

Bases iónicas de la actividad eléctrica en los tejidos cardíacos

Dr. Edouard Coraboeuf *

Se describen los eventos eléctricos cardiacos en términos de la fisiología de la membrana. Se discute el concepto de que las membranas cardiacas poseen canales iónicos específicos que son controlados por compuertas con cargas eléctricas. Cuando están abiertos, estos canales permiten que los iones atraviesen la membrana dando origen a corrientes pasivas entrantes (depolarizantes) y salientes (repolarizantes). Dos diferentes corrientes entrantes y cuatro o cinco diferentes corrientes salientes parecen ser las responsables de la actividad eléctrica cardiaca; ambas corrientes entrantes parecen estar controladas por variables de activación y de inactivación, mientras que las corrientes salientes son esencialmente controladas por variables de activación y/o por rectificadores de entrada. Los niveles de potencial en los cuales se activan o inactivan las diferentes corrientes (o en los cuales son limitadas por la rectificación de entrada), así como la cinética de los procesos de activación y de inactivación, explican el desarrollo de la actividad eléctrica en tejidos cardiacos normales y en fibras parcialmente depolarizadas. Además de las corrientes iónicas pasivas, el transporte electrogénico activo participa en el desarrollo de los fenómenos eléctricos. La conductancia de la membrana para los iones de potasio y el acoplamiento eléctrico entre las células cardiacas dependen de la concentración intracelular de iones de calcio.

Los potenciales de acción cardiacos registrados de diferentes regiones del corazón son muy diferentes en cuanto a forma, amplitud y duración; sin embargo, por lo general, se caracterizan por una fase rápida de depolarización seguida de una meseta de larga duración. La fase inicial es mayor y más rápida en las fibras de Purkinje, mientras que la meseta es mayor en el miocardio ventricular. En las células nodales normales y en la mayoría de las células depolarizadas anormalmente, la fase inicial es menor o inclusive está ausente y, por lo tanto, se puede considerar que el potencial de acción se reduce a una meseta de desarrollo lento y de baja amplitud. Cuando los tejidos cardiacos tienen o tienden a tener actividad espontánea, sus potenciales de acción en la región del marcapaso están precedidos por una depolarización local

diastólica lenta. Este potencial del marcapaso puede desarrollarse a diferentes niveles de potencial de membrana; por ejemplo, entre -90 y -60 mV en las fibras de Purkinje normales, y entre -60 y -35 mV en las células del nodo sinusal o en las fibras de Purkinje y del ventrículo depolarizadas. Aunque los potenciales de acción cardiacos de los diferentes tejidos y/o de las diferentes especies muestran una amplia variedad de formas, son pocos los mecanismos iónicos subyacentes responsables de su desarrollo. Entre éstos, los descritos con mayor precisión son las permeabilidades iónicas pasivas producidas por la apertura y el cierre de los "canales" de la membrana, aunque también participan procesos de transporte activo electrogénico en el desarrollo de la actividad eléctrica.

El potencial de reposo cardiaco: Actividades iónicas intra y extracelulares

Hace 20 años,^{1 56} se estableció que el potencial de reposo de las fibras de Purkinje resulta de la permeabilidad dominante de la membrana celular a los iones de potasio (K). Si esta permeabilidad P_K es, como se supone, extremada-

Ionic Basis of Electrical Activity in Cardiac Tissues AM. J. Fisiol., 234(2) págs. 101-106, 1978. Con autorización del autor y de The American Physiological Society. Traducción del doctor Dieter Mascher con la participación técnica de Martha García e Ingrid Mascher del Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina, U.N.A.M.

mente alta en comparación a las permeabilidades de otros iones, el potencial de reposo, E_r , se hace igual al potencial de equilibrio para los iones, de K, E_K , tal como lo expresa la ecuación de Nernst. Si X es un catión de valencia z:

$$E_x = \frac{RT}{zF} \ln \frac{X_e}{X_i}$$

$$\text{a } 18^\circ\text{C, } E_x \text{ (mV)} = \frac{58}{z} \log \frac{X_e}{X_i}$$

donde R es la constante universal de los gases, T la temperatura absoluta, F, la constante de Faraday y X_e y X_i la concentración extra e intracelular del ión.

Bajo estas condiciones, un aumento en la concentración externa de potasio $[K]_e$ por un factor de 10 tiene que llevar a una disminución en E_r de 58mV a 18°C o de 61 mV a 37°C , teniendo una disminución de $[K]_e$ por un factor de 10, el efecto opuesto. Una pendiente menor de 58 – 61 mV por década de cambio en $[K]_e$ indica que la membrana es permeable en forma apreciable a otros iones diferentes al K. En las células de Purkinje el potencial de reposo de la membrana obedece casi perfectamente a la ecuación de Nernst para los iones de K (es decir, la membrana se comporta como un electrodo de K casi perfecto para valores de $[K]_e$ mayores de 2.7 mM, mientras que para valores menores no se comporta como tal.^{1 5 6}

Si así lo hiciere, una reducción por un factor de 10 en $[K]_e$, supongamos de 5 a 0.5 mM, llevaría a una hiperpolarización de 58 mV; por ejemplo de -85 a -143 mV a 18°C . De hecho, en las fibras de Purkinje, ocurre una fuerte depolarización en lugar de una hiperpolarización en una solución libre de K o de baja concentración de K, lo cual muestra que la contribución relativa de los iones de K al potencial de membrana disminuye en comparación con la de

otros iones, principalmente de sodio.^{10 5} En otros tejidos, tales como el nodo senoauricular, y en menor grado en la aurícula del conejo,^{3 9} la membrana durante la diástole es marcadamente permeable a otros iones que no sean K.

En algunos casos, puede determinarse el potencial de equilibrio para un ión dado mediante la medición del potencial en el cual se invierte la corriente iónica de la membrana (potencial de inversión, véase la Fig. 3B) cuando se sabe que esta corriente es producida por una sola especie iónica, pero el método usual requiere de la medición de las actividades externa e interna del ión dado. La actividad difiere de la concentración debido a la interacción entre los iones; el coeficiente de actividad, γ ($\gamma = \text{actividad}/\text{concentración}$) disminuye cuando la fuerza iónica de la solución aumenta. La actividad se puede calcular a partir de la concentración, o medida directamente utilizando electrodos selectivos para los iones en cuestión. Utilizar concentraciones en lugar de actividades, o aun utilizar el mismo coeficiente de actividad para los iones extra e intracelulares, puede llevar a errores que sean grandes, si, por ejemplo, un número apreciable de iones internos están secuestrados.

Otra fuente de error es el suponer que la concentración extracelular de un ión dado es necesariamente igual en la solución de perfusión y en las estrechas hendiduras que separan las células cardiacas.

Se han obtenido mediciones de actividades intracelular y los correspondientes potenciales de equilibrio en el corazón de rana^{1 5 1} y en el músculo papilar del conejo^{8 9} utilizando microelectrodos selectivos a cationes. En el seno venoso de la rana, E_k parece ser hasta 32 mV más negativo que el potencial diastólico máximo; mientras que en la aurícula y en el ventrículo, la diferencia entre E_r y E_k es menor de 3 mV. También se ha estimado^{1 5 1} que la relación de permeabilidad P_{Na}/P_k es del mismo orden de magnitud para la aurícula que para el ventrículo,

pero 1 a 2 veces mayor para el seno venoso; mientras que P_{Cl}/P_k es del mismo orden de magnitud para el seno venoso que para la aurícula, pero un orden de magnitud menor para el ventrículo. En el músculo papilar del conejo, la relación P_{Cl}/P_k se ha estimado en 0.11.^{4,5} En el mismo tejido,^{8,9} la actividad intracelular del K se ha encontrado mucho menor (82.6 mM) que la correspondiente concentración (134.9 mM), dando un coeficiente aparente de actividad intracelular para K, γ_K , de sólo 0.613. La diferencia es aún mayor para el Na intracelular, siendo la concentración de 32.7 mM y la actividad de sólo 5.7 mM ($\gamma_{Na}=0.175$). Esto significa que mucho del Na interno se encuentra confinado en compartimientos o secuestrado. Podría encontrarse parcialmente unido a la estructura extracelular y, por ello, atribuirse incorrectamente al citoplasma; pero probablemente también se encuentre unido a las macromoléculas sarcoplasmáticas y confinado en alta concentración dentro de los organelos intracelulares tales como el retículo sarcoplásmico.^{8,9}

Se ha pensado que la acumulación de iones de K en las hendiduras estrechas entre las células cardíacas o en los túbulos T sea responsable de la depolarización que se observa durante la estimulación rápida del tejido cardíaco.^{5,1,14,7}

Recientemente, se confirmó un incremento tal en la actividad extracelular de K, utilizando electrodos sensibles a K colocados en el espacio extracelular de tiras de ventrículo de rana.^{8,2} Se demostró que la pérdida de K por las células activadas era suficiente para producir, en el curso de cada potencial de acción, un aumento reversible en la actividad de K de aproximadamente 1 mM, es decir aproximadamente una tercera parte de la actividad normal de K en solución de Ringer. Por ello, ya no es posible considerar la composición del líquido extracelular como constante en el curso del ciclo cardíaco. Una conclusión similar se ha obtenido en las fibras de Purkinje al medir el potencial de inversión para i_{K2} (véase la sección de corrientes de repolarización), una corriente que se considera producida únicamente por iones de K, de manera que su potencial de inversión corresponde a E_K .^{2,3}

Puesto que, en los haces de Purkinje, más

del 80 por ciento de las membranas celulares colindan con hendiduras extracelulares muy angostas (de un ancho promedio de 40 nm),^{6,1,10,0} el espacio extracelular se debe considerar mucho más pequeño que el intracelular. Por ello, en las hendiduras, puede ocurrir depleción o acumulación de iones de potasio como resultado del bombeo iónico y por la difusión restringida desde el líquido de perfusión.^{2,3}

Corrientes iónicas en la membrana y canales iónicos.

Los potenciales de acción se producen por cambios en las corrientes iónicas a través de la membrana. Las corrientes entrantes, convencionalmente consideradas negativas, corresponden a la entrada de cargas positivas, es decir, de los cationes al interior de la célula; sin embargo, los aniones que salen de la célula también deberían dar origen a una corriente entrante, lo que se ha sugerido recientemente en cultivos de músculo esquelético,^{4,6} pero no en el tejido cardíaco. Las corrientes salientes (positivas) corresponden a los cationes que salen de la célula o a aniones que entran a la célula (en principio, una corriente saliente producida por aniones que entran a la célula se debe suprimir cuando estos aniones se reemplazan por otros impermeables). Si tomamos una célula en la cual todas las áreas de la membrana sufren los mismos cambios de voltaje, cuando la suma de las corrientes (producida por ejemplo por iones de Na o de Ca) se hace mayor que la suma de las corrientes salientes (causadas por ejemplo por iones de K) un flujo neto de cargas positivas entra a la célula, y la membrana se depolariza. Se repolariza, cuando la corriente entrante se hace menor que la saliente. Cuando el potencial de membrana E_m se hace más negativo (o menos positivo) que el potencial de equilibrio para un catión o anión dado, este ion tiende a cruzar la membrana en una dirección tal que da origen a una corriente entrante depolarizante; y en forma inversa, una corriente saliente tiende a desarrollarse cuando E_m es menos negativo (o más positivo) que el potencial de equilibrio para el ion dado. En el tejido cardíaco varias corrientes iónicas se rigen por conductancias que dependen tanto del voltaje como del tiempo, tal como las descritas en el axón gigante,^{6,5} y, en este caso, el curso tem-

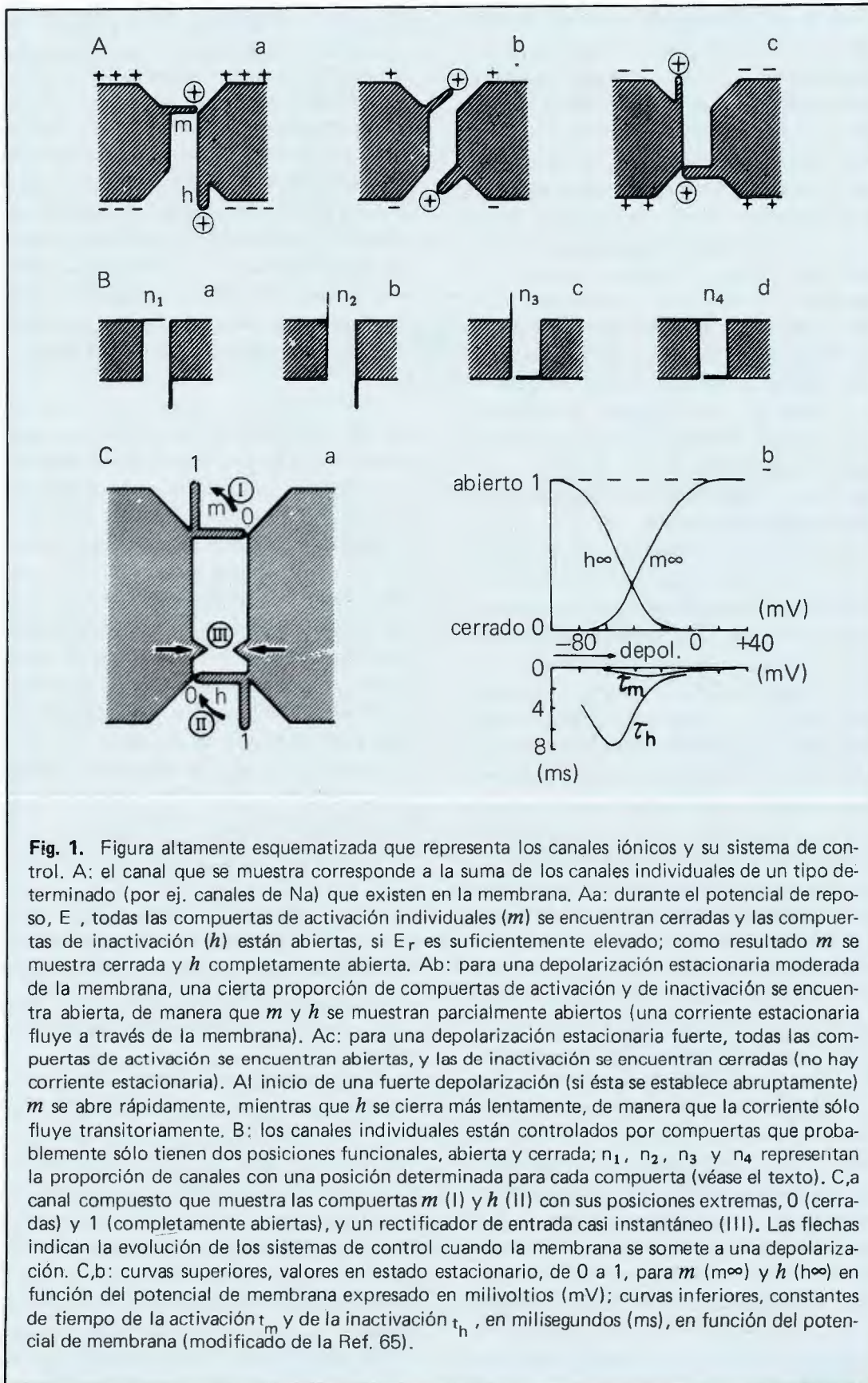


Fig. 1. Figura altamente esquematizada que representa los canales iónicos y su sistema de control. A: el canal que se muestra corresponde a la suma de los canales individuales de un tipo determinado (por ej. canales de Na) que existen en la membrana. Aa: durante el potencial de reposo, E_r , todas las compuertas de activación individuales (m) se encuentran cerradas y las compuertas de inactivación (h) están abiertas, si E_r es suficientemente elevado; como resultado m se muestra cerrada y h completamente abierta. Ab: para una depolarización estacionaria moderada de la membrana, una cierta proporción de compuertas de activación y de inactivación se encuentra abierta, de manera que m y h se muestran parcialmente abiertos (una corriente estacionaria fluye a través de la membrana). Ac: para una depolarización estacionaria fuerte, todas las compuertas de activación se encuentran abiertas, y las de inactivación se encuentran cerradas (no hay corriente estacionaria). Al inicio de una fuerte depolarización (si ésta se establece abruptamente) m se abre rápidamente, mientras que h se cierra más lentamente, de manera que la corriente sólo fluye transitoriamente. B: los canales individuales están controlados por compuertas que probablemente sólo tienen dos posiciones funcionales, abierta y cerrada; n_1 , n_2 , n_3 y n_4 representan la proporción de canales con una posición determinada para cada compuerta (véase el texto). C, a canal compuesto que muestra las compuertas m (I) y h (II) con sus posiciones extremas, 0 (cerradas) y 1 (completamente abiertas), y un rectificador de entrada casi instantáneo (III). Las flechas indican la evolución de los sistemas de control cuando la membrana se somete a una depolarización. C,b: curvas superiores, valores en estado estacionario, de 0 a 1, para m (m_∞) y h (h_∞) en función del potencial de membrana expresado en milivoltios (mV); curvas inferiores, constantes de tiempo de la activación τ_m y de la inactivación τ_h , en milisegundos (ms), en función del potencial de membrana (modificado de la Ref. 65).

poral de las corrientes de membrana depende del potencial de membrana. Por ejemplo la conductancia al sodio g_{Na} , aumenta cuando la membrana se depolariza (dependencia de voltaje), pero si la depolarización ocurre en forma muy brusca, el aumento en g_{Na} no sigue instantáneamente al potencial, sino que se desarrolla más lentamente, con un curso temporal de una fracción de milisegundo (dependencia de tiempo). Más aún, este curso temporal depende del potencial que se ha fijado a la membrana. Algunas corrientes también son controladas total o parcialmente por rectificadores de entrada casi instantáneos (independientes del tiempo).¹⁰⁷ Por medio de este mecanismo, la membrana pasa corriente entrante en respuesta a cambios negativos en el potencial más fácilmente de lo que pasa corriente saliente en respuesta a cambios positivos del potencial.

