

Departamento de Biofísica
Centro de Investigaciones Biológicas. C. S. I. C. — Madrid

Respuestas eléctricas y mecánicas de la aurícula de rata bajo estimulación masiva

por

A. Bonnet Seoane (*)

(Recibido para publicar el 19 de abril de 1961)

Introducción

El autor ha encontrado en diversas ocasiones (datos no publicados) que las variaciones de intensidad del estímulo pueden producir cambios en las respuestas de trozos pequeños de miocardio. DAWES y VANE (1956) encontraron cambios en la latencia eléctrica cuando se modificaba la intensidad del estímulo, denunciando tales cambios como posible origen de errores en la determinación del período refractario. WHALEN (1958) describe potenciación por estimulación con alto voltaje, como una excepción a la ley de todo o nada. Existe la posibilidad de que las citadas alteraciones mecánicas y eléctricas estén en relación con el tamaño de la zona muscular que responde directamente al estímulo y no por intermedio de una respuesta transmitida, como ocurre en el corazón «in vivo». Esto plantea la necesidad de conocer la manera de desarrollarse la respuesta cuando se utilizan electrodos masivos, esto es, un dispositivo estimulante que abarca todo el preparado muscular y mediante el cual la zona de respuesta directa al estímulo (zona de masividad) varía con la intensidad de estimulación y si ésta es grande, responde directamente todo el preparado.

En el presente trabajo se describen resultados que confirman que en tales condiciones de estimulación las modificacio-

(*) Becario de la Fundación Juan March.

nes en las respuestas eléctricas y mecánicas corresponden a cambios en la extensión de la zona directamente afectada por el estímulo; pero además las respuestas muestran cambios que dependen directamente y de manera exclusiva de la potencia estimulante, planteando así una duda razonable sobre la ley de todo o nada.

Métodos

Los resultados corresponden principalmente a unos 35 experimentos con aurícula izquierda de rata, montada en un baño de plástico de 20 ml. de paredes dobles por las que circula agua para mantenimiento de temperatura constante.

La aurícula es extraída rápidamente y colocada en Tyrode oxigenado donde se limpia de tejido adiposo y restos de tabique, a continuación se monta mediante hilo fino de nylon en un soporte de plástico que lleva dos láminas de platino de $12 \times 3,5$ mm. con 7 mm. de separación; entre ellas se coloca la aurícula bien centrada, sin tocar los electrodos y generalmente con la cara externa hacia arriba. El extremo libre del preparado recibe un lazo de hilo fino de nylon para unir al transductor. El soporte con la aurícula se lleva al baño y se coloca la superficie del órgano 1 a 2 mm. bajo el nivel del líquido. El Tyrode contiene: ClNa , 138; CO_2HNa , 12; $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$, 36; glucosa, 5,5; Cl_2Mg , 0,5; Cl_2Ca , 2,7 y ClK , 2,7 mM. La temperatura corrientemente fue de 29-30° C y la aireación se hizo con oxígeno y CO_2 al 5 %, manteniéndose el pH en 7,4.

Los microelectrodos (LING y GERARD, 1949) se fabricaron por lotes, estirados a máquina y llenos primero con alcohol por ebullición a baja presión a unos 45° C, después se pasaron a ClK 3 M donde permanecían dos días antes de su utilización; se seleccionaron los de diámetro inferior a 1 micra y resistencia entre 10 y 30 Megaohms. La implantación se hizo por el sistema de electrodo colgante (WOODBURY & BRADY, 1956), suspendiendo la punta de vidrio del microelectrodo de un espiral de hilo de cobre de 0'05 mm. que hace contacto con el ClK por intermedio de un trocito de hilo de plata clorurada. Hemos encontrado ventajas en sujetar el hilo al vidrio del microelectrodo mediante una película fina de goma disuelta que al secarse protege la evaporación del ClK . El extremo superior del espiral de cobre se une directamente a la reja del seguidor catódico; mediante un mando micrométrico tridimensional se sumerge solamente la punta del microelectrodo en el baño y se hacen los ajustes del amplificador de corriente continua a nivel cero.

Como transductor mecanoeléctrico se utilizó un triodo RCA 5734, cuyo ánodo móvil prolongado 25 mm. mediante una varilla fina de vidrio, termina en gancho en donde se sujeta el lazo de hilo de nylon del extremo libre de la aurícula. La válvula 5734 va montada sobre un mando micrométrico que permite aplicar la tensión de reposo. El transductor se equilibra en un puente con alimentación flotante y la salida se lleva directamente al amplificador A 1 de un oscilógrafo Cossor 1049.

El haz A 2 del oscilógrafo se utiliza para los fenómenos eléctricos. La pequeña amplificación adicional necesaria se obtuvo de un preamplificador DC a cascodos simétricos que se describirá más ampliamente en otro sitio. En algunos experimentos se aplicó un alto grado de realimentación para aumentar la impedancia de entrada del sistema.

El estimulador consiste en un «rack» conteniendo 18 unidades que proporcionan parámetros de estimulación independientes sin interacción. Este aparato fue presentado en la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (1959) y se describirá más ampliamente en otro lugar. Los estímulos se aplicaron unas veces directamente, con un electrodo al nivel de tierra y otras veces por intermedio de un transformador con núcleo generosamente calculado y baja capacidad.

La citada disposición de los electrodos de estímulo se denominará como electrodos masivos. Cuando toda la aurícula responde directamente al estímulo se produce una respuesta masiva y la intensidad estimulante necesaria será citada como umbral de masividad. El umbral de respuesta es la mínima intensidad que produce respuesta transmitida y entre el umbral de respuesta y el umbral de masividad hay una serie de gradaciones que se pueden considerar como de masividad parcial o incompleta.

