

Tesis de Licenciatura

Comportamiento osmótico del músculo sartorio de rana

Sanchez, Luis María

Tesis presentada para obtener el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis de licenciatura de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Six-Year Bachelor's Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Sanchez, Luis María. (). Comportamiento osmótico del músculo sartorio de rana. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000529_Sanchez

Cita tipo Chicago:

Sanchez, Luis María. "Comportamiento osmótico del músculo sartorio de rana". Tesis de Licenciado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. .

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000529_Sanchez

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

COMPORTAMIENTO OSMOTICO DEL
MUSCULO SARTORIO DE RANA

Seminario

Luis María Sánchez

COMPORTAMIENTO OSMOTICO DEL MUSCULO SARTORIO DE RANA

Cuando se determina el espacio extracelular del músculo sartorio de rana se observa una apreciable dispersión en los resultados. Steimbach (1961) obtuvo, en valores relativos, valores tan diferentes como 20 y 30 % en Rana pipiens. Por otra parte Tasker y colaboradores (1959) encontraron valores entre 8 y 40 % en Buffo marinus, y Harris y Col. (1955) trabajando con Leptodactilus ocelatus determinaron valores entre 28 y 37 %. Nuestros propios valores, también en Leptodactilus ocelatus, de este trabajo se encuentran en el rango de 13 a 24 % .

Dado el gran número de propiedades del músculo que necesitan del conocimiento previo del espacio extracelular, hemos considerado interesante analizar algunos de los factores que podrían estar involucrados en la dispersión observada y al mismo tiempo poder determinar en que medida esta dispersión es debida a imperfecciones de la técnica de medida o se debe a una dispersión real de los valores de espacio extracelular.

Como en muchos casos el espacio extracelular se determina usando sacarosa marcada con C^{14} , cuya radiación beta es demasiado débil, hemos pensado que la absorción de la radiación por sales irregularmente distribuidas en la cazoleta de medición podría contribuir a la dispersión observada en aquellos casos en que el espacio extracelular se determina por extracción en solución de Ringer.

Otra fuente de error podría ser los cambios en el volumen del músculo dados por pequeñas diferencias en la presión osmótica entre el interior de la fibra muscular y la solución en que se encuentra.

Por último, la no homogeneidad de la solución por imperfecta agitación u otra causa podría también contribuir a la dispersión.

En este seminario se hace un estudio parcial de estos tres posibles factores con especial referencia al comportamiento osmótico del músculo.

Métodos

1. Error dado por la absorción en las sales del Ringer

Diversas muestras de 2 cc de solución de Ringer conteniendo sacarosa marcada fueron secadas directamente sobre las cazoletas y medida luego su radioactividad. Un segundo grupo de igual número de muestras de la misma solución fué deionizada por medio de resinas de intercambio y en un tercer grupo las sales fueron eliminadas por electrolisis.

Se usaron las siguientes técnicas de deionización :

a) Electrolisis

Hemos usado el principio de la técnica de Astrup (Block y col.1958) Consiste en realizar la electrolisis de la solución entre un cátodo circular de ácido sulfúrico que retiene el cationo y un ánodo también circular que por ser de mercurio se combina con los metales alcalinos. El dispositivo empleado está dibujado en la Figura 2. Hemos encontrado que para muestras de 2 cc y un tubo interior de 8 mm de diámetro se obtienen buenos resultados con una velocidad del flujo de ácido sulfúrico de 25 cc/min. y un flujo de mercurio de 6 cc/min. bajo un voltaje de 80 volts. En este caso el proceso comienza con una corriente de 600 mA que decrece gradualmente a un valor estacionario de 20 mA. Esta técnica toma un tiempo de 15 minutos.

b) Resinas de intercambio iónico

La resina utilizada era "Deeminac" (Crystal Research Laboratories, Inc.). La columna fué preparada en un pequeño embudo terminando en una pequeña punta para control del flujo. Una vez pasada la muestra la columna era lavada con agua destilada para extraer la sacarosa remanente. Hemos obtenido buenos resultados con un flujo de 0,2 cc/min. y con tres lavados de 2 cc. Hemos encontrado que un diámetro de la columna de 4 mm y una altura de 5 cm era necesario para una buena deionización. Una cantidad mayor de resina daba resultados mas dispersos por una mayor pérdida de sacarosa, mientras que una cantidad menor no era suficiente para una buena deionización.