Las conductancias dependientes del voltaje y del tiempo probablemente resultan de la apertura de canales de membrana que se encuentran controlados por mecanismos de compuerta. Con el objeto de dar mayor claridad a la exposición, tales canales pueden representarse como en la Fig. 1A, en la cual el grado de apertura o cierre del canal se indica por compuertas que están más o menos abiertas, de tal manera que un número mayor o menor de iones puedan cruzar la membrana. En esta representación simplificada, los canales mostrados en la Fig. 1A corresponden, de hecho, a la suma de todos los canales individuales de un tipo determinado que existan en la membrana, cada canal individual probablemente tiene dos posiciones, abierto o cerrado (véase Ref. 62). Por ello, el grado de apertura de las compuertas mostrado en la figura corresponde, en realidad, a la proporción de canales individuales con la compuerta abierta o al periodo (fracción) durante el cual se encuentra abierta cada compuerta. En los últimos años, diversos investigadores han logrado medir corrientes de membrana muy pequeñas que no son corrientes iónicas. Estas corrientes se conocen como corrientes de compuerta. Se supone que se deben al movimiento pasivo en la membrana, de cargas que disparan el desplazamiento de la estructura de compuerta responsable de la apertura (activación) del canal de sodio cuando cambia el campo eléctrico. Se ha demos-

trado que, a cualquier nivel de potencial, las corrientes de compuerta y la corriente de Na tienen el mismo curso temporal.^{11, 80}

Recientemente, se han descrito dos corrientes de compuerta diferentes, asociadas con las corrientes de Na y de Ca en una neurona de *Aplysia*,¹ lo que sugiere que los canales de Na y de Ca probablemente tienen mecanismos de compuerta similares. En el caso de fibras nerviosas, hay evidencia de que la activación de cada canal de Na implica el desplazamiento de varias (tres?) partículas de compuerta independientes; pero este dato tan preciso se ha omitido en la Fig. 1.

Generalmente se considera que el canal de Na está controlado por dos sistemas de compuerta diferentes, m y h (variables cinéticas de 1er. orden) las cuales son, al menos parcialmente, independientes. Una de ellas, m , se abre rápidamente (activación, designada como I en la Fig. 1C, a), y la otra, h , se cierra más lentamente (inactivación designada como II en la Fig. 1C, a), cuando la membrana se depolariza. Por consiguiente, la corriente de Na es breve, puesto que fluye solamente durante el periodo en que m está abierta y h aún no se cierra. Las constantes de tiempo de los procesos m y h , que dependen de E_m , se muestran en forma esquemática en la Fig. 1C, b. De acuerdo a la formulación de Hodgkin y Huxley:⁶⁵

$$i_{Na} = g_{Na} (E_m - E_{Na}) \text{ y } g_{Na} = g_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot$$

donde i_{Na} es la corriente de sodio, $E_m - E_{Na}$ es el gradiente electroquímico neto, es decir la diferencia de potencial que genera la corriente, y g_{Na} es el valor máximo alcanzado por g_{Na} cuando m y h se encuentran totalmente abiertas ($m = h = 1$).

Debe notarse que el modelo de la Fig. 1A no considera que de hecho g_{Na} es el producto de m y h ; este punto se puede entender si se observan los canales de la Fig. 1B, en la cual las cuatro combinaciones posibles para la posición de las compuertas m y h , consideradas como sistemas independientes, se representan con sus correspondientes probabilidades n_1 , n_2 , n_3 y n_4 . Suponiendo que las cuatro probabilidades son iguales, a, b, c y d, representan el mismo número de canales. Se puede ver en la figura que, en este caso, la proporción de las compuertas m y

h en el estado abierto es de $1/2$, mientras que la proporción de canales abiertos es sólo de $1/2 \times 1/2 = 1/4$. En forma más general, en la situación representada en la figura, la proporción de canales abiertos sería de $(n_2 + n_3) / (n_1 + n_2 + n_3 + n_4)^2$. Cabe señalar que diversas observaciones indican que hay que hacer una distinción entre la inactivación que consiste en el cierre de los canales abiertos (paso de b a c en la Fig. 1B) y la inactivación que precede y, por ello, previene la apertura de los canales (paso de a a d).^{1,15} Estas observaciones sugieren que la activación y la inactivación pueden no ser procesos independientes. Los canales de K también están controlados por las compuertas de activación; pero, generalmente, no poseen compuertas de inactivación.^{6,5} Cuando una compuerta se abre o se cierra como consecuencia de un cambio rectangular de larga duración en el potencial de membrana, la compuerta alcanza su nuevo grado de apertura en estado estacionario (designado como m^∞ , h^∞ , Fig. 1C, b) de acuerdo a una cinética exponencial, es decir, teóricamente después de un tiempo infinito. El valor estacionario de m (m^∞) y h (h^∞) en función del potencial de membrana (E_m) se muestra en la Fig. 1C, b. Cuando la membrana se somete, como en la Fig. 4, a escalones depolarizantes progresivamente mayores, g_{Na} aumenta puesto que m aumenta con la depolarización (Fig. 1C, b); por otra parte $(E_m - E_{Na})$ disminuye a cero (cuando $E_m = E_{Na}$) y luego se invierte. Por lo tanto, i_{Na} que es el producto de $g_{Na} (E_m - E_{Na})$ varía en función de E_m , como se muestra en la Fig. 3B.

La presencia de cargas fijas en la cercanía de un canal iónico (véase Refs. 8 y 93) puede alterar el potencial local transmembrana a través del canal, sin cambiar el potencial transmembrana medido en la solución de perfusión, puesto que la influencia eléctrica de tales cargas sólo se ejerce a una distancia muy limitada (2-3 nm). Puesto que el mecanismo de compuerta es sensible al campo eléctrico existente en la membrana, estará bajo la influencia de la presencia de cargas fijas en su vecindad, así como de iones que neutralicen éstas, ya sea por unión química o por blindaje. Los iones bivalentes ejercen un efecto de pantalla mucho más efectivo que los iones monovalentes a la misma concentración.

Por ejemplo, un aumento moderado de la concentración de Ca en la solución externa puede desplazar las curvas $m^\infty - E_m$ y $h^\infty - E_m$ hacia potenciales más negativos. Un desplazamiento tal de la curva $m^\infty - E_m$ lleva a un aumento en el umbral, mientras que el mismo desplazamiento en la curva $h^\infty - E_m$, para una depolarización dada, lleva a una inactivación menor. Estos desplazamientos resultan del hecho de que, después de la neutralización de las cargas negativas externas por el Ca, es necesaria una depolarización mayor que la normal para influir sobre el mecanismo de compuerta. Los grupos carboxílicos ionizados del ácido siálico (glicoproteínas) son el origen de una cantidad considerable de cargas negativas que producen gran parte de la fijación del Ca a la superficie de la célula; aquellos grupos carboxílicos que se encuentran en estrecha cercanía de la superficie de la membrana ciertamente influyen sobre los mecanismos de compuerta. Como se demostró recientemente, el eliminar el ácido siálico con neuroaminidasa aumenta marcadamente el intercambio de calcio celular en células cardiacas cultivadas.^{8,8}

Puesto que los mecanismos responsables de las conductancias iónicas son inherentemente probabilísticos, se pueden probar mediante el análisis de fluctuación. El análisis de fluctuación es una forma de obtener información acerca del sistema en estudio, a partir de las fluctuaciones espontáneas y al azar de las variables que se están midiendo, es decir el ruido producido por el sistema.^{1,3,6} El ruido producido por la corriente iónica de K y de Na, se ha estudiado en el axón gigante, y se ha encontrado que los datos obtenidos encajan muy bien dentro de la teoría que solamente permite dos posibles valores de conductancia en los canales.^{2,4} Se ha demostrado que en agregados de células cardiacas embrionarias, el aumento de la resistencia entre -70 y -50 mV (depolarización diastólica) probablemente se deba a un cambio en el número de canales con dos estados de conducción similares a los encontrados en el axón nervioso.^{3,2}

Fijación de voltaje en tejidos cardiacos

La mayor parte de nuestro conocimiento ac-

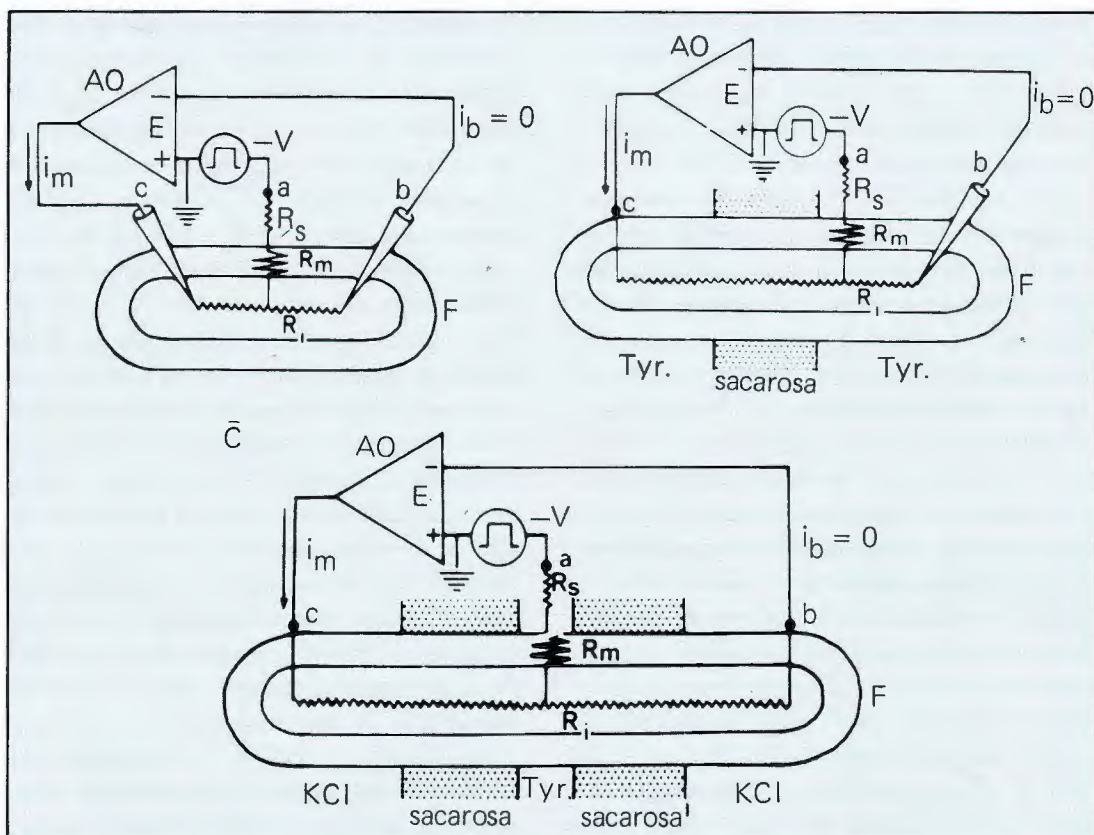


Fig. 2. Diagrama simplificado del dispositivo experimental para la fijación de voltaje, utilizando 2 microelectrodos (A), el puente sencillo de sacarosa (B) o el puente doble de sacarosa (C). El haz de fibras, F, se asimila a una sola fibra. Al inicio del experimento, el potencial de reposo registrado entre *a* y *b* se balancea por una fuente externa de potencial igual y de signo opuesto (que no se muestra) de tal manera que el voltaje E registrado por el amplificador operacional AO (un amplificador con una ganancia muy alta y una resistencia de entrada muy elevada) sea cero, en este caso el amplificador no proporciona corriente alguna. Para que la membrana sea depolarizada por un valor dado V, deberá aplicarse, como se muestra, un escalón de voltaje de valor $-V$ (pulso de comando). Este escalón de voltaje tiende a hacer E diferente de cero haciendo negativa la entrada negativa del amplificador, a través de R_s , R_m , R_i y el electrodo *b*. En consecuencia, el amplificador descarga casi instantáneamente una corriente, i_m , de tal manera que la corriente produce una caída de potencial igual a V a través de R_m cualquiera que sea su valor. Por lo tanto, el potencial de membrana se mantiene en el valor escogido. Esto sólo es cierto si R_s es muy pequeña en comparación a R_m (véase el texto y la fig. 3). La corriente i_m proporcionada por el amplificador fluye a través del electrodo (A) o a través del electrodo extracelular separado de uno central por medio de una solución no conductora (sacarosa, manitol, etc.) (B y C); es más, no puede fluir a través del electrodo *b*, puesto que el amplificador tiene una resistencia de entrada muy alta ($i = 0$). En consecuencia, esta corriente tiene que cruzar la membrana para llegar al electrodo *a* y es por ello una corriente transmembrana. R_m : resistencia de la membrana; R_i : resistencia interna; R_s resistencia en serie; Tyr: solución de Tyrode; en la técnica de doble puente de sacarosa generalmente se utiliza KCl isotónico en los compartimientos de los extremos para disminuir la resistencia de la membrana y permitir la medición de E_r entre *a* y *b*.

tual acerca de las conductancias iónicas en los tejidos cardiacos se ha obtenido de experimentos que utilizan métodos de fijación de voltaje (para una revisión, véanse las Refs. 43, 106, 124, 144, 159). Las diferentes técnicas, como

son, la de dos microelectrodos intracelulares, el puente de sacarosa y el doble puente de sacarosa (Fig. 2) han sido ampliamente revisadas y criticadas desde el punto de vista teórico.⁷⁷ La mayoría de estas críticas están justificadas,