Resultados

FENÓMENOS ELÉCTRICOS

Potencial de reposo

El potencial de reposo de la aurícula de rata oscila entre 65 y 85 mV en los preparados en buenas condiciones, si bien se han encontrado valores por encima de 90 mV. En algunas aurículas el potencial de reposo transmembrana fue inferior a 50 mV y también se han encontrado zonas con potenciales bajos (20-40 mV) alternando con otras de voltaje normal. El potencial transmembrana permanece invariable cuando la aurícula está en reposo o se estimula a menos de 120/min. pero por

encima de esta frecuencia aparece despolarización proporcional al aumento de ritmo. Las frecuencias superiores a 400/min. pueden producir grave deterioro del potencial de reposo si se aplican persistentemente.

La perfusión correcta no parece alterar sensiblemente el potencial de membrana; en una aurícula abandonada a la temperatura ambiente y sin oxigenación, se midieron 80 mV de potencial de reposo al ser reoxigenada después de 18 horas.

Potencial de acción

Después de un período de latencia variable (ver más adelante) se inicia la rápida despolarización, que en menos de 1 ms alcanza el nivel cero y lo rebasa en «overshoot» proporcional al potencial de reposo; si este último es de 70-80 mV el nivel cero puede ser rebasado en 20 mV o más, con lo que frecuentemente se registran potenciales de acción del orden de los 100 mV cresta.

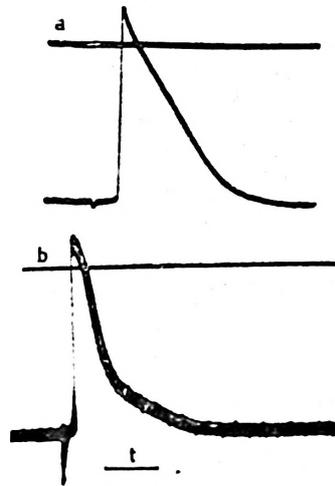


Figura 1.^a Potenciales de acción en dos aurículas de rata. En b se aprecia la joroba durante la fase de repolarización y el post-potencial. t : 15 ms para a y 50 ms para b .

Inmediatamente de alcanzada la cresta se inicia la repolarización, que es mucho más lenta y con varias fases (Fig. 1.^a). La repolarización es muy rápida inmediatamente tras la cresta, pero después la variación de voltaje con el tiempo es cada vez menor hasta volver al nivel de reposo con una suave curva. En la figura 1.^a b se ve una ligera joroba en la repolarización

con la concavidad hacia la izquierda y abajo. Esta joroba puede ser más o menos aparente e incluso faltar; entonces la curva de repolarización es continua y su pendiente cada vez menor, desde la cresta hasta el potencial de reposo. En ningún caso se encontró la meseta o plateau típica de registros ventriculares.

A veces la porción final de la repolarización es de duración prolongada (Fig. 1 b), como un postpotencial (MACFARLANE, 1959; VAUGHAN WILLIAMS, 1959) que puede distinguirse hasta más de 100 ms después de la despolarización inicial. La autenticidad de este afterpotencial no siempre es clara, pues precisamente en esta porción de la repolarización suelen aparecer artefactos producidos por la contracción muscular; estos son generalmente irregulares y producen deflexiones hacia el lado positivo, aunque alguna vez se han registrado hacia abajo (ver figura 7). En los casos dudosos se puede aprovechar la circunstancia de que el postpotencial verdadero es muy susceptible a los cambios de estimulación y desaparece acortando los intervalos. Cuando falta el postpotencial la repolarización se completa en unos 50 ms para frecuencia de 100/min.; si el postpotencial está presente la repolarización puede tardar más de 100 ms. No se ha encontrado nunca hiperpolarización final.

Modificando la intensidad del estímulo no se han visto más cambios que los de la latencia que a continuación se describen.

Latencia eléctrica

Hay variaciones con el tamaño de la aurícula y también según el sitio de implantación del microelectrodo, pero en una misma implantación la latencia se mantiene constante cuando

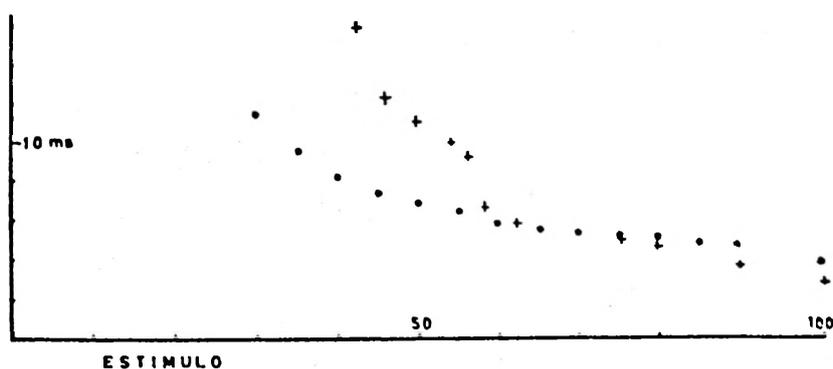


Figura 2.ª Acortamiento de la latencia del potencial de acción en dos aurículas con aumento en la intensidad del estímulo, las latencias mayores corresponden a respuesta umbral. Tiempo en milisegundos; intensidad de estímulo en unidades relativas.

se estimula a menos de 100/min. sin alterar la intensidad; en estas condiciones, con estímulo umbral para las respuestas y colocando el microelectrodo en el centro aproximado del preparado, se han medido latencias entre 9 y 16 ms desde el comienzo del estímulo hasta la iniciación de la despolarización. La utilización de microelectrodos colgantes no es adecuada para determinación de velocidades de conducción.

Al aumentar la intensidad del estímulo la latencia eléctrica se acorta, según se muestra en la figura 2.^a, primero rápidamente y después más despacio. En las aurículas con bajo umbral es fácil llegar a latencia cero (Fig. 3.^a l.e.) superponiéndose el artefacto del estímulo con el frente de despolarización; las mediciones en estas condiciones son bastante imprecisas, debido a que en nuestro estimulador la onda debe tener al menos 0,5 ms de duración para conseguir la potencia necesaria que produce latencia cero (véase también la figura 7.^a).