2. Determinación del espacio extracelular

El espacio extracelular fué determinado tanto por sacarosa marcada como inactiva. En el primer caso los músculos fueron extraídos en agua destilada debido a la necesidad de evitar la absorción de la radiación por la sacarosa inactiva presente en la solución de baño presente para obtener la presión osmótica deseada (ver mas adelante) y la imposibilidad de separar la sacarosa marcada de la inactiva. Esto hace mas simple a la técnica dado que no es necesario una posterior deionización. Cuando el espacio extracelular se determinó mediante sacarosa inactiva se hizo uso de la misma sacarosa usada para obtener la presión osmótica deseada. La cantidad de sacarosa se determinó colorimetricamente por medio del ácido tiobarbitúrico en solución de clorhídrico de acuerdo a la técnica de R. Fabre (Percheron 1962). En estos casos los músculos fueron extraídos en solución de Ringer. Extraídos en agua destilada los músculos liberan sustancias de difícil identificación que interfieren con la reacción colorimétrica.

Cuando se estudiaba el efecto de la presión osmótica los músculos permanecían dos horas en la solución de sacarosa, mientras que en los otros casos sólo estaban media hora. En ambos casos la descarga duraba dos horas.

3. Efecto de la presión osmótica del baño exterior sobre el volumen del músculo y sobre el espacio extracelular

Aproximadamente en la mitad de los casos usamos el siguiente procedimiento: los músculos eran disectados, montados en soportes de acero inoxidable y mantenidos en una solución de Ringer normal para que lleguen al equilibrio. Luego cada músculo era pesado junto con su soporte en el aire y transferidos a la solución de presión osmótica dada, donde eran pesados nuevamente para determinar el empuje. Los músculos permanecían en dicha solución durante dos horas. En los casos en que el espacio extracelular era determinado mediante sacarosa radioactiva, ésta formaba parte del baño.

Después de 2 horas cada músculo era pesado nuevamente en el baño, luego pesado en el aire y transferido a tubos individuales de 5 cc con solución de Ringer para su descarga durante otras dos horas. Estos músculos eran agitados constantemente durante el tiempo de descarga. Luego los músculos eran retirados y analizada la solución.

Los soportes eran entonces pesados en aire y también inmersos en el líquido de carga, mientras que la densidad de la solución era determinada por picnometría. Este procedimiento nos permitió conocer el volumen y la densidad de los músculos al comienzo y al final del proceso en la correspondiente presión osmótica.

En la otra mitad de los casos los músculos eran pesados solamente en el aire y el volumen era calculado atribuyéndoles la correspondiente densidad determinada como fué explicado. En un grupo de músculos no se agitó adrede durante la descarga e incluso las muestras para el análisis eran tomadas sin agitación previa.

4. Soluciones

Para determinar los efectos de la presión osmótica la mitad de la concentración de NaCl de la solución de Ringer normal era reemplazado por sacarosa, de tal manera de obtener soluciones de diferentes presiones osmóticas pero de la misma composición iónica. Las soluciones usadas fueron las que figuran más adelante (pag. 4).

La presión osmótica de las soluciones se determinó por crioscopia. Es necesario tener en cuenta que las soluciones de sacarosa dan una

presión osmótica anómala, mayor la real que la ideal, dada por la adsorción de moléculas de agua por las moléculas de sacarosa (J. Duclaux, 1936; Bieselaar, M.D., 1938).

Las soluciones usadas fueron las siguientes :

	Sacarosa	Na	K	Ca	Cl	Densidad
Ringer normal	0	120	2,5	1,8	126	1,000
= 0,60	8,8	60	2,5	1,8	66	1,001
= 0,75	45,0	60	2,5	1,8	66	1,006
= 1,00	95,0	60	2,5	1,8	66	1,012
= 1,25	150,0	60	2,5	1,8	66	1,018
= 1,50	210,0	60	2,5	1,8	66	1,027

Los solutos estan dados en milimoles por litro y la densidad en gramos por centímetro cúbico.

RESULTADOS

1. Error dado por la absorción por las sales del Ringer

a) Pérdida de radioactividad durante la deionización

La radioactividad perdida durante la electrolisis (probablemente dada por la difusión a través de la ventana de celofan) se determinó comparando la radioactividad de una solución de Ringer radioactiva muestras de la cual eran deionizadas, con muestras de la misma radioactividad preparadas con agua destilada y secadas directamente. Se encontró una pérdida constante de radioactividad ligeramente inferior al 10 %.

b) Comparación de los diferentes procedimientos

En la Tabla I se muestran los resultados de la medición de 15 muestras iguales de 2 cc de solución de Ringer radioactivo, seis de las cuales fueron deionizadas por electrolisis, cuatro por resinas y cinco fueron secadas directamente sin deionizar. Además se muestra otro grupo de muestras (soluciones diferentes) secadas directamente y tratadas con resinas. Puede observarse que la menor dispersión se obtiene con las resinas. Si se comparan los promedios de los tres primeros grupos, puede verse que la electrolisis es el método que da menores pérdidas. No obstante es preferible el método de las resinas por su menor dispersión.

