

ESTUDIOS SOBRE LA SANGRE Y LA ACTIVIDAD CARDIACA DEL CORAZON DEL *CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS*

Peter Ward, Guillermo Flores, Manuel Krauskopf * y Juan Concha

Departamentos de Fisiología e Histología. Instituto de Ciencias Médico Biológicas. Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

RESUMEN

Dada la escasísima información que existe sobre fisiología de invertebrados chilenos, como es el caso del *Concholepas concholepas* (loco), nos interesó estudiar la sangre y la actividad cardíaca de esta especie.

Se estudió la composición de la sangre la cual demostró ser semejante a la de otros invertebrados cuando son comparados los elementos figurados, los electrolitos y las proteínas plasmáticas. La separación por cromatografía en DEAE-celulosa y por electroforesis en papel de las proteínas plasmáticas mostró la existencia hemocianina (90 a 96%) y un 4 a 10% de otras proteínas "no hemocianina" probablemente de origen intracelular.

El corazón del loco está formado por un atrio o aurícula y un ventrículo, constituidos por fibras cardíacas anastomosadas profusamente entre sí. Se observa la presencia de células nerviosas intramurales que se alojan entre las fibras musculares. Las fibras musculares estriadas se organizan en tres capas entre las cuales existe tejido conjuntivo. En el interior del citoplasma de las fibras se encuentra glicógeno. La superficie interna y externa del corazón está recubierta por una capa epitelial.

La actividad eléctrica y mecánica del ventrículo es irregular y arrítmica. Esta irregularidad puede deberse a la actividad nerviosa cardioinhibidora de tipo colinérgica ya que la atropina regulariza y acelera el ritmo cardíaco. La respuesta a mediadores químicos como la acetilcolina y la noradrenalina, además de la falta de potenciales oscilatorios en el registro electrocardiográfico, revela que el corazón del *C. concholepas* es miogénico.

STUDIES ON BLOOD AND CARDIAC ACTIVITY OF THE HEART FROM *CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS*

ABSTRACT

The paucity of data on the physiology of the Chilean invertebrates induced us to study the blood and cardiac activity of the mollusc *Concholepas concholepas*, commonly known as the "loco" (Chilean abalone).

Electrolytes, protein content and composition as well as the blood cells of this mollusc proved to be very similar to those of other invertebrates (molluscs and arthropods). Blood proteins were separated and characterized by chromatography on DEAE-cellulose and paper electrophoresis. The results showed that 90-96% of these proteins corresponded to hemocyanin and that the remaining 4 - 10% were probably of an intracellular origin.

The gross anatomy of the heart shows the presence of one atrium and one ventricle. The heart tissue is made up of profusely anastomosed cardiac muscle fibers, amongst which intramural nerve cells can be found. The striated muscle cells are organized into three layers which are separated by connective tissue. Glycogen can be observed within the muscle fibers. The inner and outer surfaces of the heart are covered by epithelial membranes.

The electrical and mechanical activity of the ventricle is irregular and arrhythmic. These findings are probably due to cholinergic-like cardioinhibitory activity of the nerve cells within the tissue, since atropine regularized and accelerated the heart rhythm. The lack of an oscillatory potential as well as the responses to chemical mediators such as acetylcholine and noradrenaline indicate that the heart of the heart of this mollusc is myogenic.

(*) Instituto de Bioquímica. Universidad Austral de Chile. Valdivia.

INTRODUCCION

El *Concholepas concholepas* o "loco" es un molusco perteneciente a la familia Muricidae y que habita las costas de Peru y Chile.

La composición de la sangre de los invertebrados difiere sustancialmente de la de los vertebrados a pesar de que en algunos crustáceos, como el *Astacus* (Scheer, 1948), y en ciertos moluscos (George y Ferguson, 1950) se describen células que se asemejan a la serie blanca de los mamíferos. En los moluscos se encuentran además, fragmentos celulares (George y Ferguson, 1950) que podrían corresponder a los restos de las llamadas células explosivas descritas por Scheer (1948) en el *Astacus*.

La osmolaridad de la sangre de la mayoría de los artrópodos y moluscos es semejante a la del agua de mar (Scheer, 1948), pero su distribución iónica es diferente, lo que implica que no habría un intercambio libre entre la hemolinfa y el agua de mar. En la mayoría de los moluscos y en ciertos artrópodos y cefalópodos la proteína transportadora de oxígeno es la hemocianina. Esta se caracteriza por encontrarse libremente disuelta en la hemolinfa, por tener pesos moleculares muy altos (superior al 1×10^6 Daltons) y por tener cobre en vez de hierro unida a ella (Manwell, 1960, Prosser y Brown, 1961). Otros invertebrados poseen transportadores de oxígeno como la hemeritina, clorocruorina o hemoglobina. Todas estas

proteínas tienen hierro y no cobre como la hemocianina.

Al parecer los corazones de los moluscos son miogénicos (Prosser y Brown, 1961), es decir, las contracciones se generan a partir de marcapasos ubicados en el propio tejido cardíaco. Anatómicamente los corazones de los moluscos están constituidos por un ventrículo y por una o más aurículas (Krijgsman y Divaris, 1955). Existen otros invertebrados que poseen corazones neurogénicos que se caracterizan porque su actividad está comandada por ganglios nerviosos.

Con excepción de los trabajos de Maldonado (1965), de Huaquín (1966) y de Flores y col. (1967) no existen estudios morfofuncionales sobre el *Concholepas concholepas*. Otro molusco perteneciente a esta misma familia, cuya histología y actividad mecánica cardíaca ha sido estudiada, es el *Murex trunculus*. Estos estudios revisten interés por las analogías que tienen con el loco (Morin y Jullien, 1930. Krijgsman y Divaris, 1955).