Los acortamientos de latencia se consiguen indistintamente por aumento de la intensidad del estímulo o por aumento de la duración de la onda, dentro de ciertos márgenes.

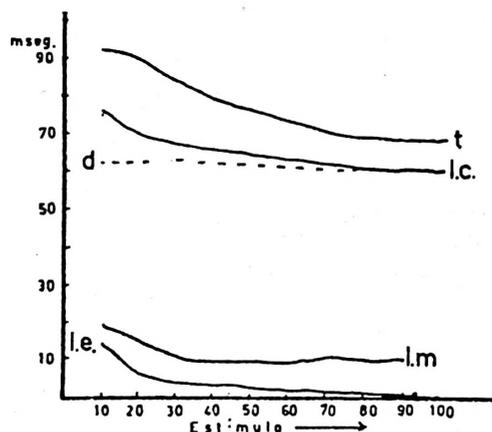


Figura 3.^a Respuestas de una aurícula de rata cuyo estímulo se aumentó gradualmente de intensidad desde el valor umbral. *t* es la tensión máxima del mecanograma en unidades relativas. *l.c.* es la latencia de la cresta del mecanograma medida desde el artefacto del estímulo y *d* es la misma, medida desde el potencial de acción. *l.m.* es la latencia mecánica mínima y *l.e.* la latencia eléctrica.

Respuestas mecánicas

El mecanograma de la aurícula de rata tiene forma de campana con ramas simétricas; en aurículas frescas apenas hay diferencias entre contracción y relajación, pero por fatiga, en-

friamiento u otras causas aparece prolongación de la porción final de la relajación. A veces puede registrarse una depresión bajo el nivel de reposo al final de la relajación, debido a que la aurícula realiza un pequeño movimiento giratorio; la sujeción con tres hilos impide tal artefacto.

Latencia mecánica mínima

La latencia mecánica mínima, entre el artefacto del estímulo y el comienzo de la contracción, no es fácil de medir con exactitud, ya que la iniciación del desarrollo de tensión es muy gradual, siendo difícil decidir en qué punto aparece la primera elevación del mecanograma. La figura 4.^a muestra la iniciación de las contracciones con varias intensidades relativas de estimulación en una aurícula cuya tensión de cresta era de unos 450 mg; a pesar de la gran amplificación de los registros no se ven variaciones en la latencia para los distintos mecanogramas. En el experimento correspondiente a la figura 3.^a se midieron 19 ms de latencia mecánica (*l.m.*) para el estímulo umbral de respuestas y 10 ms para el umbral de masividad, pero las mediciones se hicieron sobre registros sin gran amplificación y cuando la elevación del mecanograma era clara. En una aurícula se midieron las variaciones de la latencia mecánica con la intensidad del estímulo a varios porcentajes de las tensiones de cresta; se encontró que la dispersión de la latencia mecánica para los cambios de estímulo es tanto menor cuanto más baja la tensión a que se mide, de manera que en la iniciación de la contracción correspondería no haber variaciones en la latencia mecánica mínima.

En otros experimentos se midieron las latencias para tensiones de pocos miligramos, encontrando un acortamiento al aumentar la intensidad del estímulo con tendencia a alcanzar un valor que ya no se reduce con nuevos incrementos en la estimulación. Estas variaciones son menores cuanto más cerca se esté del nivel de reposo y no parece incorrecto suponer que la latencia mecánica mínima es independiente de la intensidad del estímulo. Este valor constante, de acuerdo con VALLON, CORABOEUF y GARGOUIL (1959) oscila entre 10 y 14 ms, siendo independiente del tamaño de la aurícula. Así, pues, en el miocardio de la aurícula de rata transcurren unos 10 ms antes de que se inicie la respuesta mecánica y este tiempo mínimo debe corresponder a los procesos físico-químicos que preceden y desencadenan la contracción.

Cuando se registra el potencial de acción simultáneamente con el mecanograma se corre el riesgo de estimar erróneamente

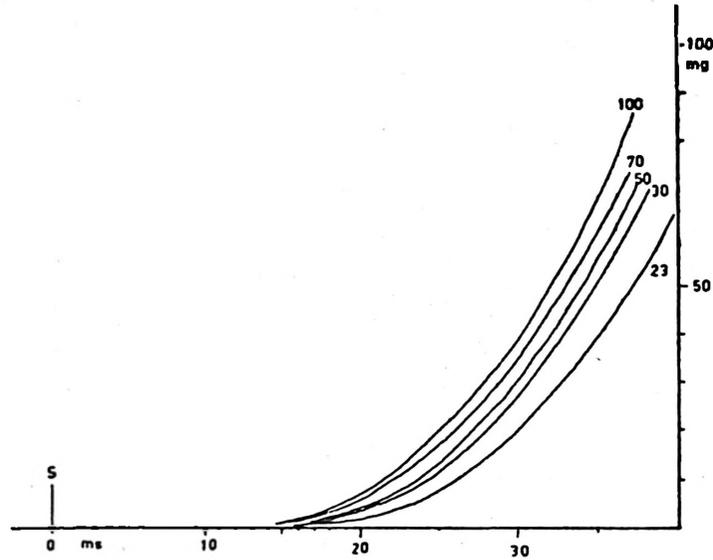


Figura 4.ª Porción inicial de mecanogramas de una aurícula de rata con intensidades de estímulo relativas entre 23 y 100. Tensiones en miligramos y tiempo en ms. S indica el artefacto del estímulo.

la latencia mecánica mínima si se intenta relacionar el fenómeno mecánico con el eléctrico. Efectivamente, la iniciación del acortamiento muscular se registra correctamente en el tiempo; pero no sucede igual con el potencial de acción, que aparece cuando la onda de activación alcanza al microelectrodo y, por lo tanto, con un retardo igual al tiempo de conducción. Cuando la intensidad, en el lugar donde se encuentra el microelectrodo, es suficiente se consigue latencia cero, lo que indica que la célula empalada responde directamente al estímulo; por lo mismo, es de suponer que en el punto donde se inicia una respuesta transmitida también la latencia eléctrica debe ser cero o próxima y las relaciones entre el mecanograma y el potencial de acción dependerán mucho de la distancia entre el microelectrodo y el lugar donde se inicia la respuesta. Cuando la velocidad de conducción está disminuida o cuando el musculo preparado es grande, puede registrarse el potencial de acción incluso después de iniciada la respuesta mecánica. Únicamente con respuesta masiva (latencia eléctrica cero) serán correctas las relaciones temporales entre el potencial de acción y el mecanograma.