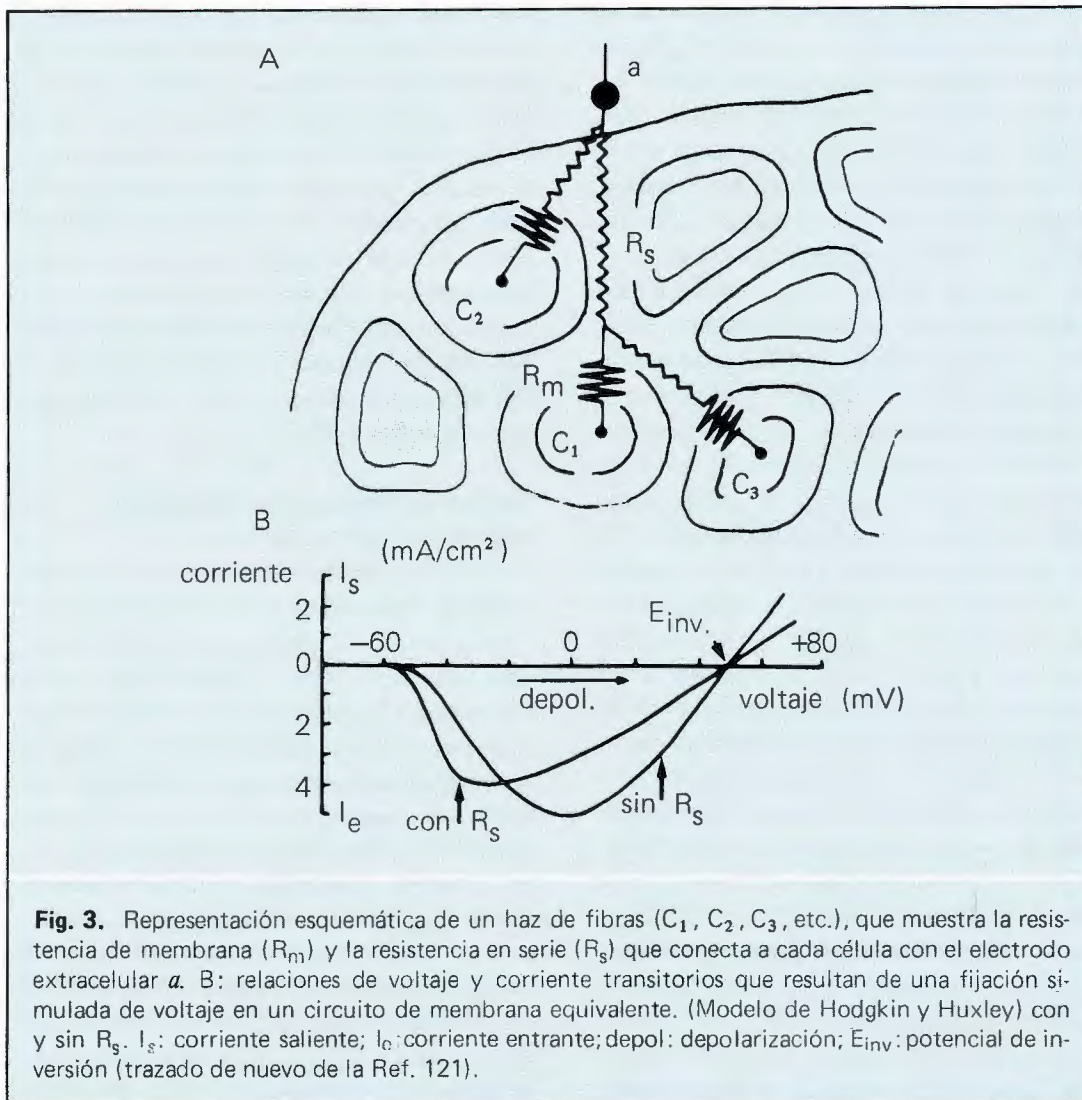


Fig. 3. Representación esquemática de un haz de fibras (C_1 , C_2 , C_3 , etc.), que muestra la resistencia de membrana (R_m) y la resistencia en serie (R_s) que conecta a cada célula con el electrodo extracelular a . B: relaciones de voltaje y corriente transitorios que resultan de una fijación simulada de voltaje en un circuito de membrana equivalente. (Modelo de Hodgkin y Huxley) con y sin R_s . I_s : corriente saliente; I_e : corriente entrante; depol.: depolarización; $E_{inv.}$: potencial de inversión (trazado de nuevo de la Ref. 121).

y es claro que deberán tomarse en consideración las limitaciones de la técnica debidas a la complejidad estructural del tejido cardíaco. Puesto que las corrientes de membrana varían con cambios de voltaje, uno de los requerimientos básicos en la fijación de voltaje es que éste sea el mismo en cada una de las partes de la membrana en la cual se mide la corriente. Sin embargo, esto es difícil de lograr debido al carácter multicelular de las fibras, y a las propiedades de cable inherentes a las mismas. Una de las limitaciones más serias proviene de la existencia de una resistencia eléctrica (R_s) que se encuentra en serie con la resistencia de la membrana (R_m) (Fig. 3). R_s se debe principalmente a la resistencia entre las hendiduras angostas y tortuosas que separan a cualquier célula colo-

cada en lo profundo del haz, y la solución fisiológica que baña la preparación y, por lo tanto, con el electrodo (a) y el amplificador para la fijación del voltaje. Cuando se aplica un escalón rectangular de voltaje (pulso de comando) al sistema (Fig. 2), el amplificador proporciona una corriente i_m a través de la preparación, es decir a través de R_m y R_s , de tal manera que la caída resultante de voltaje $i_m (R_m + R_s)$ iguala inmediata y exactamente al pulso de comando, no importando el valor de R_m . Mediante esta operación, el potencial de membrana deberá fijarse a cualquier valor escogido por el investigador. Sin embargo, la corriente i_m produce una caída de voltaje $i_m \cdot R_m$ a través de la membrana que necesariamente es diferente al cambio de potencial $i_m (R_m + R_s)$ aplicado a la

preparación por el amplificador. Este error en la fijación de voltaje, que es igual a $i_m \cdot R_s$, se considera generalmente prohibido cuando i_m se hace muy grande, como por ejemplo en el máximo de la corriente entrante rápida de sodio. La situación es mejor en preparaciones delgadas (100 a 200 μm de diámetro), en las cuales la corriente máxima no puede ser muy alta, y aun las células más profundas se encuentran más bien cercanas a la periferia, siempre y cuando la fibra permanezca en buenas condiciones y el acoplamiento eléctrico entre las células sea satisfactorio. Deberá notarse que el error en el voltaje de fijación debido a R_s cambia de dirección cuando se invierte la corriente que fluye a través de la membrana. Si, por ejemplo, consideramos un pulso de comando rectangular depolarizante, la depolarización que efectivamente se aplica a la membrana será mayor que el pulso de comando cuando la corriente de membrana producida por el pulso es entrante y menor cuando la corriente de membrana es saliente.¹²¹ En consecuencia, las relaciones de corriente-voltaje correspondientes a las corrientes se desplazan hacia potenciales más negativos, aunque el potencial de inversión de la corriente permanezca igual (Fig. 3B). Tarr y cols.¹³⁰ han realizado cálculos semejantes correspondientes a conductancia cardíaca. Puesto que R_s se encuentra distribuida y tiene un valor diferente para cada célula, es difícil compensarla, aunque su valor total se pueda estimar fácilmente.¹⁴⁰ Sin embargo, es posible hacer una compensación parcial.¹¹⁸ Una forma de eliminar el error en el voltaje de fijación $i_m \cdot R_s$, es medir el potencial de membrana cuando $i_m = 0$, por ejemplo, después de abrir el circuito de inyección de corriente por un periodo muy corto. Se ha propuesto un método como éste.^{13, 22, 164}

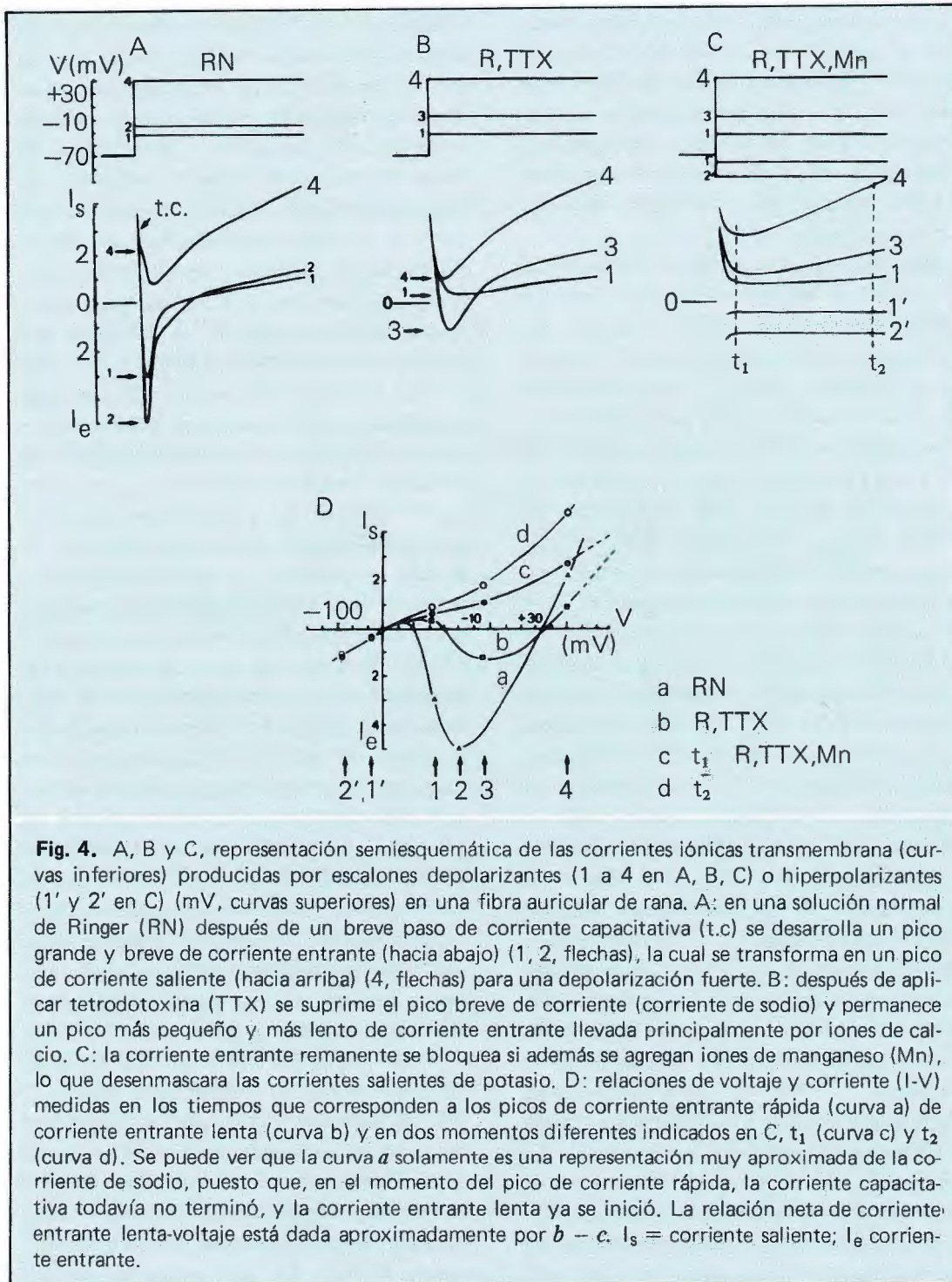
A pesar de las críticas mencionadas anteriormente y de otras (véanse Refs. 43 y 81) resultantes de la labilidad del acoplamiento intercelular, de la difusión de sucrosa en el segmento del haz colocado en el compartimiento de prueba (técnica del puente de sacarosa) o de la polarización de los puntos (técnica de dos microelectrodos), etc., la fijación de voltaje sigue siendo una de las técnicas más útiles para el estudio de los fenómenos eléctricos en los tejidos

cardíacos. Recientemente, De Hemptinne³⁴ demostró que el factor de error resultante de la presencia de la resistencia en serie es relativamente pequeño en las fibras auriculares de la rana estudiadas con la técnica del doble puente de sacarosa, cuando se utiliza el método de sellado con vaselina para separar los diferentes compartimientos líquidos. Los registros transmembrana con microelectrodos durante los experimentos de fijación de voltaje, utilizando este método, indicaron un control satisfactorio del voltaje, aun durante el flujo de la máxima corriente entrante.³⁴

Corrientes iónicas implicadas en la actividad eléctrica cardíaca

Corrientes depolarizantes. Cuando se aplican escalones depolarizantes de amplitud creciente a una preparación cardíaca, por ejemplo, a una fibra auricular de rana,¹³¹ ocurren cambios de corriente que se representan esquemáticamente en la Fig. 4. Muy al principio del pulso, fluyen corrientes transitorias grandes y breves (t.c. en la Fig. 4A) y que se deben a la carga de la capacitación de la membrana. En ausencia de R_s , tales corrientes transitorias serían infinitamente breves. Para escalones moderados de depolarización, se desarrollan grandes y breves picos de corriente entrante que desaparecen en soluciones de Ringer libres de Na o en presencia de tetrodotixina (TTX), lo cual indica que este pico temprano de la corriente entrante es producido por los iones de Na que cruzan la membrana a través de canales sensitivos a la TTX. Después de suprimir esta corriente, permanece un pico más lento y pequeño de corriente entrante (Fig. 4B) el cual se suprime, ya sea agregando manganeso (2-4 nM) a la solución de Ringer o eliminando tanto los iones de Ca como los de Na. En estas condiciones, persisten solamente las corrientes salientes (Fig. 4C) las cuales aumentan con el tiempo y son llevadas esencialmente por los iones de K.

De estos experimentos y de muchos más (véase las Refs. 102, 103, 138), se puede concluir que dos corrientes entrantes distintas contribuyen al desarrollo del potencial de acción en la mayoría de los tejidos cardíacos. Una corriente entrante rápida de Na, sensible a la TTX, es responsable de la fase inicial rápida de la de-



polarización; y una corriente entrante secundaria, sensible al manganeso, producida principalmente por los iones de Ca que fluyen a través de un canal lento, es responsable de la meseta del potencial de acción. Mientras más grande sea la corriente entrante, más rápida será la depolarización de la membrana. Por esta razón,

la velocidad máxima de depolarización (dV/dt_{max}) es proporcional al máximo de la corriente entrante neta medida en las curvas de I-V (Fig. 4D). Tanto los canales rápidos como los lentos están controlados por variables cinéticas de activación e inactivación, designadas respectivamente m y h para el canal rápido y d y

f para el canal lento. El canal lento puede aceptar iones de Na además de los iones de Ca,^{131,132} en especial después de eliminar los iones de Ca. Esto da como resultado las mesetas de larga duración que se registran en soluciones libres de Ca y Mg.⁴⁸ El litio no puede sustituir al Na en el canal lento, en contraste de lo que sucede en el canal rápido.²¹

Hay evidencia de que, en el miocardio del gato, el Na no contribuye en forma apreciable a la corriente entrante lenta¹⁵¹ mientras que sí lo hace en el miocardio del conejo¹¹² y en el nodo sinusal del conejo.^{83,91} Recientemente, se calculó que en el músculo papilar de la vaca el canal lento es 100 veces más permeable a los iones de Ca que a los de Na (o K); sin embargo, debido a la elevada $[Na]_i$ la contribución relativa de i_{Na} a la corriente entrante lenta puede alcanzar hasta aproximadamente un tercio de esta corriente entrante, cuando $E_m = 0$ mV en este tejido, y se hace aún mayor a un valor bajo de $(Ca)_e$.¹²⁷ El canal lento también acepta otros cationes divalentes tales como el estroncio y el bario;^{84,150} pero sólo acepta magnesio en grado reducido,⁸⁴ o definitivamente no lo acepta.^{21,122} Es bloqueado por manganesco, cobalto, níquel, lantano y algunos fármacos tales como el verapamil y el D600 (véanse Ref. 84, 124, 126, 159), aunque en ciertos tejidos, el manganesco puede penetrar a las células cardiacas.^{36,113} Por otra parte, la adrenalina aumenta g_{Ca} ,^{122,149} un efecto que probablemente sea mediado por el AMP cíclico intracelular,^{125,146,152} y que se puede deber a un aumento en el número de canales lentos funcionales.¹²⁸ Por ésta y otras razones, se ha sugerido que se requiere continuamente energía metabólica para mantener el canal lento.¹³⁵ La disminución de la corriente entrante lenta, observada durante la inhibición metabólica,¹⁰¹ véase también la Ref. 26, puede atribuirse a una disminución tanto en g_{Ca} como en el gradiente electroquímico neto para los iones de Ca, siendo esta última causada por un aumento en el calcio intracelular libre producido por el envenenamiento metabólico.

