



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

División de Estudios Profesionales
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**DETERMINACION DE LA UTILIZACION DE SODIO, POTASIO
Y CALCIO POR EL MUSCULO CARDIACO DE CONEJO
EN LA PREPARACION DE LANGENDORFF**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Médico Veterinario y Zootecnista

P R E S E N T A :

ALEJANDRO ROMERO ASATO

Asesor:

MVZ PhD Víctor O. Fuentes Hernández

México, D. F.,

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

PAGINA

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	5
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	8
DISCUSION.....	11
LITERATURA CITADA.....	13
FIGURAS.....	15

RESUMEN

ROMERO ASATO ALEJANDRO. DETERMINACION DE LA UTILIZACION DE SODIO, POTASIO Y CALCIO POR EL MUSCULO CARDIACO DE CONEJO EN LA PREPERACION DE LANGENDORFF. (Bajo la direcci3n de: MVZ. PhD. V3ctor O. Fuentes Hern3ndez).

En el presente trabajo se evalu3 la utilizaci3n del sodio, potasio y calcio por el m3sculo cardiaco de conejo por medio de la preparaci3n de coraz3n aislado de Langendorff.

El objetivo principal fu3 conocer las variaciones en las concentraciones de estos iones en la soluci3n Ringer-Locke durante el tiempo de perfusi3n al que se sometio el 3rgano.

Se recolect3 el l3quido perfundido con intervalos de tres minutos durante una hora para posteriormente medir la concentraci3n i3nica, utilizando un espectrof3tmetro de emisi3n y absorci3n at3mica y se compar3 con la concentraci3n de la soluci3n a perfundir.

Los resultados demostraron que los niveles de sodio, potasio y calcio no permitieron establecer una dependencia entre la variaci3n de los niveles i3nicos y el tiempo de perfusi3n del 3rgano, 3sto dependio principalmente de la respuesta individual de cada 3rgano estudiado.

I.- TITULO

Determinación de la utilización de sodio, potasio y calcio por el músculo cardiaco de conejo en la preparación de Langendorff.

II.-INTRODUCCION

Los estudios experimentales practicados dentro de las ciencias biológicas se pueden efectuar a diferentes niveles de integridad del individuo experimental. Se pueden realizar utilizando animales intactos, metodología conocida como holística. También se puede recurrir a una serie de métodos analíticos, llamados reduccionistas ó *in vitro*, que actualmente son la base de numerosos trabajos científicos y que permiten el uso de tecnología avanzada y específica abarcando estudios a niveles subcelulares y moleculares (3, 7, 9, 14, 16).

Dentro de estas técnicas reduccionistas la preparación de órganos aislados es útil en estudios fisiológicos y farmacológicos ya que ofrece ventajas experimentales como las siguientes:

- 1.- Existe un control más eficiente en el microambiente en el que se encuentra la preparación.
- 2.- Se puede buscar el efecto de la alteración directa de una variable.
- 3.- Es posible buscar las modificaciones específicas del órgano por efecto de fármacos y sustancias que en otras preparaciones pudieran sufrir biotransformaciones que modifiquen la disponibilidad de la sustancia para el órgano de interés.
- 4.- Existe la posibilidad de obtener tejidos de animales que se

destinaron para otros fines, así como investigar las respuestas de diversos tejidos de un animal que ha recibido previamente algún tratamiento.

Por otra parte también existen desventajas como las siguientes:

- 1.- La preparación se deteriora por el tiempo transcurrido fuera del organismo.
- 2.- Las soluciones para perfusión no logran satisfacer plenamente todos los requerimientos del órgano para realizar en forma óptima sus funciones metabólicas.
- 3.- La técnica para la obtención y preparación del órgano, requiere destreza (3, 7, 16).

Una de las preparaciones de órganos aislados más caracterizada es la preparación de Langendorff, en la cual se mantiene el corazón de un mamífero funcionando fuera del organismo por medio de un líquido de perfusión a presión llamado Ringer-Locke, el cual es elaborado con sales de cloruro de potasio, cloruro de sodio, cloruro de calcio, bicarbonato de sodio y glucosa (2, 3, 10, 11, 16).

La presión del líquido de perfusión cierra la válvula aórtica, permitiendo que éste circule por las arterias coronarias y sea eliminado por dos sistemas de drenaje: uno superficial que termina en el seno coronario y las venas cardiacas anteriores que drenan a la aurícula derecha, y otro profundo que drena directamente a las cavidades del corazón (1, 4, 5, 6, 12, 17, 19, 20).

La preparación de Langendorff nos proporciona otras ventajas además de las ya mencionadas, por ejemplo, se elimina la influencia del Sistema Nervioso Autónomo que pudiera alterar la respuesta del

órgano durante el experimento, por lo tanto, el efecto de algún fármaco sobre la preparación se explicará como una respuesta cardiaca directa (9, 16).

