

METODO CUANTITATIVO PARA LA PRODUCCION DE ARRITMIAS VENTRICULARES EN LA RATA [♦]

por los doctores

M. R. MALINOW *, F. F. BATLLE ** y B. MALAMUD ***

Las arritmias de origen ventricular constituyen un interesante problema desde el punto de vista fisiológico por ser desconocido su mecanismo íntimo de producción, planteando, además, problemas terapéuticos, pues su tratamiento se basa en normas empíricas, determinadas especialmente mediante ensayos en el ser humano.

La facilidad con que se logran ritmos ectópicos ventriculares administrando en la rata sales de calcio por vía venosa, ha hecho que, después de descartar varias sustancias que ensayáramos, hayamos preferido las mencionadas sales en nuestros estudios sobre arritmias ventriculares. Desde que Ringer ¹ observó que la presencia del ión Ca es imprescindible para la contracción continuada del corazón perfundido, numerosos trabajos demostraron que este ión influye también sobre la conductibilidad, excitabilidad y automatismo, a la primera de los cuales deprime, en tanto que puede inhibir o exaltar a los otros dos (Consultar bibliografía en ²). Aparentemente, en el corazón no aislado de la tortuga, la acción del Ca sobre las distintas propiedades cardíacas no se ejerce simultáneamente ³ y los efectos sobre el automatismo cardíaco no son estrictamente proporcionales a las dosis administradas en los distintos animales ⁴⁻⁶. Sin embargo, después de numerosas experiencias en la rata, algunas aparentemente contradictorias, llegamos a la conclusión de que la falta de uniformidad en la acción del Ca sobre las arritmias ventriculares, era imputable a ciertos factores que podían ser eliminados o corregidos. De esta manera, recurriendo al cloruro de calcio por vía venosa, pudimos obtener un método capaz de producir regu-

♦ Pabellón de Cardiología "Luis H. Inchauspe", Policlínico Ramos Mejía. Jefe: Prof. Blas Moia. El Departamento de Investigaciones es subvencionado parcialmente por la Asociación Cardiológica Inchauspe.

* Jefe de Investigaciones Clínicas. Pabellón de Cardiología "Luis H. Inchauspe".

** Jefe del Servicio de Cardiología del Policlínico Dr. Teodoro Alvarez.

*** Jefe de Clínica del Servicio de Cardiología del Policlínico Dr. T. Alvarez.

larmente en la rata taquicardia ventricular reversible, método que podría eventualmente servir para el estudio del mecanismo de producción de estas arritmias y de la acción de distintas drogas sobre las mismas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon ratas blancas, cepa Williams, proporcionadas por el Instituto Bacteriológico Malbrán*, destetadas a los 25 días y mantenidas desde entonces con agua, leche, pan, verduras frescas y aporte vitamínico complementario. Se las anestesió con embutal sódico intraperitoneal** (Solución al 6 por mil en agua destilada, 6 mg./100 g. de peso) y se practicó una pequeña incisión inguinal, aislándose la vena femoral por disección roma con el objeto de asegurarse la inyección endovenosa total de la solución, inyección efectuada mediante una jeringa de las llamadas "para tuberculina" (graduada en centésimas de cm³) y una aguja de 4,10 de calibre. Por intermedio de dos electrodos precordiales cutáneos, los animales fueron conectados a un electrocardiógrafo y a un cardioscopio***, lo que permitió controlar ininterrumpidamente los fenómenos. Después de la inyección de la solución de cloruro de calcio, se observaron cuidadosamente los resultados y se clasificaron de la siguiente manera: 1) extrasistolia aislada (+); 2) extrasistolia frecuente o bigeminismo extrasistólico (++) ; 3) salvas cortas de taquicardia o fibrilación ventricular (+++), y, 4) taquicardia ventricular o fibrilación ventricular prolongada (++++). Se consignaron como positivos, sólo las reacciones 3 (++) ó 4 (++++). Las soluciones de cloruro de calcio empleadas fueron hechas en suero fisiológico y sus concentraciones oscilaron entre el 2 y el 10%. La velocidad de inyección fué máxima y las dosis fueron de 0.20 a 0.80 cm³ de las distintas soluciones por cada 100 gramos de rata.

RESULTADOS

Los resultados se relatan en la forma que fueron apareciendo y, por consiguiente, las aparentes irregularidades de los mismos derivan de no haber eliminado los factores de perturbación, especialmente el relativo al peso de los animales. Cuando estos factores pudieron ser individualizados, resultó fácil obtener el método que buscábamos.