Tensión mecánica máxima

La iniciación de la respuesta mecánica tiene carácter de todo o nada y el umbral de respuesta se puede definir en términos del % de respuestas para cada intensidad de estímulo. En el presente trabajo se considera como umbral la intensidad mínima que produce 100 % de respuestas; en estas condiciones la máxima fuerza producida por la aurícula oscila entre 50 y casi 500 mg, según las características individuales de preparación y especialmente el tamaño.

En la mayor parte de las aurículas disminuyó la tensión de contracción al aumentar el estímulo aplicado mediante electrodos masivos. La disminución osciló entre el 10 y el 30 % de la tensión a estímulo umbral (Fig. 3.^a t). En algunas aurículas se ha visto aumento de tensión al aumentar el estímulo; unas veces apareció inesperadamente un aumento extraordinario de las contracciones después de la aplicación de estímulos muy fuertes durante unos minutos, en otros casos se vio aumento de fuerza proporcional al voltaje y a la duración del estímulo. La figura 5.^a muestra el incremento de fuerza cuando se aumentó la duración del impulso rectangular, así como la disminución de tensión al reducirla.

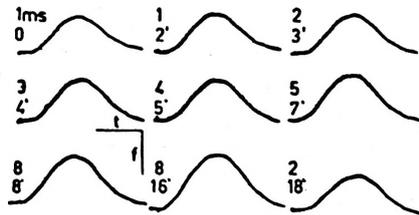


Figura 5.^a Mecanogramas de una aurícula de rata que respondió con potenciación tras los aumentos de duración del estímulo. Junto a cada registro el número superior indica la duración del estímulo y el inferior los tiempos transcurridos desde el comienzo de la serie (0).

Cuando los aumentos de estímulo se hacen escalonadamente parece haber alguna correlación entre potencia estimulante y disminución de la fuerza de contracción, sin embargo, los efectos de la estimulación masiva tardan en desarrollarse. Tanto si las respuestas tienden a aumentar o a disminuir transcurre algún tiempo, a veces varios minutos, antes de la estabilización de las respuestas. Si el aumento de estimulación se hace bruscamente desde la intensidad umbral hasta un valor muy superior, la estabilización de las contracciones requiere a veces largo tiempo, como se muestra en la figura 6.^a c.

Si después de estimular durante varios minutos con gran intensidad se reduce ésta gradualmente, hay una recuperación de la tensión de contracción que generalmente pasa por un período de potenciación. La máxima fuerza no suele obtenerse con la intensidad umbral, sino con valores intermedios (figura 6.^a *a* y *b*). Si la reducción del estímulo se hace bruscamente hay primero aumento y luego disminución de las contracciones antes de la estabilización.

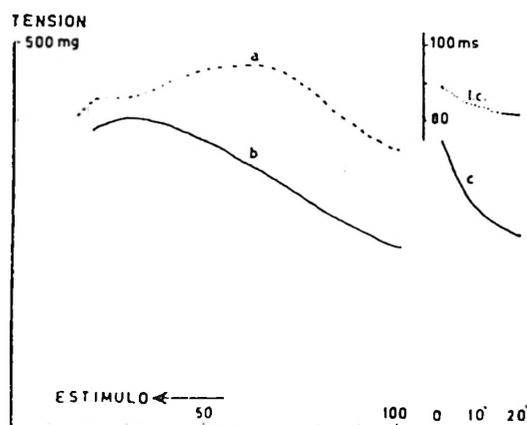


Figura 6.^a *a* y *b*: evolución de las tensiones mecánicas de dos aurículas cuando la intensidad del estímulo se disminuyó muy despacio (*b*) o algo más rápidamente (*a*). *c* muestra la evolución en el tiempo de las respuestas de la aurícula *b* cuando se pasó bruscamente desde intensidad umbral a supermaximal (100). *I.c.* muestra los cambios de la latencia de cresta (escala en ms) durante *c*.

Las perfusiones de aurícula de rata pueden ser conservadas durante 24 horas al menos, a la temperatura ambiente, a condición de mantener la oxigenación y no fatigarlas. La figura 7.^a muestra los registros obtenidos de una de estas aurículas estimulada a intensidades crecientes desde el umbral hasta la respuesta masiva, como se puede apreciar en el acortamiento de la latencia eléctrica; no se produjo ningún cambio significativo en la fuerza de las contracciones para cualquier intensidad estimulante por encima del umbral, tanto con series de intensidad creciente como decreciente.

La característica general de las variaciones de fuerza con la potencia del estímulo es el ser graduadas, no habiéndose encontrado nunca cambios bruscos de la tensión de contracción.