Por otra parte, también se encuentran desventajas como las siguientes: Las respuestas tienden a ser irregulares aún con las versiones más elaboradas del aparato original por lo que pueden tener limitaciones para hacer trabajos de tipo cuantitativo (3).

Otra desventaja importante es que no resulta fácil precisar el tiempo en que se mantiene viable la preparación para obtener de ella determinaciones confiables (2, 3, 7, 10, 16).

El deterioro del órgano produce cambios a distintos niveles, por ejemplo, aumento de enzimas como deshidrogenasa láctica (DHL), creatincinasa (CK), creatincinasa isoenzima cardiaca (CK-MB), aspartatoamino-transferasa (AST) y fosfatasa así como aumento en las concentraciones extracelulares de iones como potasio entre otros (13).

La determinación de dichas enzimas resultaría útil para estimar la viabilidad de la preparación.

Una de las limitantes para determinar el grado de muerte celular por medio de la cuantificación de enzimas, es el alto costo de los reactivos y equipo requeridos. Sin embargo, para evaluar la viabilidad de la preparación, puede ser más sencillo medir la variación en el contenido iónico de la solución perfundida y la recolectada (13).

III.- HIPOTESIS

La concentración de iones de sodio, potasio y calcio en la solución recolectada se modifica por influencia del tiempo de perfusión del corazón aislado de conejo en la preparación de Langendorff.

IV.- OBJETIVOS

Conocer la variación entre la concentración de iones de sodio, potasio y calcio en la solución Ringer-Locke perfundida y la recolectada del corazón aislado de conejo y su modificación a lo largo del tiempo.

V.- MATERIAL Y METODOS

Se utilizó el siguiente material:

- a) 1 cámara para perfusión de corazón aislado.
- b) 1 termómetro de laboratorio.
- c) 1 bomba de aire para pecera.
- d) 2 calentadores de agua con termostato.
- e) 20 embudos de plástico.
- f) 20 tubos graduados de centrifugación.
- g) 30 litros de solución Ringer-Locke para mamíferos.
- h) 5 conejos Nueva Zelanda de 2 Kilogramos.
- i) Espectrofotómetro de absorción atómica Perking-Elmer equipado con emisión y absorción atómica y lámparas de cátodo hueco de sodio, potasio y calcio.

Los conejos fueron sacrificados por concusión manual y posterior dislocación cervical y se obtuvieron los corazones lo más rápidamente posible preservando al menos 1 ó 1.5 cm de aorta. Se sumergieron los corazones en solución Ringer-Locke con una temperatura de 37 °c y se comprimieron suavemente de 3 a 4 veces para eliminar el contenido de sangre en su interior. Las aortas se disecaron y se cortaron justo por abajo del punto donde se divide. Posteriormente se transfirieron los corazones al aparato de perfusión donde las aortas fueron ligadas a una cánula de vidrio, cuidando que no penetraran burbujas de aire en el sistema.

La solución de perfusión, Ringer-Locke oxigenado, se aplicó a

presión constante proveniente de un recipiente conectado a un serpentín de vidrio y que se mantuvo a 37 °c por medio de agua caliente, usando calentadores con termostato dentro de una cámara de vidrio (2, 10, 16).

Después de conectar los corazones en la cánula se les dejó estabilizar durante 10 minutos, para permitir que cada uno de los órganos se adaptara a su nuevo ambiente, entonces se pudo comenzar a tomar muestras de la solución perfundida a intervalos de 3 minutos durante una hora. El volumen que se obtuvo de cada muestra fué de 10 ml utilizando un embudo y un tubo de centrifugación graduado que se colocó en la parte inferior de la preparación y se registró el tiempo requerido para tener el volumen preestablecido. El material utilizado para éste trabajo fué lavado con jabón extran y se enjuagó con agua desmineralizada para evitar la presencia de sales minerales que alteraran los resultados.

Posteriormente las muestras se analizaron por medio de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica (15), para determinar las concentraciones de sodio, potasio y calcio y hacer la comparación entre las muestras y el Ringer-Locke (3, 16).

Los resultados de esta investigación se graficaron y analizaron para investigar la influencia del tiempo de perfusión del Ringer-Locke aplicado a cada preparación, por otro lado se evaluó la influencia de cada sujeto experimental en las variaciones obtenidas utilizando pruebas de regresión lineal para ambas evaluaciones.

VI.-RESULTADOS

Las concentraciones de sodio, potasio y calcio durante el tiempo de perfusión mostraron el siguiente comportamiento:

Sodio

La concentración de sodio en el líquido perfundido fué inferior a la concentración basal del medio a perfundir en los experimentos 1, 2, 4 y 5 (figuras 1, 4, 10 y 13); en los experimentos 1 y 5 las curvas presentaron una forma convexa, en el experimento 2 la curva de la concentración fue irregular e inferior al nivel basal y lo opuesto se observó en el experimento 3 (figura 7), donde la curva fue superior. En el experimento 4 esta concentración tuvo una tendencia a declinar.