2. Control de la técnica colorimétrica

A fin de asegurarse que los músculos no perdían en el líquido de descarga otra sustancia sensible a la reacción colorimétrica que no fuera sacarosa, un grupo de músculos se mantuvieron por más de 2 horas en

en un pequeño volumen de Ringer. Cuando el líquido fué tratado con la técnica colorimétrica no dió apreciable absorción colorimétrica.

3. Espacio extracelular en solución de Ringer normal

En la Table II se muestran valores de espacio extracelular de pares de músculos de diferentes experimentos en que los músculos permanecieron en solución de Ringer. Los valores extremos fueron de 13 a 24 %, siendo el promedio 18,0 % y la desviación standard 3,5 %. El promedio es del mismo orden que el espacio extracelular de musculos mantenidos en solución de Ringer con sacarosa de la misma presión osmótica.

4. Efecto de agitación

La tabla III muestra los resultados obtenidos sin agitación para músculos mantenidos a presión osmótica 1,00. Figuran los volúmenes de los músculos al comienzo del período de carga, el espacio extracelular en microlitros, y el espacio extracelular corregido. Este valor se obtuvo dividiendo el espacio extracelular por el volumen de músculo inicial y multiplicado por 100. Este no es el espacio extracelular porcentual, que es referido al volumen final. Si los espacios extracelulares corregidos de esta tabla se comparan con los valores a $\pi = 1,00$ de la tabla IV, puede verse que la dispersión es obviamente mucho mayor en tabla III.

5. Efecto de la presión osmótica

La tabla IV muestra los volúmenes de los músculos al comienzo y al final del período de carga, el volumen final corregido, el peso final corregido, el espacio extracelular corregido en microlitros, el espacio extracelular porcentual y el volumen de agua intrafibrilar a las diferentes presiones osmóticas. Los valores llamados corregidos. Los valores denominados corregidos se calcularon como se explico anteriormente y significan por lo tanto los valores que corresponderían si el volumen inicial del músculo hubiese sido 100 microlitros. Esto hace comparables los resultados obtenidos de diferentes músculos. El espacio extracelular porcentual está referido al volumen final de músculo. El volumen corregido de agua intrafibrilar ha sido obtenido substrayendo al peso final corregido el espacio extracelular en microlitros; y el peso seco se supuso de 24.2 mg como el promedio para un músculo que, a la presión osmótica unidad, tiene un volumen de 100 microlitros. En el caso de músculos cuyo espacio extracelular fué determinado por medio de sacarosa marcada, fueron pesados sólo en aire y sus volúmenes fueron calculados atribuyendoles la densidad obtenida para los correspondientes músculos usados en la técnica colorimétrica.

En la Figura 1 puede verse que a medida que aumenta la presión osmótica también lo hace el espacio extracelular porcentual. Por la dispersión de los resultados la curva trazada es sólo una aproximación.

DISCUSION

De los valores de la tabla I se observa que las muestras secadas directamente pueden introducir un error de 20 % pero de todas maneras no alcanza a explicar la dispersión de los valores observados en la literatura, como por ejemplo los de Tasker y colaboradores. La dispersión se reduce al 6 % con el método de las resinas de intercambio iónico.

Con respecto a los valores de espacio extracelular en solución de Ringer normal estos se encuentran en el mismo rango que aquellos obtenidos por otros autores (Steimbach, 1961) pero nuestros valores tienen una dispersión menor que los de Tasker y col.

En la tabla IV es notable que existe una diferencia apreciable entre el espacio extracelular determinado con sacarosa inactiva que el determinado mediante sacarosa radioactiva, el primero menor que el segundo. La diferencia entre los promedios de ambas técnicas alcanza a un 32 % en la presión osmótica 1,00.

Para determinar la confiabilidad de las mediciones se llevó a cabo el siguiente experimento de control : el peso seco de los músculos se calcularon para un músculo de volumen inicial 100 microlitros. Este valor fué tomado de varios experimentos previos y resultó tener un promedio de 24,2 mg. La densidad del residuo seco fué determinado por picnometría y su resultado fué de 1,4 g/cc ; luego el volumen del peso seco resulta de 16 microlitros, que se supone constante a diferentes presiones osmóticas. El volumen final corregido de un músculo puede calcularse a partir del espacio extracelular corregido en microlitros, el volumen de agua intrafibrilar corregido y el volumen de residuo seco. Ninguna de estas determinaciones involucra mediciones de volumen final para diferentes presiones osmóticas. Puede verse que la coincidencia de los resultados es suficientemente buena para hacer confiable las mediciones.

Al analizar la figura 1 es necesario tener en cuenta que el cambio observado está dado por el cambio en el volumen total del músculo y no a un cambio del valor absoluto del espacio extracelular. La Figura 4 muestra el espacio extracelular absoluto corregido en función de la presión osmótica. Aunque la desviación standard de los resultados no nos permite dar una conclusión definitiva, podría admitirse que el espacio extracelular absoluto permanece mas o menos constante entre presiones osmóticas entre 0,75 y 1,25 de la del Ringer, decreciendo a valores menores y

aumentando a valores mayores, determinando una curva en forma de S.