La constante de tiempo de la inactivación, t_h , del canal rápido de Na (cierre de la compuerta h) se ha estimado en 1.2 ms en las fibras auriculares de la rana, a un valor de E_m de alre-

dedor de 0 mV.¹³¹ Para la corriente lenta, la constante de tiempo correspondiente, t_f , se ha medido, en función del potencial, con resultados algo diferentes según diversos autores (véase Ref. 68). Sin embargo, parece que la relación es similar a la obtenida para otras conductancias del tipo descrito por Hodgkin Huxley (Fig. 5). Los experimentos de fijación de voltaje han mostrado claramente que la corriente entrante lenta tiene un umbral más positivo que la corriente rápida de Na. En forma más precisa, como se muestra en la Fig. 5, las curvas que dan los valores estacionarios de las variables de activación e inactivación en función del potencial de membrana son aproximadamente de 30-40 mV menos negativos para g_{Ca} que para g_{Na} .¹²⁴ Esto explica porqué, cuando una fibra sufre depolarización parcial, el canal rápido se inactiva parcialmente, o aún completamente, según el valor de la depolarización; mientras que el canal lento Ca permanece completamente activable. Es por esta razón que, en estas condiciones, ocurren potenciales de acción de desarrollo lento y que, por ende, son conducidos lentamente (véase Ref. 29). La misma situación ocurre en las células marcapaso verdaderas del nodo seno-auricular, en las cuales el canal rápido se inactiva completamente como resultado del bajo potencial de disparo.⁸⁷ Puesto que los canales rápido y lento se encuentran completamente cerrados a potenciales de reposo elevados, tiene que suponerse la existencia de otra fuente de corriente para explicar porqué E_T es menos negativo que E_K . Esta corriente entrante de fondo probablemente es causada principalmente por el flujo de iones de sodio (véase Ref. 95) que fluyen a través de una vía insensible al potencial. Es interesante saber si los canales rápidos y lentos sufren una inactivación completa durante pulsos depolarizantes grandes y de larga duración. Si esto no sucede, las corrientes entrantes de Na y Ca en el estado estacionario pueden participar en el desarrollo de las mesetas de larga duración. De acuerdo a Reuter,¹²³ g_{Na} muestra inactivación incompleta en las fibras de Purkinje; pero no se han reportado observaciones similares en el miocardio. Más aún, la TTX no acorta en forma apreciable la meseta del potencial de acción ventricular,²⁷ mientras que sí deprime la de las fibras de Purkinje.¹⁹

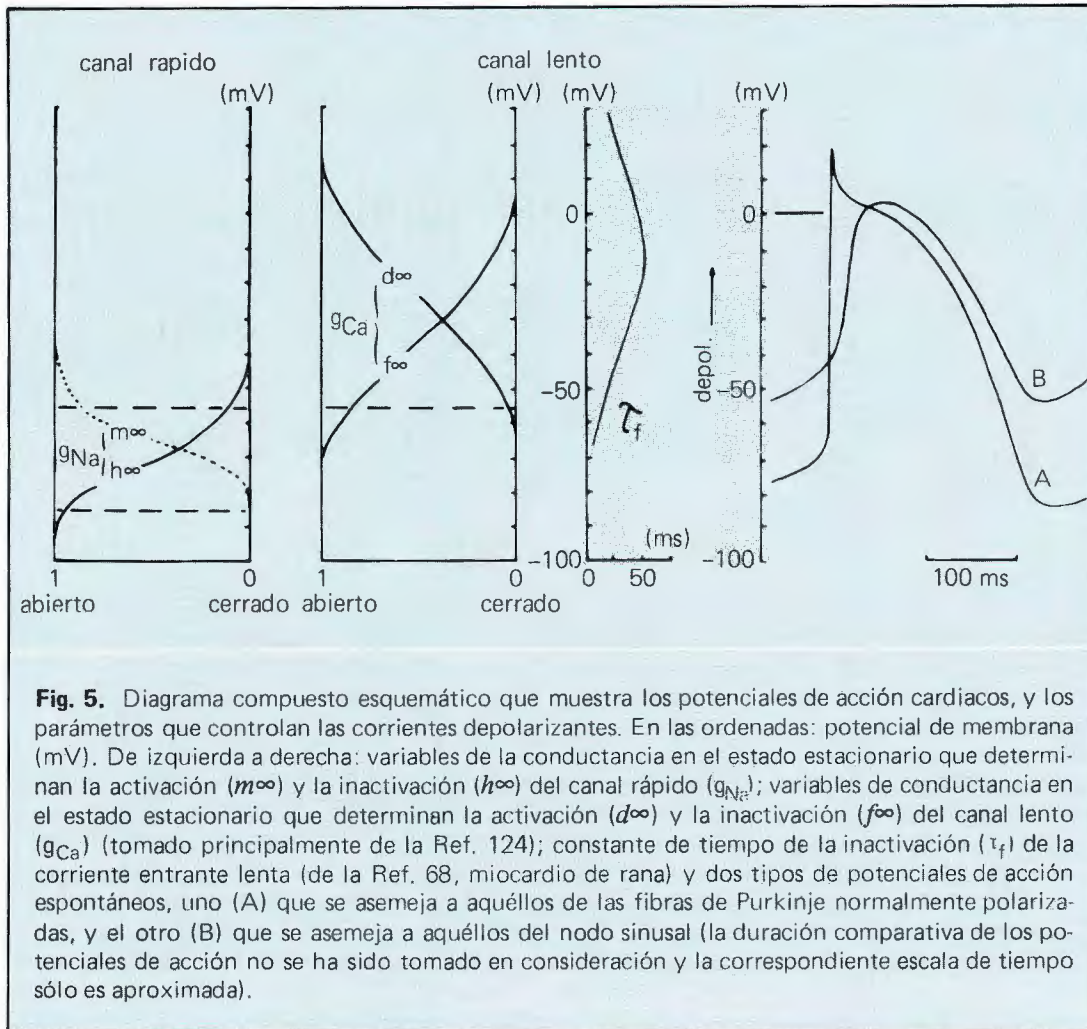


Fig. 5. Diagrama compuesto esquemático que muestra los potenciales de acción cardiacos, y los parámetros que controlan las corrientes depolarizantes. En las ordenadas: potencial de membrana (mV). De izquierda a derecha: variables de la conductancia en el estado estacionario que determinan la activación (m^∞) y la inactivación (h^∞) del canal rápido (g_{Na}); variables de conductancia en el estado estacionario que determinan la activación (d^∞) y la inactivación (f^∞) del canal lento (g_{Ca}) (tomado principalmente de la Ref. 124); constante de tiempo de la inactivación (τ_f) de la corriente entrante lenta (de la Ref. 68, miocardio de rana) y dos tipos de potenciales de acción espontáneos, uno (A) que se asemeja a aquéllos de las fibras de Purkinje normalmente polarizadas, y el otro (B) que se asemeja a aquéllos del nodo sinusal (la duración comparativa de los potenciales de acción no se ha sido tomado en consideración y la correspondiente escala de tiempo sólo es aproximada).

Una parte considerable de la corriente que fluye a través del canal lento en las fibras de Purkinje tampoco parece resultar inactivada.¹²³ Esta situación se puede interpretar suponiendo que algunos de los canales no poseen compuertas de inactivación; sin embargo, hay que mencionar que una corriente entrante estacionaria también puede cruzar un canal lento o uno rápido, aun cuando cada canal posea una compuerta de inactivación. Esta corriente fluiría cuando la depolarización aplicada a la membrana sea suficientemente grande para abrir parcialmente la compuerta m (o d), y demasiado pequeña para cerrar completamente la compuerta h (o f) sobreposición de m^∞ y h^∞ o de d^∞ y f^∞ , Fig. 5).

Una característica importante de la electrofisiología cardiaca es la forma en que las corrientes depolarizantes se recuperan de la inac-

tivación (recuperación de la inactivación, supresión de la inactivación, o reactivación). De acuerdo al modelo de Hodgkin-Huxley, la constante de tiempo de la inactivación (cierre de la compuerta h , véase Fig. 1) y la constante de tiempo de la reactivación (reapertura de la compuerta h) debe ser la misma para un potencial dado. La recuperación de la conductancia al Na a nivel del potencial de reposo tiene una constante de tiempo de aproximadamente 10 ms en el nervio. Weidmann¹⁵⁵ también demostró que esta recuperación, medida como la recuperación de la velocidad máxima de depolarización del potencial de acción (dV/dt_{max}), era más bien rápida en las cercanías del potencial de reposo en las fibras de Purkinje. Sin embargo, en el músculo auricular de la rana, se han observado tiempos mucho más largos (500-1,000 ms) para la recuperación completa de dV/dt_{max} de un

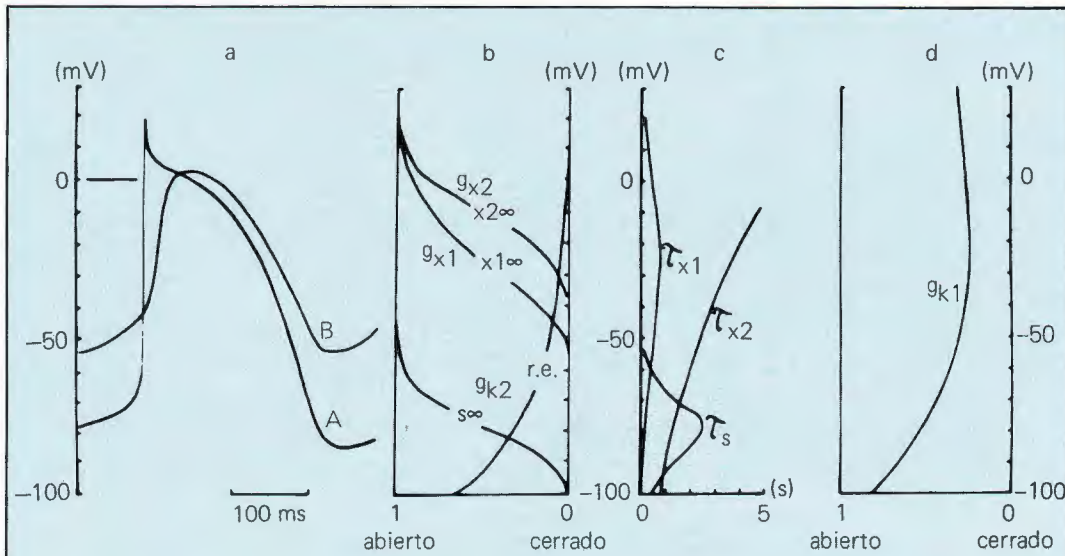


Fig. 6. Diagrama compuesto esquemático que muestra los potenciales de acción y los parámetros que controlan las corrientes repolarizantes. En las ordenadas: potencial de membrana (mV). En *a*: los mismos potenciales de acción que en la fig. 5. En *b*: variables de conductancia en el estado estacionario (s_{∞} , $x_{1\infty}$, $x_{2\infty}$) que determinan la activación de las corrientes salientes dependientes de tiempo y voltaje (las conductancias correspondientes se han designado con g_{K2} , g_{x1} , g_{x2}), r.e. corresponde aproximadamente al rectificador de entrada, independiente del tiempo, que controla a g_{K2} (de las Refs. 107, 108), En *c*: constantes de tiempo de activación (τ_s , τ_{x1} , τ_{x2}) de i_{K2} , i_{x1} , i_{x2} (modificado de la Ref. 109). En *d*: aproximación de la conductancia g_{K1} , independiente del tiempo, que muestra rectificación de entrada (modificado de la Ref. 107). Con el objeto de dar mayor claridad, en este diagrama se han omitido el rectificador de entrada que controla a g_{x1} y la corriente dinámica positiva.

potencial de acción consecutivo a una respuesta previa (tiempo necesario para dV/dt_{\max} para alcanzar su valor máximo de nuevo) así como para la recuperación completa de la corriente de Na.⁵⁸ Se ha propuesto que no sea una compuerta, sino dos compuertas con diferentes constantes de tiempo las que controlan el proceso de inactivación del canal de Na. Si estas compuertas se encuentran en serie a lo largo del canal, puede entenderse fácilmente que sea la compuerta más rápida la que controla la inactivación, mientras que la compuerta más lenta controla la reactivación. Gettes y Reuter⁴⁹ han confirmado que la constante de tiempo de la reactivación es muy lenta para dV/dt_{\max} (i_{Na}); pero depende de E_m , siendo de 10-20 ms para valores de E_m entre -90 y -80 mV, y alcanzando 50 ms para $E_m = -70$ mV y de 125-150 ms para $E_m = -60$ mV, cualquiera que sea el tejido estudiado. En contraste, esos mismos autores han encontrado que las constantes de

tiempo de la inactivación y de la reactivación de la corriente entrante lenta de Ca son idénticas mientras que Kohlardt y col. han encontrado que las dos constantes difieren,⁸⁵ y proponen dos compuertas de inactivación diferentes en el miocardio de gato. Después de una respuesta, la recuperación de la inactivación de la corriente de entrada lenta determina la recuperación de la meseta del potencial de acción. Puesto que el canal lento se vuelve a abrir más lentamente que el canal rápido a valores grandes de E_m (más negativo que -70 mV), pero más rápidamente a valores inferiores de E_m , al menos en el músculo papilar del cuyo,⁴⁹ puede comprenderse por qué, en fibras parcialmente depolarizadas, la meseta se recupera más rápidamente que la espiga, por ejemplo en las fibras de Purkinje normales. En forma inesperada, se ha observado que, en el miocardio de gato y de perro, el curso temporal de la recuperación de la fase de meseta puede exhibir un periodo tran-