Potasio

El comportamiento de la concentración de potasio en el primer experimento (figura 2) comenzó con niveles inferiores al contenido basal pero conforme progresó el tiempo de perfusión llegaron a ser superiores. Esta misma interpretación se aplica al experimento 2 (figura 5). En los experimentos 3 y 4 (figuras 8 y 11), las concentraciones siempre fueron superiores a la basal durante el tiempo de perfusión. En el experimento 5 (figura 14), la curva de concentración siempre fué menor al nivel basal y con tendencia al descenso.

Calcio

En cuanto al contenido de calcio, siempre se mantuvo inferior a los niveles basales. En los experimentos 1 y 4 (figuras 3 y 12), tuvieron una forma de "S"; en los experimentos 2 y 3 (figuras 6 y 9), una tendencia al ascenso; y en el experimento 5 (figura 15), la curva tuvo forma convexa, empezando con niveles inferiores para incrementarse en el tiempo medio de la perfusión y descender al final de esta.

El análisis estadístico realizado en forma independiente para cada ion reveló que:

1.- La concentración de sodio indicó una mediana asociación entre el tiempo de perfusión y la variación de cada sujeto, actuando las dos variables en forma conjunta.

$$r = 0.597$$

$$r^2 = 0.356$$

$$(P = 0.000)$$

2.- Para el potasio la asociación entre el tiempo de perfusión y la influencia del sujeto experimental fué practicamente nula.

$$r = 0.873$$

$$r^2 = 0.002$$

$$(P = 0.890)$$

3.- El calcio por su parte, mostró que su concentración en las muestras estuvo influido fuertemente por la respuesta individual de cada sujeto experimental, no así por el tiempo de perfusión.

$$r = 0.873$$

$$r^2 = 0.762$$

$$(P = 0.000)$$

VII.- DISCUSION

Los resultados obtenidos en este trabajo, bajo las condiciones experimentales implementadas, no permitieron establecer una dependencia de la variación iónica con el tiempo de perfusión del órgano.

Así mismo, se puede decir que las variaciones observadas de dichos componentes inorgánicos, dependieron principalmente de la respuesta individual de cada órgano estudiado.

Lo anterior concuerda con lo citado por Croosland (3), en cuanto a la limitante de la preparación, que presenta respuestas irregulares y por lo tanto difícilmente se podrían hacer trabajos de tipo cuantitativo.

Por otra parte, Goodman (9) menciona que este modelo experimental tiene ventajas importantes cuando se desea ver el efecto inotrópico positivo directo de algunos fármacos, por ejemplo, la digital. Los efectos que tiene esta droga sobre los vasos sistémicos y el sistema nervioso autónomo al no estar presentes, no dificultan la interpretación de sus acciones cardíacas directas.

Para finalizar se puede decir que la preparación de Langendorff puede ser una alternativa útil para hacer estudios de tipo cualitativo de sustancias potencialmente cardioactivas, dado a que no se observó una dependencia del

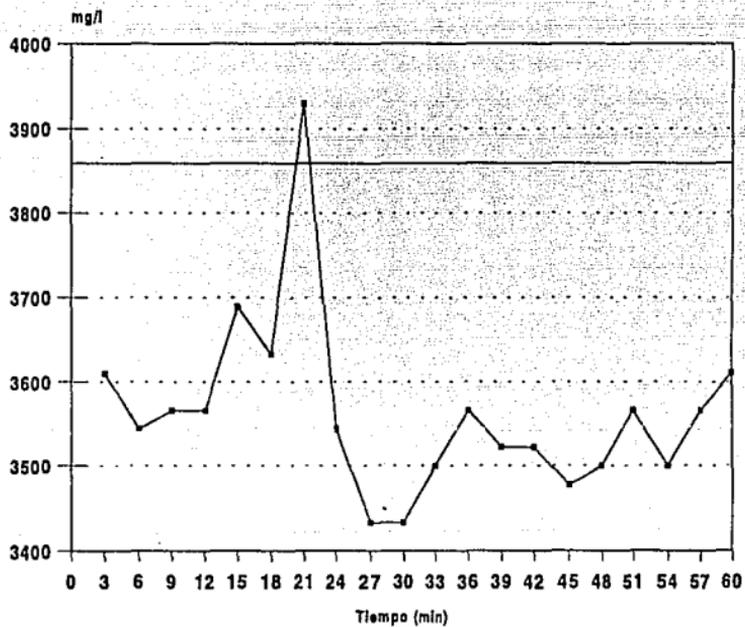
tiempo de perfusión en las concentraciones iónicas de sodio, potasio y calcio, lo cual es un indicio de que la preparación de Langendorff en los intervalos de tiempo observados se conserva dentro de límites óptimos de funcionalidad.

VIII.-LITERATURA CITADA.