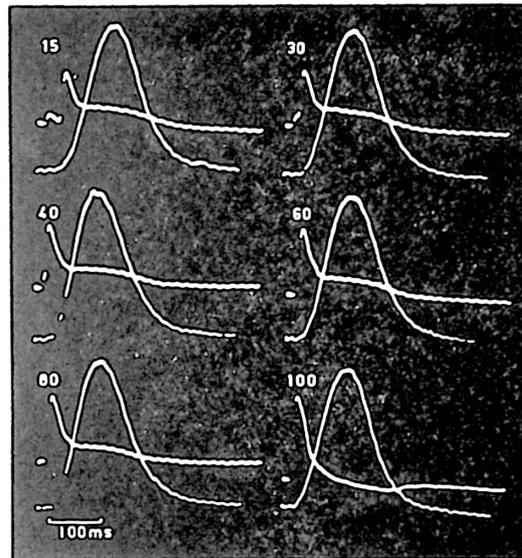


Figura 7.^a Respuestas de una aurícula de rata que permaneció en perfusión durante 24 horas. Los números indican intensidad relativa del estímulo; con el aumento de éste hay acortamiento de la latencia eléctrica y ligero acortamiento de duración del mecanograma, pero los cambios de fuerza no son significativos. La deflexión de larga duración tras el potencial de acción es artefacto mecánico, que se ve invertido al hacer otra implantación del microelectrodo (intensidad 100).

Latencia de la cresta del mecanograma

Los valores de esta latencia mecánica media variaron entre 73,8-93,5 ms para estímulos de intensidad umbral, hasta 68,6-84,5 ms para las respuestas masivas, en las condiciones habituales de perfusión. Las variaciones individuales entre respuesta umbral y respuesta masiva fueron de 5,2 a 15 ms, por lo que se supuso que las variaciones de esta latencia pudieran relacionarse con el acortamiento de la latencia eléctrica anteriormente descrito. En la figura 3.^a la línea de trazos muestra que la latencia mecánica media (*d*) medida desde el comienzo del potencial de acción permanece constante para diferentes intensidades de estimulación. Por lo tanto la anticipación de la cresta del mecanograma con los estímulos fuertes (Fig. 8.^a) debe corresponder, al menos en gran parte, a la mejor sincronización por el empleo de electrodos masivos, apareciendo la latencia más corta cuando no hay onda de invasión y toda la aurícula se activa directamente por el estímulo.

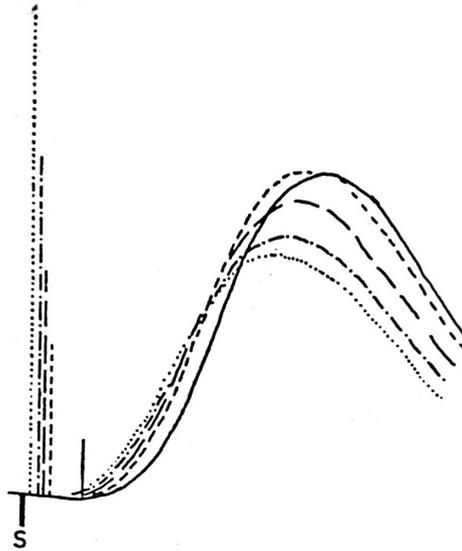


Figura 8.ª Superposición de mecanogramas de aurícula estimulada con intensidades crecientes. Las líneas verticales son proporcionales a la intensidad del estímulo y sus distancias hasta el artefacto del estímulo (S) marcan las latencias eléctricas.

El simultáneo acortamiento de la latencia eléctrica y mecánica media precede a las variaciones de fuerza de contracción que necesitan del transcurso de varias respuestas para ser aparentes. Si después de estimular durante algún tiempo con alta potencia se disminuye paulatinamente la intensidad del estímulo hay un margen en el que la latencia no se modifica mientras las contracciones aumentan claramente (Fig. 9.ª); después hay disminución de latencia mientras la fuerza primero aumenta y después disminuye. Con la intensidad umbral la latencia queda fija, aunque puede continuar la evolución de las contracciones.

No siempre se mantiene una relación lineal entre latencia eléctrica y latencia del mecanograma; se ha visto que la latencia mecánica media también puede relacionarse con las tensiones mecánicas absolutas. Aplicando estímulos de intensidad muy fuerte la latencia eléctrica se reduce a cero y los cambios de tensión que en tal situación aparecen se acompañan de variaciones en la latencia de la cresta del mecanograma, como se muestra en la figura 6 *l.c.* Por lo tanto la latencia mecánica media se puede modificar por dos acciones diferentes: por las variaciones de la sincronización, que dependen directamente

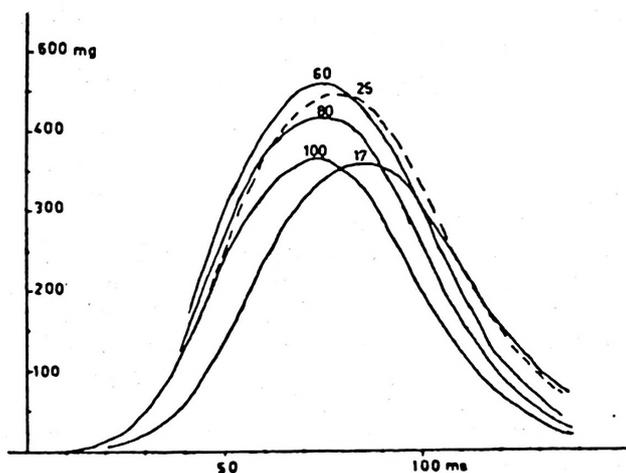


Figura 9.ª Mecanogramas de aurícula de rata con varias intensidades de estimulación. Después de mantener durante unos minutos la intensidad relativa 100 se reduce el estímulo gradualmente hasta el umbral (intensidad 17). Entre 100 y 60 la potenciación se inicia sin variaciones de latencia. Por debajo de 60 aparece disminución de sincronización.

de la intensidad del estímulo y por algún factor miógeno cuya relación con el estímulo es a través de un proceso de adaptación de carácter acumulativo, ya que aparece con retardo.