En el presente trabajo se presenta la composición de la sangre del loco, como también estudios sobre la actividad eléctrica y mecánica, en presencia y ausencia de mediadores químicos, con el objeto de determinar si se trata de un corazón miogénico modulable por la noradrenalina y la acetilcolina como son los corazones de otros Moluscos (Scheer, 1948, Prosser y Brown, 1961, Krijgsman y Divaris, 1965 y Hecht, 1965).

MATERIALES Y METODOS

I SANGRE

Elementos figurados. Para el estudio de los componentes de la sangre del *Concholepas concholepas* se tomaron muestras (0.3 a 0.5 ml) de el vaso branquial eferente (Huaquín, 1966) desde varios animales. La sangre así aislada es de color azul intenso, no coagula y observándose claramente cómo se forma un acúmulo espontáneo de grumos que sedimentan rápidamente. Se hicieron frotis a partir del sedimento y del sobrenante utilizando el método de Giemsa rápido como técnica de tinción.

Electrolitos. Los cationes Na^+ y K^+ fueron determinados por fotometría de llama (fotómetro Baird Associates) y el anión Cl^- por clorimetría en un clorurómetro Aminco Cotlove (American Instruments Co.).

Proteínas. La proteinemia fue determinada por

los métodos de Kjeldahl (factor utilizado: 6.25) y por el método de Lowry y col. (1951).

Espectrograma. Los espectrogramas de la sangre oxigenada (azul) y desoxigenada (incolora) por extracción del oxígeno con KCN a diferentes pH fueron obtenidos por medio de un espectrofotómetro Beckman DU.

Cromatografía. Las muestras de sangre (10-20 ml) fueron dializadas contra tampón fosfato 5mM, pH 8.4 y luego cargadas a una columna de DEAE-celulosa (2.5 x 25 cm) equilibrada con el mismo tampón. La columna fue eluida con una doble gradiente escalonada de NaCl (ascendente) y de pH (descendente. desde 8.3 a 6.5).

Cobre. El cobre unido a la hemocianina fue determinado previa mineralización de alícuotas con una mezcla ácida formada por HCl, HClO_4 HNO_3 H_2SO_4 (1:1) en proporción de 5:2:2:1

respectivamente. El cobre así liberado fue determinado utilizando dietilditiocarbamato de sodio. sodio.

II MORFOLOGIA Y FISILOGIA CARDIACA

Anatomía. Los corazones fueron estudiados por tres técnicas, a saber: a) disección, b) inyección intracardiaca o en el vaso branquial eferente de azul de metileno, azul de Evans o tinta china y c) inyección de gelatina al 10% y a 40°C con cinabrio en el vaso branquial eferente de animales desangrados y colocados en un baño de agua a 65°C por 5 minutos antes de ser sumergidos en formalina al 10%.

Histología. El corazón fue fijado en formalina al 10% con otros fijadores tales como Bouin, Hollande (Morin y Jullien, 1930). Se practicaron cortes de 5 a 10 micrones que fueron teñidos con hematoxilina cromó-

tropa, de Weigert, hematoxilina, hematoxilina Heidenhain, azophloxina y ácido peryódico-Schiff (MacManus).

Fisiología. La actividad mecánica del corazón fue estudiada acoplándole a éste un transductor de fuerza a través de una perforación en la concha del molusco. El transductor se conectó a un amplificador Grass 5P1 el cual fue, a su vez, conectado a un registrador electromagnético acoplado a un quimógrafo de papel ahumado.

La actividad eléctrica fue medida por medio de dos electrodos, uno en contacto con el agua de mar del recipiente y el otro, que estaba esmaltado en toda su longitud menos en su punta que tenía un diámetro de 50 micrometros, fue colocado en diversas partes del miocardio. Los potenciales fueron amplificados en un electrocardiógrafo Grass 5P4C y registrados en un quimógrafo de papel ahumado mediante un registrador electromagnético Grass.

RESULTADOS

I. HEMOLINFA

Elementos figurados. Al ser tomada la muestra las células de la sangre del *Concholepas concholepas* aglutinan, precipitando espontáneamente. En un frotis de sangre se distinguen claramente dos tipos de células. a) células linfocíticas agranulares. y b) células linfocíticas granulares. Las primeras son redondas de citoplasma claro y de núcleo redondo muy cromatínico; las segundas tienen forma redonda u ovalada con un núcleo generalmente excéntrico y poco cromatínico y cuyo citoplasma presenta granulaciones eosinofílicas. Siempre se pudo observar la presencia de células en diferentes estados de lisis.

Electrolitos. En la Tabla I se muestran los valores promedios de sodio, potasio y cloro y de cobre plasmático. Las concentraciones de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ del agua de mar del hábitat de estos mismos animales fueron 426,12 y 527 mmoles/l respectivamente. La literatura describe valores promedios para estos mismos electrolitos cuyos valores son: 460, 10 y 540 mmoles/l respectivamente (prosser y Brown, 1960). La concentración de cobre en el agua de mar es muchísimo más baja que la encontrada en la sangre de estos moluscos. En el *Helix pomatia* la concentración plasmática de cobre, asociada a hemocianina, es de 1.02 mmoles/l; en cambio la concentración de Cu del agua de mar es de 1.56 nmoles/l (0.00001 mg por 100 ml de agua.

ELECTROLITOS SANGUINEOS	
	CONCENTRACION. mmoles / l.
Na ⁺	468,20 ± 36
K ⁺	17.00 ± 4,5
Cl ⁻	534,40 ± 40
Cobre	1,64 ± 0,04

Tab. 1 Concentración de electrolitos en sangre de *C. concholepas*.