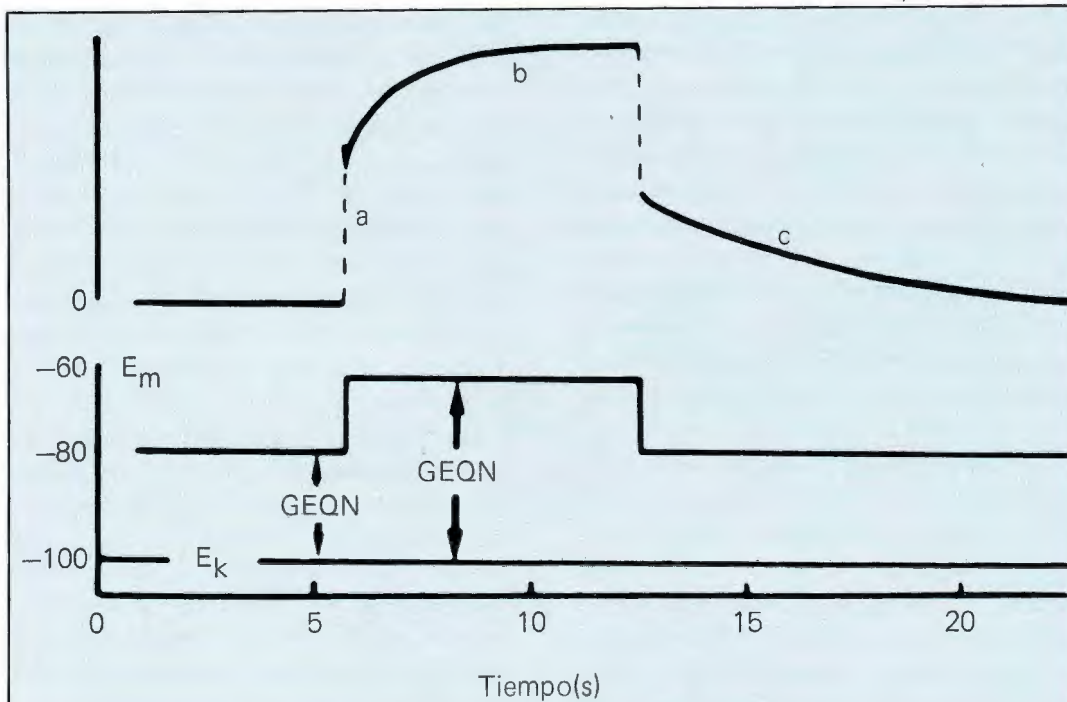


Fig. 7. Corriente saliente (I_s , trazo superior) producida por un pulso depolarizante (trazo inferior) en el nivel del potencial marcapaso de la fibra de Purkinje. La corriente saliente, mostrada como una deflexión hacia arriba, se compone de tres partes. *a*: es principalmente consecuencia de un aumento brusco en el gradiente electroquímico neto (GEQN) para los iones de K que fluyen a través de g_{K1} y a través de la pequeña proporción de canales g_{K2} abiertos a valores $E_m = -80$ mV (sin embargo, ambas corrientes se encuentran restringidas por una rectificación de entrada casi instantánea debido a la depolarización de -80 a -60 mV). *b* es causado por el aumento progresivo en g_{K2} durante el pulso (aumento dependiente del tipo de la variable s). Después del pulso la corriente de cola (*c*) corresponde a una disminución progresiva en la corriente saliente como una consecuencia de la desactivación de g_{K2} . Nótese que la evolución de i_{K2} es más rápida durante el pulso que después del mismo, puesto que t_s es menor a -60 mV que a -80 mV (modificado de la Ref. 107).

sitorio de aumento en la amplitud de la meseta por arriba de su valor control junto con un aumento de la contracción⁵ y de la corriente entrante lenta.⁶⁴

Corriente repolarizante. Regresando a la Fig. 4C, donde se han bloqueado las corrientes entrantes rápida y lenta, puede verse que, si medimos las corrientes remanentes (principalmente corrientes de K) al principio de los escalones (t_1 en la Fig. 4C), éstas son mayores para los escalones hiperpolarizantes que para los depolarizantes de la misma magnitud (por ejemplo pulsos 1 y 2 en la Fig. 4C). En consecuencia, la curva con puntos de la Fig. 4D no es una línea recta, sino que muestra una inflexión hacia abajo cuando la membrana se depolariza. Esto

muestra que los iones de K atraviesan más fácilmente la membrana cuando entran que cuando salen. Esta rectificación hacia adentro (anómala), que indica una disminución de g_K cuando la membrana se depolariza,^{17 28 31 70} aparece tan pronto como termina la corriente capacitativa, por lo tanto casi instantáneamente. Por esta razón, se le considera como un fenómeno independiente del tiempo¹⁰⁴ y se puede representar como un canal sólo controlado por un sistema al cual hemos designado III en la Fig. 1C, a. La conductancia del canal en función de E_m se indica aproximadamente en la Fig. 6; este sistema, g_{K1} , corresponde a la conductancia de fondo de la membrana cardíaca para los iones de K (véase Ref. 95). Se ha ob-

servado que la curva que relaciona la corriente que fluye a través de g_{K1} con el potencial de membrana ($i_{K1} - E_m$) depende de $[K]_e$. Para dos valores diferentes de $[K]_e$ las curvas se cruzan en forma característica; esta situación se ha atribuido al hecho de que la conductancia es una función del gradiente electroquímico neto $E_m - E_k$ (véase Ref. 95). La naturaleza de la rectificación de entrada no está muy clara, aunque se han ofrecido diferentes explicaciones al respecto (véase Ref. 2 y 42). Para hiperpolarizaciones grandes, se ha observado recientemente una rectificación de salida.^{3,5}

Se han descrito varias otras corrientes repolarizantes en las fibras de Purkinje (véase Ref. 109). Dos de ellas, designadas como i_{K2} e i_{x1} son de especial interés, i_{K2} es una corriente pura de K y se ha descrito en las fibras de Purkinje (Fig. 7). La correspondiente conductancia, g_{K2} , se rige por los mecanismos I y II (Fig. 1C, a). Se activa cuando el potencial de membrana se encuentra entre -100 y -50 mV, esto es, en el nivel de los potenciales del marcapaso de las fibras de Purkinje. El valor estacionario, S_∞ , de la variable de activación s , su constante de tiempo t_s , y la conductancia relativa del componente rectificador instantáneo se muestran en la Fig. 6 como una función de E_m . Cuando la membrana se depolariza rápidamente, por ejemplo de -90 a -50 mV o a valores menos negativos, g_{K2} se vuelve menos conductora (aunque su compuerta dependiente del tiempo se abre rápida y completamente) debido al cierre del rectificador instantáneo. Por esta razón, i_{K2} no participa mucho en la repolarización de la membrana durante la meseta del potencial de acción, pero sí es responsable de la hiperpolarización transitoria que sigue al potencial de acción. La amplitud de i_{K2} está reducida en soluciones libres de Na^{108} y la conductancia del componente rectificador instantáneo depende de la $[K]_e^{107}$. Esta corriente no parece existir en el miocardio. La corriente de repolarización i_{x1} , que no es una corriente pura de K, también se rige por los mecanismos I y III; pero la función rectificadora (que no se muestra en la Fig. 6) sólo cierra el canal parcialmente cuando la membrana se depolariza. El mecanismo de compuerta que controla i_{x1} , se activa a nivel de la meseta (-50 hasta $+20$ mV). Debido al

valor de su constante de tiempo en este nivel de potencial, i_{x1} desempeña un papel importante en la terminación del potencial de acción en las fibras de Purkinje.^{9,5} La importancia de i_{x1} parece ser menor en el miocardio,^{9,7} aunque en el gato y en el cuyo^{7,9} i_{x1} es mayor que en la ternera y la oveja.^{9,7} Esto también se demuestra por el hecho de que un aumento en la amplitud de la meseta producido eléctricamente al activar x_1 , origina una corriente saliente mayor, acorta el potencial de acción de las fibras de Purkinje;^{7,8} Mientras que, en el miocardio, esta maniobra no acorta el potencial de acción,^{3,0} o inclusive lo alarga.^{6,12,7} Así i_{K1} e i_{x1} se pueden describir con variables del tipo Hodgkin-Huxley no elevadas a ninguna potencia. Otra corriente, i_{x2} , que no posee propiedades rectificadoras, tiene una cinética muy lenta en el nivel de la meseta y por ello aumenta suficientemente en el curso de un potencial de acción como para ser un factor importante en la repolarización.^{10,8} También se han descrito corrientes muy similares a i_{x1} e i_{x2} en el miocardio de rana.^{16,114}

Más recientemente, se han descrito dos componentes más de las corrientes repolarizantes (i_x , rápida; i_x , lenta) en las fibras auriculares de la rana¹⁴ utilizando un dispositivo con cuatro electrodos en lugar de tres, como se hizo en un estudio anterior,¹⁶ y utilizando un método diferente de análisis. Obviamente, el análisis se hace difícil por el flujo de una corriente (i_{acc}) que proviene de cambios en el gradiente electroquímico neto como resultado de la acumulación de potasio. En la aurícula de la rana, la corriente previamente designada como i_{x2} ¹⁶ probablemente es la combinación de i_x lenta con i_{acc} , mientras que i_{x1} parece ser una mezcla de i_{x1} rápida con i_x lenta. Hay que hacer notar que el calificativo de rápida se refiere a la tasa de disminución de i_x rápida a potenciales de membrana negativos; a potenciales positivos, esta corriente es de hecho más lenta que i_x lenta.¹⁴ Ignorar la corriente de acumulación puede llevar en algunas situaciones a una sobreestimación por un factor de tres en el valor de i_x lenta. La principal característica de i_x rápida es su inicio sigmoideo. Esto contrasta con otras corrientes salientes descritas arriba, pero que ya habían sido observadas por De Hemtine.^{3,3}

Las curvas de activación para i_x rápida e i_x lenta tiene posiciones similares en el eje de voltaje.¹⁴

Otra corriente saliente repolarizante se ha observado en las fibras de Purkinje en respuesta a una depolarización fuerte. Esta corriente, llamada corriente positiva dinámica¹¹⁷ o corriente saliente inicial¹²³ aparentemente es producida por los iones de cloro que entran a la célula; el curso temporal de la inactivación y reactivación de esta corriente es claramente dependiente del voltaje.⁴⁴ Esta corriente parece ser responsable de por lo menos una parte de la repolarización inicial del potencial de acción de la fibra de Purkinje (incluyendo la muesca observada a menudo al principio de la meseta). El primer efecto del acortamiento del intervalo diastólico es, de hecho, reducir o abolir la muesca previniendo la reactivación completa de esta corriente saliente inicial.⁶⁰ Los iones de cloro también parecen contribuir a la repolarización del potencial de acción ventricular, puesto que la duración del potencial de acción en un medio libre de Cl se encuentra marcadamente aumentada.⁶ Sin embargo, en ausencia de Cl externo, ocurre también una disminución en la conductancia al K que puede ser en parte responsable del fenómeno observado,¹⁸ de tal manera que la corriente positiva dinámica bien puede no ser una corriente de cloro. Recientemente, se sugirió que la inactivación de la corriente positiva dinámica podría atribuirse a la acumulación de potasio en los espacios extracelulares y/o de cloruro dentro de la célula.⁷

El automatismo cardiaco se debe al desarrollo, durante la diástole, de una depolarización lenta que progresivamente lleva el potencial de membrana al valor crítico (potencial umbral), a cuyo nivel se inicia una respuesta regenerativa. Puesto que la membrana se depolariza cuando i_{entrante} es mayor que i_{saliente} , el desarrollo de la depolarización diastólica lenta presupone: 1) la existencia de una corriente diastólica entrante, y 2) que la corriente que puede satisfacerse ya sea por un aumento de la corriente entrante, por una disminución de la corriente saliente, o por ambos hechos. La observación de que la resistencia de la membrana aumenta durante la depolarización diastólica (153) sugiere que el principal fenómeno implicado es una

disminución en g_K ^{79,145} En las fibras de Purkinje polarizadas normalmente, el potencial del marcapaso se debe a una disminución progresiva en g_{K2} . Como ya se dijo antes, la compuerta dependiente de tiempo que controla i_{K2} se abre durante la meseta del potencial de acción, mientras que se cierra el rectificador instantáneo. A medida que se desarrolla la repolarización, debida a otras corrientes, el rectificador se abre y, una vez completada la repolarización, la compuerta dependiente de tiempo se cierra muy lentamente (desactivación de i_{K2}) puesto que r_s es grande a nivel potencial de reposo. Esta desactivación de i_{K2} produce una depolarización progresiva que, al final, se acelera por la disminución, independiente del tiempo, de la función del rectificador, originada por la misma depolarización diastólica.¹⁰⁷ En fibras de Purkinje parcialmente depolarizadas en las cuales i_{K2} ya no muestra dependencia del tiempo ($s_{\infty} = 1$, a cualquier valor de E_m menos negativo que -50 mV) y se encuentra muy reducida por la rectificación de entrada, el mecanismo del marcapaso resulta de una desactivación similar de i_{x1} .⁵⁹

La desactivación de una corriente de K del tipo de x_1 también es responsable principalmente de la depolarización diastólica observada en fibras auriculares de la rana que han sido activadas repetitivamente por corrientes depolarizantes,^{14,90} y en el nodo sinusal del conejo.^{72, 11} En el conejo¹¹ la corriente saliente (probablemente una corriente pura de K, puesto que su potencial de inversión está alrededor de -100 mV para $[K] = 2.7$ mM), se activa a niveles de potencial entre -50 y -20 mV, mientras que en las fibras del seno venoso de la rana, espontáneamente activas, la corriente correspondiente se activa a niveles entre -85 y 0 mV.¹⁵

Control de la conductancia al potasio por el calcio intracelular

La proposición¹⁶² de que un aumento en el calcio libre dentro de los eritrocitos lleva a un aumento de la permeabilidad de la membrana al K, se ha confirmado en neuronas, donde la inyección de iones de Ca en efecto produce un aumento en la permeabilidad al potasio (véase Ref. 99). Esta observación ha estimulado la búsqueda de un mecanismo similar en las fibras

cardiacas, aunque este mecanismo no existe en todos los tejidos; por ejemplo, se encuentra ausente en el axón gigante.⁹ Un control de g_K por la concentración interna de Ca, $[Ca]_i$, podría de hecho ser responsable de varias observaciones que no tienen explicación, por ejemplo podría explicar por qué un aumento de la $[Ca]_e$ produce elevación y un acortamiento de la meseta (véase Ref. 78). Si el primer efecto es fácilmente explicable por un aumento en i_{Ca} que resulta de un incremento en el gradiente electroquímico neto para este ion, el último podría ser consecuencia de un incremento en g_K resultante de la elevación de la $[Ca]_i$, consecutiva a su vez al aumento de la corriente entrante de calcio.

