circuito sistémico. La estructura interna del corazón se muestra en la figura I.3-1.

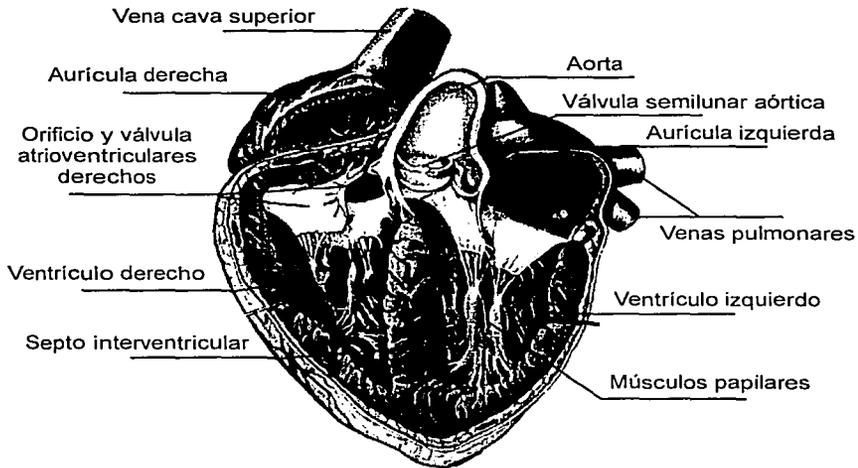


Figura I.3-1 Estructura interna de corazón de mamífero mostrando las cuatro cavidades. (Modificada de Fuentes, 1990).

Así pues, las arterias desembocan en los capilares donde el oxígeno y otros metabolitos pasan a través de las paredes capilares hacia el espacio extracelular, entonces las células se nutren por intercambio con este fluido extracelular y los productos metabólicos de desecho pasan a la sangre desde los espacios extracelulares. La sangre, ahora venosa entra a las vénulas y se mueve a las venas, de tal manera que las mayores se unen para formar las dos venas cavas, por medio de las cuales la sangre entra a la aurícula derecha.(2)

En la circulación pulmonar la sangre venosa fluye desde la aurícula derecha hacia el ventrículo derecho, el cual bombea la sangre hacia la arteria

pulmonar, arterias pequeñas y capilares pulmonares, aquí la pérdida del dióxido de carbono y la toma de oxígeno ocurre por difusión entre la sangre y el gas alveolar. Desde este punto la sangre oxigenada entra a las venas pulmonares, la cual regresa a la aurícula izquierda y de ahí al punto de inicio en el ventrículo izquierdo.(2)

De este modo, el flujo continuo de sangre hacia la periferia ocurre por distensión de la aorta y sus ramificaciones durante la contracción ventricular que recibe el nombre de sístole, y la contracción de las paredes de las arterias grandes con la consecuente propulsión de la sangre durante la relajación ventricular llamada diástole. (11)

I.4 Actividad eléctrica del corazón.

Las propiedades de automaticidad y ritmicidad son intrínsecas al músculo cardíaco, el cual puede continuar latiendo incluso cuando ha sido removido completamente del cuerpo. La región del corazón de los mamíferos que genera los impulsos es el nodo seno-auricular (SA), que es llamado el marcapasos natural del corazón es un remanente filogenético del seno venoso del corazón de vertebrados ancestrales. Por lo tanto a partir del nodo seno auricular la excitación viaja rápidamente a través de las aurículas izquierda y derecha haciendo que el músculo auricular se contraiga. Unas cuantas centésimas de segundo después de dejar el nodo seno-auricular, el impulso llega al nodo atrio ventricular (AV), el cual retrasa el impulso unas cuantas centésimas más de segundo antes de permitirle pasar a los ventrículos. Este retraso da tiempo a las aurículas para que impulsen la sangre que contienen hacia los ventrículos

antes de la contracción ventricular. Después de este retraso el impulso se extiende con mucha rapidez por el sistema de Purkinje (fibras especializadas de conducción que transmiten impulsos aproximadamente cinco veces más rápido que el músculo cardíaco normal) de los ventrículos, como se muestra en la figura I.4-1, y hace que ambos se contraigan dentro de las siguientes centésimas de segundo (11, 24).

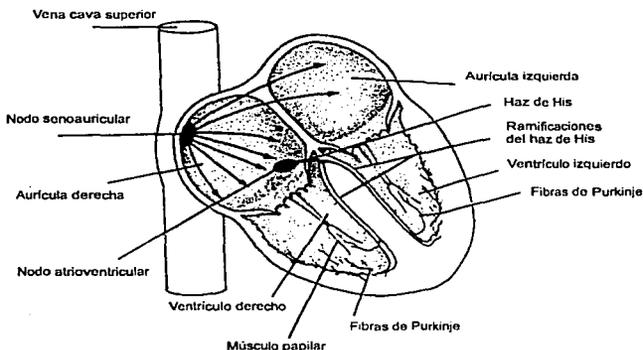


Figura I.4-1. Aquí se aprecian los componentes del sistema de conducción del corazón. A partir del nodo seno-auricular la excitación viaja rápidamente a través de las aurículas izquierda y derecha haciendo que el músculo auricular se contraiga. Unas cuantas centésimas de segundo después el impulso llega al nodo atrio ventricular, el cual retrasa el impulso antes de permitirle llegar a los ventrículos. Después el impulso se extiende con rapidez por el sistema de Purkinje. (Modificada de Berne, 1993).

El nodo AV retrasa el impulso cardíaco porque las fibras que lo componen son muy pequeñas, y por lo tanto la conducción se realiza con gran lentitud al aumentar la resistencia (12).

El impulso eléctrico que se genera en el nodo SA tiene su origen en los cambios en el potencial de membrana de las células cardiacas: estos cambios de potencial producen lo que se ha llamado potencial de acción (6).

Se han observado dos tipos de potencial de acción en el corazón: uno de ellos, el de respuesta rápida, ocurre en las fibras comunes del miocardio, en aurículas y ventrículos, y en las fibras especializadas en conducción que son las fibras de Purkinje. El otro tipo de potencial de acción es el de respuesta lenta, que se encuentra en el nodo SA y en el nodo AV (2). Ambos tipos de potencial pueden compararse en la figura 1.4-2.

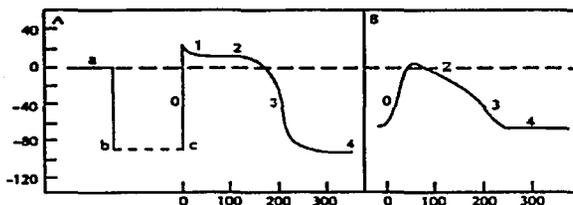


Figura. 1.4-2 Cambios en el potencial de transmembrana de dos fibras cardiacas, de respuesta rápida y respuesta lenta. En el punto señalado como a el micro electrodo se encuentra inmerso en la solución salina, fuera de la fibra; mientras que en el punto b el micro electrodo ha entrado a la fibra. A. Potencial de acción de respuesta rápida con sus fases del 0 al 4: 0-Elevación, 1-Repolarización temprana, 2-Meseta, 3-Repolarización final, 4-Fase de post-potencial. B. Las fases del potencial de respuesta lenta se muestran marcadas de manera análoga del 0 al 4. El punto c indica el inicio del potencial de acción. El eje horizontal expresa milisegundos y el eje vertical indica milivolts. (Modificada de Berne, 1993).

Los potenciales de acción de respuesta rápida consisten de varias fases, las cuales están asociadas a cambios en la permeabilidad de la membrana celular, lo que a su vez se encuentra asociado con la apertura y cierre de canales iónicos específicos para cada tipo de ión.

I.4.1 Canales rápidos de sodio.

Este tipo de canal fue descrito en la anguila (*Electrophorus electricus* Humb) por Shosaku Numa, encontrándose que es un polipéptido de 1820 residuos de aminoácidos, fuertemente glucosilado, con un peso molecular de 260 kd. Tiene cuatro dominios o unidades con homología entre sí, los cuales a su vez se pliegan dando lugar a seis diferentes segmentos constituidos por hélices alfa que atraviesan completamente la membrana de interior a exterior (figura I.4.1-1). La mayor parte de segmentos está inmersa en la bicapa lipídica y los cuatro conjuntos están agrupados uno al lado del otro formando una estructura cilíndrica con el diámetro mayor que la altura. El interior, que está formado por los segmentos S2, es un túnel de paredes hidrofílicas (ya que es la vía permeable a iones); la parte de afuera, en contacto con los lípidos de la membrana, está formada por los segmentos más apolares que son S5 y S6. Los segmentos S1, S3 y S4 están en medio. Los segmentos S2 contienen residuos de aminoácidos con grupos cargados negativamente, que podrían contribuir a la selectividad del canal por determinados iones.(3)

La partícula de inactivación está en la región intracelular entre los dominios 3 y 4. El canal conduce cuando 3 de los segmentos S4 están en posición de no

bloqueo y la partícula inactivante está fuera de la boca del canal, ya que aquella tiene poca o nula afinidad para la boca del canal cuando los segmentos S4 están en posición abajo (cuando el canal está cerrado); un pulso positivo pone los segmentos S4 arriba, y el canal conducirá cuando 3 de ellos estén arriba, momento en que aumenta la afinidad de la partícula inactivante para la boca del canal, y al estabilizarse induce la inactivación.(3)

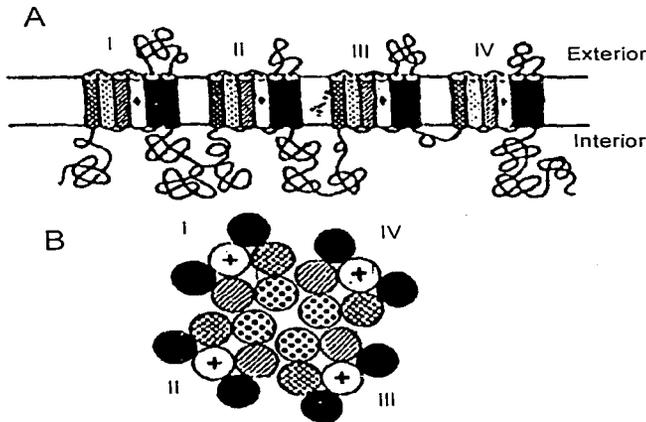


Fig. I.4.1-1 Modelo molecular para el canal de sodio propuesto por Numa y colaboradores. A) El canal es un polipéptido con 4 dominios, marcados del I al IV, muy parecidos entre sí. Cada dominio está constituido por seis hélices alfa transmembranales o segmentos (S1-S6). Los segmentos están indicados por cilindros de la manera siguiente: S1, con trazo cuadrículado; S2, con punteado; S3, con líneas diagonales; S4, con un signo positivo, S5 y S6, en negro. B) Distribución espacial de los dominios y segmentos en el canal, visto en la dirección perpendicular al plano de la membrana. (Modificada de Cota, 1991)

Al mecanismo de activación en que los segmentos S4 cambian de posición se le ha llamado compuerta m, mientras que a la partícula inactivante se le ha nombrado compuerta h. El proceso de activación comienza a -65 milivolts (mV) de potencial eléctrico (Vm) en la membrana celular.

I.4.2 Canales de potasio.

Un canal consta de 4 subunidades idénticas con 6 segmentos de transmembrana de S1 a S6. S5 y S6 forman el poro de conducción, S2, S3 y S4 constituyen el sensor de voltaje que detecta cambios en el potencial de membrana comunicando la perturbación al poro de conducción para cerrar o abrir el canal (3). Se dividen en los siguientes tipos:

- a) De rectificación entrante (I_{K1}): dejan pasar potasio, aumentando la conductancia para este ión, cuando el potencial de membrana es igual o más negativo que -70 mV, por otro lado, casi no dejan pasar estos iones cuando Vm es más positivo que -70 mV.

- b) De rectificación tardía (I_{K2}): estos canales se activan en voltajes que prevalecen al final de la fase 0, pero su activación procede muy lentamente. Incrementa la conductancia del potasio muy lentamente a lo largo de la meseta de despolarización.

- c) De corriente transitoria (I_{Kto}): se activan entre el final de la fase 0 y el comienzo de la fase 2, de modo que esta corriente origina la fase 1, que es un

periodo breve de repolarización. Estos canales no se inactivan completamente hasta que termina la fase 2.(2)

I.4.3 Canales de Calcio.

Estos canales conducen calcio y sodio, pero reciben este nombre porque son de 50 a 100 veces más permeables a calcio, sin embargo, del 10 al 20% de la corriente es transportada por sodio, debido a que la diferencia en su gradiente de concentración es mucho mayor que la del calcio. Hay dos tipos de canales de calcio, los tipo L, que son el tipo predominante, cuya activación ocurre durante la fase 0, cuando el potencial de membrana alcanza -10 mV, conduciendo una corriente muy duradera, y los tipo T, que se activan a potenciales más negativos, alrededor de -70 mV; son los menos abundantes y la corriente se inactiva muy rápido. Los canales de calcio son inactivados después del comienzo de la meseta.(2)

I.4.4 Bomba sodio-potasio.

Proteína integral de la membrana que se compone de dos tipos de subunidades, las alfa y las beta. Las primeras catalizan la hidrólisis de ATP y tienen sitios de unión para sodio del lado del citoplasma y para potasio del lado extracelular, mientras que las subunidades beta se constituyen de glucoproteínas (15). El funcionamiento de la bomba, también llamada ATPasa, se muestra esquematizado en la figura I.4.4-1.

La bomba mueve sodio hacia fuera y mete potasio contra las fuerzas químicas y electrostáticas, evitando que la membrana se despolarice gradualmente por la corriente continua de sodio. El incremento en la concentración de sodio intracelular o en potasio extracelular acelera la actividad de la bomba, de tal manera que en la fase de post-potencial saca el sodio que entró en exceso durante las fases 0 y 2, y lo intercambia por el potasio que haya salido en las fases 2 y 3. Lleva al interior de la célula 2 iones de potasio y saca 3 de sodio por cada molécula de ATP que hidroliza, de tal manera que cada ATPasa como se le llama a la bomba, hidroliza alrededor de 100 moléculas de ATP por minuto.(15)

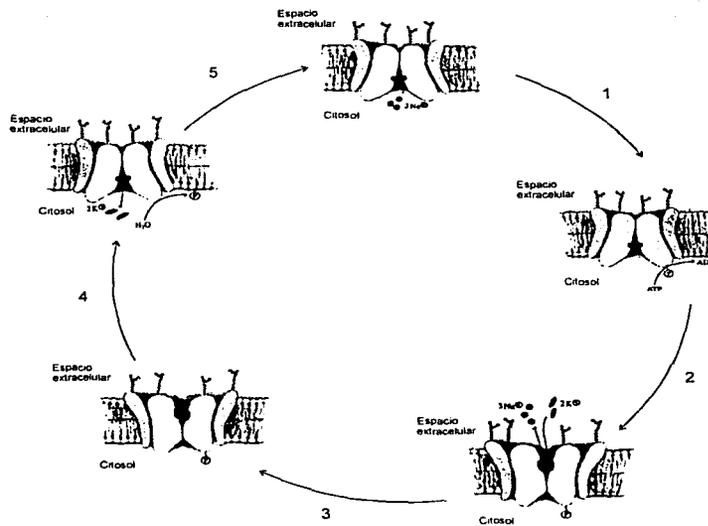


Figura I.4.4-1 En esta figura se muestran las subunidades alfa (interior) y beta (exterior) de la ATPasa, así como el proceso mediante el cual la bomba mete potasio y saca sodio al espacio extracelular. Saca tres iones de sodio por cada dos iones de potasio que mete, en ambos casos los se mueven en contra del gradiente de concentración. La energía para tal proceso es obtenida de la hidrólisis de ATP. 1. Tres iones de sodio que se encuentran en el citosol se unen a los sitios específicos para sodio de la ATPasa. 2. La fosforilación de un residuo de aspartato de la ATPasa induce un cambio conformacional que da como resultado la liberación de sodio al medio extracelular. 3. Dos iones de potasio que se encuentran en el exterior de la célula se unen a los sitios específicos para potasio de la ATPasa. 4. La hidrólisis de un grupo fosforilo ocasiona que la ATPasa regrese a su conformación original y los dos iones de potasio son liberados en el interior de la célula. 5. Los tres sitios para iones se encuentran expuestos nuevamente y el proceso puede empezar otra vez. (Modificada de Horton, 1993).

I.5 Fases del potencial de acción.

Las fases del potencial de acción se desarrollan de la siguiente manera:

I.5.1 Reposo

Durante el reposo (fase 4), el potasio tiende a salir a favor del gradiente de concentración, ya que dentro de la célula encontramos mucho más potasio que en el exterior y la permeabilidad de la membrana en reposo es grande para este ión. Sin embargo, cuando el potasio difunde hacia fuera y se quedan atrás los aniones como proteínas, la falta de cationes causa que el interior de la célula se vuelva electronegativo y a su vez el potasio, con carga positiva, al salir se encuentra con las cargas positivas de los iones de potasio que acaban de salir, de modo que las cargas se repelen y el potasio no puede seguir fluyendo hacia el exterior. Por lo tanto, dos fuerzas opuestas están involucradas en el movimiento de potasio, el gradiente de concentración y la fuerza electrostática, como se esquematiza en la figura I.5.1-1. Si el sistema está en equilibrio ambas fuerzas serán iguales. Este equilibrio está expresado en la ecuación de Nernst para potasio:

$$E_K = -61.5mV \log \left(\frac{[K]_i}{[K]_o} \right)$$

Donde el término de la derecha representa la diferencia de potencial químico a una temperatura corporal de 37° C, mientras el término de la izquierda representa la diferencia de potencial electrostático que existiría a través de la

membrana celular si el potasio fuera el único ion que difunde en la membrana. Al sustituir la concentración de potasio interior y exterior, el valor calculado de E_K es de -90 a -100 mV, valor que resulta ligeramente más negativo que el potencial de reposo que se ha encontrado en células de miocardio.(2)

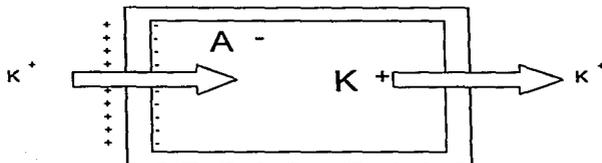


Figura I.5.1-1 En esta figura se expresa por medio del diagrama el balance de las fuerzas química y electrostática en la membrana celular. Del lado izquierdo tenemos a la fuerza electrostática: observamos como el potasio, con carga positiva, es atraído por los aniones como proteínas que se encuentran dentro de la célula. Esta entrada de potasio es señalada con la flecha, los signos en ambos lados de la membrana indican que el interior es negativo con respecto al exterior. En el lado derecho del diagrama vemos representada la fuerza química, que radica en que la concentración de potasio al interior de la célula es mucho mayor, por lo tanto el gradiente de concentración empuja a los iones de potasio hacia el exterior, como lo indica la flecha correspondiente. Estas fuerzas se compensan de modo que si el sistema está en equilibrio ambas serán iguales.