La Figura 3 muestra el volumen de agua intrafibrilar en función de la inversa de la presión osmótica. Puede verse que la fibra se comporta aproximadamente como un osmómetro dentro del rango de presiones osmóticas de 0,50 a 1,50 de la del Ringer. Esto mismo fue encontrado para presiones osmóticas entre 0,7 y 2,00 por Dydyńska y col. entre otros.

BIBLIOGRAFIA

- Bieselaar, M.D. : "La Cristallisation Industrielle du Saccharose"; Theses présentées a la Faculté des Sciences de L'Université de Dijon, 1938.
- Block, R.J.; Durrum, E.L.; Zweigg, G. : "A manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis", Ac. Press, N.Y., 1958.
- Duclaux, J. : "Pression osmotique. I : Partie expérimentale" Actualités Scientifiques et Industrielles, N°443, 1936.
- Dydyńska, M. and Wilkie, D.R. : "The osmotic properties of striated muscle fibers in hypertonic solutions", J. Physiol 169, 312, 1963.
- Harris, E.J. and Martins-Ferreira, H. : "Membrane potentials in the muscle of the South American Frog, *Leptodactylus Ocelatus*" J. Exptl. Biol. 32, 539, 1955.
- Percheron, F. (Fabre, R.) : "Dosage colorimétrique du fructose et du fructo-furanosides par l'acide thiobarbiturique" Comptes Rendus de l'Académie des Sciences 255(19), 1962.
- Steimbach, H.B. : "Na extrusion by the sartorius of *Rana pipiens*", J. Gen. Physiol. 44, 6, pp. 1131, 1961.
- Tasker, P.; Simon, S.; Johnstone, B.M.; Shankly, K.H. and Shaw, F.H. : "The dimensions of the extracellular space in sartorius muscle", J. Gen. Physiol. 43, 39, 1959.

TABLA I

Muestras de 2 cc de solución de Ringer radioactivo, secadas directamente y deionizadas por electrolisis o por resinas de intercambio.

	Procedimiento	Contaje	
Muestras idénticas	Muestras secadas directamente	4630	Promedio : 4844 Desviación standard: 372 Porcentual : 7.6 del promedio. Error standard del contaje : 1.4 %
		5208	
		4440	
		5274	
		4670	
	Muestras deionizadas por electrolisis	5558	Promedio : 5928 Desviación standard : 330 Porcentual: 3 % del promedio Error standard del contaje : 1,3 %
		6398	
		5985	
		5697	
5715			
Muestras deionizadas por resinas	5491	Promedio : 5638 Desviación standard : 147 Porcentual : 2,6 % del promedio. Error standard del contaje : 1,3 %	
	5813		
	5703		
	5548		
Muestras diferentes	Muestras secadas directamente	4463	Promedio : 4189 Desviación standard : 175 Porcentual : 4,2 % del promedio. Error standard del contaje: 1,5 %
		4102	
		3997	
		4232	
		4152	
	Muestras deionizadas por electrolisis	2290	Promedio : 2251 Desviación standard : 32 Porcentual : 1,4 % del promedio. Error standard del contaje : 2,1 %
		2223	
		2265	
		2227	
	Muestras deionizadas por resinas	2836	Promedio : 2820 Desviación standard : 17.6 Porcentual : 0,63 % del promedio Error standard del contaje : 1,9 %
		2795	
		2824	
2826			

TABLA II

Espacios extracelulares para pares de músculos de diferentes experimentos en solución de Ringer normal.

Músculo Nº	Peso del músculo en mgr	Espacio Extracelular %
1	126,0	20,4
2	131,0	21,5
3	79,2	23,8
4	79,0	21,5
5	117,0	16,4
6	115,0	15,6
7	168,0	13,0
8	165,0	14,0
9	130,0	17,0
10	128,0	17,0

Promedio : 18,0 %
Desviación standard : 3,

TABLA III

Espacios extracelulares determinados sin agitación. V_1 : Volumen del músculo al comienzo del período de carga. V' : Espacio extracelular absoluto. V'_0 : espacio extracelular corregido porcentual, referido al volumen inicial.

Músculo Nº	V_1 (microlitros)	V' (microlitros)	V'_0 (%)
1I	207,8	38,3	18,4
1D	199,2	38,1	19,1
2I	411,7	52,5	12,7
2D	413,5	69,0	16,7
3I	53,4	11,2	21,0
3D	54,4	17,4	32,0
4I	98,3	18,4	18,7
4D	94,5	15,1	16,0

Promedio : 19,3 %
Desviación
standard : 5,6

TABLA V

Control para la determinación del volumen del músculo. V'_c : espacio extracelular corregido. V_{1c} : Volumen corregido de agua intrafibrilar. V_{dr} : Volumen del residuo seco. V_0 : Volumen final del músculo corregido. : Presion osmótica.