En la fibra de Purkinje, las inyecciones intracelulares iontoforéticas de Ca por medio de microelectrodos simples o dobles, produce en el sitio de inyección una hiperpolarización transitoria apreciable (7–19 mV) y un marcado acortamiento de potencial de acción (=40 por ciento) que desaparece con una constante de tiempo de aproximadamente 0.5.73 Cuando se aumenta la concentración intracelular de Ca por diferentes métodos (depolarización repetitiva, disminución de la $[Na]_e$ asociada a la adición de cianuro) la corriente saliente independiente del tiempo, aumenta en trabéculas ventriculares de ternera o de oveja. Cuando este aumento fue causado por las depolarizaciones repetitivas, el aumento fue menos marcado después de la aplicación de bloqueadores de la corriente de Ca, tales como el verapamil o el D600, mostrando así que i_{Ca} es parcialmente responsable del aumento de la $[Ca]_i$.⁶ Un aumento semejante en i_{K1} .⁶ Un aumento semejante en i_{K1} también se observó en fibras de Purkinje cortas sometidas a un medio rico en Ca; pero, en este caso, i_{Ca} no parecía ser muy importante en el aumento de i_{K1} dependiente del Ca.⁷⁸

Sin embargo, esto no excluye la posibilidad de que el factor que controla i_{K1} sea la $[Ca]_i$, puesto que el Ca puede entrar a la célula a través de otras vías que no sean el canal lento; por ejemplo, el sistema de intercambio Ca-Na.⁵³ El problema de si otras corrientes repolarizantes tales como i_{K2} e i_{K1} también son dependientes del Ca es menos claro. Las soluciones ricas en Ca desplazan la dependencia del voltaje de la

apertura de g_{K2} hacia potenciales menos negativos; pero no parecen aumentar i_{K2} ,⁷⁸ aunque se ha observado un aumento en i_{K2} después de inyecciones intracelulares de Ca.⁷⁴ También se ha sugerido que las corrientes salientes que fluyen a nivel de la meseta se generan por cambios en el Ca intracelular libre,⁹⁸ aunque otras observaciones muestran que los iones de Ca no favorecen la iniciación de la corriente de K retardada, i_{x1} .⁷⁸

Control del acoplamiento intercelular por el calcio interno

Las células cardiacas, como muchos otros tipos de células se acoplan por uniones semi-cerradas¹³⁰ o por nexos que corresponden a áreas de membrana en aposición muy cercana cruzadas por partículas tubulares o por conexiones que muestran diversos grados de empalme en un diseño reticulado hexagonal. Cada conexión, que se ha supuesto compuesta de un dímero de hexámeros de la proteína de la unión semicerrada llamada “conectina”, se comporta como un canal permeable de citoplasma a citoplasma (para una revisión véase la Ref. 54). En las fibras auriculares de la rana, las partículas de unión a menudo se encuentran distribuidas en hileras o círculos,⁹⁴ estructura que también existe en las células cardiacas embrionarias de mamífero.⁵⁵ Se ha mostrado en células no cardiacas (embrión de tritón) que las conductancias específicas de la membrana de unión son mucho más grandes que en las membranas que no son de unión; se ha obtenido un valor de 10 –10 mho para un canal único, como el límite inferior de la conductancia, mientras que el aislamiento para el canal individual llega a ser mayor 1012 &.⁹²

En las fibras de Purkinje, en base al análisis de las propiedades de cable, se sabe desde hace tiempo, que la resistencia longitudinal interna es tan baja (1, 2 ó 3 veces menor que la de la solución de Tyrode) que los contactos de célula a célula deben ser del tipo de baja resistencias (154, véase también la Ref. 158). Se ha demostrado que si la mitad de un haz de fibras ventriculares se carga con potasio radioactivo y la otra mitad se lava con solución de Tyrode, la constante de espacio promedio para la disminución de la concentración de potasio marcado

corresponde a una distancia de aproximadamente 12 veces la longitud de una célula, lo cual indica un valor bajo para la resistencia del disco.

La resistencia promedio de los discos intercalares al movimiento de los iones de K se ha estimado en $3 \times 10^7 \text{ cm}^2$. Sin embargo, confirmando estudios previos,^{1,3,3} recientemente se ha deducido de mediciones comparativas de la resistencia transversa con la longitudinal que los discos intercalares son membranas de alta resistencia.^{1,3,4} Actualmente, parece difícil reconciliar esta conclusión con la observación de que en el músculo ventricular la permeabilidad al tetraetilamonio de las membranas del nexo sea 21,000 veces mayor que la permeabilidad de la membrana superficial,^{1,6,0} y que, en las fibras de Purkinje, el amarillo de proci6n, un colorante con peso molecular cercano a 700, sea capaz de difundir intracelularmente, desde un extremo recién cortado del haz, a través de aproximadamente 20 células en sucesión en un periodo de 4 horas en tanto que no hay absorción detectable de la substancia a través de la membrana periférica superficial intacta.^{7,1} En base a estos estudios de difusión, se puede proponer que los poros de la membrana del nexo de los discos intercalares, probablemente tengan un diámetro ligeramente mayor de 1 nm,^{1,6,0} valor que encaja bien con el tamaño (aprox. 2 nm de diámetro) del núcleo denso y teñido que se observa en el centro de cada partícula del nexo.^{5,4}

Hasta ahora, no hay dato alguno de que la permeabilidad iónica de las membranas cardiacas del nexo pueda depender del voltaje o del tiempo, aunque se sabe que algunas otras sinapsis eléctricas, tales como las sinapsis motoras gigantes del acocil, muestran propiedades rectificadoras.^{4,7} Un punto firmemente establecido hoy en día es que, en diversos tejidos, la permeabilidad de las membranas del nexo depende grandemente de la concentración intracelular de Ca. En la glándula salival, ocurre un desacoplamiento muy marcado de las uniones intracelulares cuando la concentración citoplasmática de la región de la unión es mayor de $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (véase Ref. 92). Sin embargo, puede producirse un desacoplamiento parcial a $[\text{Ca}]_i$ menores, presumiblemente en el orden de 10^{-7} a $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$.^{3,8} En tejidos cardiacos se ha demostrado que

las inyecciones de Ca o de Sr producen un aumento eléctrico.^{4,0} Recientemente, Wojte-zark^{1,6,5} observó aumentos similares en la resistencia interna longitudinal (asociada con una contractura) en trabécula ventriculares perfundidas con una solución hipóxica de Tyrode libre de glucosa; mientras que la elevación de la concentración de glucosa hasta 50 mM impedía la contractura y reducía marcadamente el desacoplamiento eléctrico parcial. Aquí de nuevo, el desacoplamiento se puede atribuir a un aumento en la $[\text{Ca}]_i$ resultante de la liberación de Ca a partir de depósitos intracelulares, principalmente de las mitocondrias. Por lo tanto el desacoplamiento de las células cardiacas por el Ca se debe considerar como un fenómeno que puede ocurrir cada vez que las células cardiacas se encuentran en un estado de depleción de energía o cuando los transportes activos están inhibidos.^{4,1}

Es probable que mientras más baja sea la densidad de las uniones semicerradas, las alteraciones de la conducción sean más marcadas. La mínima densidad parece existir en las células del nodo en las cuales la velocidad de difusión intracelular de fluorescencia es por lo menos tres órdenes de magnitud más baja que en otros tejidos cardiacos. Por esta razón, inclusive se ha puesto en duda la posibilidad de la propagación de célula a célula en este tejido.^{1,19}

Transportes activos electrogénicos

Si un transporte acoplado expulsa más cationes de una valencia dada que los que introduce, se expulsa un exceso de cargas positivas del interior de la célula dando origen a una corriente saliente repolarizante. Por el contrario, se desarrollaría una corriente entrante depolarizante si se introducen más cationes que los que se expulsan. En ambos casos, el transporte es electrogénico; por el otro lado, si el número de cargas del mismo signo que se transportan en ambas direcciones es igual, el transporte es eléctricamente neutro.

La electrogenecidad de la bomba de Na (véase Ref. 56, 93, 142) se ha aceptado desde hace tiempo: desde que se estableció, hace 20 años, que en los eritrocitos se transportan activamente dos iones de potasio al interior de la célula por cada tres iones de sodio que se expulsan

(para bibliografía véase la Ref. 20). Una razón similar de acoplamiento se ha medido en las neuronas del caracol,¹⁴¹ lo que convierte a la bomba de Na en un sistema repolarizante.¹⁴¹ Sin embargo, el grado de acoplamiento varía de acuerdo al tejido que se esté estudiando y a las condiciones experimentales. En la aurícula de rana, los datos obtenidos favorecen la idea de un acoplamiento variable entre el transporte de Na y de K.⁵⁶ Suponiendo que la bomba produce una corriente I_B y que R^m es la resistencia de la membrana, el cambio producido en el potencial de membrana por el transporte electrogénico será de $V = I_B \cdot R^m$. Por ello, una bomba electrogénica modificará al potencial de membrana más marcadamente si la resistencia de la membrana es elevada. Probablemente, cualquier bomba electrogénica está influenciada por el potencial de membrana (véase Ref. 93), de tal manera que una gran positividad externa (hiperpolarización) tiende a prevenir, o inclusive a invertir, el movimiento de salida de las cargas positivas llevadas por la bomba, mientras que la depolarización de la membrana tiende a aumentarlo. Desde este punto de vista, una bomba electrogénica se podría caracterizar por un potencial de equilibrio de transporte.⁵⁶ Sin embargo, los resultados experimentales no permiten llegar a una conclusión clara en cuanto a si el funcionamiento de la bomba de Na es dependiente o independiente del potencial de membrana. En el músculo esquelético, se ha sugerido que la depolarización de la membrana, más allá de -70 mV, estimula intensamente la salida de Na,⁶⁹ y se ha considerado que la corriente de la bomba se invierte (convirtiéndose en una corriente depolarizante) cuando el potencial de membrana es más negativo que -95 mV;¹³⁷ pero, en otros casos,^{66,143} la hiperpolarización no inhibió la bomba. En las fibras Purkinje, se ha demostrado que la corriente saliente atribuida a la bomba de Na electrogénica es independiente del voltaje.⁷⁵

En los tejidos cardiacos, la hipótesis de una bomba de Na electrogénica fue propuesta por primera vez por Deleze.³⁷ Más tarde, Page y Storm¹¹⁶ observaron que en el músculo papilar del gato, en el cual por enfriamiento se había disminuido previamente el contenido de K y aumentado el contenido de Na, el calentamiento

rápido llevaba a E_m a un valor negativo que el valor calculado de E_K ; este fenómeno era inhibido por la ouabaína. Glitsch⁵⁰ describió un aumento transitorio similar de E_m mayor que E_K en la aurícula del conejo durante la recuperación posterior a la hipotermia en un medio de bajo contenido de K. También se ha descrito actividad electrogénica de la bomba de Na en las fibras de Purkinje^{63,147,163} y en el nodo sinusal del conejo.¹¹⁰ Según Vasalle¹⁴⁷ la bomba de Na se vuelve electrogénica en las fibras de Purkinje cuando la frecuencia de estimulación es más rápida que la frecuencia intrínseca; en el transcurso de una estimulación a alta frecuencia, el potencial diastólico máximo aumenta lentamente debido a un aumento progresivo en la $[Na]_i$, lo cual estimula la bomba hasta que se alcanza un estado estacionario después de dos o más minutos; supuestamente, en este momento, la bomba se estimula al nivel máximo o cerca del máximo. La hiperpolarización se acelera por la norepinefrina; disminuye en solución de Tyrode libre de magnesio, y se suprime cuando el Na se sustituye por litio o después de agregar dinitrofenol o estrofontidina.^{20,147} Cuando las fibras de Purkinje se encuentran en reposo o se estimulan a bajas frecuencias, aparentemente la bomba se vuelve eléctricamente neutra.¹⁴⁸ Debido a esta electrogenicidad dependiente de la frecuencia, las fibras de Purkinje, que normalmente están "sobre-estimuladas" por el nodo sinusal, estarían continuamente hiperpolarizadas, por lo que su automatismo estaría inhibido.¹⁴⁷

En las aurículas del conejo, el flujo activo de Na se duplica aproximadamente cuando la $[Na]_i$ aumenta de 10 a 40 mmo/1 de agua de las fibras, y sólo disminuye significativamente cuando la $[K]_e$ queda por debajo de 0.5 mM;⁵² este hecho está de acuerdo con las mediciones hechas en fibras de Purkinje.¹² Como lo establecieron muy claramente Lüttgau y Glitsch,⁹³ el punto crucial para demostrar convincentemente un transporte electrogénico de Na es excluir la posibilidad de que la hiperpolarización en células de elevado contenido de Na sea causado por una disminución de iones K justamente afuera de la membrana. Esta posibilidad es remota en las fibras de Purkinje, puesto que se sabe que una disminución de $[K]_e$ aumenta

la resistencia de la membrana de estas fibras, mientras que no se observa ningún cambio en la resistencia de la membrana antes, durante o después de la "sobre-estimulación"; es más, un medio de bajo contenido de K, aumenta el automatismo de las fibras de Purkinje, mientras la estimulación a alta frecuencia es seguida de una supresión temporal del automatismo.^{1,4,7}

Se han usado inhibidores metabólicos, especialmente dihidroouabaina^{7,5} y enfriamiento, para bloquear la bomba de sodio. Dentro de los pocos segundos siguientes al enfriamiento o a la intoxicación, el potencial de acción se prolonga marcadamente y la corriente saliente, principalmente la corriente instantánea de fondo, se reduce. Este último efecto se observó también en una solución de Tyrode libre de Na y, por ende, no se debía a un aumento de la corriente entrante de Na. Aparentemente, la reducción de la corriente tampoco era debida a un cambio en E_{K1} , lo cual sugiere que la corriente saliente suprimida era una corriente electrogénica activa. Esta corriente puede tener un papel importante en la repolarización del potencial de acción normal en las fibras de Purkinje;^{7,6} pero no parece tener la misma contribución en el potencial de acción ventricular.^{9,6} Otro tipo de transporte electrogénico, es decir, una captación activa de K que da origen a una corriente entrante depolarizante, ha sido investigado por Haas y col.^{5,7} (véase también la Ref. 25).

Se ha descrito un mecanismo de intercambio de Na-Ca en el nervio³ y en el corazón.^{1,2,9} Normalmente, actúa como un sistema para extraer Ca de las células; pero, cuando la $[Na]_e$ se encuentra reducida o cuando la $[Na]_i$ se eleva mucho, el Ca se acumula dentro de la célula por una inversión parcial del intercambio de Na-Ca.^{5,3} En las fibras nerviosas, este sistema parece ser electrogénico, intercambiando, por ejemplo, tres iones de Na por uno de Ca y, por ello, es muy posible que sea sensible a los cambios en el potencial de membrana. En tal caso, la depolarización de la membrana tendería a hacer más lento el intercambio o inclusive a invertirlo, siendo entonces expulsado el Na e introducido el Ca. El sistema producirá una corriente entrante depolarizante cuando expulsa Ca de la célula, y una corriente saliente repolarizante cuando opera en la dirección inversa. Sin em-

bargo, también se ha sugerido que tres iones de Na se pueden intercambiar por uno de Ca y uno de K.⁴ Se considera que, en el tejido cardiaco, el sistema de intercambio Na-Ca podría ser un sistema eléctricamente neutro; es decir, aparentemente dos iones de Na y uno de K compiten por un sitio de transporte (acarreador) a ambos lados de la membrana.^{1,2,6} Se ha propuesto un modelo similar en las fibras auriculares de la rana,^{1,0} aunque hay evidencia de que, en este tejido, el sistema de intercambio Na-Ca es electrogénico (cuatro o más iones de Na probablemente se intercambian por cada ion de Ca).^{6,7}

Conclusiones

Los fenómenos eléctricos cardiacos se parecen a aquéllos de otros tejidos excitables en que se deben esencialmente a conductancias que son dependientes del voltaje y del tiempo. Extendiendo al corazón conceptos que se han ido construyendo a partir de experimentos realizados principalmente en fibras nerviosas, se puede considerar que las membranas cardiacas poseen canales iónicos específicos controlados por compuertas que poseen cargas eléctricas. Cuando las compuertas se abren, debido a un cambio en el potencial de membrana, permiten el paso de iones a través de la membrana de acuerdo a su gradiente electroquímico. Las corrientes pasivas, entrantes y salientes, que resultan son más complejas en el corazón que en la mayoría de las otras células nerviosas o musculares, puesto que se han descrito dos corrientes entrantes (depolarizantes) y cuatro o cinco corrientes salientes (repolarizantes). La mayoría de estas últimas también están controladas por procesos de rectificación de entrada, casi instantáneos. La existencia de dos corrientes entrantes que fluyen a través de los canales rápido y lento explica las diferencias que existen entre las fibras cardiacas que tienen potenciales de acción con una fase de depolarización rápida y alta velocidad de conducción (por ejemplo las fibras de Purkinje), y aquéllas que tienen un potencial de acción de desarrollo lento y conducción también lenta (esencialmente las células del nodo). Sin embargo, esta diferencia no se debe a la ausencia de un canal rápido en la membrana del nodo, sino a su inactivación como consecuencia del bajo potencial diastólico de estas

células. Por esta misma razón, células depolarizadas parcialmente también exhiben potenciales de acción lentos. Es interesante que cualquiera que sea el tejido, la depolarización diastólica lenta responsable de la descarga espontánea del potencial de acción cardiaco parece deberse principalmente a la desactivación de la corriente saliente activada por el potencial de acción previo. Sin embargo, la corriente implicada en este proceso difiere según el nivel de potencial en la cual se desarrolla la depolarización diastólica (i_{K2} para fibras de Purkinje normalmente polarizadas, i_{x1} para fibras parcialmente depolarizadas). Se ha demostrado que, además de las corrientes iónicas pasivas, los transportes electrogénicos activos pueden participar en el desarrollo del fenómeno eléctrico. Uno de los mejores ejemplos es la hiperpolarización diastólica y la disminución correspondiente del automatismo que ocurre en las fibras de Purkinje por la activación de la bomba de Na como resultado de una estimulación a frecuencias altas. Varios otros puntos han emergido recientemente: uno de ellos es que la acumulación y la depleción de iones (especialmente de potasio) en las hendiduras extracelulares probablemente cambien en forma apreciable las concentraciones iónicas extracelulares y, por ello, el gradiente electroquímico neto, inclusive en el transcurso de un solo potencial de acción; otro punto es que la conductancia de la membrana para un ion determinado depende marcadamente de las concentraciones extra e intracelulares de otros iones (control de g_K por la $[Ca]_i$); y el último punto se refiere a la influencia de las alteraciones en la resistencia de los nexos sobre la conducción cardiaca. Los aumentos en la $[Ca]_i$ como resultado de alteraciones metabólicas hoy en día claramente aparecen como una de las causas potenciales más importantes del bloqueo de la conducción. □