1) *Efectos de la concentración de cloruro de calcio.* — Se estudiaron los efectos de distintas concentraciones de cloruro de calcio

* Agradecemos al Dr. Savino del Instituto Bacteriológico Malbrán el haber-nos proporcionado los planteles originales y al Dr. J. M. Lascano González su ayuda en el mantenimiento de los animales.

** Los Laboratorios Abbott nos han provisto generosamente con el Embutal necesario para las experiencias.

*** La Casa E. M. E. nos ha facilitado un cardioscopio de su fabricación.

(en suero fisiológico) mediante la inyección de una dosis de 0,20 cm³ por cada 100 g de peso. Según puede observarse en el cuadro 1, a medida que aumenta la concentración de la droga, aumenta también el número de respuestas positivas, de tal manera que cuando la concentración es al 2 %, el resultado es positivo en el 5 % de los

TABLA N° 1

EFECTOS DE LA CONCENTRACION DEL Cl₂Ca; DOSIS DE 0.20 cm³/100 g.

Nº ratas	peso (g)	solución (Cl ₂ Ca (%))	respuesta positiva (%)
20	55-106	2	5
40	25-90	3	17.5
20	54-145	4	40
40	30-145	5	52
35	67-155	6	80
20	25-160	10	80

animales; cuando es al 3 %, en el 17,5 % de los casos; al 4 %, en el 40 %; al 5 %, en el 52 %; al 6 %, en el 80 %, pero al 10 %, también sólo en el 80 % de los animales.

2) *Efectos de la cantidad total de solución inyectada.* — Para estudiarlos se emplearon cantidades progresivamente mayores de la misma solución, escogiéndose para ello una al 2 %, por haberse mostrado relativamente la menos efectiva. Como puede verse en el cuadro 2, cuando se pasó de la dosis de 0,20 cm³ por 100 g de

TABLA N° 2

EFECTO DE LA CANTIDAD DE SOLUCION INYECTADA (Cl₂Ca al 2 %)

Nº ratas	peso (g)	dosis (cm ³ /100 g)	respuesta positiva (%)
20	55-106	0.20	5
10	80-100	0.30	50
17	43-105	0.40	47
22	70-160	0.60	40
29	67-155	0.80	86

peso a la de 0,30, la positividad de los resultados aumentó del 5 % al 50 %, después de administrar una dosis de 0,40 cm³ por 100 g el porcentaje fué de 47 %; inyectando 0,60 cm³/100 g el porcentaje fué de 40 % y después de 0,80, 86 %.

3) *Influencia del peso corporal.* — Durante los ensayos anteriores se había podido observar que dosis similares de cloruro de calcio provocaban respuestas muy variables. Se pensó entonces que la

causa pudiera estar en que animales de distinto peso reaccionaran diferentemente; en consecuencia, se procedió a separar al conjunto de ratas en dos grupos: A, con un peso entre 60 y 160 gramos, y B, con un peso igual o menor a 50 gramos. Nuestra hipótesis quedó muy pronto confirmada, ya que los resultados difirieron notablemente según se tratara de animales de uno u otro grupo, como puede apreciarse en el cuadro 3. Empleando siempre 0,20 cm³ por

TABLA N° 3 (I)

INFLUENCIA DEL PESO DEL ANIMAL. GRUPO A, RATAS DE PESO IGUAL O MAYOR A 60 g.; GRUPO B, RATAS DE PESO IGUAL O MENOR DE 50 g. (DOSIS 0.20 cm³/100 g.)

Nº ratas	grupo	solución (Cl ₂ Ca (%))	respuesta positiva (%)
19	A	2	0
14	A	3	35
18	A	4	39
20	A	5	95
35	A	6	80
10	A	10	100
20	B	3	0
19	B	5	10
10	B	10	60

TABLA N° 3 (II)

(SOLUCION Cl₂Ca 2 %)

Nº ratas	grupo	dosis (cm ³ /100 g)	respuesta positiva (%)
19	A	0.20	0
10	A	0.30	50
10	A	0.40	80
22	A	0.60	40
29	A	0.80	86
7	B	0.40	0

cada 100 gramos de peso se obtuvieron los siguientes índices de positividad para el grupo A: cloruro de calcio al 2 %, 0 %; cloruro de calcio al 3 %, 35 %; cloruro de calcio al 4 %, 39 %; al 5 %, 95 %; al 6 %, 80% y al 10 %, 100 %. Para el grupo B, ratas chicas, los porcentajes de positividad fueron: con cloruro de calcio al 3 %, 0 % de resultados positivos; al 5 %, 10 %; y al 10 %, 60 %. Iguales diferencias se comprobaron al comparar los efectos en uno y otro grupo de la inyección de 0,40 cm³ (solución al 2 %) por cada 100 gramos de animal: en el B las respuestas fueron *negativas* en el 100 %; en el A *positivas* en el 80 %.