Por otro lado, y al contrario de lo que ocurre con el potasio, la concentración intracelular de sodio es mucho más baja que la extracelular. Para células cardiacas $E_{Na} = 40$ a 70 mV, lo cual significa que en el equilibrio una fuerza electrostática de 40 a 70 mV con el interior más positivo que el exterior sería

necesaria para contrarrestar el potencial químico del sodio, sin embargo la polarización de la membrana en reposo es la opuesta, ya que el potencial de membrana en reposo para células de miocardio es aproximadamente -90 mV; esto implica que tanto la fuerza química como la electrostática actúan para empujar el sodio extracelular hacia dentro; sin embargo la entrada de sodio es pequeña, ya que la permeabilidad de la membrana a sodio es muy baja en reposo. No obstante, esta pequeña corriente de iones de sodio cargados positivamente que entra a la célula, es la que provoca que el potencial en el interior de la membrana en reposo sea ligeramente menos negativo que el valor predicho por la ecuación de Nernst para potasio. Esta corriente constante de sodio despolarizaría gradualmente la membrana en reposo si no fuera por la bomba que continuamente saca sodio y mete potasio, creando por sí misma una diferencia de potencial.(2)

Como la conductancia del potasio es cerca de 100 veces más grande que la conductancia de sodio en células cardiacas, resulta que los cambios en la concentración extracelular de sodio tienen relativamente poco efecto en el voltaje de membrana en reposo debido al valor tan pequeño de su conductancia.(2)

I.5.2 Fase 0:

Elevación del potencial de acción.

La rápida despolarización de la membrana se relaciona casi exclusivamente con la entrada de sodio en virtud a un drástico incremento en la conductancia

para este ion, ya que cuando el potencial de membrana cambia a -65 mV las propiedades de la membrana celular cambian dramáticamente. Existen canales rápidos específicos a través de los cuales se mueve el sodio, y el flujo es controlado por dos tipos de compuertas en cada canal. Las compuertas m comienzan a abrirse (activación) cuando el potencial de membrana se vuelve menos negativo, entonces el sodio comienza a entrar a la célula, lo cual reduce las cargas negativas en el interior y por lo tanto se abren más canales de sodio, proceso al cual se ha llamado retroalimentación positiva. Figura I.5.2-1.

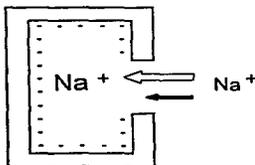


Figura I.5.2-1. Durante la fase 0, tanto la fuerza química (flecha blanca) como la electrostática (flecha negra) favorecen que el sodio entre a la célula a través de los canales rápidos de sodio, generándose así la elevación del potencial de acción. La concentración de sodio es menor al interior, así que el gradiente químico empuja al sodio hacia dentro. Los signos negativos indican que durante esta fase el interior es electronegativo con respecto al exterior, y por lo tanto el sodio, con carga positiva, es atraído por las cargas negativas. El tamaño de ambas flechas indica que la fuerza química es mayor a la electrostática, aunque en este caso ambas actúen en la misma dirección.

La rápida apertura de las compuertas m es responsable del abrupto incremento en la conductancia de sodio, aumento que es de 100 a 200 V/seg. en células de

miocardio y 500 a 100 V/seg. en fibras de Purkinje, sin embargo la cantidad de sodio que entra a la célula es muy pequeña para alterar el gradiente de concentración. Así pues, las cargas negativas se neutralizan y el potencial de membrana se vuelve progresivamente menos negativo, de tal manera que cuando llega a 0, la fuerza electrostática no empuja más sodio dentro de la célula, y sin embargo sigue entrando debido al gradiente de concentración que es muy grande; esto a su vez provoca que el interior de la célula se torne positivamente cargado, es decir, se da una inversión en la polaridad.

Tal inversión del gradiente electrostático tendería a repeler la entrada de sodio, sin embargo, mientras las fuerzas químicas dirigidas hacia dentro, excedan a las electrostáticas dirigidas hacia fuera, el flujo de sodio seguirá entrando, aunque en menor proporción.(2)

La entrada de sodio finalmente cesa cuando las compuertas h se cierran (inactivación), proceso que comienza de manera muy paulatina al mismo tiempo que inicia la activación con las compuertas m (figura I.5.2-2). Es importante señalar que la apertura de las compuertas m ocurre de 0.1 a 0.2 ms, mientras que el cierre de las compuertas h requiere 1 ms o más.

La fase cero termina finalmente cuando las compuertas h se han cerrado inactivando los canales rápidos de sodio. Estas compuertas se mantienen cerradas hasta que la célula ha sido parcialmente repolarizada durante la fase 3. (2)

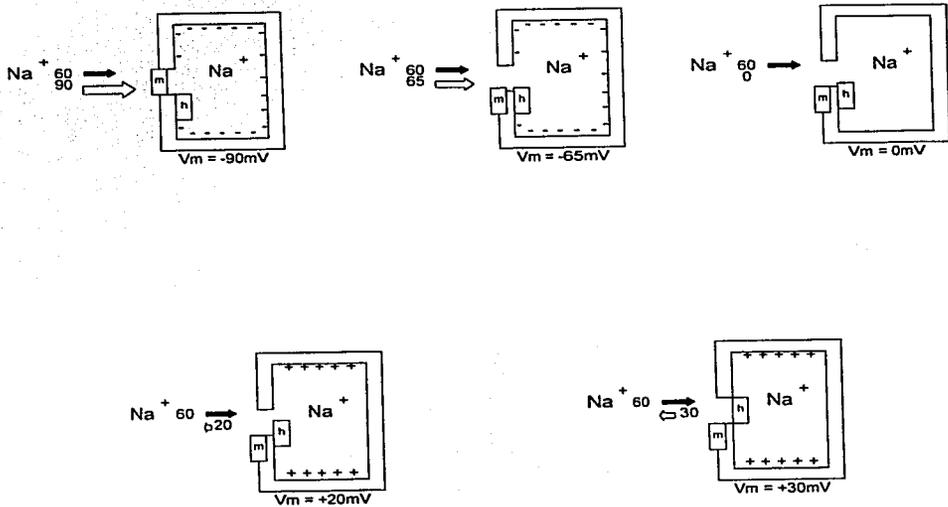


Figura I.5.2-2

Figura 1.5.2-2 En este diagrama se muestra en forma esquemática el mecanismo de las compuertas de los canales de sodio en la membrana de células cardíacas. Las fuerzas electrostáticas están representadas por las flechas blancas y las fuerzas químicas por las flechas negras. A. Durante la fase 4, la fuerza química (60 mV) y la electrostática (-90 mV) empujan al sodio hacia el interior, sin embargo, la cantidad que entra es sumamente pequeña (despreciable) ya que la compuerta *m* se encuentra cerrada. B. Cuando el potencial de membrana es llevado a -65 mV la compuerta *m* comienza a abrirse y el sodio comienza a entrar a la célula, lo cual reduce la carga negativa en el interior, propiciando que se abran más canales de sodio acelerando la entrada de este ión. El cambio en el potencial de membrana también genera que comience a cerrarse la compuerta *h*, como se indica en el diagrama. También se aprecia cómo ambas fuerzas actúan en la misma dirección, porque el sodio es atraído tanto por el gradiente de concentración, como por las cargas negativas en el interior. C. La rápida entrada de sodio disminuye la negatividad hasta aproximarse a cero, lo cual implica que la fuerza electrostática que atraía el sodio hacia el interior ha sido neutralizada en este punto. Sin embargo el sodio sigue entrando debido a que la concentración de sodio sigue siendo mayor afuera, como lo indica la flecha oscura, lo cual ocasiona que el potencial de membrana se vuelva positivo. D. Cuando el potencial de membrana se encuentra alrededor de 20 mV el sodio continúa entrando a la célula, porque las fuerzas de difusión que empujan el sodio hacia adentro, exceden a las fuerzas electrostáticas que lo atraen hacia fuera (debido a que el interior ahora es positivo), como lo muestran las flechas y los signos en el interior. En este punto la compuerta *h* se encuentra casi cerrada. E. Cuando el potencial de membrana alcanza alrededor de 30 mV las compuertas están cerradas, y por lo tanto el canal se encuentra inactivado, así que se detiene la entrada de sodio. Las compuertas *h* permanecerán cerradas hasta la primera mitad de la repolarización.

I.5.3 Fase 1:

Repolarización temprana.

Durante esta fase se activan los canales de potasio de corriente transitoria (I_{Kto}), lo cual origina un periodo de breve repolarización, ya que al activarse sale potasio, debido a que el interior está positivamente cargado y porque la concentración interior de potasio excede por mucho a la exterior, esto se indica en la figura I.5.3-1. Estos canales no se inactivan completamente hasta que termina la fase 2. Por otro lado la corriente contribuye a determinar la duración de la meseta, lo cual por lo tanto ayuda a iniciar la repolarización.(2)

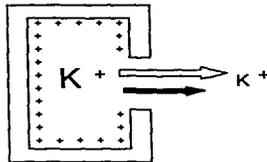


Figura I.5.3-1. Durante la fase 1 tanto las fuerzas químicas como electrostáticas favorecen la salida de potasio, (como lo indican ambas flechas) a través de los canales de corriente transitoria. Esto favorece una temprana repolarización parcial. La flecha blanca representa la fuerza química y la negra, la electrostática.

I.5.4 Fase 2:

Meseta.

Durante esta fase, entran calcio y sodio a la célula a través de canales que se activan y desactivan mucho más lentamente que los rápidos de sodio. Esta entrada de cargas positivas está equilibrada por la salida de una cantidad equivalente de cargas positivas de potasio. Los canales lentos que conducen la corriente de cationes entrante son de 50 a 100 veces más permeables a calcio que a sodio, por lo cual se les llama canales de calcio; sin embargo, del 10 al 20% de la corriente puede ser llevada por sodio, porque el gradiente de concentración es mucho más grande para sodio que para calcio (2). Figura I.5.5-1.

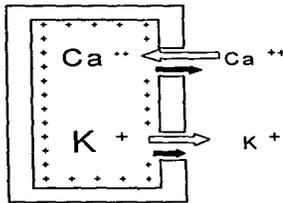


Figura I.5.5-1 En la meseta, calcio y sodio entran por los canales de calcio debido al gradiente de concentración. La entrada de estas cargas positivas es compensada por la salida de potasio a través de los canales de potasio de rectificación entrante, rectificación tardía y corriente transitoria. La flecha blanca representa la fuerza química y la flecha negra la fuerza electrostática.

Los canales de calcio son regulados por el voltaje, y se activan cuando V_m se vuelve progresivamente menos negativo durante la fase cero (2). Existen dos tipos de canales de calcio:

Canales L (long). Se activan durante la fase cero cuando el potencial de membrana alcanza -10 mV, son el tipo de canales de calcio predominante en el corazón y la corriente que trasladan es de larga duración.

Canales T (transient). Se activan a potenciales más negativos que los L, alrededor de -70 mV, también son menos abundantes y la corriente se inactiva mucho más rápido.

La apertura de canales de calcio se refleja en un incremento en la conductancia de calcio, la cual comienza inmediatamente después de la elevación del potencial de acción. Como al iniciar la despolarización la concentración intracelular de calcio es mucho menor que la extracelular, se da la entrada de calcio a la célula a lo largo de la meseta. (2)

1.5.5 Conductancia de potasio durante la meseta.

Durante la fase 2, el gradiente de concentración para potasio entre el interior y el exterior de la célula es prácticamente el mismo que en la fase 4, pero el potencial de membrana es positivo, así que tanto las fuerzas químicas como las electrostáticas favorecen la salida de potasio.(2)

Si la conductancia de potasio (g_K) fuera igual durante la meseta que en la fase 4, la salida de potasio excedería la entrada de calcio y sodio, de manera que no podría darse una meseta sostenida, sin embargo, cuando V_m alcanza valores positivos cerca del final de la fase cero, la conductancia de potasio decrece drásticamente, proceso al cual se le llama rectificación entrante (I_{K1}). (2)

Los canales de rectificación entrante o anómala dejan pasar el potasio cuando V_m es igual o más negativo que -70 mV. Cuando el potencial transmembranal es llevado a niveles más positivos que -70 mV, las fuerzas químicas exceden a las electrostáticas, y por lo tanto el potasio tiende a salir, sin embargo g_K disminuye porque los canales de I_{K1} se cierran a potenciales de membrana más positivos. (2)

Otro factor que contribuye a la baja conductancia de potasio durante la meseta es la corriente de rectificación tardía, característica de los canales I_K . Estos canales de potasio son activados por voltajes que prevalecen al final de la fase cero, pero su activación es muy lenta (de varios cientos de milisegundos), de modo que la activación de estos canales tiende a incrementar g_K muy lentamente durante la fase 2. (2)

La reducción en g_K debida a la rectificación entrante de los I_{K1} , predomina sobre la tendencia de los I_K de incrementar esta conductancia a través de la meseta, evitando una pérdida excesiva de potasio durante esta fase. A la vez, la pequeña salida de este ión es suficiente para equilibrar la entrada lenta de

iones de calcio y sodio, es por ello que el potencial de membrana se mantiene casi constante durante la fase 2. (2)

I.5.6 Fase 3:

Repolarización final

Este proceso ocurre al final de la fase 2, cuando la salida de potasio comienza a exceder la entrada de calcio y sodio, ya que I_{Kto} y la I_K van creciendo, de modo que al llegar a esta fase permiten la salida de potasio, y a su vez, debido a que los canales de calcio son inactivados después del comienzo de la meseta, las corrientes de calcio y sodio disminuyen. (2) Esto provoca que el potencial de membrana se vuelva gradualmente menos positivo y de lugar a la repolarización. (Figura I.5.6-1).

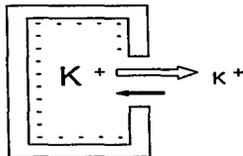


Figura I.5.6-1. Durante la fase 3 las fuerzas químicas que favorecen la salida de potasio debido al gradiente de concentración exceden a las electrostáticas que favorecen su entrada. Así lo indica la flecha blanca que representa la fuerza química, y la flecha negra que representa la fuerza electrostática.

La corriente de rectificación entrante contribuye substancialmente al proceso de repolarización. Como la salida de cationes provoca que el potencial de membrana se vuelva más negativo durante la fase 3, la conductancia de los canales que llevan la corriente I_{K1} se incrementa progresivamente.(2)

I.5.7 Restauración de concentraciones iónicas.

El sodio que entró en exceso a la célula durante la fase 0 y 2, es conducido nuevamente al exterior por la ATPasa, que saca sodio y lo intercambia por el potasio que haya salido en las fases 2 y 3. Saca 3 sodios y mete 2 potasios. De forma similar el exceso de calcio es eliminado por un intercambiador sodio-calcio y en pequeña proporción por una bomba de ATP conductora de calcio.(2) (Figura I.5.7-1)

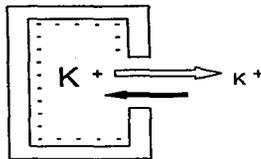


Figura I.5.7-1 En la fase 4, las fuerzas químicas que favorecen la salida de potasio exceden ligeramente a las fuerzas electrostáticas que favorecen su entrada, tal como lo muestran ambas flechas.

En el potencial de acción de respuesta lenta no se encuentra el primer componente, es decir, una elevación rápida del potencial de membrana. Esto es porque en las células de los nodos SA y AV, la despolarización se realiza por una corriente de calcio y sodio que entra muy lentamente a través de los canales de calcio, de modo que estos eventos se ensamblan gradualmente con aquellos que ocurren durante la meseta del potencial de respuesta rápida.(2)

I.6 Mediciones del potencial eléctrico de membrana.

Las variaciones en el potencial eléctrico de las células de músculo cardíaco han sido investigadas insertando micro electrodos al interior de la célula. En el presente trabajo se desarrolla el análisis de experimentos en que se registra el potencial eléctrico de membrana, insertando micro electrodos en músculo papilar de cobayo, obteniendo la respuesta a distintas frecuencias de estimulación.

¿Por qué utilizar para la experimentación con variaciones de frecuencia en la estimulación de tejido cardíaco el músculo papilar de cobayo?

El cobayo (*Cavia porcellus* Linn) es un modelo biológico idóneo para diversos tipos de experimentación (figura I.6-1), debido a que al ser un mamífero posee un sistema cardiovascular muy similar al humano lo cual nos permite extrapolar acerca de patologías registradas en pacientes. Además su

tamaño y peso son bastante manejables (los machos pesan entre 1000 y 1200g y las hembras de 850 a 900gr), lo cual no ocurre con otros roedores de crianza especializada en bioterios. (7,13,16,21)

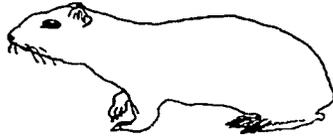


Figura I.6-1. El cobayo (*Cavia porcellus* Linn) es un mamífero pequeño que resulta un buen modelo de experimentación biológica.