Referencias

1. Adams, D. J., y P. W. Gage. Gating currents associated with sodium and calcium currents in an *Aplysia* neuron. *Science* 192: 783-784, 1976.
2. Adrian, R. H. Rectification in muscle membrane. *Progr. Biophys. Mol. Biol.* 19: 341-369, 1969.
3. Baker, P. F. Sodium-calcium exchange across the nerve cell membrane. In: *Calcium and Cellular Function*, edited by A. W. Cuthbert, London: Macmillan, 1970, p. 96-107.
4. Baker, P. F. Transport and metabolism of calcium ions in nerve. *Progr. Biophys. Mol. Biol.* 24: 177-223, 1972.
5. Bass, B. G. Restitution of the action potential in cat papillary muscle. *Am. J. Physiol.* 228: 1717-1724, 1975.
6. Bassingthwaite, J. B., C. H. Fry, y J. A. S. McGuigan. Relationship between internal calcium and outward current in mammalian ventricular muscle; a mechanism for control of the action potential duration. *J. Physiol., Londres* 262: 15-37, 1976.
7. Baumgarten, C. M., G. Isenberg, T. F. McDonald, y R. E. Ten Eick. Depletion and accumulation of potassium in the extracellular clefts of cardiac Purkinje fibers during voltage clamp hyperpolarization and depolarization. *J. Gen. Physiol.* 70: 149-169, 1977.
8. Begenisich, T. Magnitude and location of surface charges on *Myxicola* giant axons. *J. Gen. Physiol.* 66: 47-65, 1975.
9. Begenisich, T., y C. Lynch. Effects of internal divalent cations on voltage-clamped squid axons. *J. Gen. Physiol.* 63: 675-689, 1974.
10. Benninger, C., H. M. Einwächter, H. G. Haas, y R. Kern. Calcium-sodium antagonism on the frog's heart: a voltage clamp study. *J. Physiol., Londres* 259: 617-645, 1976.
11. Bezanilla, F., y C. M. Armstrong. Kinetic properties and inactivation of gating currents of channels in squid axons. *Phil. Trans. Roy Soc., Londres* 270: 449-458, 1975.
12. Bosteels, S., y E. Carmeliet. The components of the sodium efflux in cardiac Purkinje fibres. *Pfluegers Arch.* 336: 48-59, 1972.
13. Brennecke, R., y B. Lindemann. A chopped-current clamp for current injection and recording of membrane depolarization with single electrodes of changing resistance. *T.I.T. J. Life Sci.* 1: 53-58, 1971.
14. Brown, B. F., A. Clark, y S. J. Noble. Analysis of pacemaker and repolarization currents in frog atrial muscle. *J. Physiol., Londres* 258: 547-577, 1976.
15. Brown, B. F., W. Giles, y S. J. Noble. Voltage-clamp of frog sinus venosus (Abstract). *J. Physiol., Londres* 258: 78-79 P, 1976.
16. Brown, H. F., y S. J. Noble. Membrane currents underlying delayed rectification and pacemaker activity in frog atrial muscle. *J. Physiol., Londres* 204: 717-736, 1969.
17. Carmeliet, E. *Chloride and Potassium Permeability in Cardiac Purkinje Fibers*. Brussels: Arscia y Presses Académiques Européennes, 1961.
18. Carmeliet, E., y F. Verdonck. Reduction of potassium permeability by chloride substitution in cardiac cells. *J. Physiol., Londres* 265: 193-206, 1977.
19. Carmeliet, E., y J. Vereecke. Adrenaline and the plateau phase of cardiac action potential. *Pfluegers Arch.* 313: 300-315, 1969.
20. Carpentier, R., y M. Vassalle. Enhancement and inhibition of a frequency-activated electrogenic sodium pump in cardiac Purkinje fibers. In: *Research in Physiology: A Liber Memorialis in Honor of Prof. C. McC. Brooks*, edited by F. F. Kao, K. Koizumi, y M. Casalle. Bologna: Aulo Gaggi, 1971, p. 81-98.
21. Chesnais, J. M., E. Coraboeuf, M. P. Sauviat, y J. M. Vassas. Sensitivity to H, Li and Mg ions of the slow inward sodium current in frog atrial fibres. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 7: 627-642, 1975.

22. Cheval, J. Enregistrements simultanés du potentiel et du courant transmembranaires à l'aide d'une seule microélectrode intracellulaire. *C. R. Acad. Sci., Paris* 277: 2551-2524, 1973.
23. Cohen, I., J. Daut, y D. Noble. The effects of potassium and temperature on the pace-maker current, *I_{K2}*, in Purkinje fibres. *J. Physiol., Londres* 260: 55-74, 1976.
24. Conti, F., L. J. De Felice, y E. Wanke. Potassium and sodium ion current noise in the membrane of squid giant axon. *J. Physiol., Londres* 248: 45-82, 1975.
25. Coraboeuf, E. Aspects cellulaires de l'électrogénèse cardiaque chez les vertébrés. *J. Physiol., Paris* 52: 323-417, 1960.
26. Coraboeuf, E., E. Deroubaix, y J. Hoerter. Control of ionic permeabilities in normal and ischemic heart. *Circulation Res.* 38: 92-98, 1976.
27. Coraboeuf, E., y G. Vassort. Effects of some inhibitors of ionic permeabilities on ventricular action potential and contraction of rat and guinea-pig hearts. *J. Electrodardiol.* 1: 19-30, 1969.
28. Coraboeuf, E., F. Zaccouto, Y. M. Gargouil, y J. Laplaud. Mesure de la résistance membranaire du myocarde ventriculaire de mammifère au cours de l'activité. *C.R. Acad. Sci., Paris* 246: 2934-2937, 1958.
29. Cranefield, P. F. *The Conduction of the Cardiac Impulse*. Nueva York: Futura, 1975.
30. Cranefield, P. F., y B. F. Hoffman. Propagated repolarization in heart muscle. *J. Gen. Physiol.* 41: 633-649, 1958.
31. Deck, K. A., y W. Trautwein. Ionic currents in cardiac excitation. *Pfluegers Arch.* 280: 63-80, 1964.
32. DeHaan R. L., y J. DeFelice. Oscillatory properties and excitability of the heart cell membrane. In: *Theoretical Chemistry Advances and Perspectives. Periodicities in Chemistry and Biology*, edited by H. Eyring. Nueva York: Academic, vol. 4. In press.
33. De Hemptinne, A. Properties of the outward currents in frog atrial muscle. *Pfluegers Arch.* 329: 321-331, 1971.
34. De Hemptinne, A. Voltage clamp analysis in isolated cardiac fibers as performed with two different perfusion chambers for double sucrose gap. *Pfluegers Arch.* 363: 87-95, 1976.
35. De Hemptinne, A. Effet du césium sur l'activité électrique des fibres auriculaires de grenouille (Abstract). *J. Physiol., Paris*. 73: 5A, 1977.
36. Delahayes, J. F. Depolarization-induced movement of Mn²⁺ across the cell membrane in the guinea pig myocardium: its effect on the mechanical response. *Circulation Res.* 36: 713-718, 1975.
37. Deleze, J. Possible reasons for the drop of the resting potential of mammalian heart preparations during hypothermia. *Circulation Res.* 8: 553-557, 1960.
38. Deleze, J., y W. R. Loewenstein. Permeability of a cell junction during intracellular injection of divalent cations. *J. Membrane Biol.* 28: 71-86, 1976.
39. De Mello, W. C. Some aspects of the interrelationship between ions and electrical activity in specialized tissue of the heart. In: *The Specialized Tissues of the Heart*, edited by A. Paes de Carvalho, W. C. De Mello, y B. F. Hoffman. Amsterdam: Elsevier, 1961, p. 95-107.
40. De Mello, W. C. Effect of intracellular injection of calcium and strontium on cell communication in heart. *J. Physiol., Londres* 250: 231-245, 1975.
41. De Mello, W. C. Influence of the sodium pump on intercellular communication in heart fibres: effect of intracellular injection of sodium ion on electrical coupling. *J. Physiol., Londres* 263: 171-197, 1976.
42. Dubois, J. M., and C. Bergman. Cesium-induced rectifications in frog myelinated fibres. *Pfluegers Arch.* 355: 361-364, 1975.
43. Fozzard, H. A., and G. W. Beeler. The voltage clamp and cardiac electrophysiology. *Circulation Res.* 37: 403-413, 1975.
44. Fozzard, H. A., and M. Hiraoka. The positive dynamic current and its inactivation properties in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., Londres* 234: 569-586, 1973.
45. Fozzard, H. A., y C. O. Lee. Influence of changes in external potassium and chloride ions on membrane potential and intracellular potassium ion activity in rabbit ventricular muscle. *J. Physiol., Londres* 256: 663-689, 1976.
46. Fukuda, J. Voltage clamp study on inward chloride currents of spherical muscle cells in tissue culture. *Nature* 257: 408-410, 1975.
47. Furshpan, E. J., and D. D. Potter. Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *J. Physiol., Londres* 145: 289-325, 1959.
48. Garnier, D., O. Rougier, Y. M. Gargouil, and E. Coraboeuf. Analyse électrophysiologique du plateau des réponses myocardiques; mise en évidence d'un courant lent entrant en absence d'ions bivalents. *Pfluegers Arch.* 313: 321-342, 1969.
49. Gettes, L. S., and H. Reuter. Slow recovery from inactivation of inward currents in mammalian myocardial fibres. *J. Physiol., Londres* 240: 703-724, 1974.
50. Glitsch, H. G. Über das Membranpotential des Meerchweinchenvorhofes nach Hypothermie. *Pfluegers Arch.* 307: 29-46, 1969.
51. Glitsch, H. G. An effect of the electrogenic sodium pump on the membrane potential in beating guinea-pig atria. *Pfluegers Arch.* 344: 169-180, 1973.
52. Glitsch, H. G., H. Pusch, and K. Venetz. Effects of Na and K ions on the active Na transport in guinea-pig auricles. *Pfluegers Arch.* 365: 29-36, 1976.
53. Glitsch, H. G., H. Reuter, and H. Scholz. The effect of the internal sodium concentration on calcium fluxes in isolated guinea-pig auricles. *J. Physiol., Londres* 209: 25-43, 1970.
54. Goodenough, D. A. The structure and permeability of isolated hepatocyte gap junctions. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 40: 37-44, 1976.
55. Gros, D., and C. E. Challice. Early development of gap junctions between the mouse embryonic myocardial cells. A freeze-etching study. *Experientia* 32: 996-997, 1976.
56. Haas, H. G. Active ion transport in heart muscle. In: *Electrical Phenomena in the Heart*, Edited by W. C. De Mello. Nueva York: Academic, 1972, p. 163-189.
57. Haas, H. G., H. Kern, y H. M. Einwächter. Electrical activity and metabolism in cardiac tissue: an experimental and theoretical study. *J. Membrane Biol.* 3: 180-209, 1970.
58. Haas, H. G., R. Kern, H. M. Einwächter, y M. Tarr. Kinetics of Na inactivation in frog atria.