TABLA N° 4
 RELACION ENTRE EL PESO CARDIACO Y EL PESO CORPORAL (GRUPO 1, RATAS DE
 PESO IGUAL O MENOR DE 50 g.; GRUPO 2, RATAS DE PESO ENTRE 60 Y 150 g.;
 GRUPO 3, RATAS DE PESO MAYOR DE 150 g.)

I		2		3				
sexo **	peso corp. * (g)	peso card. * (g)	relación * (%)	sexo	peso corp. (g)	relación (%)	peso card. (g)	relación (%)
H	36.5	0.206	5.68	H	86	4.28	0.3782	4.3
M	39	0.2261	5.83	H	97	4.1	0.397	3.5
M	39	0.280	7.2	M	83	4.25	0.353	3.58
H	42	0.2681	6.38	M	79	3.61	0.300	3.1
H	46.5	0.292	6.3	H	88	4.23	0.3723	4.75
M	46	0.290	6.3	H	65	4.6	0.2981	3.6
H	46.5	0.278	6.0	H	65	4.28	0.278	3.06
H	27	0.166	6.18	H	79	4.15	0.3273	3.3
H	32	0.1985	6.22	H	104	3.75	0.3913	3.57
H	33	0.198	6.01	M	77	4.06	0.313	3.27
Promedio	38.75	0.2402	6.21		82.3	4.12	0.3408	3.60
					246.4		0.8742	

* Corp., corporal; card., cardíaco; relación, relación de peso cardíaco peso corporal $\times 100$.

** M., machos; H., hembras.

4) *Relaciones entre peso cardíaco y peso corporal.* — Para explicar la variabilidad de los resultados en los dos grupos de ratas se supuso que, actuando el cloruro de calcio sobre el corazón, era equivocado relacionar la cantidad de droga inyectada con el peso del animal, toda vez que en buen número de especies, si no en todas, el peso cardíaco guarda una relación inversamente proporcional con el peso corporal. En el cuadro 4 puede verse esta relación en nuestras ratas, que fueron separadas, según su peso, en 3 grupos. La relación porcentual del peso cardíaco con el corporal constituye un índice que disminuye al aumentar el peso del animal; en el grupo 1 —50 gramos o menos— dicho índice fué de 6,21 ‰; en el 2 —entre 60 y 150 gramos— de 4,12 ‰; y en el 3 —de más de 150 gramos— llegó apenas a 3,60 ‰. Si el cloruro de calcio actuara por unidad de peso cardíaco, quedaría explicada la disparidad de efectos cuando se considera solamente el peso absoluto del animal para calcular la cantidad de droga que se ha de inyectar.

5) *Influencia de la velocidad de la inyección.* — Se determinó luego el efecto que ejercía la velocidad de la inyección. Para ello se administró 0,40 cm³ por cada 100 gramos de rata (de la solución

TABLA N^o 5

INFLUENCIA DE LA VELOCIDAD DE LA INYECCION; SOLUCION DE Cl₂Ca al 2 ‰. GRUPO 1, 0,40 cm³/100 g. EN DOS DOSIS SEPARADAS POR UN MINUTO; GRUPO 2, 0,40 cm³/100 g. EN UNA DOSIS RAPIDA

N ^o ratas	grupo	respuesta positiva (%)
19	1	0
10	2	80

al 2 ‰), en un lote de animales en dos dosis separadas por un intervalo de un minuto, y en otro igual cantidad en una sola inyección rápida (tabla 5). Se observó que en el primer lote la droga era inefectiva en el 100 ‰ de los casos, en tanto que en el segundo el resultado era positivo en el 80 ‰ de los animales. Esto probó que la respuesta no depende tanto de la cantidad total inyectada cuanto del nivel alcanzado por la droga en la sangre o en el propio corazón. Este mismo factor de velocidad de inyección creemos que al influir sobre la concentración alcanzada explica la irregularidad de las respuestas de la tabla 3, II.