El músculo papilar (figura I.6-2) es fácil de distinguir y extraer sin ocasionar daños importantes en el tejido por ser una estructura de contorno bien delimitado. Está constituido por columnas carnosas de forma cónica cuyos vértices sobresalen en la cavidad del ventrículo y cuyas bases se continúan en la pared del mismo. En el ventrículo derecho se encuentran comúnmente tres músculos papilares: uno anterior, el de mayores dimensiones, da origen a las cuerdas tendinosas que se insertan en las valvas anterior y posterior de la válvula tricúspide; otro posterior, de menores dimensiones, emite filamentos tendinosos a la valva posterior y a la del tabique, y finalmente el músculo papilar septal emite comúnmente filamentos tendinosos hacia la valva anterior, y cuando ausente, las fibras se originan directamente de la pared del ventrículo.(26)

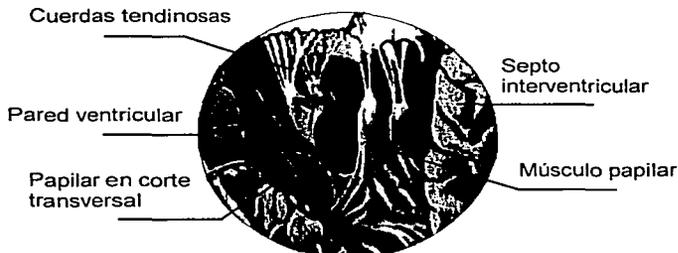


Fig. 1.6-2. En esta figura se muestran los músculos papilares de mamífero en las cavidades ventriculares. (Modificada de Fuentes, 1990)

Es importante enfatizar la importancia del músculo papilar como modelo experimental en el contexto de la electroestimulación y los patrones que se producen en los potenciales de acción, ya que es posible extrapolar su actividad a la funcionalidad del nodo AV. Esto, debido a que el papilar tiene una forma alargada en que la conducción opera en forma unidimensional recorriendo de un lado a otro del tejido como ocurre en el nodo atrio-ventricular. Además, bajo nuestras condiciones de estudio, la conducción en el papilar se asemeja a la del nodo al aumentar la frecuencia de estimulación, debido a que disminuye la velocidad de conducción por las condiciones extremas a que se somete el tejido; por todo esto, trabajar con él hace más accesible el estudio de la conducción ya que por su forma alargada y su tamaño pequeño, la complejidad de la conducción eléctrica disminuye notablemente con respecto a la actividad del corazón.

El objetivo que se persigue en este trabajo es indagar el efecto que tiene aumentar la frecuencia de estimulación en tejido cardiaco, con la finalidad de simular diferentes ritmos de trabajo del corazón de interés en situaciones clínicas y dinámicas en general. Esto es porque diversas enfermedades cardiacas manifiestan peculiaridades en los patrones de respuesta eléctrica al aumentar la frecuencia del ritmo de trabajo llegando inclusive a desencadenar una completa desorganización de la actividad eléctrica que desemboca comúnmente en muerte súbita.

Por eso es importante conocer la fenomenología de la actividad eléctrica del tejido cardiaco, máxime cuando se han reportado comportamientos característicos en los ritmos de actividad y en los parámetros de los potenciales precediendo patrones anormales de conducción, y que representan señales de mal funcionamiento que pueden llegar a emplearse como señales de pronóstico clínico.

Conocer las condiciones en que se generan las anomalías en la conducción proporciona la pauta para determinar cómo se originan, cuál es su desarrollo y las vías posibles para mitigarlas.

CAPÍTULO II

MÉTODO

II.1 Preparación.

Se procede a administrar vía intraperitoneal Pentobarbital sódico, un anestésico general, en proporción de 0.1 ml /100gr de peso, a un cobayo (*Cavia porcellus* Linn), lo cual puede consistir de varias dosis dependiendo del peso de ejemplar, hasta ya no obtener respuesta a la punción de las extremidades, ya que es importante que al realizar la disección se encuentre con vida.

A continuación se disecciona la región torácica para realizar la extracción del corazón, e inmediatamente después se sumerge el órgano en un vaso de precipitados con solución salina, de manera que se observa cómo sigue latiendo.

El corazón se traslada a una cámara de perfusión donde primero se despejan las aurículas y a continuación se seccionan los ventrículos, cortando los músculos papilares desde la base.

La cámara de perfusión es una charola rectangular de unos ocho por cuatro centímetros, con tres cámaras separadas interconectadas (figura II.1). En la de medio que es la de mayor tamaño se coloca la preparación, que en este caso son los músculos papilares.

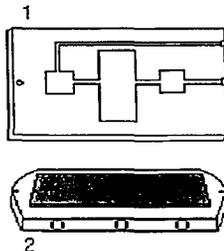


Figura II.1-1. Se muestra diagrama de la cámara de perfusión, en la cual se coloca el músculo papilar, y que a su vez se atornilla al peltier, el cual consiste de dos placas metálicas para controlar la temperatura. 1. Cámara de perfusión con sus tres cámaras interconectadas, 2. placas que forman el peltier.

La solución salina proviene de un matraz colocado en un soporte universal, y se oxigena constantemente con una mezcla de O_2 95% y CO_2 5%. Entra a través de una manguera por una de las cámaras laterales y sale por la del lado contrario hacia un colector por medio de otra manguera, de modo que la solución corre constantemente por el lugar donde se encuentra la preparación, a una velocidad de flujo de 2 ml/min, con la finalidad de mantener el tejido en buenas condiciones. Figura II.1-2.

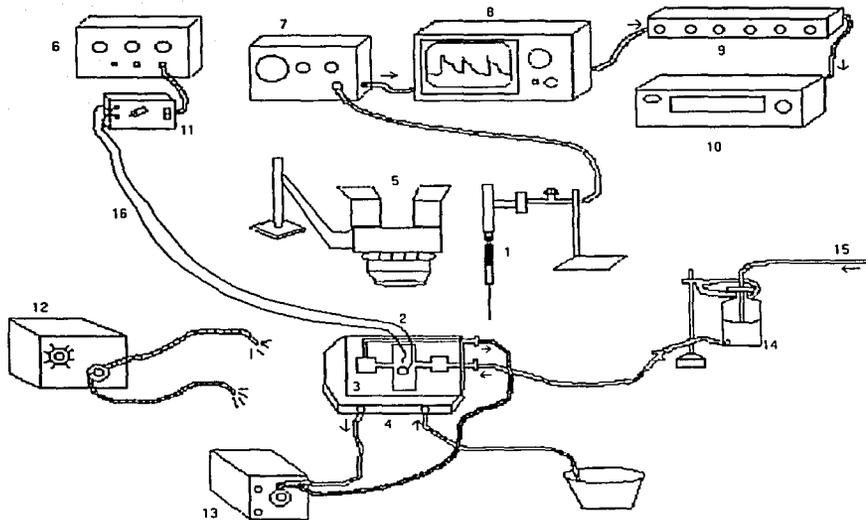


Figura II.1-2. Diagrama del set de experimentación mostrando los elementos que lo integran.

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1. Micro electrodo de registro | 9. Digitalizadora |
| 2. Micro electrodo de estimulación | 10. Video grabadora |
| 3. Cámara de perfusión | 11. Unidad de aislamiento |
| 4. Peltier | 12. Fibra óptica |
| 5. Microscopio estereoscópico | 13. Bomba impulsora de agua |
| 6. Estimulador | 14. Solución salina |
| 7. Electrómetro | 15. Mezcla O ₂ 95%, CO ₂ 5% |
| 8. Osciloscopio | 16. Cable tierra micro electrodo estimulación |

La composición de la solución salina es la siguiente:

(Concentración milimolar)

NaCl	117.8	CaCl ₂ -2H ₂ O	1.6
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	1.2	NaHCO ₃	25
Na ₂ EDTA-2H ₂ O	0.027	Dextrosa	505
KCl	6.0	MgSO ₄ -7H ₂ O	1.2

Burbujeo constante con gas carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂) y mantener la temperatura a 36°C.

En un compartimiento inferior a la cámara hay un conducto por el cual circula agua para regular la temperatura, entra por un extremo impulsada por una bomba peristáltica y sale por el otro extremo (Ver figura II.1-2).

La temperatura de la cámara de perfusión se controla mediante celdas denominadas Peltier, que consisten de placas metálicas conectadas en serie a una fuente que administra la energía, de modo que aumenta la temperatura en una de las placas y la disminuye en la otra (Figura II.1-1).

Los músculos papilares se fijan a una cama de silicón en la cámara de perfusión con alfileres de acero y posteriormente se introduce al tejido un electrodo de estimulación el cual proviene de la unidad de aislamiento que suministra los estímulos y que debe modularse de 1 a 10 miliamperes. A un lado de la preparación se coloca el cable de tierra del electrodo de estimulación.

También se inserta en el tejido un micro electrodo de vidrio para registrar la respuesta:

Los micro electrodos de registro se fabrican con un estirador de micro-pipetas (su resistencia debe ser de 30 a 60 mega Ohms) y después se llenan de solución salina (KCl, 2 molar) por capilaridad, más adelante se insertan en un soporte con base de plata clorada. Se terminan de llenar con una jeringa especial de agujas muy largas, delgadas y flexibles, y como ya se ha mencionado, se insertan al soporte el cual también se llena de solución salina de tal manera que el micro electrodo constituye un puente salino entre la preparación y la plata, la cual recoge la señal eléctrica del tejido cardíaco por la unión entre el metal y el electrolito. (Ver figura II.1-3).

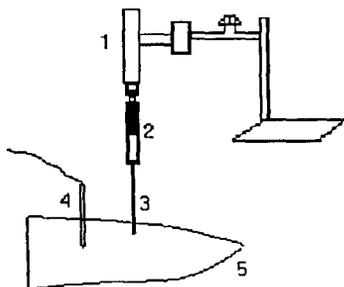


Figura II.1-3 Se representa la electroestimulación del músculo papilar y la recepción de respuesta por medio de un micro electrodo de registro. 1. Punta de prueba 2. soporte 3. micro electrodo de registro 4. micro electrodo de estimulación 5. músculo papilar

A su vez el soporte se inserta en la sonda del amplificador, la cual está sujeta por el micro-manipulador con el cual se puede maniobrar y posicionar los micro electrodos.

Para lograr ver claramente estos detalles se utiliza un microscopio estereoscópico instalado justo sobre la cámara de perfusión y la iluminación es por medio de una fibra óptica, como lo muestra el diagrama del dispositivo experimental. Figura II.1-2.

La señal que registra el micro electrodo llega primeramente a un electrómetro o amplificador, desde el cual va al osciloscopio, y de ahí se manda hacia la digitalizadora y finalmente llega a la videograbadora, esquematizadas en la figura II.1-2.

II.2 Procedimiento.

Primeramente se mide la resistencia del micro electrodo de registro que debe ser de 30 a 60 mega ohms.

Después se determina el potencial de membrana, el cual no debe ser inferior a los -70 mV.

Se localiza a qué voltaje se detecta respuesta (umbral) y se duplica ese valor. Se utilizan estímulos cuya magnitud es dos veces el umbral de excitación, esto

con la finalidad de asegurar una intensidad de estimulación que genere respuesta, ya que estimular con magnitudes un poco arriba del umbral podría resultar insuficiente. La duración de estímulo que se utiliza es de 2 milisegundos.

Inicialmente el micro electrodo toca el baño de solución salina. Posteriormente se inserta en el tejido y se mide el potencial de reposo, por lo tanto se observa un registro entre -70 y -80 mV cuando la punta ha atravesado la membrana de alguna célula.

Los impulsos se mandan con el estimulador desde el cual se controla la frecuencia de estimulación. Se comienza desde una frecuencia de 1 pulso por segundo (pps) y se aumenta gradualmente de uno en uno, y la duración de los trenes de pulsos en cada frecuencia es de 30 segundos.

Se registra el valor del potencial de membrana y la frecuencia de estimulación, en algunos casos se llega hasta 30 pps y en otros hasta que no se obtiene más respuesta debido a la fatiga del tejido. Se deja descansar por 15 minutos y se hace una réplica del mismo protocolo.

Los potenciales de acción se graban en cinta de video, posteriormente se grafican y se miden.

CAPÍTULO III

RESULTADOS

III.1 Tendencias Generales en el Universo de Resultados.

Los resultados que se exponen a continuación representan una aportación significativa para el estudio del comportamiento del tejido cardiaco, ya que si bien se han realizado experimentos con electroestimulación como el que a continuación se detalla, no se había estudiado hasta ahora una estructura tisular completa como el músculo papilar en un intervalo de frecuencias de estimulación tan amplia como el que aquí se reporta. Hemos conseguido reproducir una gran cantidad de los resultados reportados en la literatura, sin embargo hemos encontrado una forma de transición entre algunos ritmos la cual llamamos transición por ráfagas que hasta donde sabemos no ha sido reportada. (4, 7, 10, 13, 16, 18, 20, 21, 25, 27, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38)

Se estimularon músculos papilares de cobayo, extraídos de ejemplares adultos utilizando para ello electrodos (tal como se detalla en el Capítulo II) con los que se aplican trenes de pulsos. Cada pulso tiene una duración fija de 2 ms y un intervalo de tiempo fijo entre un pulso y otro. Intervalo este último, que se aplicaba en lapsos de 30 segundos antes de aumentar la frecuencia de estimulación. El experimento se comenzaba con una frecuencia de 1 o 2 pulsos por segundo y dependiendo de la resistencia del sistema se llevaba hasta frecuencias entre 10 y 90 pulsos por segundo.

Hay variabilidad; sin embargo se observan ciertos comportamientos que resultan constantes de manera general:

a).-Al aumentar la frecuencia de estimulación en todos los experimentos se encontraron patrones de actividad denominados ritmos, los cuales describen un determinado número y tipo de respuestas en función de un determinado número de estímulos. De modo que el ritmo nos indica que el comportamiento de m respuestas se repite cada n estímulos.

b).-Un ritmo se mantiene en un intervalo de frecuencias, que al ir aumentando generan la reducción del ancho del potencial de acción (duración), así como una reducción de su amplitud y un incremento de su latencia, es decir, el tiempo que transcurre desde el momento en que se aplica el estímulo hasta que se dispara el potencial de acción.

c).- En frecuencias bajas, la respuesta del tejido a la estimulación consiste de 1 potencial por cada pulso de estimulación, donde además las respuestas son uniformes, lo cual se denomina ritmo 1:1 (una respuesta por cada estímulo). Eventualmente, conforme se aumenta la frecuencia se modifica la respuesta del sistema, de modo que de cada 2 pulsos se genera un solo potencial de acción, es decir: un pulso produce potencial de acción, el siguiente no, el próximo sí, sucesivamente; a este ritmo se le denomina 2:1.

d).-Al cambiar de un ritmo a otro, la transición puede suceder de distintas maneras: directa, ráfagas, Wenckebach, y en particular en el cambio de ritmo 1:1 a 2:1, se encuentra un tipo de ritmo de transición llamado 2:2, todos estos tipos de transición se detallan más adelante.

e).-Cuando sucede el cambio de ritmo, se da un drástico aumento en la duración y la amplitud del potencial de acción, así como una considerable

disminución de la latencia, de modo que conforme sigue aumentando la frecuencia, disminuyen nuevamente la duración y la amplitud y aumenta la latencia hasta que ocurre otra vez el cambio de ritmo.

Encontramos una gran cantidad de comportamientos distintos en nuestros 29 experimentos, algunos de los cuales ya se encontraban reportados en la literatura pero otros no. Para decirlo de una manera muy sintética se encontraron ritmos: 1:1 , 2:1, 2:2, 3:1, 4:1, 4:2, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1 así como ritmos que hemos llamado irregulares. Tal como mencionamos en alguno de los incisos anteriores, el comportamiento del sistema cuando cambia de un ritmo a otro se puede dar de distintas maneras. A continuación describiremos de manera más detallada los principales ritmos que encontramos así como sus transiciones.

III.2 Ritmo 1:1

El ritmo característico basal es el 1:1, que consiste en que por cada pulso de estimulación se obtiene como respuesta un potencial de acción. El ritmo 1:1 se encontró en todos los experimentos a bajas frecuencias de estimulación, a partir de 1 y hasta 20 pulsos por segundo (pps) como máximo en algunos experimentos. Esto es porque a frecuencias bajas entre un estímulo y el siguiente, las células que conforman el tejido, tienen tiempo suficiente para restablecer sus propiedades, y por lo tanto cuando ocurre la repetición de estimulación, tienen la capacidad de responder a él. El ritmo 1:1 se muestra en

la figura III.2-1. Esta es la respuesta característica reportada en todos los trabajos relativos al tema. (10,18,20,31,34,36).

El ritmo 1:1 se mantiene cuando la frecuencia aumenta gradualmente, sin embargo es posible advertir cambios entre los potenciales de acción de las diferentes frecuencias de estimulación, algunos de estos cambios son fácilmente cuantificables: reducción del tiempo de descanso (T.D: periodo de tiempo entre el término de un potencial y el inicio del siguiente), reducción de la amplitud del potencial de acción, así como disminución de la duración del potencial de acción y el aumento de la latencia, es decir, del tiempo que transcurre entre el estímulo y el disparo del potencial. También se observa una paulatina despolarización de la membrana, de manera que al aumentar la frecuencia se hace menos negativa. Estos cambios se muestran en la figura III.2-2.

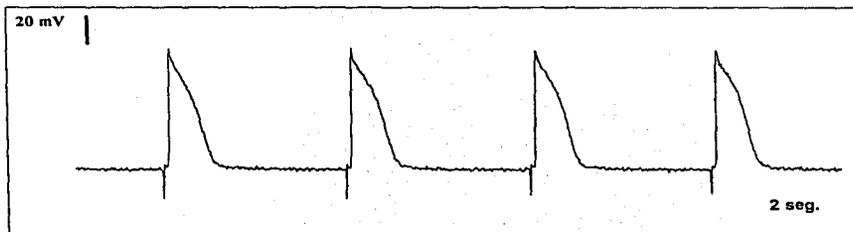
Figura III.2-1

A) Se muestra el potencial de transmembrana de músculo papilar de cobayo sometido a una frecuencia de estimulación de 2 pulsos por segundo. En la figura se observa un tren de pulsos del que se obtuvo un ritmo 1:1, es decir, que se genera un potencial de acción por cada pulso.

B) Uno de los potenciales de acción producto del mismo tren de pulsos, en ampliación de imagen, en que claramente pueden distinguirse las fases del potencial: elevación, repolarización temprana, meseta, repolarización final y post-potencial.