Duración del mecanograma

La duración total del mecanograma de aurículas estimuladas rítmicamente a menos de 100/min. y a 38° C es de unos 140 ms. Hay variaciones con las distintas aurículas y condiciones de trabajo. Para comparar diversos mecanogramas se hace reducción de alturas y se miden las duraciones al mismo porcentaje de tensión. La duración en el 50 % de tensión máxima es bastante constante en una misma aurícula, unos 60 ms. Las mediciones en mecanogramas obtenidos con diversas intensidades de estímulo muestran variaciones muy pequeñas, con tendencia a disminuir ligeramente con la estimulación de alta intensidad. Los valores para el 25 % de tensión son más expresivos, pudiendo medirse acortamientos de 5 ms en la respuesta masiva, con duración total de unos 90 ms.

La porción superior de la curva del mecanograma es bastante simétrica. La duración de las fases de contracción y relajación no difiere significativamente en el 50 % de tensión

máxima ; en el 25 % de tensión la relajación suele ser 2 a 5 ms más larga que la contracción. No se ha medido a alturas menores, pero se ha visto que la última porción de la relajación puede ser muy prolongada.

Teniendo en cuenta que la latencia mecánica mínima es muy constante y que la latencia de la cresta de tensión puede acortarse 15 ms o más con los aumentos del estímulo, debe haber disminución de la duración de la fase de contracción. Sin embargo, las mediciones de esta fase en el 50 y 25 % de la tensión máxima no son suficientemente expresivas, por lo que es probable que el acortamiento de la fase de contracción que caracteriza al aumento en la sincronización por estímulos de alta potencia, se realice principalmente en las porciones más iniciales del mecanograma, como más rápida erección de la tensión en su comienzo, según parece poderse deducir de los registros de la figura 4.*.

Discusión

Los electrodos masivos consisten en dos láminas metálicas de superficie relativamente grande, entre las que se coloca el órgano a estimular ; éste recibe la corriente a través del líquido de perfusión. Es interesante establecer las condiciones de estimulación desde el punto de vista del órgano estimulado, independientemente del tipo de electrodos ; así, cuando el estímulo se aplica entre un electrodo puntiforme que toca al órgano y el líquido de perfusión, o cuando el órgano se sujeta por un electrodo en cada extremo, se pueden obtener los mismos efectos que con los electrodos de láminas de gran superficie si la intensidad de estimulación es suficiente. La respuesta masiva aparece como consecuencia de que la disposición de los electrodos permite que el estímulo difunda a todo el preparado cuando la intensidad es adecuada, a diferencia de la estimulación transmitida en que la mayor parte del preparado queda suficientemente alejada de los electrodos y siempre resulta estimulada tras alguna conducción fisiológica.

La respuesta masiva se caracteriza por no haber conducción fisiológica del estímulo y esto proporciona un importante artificio experimental, pues con la estimulación clásica localizada a un extremo de la preparación sucede :

a) Las relaciones de tiempo con el estímulo aparecen enturbiadas por la superposición en los registros de fenómenos dromotrópicos con los inotrópicos.

b) Imposibilidad de utilizar la intensidad estimulante como variable independiente, ya que, aparte de una pequeña zona al-

rededor de los electrodos, el estímulo recibido depende del potencial de acción transmitido, que generalmente es muy constante o bien puede alterarse por causas no bien controlables.

c) Superposición en los registros de fenómenos procedentes de la respuesta masiva localizada en una zona alrededor de los electrodos con los de respuesta transmitida producida en el resto del músculo; especialmente si el preparado muscular es de pequeño tamaño.

Cuando todo el músculo, o la mayor parte de él, responde masivamente aparecen dos clases de fenómenos: unos derivados del aumento en la sincronización y otros que pudieran corresponder a propiedades fundamentales de la fibra cardíaca.

Como consecuencia de la sincronización desaparece la latencia eléctrica, no hay conducción y tanto los fenómenos eléctricos como los mecánicos son simultáneos en todas las fibras. Aparte de las diferencias individuales se puede considerar que el registro eléctrico y el mecanograma obtenidos en condiciones masivas tienen el mismo curso temporal y las mismas relaciones que en una fibra aislada con características medias siendo posible establecer así la correlación electromecánica adecuada.

Al recorrer una serie de intensidades crecientes de estímulos aplicados entre electrodos masivos, el umbral se caracteriza por la aparición simultánea de contracción y potencial de acción, este último con latencia variable según el lugar de registro, de manera que recorriendo el músculo con el microelectrodo se puede localizar la zona en donde se inicia la respuesta. Esta zona debe estar en el extremo del músculo más próximo (eléctricamente) al cátodo y siempre tendrá latencia cero. En el resto del músculo los aumentos de intensidad del estímulo producen latencias eléctricas cada vez más cortas, lo que fue observado por DAWES y DANE (1956) que señalan a este fenómeno como posible causa de error en las mediciones de períodos refractario. Estos autores interpretaron los cambios de latencia como consecutivos a la propiedad del miocardio de retener durante algún tiempo un estado excitatorio local (MOE, HARRIS y WIGGERS, 1941). Se trataría de un tipo de memoria asentada sobre sustratos químicos, o al menos no eléctricos, que permitiría la reaparición del potencial de acción tras períodos hasta de 50 ms. ROSENBLUETH (1958) demuestra mediante un teorema que el impulso puede pararse en algún sitio y que, en la propagación por la aurícula o el ventrículo, la parada es por un retraso en la iniciación. Hasta ahora no hay datos definitivos sobre tal estado excitatorio local latente y parece razonable aceptar que el acortamiento de latencia es debido a que la zona de respuesta di-

recta (masiva) aumenta en proporción con la intensidad del estímulo, por lo tanto el tiempo de latencia puede valer para estimar la distancia a que se encuentra el microelectrodo del borde de la zona de masividad. La latencia cero no indica necesariamente masividad en todo el preparado, sino solamente entre el electrodo activo y el lugar de registro.

Entre la intensidad umbral y la que produce respuesta masiva total hay un margen de sincronización creciente durante el cual se superponen los fenómenos de respuesta local con los de respuesta transmitida, pero para la respuesta masiva absoluta, de todo el preparado, debiera alcanzarse una situación estable en la que nuevos aumentos del estímulo no debían producir cambios, una vez conseguida la máxima sincronización. Sin embargo, estos cambios aparecen y sólo pueden ser atribuidos a una acción directa del estímulo.