6) *Influencia de las cepas.* — Con el objeto de averiguar si los

resultados no variaban empleando animales de diferentes cepas, se inyectaron distintas cantidades de cloruro de calcio al 2 % a ratas de la cepa Williams proporcionadas por el Instituto Bacteriológico Malbrán y a otras obtenidas en el Instituto de Fisiología* (cuadro 6). En el grupo 1 la positividad fué, empleando 0,20, 0,30 y 0,40 cm³ por 100 gramos de rata, 0, 50 y 80 % respectivamente; para el grupo 2, inyectando iguales cantidades, los porcentajes de posi-

TABLA N° 6

DIFERENCIAS ENTRE DISTINTAS CEPAS; SOLUCION DE Cl₂Ca al 2 %. GRUPO 1, CEPA WILLIAMS. INSTITUTO BACTERIOLOGICO MALBRAN; GRUPO 2, CEPA WILLIAMS, INSTITUTO DE FISIOLOGIA

Nº ratas	grupo	dosis (cm ³ /100 g)	respuesta positiva (%)
19	1	0.20	0
10	1	0.30	50
10	1	0.40	80
6	2	0.20	0
11	2	0.30	18
11	2	0.40	91

tividad fueron 0, 18 y 91 respectivamente. La principal diferencia, como puede apreciarse, aparece al emplear 0,30 cm³ por 100 gramos de rata. Ello significa que el factor cepa, al que eventualmente podría vincularse la temperatura ambiente, las estaciones, la alimentación, etcétera, influye en alguna medida, hecho que obliga a que cada investigador determine sus propios "standards".

TABLA N° 7

COMPARACION ENTRE LA APARICION DE TAQUICARDIA VENTRICULAR Y LA MORTALIDAD. (DOSIS 0.20 cm³/100 g.)

Nº ratas	solución (Cl ₂ Ca (%))	respuesta positiva (%)	mortalidad (%)
20	2	5	5
40	3	17.5	2.5
20	4	40	30
40	5	52	25
20	6	90	65
20	10	80	90

(SOLUCION Cl₂Ca 2 %)

Nº ratas	dosis (cm ³ /100 g)	respuesta positiva (%)	mortalidad (%)
10	0.30	50	0
15	0.40	53	33

* Agradecemos al Prof. Odoriz su gentileza al proporcionarnos las ratas necesarias para este experimento.



7) *Efectos electrocardiográficos que preceden a la taquicardia ventricular.* — La inyección de distintas soluciones de cloruro de calcio produjo en muchos casos cambios electrocardiográficos que no siempre fueron seguidos de taquicardia ventricular. Lo primero que se observó fué taquicardia sinusal acompañada de gran aumento del voltaje de QRS, efectos fugaces que se hacían algo más persistentes al emplear concentraciones elevadas; a concentraciones mayores aparecía gran descenso del segmento ST y de su nacimiento, pero estas modificaciones eran asimismo rápidamente reversibles; generalmente recién después de dosis tóxicas pudo observarse bradicardia sinusal, bloqueo sinoauricular, aurículoventricular o intra-ventricular en ratas que no exhibieron, o sólo terminalmente, ritmos ectópicos ventriculares.

8) *Causas de la muerte y toxicidad del cloruro de calcio.* — La mortalidad de los animales no guardó relación con la aparición de ritmos ectópicos ventriculares, como lo demuestra el cuadro 7. En efecto, a pesar de que tanto la mortalidad como la frecuencia con que apareció la taquicardia ventricular aumentaron en términos generales con la concentración del cloruro de calcio, el número de animales que sucumbió a la experiencia fué menor que el que respondió positivamente. Esto puede apreciarse claramente en la mitad inferior del cuadro, donde se ve que cuando se empleó por 100 gramos de rata 0,30 cm³ de la solución al 2 % hubo taquicardia ventricular en el 50 % de los animales, pero ninguno de ellos murió.

En general, la muerte de las ratas se produjo por paro respiratorio, en algunos casos acompañado de bradicardia o de taquicardia sinusales, en pleno acceso de taquicardia ventricular o después de terminado el mismo; el paro cardíaco asociado o seguido de paro respiratorio fué también causa de muerte de muchos animales. Es difícil determinar en qué medida participó cada uno de estos procesos en la evolución fatal.

DISCUSIÓN

En nuestras experiencias pudimos reproducir todos los fenómenos electrocardiográficos ya descritos a propósito de la administración endovenosa de cloruro de calcio en los animales, a saber: bradicardia y taquicardia sinusales, distintos grados de bloqueo, extrasistolia ventricular, taquicardia ventricular y fibrilación ventricular, así como también los cambios previos en la configuración

de QRST. Pero nuestro objetivo fué descubrir un método capaz de producir arritmias ventriculares en condiciones experimentales controlables, como lo hemos logrado. Del conjunto de nuestras experiencias hemos deducido que el procedimiento más aconsejable para obtener taquicardia ventricular reversible en la rata consiste en lo siguiente: previa anestesia con embutal sódico, a la dosis de 6 mg por 100 gramos de peso corporal, se inyecta muy rápidamente en la vena femoral disecada una solución de cloruro de calcio al 6 % a la dosis de 0,20 cm³ por 100 gramos de peso corporal. La respuesta es positiva en el 80 % de los animales que pesan de 60 a 150 gramos.