Figura. III.2-1

A



B

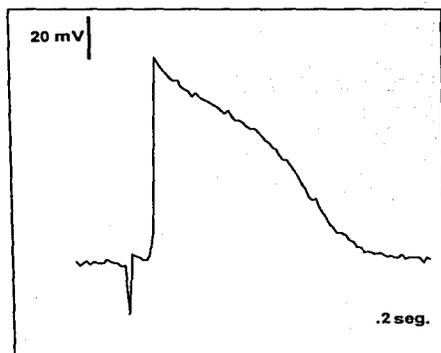


Figura III.2-2

Potenciales de acción en tres frecuencias de estimulación sucesivas. Aquí puede apreciarse como el ritmo 1:1 se mantiene cuando la frecuencia aumenta gradualmente, sin embargo, es posible advertir cambios entre los potenciales de acción de las diferentes frecuencias de estimulación:

	A)2 pps	B)3 pps	C)4 pps
Duración (ms)	140	142	126
Amplitud (mV)	93	90	82
Latencia (ms)	10	12	14
T.D. (ms)	360	191	124
P.M. (mV)	-66	-65	-64.4

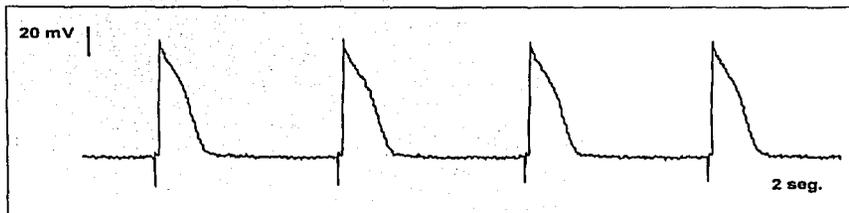
Pps = pulsos por segundo, ms = milisegundos, mV = milivolts

T.D.= Tiempo de descanso

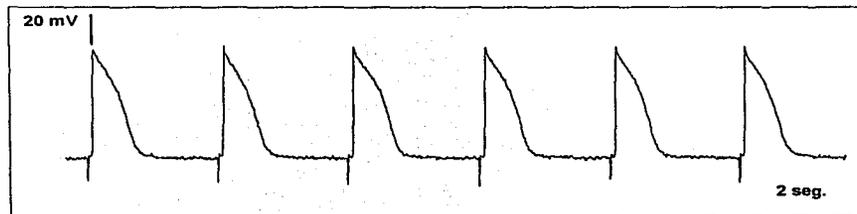
P.M = Potencial de membrana.

Figura III.2-2

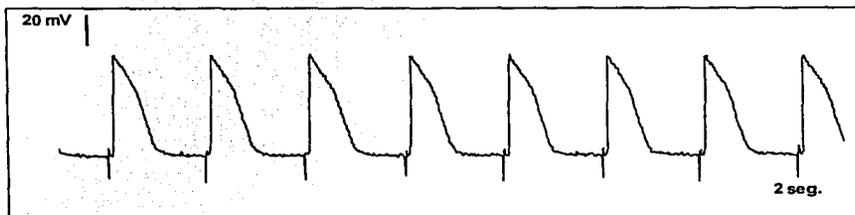
A



B



C

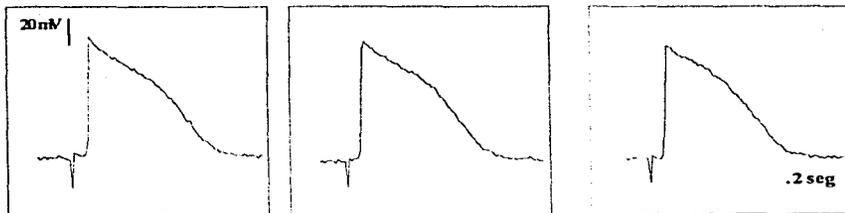


Otros de los cambios que se advierten en los potenciales de acción al aumentar la frecuencia, dentro de un mismo ritmo, no son tan fáciles de cuantificar, se trata más bien de cambios de tipo cualitativo (figura III.2-3), de tal manera que se notan modificaciones en los potenciales de acción tales como:

-Conforme aumenta la frecuencia de estimulación, progresivamente desaparece la repolarización temprana.

-La fase de meseta se vuelve menos conspicua conforme aumenta la frecuencia, fusionándose a la repolarización final.

Figura III.2-3



Uno de los potenciales de acción de cada uno de los trenes de pulsos, es decir de 2, 3 y 4 pps respectivamente.

En esta figura es posible apreciar los cambios en la forma entre potenciales de acción de frecuencias sucesivas.

III.3 Ritmo 2:1

En este ritmo por cada dos pulsos de estimulación se genera un solo potencial de acción, alternando: un pulso con respuesta de potencial, el siguiente sin respuesta, el siguiente con respuesta, y así sucesivamente (figura III.3-1).

El ritmo 2:1 se encontró en los 29 experimentos en frecuencias desde 5 hasta 40 pulsos por segundo.

Cuando el sistema se encuentra en ritmo 1:1 y aumenta la frecuencia de estimulación disminuye el tiempo en que las células restablecen las conductancias de los iones de transmembrana, por lo tanto no les es posible responder a todos los estímulos, y pasa al ritmo 2:1. El ritmo 2:1 se mantiene cuando la frecuencia aumenta gradualmente, de manera similar a como ocurre con el ritmo 1:1, lo cual se aprecia en la figura III.3-2

Anteriormente otros autores han encontrado el ritmo 2:1 en sus trabajos de experimentación. (10,18, 20, 31,34, 36)

Figura III.3-1

Ritmo 2:1.

Al aumentar la frecuencia de estimulación disminuye el tiempo de descanso en que las células restablecen las conductancias de los iones de transmembrana, por lo tanto no les es posible responder a todos los estímulos como ocurre a bajas frecuencias de estimulación, en consecuencia se da un cambio a ritmo 2:1, que consiste en que por cada dos pulsos se genera un solo potencial de acción, alternando un pulso con respuesta, otro sin respuesta, el siguiente nuevamente con respuesta, etc. Como se observa en la figura.

Frecuencia de estimulación 12 pps

Duración	116 ms	Tiempo de descanso	50 ms
Amplitud	58 mV	Potencial de membrana	-59 mV
Latencia	16 ms		

Figura III.3-1

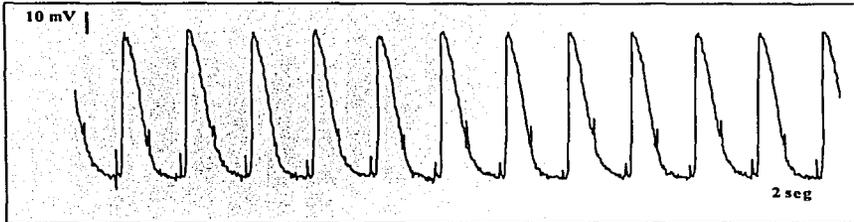


Figura III.3-2

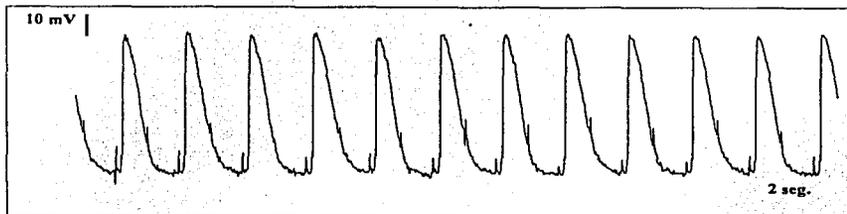
Series de potenciales de acción de tres frecuencias de estimulación sucesivas.

A)12 pps. B)13 pps C)14 pps.

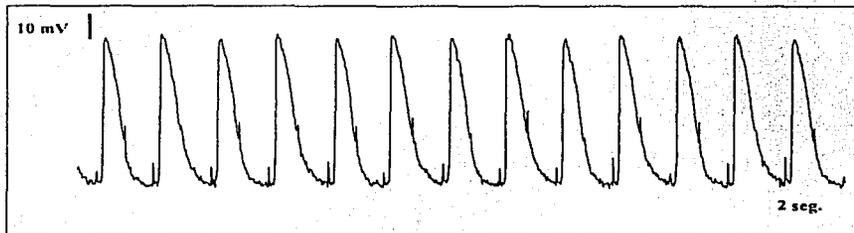
El ritmo 2:1 se mantiene cuando la frecuencia aumenta gradualmente, de manera similar a como ocurre con el ritmo 1:1.

Figura III.3-2

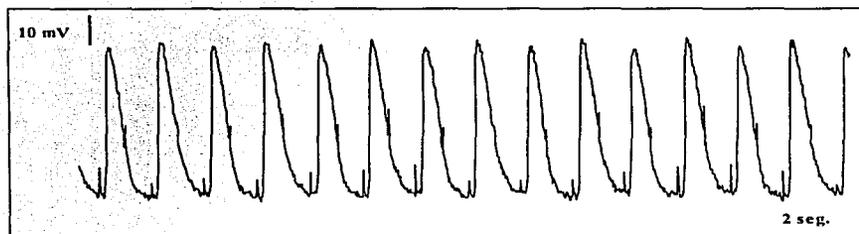
A



B



C



III.4 Formas de transición de ritmo 1:1 a ritmo 2:1.

En el cambio de ritmo de 1:1 a 2:1, se encontraron casos en los que no existe entre ambos algún otro tipo de fenómeno diferenciable, de modo que se le llama paso directo, ya que simplemente deja de presentarse el ritmo 1:1 y comienza el ritmo 2:1. El cambio directo de ritmo se muestra en la figura III.4-1. Nótese como la aparición del ritmo 2:1 inmediatamente después del ritmo 1:1 provoca un incremento muy notorio en los parámetros de los potenciales de acción. Esto se explica por el aumento del tiempo de descanso que en este caso va de 40 a 96.1 ms. Esta forma de transición ha sido hallada anteriormente por otros autores (18, 31, 36).

El paso directo se encontró en 10 de los 29 experimentos (aproximadamente 1/3) y en frecuencias desde 6 hasta 25 pulsos por segundo ($S\bar{x} = 2.22$).

También puede ocurrir que al presentarse el cambio de ritmo de 1:1 a 2:1, se observe algún tipo de transición, es decir, un comportamiento de respuestas distintas a ambos ritmos, y a su vez distinto de aquellos.

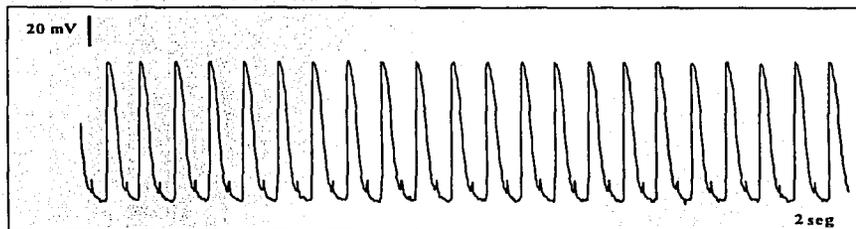
Figura III.4-1

Cambio directo de 1:1 a 2:1. Se observa que el cambio de ritmo sucede sin ningún fenómeno de transición apreciable entre un ritmo y otro. En este caso tenemos ambos ritmos en la misma frecuencia a 11 pps. Si observamos las dimensiones de los potenciales de acción se aprecia un aumento en duración y amplitud, así como disminución de latencia al aumentar el tiempo de descanso por el cambio de ritmo (comparar datos de la tabla).

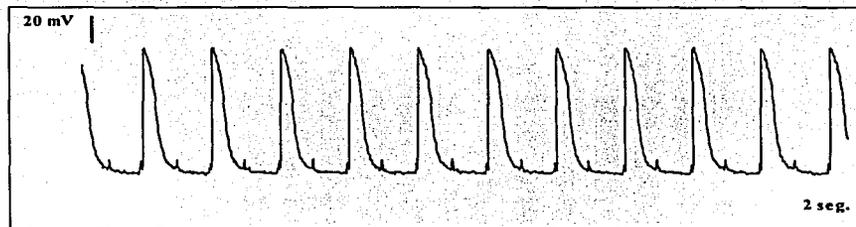
	A) Ritmo 1:1, 11 pps	B) Ritmo 2:1, 11 pps
Duración (ms)	58	82
Amplitud (mV)	89.2	94.8
Latencia (ms)	36	8
T.D. (ms)	32.9	99.8

Figura III.4-1

A



B



III.4.1 Alternancia 2:2

En esta forma de transición se observa que al aumentar la frecuencia de estimulación cuando el sistema se encuentra en ritmo 1:1, seguimos encontrando un potencial de acción por cada pulso de estimulación, pero difiere del ritmo 1:1, ya que en la alternancia 2:2 (o ritmo 2:2) encontramos diferencias en las dimensiones de los potenciales de acción a manera de alternancia. Dicho de otra forma, se generan dos potenciales de acción diferentes entre sí por cada dos pulsos de estimulación. El tejido responde a todos los estímulos, pero tenemos dos tamaños de potenciales. Este comportamiento ha sido reportado por otros autores: (10, 18, 20, 30, 34, 36).

Esta forma de transición de ritmo 1:1 a 2:1 se encontró en 5 de los 29 experimentos (aproximadamente 1/6), en frecuencias desde 10 hasta 12 pulsos por segundo ($Sx = 0.4$). La forma de transición por alternancia 2:2 se muestra en la figura III.4.1-1. Al inicio se observa ritmo 1:1, donde todos los potenciales de acción son del mismo tamaño, se aprecia cómo al aumentar la frecuencia de estimulación se sigue generando un potencial de acción por cada pulso pero con alternancia de tamaños que se acentúa conforme aumenta la frecuencia de estimulación, hasta llegar a ritmo 2:1 como se muestra en la última línea.

Figura III.4.1-1

Se aprecia claramente la forma de transición por alternancia (ritmo 2:2). En A tenemos ritmo 1:1 en frecuencia de 6 pps con los potenciales de acción de un mismo tamaño, al aumentar la frecuencia de estimulación seguimos encontrando un potencial de acción por cada pulso pero con una alternancia de tamaños cada vez más marcada, como se observa a lo largo de B, C, D y E hasta llegar al ritmo 2:1 en F.

Frecuencias de estimulación:

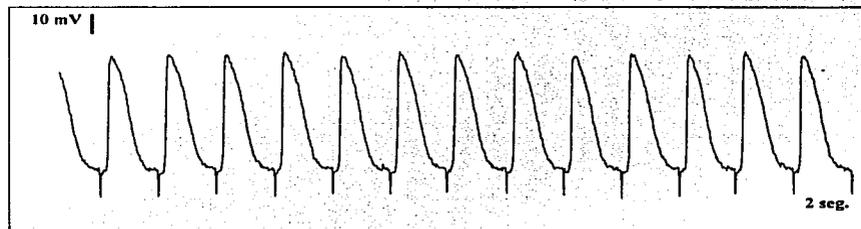
A)6 pps. B)7 pps C)8 pps D)9 pps E)10 pps F)11 pps

Figura III.4.1-1

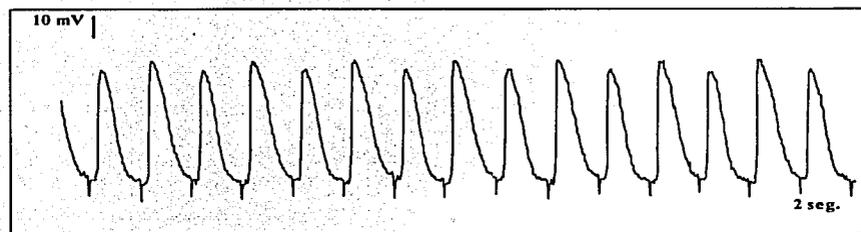
A



B



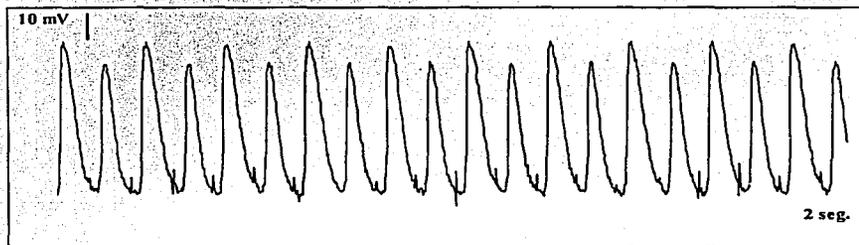
C



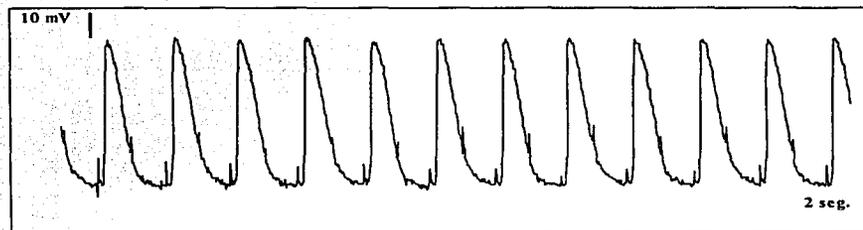
D



E



F



III.4.2 Transición tipo Ráfaga.

Las ráfagas son periodos de transición donde en una misma frecuencia de estimulación se da un cambio espontáneo de ritmo para después regresar al ritmo anterior, esto puede suceder una vez o en repetidas ocasiones en el transcurso del tren de pulsos de determinada frecuencia de estimulación.

Puede suceder que al cambiar la frecuencia después de haberse presentado la ráfaga se note el cambio de ritmo, en este caso de 1:1 a 2:1. Sin embargo, en otros casos las ráfagas se presentan sin que necesariamente ocurra un cambio de ritmo.

Les hemos llamado Ráfagas porque en la misma frecuencia se encuentran dos ritmos que se presentan repentinamente y de manera alternativa como es posible notarlo en las figuras III.4.2-1 y III.4.2-2.

La forma de transición tipo ráfaga de ritmo 1:1 a 2:1 se encontró en 7 de los 29 experimentos (aproximadamente $\frac{1}{4}$), en frecuencias desde 10 hasta 25 pulsos por segundo ($S\bar{x} = 1.89$).

Figura III.4.2-1

Forma de transición tipo ráfaga.

A) Ritmo 1:1 a 6 pps de frecuencia de estimulación.