- 1.- Brobeck, J.R.: Best and Taylor; Bases Fisiológicas la Práctica Médica. 10a. ed. Editorial Médica Panameri Buenos Aires, Argentina, 1982.
- 2.- Brodie, T.G. and Cullis, W.C.: An Apparatus for th Perfusion of the Isolated Mammalian Heart. J. Physiol. 37:337-340, (1908).
- 3.- Croosland, J.: Lewis' Pharmacology. 5th. ed. Church Livingstone, London, 1980.
- 4.- Dukes, H.H. y Swenson, M.: Fisiología de los Anima Domésticos. 4a. ed. M. Aguilar Editor, México, D.F., 1
- 5.- Eckert, R., Randall, D. y Augustin, G.: Fisiología Animal, Mecanismos y Adaptaciones. 3a. ed. Interamericana-Mcgraw-Hill, Madrid, España, 1989.
- 6.- Fuentes, V.O.: Fisiología Veterinaria. Ed. V.O. Fu México, D.F., 1989
- 7.- Gans, J.H.: Laboratory Manual; Notes on the Compar Physiological and Biochemical Basis. Cornell Universit Press, New York, 1960.
- 8.- Ganong, W.F.: Manual de Fisiología Médica. 13a. ed Editorial El Manual Moderno, México, D.F., 1992.
- 9.- Goodman, A.G., Goodman, L.S. y Gilman, A.: Las Bas Farmacológicas de la Terapéutica. 6a ed. Editorial Méd Panamericana, México, D.F., 1980.
- 10.- Gunn, J.A.: An Apparatus for Perfusing the Mammal Heart. J. Physiol.; 46:506-508, (1913).
- 11.- Guyton, A.C.: Tratado de Fisiología Médica. 5a. e Nueva Editorial Interamericana, México, D.F., 1977
- 12.- Guyton, A.C.: Tratado de Fisiología Médica. 8a. e Interamericana-McGraw-Hill, México, D.F., 1992.
- 13.- Kaneko, J.J.: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th ed. Academic Press, Inc., U.S.A., 1989.
- 14.- Mertz, E.T.: Bioquímica. Publicaciones Cultural, México, D.F., 1980.
- 15.- Perkin-Elmer.: Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry. Perkin-Elmer Co., Connecticut, U.S.A., 1982.

- 16.- Perry, W.L.M.: Pharmacological Experiments on Iso Preparations, E. & S. Livingstone Ltd., Edimburg, 1968.
- 17.- Ruckebusch, Y., Phaneuf, L. and Dunlop, R.: Physi of Small and Large Animals. , D.C. Baker, Philadelphia Pennsylvania, 1991.
- 18.- Upson, D.W.: Handbook of Clinical Veterinary Farmacology. 2nd. ed. Veterinary Medicine Publishing C Lenexa, Kansas, 1985.
- 19.- Vander, A.J., Sherman, J.H. and Luciano, D.S.: Hu Physiology. 5th. ed. McGraw-Hill Publishing Co., New Y 1990
- 20.- Wilson, J.A.: Fundamentos de Fisiología Animal. Noriega Editores, México, D.F., 1989.

FIGURAS



**FIGURA 1. NIVELES DE SODIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE SODIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 1)**

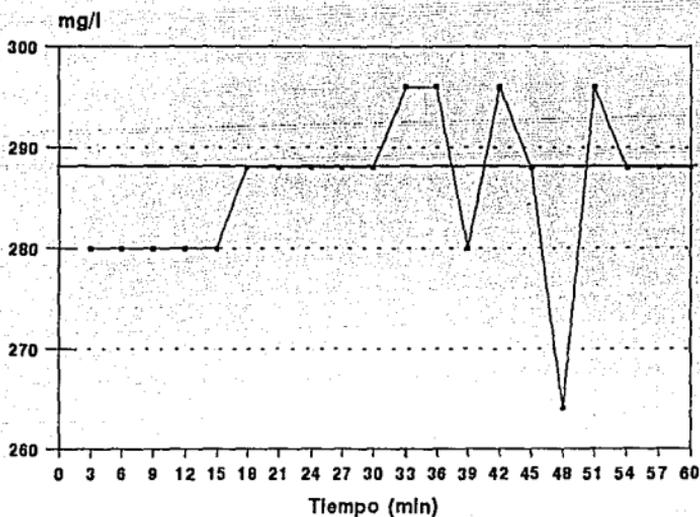


FIGURA 2. NIVELES DE POTASIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO. LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE POTASIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION. (EXPERIMENTO 1)