	0,6	0,75	1,00	1,25	1,50
V'_c	16,0	20,2	19,7	20,0	22,8
V_{1c}	101,9	73,4	58,0	48,0	35,9
V_{dr}	16,0	16,0	16,0	16,0	16,0
V_c (calc)	133,9	109,6	93,7	84,0	74,7
V_c (exptl)	133,4	110,8	94,7	82,6	76,3

(continúa Tabla IV)

		Músculo	V_i	V	V_c	m_c	V_c'	$V'_{\%}$	V_{1c}	
Presión osmótica 0,75	Radiactividad	11	113,9	130,8	114,8	120,7	22,6	19,7	74,1	
		12	118,3	137,6	116,4	122,3	21,2	18,2	77,1	
		13	98,1	109,3	111,4	117,0	25,4	22,8	67,6	
		14	98,1	108,0	110,1	115,7	20,2	18,3	71,5	
		15	113,1	130,2	115,1	121,0	18,3	15,9	78,6	
		16	116,9	132,9	113,7	119,5	18,9	16,6	76,6	
	Promedio				110,8		20,2	18,9	73,4	
	Desviación standard				3,8		2,3	2,1	4,4	
	Presión osmótica 1,00	Colorimetría	1	51,6	52,7	102,1	105,2	22,5	22,0	58,7
			2	51,0	49,2	96,5	100,2	21,2	22,0	55,0
3			45,9	41,9	91,3	97,6	20,3	22,2	53,3	
4			103,6	99,5	96,0	102,2	14,0	14,6	64,2	
5			107,1	103,1	96,3	102,9	14,0	14,5	64,9	
7			116,3	110,9	95,3	100,2	15,8	16,6	60,4	
8			111,3	106,1	95,3	101,5	16,5	17,3	61,0	
9			106,5	97,8	91,8	98,5	17,6	18,9	57,1	
10			106,6	99,5	93,3	99,6	19,7	21,1	54,9	
11			61,3	57,3	93,5	99,8	17,9	19,1	57,9	
12			59,5	55,1	92,6	99,3	16,0	17,3	59,3	
Radiactividad,			13	91,7	91,4	99,7	104,5	25,8	25,9	54,7
		14	97,4	95,9	98,4	103,4	25,8	26,2	53,6	
		15	117,6	116,3	98,9	103,8	20,1	20,3	59,7	
		16	115,9	113,1	97,6	102,5	21,0	21,5	57,5	
		17	77,5	77,0	99,4	104,4	23,4	23,5	57,0	
		18	74,8	74,3	99,3	104,3	23,4	23,5	56,9	
Promedio				94,7		19,7	20,4	58,0		
Desviación standard				3,7		3,8	3,5	3,4		
P. Osmótica 1,25	Radiactividad	1	114,3	96,2	84,2	92,6	16,8	20,0	51,8	
		2	118,4	102,0	86,1	94,8	17,6	20,4	53,2	
		3	132,6	113,9	85,9	94,6	18,2	21,2	52,4	
		4	139,8	119,0	85,1	93,7	17,0	20,0	52,7	
		5	118,6	101,2	85,3	93,9	24,7	29,0	45,2	
		6	113,2	96,9	85,6	94,2	20,5	23,9	49,7	

(continúa Tabla IV)

Músculo	V_i	V	V_c	m_c	V'_c	$V'\%$	V_{1c}		
Presión osmótica 1,25 Colorimetría	7	82,1	86,8	83,8	92,0	21,9	26,1	46,1	
	9	91,1	79,4	87,1	95,7	22,5	25,8	49,2	
	10	97,0	79,1	81,5	90,0	20,9	25,6	49,2	
	11	106,2	83,2	78,3	86,3	17,4	22,2	44,9	
	12	98,8	76,9	77,8	87,3	18,7	24,0	44,6	
	13	137,8	113,4	82,3	89,8	20,3	24,7	45,5	
	14	127,6	106,2	83,2	91,0	22,2	26,7	44,8	
	15	169,4	132,4	78,1	85,5	20,4	26,1	41,1	
	16	162,9	132,1	81,1	88,5	19,6	24,2	44,9	
	17	111,8	86,5	77,4	86,8	21,5	27,8	41,0	
	18	112,8	92,0	81,6	90,7	20,4	25,0	46,3	
	Presión osmótica 1,50 Colorimetría	1	116,8	88,9	76,1	82,4	19,9	26,1	38,5
		2	127,4	95,3	74,8	79,0	18,7	25,0	36,3
		3	109,8	86,2	78,5	85,3	20,5	26,1	40,8
		5	86,4	67,9	78,6	82,3	26,0	33,1	32,3
		6	87,7	67,9	77,5	83,3	22,0	28,4	37,3
		7	92,1	68,4	74,3	81,7	21,3	28,7	36,4
		8	88,0	65,2	74,1	80,8	17,0	22,9	39,8
9		61,5	44,9	73,0	77,1	20,2	27,7	32,9	
10		57,2	41,7	72,9	79,9	23,2	21,3	32,7	
11		96,4	68,8	71,4	82,1	26,4	37,0	31,7	
12		101,4	74,0	73,0	78,7	23,8	32,6	30,9	
Radiactividad		13	56,0	45,2	80,7	87,3	26,8	33,2	36,5
		14	55,0	43,0	78,2	84,7	24,4	31,2	36,3
		15	138,6	112,6	81,2	88,0	25,6	31,5	38,4
		16	140,9	113,7	80,7	87,4	23,7	29,4	39,7
		17	88,3	67,2	76,1	82,4	22,3	29,3	36,1
		18	88,8	68,3	75,9	83,3	25,4	33,0	33,9
Promedio				76,3		22,8	27,3	35,9	
Desviación standard			3,0		2,9	1,6	0,9		