Los métodos experimentales corrientemente empleados para provocar arritmias ventriculares, a pesar de su gran utilidad, son relativamente laboriosos. Por el contrario, nuestro método es sumamente sencillo y fácilmente reproducible, siempre que no se olvide que el peso corporal del animal influye en los resultados; por consiguiente, nos permitimos proponerlo para el estudio fisiológico y farmacológico de las arritmias ventriculares. Queda en pie la disyuntiva de utilizar distintas concentraciones o variar la cantidad de solución que se inyecta. Nosotros elegimos el primero porque permite obtener diferencias muy netas y porque si se aumenta la cantidad inyectada puede no alcanzarse el nivel adecuado por dilución (ver tabla 3, II). Por último, según ya se destacó, las variantes que resultan del empleo de distintas cepas imponen una standardización previa en cada grupo de experiencias

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se describe un método sencillo y fácilmente reproducible para provocar taquicardia ventricular en ratas mediante la inyección endovenosa de distintas soluciones de cloruro de calcio. Las variaciones en las respuestas encontradas en ratas de distinto peso están vinculadas con las distintas relaciones peso cardíaco/peso corporal, pero ese inconveniente se sortea limitando el peso de los animales. Se demuestra la influencia de la concentración de la droga, de la cantidad de la misma y de la velocidad de la inyección, y se describen brevemente los cambios electrocardiográficos que resultan. Por los resultados ligeramente distintos según las cepas empleadas, se recomienda efectuar estudios previos de control en cada serie de experimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. *Ringer, S.* — "J. Physiol.", 1880-82, 3, 380, citado por 2.
2. *Berlinger, K.* — "Am. Heart J.", 1932, 8, 548.
3. *Harris, A. S.* y *Madjerek, Z.* — "Am. J. Physiol.", 1948, 153, 402.
4. *Walters, W.* y *Bowler, J. P.* — "Surg. Gyn., Obs.", 1924, 39, 200.
5. *Hoff, H. E.*, y *Nahum, L. H.* — "J. Pharm. Exp. Ther.", 1937, 60, 425.
6. *Hoff, H. E.*, *Smith, P. K.* y *Winkler, A. W.* — "Am. J. Physiol.", 1939, 125, 162.

RESUME

On décrit une méthode simple et facile à reproduire pour provoquer une tachycardie ventriculaire dans des rats moyennant une injection intraveineuse de différentes solutions de chlorure de calcium.

Les variations dans les réponses trouvées dans des rats de différents poids, sont relationnées avec les différentes relations de poids cardiaque /poids corporel; mais cet inconvénient est surmonté en limitant le poids des animaux. On démontre l'influence de la concentration de la drogue, de la quantité de la même et de la rapidité de l'injection, et on décrit brièvement les changements électrocardiographiques qui résultent. A cause des résultats légèrement différents selon les souches employées, on recommande de faire les études de control à priori dans chaque série d'experiments.

SUMMARY

A simple and easily reproduced method is described to induce ventricular tachycardia in rats, following the i.v. injection of several CaCl₂ solutions.

The changing responses found in rats with different body weights, are attributed to the different heart weight/body weight ratios. This is avoided by limiting the body weight of the experimental rats. The influence of drug concentration, amount of drug and speed of injection, are analyzed. The electrocardiographic changes are briefly described. Due to a small difference in the results obtained with several strains of rats, control studies previous to each experiment are suggested.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine einfache, leicht wiederholbare Methode wird beschrieben, nach welcher man bei Ratten mittels intravenöser Injektion verschiedener Lösungen von Calciumchlorid Kammertachykardie hervorrufen kann.

Die Unterschiede, die man bei den Reaktionen von Ratten verschiedenen Gewichtes fand, sind mit den ungleichen Verhältnissen von Herzgewicht zu Körpergewicht in Zusammenhang, aber diese Unannehmlichkeit lässt sich durch begrenzte Auswahl der Tiere nach Gewicht vermeiden. Man beweist den Einfluss der Konzentration der Droge, der Menge und der Injektionsgeschwindigkeit, und beschreibt kurz die daraus entstehenden elektrokardiographischen Veränderungen. Da die Resultate je nach der verwendeten Ratten leichte Unterschiede zeigen, empfiehlt es sich, vor jeder Versuchsreihe Kontrollversuche auszuführen.