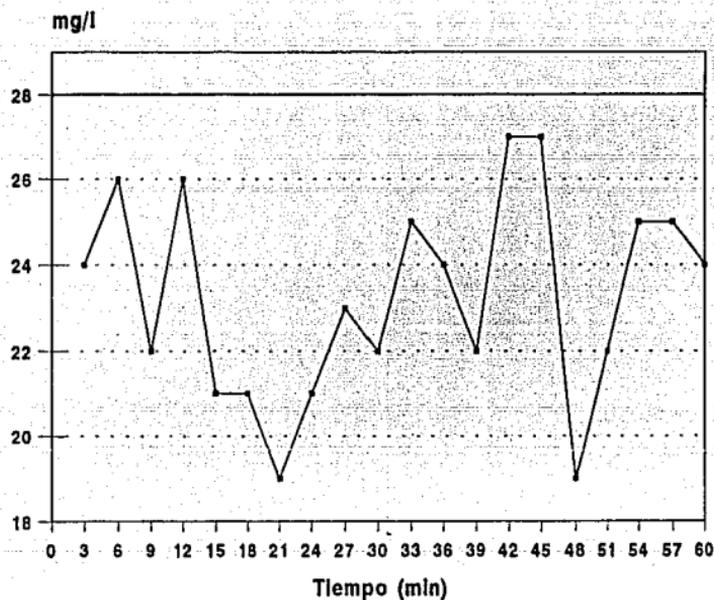
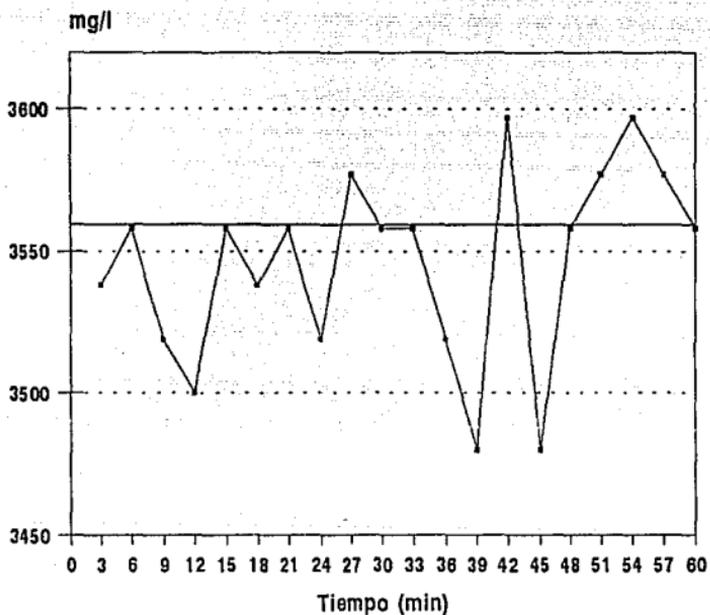


FIGURA 3. NIVELES DE CALCIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO. LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE CALCIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION. (EXPERIMENTO 1)



**FIGURA 4. NIVELES DE SODIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE SODIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 2)**

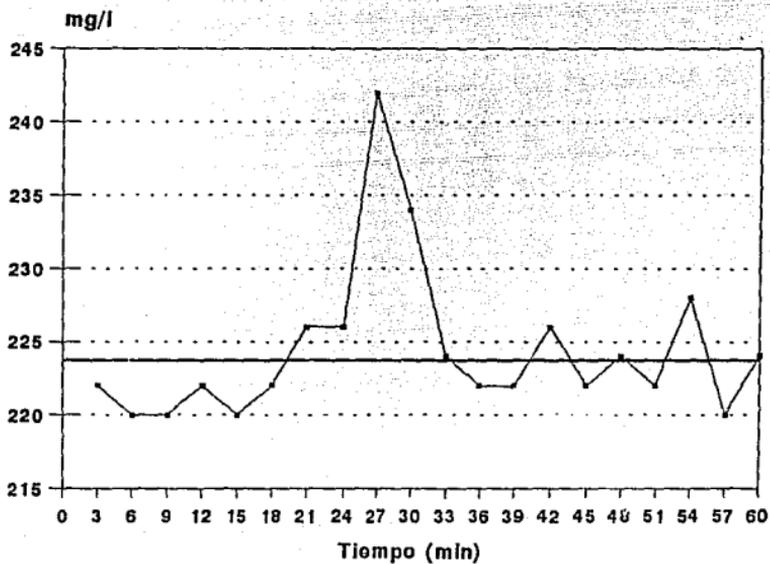
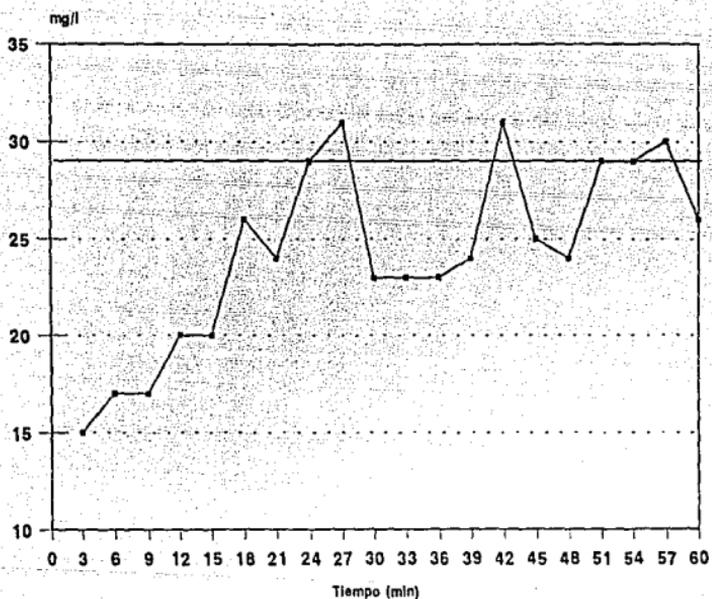
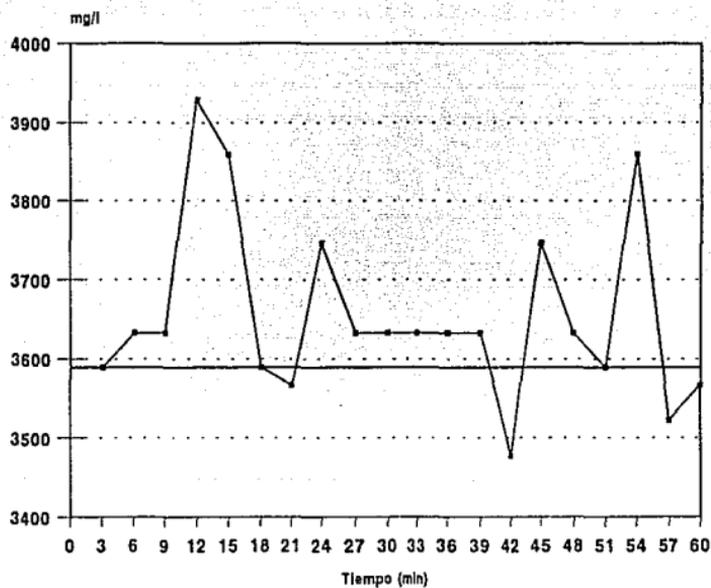