Proteinemia. La concentración plasmática de proteínas fue de 40 a 47 g/l según si se utilizara el método de Kjeldahl o el de Lowry.

Espectrograma. El espectrograma de la sangre (Fig. 1) muestra tres máximos de absorción (a 280,

345 y 560 nm). Estos mismos han sido determinados en la sangre de otras especies (Prosser y Brown, 1960., Redfield, (1930), Klotz, 1955). El pH juega un rol importante en la absorción, tanto en el ultravioleta como en el visible, observándose

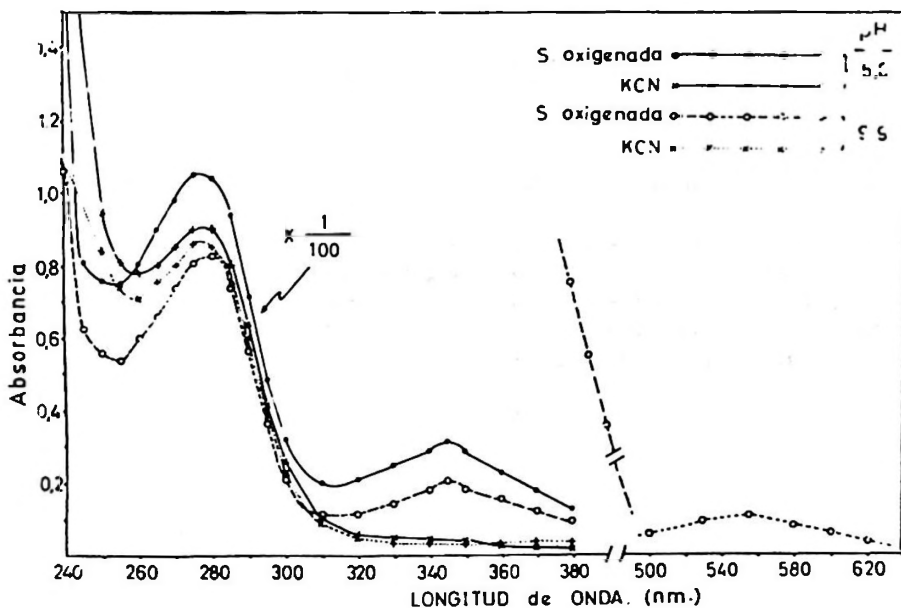


Fig. 1 Espectrogramas de la sangre oxigenada de *C. concholepas* a dos pH diferentes (5.8 y 9.9) con y sin KCN.

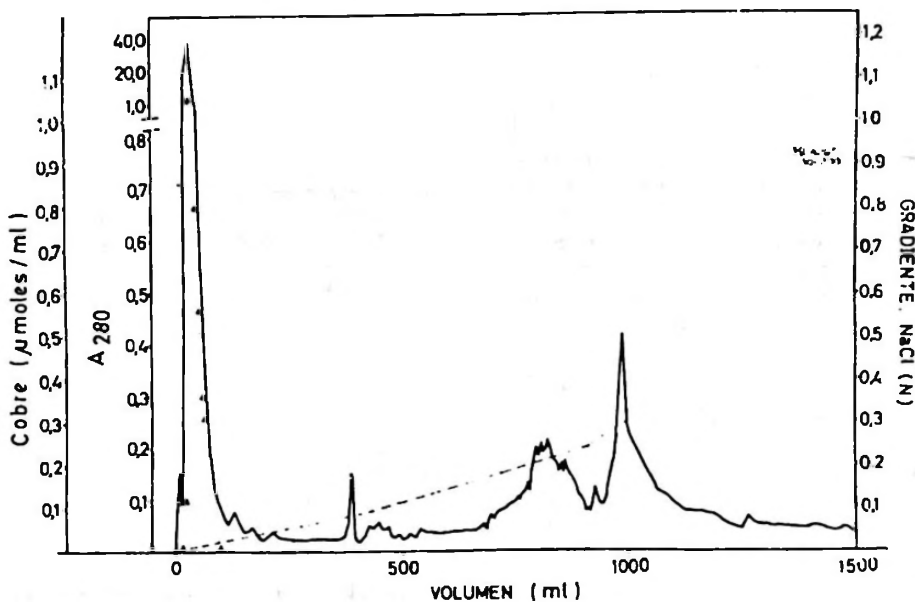


Fig. 2 Cromatograma de sangre de *C. concholepas*. Carga: 15 ml de sangre centrifugada, dializada y eluida a 30 ml/hr. Cada fracción fue de 11.8 ml. Total eluido: 1500 ml. Resina estabilizada con buffer fosfato 0,005 M a pH 8.3. Gradiente continua multifásica hasta saturación en línea discontinua. Cobre asociado al primer pico en línea punteada.

una menor absorción a pH alcalino. Este fenómeno podría explicarse en parte por un menor efecto Tyndall (Redfield, 1930) que presentarían las moléculas de proteínas al alejarse el pH del punto isoeléctrico de las mismas (4.6 aproximadamente) debido a la disociación en partículas de menor tamaño.

Purificación de la hemocianina. En la figura 2 se presenta una típica cromatografía en DEAE-celulosa de un pool de sangre dializada. La hemocianina no es retenida por la columna y aparece como un pico agudo en el volumen vacío de la columna. Es fácilmente reconocible por el color azul intenso que presenta. Posteriormente eluyen otras proteínas y que constituyen un 5 - 10% de las proteínas totales de la hemolinfa. Junto con la hemocianina se observa la curva del cobre que se obtiene por mineralización de alícuotas tomadas de las diversas fracciones de la cromatografía. El peso molecular mínimo, calculado a partir del % de cobre, es 40.000 a 45.000.