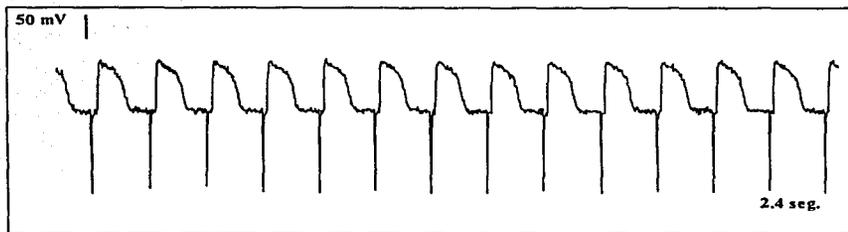
B) Al aumentar la frecuencia a 8 pps, se observa un cambio espontáneo de ritmo en la misma frecuencia, para después regresar al ritmo anterior. Aquí se nota claramente una alternancia de ritmos 1:1 y 2:1.

B') Lo mismo que la anterior a una escala más grande en que se aprecian mejor los periodos de ambos ritmos.

C) Al elevarse la frecuencia a 10 pps se da el cambio de ritmo a 2:1 en forma definitiva.

Figura III.4.2-1

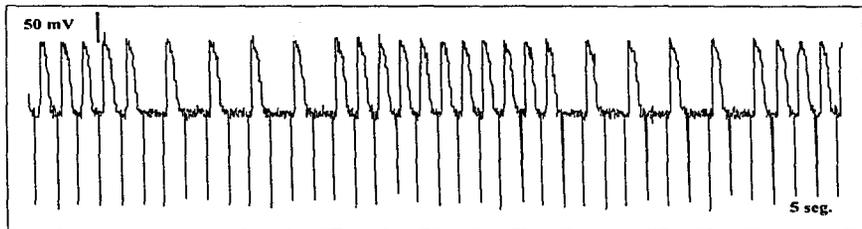
A



B



B'



C

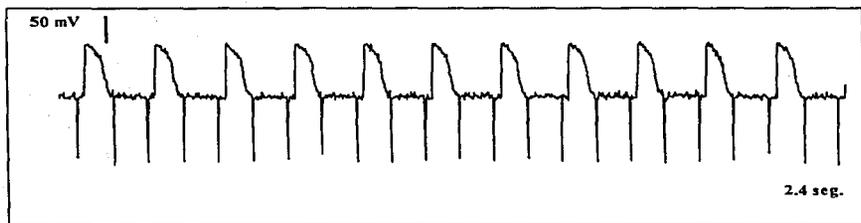


Figura III.4.2-2

Otro ejemplo de forma de transición tipo ráfaga.

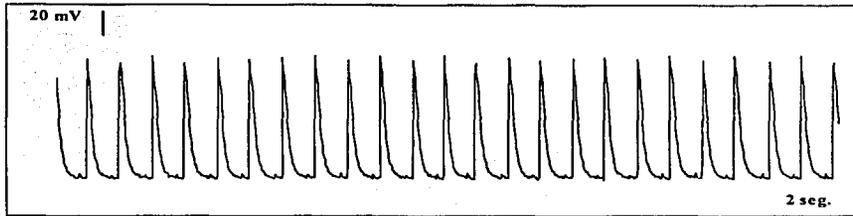
A) Ritmo 1:1 a 12 pps de frecuencia de estimulación.

B) Al aumentar la frecuencia a 13 pps, se observa un cambio espontáneo de ritmo para después regresar al ritmo anterior. Aquí se nota claramente una alternancia de ritmos 1:1 y 2:1.

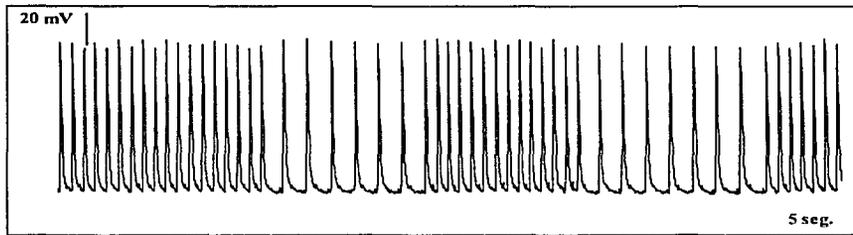
C) Al elevarse la frecuencia a 14 pps se da el cambio de ritmo a 2:1 en forma definitiva.

Figura III.4.2-2

A



B



C



III.4.3 Transición tipo Wenckebach.

En esta forma de transición de ritmo 1:1 a 2:1 se observa un aumento gradual de latencia, que es el tiempo que transcurre desde el momento en que se aplica un pulso hasta la elevación del potencial de acción cuando se trata del ritmo 1:1. El aumento gradual de latencia persiste por varios pulsos y es seguido por la pérdida de un potencial de acción, como si ocurriese un paulatino retraso en la respuesta hasta que definitivamente la respuesta no se produce, lo cual puede ocurrir en una ocasión o en varias ocasiones sucesivas, de modo que en el potencial de acción que se genera inmediatamente después de la respuesta que se perdió, la latencia regresa a su dimensión original, disminuyendo su tamaño, y vuelve a aumentar gradualmente, hasta que nuevamente se pierde otro pulso. En la frecuencia siguiente a la ocurrencia de la transición tipo Wenckebach, se aprecia el cambio de ritmo, en este caso a 2:1, como se muestra en las figuras III.4.3-1 y III.4.3-2.

El ritmo Wenckebach ha sido descrito en el bloqueo atrio ventricular de segundo grado (que se caracteriza por la falta de activación ventricular de manera periódica, 37) También se encontró sin estar asociado al cambio de ritmo. (4,5,18,31,33,36,37)

Esta forma de transición se presentó en 7 de los 29 experimentos (aproximadamente $\frac{1}{4}$) y en frecuencias desde 4.5 hasta 14 pulsos por segundo ($S\bar{x} = 1.6$).

Figura III.4.3-1

Forma de transición tipo Wenckebach.

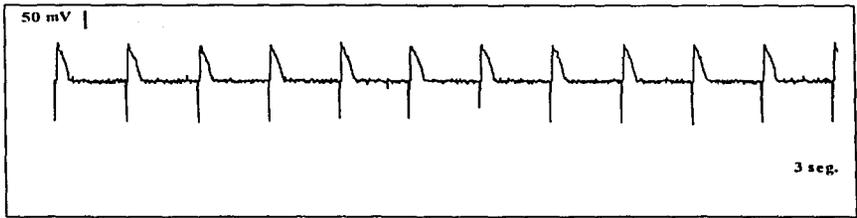
A) Ritmo 1:1 en 4 pps de frecuencia de estimulación.

B) Se eleva la frecuencia de estimulación a 5 pps de tal manera que ocurre un aumento gradual del tiempo de latencia a lo largo de varios pulsos, seguido por la pérdida de un potencial de acción. El pulso siguiente a la pérdida genera un potencial de acción en que ha disminuido nuevamente el tiempo de latencia, al siguiente pulso aumenta y así sucesivamente..

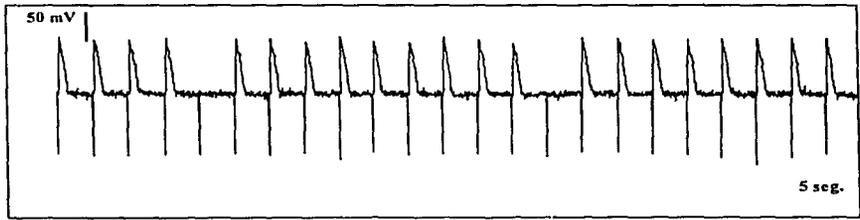
C) Al aumentar la frecuencia de estimulación a 8 pps se presenta ritmo 2:1.

Figura III.4.3-1

A



B



C

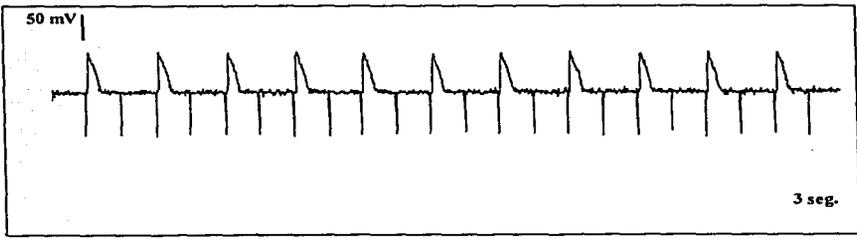


Figura III.4.3-2

Otro ejemplo de forma de transición tipo Wenckebach.

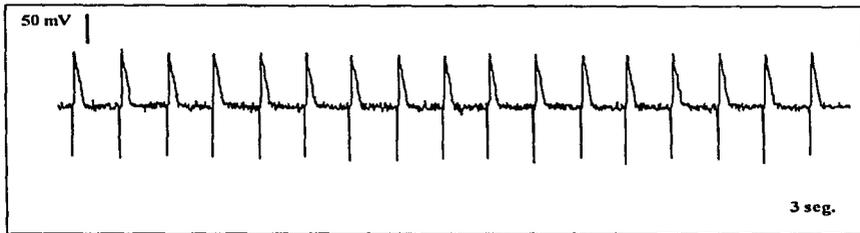
A) Ritmo 1:1 en 7 pps de frecuencia de estimulación.

B) y B') Al elevarse la frecuencia de estimulación a 8 pps se aprecia un aumento gradual de latencia que continúa por varios pulsos seguido por la pérdida de un potencial de acción, de manera similar al ejemplo anterior.

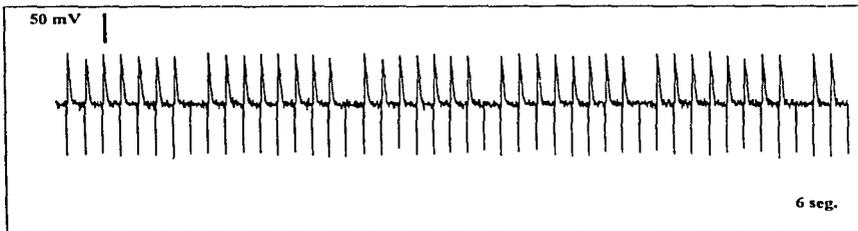
C) Al aumentar la frecuencia a 10 pulsos por segundo cambia a ritmo 2:1.

Figura III.4.3-2

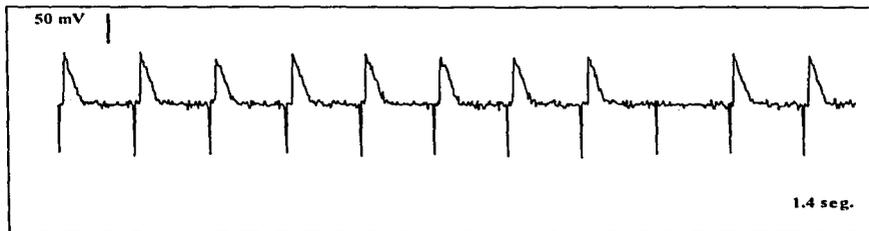
A



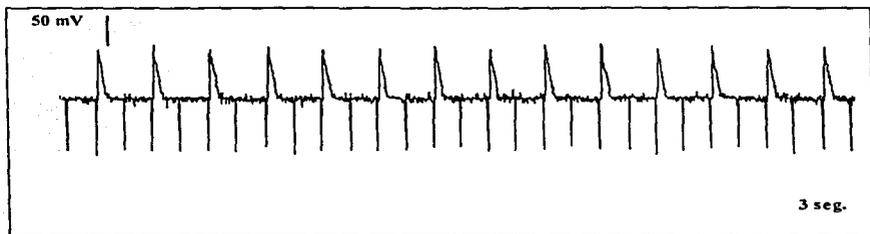
B



B'



C



III.5 Otros ritmos.

Conforme se aumentó la frecuencia de estimulación se presentaron otros ritmos después del ritmo 2:1. A continuación se explica en qué consisten.

III.5.1 Ritmo 4:2

Generalmente el ritmo 2:1 se mantiene por varios incrementos de frecuencia, de tal manera que se van presentando cambios entre los potenciales de acción de una frecuencia dada y la siguiente, pero en ocasiones se observa una alternancia de tamaños como la que observamos en el ritmo 2:2. El ritmo 4:2 consiste de dos potenciales de acción de diferentes dimensiones por cada 4 pulsos de estimulación. Se encontró en 8 de los 29 experimentos, en frecuencias desde 9 hasta 25 pulsos por segundo. En la figura III.5.1-1 se muestra el ritmo 4:2.

Este ritmo ha sido reportado por varios autores: (18,20,34).

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Figura III.5.1-1

Ritmo 4:2.

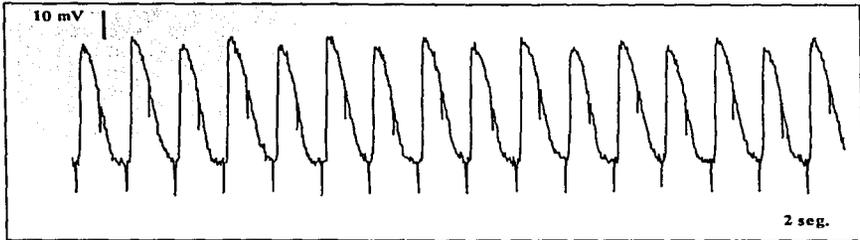
Se muestra la alternancia de tamaños en estos dos ejemplos, con dos respuestas diferentes por cada 4 pulsos de estimulación.

A) Frecuencia de estimulación 15 pps

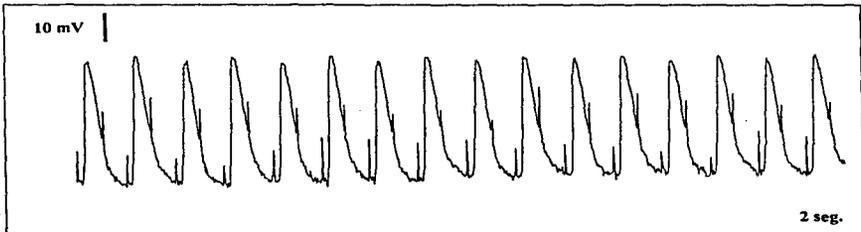
B) Frecuencia de estimulación 9 pps.

Figura III.5.1-1

A



B

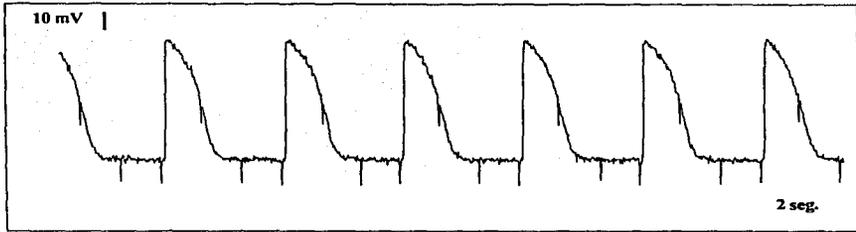


III.5.2 Ritmo 3:1

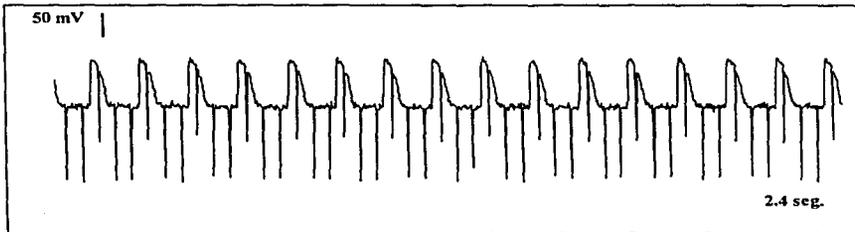
Este ritmo consiste de una respuesta por cada tres pulsos de estimulación. Al encontrarse el sistema en ritmo 2:1 y aumentar la frecuencia se presentó el ritmo 3:1. El ritmo 3:1 se encontró en 13 de los 29 experimentos en frecuencias desde 8 hasta 60 pps; anteriormente ha sido reportado por otros autores (18,20). En la figura III.5.2-1 se muestra el ritmo 3:1 de tres experimentos diferentes.

Figura III.5.2-1

A



B



Se muestra ritmo 3:1.

Una respuesta por cada tres pulsos. Aquí se observa el ritmo 3:1 de dos experimentos con distinta frecuencia de estimulación:

A) 20 pps B) 12 pps.

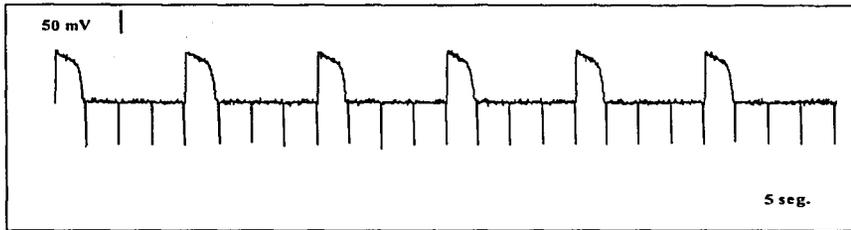
III.5.3 Ritmo 4:1

Se encontró el ritmo 4:1, que consiste de un potencial de acción por cada 4 estímulos. Se presentó al aumentar la frecuencia después de los ritmos 2:1 o 3:1, es decir que cuando el sistema se encontraba en ritmo 2:1 en algunos casos, o 3:1 en otros casos, al aumentar la frecuencia de estimulación, se observó el cambio a ritmo 4:1. (18,20)

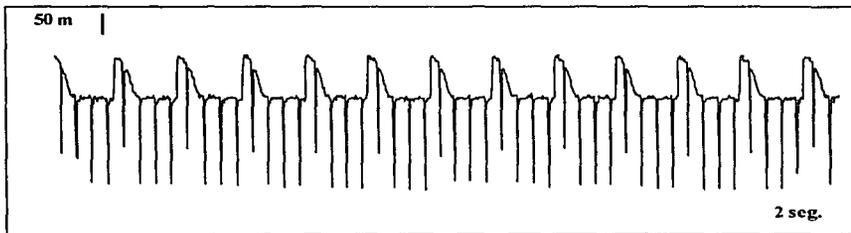
El ritmo 4:1 se encontró en 14 de los 29 experimentos en frecuencias desde 5 hasta 55 pulsos por segundo. En la figura III.5.3-1 pueden apreciarse ritmos 4:1 de diferentes experimentos y a distintas frecuencias.