FIGURA 5. NIVELES DE POTASIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
 LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE POTASIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
 (EXPERIMENTO 2)



**FIGURA 6. NIVELES DE CALCIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE CALCIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 2)**



**FIGURA 7. NIVELES DE SODIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE SODIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 3)**

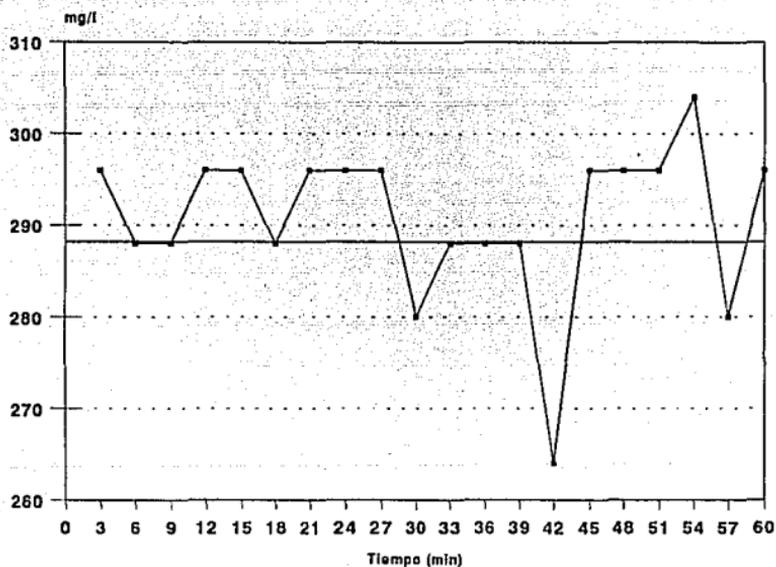
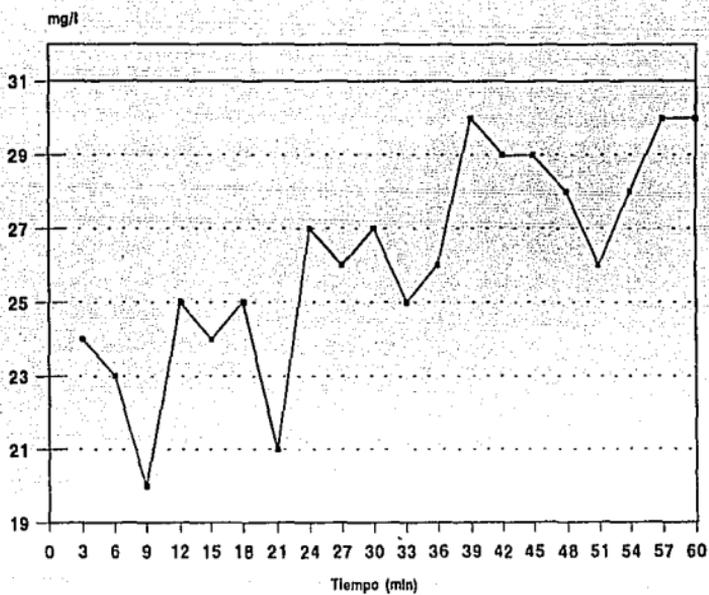