II MORFOLOGIA Y FISILOGIA CARDIACA.

Morfología del corazón. Por disección a la altura del ctenidio se observa la cavidad pericárdica que alberga un corazón de color rosado pálido. Está formado por una aurícula y un ventrículo que mantienen una relación de tamaño entre ellos de 1:5. Por medio de la inyección de colorantes se pudo observar la presencia de un vaso que sigue el curso del ctenidio (vaso branquial eferente, Huaquín, 1966) el cual vira en 180° al llegar al vértice del ctenidio para luego desembocar en la aurícula. Del ventrículo emergen dos vasos: un vaso grueso u aorta anterior, que se dirige hacia abajo y adelante y un vaso más delgado, o aorta posterior, que se dirige hacia la región posterior del animal. El flujo de sangre sigue la misma dirección que la descrita para los vasos.

Histológicamente (Flores y col, 1967) se observa que el músculo cardíaco está constituido por fibras largas y delgadas que presentan abundantes anastomosis entre sí (Fig. 3) y que se disponen en haces compactos que adoptan diversas direcciones dejando grandes espacios ocupados por tejido conjuntivo. Los núcleos de las fibras musculares ocupan una posición central, pero también es posible distinguir núcleos en posición periférica. Los haces de fibras forman verdaderas capas musculares y se distinguen tres de ellas: a) una capa externa, formada por haces longitudinales paralelos a la superficie externa del corazón. Las fibras más internas de esta capa se dirigen en forma perpendicular al estrato medio envolviendo las fibras musculares de esta segunda capa. b) la capa intermedia, pre-

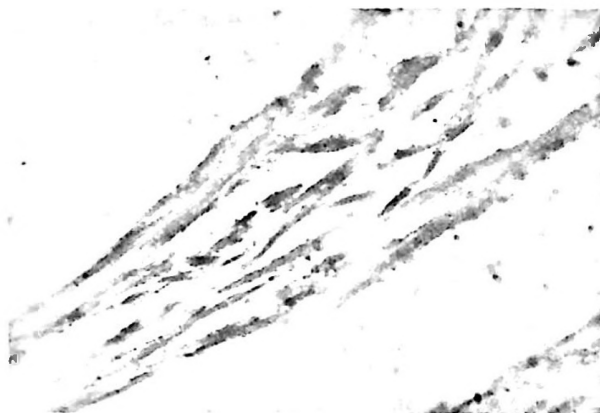


Fig. 3 Corte histológico que muestra los haces de fibras musculares cardíacas y los grandes espacios de tejido conjuntivo entre ellas y entre los estratos.

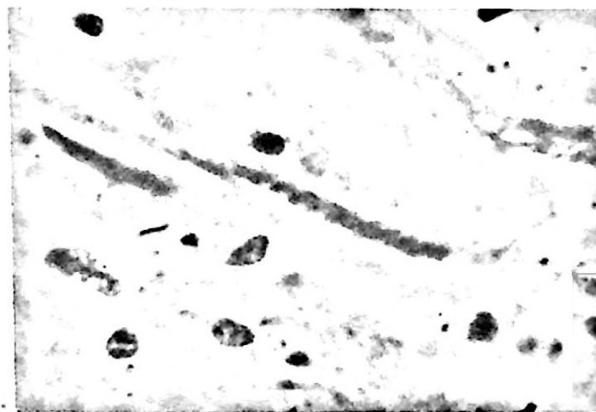


Fig. 4 Corte histológico de ventrículo de *C. concholepas* dejado una hora después de extraída del animal sin fijar. Fijado después en formalina 10% 8 micrómetros, H. Heidenhain, 1250 x (Inmersión). Al centro se observa una gruesa fibra muscular con claras estriaciones transversales.

senta fibras dispuestas en forma circular. c) el estrato interno, está formado por fibras axiales y longitudinales.

En general, las fibras musculares son muy resistentes a la coloración y con las tinciones corrientes sólo se pueden distinguir fibras ricas y pobres en sarcoplasma. Los núcleos son grandes, ligeramente ovalados y con poca cromatina. Se observa claramente un nucleolo bastante coloreable. Las estriaciones transversales de las fibras son difíciles de visualizar y sólo se pudo obtener resultados positivos cuando el corazón fué dejado por una hora fuera del animal antes de ser fijado (Fig. 4).

Entre las fibras musculares del estrato medio se pueden distinguir neuronas adosadas a las fibras musculares (Fig. 5) que se caracterizan por tener un cuerpo alargado, un citoplasma oscuro y un núcleo claro.

La superficie externa del corazón está recubierta por un epitelio simple, de células aplanadas cuyos núcleos resaltan hacia el exterior dándole un aspecto de un verdadero mesotelio o de membrana serosal. Por debajo de esta capa epitelial se observa una túnica conjuntiva fibrilar.

Actividad eléctrica. La actividad eléctrica espontánea es irregular. Se presentan grupos de actividad seguidos de periodos de inactividad. Con el electrodo activo clavado en la parte media del ven-

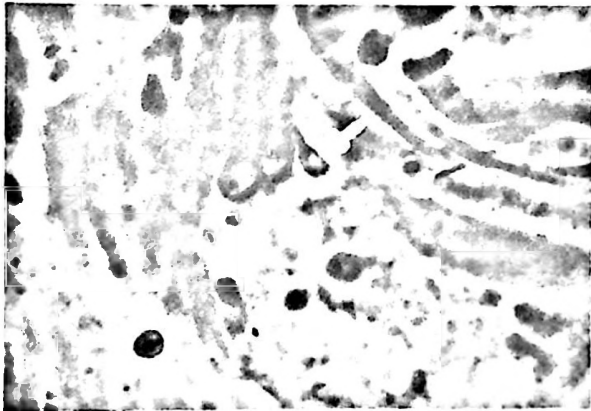


Fig. 5 Corte histológico de ventrículo de *C. concholepas* Bouin relajado, 5 micrómetros, H. cromótopo, 1250 x (inmersión). Se observan en el centro algunas células con núcleo claro y nucléolo que corresponden a células nerviosas que se encuentran a nivel de la capa media de fibras musculares.