Figura III.5.3-1

A



B



Ritmo 4:1.

Tenemos un solo potencial de acción por cada 4 pulsos. Aquí se presentan dos ejemplos de ritmo 4:1 de experimentos y frecuencias diferentes.

Frecuencias de estimulación:

A) 5 pps B) 25 pps

III.5.4 Ritmo 5:1

El ritmo 5:1 se compone de una respuesta de potencial de acción por cada 5 pulsos de estimulación. Se encontró al aumentar la frecuencia de estimulación después del ritmo 4:1. El ritmo 5:1, se encontró en 8 de los 29 experimentos en frecuencias de estimulación desde 8 hasta 70 pulsos por segundo.

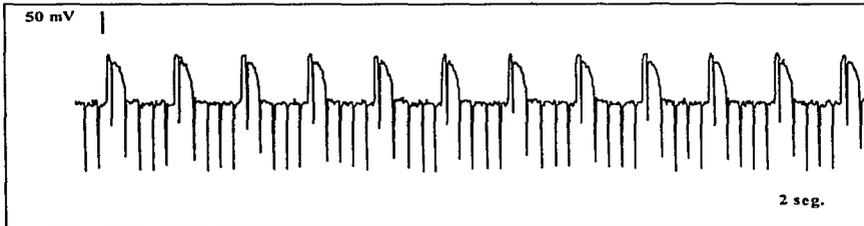
En la figura III.5.4-1 se observa ritmo 5:1 de tres diferentes experimentos y en distintas frecuencias de estimulación.

Figura III.5.4-1

A



B



Ritmo 5:1.

Una respuesta de potencial de acción por cada cinco pulsos. Aquí se muestra el ritmo 5:1 en dos frecuencias de estimulación:

A) 11 pps B) 30 pps

III.5.5 Ritmo 6:1

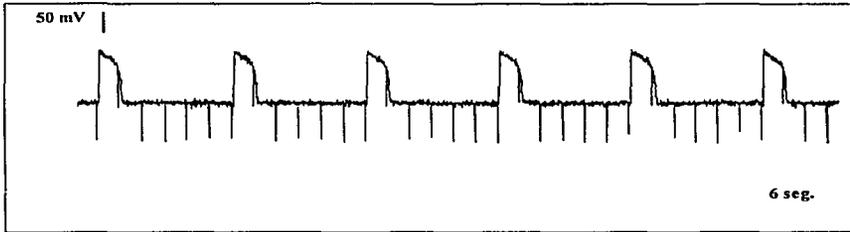
A este ritmo se le denomina 6:1 porque consiste de una respuesta de potencial de acción por cada 6 pulsos de estimulación de manera cíclica al igual que los otros ritmos que se presentaron anteriormente. Se encontró en frecuencias altas, desde 30 hasta 80 pulsos por segundo, en 6 de los 29 experimentos.

De manera sucesiva se hallaron los ritmos 7:1 y 8:1 a 80 pps de frecuencia de estimulación y en uno solo de los 29 experimentos; sus gráficas no se incluyen para que al lector no le resulte repetitivo.

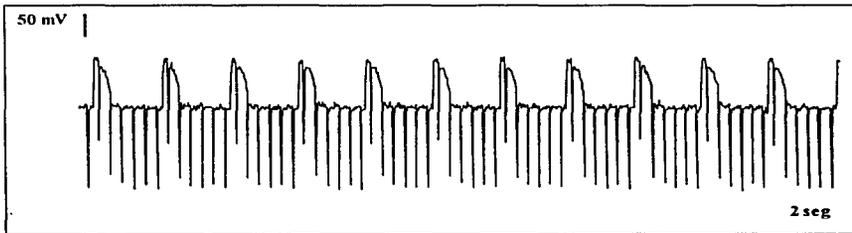
El ritmo 6:1 se muestra en la figura III.5.5-1 en tres diferentes experimentos y frecuencias distintas.

Figura III.5.5-1

A



B



Se observa un potencial de acción por cada 6 pulsos. El ritmo 6:1 se presenta en diferentes experimentos y frecuencias.

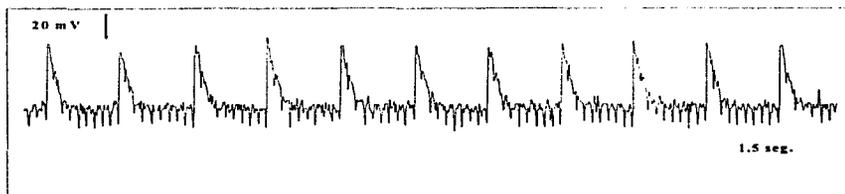
Frecuencias de estimulación:

A) 7 pps B) 35 pps

III.5.6 Ritmo 9:1

El llamado ritmo 9:1 se compone de una respuesta de potencial de acción por cada 9 pulsos de estimulación. Se presentó al aumentar la frecuencia después del ritmo 8:1. El ritmo 9:1 se encontró en uno de los 29 experimentos en frecuencias desde 45 hasta 50 pulsos por segundo. Este ritmo se muestra en la figura III.5.6-1.

Figura III.5.6-1

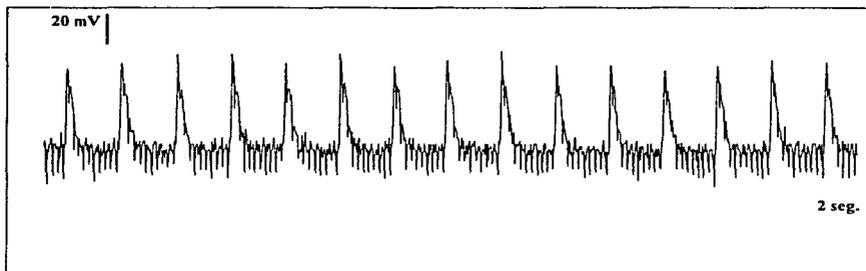


Se presenta ritmo 9:1 a una frecuencia de estimulación de 60 pps.

III.5.7 Ritmo 10:1

Este ritmo consiste de un potencial de acción por cada 10 estímulos. Se presentó al aumentar la frecuencia después del ritmo 9:1. El ritmo 10:1 se encontró en uno de los 29 experimentos y en frecuencias desde 70 hasta 90 pulsos por segundo. El ritmo 10:1 se muestra en la figura III.5.7-1.

Figura III.5.7-1

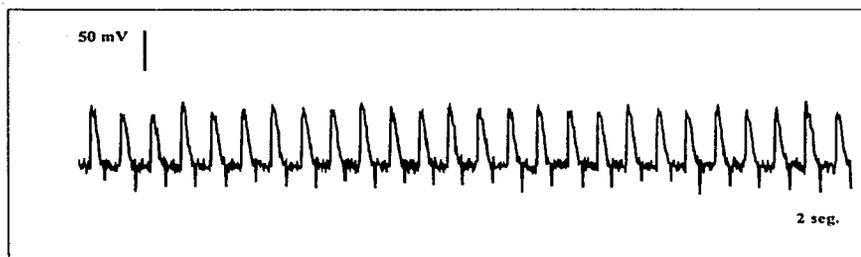


Se presenta ritmo 10:1 a una frecuencia de estimulación de 70 pps.

III.5.8 Ritmos Irregulares

También se encontraron casos en que en cierta frecuencia de estimulación se presentaron patrones de respuestas irregulares, donde no se halló un solo ritmo definido, ya sea en el número de potenciales de acción por cada pulso, o bien, en cuanto a una secuencia en las dimensiones de las respuestas (como en los ritmos 2:2 y 4:2). A este tipo de comportamiento lo nombramos ritmos irregulares, por no poder clasificarse en alguno de los ritmos y transiciones descritos anteriormente.(20). Figura III.5.10-1.

Figura III.5.8-1



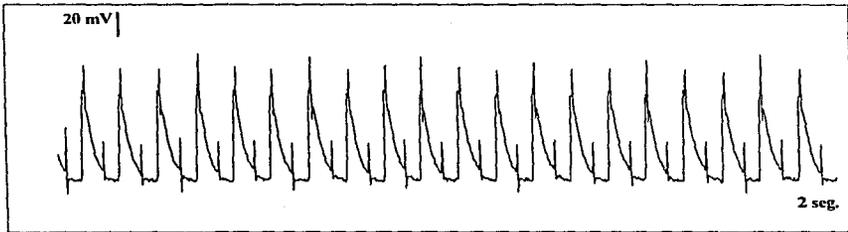
Aquí se presenta ritmo irregular a una frecuencia de estimulación de 15 pulsos por segundo.

III.6 Formas de transición entre ritmos diferentes de 1:1 a 2:1.

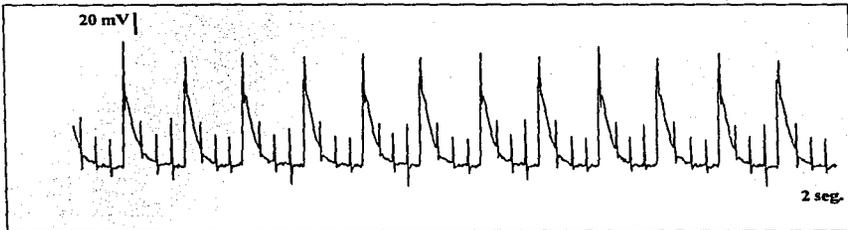
Exceptuando a la alternancia 2:2 por ser una expresión modificada del ritmo 1:1, las formas de transición de cambio de ritmo, no se encontraron únicamente en el cambio de 1:1 a 2:1, sino también entre los ritmos mencionados anteriormente a partir del ritmo 3:1, como se muestra en las siguientes figuras de la III.6-1 a la III.6-6.

Figura III.6-1

A



B



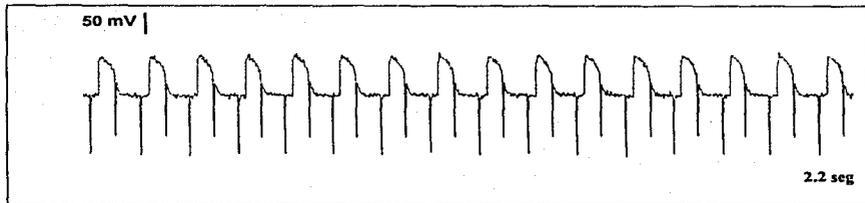
Cambio de ritmo directo en frecuencias sucesivas de 2:1 a 4:1

A) Ritmo 2:1 en 20 pps

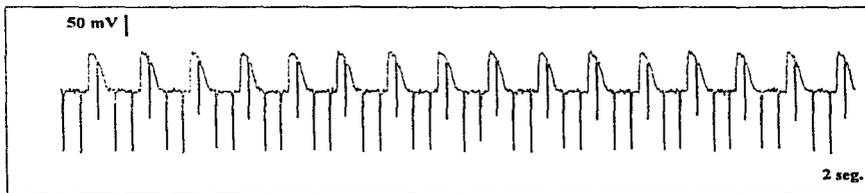
B) Ritmo 4:1 en 25 pps

Figura III.6-2

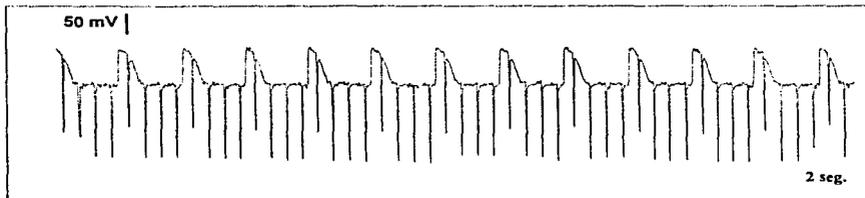
A



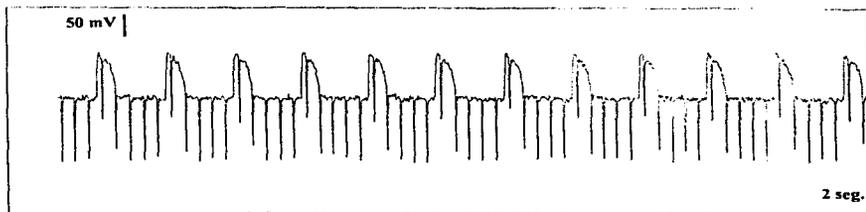
B



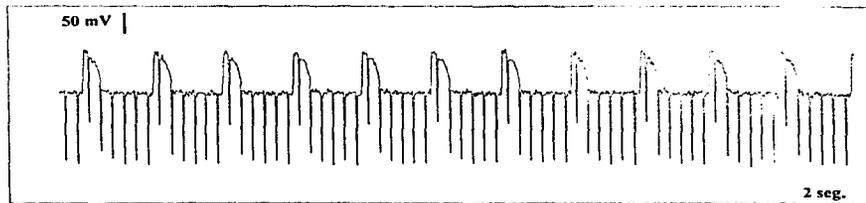
C



D



E



Cambio de ritmo de forma directa, en el mismo experimento, en frecuencias de estimulación sucesivas:

A) Ritmo 2:1 en 15 pps

D) Ritmo 5:1 en 30 pps

B) Ritmo 3:1 en 20 pps

E) Ritmo 6:1 en 35 pps

C) Ritmo 4:1 en 25 pps

Figura III.6-3

Cambio de ritmo 2:1 a 4:1 de forma de transición tipo ráfaga.

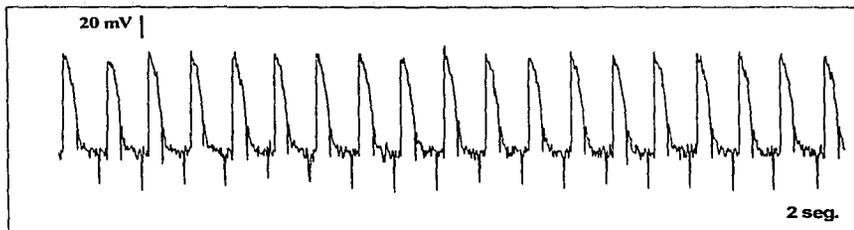
A) Ritmo 2:1 en 20 pps

C) Ritmo 4:1 en 30 pps

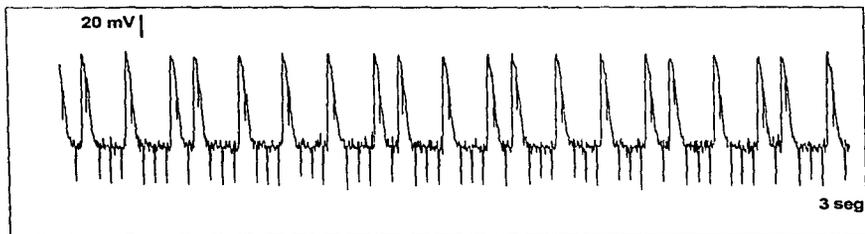
B) Biestabilidad 2:1-4:1 en 25 pps

Figura III.6-3

A



B



C



Figura III.6-4

Cambio de ritmo 2:1 a 4:1 con forma de transición tipo Wenckebach.

A) Ritmo 2:1 en 15 pps.

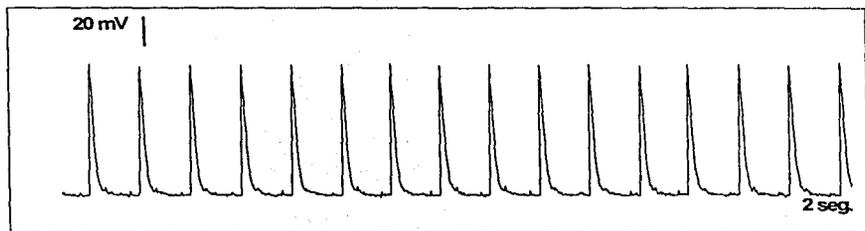
B) Se presenta ráfaga tipo Wenckebach en 20 pps que es la frecuencia que se aplicó en seguida de 15 pps en la cual se presentó ritmo 2:1.

B') Igual que B pero a mayor escala para apreciar mejor el periodo que comprende cada ritmo.

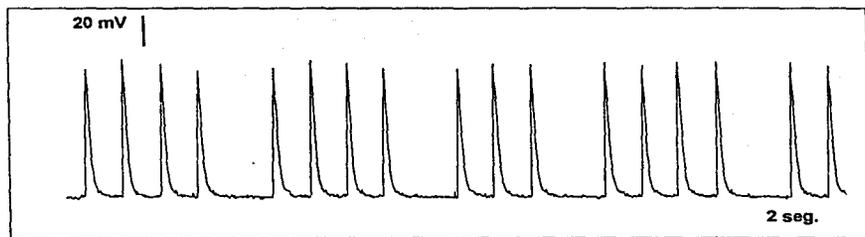
C) Ritmo 4:1 en 25 pps.

Figura III.6-4

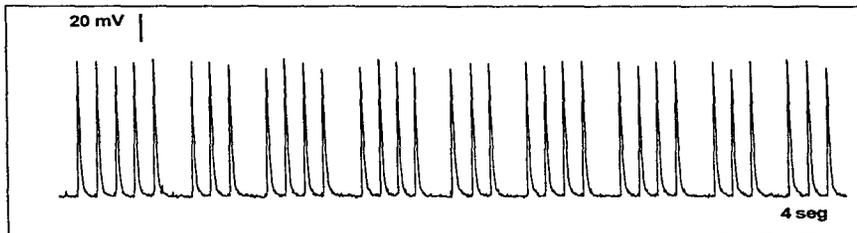
A



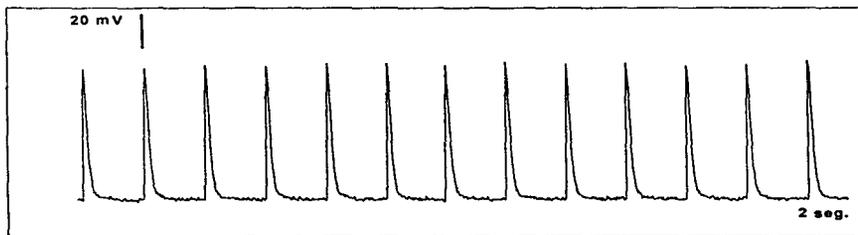
B



B'



C



CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

IV.1 Consideraciones Generales.