FIGURA 8. NIVELES DE POTASIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE POTASIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION (EXPERIMENTO 3)

ESTÁ HECHO EN
 UNO DE LA PERIFERIA



**FIGURA 9. NIVELES DE CALCIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE CALCIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 3)**

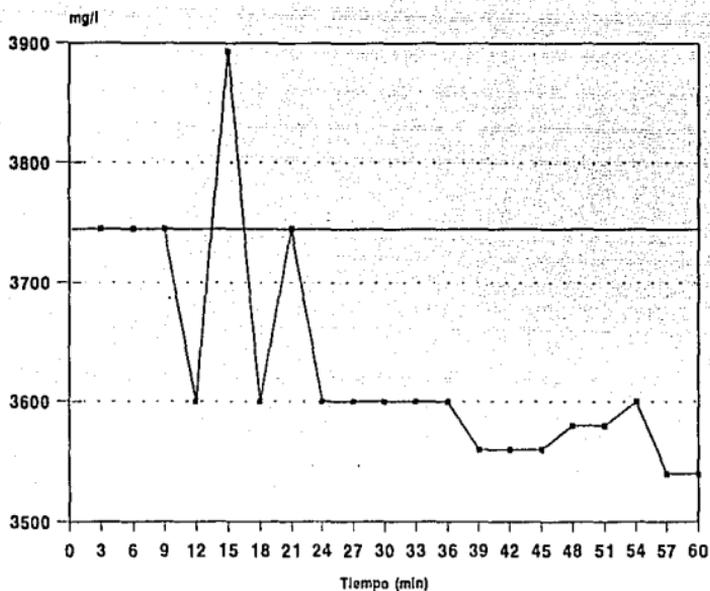
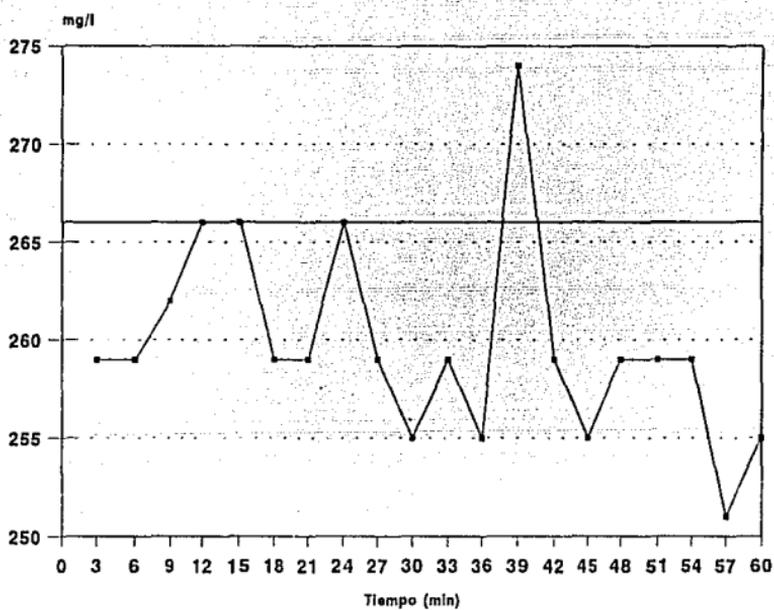
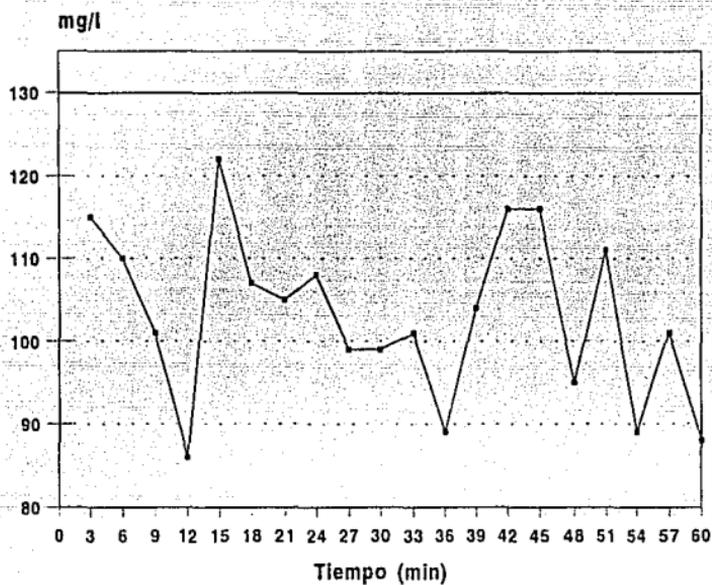


FIGURA 10. NIVELES DE SODIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
 LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE SODIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
 (EXPERIMENTO 4)