TABLA IV

Espacio extracelular y volumen de agua intrafibrilar a diferentes presiones osmóticas. V_1 : volumen del músculo al comienzo del período de carga. V : volumen del músculo al final del período de carga. V_c : volumen final corregido del músculo. m_c : peso final corregido del músculo. V'_c : espacio extracelular corregido. $V'\%$: espacio extracelular porcentual. V_{1c} : volumen corregido de agua intrafibrilar. Todos los volúmenes en microlit.

		Músculo	V_1	V	V_c	m_c	V'_c	$V'\%$	V_{1c}
Presión osmótica 0,61 de la Ringer	Colorimetría	1	132,2	173,3	131,1	136,1	13,5	10,3	98,6
		2	138,4	180,2	130,2	136,3	14,7	11,3	97,6
		3	102,5	139,2	135,8	142,3	15,8	11,6	102,5
		4	101,4	140,0	138,1	144,2	18,7	13,5	101,5
		5	135,1	177,4	131,3	136,7	17,2	13,1	95,5
		6	119,0	160,4	134,8	142,6	17,3	12,8	101,3
		7	93,8	120,9	128,9	134,4	14,9	11,5	95,5
		9	123,6	169,5	137,1	142,7	12,5	9,1	106,2
		10	121,9	168,1	137,9	144,5	11,5	8,3	109,0
		11	87,7	118,0	134,4	141,1	12,5	9,3	104,6
		12	86,6	120,2	138,8	145,1	13,4	9,6	107,7
		Radioactividad	13	60,7	84,2	138,7	145,1	19,1	13,8
	14		57,1	79,8	139,7	146,2	22,8	16,4	99,4
	15		76,5	103,0	134,6	140,8	17,9	13,3	98,8
	16		75,9	107,7	141,9	148,5	18,4	13,0	106,1
	17		78,6	102,8	130,8	136,8	25,7	19,6	87,1
	18		73,8	101,2	137,1	143,5	16,8	12,2	102,7
	Promedio				135,4		16,0	12,4	100,9
Desviación standard				3,8		3,8	2,7	5,4	
Presión osmótica 0,75	Colorimetría	1	84,1	90,7	107,8	117,6	16,0	14,8	77,6
		2	83,3	88,8	106,6	116,4	18,8	17,6	73,6
		3	170,0	189,3	111,3	119,9	20,9	18,8	75,0
		4	166,7	182,3	109,3	117,6	21,4	19,6	72,2
		5	93,8	105,8	112,8	118,5	19,5	17,3	75,0
		6	93,5	105,7	113,0	118,2	19,2	17,0	75,0
		7	118,8	132,7	111,7	117,9	18,3	16,4	75,0
		8	116,7	131,8	112,9	118,0	18,2	16,1	75,8
		9	58,7	61,9	105,4	112,3	19,8	18,8	68,5
		10	53,2	54,4	102,2	109,0	24,2	23,7	60,8