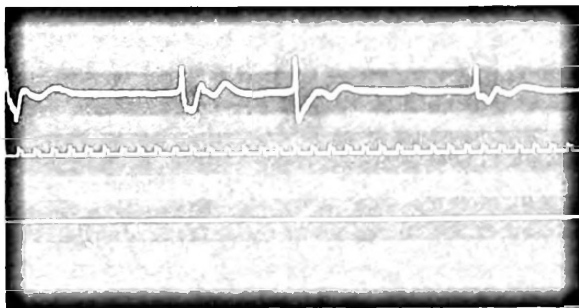


Fig. 6 Actividad eléctrica del corazón de *C. concholepas* (E.C.G.) registrada en el ventrículo. Nótese la depolarización rápida y repolarización lenta semejante a la onda T del E.C.G. de animales superiores. Irregularidad (arritmia) del E.C.G. y diferente morfología de los complejos. Tiempo: 1/5 de segundo.

trículo se pueden obtener registros muy parecidos a los electrocardiogramas de otros animales (Prosser y Brown, 1961, Concha y Vargas, 1957a) y que se caracterizan por una fase de depolarización rápida seguida de una repolarización lenta del tipo de la onda T (Fig. 6). Cada grupo de actividad posee una frecuencia relativamente constante. Los periodos de inactividad, en cambio, se caracterizan por tener una duración muy variable que va desde los 15 segundos hasta los 4 minutos. Los complejos electrocardiográficos no son iguales, dando la impresión que partieran de marcapasos diferentes. En algunos registros se pudo observar potenciales que precedían al complejo ventricular y que se caracterizaban por su similitud con la onda P auricular.

La inyección de noradrenalina (10 microgra-

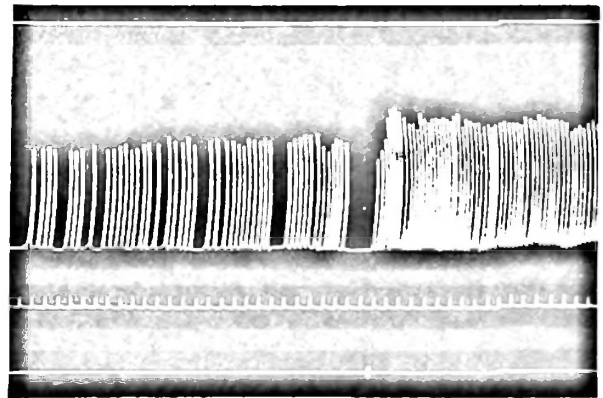


Fig. 7 Acción de noradrenalina (10 microgramos). Nótese el gran efecto cronótrópico e inótrópico positivos. Se observa muy bien el fenómeno de escalera al iniciarse el efecto. La actividad previa muestra su característica irregularidad. Tiempo: cada 5 segundos.

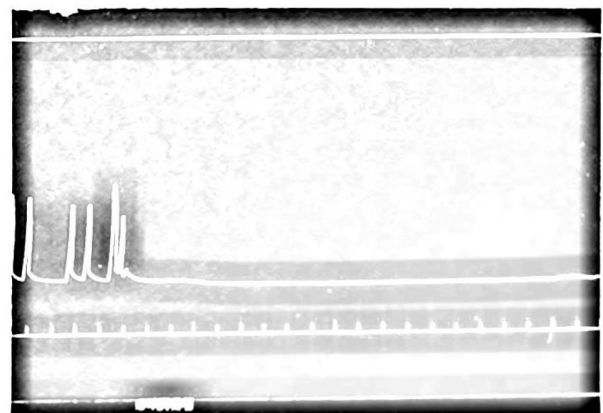


Fig. 8 Acción de acetilcolina (10 microgramos). Producción de paro cardíaco por fuerte inhibición de los marcapasos. Tiempo: cada 5 segundos.

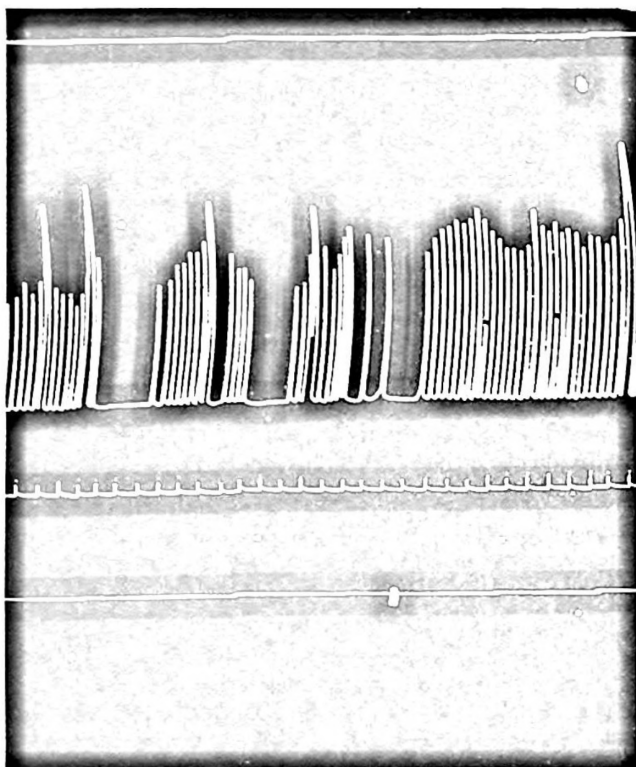


Fig. 9 Acción de 200 microgramos de atropina. Obsérvese la actividad irregular característica antes de agregar atropina. Tiempo: cada 5 segundos.