- Pfluegers Arch.* 323: 141-157, 1971.
59. Hauswirth, O., D. Noble, y R. W. Tsien. The mechanism of oscillatory activity at low membrane potentials in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., Londres* 200: 255-265, 1969.
 60. Hauswirth, O., D. Noble, y R. W. Tsien. The dependence of plateau currents in cardiac Purkinje fibres on the interval between action potentials. *J. Physiol., Londres* 222: 27-49, 1972.
 61. Hellam, D. C., y J. W. Studd. A core-conductor model of the cardiac Purkinje fibre based on structural analysis. *J. Physiol., Londres* 243: 637-660, 1974.
 62. Hille, B. Gating in sodium channel nerve. *Ann. Rev. Physiol.* 38: 139-152, 1976.
 63. Hiraoka, M., y H. H. Hecht. Recovery from hypothermia in cardiac Purkinje fibers. Considerations for an electrogenic mechanism. *Pfluegers Arch.* 339: 25-36, 1973.
 64. Hiraoka, M., y T. Sano. Role of slow inward current in the genesis of ventricular arrhythmia. *Japan. Circulation J.* 40: 1419-1427, 1976.
 65. Hodgkin, A. L., y A. F. Huxley. A quantitative description of membrane and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol., Londres* 117: 500-544, 1952.
 66. Hodgkin, A. L., y R. D. Keynes. Active transport of cations in giant axons from *Sepia* and *Loligo*. *J. Physiol., Londres.* 128: 28-60, 1955.
 67. Horackova, M. y G. Vassort. Regulation of tonic tension in frog atrial muscle by voltage-dependent Na-Ca exchange (Abstract). *J. Physiol., Londres* 258: 77 p, 1976.
 68. Horackova, M., y G. Vassort. Calcium conductance in relation to contractility in frog myocardium. *J. Physiol., Londres* 259: 597-616, 1976.
 69. Horowicz, P., y C. J. Gerber. Effects of external potassium and strophanthidin on sodium flux in frog striated muscle. *J. Gen. Physiol.* 48: 489-514, 1965.
 70. Hutter, O. F., y D. Noble. Rectifying properties of cardiac muscle. *Nature* 188: 495, 1960.
 71. Imanaga, I. Cell-t-cell diffusion of Procion yellow in sheep and calf Purkinje fibers. *J. Membrane Biol.* 16: 381-388, 1974.
 72. Irisawa, H. Electrical activity of rabbit sino-atrial node as studied by a double sucrose gap method. In: *The Electrical Field of the Heart*, edited by P. Rijland. Brussels: Presses Académiques Européennes, 1972, p, 242-248.
 73. Isenberg, G. Is potassium conductance of cardiac Purkinje fibres controlled by $[Ca^{2+}]_i$? *Nature* 253: 273-274, 1975.
 74. Isenberg, G. Cardiac Purkinje fibres: $[Ca^{2+}]_i$ controls the potassium permeability via the conductance components *gK1* and *gK2*. *Pfluegers Arch.* 371: 77-85, 1977.
 75. Isenberg, G., y W. Trautwein. Effect of dihydro-ouabain and lithium ions on the outward current in cardiac Purkinje fibers. *Pfluegers Arch.* 350: 41-54, 1974.
 76. Isenberg, G., y W. Trautwein. Outward current and electrogenic sodium pump. In: *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism*, editado por A. Fleckenstein y N. S. Dhalla. Baltimore: University Park Press, 1975, p, 43-49.
 77. Johnson, E. A., y M. Liebermann. Heart: excitation and contraction. *Ann. Rev. Physiol.* 33: 479-532, 1971.
 78. Kass, R. S., y R. W. Tsien. Control of action potential duration by calcium ions in cardiac Purkinje fibers. *J. Gen. Physiol.* 67: 599-617, 1976.
 79. Katzung, B. G., y J. A. Morgenstern. Effects of extracellular potassium on ventricular automaticity and evidence for a pacemaker current in mammalian ventricular myocardium. *Circulation Res.* 40: 105-111, 1977.
 80. Keynes, R. D., y E. Rojas. Kinetics and steady-state properties of the charges system controlling sodium conductance in the squid giant axon. *J. Physiol., Londres* 239: 393-434, 1974.
 81. Kleber, A. G. Effects of sucrose solution on the longitudinal tissue resistivity of trabecular muscle from mammalian heart. *Pfluegers Arch.* 345: 195-206, 1973.
 82. Kline, R., y M. Morad. Potassium efflux and accumulation in heart muscle. *Biophys. J.* 16: 367-372, 1976.
 83. Kohlhardt, M., H. R. Figulla, y O. Tripathi. The slow membrane channel as the predominant mediator of the excitation process of the sinoatrial pacemaker cell. *Basic Res. Cardiol.* 71: 17-26, 1976.
 84. Kohlhardt, M., H. P. Haastert, y H. Krause. Evidence of nonspecificity of the Ca channel in mammalian myocardial fibre membranes. *Pfluegers Arch.* 342: 125-136, 1973.
 85. Kohlhardt, M., h. Krause, M. Kübler, y A. Herdey. Kinetics of inactivation and recovery of the slow inward current in mammalian ventricular myocardium. *Pfluegers Arch.* 355: 1-17, 1975.
 86. Kostyuk, P. G., O. A. Krishtal, y V. I. Pidoplichko. Potential-dependent membrane current during the active transport of ions in snail neurones. *J. Physiol., Londres* 226: 373-392, 1972.
 87. Kreitner, D. Evidence for the existence of a rapid sodium channel in the membrane of rabbit sinoatrial cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 7: 655-662, 1975.
 88. Langer, G. A., J. S. Frank, L. M. Nudd, y K. Seraydarian. Sialic acid: effect of removal on calcium exchangeability of cultured heart cells. *Science* 193: 1013-1015, 1976.
 89. Lee, C. O., y H. A. Fozzard. Activities of potassium and sodium ions in rabbit heart muscle. *J. Gen. Physiol.* 65: 695-708, 1975.
 90. Lenfant, J., J. Mironneau, y J. K. Aka. Activité répétitive de la fibre sino-auriculaire de grenouille: analyse des courants transmembranaires responsables de l'automatisme cardiaque. *J. Physiol., Paris* 64: 5-18, 1972.
 91. Lenfant, J., J. Mironneau, Y. M. Garcouil, y G. Galand. Analyse de l'activité électrique spontanée du centre de l'automatisme cardiaque de lapin par les inhibiteurs de perméabilités membranaires. *C.R. Acad. Sci. Paris* 266: 901-904, 1968.
 92. Loewenstein, W. R. Permeable junctions. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 40: 49-63, 1976.
 93. Lüttgau, H. C., y H. Gliusch. Membrane physiology of nerve muscle fibres. Nueva York: Fischer, 1976.
 94. Mazet, F., y J. Cartaud. Freeze-fracture studies of frog atrial fibres. *J. Cell Sci.* 22: 427-434, 1976.
 95. McAllister, R. E., D. Noble, y R. W. Tsien. Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., Londres* 251: 1-59, 1975.

96. McDonald, T. F., H. Nawrath, y Trautwein. Membrane current and tension in cat ventricular muscle treated with cardiac glycosides. *Circulation Res.* 37: 674-682, 1975.
97. McGuigan, J. A. S. Some limitations of the double sucrose gap and its use in a study of the slow outward current in mammalian ventricular muscle. *J. Physiol., Londres* 240: 775-806, 1974.
98. McNaughton, P. Dependence of plateau potassium currents on Ca (Abstract). *Seventh European Congress of Cardiology, Amsterdam*. p. 140, 1976.
99. Meech, R. W., y N. B. Standen. Potassium activation in *Helix aspersa* neurones under voltage clamp: a component mediated by calcium influx. *J. Physiol., Londres* 249: 211-239, 1975.
100. Mobley, B. A., y E. Page. The surface area of sheep cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., Londres* 220: 547-563, 1952.
101. Nargeot, J. Current clamp and voltage clamp study of the inhibitory action of DNP on membrane electrical properties of frog auricular heart muscle. *J. Physiol., Paris* 72: 171-180, 1976.
102. New, W., y W. Trautwein. Inward membrane current in mammalian myocardium. *Pfluegers Arch.* 334: 1-23, 1972.
103. New, W., y W. Trautwein. The ionic nature of slow inward current and its relation to contraction. *Pfluegers Arch.* 334: 24-38, 1972.
104. Noble, D. A. modification of the Hodgkin-Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials. *J. Physiol., Londres* 160: 317-352, 1962.
105. Noble, D. Electrical properties of cardiac muscle attributable to inward going (anomalous) rectification. *J. Cell. Comp. Physiol.* 66: 127-136, 1965.
106. Noble, D. The initiation of the heart beat. *Londres: Oxford Univ. Press*, 1975.
107. Noble, D., y R. W. Tsien. The kinetics and rectifier properties of slow potassium current in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., Londres* 195: 185-214, 1968.
108. Noble, D. y R. W. Tsien. Outward membrane currents activated in the plateau range of potentials in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., London* 200: 205-231, 1969.
109. Noble, D., y R. W. Tsien. Reconstruction of the repolarization process in cardiac Purkinje fibres based on voltage-clamp measurements of membrane current. *J. Physiol., Londres* 200: 233-254, 1969.
110. Noma, A., y H. Irisawa. Electrogenic sodium pump in rabbit sinoatrial node cell. *Pfluegers Arch.* 351: 177-182, 1974.
111. Noma, A., y Irisawa. A time- and voltage-dependent potassium current in the rabbit sinoatrial node cell. *Pfluegers Arch.* 366: 251-258, 1976.
112. Ochi, R. The slow inward current and the action of manganese ions in guinea-pig's myocardium. *Pfluegers Arch.* 316: 81-94, 1970.
113. Ochi, R. Manganese-dependent propagated action potentials and their depression by electrical stimulation in guinea-pig myocardium perfused by sodium-free media. *J. Physiol., Londres* 263: 139-156, 1976.
114. Ojeda C., y O. Rougier. Kinetic analysis of the delayed outward currents in frog atrium. Existence of two types of preparation. *J. Physiol., Londres* 239: 51-73, 1974.
115. Oxford, G. S., y J. P. Pooler. Selective modification of sodium channel gating in lobster axons by 2,4,6-trinitrophenol. Evidence for two inactivation mechanisms. *J. Gen. Physiol.* 66: 765-780, 1975.
116. Page, E., y S. R. Storm. Cat heart muscle in vitro. VIII. Active transport of sodium in papillary muscles. *J. Gen. Physiol.* 48: 957-972, 1965.
117. Peper, K., y W. Trautwein. A membrane current related to the plateau of the action potential of Purkinje fibers. *Pfluegers Arch.* 303: 108-123, 1968.
118. Poindessault, J. P., A. Duval, y C. Leoty. Voltage clamp with double sucrose gap technique. External series resistance compensation. *Biophys. J.* 16: 105-120, 1976.
119. Pollack, G. H. Intercellular coupling in the atrioventricular node and other tissues of the rabbit heart. *J. Physiol., Londres* 255: 275-298, 1976.
120. Post, R. L., C. D. Albright, y K. Dayini. Resolution of pump and leak components of sodium and potassium ion transport in human erythrocytes. *J. Gen. Physiol.* 50: 1201-1220, 1967.
121. Ramon, F., N. Anderson, R. W. Joyner, y J. W. Moore. Axon voltage-clamp simulations. IV. A multicellular preparation. *Biophys. J.* 15: 55-96, 1975.
122. Reuter, H. The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium concentration. *J. Physiol., Londres* 192: 479-492, 1967.
123. Reuter, H. Slow inactivation of currents in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., Londres* 179: 233-253, 1968.
124. Reuter, H. H. Divalent cations as charge carriers in excitable membranes. *Progr. Biophys. Mol. Biol.* 26: 3-43, 1973.
125. Reuter, H. Localization of beta adrenergic receptors, and effects of noradrenaline and cyclic nucleotides on action potentials, ionic currents, and tension in mammalian cardiac muscle. *J. Physiol., Londres* 242: 429-451, 1974.
126. Reuter, H. Exchange of calcium ions in the mammalian myocardium. *Circulation Res.* 34: 599-605, 1974.
127. Reuter, H., y H. Scholz. A study of the ion selectivity and the kinetics properties of the calcium dependent slow inward current in mammalian muscle. *J. Physiol., Londres* 264: 17-47, 1977.
128. Reuter, H., y H. Scholz. The relations of the calcium conductance of cardiac muscle by adrenaline. *J. Physiol., Londres* 264: 49-62, 1977.
129. Reuter, H., y N. Seitz. The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition. *J. Physiol., Londres* 195: 451-470, 1968.
130. Revel, J. P., y M. J. Karnovsky. Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver (Abstract). *J. Cell Biol.* 33: C7, 1967.
131. Rougier, O., G. Vassort, D. Garnier, Y. M. Gargouil, y E. Coraboeuf. Existence and role of a slow inward current during the frog atrial action potential. *Pfluegers Arch.* 308: 91-110, 1969.
132. Schneider, J. A., y N. Sperelakis. Slow Ca and Na responses induced by isoproterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea pig hearts exposed to elevated K⁺. *J. Moll. Cell. Cardiol.* 7: 249-273, 1975.

Investigación (concluye)

133. Sperelakis, N., T. Hoshiko, y R. M. Berne. Nonsyncytial nature of cardiac muscle: membrane resistance of single cells. *Am. J. Physiol.* 198: 531-536, 1960.
134. Sperelakis, N., y R. L. Macdonald. Ratio of transverse to longitudinal resistivities of isolated cardiac muscle fiber bundles. *J. Electrocardiol.* 7: 301-314, 1974.
135. Sperelakis, N., y J. A. Schneider. A metabolic control mechanism for calcium ion influx that may protect the ventricular myocardial cell. *Am. J. Cardiol.* 37: 1079-1085, 1976.
136. Stevens, C. F. Principles and applications of fluctuations analysis: a nonmathematical introduction. *Federation Proc.* 34: 1364-1369, 1975.
137. Tahara, T., H. Kimizuka, y K. Koketsu. An analysis of the membrane hyperpolarization during action of the sodium pump in frog's skeletal muscles. *Japan. J. Physiol.* 23: 165-182, 1973.
138. Tarr, M. Two inward currents in frog atrial muscle. *J. Gen. Physiol.* 58: 523-543, 1971.
139. Tarr, M., E. F. Luckstead, P. A. Jurenwicz, y H. G. Haas. Effect of propranolol on the fast inward sodium current in frog atrial muscle. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 184: 599-610, 1973.
140. Tarr, M., y J. Trank. Equivalent circuit of frog atrial tissue as determined by voltage clamp-unclamp experiments. *J. Gen. Physiol.* 58: 511-522, 1971.
141. Thomas, R. C. Membrane current and intracellular sodium changes in a snail neurone during extrusion of injected sodium. *J. Physiol., Londres* 201: 495-514, 1969.
142. Thomas, R. C. Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells. *Physiol. Rev.* 52: 563-594, 1972.
143. Thomas, R. C. Intracellular sodium activity and the sodium pump in snail neurones. *J. Physiol., Londres* 220: 55-71, 1972.
144. Trautwein, W. Membrane currents in cardiac muscle fibers. *Physiol. Rev.* 53: 793-835, 1973.
145. Trautwein, W., y D. G. Kassebaum. On the mechanism of spontaneous impulse generation in the pacemaker of the heart. *J. Gen. Physiol.* 45: 317-330, 1961.
146. Tsien, R. W., W. R. Giles, y P. Greengard. Cyclic AMP mediates the action of adrenaline on the potential plateau of cardiac Purkinje fibres. *Nature New Biol.* 240: 181-183, 1972.
147. Vassalle, M. Electrogenic suppression of automaticity in sheep and dog Purkinje fibers. *Circulation Res.* 27: 361-377, 1970.
148. Vassalle, M., y R. Carpentier. Hyperpolarizing and depolarizing effects of norepinephrine in cardiac Purkinje fibers. In: *Research in Physiology. A Liber Memorialis in Honor of Prof. C. McC. Brooks*, editado por F. F. Kao, K. Koizumi, y M. Vassalle. Bologna: Aulo Gaggi, 1971, p. 373-388.
149. Vassort, G., O. Rougier, D. Garnier, M. P. Sauviat, E. Coraboeuf, y Y. M. Gargoil. Effects of adrenaline on membrane inward currents during the cardiac action potential. *Pfluegers Arch.* 309: 70-81, 1969.
150. Vereecke, J., y E. Carmeliet. Sr action potentials in cardiac Purkinje fibres. I, II. *Pfluegers Arch.* 322: 60-82, 1971.
151. Walker, J. L., y R. O. Ladle. Frog heart intracellular potassium activities measured with potassium microelectrodes. *Am. J. Physiol.* 225: 263-267, 1973.
152. Watanabe, A. M., y H. R. Besch, Jr. Cyclic adenosine monophosphate modulation of slow calcium influx channels in guinea-pig hearts. *Circulation Res.* 35: 316-324, 1974.
153. Weidmann, S. Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle. *J. Physiol., Londres* 115: 227-236, 1951.
154. Weidmann, S. The electrical constants of Purkinje fibers. *J. Physiol., Londres* 118: 348-360, 1952.
155. Weidmann, S. The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system. *J. Physiol., Londres* 127: 213-224, 1955.
156. Weidmann, S. *Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser*. Stuttgart: Huber, 1956.
157. Weidmann, S. The diffusion of radiopotassium across intercalated disks of mammalian cardiac muscle. *J. Physiol., Londres* 187: 323-342, 1966.
158. Weidmann, S. Electrical coupling between myocardial cells. *Progr. Brain Res.* 31: 274-281, 1969.
159. Weidmann, S. Heart: electrophysiology. *Ann. Rev. Physiol.* 36: 155-169, 1974.
160. Weingart, R. The permeability to tetraethylammonium ions of the surface membrane and the intercalated disks of sheep and calf myocardium. *J. Physiol., Londres* 240: 741-762, 1974.
161. Weiss, R., H. Tritthart, y B. Walter. Correlation of Navithdrawal effects on Ca-mediated action potentials and contractile activity in cat myocardium. *Pfluegers Arch.* 350: 299-307, 1974.
162. Whittam, R. Control of membrane permeability to potassium in red blood cells. *Nature* 219: 610, 1968.
163. Wiggins, J. R., y P. F. Cranefield. Effect on membrane potential and electrical activity of adding sodium to sodium-depleted cardiac Purkinje fibers. *J. Gen. Physiol.* 64: 473-493, 1974.
164. Wilson, W. A., y M. M. Goldner. Voltage clamping with single microelectrode. *J. Neurobiol.* 6: 411-422, 1975.
165. Wojtczak, J. Hypoxia-induced electrical uncoupling and contractures of cardiac cells (Abstract). *Seventh European Congress of Cardiology, Amsterdam*. p. 143, 1976.