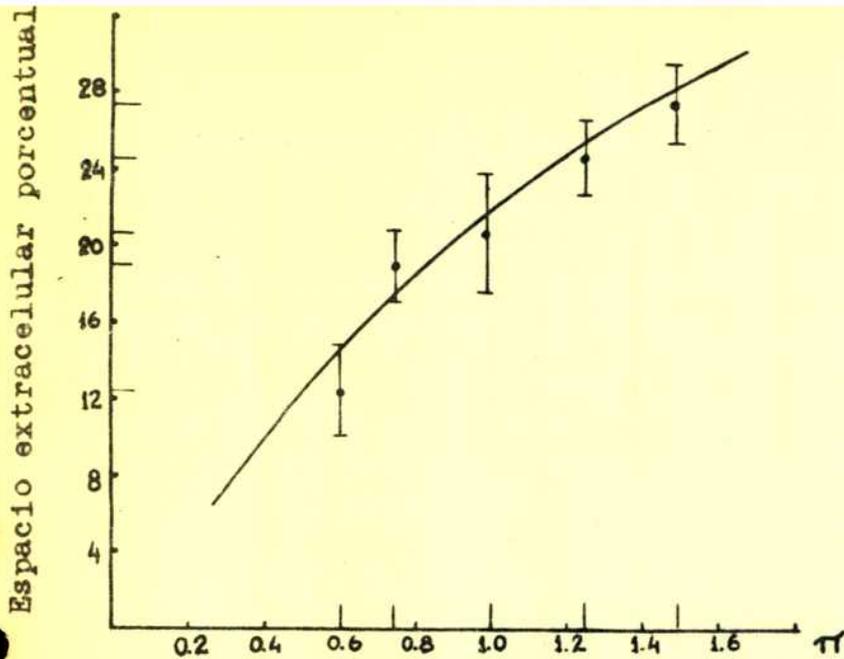


Figura 1 . Espacio extracelular porcentual en función de la presión osmótica. Las barras verticales representan la desviación standard.

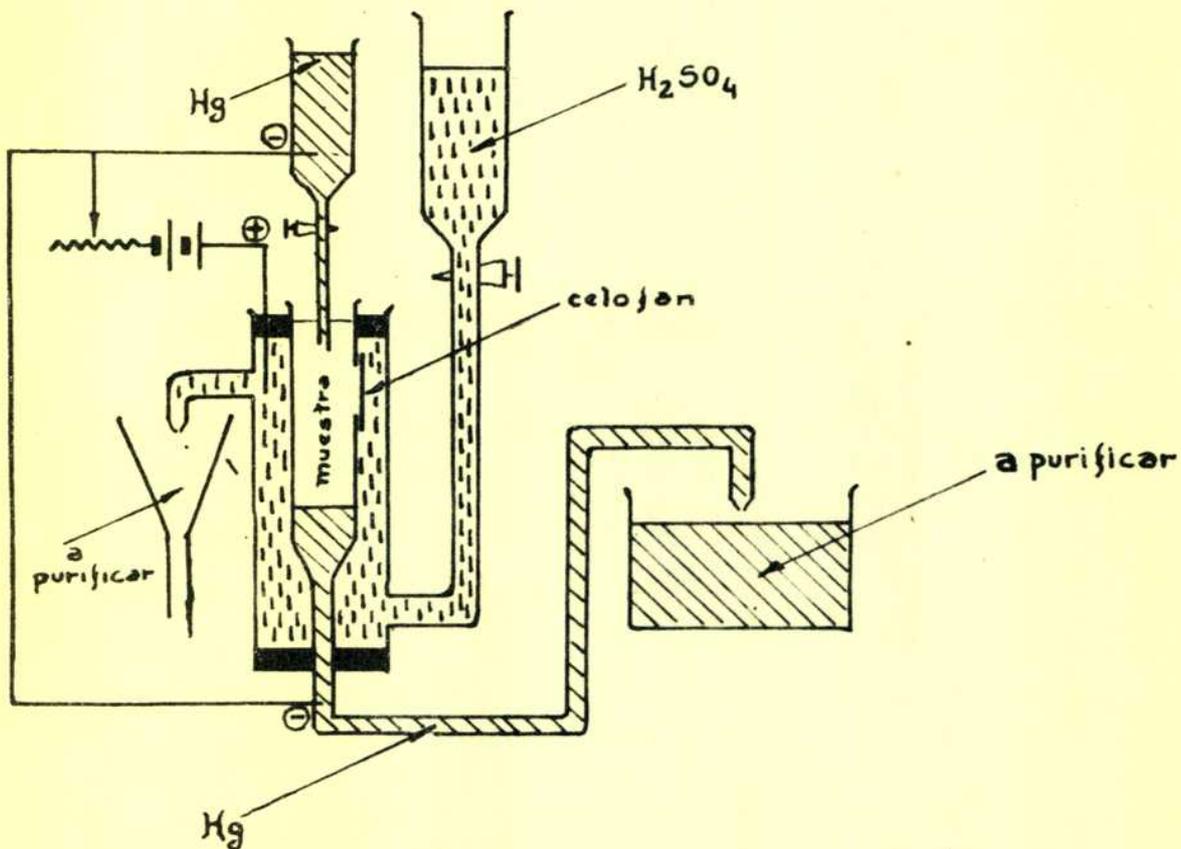


Figura 2 . Dispositivo empleado en la deionización electrolítica de las soluciones de Ringer con sacarosa radioactiva.