Variaciones de la fuerza de contracción con la intensidad del estímulo fueron descritas por WHALEN (1958) que encuentra disminución con la estimulación con alto voltaje y fuerte potenciación cuando los estímulos se aplican durante más de un minuto: la potenciación es rara en aurículas, pero no suele faltar en el músculo papilar. WHALEN establece una relación entre la falta de potenciación y la ausencia del fenómeno de la escalera, relación que se confirma con corazones denervados y en perfusiones viejas: los resultados del presente trabajo están de acuerdo con tal relación, pues en la aurícula de rata el fenómeno de la escalera es poco manifiesto (observaciones no publicadas) y es más frecuente la depresión por alto estímulo que la potenciación.

La ley de todo o nada no se cumple en condiciones de masividad, tampoco parece ser aplicable a la fibra aislada (SERKOW, 1948); en realidad debiera ser cambiada por una ley de constancia del estímulo transmitido, ya que independientemente del lugar donde se inicia la respuesta todas las porciones del miocardio reciben un estímulo constante de unos 100 mV cresta. Sólo en condiciones de masividad es posible utilizar intensidades variables, pero no debe perderse de vista que sin necesidad de utilizar electrodos especiales siempre hay una zona de masividad de extensión proporcional a la intensidad estimulante y a la separación de los electrodos.

La curva del mecanograma tiene una forma bastante constante y sus variaciones asientan fundamentalmente en el comienzo y en las últimas porciones de la relajación. Las diferencias entre estimulación masiva y umbral son pequeñas en la aurícula de rata, debido, sin duda, a su reducido tamaño que permite un alto grado de sincronización, pero es de suponer

que en preparados cardíacos mayores y de conducción lenta haya grandes diferencias entre el mecanograma umbral y el masivo, por lo que muchas de las modificaciones de su forma pueden interpretarse como debidas a cambios en la velocidad de conducción o en la extensión de la zona de respuesta directa. Posiblemente los mecanogramas de distintas especies animales sean muy parecidos en condiciones masivas; las variaciones en la cantidad de material contractil utilizado afectan a la amplitud de la respuesta, pero no a la forma del mecanograma.

La latencia mecánica mínima es muy constante e independiente de la intensidad estimulante, igualmente destaca la simetría en las porciones superiores del mecanograma; estos datos hacen pensar que el mecanograma es la exteriorización de fenómenos físicos en los que un material elástico, en cantidad invariable desde el comienzo de la contracción, experimenta acción y reacción idénticas. El que los mecanogramas en diversas condiciones experimentales masivas difieran sólo en su amplitud, sugiere que la contracción, una vez iniciada, se realiza a base de una cantidad de material contractil que ya no se altera durante todo el ciclo; todo el material activado interviene en la contracción y las variaciones de fuerza deben depender de algún mecanismo previo a la respuesta. En un trabajo anterior (BONNET SEOANE, 1954) se mostró que la preparación del material contractil comienza inmediatamente tras cada respuesta, a un ritmo variable con la frecuencia de estimulación; un estímulo basal o de prueba producen contracciones de distinta amplitud, según el intervalo concedido para la preparación del material contractil. La potenciación que aparece bajo estimulación de alta intensidad pudiera ser por variaciones en la velocidad de preparación del material contractil, pues en este caso como en el fenómeno de la escalera los cambios de tensión tienen carácter acumulativo, el aumento de las respuestas es gradual y se necesitan varias contracciones para que la tensión se estabilice en su nuevo nivel. Esto sugiere la presencia de una sustancia potenciadora cuyo nivel regularía las tensiones de contracción por intermedio de mecanismos iónicos; faltan aún datos para decidir si la potenciación por estímulo masivo sería producida por la misma sustancia que interviene en el fenómeno de la escalera, pero en contra de esto hay el hecho de que la potenciación por alto estímulo persiste, una vez terminada la causa, durante más tiempo que la potenciación por cambio de frecuencia.

La depresión, que se encuentra más frecuentemente en las aurículas de rata, corresponde sin duda a un mecanismo inhibitor relacionado más directamente con la fuerte intensidad del

estímulo, ya que se desarrolla antes y más rápidamente que la potenciación; además, cuando se reduce bruscamente el estímulo la potenciación aparece como consecuencia de la mayor persistencia del mecanismo potenciador sobre el inhibidor. WHALEN, FISHMAN y ERICSON (1958) atribuyen a la adrenalina el papel de sustancia potenciadora y a la acetilcolina el de inhibidora, pero parece necesaria más investigación para poder decidir sobre tan interesantes mecanismos.

Resumen

Se estudian las respuestas eléctricas y mecánicas de la aurícula izquierda de rata sometida a estímulos de diversa intensidad, a través de electrodos masivos. Los efectos del incremento del estímulo son:

a) Aumento de la porción muscular que responde directamente al estímulo. La utilización de electrodos masivos hace muy aparentes los fenómenos de sincronización:

- 1) Disminución de la latencia eléctrica.
- 2) Disminución de la latencia de la cresta del mecanograma.
- 3) El mecanograma se altera poco, sus cambios son principalmente en la porción final de la relajación. La sincronización acorta la fase de contracción en su iniciación, pero la latencia mecánica mínima no se altera con las variaciones del estímulo.

b) Cuando la zona muscular de respuesta directa (zona de masividad) es suficientemente grande, aparecen efectos adicionales por la estimulación fuerte:

- 1) Potenciación mecánica inmediata al aumento de potencia del estímulo; es un tipo de respuesta más bien raro.
- 2) Depresión mecánica producida por los estímulos fuertes, proporcional a la intensidad y al tiempo de aplicación.
- 3) Potenciación mecánica secundaria producida por estímulos de fuerte intensidad, pero que sólo se manifiesta con carácter retardado y después de que la intensidad del estímulo disminuye.