En el capítulo introductorio de esta tesis mencionamos que nuestro objetivo era “explorar” el comportamiento de una estructura tisular cardiaca, que en una primera aproximación podemos considerar unidimensional. La selección de una estructura de este tipo nos permitiría observar un sistema en el que existe conducción básicamente en una sola dirección, sin las complicaciones inherentes a porciones más extensas o la totalidad del corazón que tendrían que ser representados como sistemas de dos o tres dimensiones, en las cuales pueden ocurrir las reentradas o la fibrilación. (24, 35)

Un modelo biológico de estas características puede someterse a diversos esquemas experimentales como la inducción de isquemias, anoxias o cambios de temperatura. Sin embargo hemos preferido someterlo a estimulación en muy distintos intervalos de frecuencia por el ampliamente conocido efecto nocivo que sobre el corazón puede tener un incremento brusco de frecuencia (por ejemplo en personas que sufren fuerte susto, un gran esfuerzo físico o que se encuentran sometidas a estrés prolongado) que lo puede llevar a la fibrilación después de pasar por alternancias y bloqueos. (7, 13, 22, 16, 30,40)

Como se puede ver en el capítulo anterior hemos obtenido una amplia gama de resultados, muchos de los cuales ya han sido reportados por otros investigadores. Sin embargo hemos encontrado algunos fenómenos que hasta donde sabemos no han sido publicados en la literatura, como el patrón de comportamiento que hemos denominado ráfagas, y que se trata de una

situación en que el sistema al ser estimulado con una cierta frecuencia puede presentar dos ritmos de activación saltando espontáneamente de uno a otro.

Es claro que ante la riqueza de resultados y de las preguntas que estas inducen, lo que se impone es una clasificación de éstos que permita estructurar una o varias líneas de trabajo. Esta es una tarea que se desarrollará a futuro, pero en este capítulo nos permitiremos adelantar algunos elementos de esta reflexión.

Si seguimos la fenomenología que aparece a medida que se incrementa la frecuencia observaremos que a frecuencias bajas el ritmo es 1:1, esto es por cada estímulo se dispara un potencial de acción y la serie de potenciales de acción así producidos son iguales entre sí. El primer intervalo de frecuencias que podemos considerar en nuestra clasificación es en el que se mantiene el ritmo 1:1 y donde el aumento de frecuencia provoca cambios en las características de los potenciales de acción como reducción de su ancho y de su altura, así como incremento de la latencia.

El segundo intervalo interesante de frecuencias es para el que desaparece el ritmo 1:1. Esta transición se da de varias maneras: a) Directa, en la cual el ritmo salta bruscamente del 1:1 al 2:1 (un potencial de acción por cada dos estímulos); b) Vía Wenckebach, fenómeno que suele ocurrir en el nodo atrioventricular por lo cual es de gran importancia clínica, y que consiste en el aumento progresivo de la latencia entre un pulso y otro, hasta que eventualmente un potencial de acción no se dispara; c) Vía alternancias 2:2, en este caso tenemos un patrón que se repite cada dos estímulos, correspondiendo a cada pulso un potencial de acción, pero de formas distintas y d) Vía ráfagas, comportamiento que hemos descrito en las primeras líneas de este capítulo.

Finalmente, un tercer grupo de frecuencias de comportamiento interesante es el de frecuencias altas, donde aparecen ritmos del tipo $n:1$ con n mayor que 2. En este intervalo de frecuencias advertimos una suerte de tiempo de descanso mínimo efectivo entre potenciales de acción.

IV.2 Efecto del incremento de frecuencia sobre el ritmo 1:1

Uno de los hechos más evidentes al aumentar la frecuencia de estimulación al músculo papilar es la progresiva disminución de la duración del potencial de acción durante el ritmo 1:1, (figura III.2-2 del capítulo de resultados) lo cual se puede abordar desde diversos puntos como se expone en seguida:

La apertura y cierre de los canales de potasio es lenta, de cientos de milisegundos, principalmente los de corriente de rectificación tardía (I_K). Por lo tanto, tenemos que a frecuencias bajas (de 1 pps por ejemplo) al dar un estímulo y generarse el potencial de acción, comienzan a cerrarse los canales de potasio durante la meseta. Pero debido a que es una corriente lenta, todavía en la fase de post-potencial dichos canales aún se encuentran en proceso de cerrar.

Cuando la frecuencia es baja, al momento en que se produce el siguiente potencial de acción los canales de potasio ya están cerrados y por lo tanto la corriente I_K ha cesado, es decir el tiempo que transcurre entre el final de un potencial de acción y la elevación del siguiente (periodo que llamaremos tiempo de descanso: TD), resulta suficiente para el cierre de los canales I_K .

Al aumentar la frecuencia de estimulación los canales de corriente de rectificación tardía no alcanzan a cerrar en el periodo entre un estímulo y otro y por lo tanto las corrientes de potasio de los potenciales de acción se sumarán resultando en lo que se podría llamar una corriente sostenida de potasio hacia el exterior lo cual acortará el periodo requerido para la repolarización en las respuestas subsecuentes.

El fenómeno antes descrito provoca que aumente la concentración de potasio en los espacios intersticiales, lo cual lleva el potencial de membrana a valores más positivos, disminuye el gradiente de concentración y provoca que el interior de la célula quede menos negativo con respecto al exterior que en condiciones de estimulación a baja frecuencia. Circunstancia que provoca que al abrirse los canales de sodio (tras la aplicación de un estímulo) la corriente no entre con tanta fuerza a la célula, ya que la fuerza electrostática que empuja la corriente hacia el interior se ve disminuida. Por otra parte al aumentar la frecuencia el tiempo de descanso no es suficiente para que termine el periodo de inactivación de los canales de sodio. Ambos hechos explicarían la disminución de la amplitud de los potenciales de acción conforme aumenta la frecuencia.

En el capítulo introductorio indicamos que en la membrana celular existen además de los canales iónicos otras estructuras. De las más importantes son las bombas de sodio-potasio y sodio-calcio. La función de estas bombas es restablecer los gradientes que se han disipado durante el curso del potencial de acción. Sin embargo estas bombas tienen ciertas cinéticas de trabajo, que pueden verse sobrepasadas cuando la frecuencia de estimulación es alta; ésto

tendrá efecto por un lado en la duración y amplitud de los potenciales de acción y por otro lado en el potencial de membrana. Estos argumentos han sido expuestos por varios autores. (10,18,27,34,36)

Otro hecho importante que se presenta en los resultados es el aumento de la latencia conforme aumenta la frecuencia de estimulación durante el ritmo 1:1, esto ocurre porque el tiempo de descanso no es suficiente para restablecer las cinéticas de los canales iónicos y probablemente tampoco las concentraciones iónicas inmediatas a la membrana. Debido a lo mencionado con respecto a la corriente lenta de potasio y al periodo de inactivación de los canales de sodio, el periodo de latencia se incrementa, aumentando a su vez el lapso en que la bomba mueve iones a través de la membrana para restablecer las condiciones iniciales a ambos lados de la misma, restableciendo así la diferencia de potencial electroquímico que permite el desarrollo del potencial de acción a partir de la despolarización al abrirse los canales de sodio. El aumento de latencia también fue encontrado por Kerr *et al.* en su trabajo con corazón de conejo (18) y por Delmar *et al.* en su trabajo con miocitos ventriculares de cobayo (4).

Los parámetros mencionados del potencial de acción presentan un máximo de reducción (en el caso de amplitud) y de aumento (para el caso de la latencia) al aproximarse el cambio de ritmo. También se encontró que estos parámetros en muchos casos presentan oscilaciones entre los potenciales de la misma frecuencia al aumentar ésta, agudizándose al acercarse el cambio de ritmo, estas oscilaciones pueden ser periódicas como en el caso del ritmo 2:2, o irregulares (36).

Finalmente, hemos mencionado que al aumentar la frecuencia de estimulación el potencial de membrana se hace menos negativo. Este hecho ocurre porque se trata de un sistema tisular como lo es el músculo papilar, con espacios intercelulares en los que puede acumularse potasio. En trabajos de otros autores como el de Robinson *et al.* (27) en que trabajaron con células aisladas de ventrículo canino no se observó variación en el potencial de membrana, para lo cual argumentan los mismos autores que al tratarse de registros de una célula aislada no hay espacios en los cuales se acumule el potasio. Por otro lado, autores como Pasmooij *et al.*(25) registraron que el potencial de membrana se hacía más positivo al trabajar con músculo auricular de conejo. Esto sugiere que además de considerar las dinámicas de las corrientes iónicas y mecanismos celulares es necesario analizar los resultados bajo el enfoque de las propiedades de tejido cardiaco como tal; factor que se tomará en cuenta en los puntos que se desarrollan a continuación al respecto de los cambios de ritmo.

IV.3 Formas de transición de ritmo.

Al aumentar suficientemente la frecuencia de estimulación de manera invariable dejó de observarse una respuesta por cada pulso, ritmo 1:1, para dar lugar al ritmo 2:1. En 4 de los 29 experimentos el cambio de ritmo sucedió en forma directa, es decir, que al cambiar la frecuencia simplemente deja de presentarse el ritmo 1:1 y se presenta el 2:1. Sin embargo en el resto de los casos se registraron otras formas de transición.

IV.3.1 Bases iónicas del paso directo.

El hecho de que el sistema responda con 1 potencial de acción por cada 2 pulsos en lugar de una respuesta por cada pulso está vinculado a que los intervalos entre los estímulos sean cortos, por lo tanto al generarse un potencial de acción el siguiente estímulo caerá dentro del periodo refractario en que los canales de sodio no han salido por completo de la inactivación y los canales potasio aún no se cierran en su totalidad. Ahora bien, el primer pulso aplicado en el periodo refractario de un potencial de acción no genera respuesta, y por ende aumenta el tiempo de descanso que precede al siguiente pulso, éste generará un potencial de acción de mayor amplitud y duración, ya que el sistema tuvo más tiempo (el periodo en que hubiese estado el potencial que no se generó) para recuperar las concentraciones iónicas de transmembrana. Al ser de mayor duración aumenta la probabilidad de que el siguiente pulso caiga nuevamente en el periodo refractario y no genere respuesta, y así sucesivamente. Este patrón establece el ritmo 2:1.

El cambio directo de ritmo ha sido encontrado en células aisladas, por ejemplo por Yehia *et al.* en células ventriculares aisladas de conejo (37). Ha sido observado en tejido sano asociado a altas frecuencias de estimulación y también se ha encontrado cuando la capacidad del músculo para conducir el potencial de acción está afectada por isquemia o alguna otra anomalía que afecta la conducción, provocando así este u otro tipo de bloqueo. Este comportamiento que ha sido reportado anteriormente por Kerr *et al.* en corazón de conejo (18) y por Rosenblueth con corazón de perros (31); también ha sido observado en clínica con seres humanos. (22, 30, 40).

IV.3.2 Alternancia 2:2

Otra de las formas en que se encontró el cambio de ritmo de 1:1 a 2:1 es la alternancia 2:2, la cual se presentó al aumentar la frecuencia de estimulación. La alternancia sucede durante el curso del ritmo 1:1, cuando se nota que la amplitud de los potenciales de acción empiezan a alternar cada vez de manera más pronunciada conforme aumenta la frecuencia, hasta dar lugar al ritmo 2:1.

Se ha encontrado que la alternancias preceden a las taquicardias (alteración del ritmo cardiaco en que la frecuencia se eleva a más de 100 latidos por minuto) y fibrilaciones (contracción ventricular desincronizada) en humanos (20,30,34), por lo cual se ha planteado que una técnica para prevenir estos accidentes cardiovasculares es detectar oportunamente estas alternancias. Existen inclusive patentes, en las que se utilizan complejos procedimientos matemáticos para analizar la señales que se detectan vía electrocardiógrafos.

Una de las razones podría ser que las células aún pueden responder a todos los pulsos pero no con la misma intensidad. Así que tenemos un potencial con cierta duración y amplitud y al acortarse el tiempo de descanso el siguiente potencial de acción será de menor amplitud y duración, esta reducción implica que se han movido menores cantidades de iones y por lo tanto será más rápido el restablecimiento de las condiciones iniciales (entre las cuales podría encontrarse las concentraciones iónicas de transmembrana), lo cual permite que la siguiente respuesta sea mayor, pero este incremento implica que se han movido mayores cantidades de iones y tardará más en restablecer dichas

condiciones, de modo que el siguiente potencial de acción tendrá menor amplitud y duración y así sucesivamente. (14, 21).

Este tipo de alternancia ha sido observado en células aisladas por Yehia *et al.* (36) y por Guevara *et al.* (10) como transición entre ritmo 1:1 y ritmo 2:1. También ha sido encontrado como signo de disminución en la velocidad de conducción en corazón intacto como en el trabajo de Kerr *et al.* (18) y de Savino *et al.* (34). En clínica se ha descrito que las alternancias están asociadas con fibrilación ventricular en casos de obstrucción coronaria, anomalías del sistema nervioso simpático, hipotermia y taquicardia ventricular (10).

Como los experimentos de este trabajo han sido realizados con músculo papilar, que es una estructura tisular bien delimitada, es necesario considerar los factores que afectan a la conducción de los potenciales de acción; probablemente pequeñas zonas isquémicas en que aumenta la concentración de potasio. (28,32)

Si consideramos estas alternancias en un modelo matemático de dinámicas no lineales hallaremos que las alternancias o cambios de ritmo representan bifurcaciones en las respuestas del sistema que pueden ser el inicio de una cascada que desemboque en un comportamiento desordenado que podría ser caos (17,19), como lo reportan Guevara *et al.* (10) y Savino *et al.* (34).

IV.3.3 Transición tipo Wenckebach

Las transiciones tipo Wenckebach mostradas en los resultados se encontraron en 6 de los 29 experimentos. Es importante mencionar que el fenómeno Wenckebach fue observado por primera vez por Wenckebach en 1899 y categorizado como un tipo de bloqueo del nodo atrio ventricular de segundo grado. Una de las explicaciones formuladas en 1960 por Noble *et al.*(23) hace referencia a deficiencias en la conducción del sistema atrio ventricular, de tal manera que la respuesta se retrasa un poco más latido a latido, lo cual se ve reflejado con un aumento gradual de latencia hasta que se pierde un pulso y nuevamente comienza el ciclo.

Sin embargo esta hipótesis se complica si consideramos que las respuestas tipo Wenckebach han sido reportadas por varios grupos de investigadores (4,36) en células aisladas, de tal manera que la explicación no puede radicar únicamente en el bloqueo de la conducción sino que la evidencia apunta también hacia el mecanismo celular por sí mismo (37,38). En este caso, el incremento de la latencia estaría asociado a la progresiva dificultad para reclutar los canales de sodio, que aumentaría pulso a pulso hasta provocar la falla de alguno de los potenciales. Una explicación complementaria a la que se ha mencionado anteriormente consistiría en proponer que la corriente de rectificación tardía no se desactiva completamente, persistiendo durante el principio de la fase 4, de tal manera que un estímulo que se diera en estas condiciones sería menos efectivo que en el pulso anterior (38). Esto implica que cuando aumenta la frecuencia, cada vez que se genera un potencial de

acción el tiempo de activación tiene que aumentar para permitir el restablecimiento de las condiciones iniciales, reduciéndose así el tiempo de recuperación para la siguiente respuesta, hasta que falla un potencial de acción, como lo comentan Delmar *et al.* en su trabajo con miocitos ventriculares de cobayo (4).

En los resultados se observa al fenómeno Wenckebach como una manera de transición al ritmo 2:1, ya que la mayoría de la veces que se presentó, antecedía al cambio de ritmo. También notamos que este tipo de transición sucedió la mayoría de las veces a frecuencias bajas, de menos de 10 pps, en contraste con el cambio directo que ocurrió a frecuencias altas, de más de 15 pps, lo cual puede ser indicativo de que los sistemas en que se presentó el fenómeno tipo Wenckebach llegaron a un nivel de fatiga a frecuencias más bajas que aquellos en que el cambio de ritmo fue directo. También se observó cierta tendencia a que los experimentos en que la transición fué a bajas frecuencias dejaron de responder a frecuencias bajas (alrededor de 50 pps) y aquellos en que el cambio de ritmo fue a frecuencias altas respondieron hasta aproximadamente los 100 pps.

IV.3.4 Transición tipo ráfaga.

Estas ráfagas de biestabilidad se encontraron precediendo al cambio de ritmo a 2:1, y también a otros ritmos. Hasta donde sabemos nunca antes habían sido reportadas. Anteriormente, Yehia *et al.* reportaron dos ritmos en una misma frecuencia pero no de forma reversible (36), es decir, sólo en un breve periodo posterior al aumento de frecuencia de estimulación en que el ritmo no cambia

inmediatamente sino que el ritmo 1:1 se mantiene por algunos segundos y finalmente cambia de manera definitiva a 2:1. En nuestro caso el sistema realiza varios cambios entre un ritmo y otro de manera espontánea. En algunos de estos experimentos, los intervalos de tiempo en que el sistema se encuentra en alguno de los ritmos se repiten regularmente, como puede verse de la figura III.4.2-1 del capítulo de resultados; las secciones del registro en que el sistema está en ritmo 2:1 comprenden 5 pulsos. Nos atrevemos a considerar que este tipo de comportamiento se debe a una competencia entre los canales que mueven potasio y la ATPasa (sodio-potasio). Cuando el papilar se encuentra trabajando a ritmo 1:1, el acarreo de potasio hacia el exterior supera la capacidad de la bomba, provocando después de un cierto número de pulsos una situación de hiperkalemia (concentración de potasio alto en el exterior). Como es sabido este cambio en los parámetros de trabajo de un sistema cardíaco, induce el ritmo 2:1, sin embargo para las condiciones de frecuencia y estado del sistema, la bomba consigue revertir la concentración alta de potasio en el exterior regresando al sistema al ritmo 1:1. Es importante señalar que estas concentraciones no se han podido detectar mediante los métodos empleados a la fecha, por lo que el planteamiento anterior es un supuesto teórico derivado de analizar la dinámica de transporte iónico y la respuesta en conjunto.