mos) regulariza la actividad eléctrica y aumenta la velocidad de los complejos. La onda T también desaparece (Fig. 7). La acetilcolina (3 a 10 microgramos) disminuye la frecuencia llegando al paro cardíaco con dosis mayores (Fig. 8).

Actividad mecánica ventricular. La irregularidad de las contracciones fue la característica general observada en todos los animales examinados (Fig. 7). La noradrenalina regulariza esta actividad y aumenta la frecuencia y la fuerza de las contracciones, es decir, tiene un efecto cronótrope e inótrope positivo (Fig. 7). Lo contrario sucede cuando se administra acetilcolina (Fig. 8).

La inyección de atropina (200 microgramos) aumenta la frecuencia cardíaca y la amplitud de las contracciones, simulando la acción observada con la administración de noradrenalina. El efecto de la atropina dura 3 a 4 minutos (Fig. 9). Con dosis menores de atropina (150 microgramos) no se observa el efecto.

La duración de las contracciones es variable, pero en la mayoría de los animales la fase de contracción tiene una duración de 1 segundo y la de relajación 1,24 segundos. Después de un período de inactividad llama la atención la aparición de un fenómeno de escalera (Fig. 7) lo que hace pensar que el corazón de este animal es miogénico al igual que el de los vertebrados.

DISCUSION

I HEMOLINFA

La sangre del *Concholepas concholepas* no se diferencia sustancialmente de la de otros moluscos que contienen hemocianina como proteína transportadora de oxígeno. Los dos tipos de células linfocíticas descritas en resultados son similares a las descritas para otros prosobranquios. En estos se describen tres tipos de células (George y Ferguson, 1950) que son: a) células linfoides, que se parecen a los linfocitos granulares y agranulares vistos por nosotros; b) amebocitos granulares eosinófilos, que corresponden a nuestro segundo grupo y c) macrófagos granulares, que no observamos y que se caracterizan por tener un núcleo bilobulado.

La sangre de los moluscos no coagula. Lo que sí se observa en forma muy clara, es un fenómeno de aglutinación espontáneo de los elementos figurados con la formación de grumos que sedimentan rápidamente. Varios autores (George y Ferguson, 1950, Dundee, 1953, Takatsuki, 1934, Drew y

Cantab, 1910) han descrito este mismo fenómeno. Este se caracteriza, en una primera instancia, por el choque de estas células entre sí, pero sin que se adhieran unas con otras. Cuando chocan con un cuerpo extraño o con un corpúsculo recién aglutinado, éstas empiezan a adherirse por medio de la emisión de pseudópodos que llegan a establecer verdaderos puentes protoplasmáticos que se acortan y ensanchan de tal forma que pueden llegar a formar un tapón en una herida producida en un vaso. Este tapón es luego invadido por fagocitos y tejido conectivo hasta llegar a la formación de un tejido de cicatrización. Este mecanismo de defensa tendría importancia para estos animales en el caso de heridas leves o de pequeñas abrasiones, ya que cuando se corta un vaso, este fenómeno de la aglutinación no es capaz de corregir la hemorragia (George y Ferguson, 1950).

La observación nuestra, de que en todos los frotis realizados se ven células en diferentes estados de lisis, podría tener relación con las llamadas "cé-

lulas explosivas" descritas por Scheer (1948) en estos animales. Se piensa que el contacto de la sangre con el aire hace que las células explosivas se lisen y aglutinen junto con las descritas anteriormente. Como se discute más abajo, esta lisis celular podría estar alterando los valores de potasio y de proteínas plasmáticas del plasma.

Los valores encontrados para los electrolitos plasmáticos (Tabla I) y los correspondientes valores para estos mismos en el agua de mar, a pesar de ser muy semejantes en su composición y osmolaridad, no permiten concluir que ambas soluciones se encuentren en libre intercambio, mientras no se determine calcio, magnesio y sulfato.

La concentración de cobre en la sangre del *C. concholepas* está en el rango de concentraciones de este mismo elemento descritas para otros moluscos. En el gastrópodo, *Helix pomatia* la concentración de cobre plasmático es de 6.5 - 11.5 mg/o (1.02 mmoles/l) del cual un 0.25% está ligado a la hemocianina (Prosser y Brown, 1961). Esta concentración es muy parecida a la determinada por nosotros en la sangre del loco (1.64 mmoles/l). La concentración de cobre en el agua de mar es de 0.00001 mg/o (1.56 nmoles/l) es decir, un millón de veces menos.

La proteinemia, (40 a 46 g/l), determinada por los métodos descritos, es un poco mayor que la descrita para los crustáceos *Homarus vulgaris* y *Cancer pagarus* que tiene proteinemias de 23 y 35 g/l respectivamente (Scheer, 1948).