Tanto la depresión como la potenciación secundaria parecen independientes de los fenómenos de sincronización. La depresión está más íntimamente relacionada con el estímulo y predomina sobre la potenciación. Pero esta última tiene mayor persistencia y se hace aparente durante algún tiempo después de disminuir la fuerte intensidad.

Summary

Electrical and mechanical responses from the atria of the rat under massive stimulation

Electrical responses from the atria of the rat with intracellular microelectrodes were recorded simultaneously with the

mechanogram ; a 5734 RCA being the transducer. Square waves of different strengths were applied between two large surface electrodes, one on each side of the muscle, which was stimulated through the Tyrode solution.

The monophasic action potential of the atria cells is similar to but shorter than those of other mammalian atria ; there is a hump in the repolarization and this may end with an afterpotential which lengthens the duration to 100 ms. If there is no afterpotential the wave lasts about 50 ms.

The latency of the action potential is shorter when the stimuli are stronger, until it becomes zero latency with superposition of the stimulus artefact and depolarization.

Minimal mechanical latency is very constant, from 10 to 14 ms, and independent of the strength of the stimulus. This latency ought to be measured from the depolarization only if the response is massive, but if this is not massive the measurement must be from the stimulus artefact.

The mechanogram has a very symmetrical bellshape in the superior portions, but this is unsettled for the lowest part near the resting level. Durations of the mechanical wave at different relative tensions are very constant and independent of the absolute tension ; it was about 60 ms at half height and 90 ms at 25 % of the height, the total duration amounting to about 140 ms. The latency of the peak of the mechanogram that averages about 83 ms for the threshold, becomes about 70 ms for the strongest stimuli, this could be explained by the simultaneous shortening in the electrical latency as a manifestation of the increased synchronization ; the stronger stimulus produces a faster rate of rise on the onset of the mechanical response.

Massive electrodes made it possible to apply different strengths of stimulation ; this is not possible in the classical preparations where the physiological stimulus running through the muscle is nearly constant, at about 100 mV. For the threshold stimulus the response starts at some point of the atria near the cathode and diffuses from there through the whole muscle. The area of direct action increases with stronger stimuli and the path for the action potential is proportionally shortened, the latency decreasing to the same degree. When the latency is zero the area of direct response includes at least the muscle from the cathode to the microelectrode. A series of degrees in the response related to the strength of stimuli can be obtained ; this must be kept in mind in those experiments with the possibility of spreading of current over the tissues. In dealing with experiments on the refractory period of little muscles this fact

may play a role; further the effect of the stimulation does not depend exclusively on the stimulating current, but also on the excitability.

Long periods of strong stimulation have additional effects on the mechanical responses. Commonly there is a reduction in the height of contractions of the atria and sometimes, but rarely, a potentiating action may be seen, both of delayed and accumulative character. The highest portions of the mechanogram do not change, except in their absolute values, but the duration and symmetry remain the same. It seems also that there is some direct relation between the height of the mechanogram and the latency of its peak.

The increase of strength of stimuli improves the synchronization, and the reduction of mechanical amplitude persists throughout the strongest stimulation; by diminishing the stimulating current a potentiating effect appears and the contraction grows up gradually. This suggests activation of some potentiating mechanism by the high current, but the mechanical potentiation does not appear because it is counteracted by an inhibition that develops simultaneously.

Whether the increase in the strength of stimulus is fast or slow the height of the mechanical response is reduced to the same level, this being lower for the larger stimulating current. On decreasing the stimulus the depression disappears and recovery is gradual with or without temporal potentiation. The potentiating action evoked by strong stimuli lasts for several minutes and can be hidden if the rate of diminution of stimulation is slower than the rate of disappearance of the potentiating action. Potentiation in atria of the rat generally needs the previous high stimulation, but it was not possible to establish if the depression is a necessary condition. In every case depression and potentiation seem to be independent of the changes in synchronization.

The accumulative character of responses after strong stimulation suggested to WHALEN two different substances, namely epinephrine as potentiator and acetylcholine as depressor, but the literature about these substances is very far from being conclusive. The theory of significance of intervals, earlier proposed by the author, admits a potentiating substance, whose production might be increased by the strong stimulation, as seems to occur in the staircase phenomenon.

Bibliografía

- (1) BONNET SEOANE, A.: *Arch. Instit. Farmacol. Exper. C.S.I.C.*, Madrid, 6, 1, 1954.

- (2) BONNET SEOANE, A.: *Actas Soc. Ciencias Fisiológicas*. Madrid, 1959. En prensa.
- (3) DAWES, G. S. y VANE, J. R.: *J. Physiol.*, 132, 611, 1956.
- (4) LING, G. y GERARD, R. W.: *J. Cellular Comp. Physiol.*, 34, 383, 1949.
- (5) MACFARLANE, W. V.: *J. Physiol.*, 145, 4P, 1959.
- (6) MOE, G. K., HARRIS, A. S. y WIGGERS, C. J.: *Amer. J. Physiol.*, 134, 473, 1941.
- (7) ROSENBLUETH, A.: *Amer. J. Physiol.*, 194, 495, 1958.
- (8) SERKOW, F. N.: *Sechenov's Physiological Journal*, 34, 565, 1948.
- (9) VAUGHAN WILLIAMS, E. M.: *J. Physiol.*, 149, 78, 1959.
- (10) WALLON, G., CORABOEUF, E. y GARGOUIL, Y. M.: *C. R. Soc. Biol.*, 153, 826, 1959.
- (11) WHALEN, W. J.: *Science*, 127, 468, 1958.
- (12) WHALEN, W. J., FISHMAN, N. y ERICKSON, R.: *Amer J. Physiol.*, 194, 573, 1958.
- (13) WOODBURY, J. W. y BRADY, A. J.: *Science*, 123, 100, 1956.