**FIGURA 11. NIVELES DE POTASIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE POTASIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 4)**



**FIGURA 12. NIVELES DE CALCIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE CALCIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 4)**

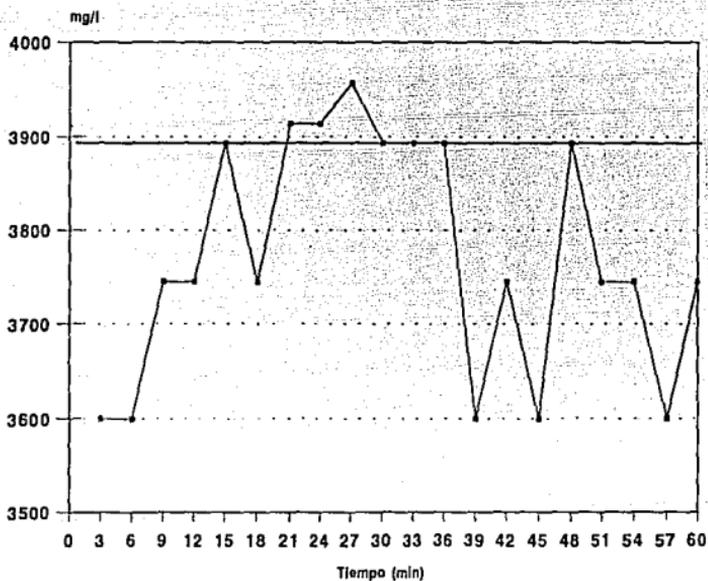
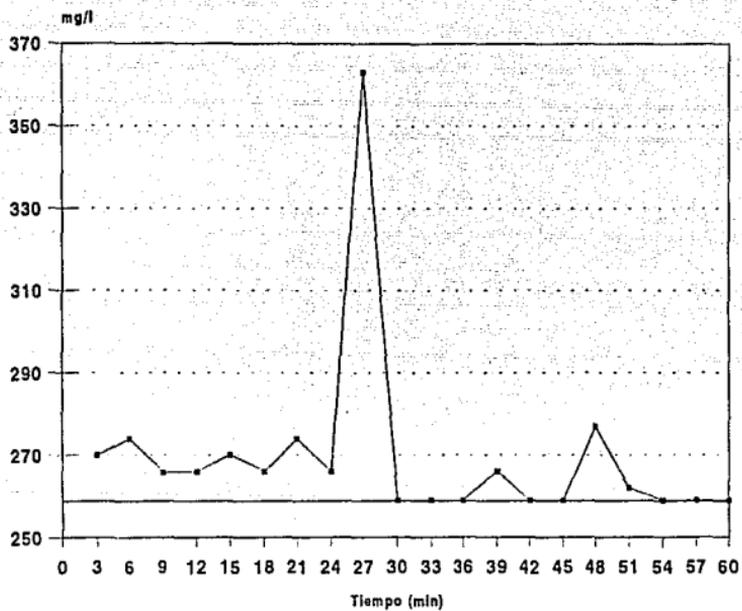
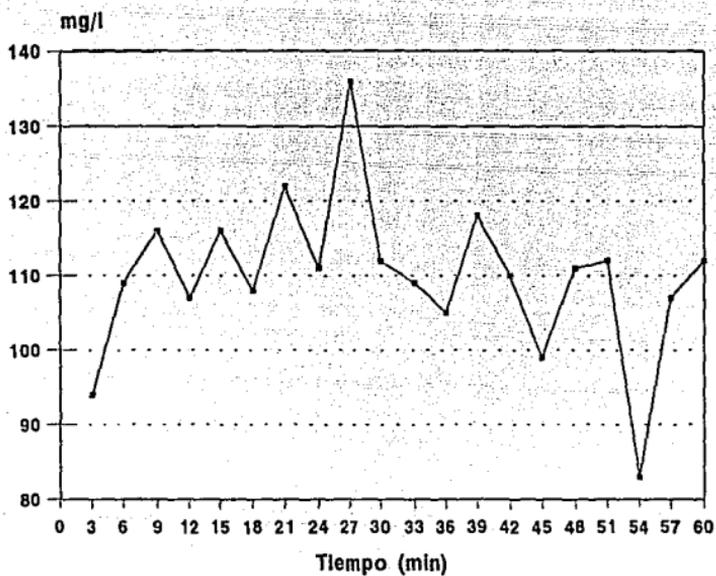


FIGURA 13. NIVELES DE SODIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
 LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE SODIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
 (EXPERIMENTO 5)



**FIGURA 14. NIVELES DE POTASIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE POTASIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 5)**



**FIGURA 15. NIVELES DE CALCIO DURANTE LA PERFUSION DEL CORAZON DE CONEJO
LA LINEA CONTINUA INDICA LA CONCENTRACION DE CALCIO DEL LIQUIDO DE PERFUSION
(EXPERIMENTO 5)**