El 5 a 10% de proteínas que no correspondían a la hemocianina podrían ser de origen intracelular como se discutió más arriba. Esta alta proporción de una sola proteína plasmática coincide plenamente con los resultados encontrados en todos los invertebrados cuyo transportador de oxígeno es la hemocianina (Prosser y Brown, 1961, Woods, 1958, Tyler y Metz, 1945). Las hemocianinas desoxigenadas son incoloras y sólo absorben radiación electromagnética a 280 nm. Al captar oxígeno toman un color azul intenso y presentan dos máximos de absorción en el espectro visible (565 y 350 nm) siendo la absorción a 350 nm cien veces mayor. Estas absorciones dependen del pH como se muestra en la Figura 1.

Los coeficientes de sedimentación de las hemocianinas de los moluscos son grandes y corresponden a proteínas con pesos moleculares de varios millones. El $S_{20,W}$ de la hemocianina del *Helix pomatia* es de 90 y corresponde a un peso molecular de 6.680.000. El peso molecular mínimo de la sangre de *Concholepas concholepas* es de 4.0 a 4.5×10^5 Redfield (1934, 1950), Manwell (1960) y Harvey (1961) encuentran que en la sangre de los moluscos 1 mol de oxígeno se une a un peso equivalente de proteína de 50.000, lo que es-

taría de acuerdo con el peso molecular mínimo determinado por nosotros a partir del contenido de cobre.

MORFOFUNCION CARDIACA

En lo que respecta al corazón de los moluscos, se sabe que entre los gastrópodos, aquellas especies que poseen una sola branquia (prosobranquios) poseen un corazón simple formados por dos compartimentos - una aurícula seguida de un ventrículo. Aquellas especies con más de una branquia tienen dos o más aurículas. El corazón del loco cae en la primera categoría ya que posee una sola branquia (Maldonado, 1965) y se observa claramente la presencia de un ventrículo y una sola aurícula.

Histológicamente lo que más llama la atención es que las fibras cardíacas presentan núcleos periféricos y centrales. Morin y Jullien (1930) sugieren que esto se debe a un artefacto de fijación. Nosotros no pudimos observar diferencias a pesar de usar diversas técnicas de fijación. Además, los dos tipos de núcleos se diferencian claramente en que los periféricos no tienen sarcoplasma circundante en cambio en los centrales este se hace muy visible. Nuestras observaciones coinciden con las de otros autores (Krijgsman y Divaris, 1955, Jullien y Morin, 1932) quienes describen la presencia de células nerviosas en el miocardio del *Murex trunculus* semejantes a las observadas por nosotros. Sin embargo, la existencia o no de estas células es un asunto bastante controvertido ya que hay bastantes autores que le niegan su existencia (Spillman, 1905, Ramsom, 1884).

La actividad eléctrica y mecánica del corazón del *Concholepas concholepas*, "in situ" demuestra lo óptimo de la preparación ya que los registros se mantienen en buena forma hasta por 36 horas. Morin y Jullien (1932) demuestran un fenómeno de envejecimiento en el corazón del *Murex trunculus* que consiste en una regularización del ritmo cardíaco pasadas las 30 horas. En general, los corazones recién extraídos pasan por diferentes etapas o fases de excitabilidad y los registros que de ellos se obtienen se caracterizan por la aparición de períodos de actividad agrupados.

En nuestras preparaciones se vio claramente que la onda de contracción no siempre se realiza en el mismo sentido. Este fenómeno no está descrito. Otros autores postulan la presencia de un marcapasos o más de uno (Krijgsman y Divaris, 1955, Hecht, 1955). Folkow (1964) en cambio, postula la existencia de un marcapasos difuso que variaría de posición. En algunos animales la actividad registrada no correspondía a un registro típico de depolarizaciones y repolarizaciones ventriculares, sino, que se presentaba con todas las características de un potencial auricular. La explicación de este fenómeno requiere de mayores estudios.

La regularización del ritmo del corazón aislado del *M. trunculus* por efecto del envejecimiento induce a pensar en la posible existencia de una sustancia o de mecanismo cardioinhibidor (Morin y Jullien, 1930). En nuestros experimentos con atropina se observó una clara regularización de las construcciones, como también de la frecuencia con que se contraía el corazón. Esto estaría apoyando la hipótesis de que habría una sustancia inhibidora o de que habría un freno de tipo nervioso que estaría regulando esta actividad. Estas observaciones coinciden también con los descritos, no sólo para el *M. trunculus*, sino que a los observados en la *Ostrea*, *Aplysia*, *Fasciata* y *Helix* (Krijgsman y Divaris, 1955, Morin y Jullien, 1932, Jullien y Morin, 1931, Jullien y co., 1930, Jullien y col., 1938, Jullien, 1937) en los cuales se observa este fenómeno y su regulación por el envejecimiento.

La acción de la atropina sólo se manifiesta a dosis altas. Según Krijgsman y Divaris (1955) la atropina no estaría actuando sobre la acetilcolina. La presencia de células nerviosas en los cortes de corazón del *C. concholepas* hace pensar que estas serían responsables de la acción cardioinhibidora observada.

Según el origen de las contracciones cardíacas, los corazones se pueden dividir en dos tipos: neurogénicos y miogénicos. En el primer caso, la contracción cardíaca obedece a una señal enviada desde una célula ganglionar, en cambio, en el corazón miogénico existen marcapasos propios que no requieren de un comando nervioso. Los corazones de los vertebrados y de los moluscos son miogénicos y en estos últimos la contracción se puede originar en cualquier parte del miocardio y ésta puede ser local o completa (Berthe y Petitfrere, 1934).