Probablemente para cada sistema en particular las ráfagas ocurren en un periodo entre estímulos que se halla en el límite de refractoriedad de los potenciales de acción y el fenómeno actúa como modulador entre un ritmo y otro favoreciendo la mayor eficacia posible de funcionamiento al someter al sistema a condiciones extremas de estimulación. Si lo extrapolamos al individuo completo es preferible una alternancia de ritmos para bombear

sangre a todo el cuerpo pues en promedio se trabaja con más frecuencia que un ritmo 2:1 (con menor frecuencia de bombeo). Por supuesto que al aumentar la frecuencia de estimulación por arriba de este límite, el sistema definitivamente responde mejor con el nuevo ritmo establecido, en el cual permanecerá por varios aumentos de frecuencia, mientras estos sean graduales.

IV.4 Los otros ritmos.

Además de ritmos 1:1, 2:2 y 2:1 también se encontraron otros desde el 3:1 hasta el 10:1 al aumentar la frecuencia de estimulación. Esto se explica de la misma forma que el cambio a ritmo 2:1; sólo que al ser menor el periodo entre pulsos, mayor cantidad de ellos caerán en el periodo refractario de los potenciales de acción hasta que finalmente uno de ellos llega después del periodo refractario. Un punto importante a considerar es el efecto que estos pulsos tienen en la membrana aunque no generen potenciales de acción; se ha reportado (33), que un estímulo aplicado en el periodo refractario retrasa la respuesta para otro estímulo posterior. Al respecto, tal vez los pulsos pudiesen propiciar la inactivación de los canales de sodio aún antes de encontrarse en estado abierto, aunque es importante considerar que estas deducciones se han realizado a frecuencias bajas de estimulación y las propiedades de los canales difícilmente son las mismas en frecuencias altas; se ha hallado que los canales de sodio salen de la inactivación más rápido cuando se someten las células a frecuencias altas de estimulación. (35).

IV.5 Una concepción general de los ritmos

Considerando el tiempo entre el disparo de un potencial de acción y el siguiente, independientemente del tiempo que transcurre entre los estímulos, el menor lapso registrado fue de 50 ms, lo cual se observó a frecuencias de hasta 40 pps y en diferentes ritmos. Esto indica el periodo refractario efectivo mínimo que puede tener el potencial de acción, es decir, el tiempo mínimo que puede transcurrir entre potenciales para que ocurra la repolarización de la membrana y en consecuencia se restablezcan las condiciones electroquímicas que permiten el disparo de un nuevo potencial de acción.

Sin embargo, a frecuencias de más de 40 pps definitivamente no se observó este tiempo mínimo de 50 ms. Lo cual sugiere:

a) Fatiga ocasionada por el tiempo total de actividad al que ha sido sometido el sistema.

b) Que aún cuando el sistema no responda a todos los pulsos, por el hecho de caer en su periodo refractario éstos provocan la inactivación de los canales antes de poder encontrarse en estado abierto, tal como se mencionó anteriormente.

En la figura IV.4-1 se aprecia cómo al aumentar la frecuencia de estimulación disminuye gradualmente el tiempo entre potenciales de acción, hasta que ocurre un aumento drástico de este tiempo (cuando cambia el ritmo), lo cual implica que se ha sobrepasado el periodo efectivo en que responde el sistema. Después vuelve a disminuir el tiempo entre potenciales al aumentar la frecuencia de estimulación.

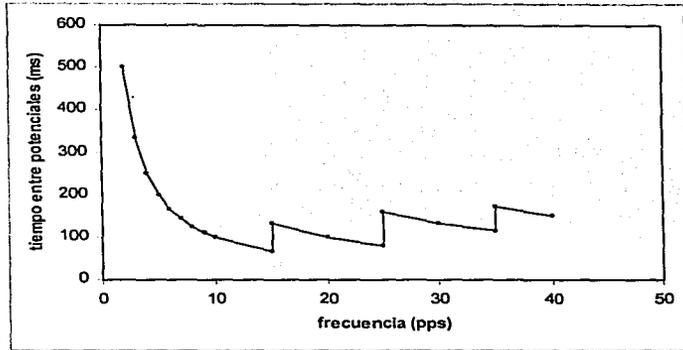


Figura IV.4-1 Al aumentar la frecuencia de estimulación disminuye el tiempo entre potenciales de acción, aunque hasta cierto límite en que ocurre el cambio de ritmo.

El periodo efectivo entre potenciales de acción se relaciona íntimamente con el tiempo de descanso, ya que este último determina los parámetros de los potenciales de acción, como reportaron Guevara *et al.* (10). Al no ser suficiente el tiempo de descanso cuando aumenta la frecuencia ocurre el cambio de ritmo, de modo que el sistema conserva un tiempo mínimo de recuperación. Este lapso efectivo entre potenciales nos habla de que al tornarse drásticas las exigencias de trabajo, como lo es un aumento de la frecuencia de estimulación, el sistema persiste en cierto ritmo de actividad de modo que el número de respuestas en determinado lapso de tiempo es el mismo (o muy cercano) independientemente del número de pulsos aplicados.

Esta es una cualidad que engloba a todos los casos analizados en este trabajo y un aportación a la descripción de la actividad del tejido cardíaco, ya que si bien no en todos los experimentos se hallaron transiciones tipo Wenckebach, o ráfaga, o alternancia 2:2, o todos los ritmos (aunque si la combinación de algunos de ellos), sí es posible encontrar como factor común el periodo efectivo entre potenciales de acción. El tiempo efectivo entre potenciales de acción fue reportado anteriormente por Kerr *et al.* en su trabajo de 1981 con corazón de conejo (18).

IV.6 Nuevas líneas de trabajo.

A continuación se proponen otras formas de realizar los experimentos que ayudarían a completar las deducciones obtenidas de los resultados:

a) Otra posibilidad en cuanto a la experimentación es probar diferentes amplitudes de estímulo independientemente de la frecuencia de estimulación, como lo realizaron Yehia *et al.* con células aisladas de conejo (36), encontrando fenómenos tipo Wenckebach con estímulos de baja amplitud, así como cambio directo 1:1 a 2:1 cuando la amplitud del estímulo está en un nivel intermedio. También observaron que el cambio directo ocurre aumentando únicamente la amplitud, sin variaciones de frecuencia. De esta forma se podría determinar si la amplitud del estímulo tiene algún efecto en particular en cuanto a la actividad del músculo papilar.

b) Variaciones detalladas de temperatura que permitan conocer con precisión su efecto en la dinámica de funcionamiento del tejido cardiaco. La variación de la temperatura fue realizada por Yehia (37) con células ventriculares de conejo hallando que el fenómeno Wenckebach está relacionado con temperaturas por debajo de la fisiológica.

c) Desarrollar la estimulación con cambios en la concentración del medio como variable para lograr una especie de simulación de las condiciones de isquemia y así determinar si los fenómenos asociados a bloqueos atrio ventriculares en clínica, así como otros ritmos y comportamientos no descritos anteriormente, responden a altas concentraciones de potasio. (28)

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES

En este trabajo se han intentado comprender aspectos del funcionamiento del corazón que tienen que ver con su comportamiento eléctrico, cuyo origen se encuentra en las dinámicas de las concentraciones de iones al interior y al exterior de las células.

A partir de la experimentación con músculo papilar de cobayo, se ha pretendido indagar sobre el efecto de incremento de la frecuencia de electro-estimulación en las respuestas del tejido cardiaco, tomando como base para ello a los potenciales de acción que se originan como resultado de dicha estimulación.

Encontramos que al aumentar gradualmente la frecuencia, los potenciales de acción sufren variaciones en los parámetros de sus fases, y advertimos que estas variaciones ocurren con la gradual disminución del tiempo de descanso (consecuencia del aumento de frecuencia).

Por otro lado, se observó que cuando en determinada frecuencia el sistema no es capaz de responder a todos los estímulos, ocurre un cambio de ritmo. De modo que en tanto es mayor la frecuencia de estimulación también es mayor la cantidad de pulsos que no generan respuesta.

Así pues, se observaron diversos ritmos desde el 1:1 hasta el 10:1. Fue posible apreciar sus transiciones, de las cuales también se encontró variedad.

El hecho de encontrar diversos ritmos nos deja la idea de que aún al someter a altas frecuencias de estimulación al sistema, éste conserva un ritmo de actividad. De ello se desprende que se requiere un tiempo mínimo

entre el disparo de un potencial y el siguiente. Dicho de otro modo, al parecer es necesario un tiempo de descanso mínimo entre respuestas, aún cuando la cantidad de estímulos sobrepase por mucho a la cantidad de aquéllas.

Al respecto de las formas de transición, su variedad señala que no existe un solo comportamiento posible en el tejido cardíaco para responder a los incrementos de frecuencia, lo cual en gran parte se encuentra determinado por el estado de cada sistema en particular.

Estas formas de transición encontradas son extrapolables al funcionamiento del músculo cardíaco completo, ya que la mayoría de ellas (3 de las 4 que se presentaron) han sido reportadas en clínica, principalmente como signos de bloqueo en la conducción.

Los fenómenos descritos en los resultados constituyen una reafirmación de los reportes anteriores formulados por otros equipos de trabajo que se enfocan en células cardíacas aisladas o en músculo cardíaco intacto. Buena parte de las observaciones aquí expuestas resultan consistentes con las observaciones de dichos equipos.

Por otro lado, cabe señalar que también se hallaron respuestas del tejido cardíaco que no se encuentran registradas en la bibliografía, como las ráfagas de biestabilidad y una amplia gama de ritmos, probablemente debido a las altas frecuencias de estimulación que se aplicaron en este caso y a que se trata del músculo papilar, que si bien no es tan complejo como el corazón completo, sí ocurren en él fenómenos de conducción propios del tejido cardíaco. Esto integra una aportación a la caracterización del

funcionamiento del corazón, sus dinámicas electroquímicas y las patologías que se desprenden de las anomalías de estas dinámicas.

Conocer las condiciones (frecuencia, temperatura, concentración de iones) en que se generan estas anomalías (como en el caso del bloqueo 2:1, 2:2 o Wenckebach) proporciona la pauta para determinar cómo se originan, cuál es su desarrollo y las vías posibles para corregirlas o bien mitigarlas.

Inclusive, en otro contexto es posible tratar los resultados dentro de un marco evolutivo orientado a explicar las adaptaciones por las cuales el tejido cardíaco ha desarrollado las respuestas que se conocen actualmente, y de cuya eficiencia dependen las probabilidades de supervivencia de los individuos que integran una población determinada. Esto se lograría por medio de comparaciones entre ritmos, formas de transición y parámetros de potenciales de acción aplicando protocolos de electroestimulación a diferentes grupos filogenéticos, contribuyendo así a formar una perspectiva más amplia sobre el funcionamiento del tejido cardíaco.

El corazón es un sistema complejo que ha sido estudiado desde distintos ángulos. Quizá todos estos aspectos se resuman en el hecho de que en cuanto al funcionamiento de este órgano existen numerosas variables que se entremezclan formando las dinámicas de funcionamiento de una gran población de células cardíacas que viven, mueren y manifiestan sus propios ritmos de vida... tal como el resto de los seres vivos de este planeta.

REFERENCIAS.

1. Álvarez, J., 1988. **Anatomía Comparada Básica**. Trillas. México.
2. Berne, R. y M. Levy., 1993. **Physiology**. Mosby Year Book. St. Louis.
3. Cota, G, 1991. Canales para iones en las membranales neuronales. **Ciencias**, 5:10-22.
4. Delmar, M., L. Glass, D.C. Michaels y J. Jalife, 1989. Ionic basis and analytical solution of the Wenckebach phenomenon in guinea pig ventricular myocytes. **Circ. Res.** 65(3):775-788
5. Delmar, M. y J. Jalife. 1989. **Wenckebach periodicity: from deductive electrocardiographic analysis to ionic mechanisms**. American Heart Association. New York.
6. Fanjul, M., F. Fernández, B. Fuentes, H. González, M. Hiriart, L. Massieu, E. Moreno, J. Pérez-León y R. Salceda. 1998 . **Biología funcional de los animales**. Siglo veintiuno. México.
7. Franz, M.R., J. Schaefer, M. Schöttler, W.A. Seed, M. Noble, 1983. Electrical and mechanical restitution of the human heart at different rates of stimulation. **Circ. Res.** 53:815-822
8. Fuentes, R. 1990. **Anatomía: elementos y complementos**. Trillas. México.
9. Gauss, R. y R. Seifert, 2000. Pacemaker oscillations in Herat and brain: a key role for hyperpolarization-activated cation channels. **Chronobiol.** 17(4):453-469
10. Guevara, M.R, I. Alonso, D. Jeandupeux y A.C.G. Van Ginneken. 1989. Alternans in periodically stimulated isolated ventricular myocytes: experiment and model. In: Pnevmatikos, Sp, Bountis, T, Pnevmatikos, St. (ed), **Cell to cell signaling: from experiments to theoretical models**. World Scientific Singapore, pp. 551-563.

11. Gordon, M. 1979. **Fisiología Animal: Principios y adaptaciones al medio ambiente.** Compañía Editorial Continental. México.
12. Guyton, A. 1987. **Fisiología Humana.** Editorial Interamericana. México.
13. Hall, G.M, S. Bahar y D.J. Gauthier. 1999. Prevalence of rate-dependent behaviors in cardiac muscle. **Phys. Rev. Lett.** **82**:2995-2998.
14. Hiraoka, M, T. Sawanobori, S. Kawano, Y. Hirano y T. Furukawa, 1996. Functions of cardiac ion channels under normal and pathological conditions. **Jpn. Heart J.** **37**(5):693-707.
15. Horton, R. 1993. **Principles of Biochemistry.** Neil Patterson Publishers. Englewood Cliffs.
16. Joyner, R.W, B.M. Ramza y R.C. Tan, 1990. Effects of stimulation frequency on Purkinje-Ventricular conduction. **Ann.N.Y.Acad.Sci.** **59**(1):38-50
17. Kaplan, D. y L. Glass. 1995. **Understanding Nonlinear Dynamics.** Springer-Verlag. New York.
18. Kerr, C.R. y H.C. Strauss, 1981. The nature of atriosinus conduction during rapid atrial pacing in the rabbit heart. **Circulation.****63**(5):1149-57.
19. Kowtha, V.C, A. Kunysz, J.R. Clay, L. Glass y A. Shrier, 1994. Ionic mechanisms and nonlinear dynamics of embryonic chick heart cell aggregates. **Prog. Biophys. Mol. Biol.** **61**(3):255-81.
20. Lewis, T.J. y M.R. Guevara, 1990. Chaotic dynamics in an ionic model of the propagated cardiac action potential. **J. Theor. Biol.****146**:407-32.
21. Litwin, S.E. y J.P. Morgan. 1999. Effects of stimulation frequency on calcium transients in noninfarcted myocardium: modulation by chronic captopril treatment. **J Card. Fail.** **5**(3):224-35.
22. Lorenzo, J.A, 2001. Tratamiento de la fase terminal de la cardiopatía isquémica. **Arch. Cardiol. Mex.** **71**:106-110.

23. Noble, D, 1960. Rectifying properties of heart muscle. **Nature** 188:495-497
24. Patton, H; A. Fuchs, B. Hille, A. Scher y R. Steiner. 1989. **Textbook of Physiology**. Saunders Company. Philadelphia.
25. Pasmooij, J.H, G.C. Van Enst, L.N. Bouman, M.A. Allesie y F.I.M. Bonke. 1976. The effect of heart rate on the membrane responsiveness of rabbit atrial muscle. **Pflügers. Arch.** 366: 223-231
26. Prives, M., N. Lisenkov, y V. Bushkovich. 1971. **Anatomía Humana**. Editorial Mir. Moscú.
27. Robinson, R.B., P.A. Boyden, B.F. Hoffman y K.W. Hewett. 1987. Electrical restitution process in dispersed canine cardiac Purkinje and ventricular cells. **Am. J. Physiol.** 253(5, Pt2):H1018-25.
28. Rodríguez, A. y J. Cinca. 1999. Isquemia miocárdica y arritmias ventriculares en modelos experimentales: mecanismos desencadenantes. **Rev. Esp. Cardiol.** 52:851-59.
29. Romer, A. 1973. **Anatomía comparada (vertebrados)**. Interamericana. México.
30. Rosenbaum, D., L. Jackson, B. Joseph, M. Smith, H. Garan, N. J. Ruskin y R. Cohen, 1994. Electrical alternans and vulnerability to ventricular arrhythmias. **N. Engl. J. Med.** 330:235-41.
31. Rosenblueth, A. 1958. Mechanism of the Wenckebach-Luciani cycles. **Arch. Inst. Cardiol. Mex.** 491-494.
32. Rubart, M, J.C. Lopshire, N.S. Fineberg y D.P. Zipes. 2000. Changes in left ventricular repolarization and ion channel currents following a transient rate increase superimposed on bradycardia in anesthetized dogs. **Cardiovasc. Electrophysiol.** 11(6):652-64.
33. Ruffy, R. 1990. Subthreshold stimulation of the heart: small but important. **PACE.** 13:110-118

34. Savino, G.V, L. Romanelli, D.L. González, O. Piro y M.E. Valentinuzzi. 1989. Evidence for chaotic behavior in driven ventricles. **Biophys. J.** 56:273-280.
35. Ujhelyi, M. y T. Creazzo. 1999. Action potentials that mimic fibrillation activate sodium current. **J. Mol. Cell. Cardiol.** 31:1673-1684
36. Yehia, A., D. Jeandupeux, F. Alonso y M.R. Guevara. 1999. Hysteresis and biestability in the direct transition from 1:1 to 2:1 rhythm in periodically driven single ventricular cells. *Chaos*, 9: 916-931.
37. Yehia, A. 1999. **Wenckebach rhythms and (1:1-2:1) Biestability in Single Rabbit Ventricular Cells and in a ventricular ionic model.** Ph. D. Thesis, Mc Guill University, Department of Physiology:
38. Yehia, A.R., A. Shrier, K.C. Lo, y M.R. Guevara. 1997. Transient outward current contributes to Wenckebach-like rythms in isolated rabbit ventricular cells. **Am. J. Physiol.** 273: H1-11.
39. Young, J., 1980. **La vida de los vertebrados.** Omega. Barcelona.
40. Página electrónica de "American Heart Association": www.americanheart.org