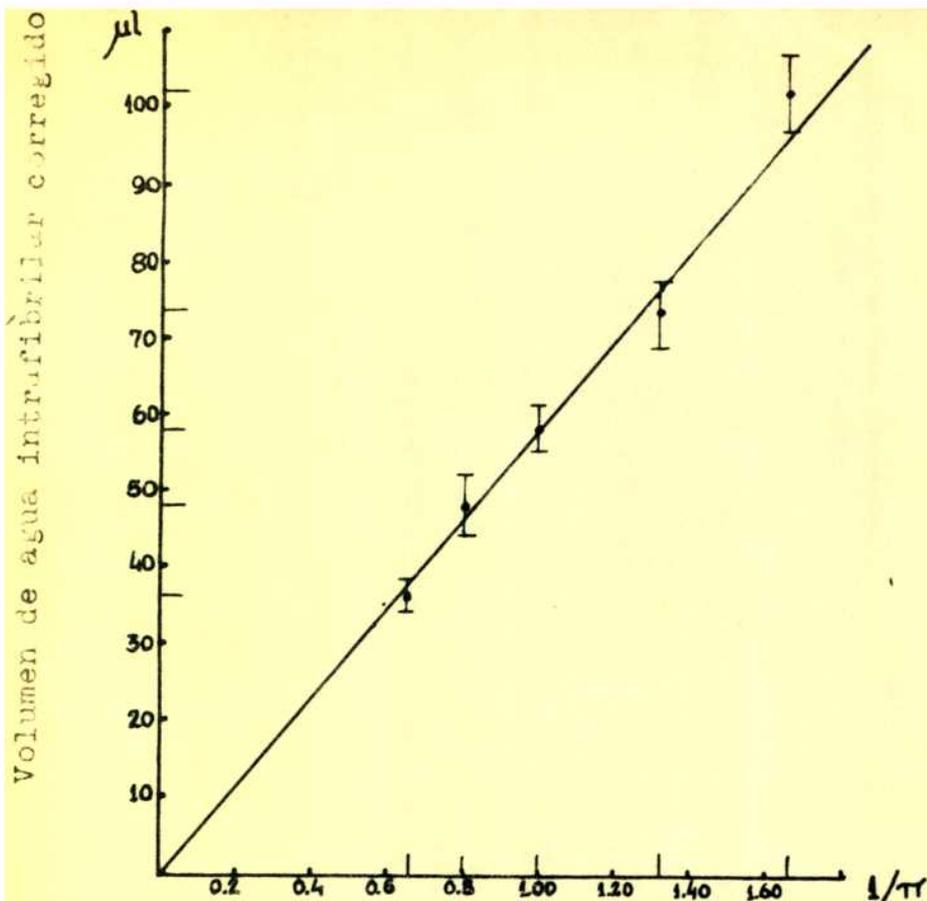


Figura 3 . Volumen de agua intrafibrilar corregido en función de la inversa de la presión osmótica. Las barras verticales representan la desviación standard. La línea sólida representa el comportamiento de la fibra como un osmómetro.

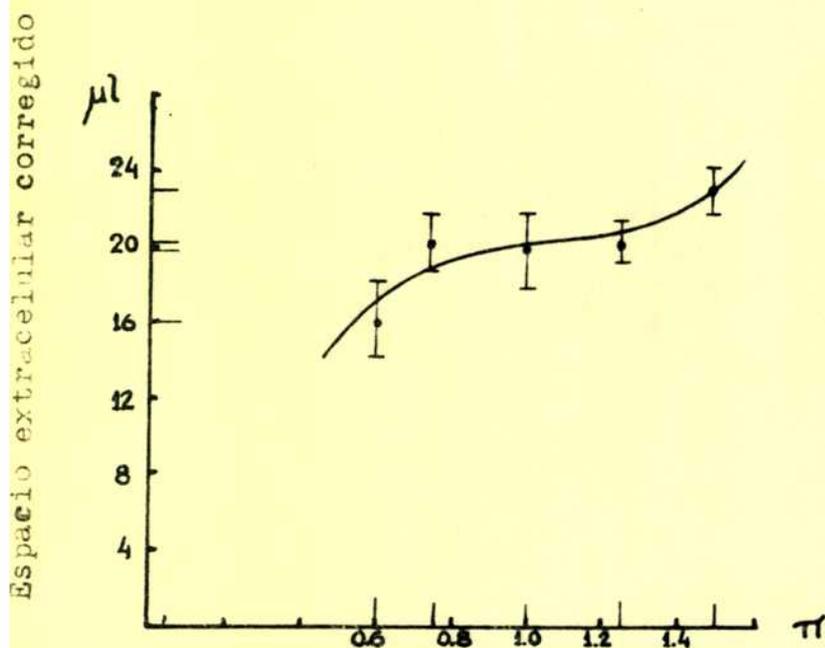


Figura 4 . Espacio extracelular absoluto corregido en función de la presión osmótica. Las barras verticales representan la desviación standard.