Otra característica de los corazones de los moluscos es su extrema sensibilidad a la presión. Su

frecuencia de contracción se hace máxima cuando el corazón se encuentra distendido y la presión interna es alta. Prosser y Brown (1961) describen cinco criterios que permite distinguir la naturaleza miogénica o neurogénica de los marcapasos. En este trabajo se aplicaron tres de estos criterios: a) observación de la presencia o ausencia de células ganglionares; la extirpación de ellas trae como consecuencia la detención de las contracciones. b) Registro electrocardiográfico con ausencia de potenciales de carácter oscilatorio y c) Respuesta a mediadores químicos, especialmente a la acetilcolina que estimula la acción de las células ganglionares. Los tres criterios empleados sugieren fuertemente que el corazón del *C. concholepas* es miogénico.

La acetilcolina inhibe las contracciones de los corazones de los moluscos (gastropodos, pelecipodos y cefalópodos) y estimula la de los Artrópodos. Estos últimos se caracterizan por poseer corazones neurogénicos. En la figura 8 se observa la parálisis cardíaca producida por una dosis baja de este mediador. El efecto de la acetilcolina puede ser bloqueado por tetraetilamonio pero no con atropina (Welsh, 1942, Welsh y McCoy, 1957).

Por su parte, la noradrenalina estimula la frecuencia y la amplitud de las contracciones de los corazones de los moluscos (Fredericq y Bacq, 1939, 1940). Lo mismo se observó en el corazón del loco (Fig. 7). La droga muestra un efecto inótropo y cronótropo positivo.

El mecanismo generador de la actividad cardíaca del corazón del loco aún no se conoce. Algunos autores señalan que, al igual que la fibra lisa (Folkow, 1964, el mecanismo generador de las contracciones podría ser la distensión de la musculatura del miocardio (Prosser y Brown, 1961).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BERTHE, J. y C. PETITFRERE. (1934). Archives of International Physiology 39, 98 - 111.
- CONCHA, J. y F. VARGAS. (1957a). Investigaciones Zoológicas Chilenas 3, 96.
- CONCHA, J. y F. VARGAS (1957b). Investigaciones Zoológicas Chilenas 3, 122.
- DREW, G.H. y B.A. CANTAB (1910). Quarterly Journal of Microscopic Sciences 54, 605 - 621.
- DUNDEE, D.S. (1953). Transactions of the American Microscope Society 72, 254 - 264.
- FLORES, G., M. KRAUSKOPF y J. CONCHA. (1967). Annales d'Histochemie 12, 233 - 241.
- FOLKOW, B. (1964). Circulation Research. XIV-XV, 279
- FREDERICQ, H. y Z.M.BACQ (1939). Archives of International Physiology. 49, 490 - 496.
- FREDERICQ, H. y Z. M. BACQ (1940). Archives of International Physiology. 50, 169 - 184.
- GEORGE, W.C. y J.H. FERGUSON, (1950). Journal of Morphology 86, 315 - 327.
- HARVEY' H.W., (1961). The Chemistry and Fertility of Sea Water. Cambridge University Press. p. 3.
- HECHT, H.H. (1965). Annals of the New York Academy of Sciences.. 127, 48 - 83.
- HUAQUIN, L., (1966). Tesis Departamento de Biología. Facultad de Medicina. Universidad Católica. Santiago.
- JULLIEN, A., G. MORIN, y H. BLANC., (1930). Comptes Rendues. Societe du Biologie. 104, 578.
- JULLIEN, A. y G. MORIN., (1931). Comptes Rendues Societe du Biologie. 108, 1242.
- JULLIEN, A. y G. MORIN., (1932). C. R. Academie du Sciences. Paris 194, 1602.

- JULLIEN, A. (1937). *Archives International Physiology*. 45, 189.
- JULLIEN, A. y D. VINCENT., M. BOUCHET. M. VIULET. (1938). *Annales Physiologique et Physicochimie Biologie*. 14, 567 - 574.
- KLOTZ, I.M. (1955). *Science* 121, 477 - 480.
- KRIJGSMAN, J.B. y A.G. DIVARIS. (1955) *Biological Reviews*. Cambridge Phil. Society. 30, 1 - 39.
- LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH., L.A. FARR y R.J. RANDALL. (1951). *Journal of Biological Chemistry*. 198, 265.
- MALDONADO, R., (1965). *Revista de Biología Marina*. XII, 121.
- MANWELL, C. (1960). *Annual Review of Physiology*. 22, 191 - 244.
- MORIN, G. y A. JULLIEN (1930) *Bulletin d'Histologie*. 7, 79 - 96.
- MORIN, G. y A. JULLIEN, (1932). *Archives International Physiology*. 35, 143.
- PROSSER, L.C. y A.F. BROWN. (1961). *Comparative Animal Physiology*, Secon Edition. W. B. Saunders. Co. Philadelphia. 6 - 47, 57 - 76, 198 - 207, 393 - 411.
- RANSOM, W.B. (1884). *Journal of Physiology*. London. 5, 261 - 341.
- REDFIELD. A.C. (1934). *Biological Review*. Cambridge Phil. Society. 9, 175 - 212.
- REDFIELD. A.C. (1950). *Copper Metabolism*. John Hopkins Press, Baltimore, Md. p. 174 - 190.
- SCHEER, T.B. (1948). *Comparative Physiology*. John Wiley and Sons, New York, páginas: 172 - 173, 194, 196, 265, 275 - 276.
- SPILLMAN. J. (1905). *Journal of Physiology*. London. 40, 537 - 588.
- TAKATSUKI, S. (1934). *Quarterly Journal of Microcope Sciences* 76, 379 - 432.
- TYLER, A. y C.B.METZ. (1945). *Journal of Experimental Zoology*. 100, 387.
- WELSH, J.H. (1942). *Journal of Cellular and Comparative Physiology*. 19, 271 - 279.
- WELSH, J.H. y A.C. McCoy. (1957). *Science*. 125, 348.

